

**FORME ET VOIE D'ABSORPTION INTESTINALE  
DES ACIDES GRAS A CHAINE LONGUE  
CHEZ LA TRUITE ARC-EN-CIEL  
(*SALMO GAIRDNERII* RICH.)**

I. — LIPIDES EN PARTICULES

P. BERGOT et J.-E. FLÉCHON

*Station centrale de Nutrition,  
Station centrale de Physiologie animale,  
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas  
Institut national de la Recherche agronomique*

---

**RÉSUMÉ**

La muqueuse de l'intestin grêle de Truites arc-en-ciel acclimatées soit à 7°C, soit à 22°C, est observée en microscopie photonique et électronique. Après introduction dans l'estomac des animaux à jeun d'un acide gras à chaîne longue (oléique, linoléique ou stéarique), on trouve des particules lipidiques de diamètre inférieur à 0,2  $\mu$ , ayant le même aspect et la même localisation dans la cellule épithéliale absorbante que les chylomicrons chez les Mammifères. Ces particules lipidiques sont également observées :

- 1° dans les espaces intercellulaires de l'épithélium et du tissu conjonctif sous épithélial ;
- 2° dans la paroi et la lumière des capillaires sanguins ;
- 3° dans la lumière des vaisseaux lymphatiques qui forment un réseau à la base des plis de la muqueuse.

La possibilité d'une évacuation des particules lipidiques par voie lymphatique (comme chez les Mammifères) et par voie portale (comme chez le Poulet) est suggérée. L'importance relative de chacune de ces voies reste à déterminer.

---

**INTRODUCTION**

L'absorption intestinale des graisses chez les Poissons présente quelques particularités en ce qui concerne leur aspect morphologique, leur durée de séjour dans la muqueuse et leur mode d'évacuation.

Cette absorption semble plus lente que chez les Mammifères, d'après des obser-

vations en microscopie photonique (LUZZATI, 1936 ; AL HUSSAINI, 1949 ; GOHAR et LATIF, 1963 ; SIVADAS, 1965 ; KHALILOV et INHUSHIN, 1965) et des travaux biochimiques (TSUCHIYA et KAYAMA, 1958 ; KAYAMA et TSUCHIYA, 1959).

Dans les cellules absorbantes intestinales, les lipides apparaissent sous forme de gouttelettes de diamètre considérable, atteignant plusieurs microns, autant en microscopie photonique, chez des Cyprinidés (AL HUSSAINI, 1949) qu'en microscopie électronique chez l'alevin de *Carassius auratus* (IWAI, 1968 *b*) et chez celui de *Hemiramphus sajori* (IWAI et TANAKA, 1968). La présence de lipides dans les espaces intercellulaires de l'épithélium n'a pas été signalée par ces auteurs qui suggèrent que les grosses gouttelettes quittent la cellule absorbante par sa face basale. Chez la Truite, des lipides sous deux formes (particules et « masses étalées ») ont été mises en évidence en microscopie électronique (BERGOT et VODOVAR, 1967).

La voie de pénétration et la forme des lipides parvenus dans le tissu conjonctif sous-épithélial (*Tunica propria*) de la muqueuse, sont controversées. Quelques anciens physiologistes, n'observant pas de chyle lactescent chez les Poissons, Reptiles et Oiseaux, supposaient que les matières grasses passaient dans les veines intestinales chez les Vertébrés inférieurs (LONGET, 1868). D'après des auteurs plus récents, les Poissons pourraient être dépourvus de lactéales (GREENE, 1913) et le sang portal représenterait la voie d'évacuation des graisses (LOVERN et MORTON, 1939) ou de leurs produits d'hydrolyse (DAWES, 1930). Pour d'autres auteurs, au contraire, des chylifères existeraient chez les Poissons (JACOBSHAGEN, 1937 ; BALASHEV et ZHEMCHUZHNIKOVA, 1966) et l'absorption des graisses se ferait par voie lymphatique, comme chez les Mammifères (HARRIS, 1939 ; RAZUMOV, 1960 ; GOHAR et LATIF, 1963).

Au cours de la présente étude, nous nous sommes attachés à préciser quelques caractéristiques structurales de la muqueuse chez la Truite. En effet, si l'histologie de l'intestin des Salmonidés a été étudiée (GREENE, 1913 ; GUNTER, 1938 ; WEINREB et BILSTAD, 1955 ; BURNSTOCK, 1959 ; VASILIEVA et KOROVINA, 1969) ainsi que son système sanguin (KONAR, 1947 ; KILARSKI, 1958), les observations ultrastructurales sont rares sur la cellule absorbante de Truite (YAMAMOTO, 1966 ; IWAI, 1968 *a*) et pratiquement absentes sur les capillaires sanguins et lymphatiques.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des truitelles de 40 à 60 g, élevées en aquarium à température constante (7°C ou 22°C) pendant au moins trois semaines, sont privées de nourriture jusqu'à disparition des graisses dans la muqueuse intestinale. Cette disparition, contrôlée histochimiquement sur des témoins, demande environ 13 jours à 7°C et 6 jours à 22°C.

Un acide gras à chaîne longue (oléique, linoléique ou stéarique) est introduit, par la bouche, dans l'estomac des animaux à raison d'environ 1 p. 100 du poids vif, au moyen d'une canule reliée à une seringue. Un piston est utilisé quand l'acide gras n'est pas liquide à la température étudiée. De l'acide oléique a également été donné, incorporé à l'aliment habituel (granulés SARB) à des animaux non à jeun d'environ 140 g.

Après un temps variable (en général 8 ou 16 h), suffisant pour la pénétration des lipides dans presque tous les plis de la muqueuse intestinale, les truitelles sont sacrifiées par section des vertèbres cervicales. La paroi abdominale est rapidement ouverte. Le fixateur est injecté dans la lumière intestinale, puis versé sur les viscères, toujours en place. La partie antérieure de l'intestin (intestin « grêle ») qui suit les cæcums pyloriques est ensuite prélevée et plongée dans le fixateur

à 4°C. Des fragments plus petits ne sont découpés qu'après 1 heure, lorsque cette opération n'entraîne plus de déformations.

En microscopie électronique, deux fixateurs sont utilisés :

a) le tétr oxyde d'osmium à 2 p. 100 dans le tampon phosphate 0,2 M, pH 7,3 (MILLONIG, 1961) pendant 2 à 4 h.

b) le glutaraldéhyde à 4 p. 100 dans du tampon phosphate 0,1 M, pH 7,3, pendant 1 heure, suivi, après un lavage de 10 mn à 40 h dans du tampon 0,15 M, de tétr oxyde d'osmium à 1 p. 100 dans du tampon 0,1 M pendant 1 heure.

Toutes les pièces sont déshydratées dans l'acétone suivant le même protocole (acétone à 45 p. 100 : 2 × 5 mn, 70 p. 100 : 3 × 5 mn, 90 p. 100 : 3 × 5 mn, 100 p. 100 : 2 × 5 mn, 100 p. 100 — Epon 3 × 30 mn), imprégnées et incluses dans le mélange Epon 812 : 10 v, DDSA 18 v, HHPA 1 v, DMP 30 1 v (d'après FINCK, 1960).

Les coupes ultrafines sont contrastées par l'acétate d'uranyle (1 p. 100 dans l'alcool à 70°) pendant 20 mn et le citrate de plomb (REYNOLDS, 1963) pendant 10 mn, puis recouvertes d'un film de carbone et observées à l'Elmiskop I Siemens. Certaines coupes sont traitées par la méthode OTO (SELIGMAN *et al.*, 1966).

En microscopie photonique, les coupes sériées semi-fines (0,8  $\mu$ ) des pièces incluses dans l'Epon sont colorées par le Bleu de Toluidine (1 p. 100 dans une solution aqueuse de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 2,5 p. 100) et différenciées à l'alcool.

Pour caractériser les lipides, des fragments fixés au glutaraldéhyde, voisins de ceux utilisés en microscopie électronique (IDELMAN, 1965) ou prélevés sur des intestins fixés au formol-calcium de Baker sont coupés au cryostat. Les coupes successives (9 à 15  $\mu$ ) d'un même fragment sont traitées les unes par le Noir Soudan B, les autres par le Bleu de Nil (LISON, 1960).

## RÉSULTATS

### I. — Structure de la muqueuse intestinale de Truite

La couche épithéliale et une partie du tissu conjonctif sous-épithélial sont disposées en plis qui assurent le relief de la muqueuse. Sur des coupes sériées parallèles à l'axe de l'intestin, les plis apparaissent libres dans leur partie supérieure. Au contraire, dans leur partie inférieure, ils sont reliés entre eux et délimitent des alvéoles juxtaposés de section hexagonale ou pentagonale.

#### a) *Épithélium*

L'épithélium est formé de cellules absorbantes et de cellules à mucus qui s'appuient sur une basale. Entre ces cellules, se trouvent également des leucocytes et parfois des cellules piriformes (« pear shaped cells »). Il n'existe pas de différenciation équivalente aux cryptes de Lieberkühn.

La membrane plasmique libre des cellules absorbantes présente, à la base des microvillosités, des invaginations formant un réseau de tubules et de vésicules (fig. 1). Ce réseau s'étend, à travers la zone apicale, jusqu'au niveau de la zone sous-apicale où se trouvent des tubules du reticulum endoplasmique et des mitochondries, mais ne communique pas, d'après nos observations, avec le reticulum endoplasmique dont les membranes sont moins épaisses.

Les cellules absorbantes épithéliales sont unies entre elles au niveau de la zone apicale par une « zone d'occlusion » (*zonula occludens*) et une rangée de desmosomes juxtaposés. En dessous de ce niveau, elles ne sont reliées que par des desmosomes isolés.

Les membranes plasmiques latérales de cellules voisines ne forment pas d'interdigitations.

Les membranes plasmiques basales et latérales présentent des invaginations aplaties, généralement en forme de rubans, qui constituent, à l'intérieur de la cellule absorbante, les « structures lamellaires » (« lamellar structures »).

La basale sous-épithéliale apparaît comme une couche de matériel finement fibrillaire, rectiligne ou sinueuse suivant la contraction des plis de la muqueuse. Elle présente une épaisseur régulière d'environ  $0,1 \mu$  sauf au niveau de zones amincies généralement situées en dessous d'espaces intercellulaires épithéliaux très dilatés. Des interruptions de la basale sur plusieurs microns, correspondant dans certains cas au passage d'un leucocyte, sont également observées.

### b) *Tunica propria*

Le tissu conjonctif sous-épithélial ou *tunica propria* est composé par divers éléments cellulaires (cellules conjonctives à longs prolongements cytoplasmiques, fibres musculaires lisses, fibres nerveuses, leucocytes) baignant dans le liquide interstitiel parmi des fibres de collagène. Son irrigation est différente suivant le niveau du même pli.

1. Dans la partie supérieure libre des plis et dans les cloisons des alvéoles formés par la base des plis, le tissu conjonctif, réduit par rapport à l'épithélium, n'est irrigué que par des capillaires sanguins de 5 à  $10 \mu$  de diamètre.

La lumière de ces capillaires est limitée par des cellules endothéliales unies par des « zones d'occlusion » de leur membrane plasmique. L'épaisseur de la paroi atteint plusieurs microns au niveau du noyau mais se réduit ailleurs jusqu'à  $500 \text{ \AA}$ . Dans ces zones minces, la paroi endothéliale est percée de fenestrations (ou pores) circulaires d'un diamètre de 800 à  $1\ 000 \text{ \AA}$ . A ce niveau, la lumière du capillaire n'est séparée de l'extérieur que par un diaphragme d'environ  $40 \text{ \AA}$  d'épaisseur. Ce diaphragme présente le même aspect que les plus externes des trois feuillets de la membrane plasmique et apparaît en continuité avec lui (fig. 8).

Dans les zones les plus épaisses, le cytoplasme des cellules endothéliales contient de nombreuses vésicules de pinocytose d'un diamètre de  $1\ 000 \text{ \AA}$  environ, bordées par une membrane de type plasmique. Certaines vésicules qui débouchent soit du côté de la lumière, soit de l'autre côté, apparaissent obturées par un diaphragme semblable à celui des pores (fig. 8).

Ces capillaires sanguins sont entourés par une basale très irrégulière et lâche qui se distingue nettement de la basale sous-épithéliale.

2. Au niveau de la jonction des parois des alvéoles, le stroma est plus développé et ceci d'autant plus qu'on se rapproche de leur base. Dans chacune de ces jonctions, on reconnaît une artériole, une ou deux veinules et un vaisseau lymphatique. En microscopie photonique, ce dernier se distingue des veinules par l'absence d'érythrocytes dans sa lumière et la présence de nombreux granules dans sa paroi (fig. 11 et 12). En microscopie électronique, le vaisseau lymphatique apparaît délimité par des cellules endothéliales à longs prolongements cytoplasmiques. Certains se chevauchent de façon lâche et d'autres sont liés par des « zones d'occlusion ».

Les corps denses intracytoplasmiques sont entourés par une membrane. Les

cellules endothéliales ne sont pas accompagnées par une basale (fig. 13) et s'appuient directement sur les fibres de collagène environnantes.

Les vaisseaux lymphatiques dans leur partie supérieure, c'est-à-dire au niveau de la mi-hauteur environ des plis de la muqueuse, sont largement ouverts sur l'espace interstitiel de la *tunica propria*. A la base des plis, les vaisseaux lymphatiques sont clos et communiquent entre eux, formant un réseau qui entoure le réseau artériel et le réseau veineux situés au-dessus du *stratum compactum*.

### c) *Stratum compactum* et *stratum granulosum*

Entre le tissu conjonctif lâche de la *tunica propria* et la tunique musculuse, se trouve une couche formée de faisceaux de fibres de collagène (*stratum compactum*) bordée de part et d'autre par des cellules granuleuses, constituant le *stratum granulosum*.

Le *stratum granulosum* et le *stratum compactum* sont traversés par des artérioles et veinules qui relient les réseaux de la muqueuse aux vaisseaux sanguins situés entre les couches musculuses circulaires et longitudinales. Il n'existe pas de tunique sous-muqueuse ni de réseaux sanguins sous-muqueux. Les vaisseaux situés entre les deux couches musculuses communiquent avec les artères et veines situées entre la musculuse longitudinale et la séreuse.

Des vaisseaux lymphatiques accompagnent les vaisseaux sanguins à ces différents niveaux de la paroi. Les vaisseaux lymphatiques sont cependant très réduits, au point de paraître complètement obturés, au niveau du *stratum compactum* alors que ceux qui forment le réseau de la *tunica propria* sont dilatés.

## II. — Transport des lipides dans la muqueuse.

### a) Observations en microscopie photonique sur les coupes à congélation

Huit heures après l'administration d'un des acides gras étudiés à des truites acclimatées à 7°C et mises à jeun, une coloration par le Noir Soudan est observée dans les cellules absorbantes du sommet d'une partie des plis de la muqueuse. La substance soudanophile est visible sous forme diffuse dans tout le cytoplasme de la cellule absorbante sauf la zone apicale. Elle apparaît plus concentrée au niveau de l'appareil de Golgi et des espaces intercellulaires, en particulier après administration d'acide stéarique. Après administration d'acide oléique ou linoléique, le cytoplasme de la cellule absorbante apparaît généralement complètement envahi.

Les observations effectuées 16 h ou 28 h après administration de l'acide gras montrent une progression jusqu'aux cellules absorbantes des flancs et de la base des plis. A ce stade, la substance soudanophile est présente en quantité notable dans les interstices de la *tunica propria*. Elle forme des accumulations compactes dans le réseau des vaisseaux lymphatiques de la base de la muqueuse, mais n'apparaît pas, aux stades étudiés, dans les vaisseaux lymphatiques des autres tuniques de la paroi intestinale. La substance soudanophile est absente du *stratum compactum* et du *stratum granulosum*. Elle est visible, sous forme diffuse, dans le plasma des capillaires sanguins de la *tunica propria*, ainsi que dans celui des veines et artères des différents niveaux de la paroi.

Chez les truites acclimatées à 7°C mais non à jeun, ainsi que chez les truites acclimatées à 22°C et à jeun, l'absorption concerne déjà presque tous les plis de la muqueuse 8 h seulement après l'administration de l'acide gras. L'aspect morphologique de l'absorption est le même que chez les animaux acclimatés à 7°C et à jeun.

Le Bleu de Nil donne une coloration rose dont la localisation correspond à celle du Noir Soudan dans la cellule absorbante et aux différents niveaux de la *tunica propria*.

## b) Observations en microscopie électronique

### 1. Aspect des lipides.

En microscopie électronique, les lipides peuvent être identifiés, à différents niveaux de la muqueuse, sous forme de particules (LP) de section circulaire. Chaque particule est constituée par un noyau homogène, d'opacité variable suivant l'acide gras administré et les techniques utilisées, limité par une bordure toujours sombre.

Le diamètre apparent des LP, mesuré sur les électromicrographies, présente des variations dues en particulier à l'incidence des coupes. Les plus grandes valeurs obtenues à différents niveaux de l'épithélium et du stroma, pour les différents cas étudiés, ne dépassent pas 0,2  $\mu$ .

Après administration d'acide oléique ou linoléique, les lipides apparaissent également dans la cellule absorbante sous une autre forme que celle de particules. Il s'agit des lipides « étalés » qui seront décrits ailleurs (BERGOT et FLÉCHON, 1970).

### 2. Localisation des particules lipidiques (LP).

Dans l'épithélium, les LP ont été observées :

— à l'intérieur des tubules du reticulum endoplasmique, à tous les niveaux de la cellule absorbante à l'exclusion de la zone apicale. Les lipides apparaissent absents des invaginations de la membrane plasmique dans la région apicale et sous-apicale. En effet, avec le traitement par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, le contenu de ces invaginations apparaît dense après la double fixation (fig. 2) et clair, sauf un revêtement irrégulier accroché aux parois, avec la fixation simple (fig. 1 et 3), alors que les LP apparaissent clairs après double fixation (fig. 2) et denses après fixation simple (fig. 1 et 3) à l'intérieur du reticulum endoplasmique. Cette localisation a été confirmée par la méthode OTO (fig. 4) ;

— dans les vésicules de l'appareil de Golgi (fig. 5) et, occasionnellement, dans l'espace périnucléaire ;

— dans la lumière d'une partie des « structures lamellaires », principalement à la partie basale des cellules absorbantes. Les membranes plasmiques qui les constituent ne sont alors plus parallèles comme chez les animaux à jeun mais délimitent un espace de section circulaire rempli de LP ;

— dans les espaces intercellulaires de l'épithélium. Des LP sont parfois observées immédiatement sous la bande de desmosomes apicaux mais les accumulations les plus importantes se rencontrent à proximité de la basale (fig. 6). Des LP sont visibles en contact avec cette lame mais pas au milieu du feutrage de fibrilles qui la constitue.

Dans la *tunica propria*, les LP ont été observées :

— dans les espaces intercellulaires, parmi les fibres de collagène (fig. 7) ;

— entre la basale des capillaires sanguins et la membrane plasmique des cellules endothéliales (parfois au contact du diaphragme d'un pore), dans une partie des vésicules pinocytotiques de ces cellules et dans la lumière des capillaires sanguins, entre les érythrocytes (fig. 9-10) ;

— dans le plasma et, exceptionnellement, dans la paroi des veinules et des artérioles de la base des plis de la muqueuse ;

— dans la lumière des vaisseaux lymphatiques (fig. 13), ainsi que dans les espaces délimités par le chevauchement lâche de leurs cellules endothéliales.

## DISCUSSION

### I. — Structure de la muqueuse intestinale de Truite

Les plis de la muqueuse intestinale de Truite qui forment un réseau, au moins par leur partie inférieure, ne peuvent être assimilés à des villosités aplaties. En effet, ils ne contiennent pas de lactéale dans leur partie supérieure libre et les alvéoles formés par leur base ne correspondent pas à des cryptes de Lieberkühn. Cette situation ne paraît pas généralisable à tous les poissons. On a décrit, par exemple, des vaisseaux lymphatiques longeant le bord libre des plis de la muqueuse chez le Silure glane (BALASHEV et ZHEMTCBUZHNIKOVA, 1966) et des cryptes chez la Morue (BISHOP et ODENSE, 1966).

L'ultrastructure des cellules absorbantes observée chez des truitelles de 50 g correspond à celle décrite chez l'alevin de la même espèce (IWAI, 1968 *a*). Les « structures lamellaires » apparaissent dérivées de la membrane plasmique et non du reticulum (YAMAMOTO, 1966).

Les capillaires sanguins observés dans la *tunica propria* correspondent au type B-2- $\alpha$ , d'après la classification de BENNET *et al.* (1959).

Des endothéliums fenestrés ont été décrits chez des Téléostéens (OZAKI, 1965) et les Mammifères, en particulier dans les villosités intestinales, mais la signification des fenestrations reste discutée (MAJNO, 1965 ; KARNOVSKY, 1968).

La présence d'un diaphragme obturant des vésicules pinocytotiques ouvertes soit du côté de la lumière du capillaire soit du côté opposé a également été signalée chez les Mammifères (KARRER et COX, 1960 ; PALADE et BRUNS, 1968). Les diaphragmes de ces vésicules et des pores paraissent identiques. Leur épaisseur ne correspond pas à celle de la membrane plasmique des cellules endothéliales, contrairement au schéma de RHODIN (1962). Ils présentent le même aspect que le feuillet externe de la membrane plasmique conformément à l'opinion de LUFT (1964). Il paraît possible d'interpréter les diaphragmes comme des images transitoires d'un transport par pinocytose et de considérer les pores comme un cas particulier de ce transport dans les zones moins épaisses de l'épithélium (KOBAYASHI, 1968 ; LUDAT-SCHER et STEHBENS, 1969).

Contrairement aux observations de YAMAMOTO (1966) chez le Poisson rouge, nos électromicrographies montrent la présence d'une basale autour des capillaires sanguins de Truite. L'irrégularité et la minceur de cette basale nous semblent des caractéristiques structurales importantes. En effet, dans les villosités de divers

Mammifères dont l'Homme, une basale continue et dense entoure les capillaires sanguins (PAPP *et al.*, 1962 ; PALAY et KARLIN, 1959 ; DOBBINS, 1966).

Des vaisseaux lymphatiques n'avaient pas encore été décrits à notre connaissance dans la muqueuse intestinale de Truite. Leur particularité tient à une localisation limitée aux axes formés par la jonction des plis et à la base des plis de la muqueuse. L'absence de basale autour des vaisseaux lymphatiques et la nature lâche des liaisons entre les cellules endothéliales qui forment les extrémités de ces vaisseaux correspondent à ce qui a été décrit ailleurs (MAJNO, 1965). La signification des corps denses, particulièrement nombreux dans le cytoplasme des cellules endothéliales des vaisseaux lymphatiques de Truite reste à élucider. Chez les Mammifères ils sont interprétés comme des lysosomes (PAPP *et al.*, 1962).

## II. — *Transport des lipides dans la muqueuse*

### a) *Forme de transport.*

Les LP observées chez la Truite présentent le même aspect que les chylomicrons décrits chez les Mammifères et l'Homme (KAY et ROBINSON, 1962 ; CASLEY-SMITH, 1962 ; BIERMAN *et al.*, 1966 ; SCHOEFL, 1968), mais s'en différencient par un diamètre toujours inférieur à 0,2  $\mu$  proche de celui des lipoprotéines de très basse densité d'origine hépatique (JONES *et al.*, 1967 ; RUDERMAN *et al.*, 1968).

Les critères utilisés pour identifier les LP (apparition, au bout d'un temps variable suivant les conditions, après ingestion d'acides gras chez les animaux à jeun, morphologie et colorabilité, contraste par la méthode OTO) permettent de ne pas les confondre avec d'autres structures.

Histochimiquement ces particules apparaissent constituées essentiellement de triglycérides et par analogie avec les chylomicrons et les lipoprotéines de très basse densité, on peut penser que la bordure dense qui les entoure correspond à une enveloppe contenant des phospholipides et des protéines (ISSELBACHER, 1966).

### b) *Localisation et voie de transport.*

#### 1. *Épithélium.*

La localisation des particules lipidiques dans la cellule absorbante de Truite (reticulum endoplasmique, vésicules golgiennes, espace périnucléaire) correspond à celle des chylomicrons dans les cellules absorbantes de Mammifères (PALAY et KARLIN, 1959 ; PALAY, 1960) et de Poulet (HOLMAN, 1968).

L'absence de substances osmiophiles dans les invaginations de la membrane après application de la méthode OTO confirme l'absence de pinocytose de lipides chez la Truite (BERGOT et VODOVAR, 1967 ; IWAI, 1968 a). Faute de pouvoir identifier, en microscopie photonique ou électronique, les acides gras dans la zone apicale, on peut penser qu'ils peuvent diffuser à travers cette zone sans s'accumuler (CARDELL *et al.*, 1967), à moins qu'ils ne soient pas préservés par la fixation. La substance osmiophile localisée dans le reticulum endoplasmique correspond à des triglycérides à l'état estérifié (test du Bleu de Nil en microscopie photonique), mais la topographie des différentes étapes de l'estérification reste indéterminée chez la Truite.

Les structures lamellaires, caractéristiques des cellules absorbantes de Poisson (OZAKI, 1965), ne semblent intervenir, en ce qui concerne l'absorption des acides

gras, que comme un lieu de passage, éventuellement d'accumulation, des LP, au même titre que les espaces intercellulaires épithéliaux avec lesquels elles communiquent. Un rôle dans les échanges minéraux a été attribué à ces structures (YAMAMOTO, 1966).

L'importance des accumulations des particules lipidiques dans les espaces intercellulaires épithéliaux, favorisée par l'absence d'interdigitations entre cellules voisines, laisse penser que la basale constitue un obstacle difficile à franchir. D'après nos observations, le passage dans le stroma ne se ferait pas de façon uniforme, mais au niveau d'interruptions de la basale provoquées soit par un étirement dû aux accumulations de chylomicrons, soit par le passage de lymphocytes.

## 2. *Tunica propria.*

La localisation des particules lipidiques dans la *tunica propria* de la muqueuse de Truite ne correspond pas à ce qui a été observé chez les Mammifères. Chez le Porc, les chylomicrons sont toujours absents de l'espace situé entre la basale des capillaires sanguins et les cellules endothéliales, ainsi que des vésicules pinocytotiques de ces cellules et de la lumière des capillaires (VODOVAR, FLANZY et FRANÇOIS, 1967).

Chez le Rat, MCKAY *et al.* (1967) décrivent des chylomicrons dans la lumière des capillaires sanguins. Cependant ils n'observent pas d'images de passage et il peut s'agir de chylomicrons déversés par la voie lymphatique dans la circulation générale et revenus dans l'intestin avec le sang artériel.

Chez la Truite, au contraire, les particules lipidiques sont présentes non seulement dans la lumière des vaisseaux sanguins, mais également à différents niveaux de la paroi, suggérant une évacuation des particules par voie portale. Ces observations s'opposent à celles de GOHAR et LATIF (1963) qui, chez le poisson *Clarias lazera*, soulignent l'absence de lipides dans les vaisseaux sanguins.

La basale des capillaires sanguins de la *tunica propria* de Truite présente la même structure lâche que celle des capillaires nouvellement formés (FLOREY, 1966) ou de nouveau-nés (SUTER et MAJNO, 1965), chez les Mammifères. Or la basale de ces capillaires laisse passer les chylomicrons à la différence des capillaires normaux de l'adulte.

Le passage de chylomicrons de la lumière du capillaire à l'espace entre les cellules endothéliales et la basale n'a pas lieu, dans les conditions normales chez les Mammifères (SCHOEFL et FRENCH, 1968). Au contraire, un passage de chylomicrons de l'espace péricapillaire à la lumière, via les vésicules pinocytotiques des cellules endothéliales, a été rapporté chez le Poulet (GRANEY, 1967), confirmant les résultats obtenus par voie biochimique (NOYAN *et al.*, 1964).

Les zones d'occlusion entre les cellules endothéliales s'opposent à un passage extracellulaire des LP (KARNOVSKY, 1968). La présence de LP dans certaines des nombreuses vésicules pinocytotiques, indique que celles-ci peuvent assurer entre autres fonctions, leur transport à travers l'endothélium. Le rôle des pores est moins clair car, s'ils peuvent correspondre à des vésicules de pinocytose en décharge (PALADE et BRUNS, 1968), il est possible que leur diaphragme agisse comme un filtre réservant ce transport à d'autres substances que les LP.

Devant l'accumulation des LP dans le réseau des vaisseaux lymphatiques

situé à la base de la muqueuse, on peut penser que l'évacuation de la lymphe est très lente. Ceci pourrait être dû à la présence du *stratum compactum*. Des accumulations importantes de lipides dans la muqueuse ont été observées chez le Saumon royal, pourvu comme la Truite d'un *stratum compactum* (GREENE, 1913). Cette couche est susceptible de déformations suivant la contraction de la tunique musculieuse (BURNSTOCK, 1959). L'obturation des vaisseaux lymphatiques au niveau du *stratum compactum* indiquerait alors, s'il ne s'agit pas d'un effet de la fixation, que l'évacuation de la lymphe de la muqueuse dépend des mouvements de la paroi intestinale.

Reçu pour publication en avril 1970.

## SUMMARY

### FORM AND PATHWAY OF LONG CHAIN FATTY ACID INTESTINAL ABSORPTION IN RAINBOW TROUT. I. — LIPIDES PARTICLES

The small intestinal mucosa of rainbow trout, about 50 g w., acclimatized at 7°C or 22°C, was studied by light and electron microscopy. Mucosal folds are reticulated. In the free upper part of the fold, blood capillaries with loose and irregular basement lamina and with highly fenestrated and vesiculated endothelium were observed. Lymphatic vessels are located in the basal part of the fold intersections.

After giving a long chain fatty acid (oleic, linoleic or stearic) to fasted animals, no particulate lipid was detected in the apical plasmic membrane invaginations of the epithelial absorbing cell. Lipid particles, less than 0,2  $\mu$  in diameter were observed :

a) in the endoplasmic reticulum, golgi vesicles, perinuclear space and lamellar structures of the absorbing cell ;

b) in intercellular spaces of epithelium and *tunica propria*, on each side of the prominent epithelial basement lamina ;

c) between the blood capillary basement lamina and the endothelium, in some pinocytotic vesicles of endothelial cells and in the capillary lumen ;

d) in the lumen of mucosal lymphatic vessels.

The epithelial absorbing cell in trout as in other vertebrates appears to be able to esterify dietary long chain fatty acids, and export them in a form similar to chylomicra or very low density lipoproteins. It is suggested that these particles may leave the trout intestine by two pathways : portal (as in the chicken) and lymphatic (as in mammals). The effectiveness of each pathway in the trout has yet to be demonstrated.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AL HUSSAINI A. H., 1949. On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits : cytology and physiology. *Quart. J. microsc. Sc.*, **90**, 323-354.
- BALASHEV V. N., ZHEMTCHEVNIKOVA L. E., 1966. Intestinal lymphatic bed in some species of fish. (russe) *Arkh. Anat. Histol. Embryol.*, **50**, (6), 79-84.
- BENNET H. S., LUFT J. H., HAMPTON J. C., 1959. Morphological classification of vertebrate blood capillaries. *Amer. J. Physiol.*, **196**, 381-390.
- BERGOT P., FLÉCHON J.-E., 1970. Forme et voie d'absorption intestinale des acides gras à chaîne longue chez la truite arc-en-ciel *Salmo gairdnerii* RICH.. II. Lipides « étalés ». *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* (sous presse).
- BERGOT P., VODOVAR N., 1967. Absorption des acides gras par la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii* RICH.). *C. R. Acad. Sci.*, (Sér. D), **265**, 1530-1532.
- BIERMAN E. L., HAYES T. L., HAWKINS J. N., EWING A. M., LINDGREN F. T., 1966. Particle size distribution of very low density plasma lipoproteins during fat absorption in man. *J. Lipid Res.*, **7**, 65-72.

- BISHOP C. M., ODENSE P. H., 1966. The morphology of the digestive tract of the cod, *Gadus mohhua*. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **23**, 1607-1615.
- BURNSTOCK G., 1959. The morphology of the gut of the Brown Trout (*Salmo trutta*). *Quart. J. microsc. Sc.*, **100**, 183-198.
- CARDELL R. R., BADENHAUSEN S., PORTER K. R., 1967. Intestinal triglyceride absorption in the rat. An electron microscopic study. *J. Cell. Biol.*, **34**, 123-156.
- CASLEY-SMITH J. R., 1962. The identification of chylomicra and lipoproteins in tissue sections and their passage into jejunal lacteals. *J. Cell Biol.*, **15**, 259-277.
- DAWES B., 1930. The absorption of fats and lipoids in the plaice. *J. marine biol. Assoc., U. K.*, **17**, 75-102.
- DOBBINS W. O., 1966. The intestinal mucosal lymphatic in man. A light and electron microscopic study. *Gastroenterology*, **51**, 994-1003.
- FINCK H., 1960. Epoxy resin in electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **7**, 27-31.
- FLOREY L., 1966. The uptake of particulate matter by endothelial cells. *Proc. Roy. Soc. Ser. B, Biol. Sci.*, **166**, 375-383.
- GOHAR H. A. F., LATIF A. F. A., 1963. Gastric and intestinal absorption of olive oil and oleic acid in *Clarias lazera* (C and V). *Publ. mar. biol. Stat. Al Ghardaga (Red Sea)*, **12**, 43-64.
- GRANEY D. O., 1967. Electron microscopic observations on the morphology of intestinal capillaries in the chicken and the transcapillary passage of chylomicra during fat absorption. *Anat. Rec.*, **157**, 250.
- GREENE C. W., 1913. The fat absorbing function of the alimentary tract of the king salmon. *Bull. U. S. Bur. Fisheries*, **33**, 149-175.
- GUNTER H., 1938. Über die Entwicklung der Scheinhautfalten des Darmes von *Salmo irideus*. *Sitzber. K. Ak. Wiss. Wien*, **147**, 1-29.
- HARRIS H. A., 1939. Absorption of fat. *Brit. med. J.*, **26**, 465-466.
- HOLMAN J., 1968. Ultrastructure of globule leucocytes in the lipides resorbing intestinal epithelium of the chick. *Acta Univ. Agric. Fac. Vet. Brno*, **37**, 193-197.
- IDELMAN S., 1965. Conservation des lipides par les techniques utilisées en microscopie électronique *Histochemie*, **5**, 18-23.
- ISSELBACHER K. J., 1966. Biochemical aspects of fat absorption. *Gastroenterology*, **50**, 78-82.
- IWAI T., 1968 a. Fine structure and absorption patterns of intestinal epithelial cells in rainbow trout alevins. *Z. Zellforsch.*, **91**, 366-379.
- IWAI T., 1968 b. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae. V. — Fat absorption in the gut epithelium of goldfish larvae. *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.*, **34**, 973-978.
- JACOBSHAGEN E., 1937. *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wierbeltiere*, Bolk ed., **3**, 563.
- JONES A. L., RUDERMAN N. B., HARRERA M. G., 1967. An electron microscopic and biochemical study of lipoprotein synthesis in the isolated perfused rat liver. *J. Lipid Res.*, **8**, 429-446.
- KARNOVSKY M. J., 1968. The ultrastructural basis of transcapillary exchanges. *J. gen. Physiol.*, **52**, Part 1, 645-955.
- KARRER H. E., COX J., 1960. The striated musculature of blood vessels. II. — Cell interconnection and cell surface. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **8**, 135-150.
- KAY D., ROBINSON D. S., 1962. The structure of chylomicra obtained from the thoracic duct of the rat. *Q. J. exp. Physiol.*, **47**, 258-261.
- KAYAMA M., TSUCHIYA Y., 1959. Fat metabolism in the fish. II. — Intestinal absorption and distribution study of oil in the carp *Cyprinus carpio* LINNÉ. *Tohoku J. agric. Res.*, **10**, 229-236.
- KHALILOV F. K., INYUSHIN V. M., 1965. Histological and histochemical changes of tench intestine during fat absorption. *Izv. Akad. Nauk. Kaz. S. S. R. Ser. Biol. Nauk.*, **3**, 97-103.
- KILANSKI W., 1958. The development of the blood vessels in the folds of the intestine of the sea trout (*Salmo trutta* L.). *Acta biol. Cracov. Ser. Zool.*, **1**, 69-82.
- KOBAYASHI S., 1968. Some observations on the capillary vesicles and the pores. *J. Electron Microsc.*, **17**, 322-326.
- KONJAR S., 1947. Le système des principaux vaisseaux sanguins du tube digestif de la truite (*Salmo irideus* GIBB.) et du barbeau (*Barbus fluviatilis* AG.) *Bull. Acad. Polon. Let. Cl. Sci. mat. natur. Ser. B*, (2), 261-275.
- LISON L., 1960. *Histochimie et cytochimie animales*. Tome II. Gauthier-Villars Paris.
- LONGET F. A., 1868. *Traité de physiologie*. Tome I. — De l'absorption. 338-507, 3<sup>e</sup> éd., Germer-Bailière lib. éd., Paris.
- LOVERN J. R., MORTON R. A., 1939. The distribution of vitamin A and A<sub>2</sub>. *Biochem. J.* **33**, 330-337.
- LUDATSCHER R. M., STEHBENS W. E., 1969. Vesicles of fenestrated and non fenestrated endothelium. *Z. Zellforsch.*, **97**, 169-177.
- LUFT J., 1964. Fine structure of the diaphragme across capillary « Pores » in mouse intestine. *Anat. Rec.*, **148**, 307-308.

- LUZZATI E., 1936. L'assorbimento nelle appendici piloriche dei Teleostei. *Bol. Zool. Torino*, **7**, 167-171.
- McKAY D. G., KAUNITZ H., CZAVOSSY I., JOHNSON R. E., 1967. Electron microscope studies of the absorption of lipids. II. — *Metab. clin. exp.*, **16**, 127-136.
- MAJNO G., 1965. Ultrastructure of the vascular membrane, in *Handbook of Physiol.* Sect. 2. Circulation, vol. III, chap. 64, 2 293-2 375. W. F. Hamilton and P. Dow, ed.
- MILLONIG G., 1961. Advantages of a phosphate buffer for  $OsO_4$  solutions in fixation. *J. appl. Physics*, **32**, 1637.
- NOYAN A., LOSSOV W. J., BROU N., CHAIKOFF I. L., 1964. Pathway and form of absorption of palmitic acid in the chicken. *J. Lipid Res.*, **5**, 538-541.
- OZAKI N., 1965. Some observations on the fine structure on the intestinal epithelium in some marine teleosts. *Arch. histol. jap.*, **26**, 23-38.
- PALADE G. E., BRUNS R. R., 1968. Structural modulations of plasmalemmal vesicles. *J. Cell. Biol.*, **37**, 633-649.
- PALAY S. L., KARLIN L. J., 1959. An electron microscopic study of the intestinal villus. I. — The fasting animal. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **5**, 363-371.
- PALAY S. L., KARLIN L. J., 1959. An electron microscopic study of the intestinal villus. II. — The pathway of fat absorption. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **5**, 373-383.
- PALAY S. L., 1960. On the appearance of absorbed fat droplets in the nuclear envelope. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **7**, 391-392.
- PALAY S. L., REVEL J., 1964. The morphology of fat transport. In : MANG H. *Proceedings of an international symposium on lipid transport*, 33-69, Ch. C., Thomas, ed., Springfield, 111.
- PAPP M., RÖHLICH P., RUSZNYAK I., TÖRÖ I., 1962. An electron microscopic study of the central lacteal in the intestinal villus of the cat. *Z. Zellforsch.*, **57**, 475-486.
- RAZUMOV M. I., 1960. The absorption of fat from the intestine. An experimental morphological study. (russe). *Vopr. Pitaniya*, **19**, 29-35.
- REYNOLDS E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**, 208-212.
- RHODIN J. A. G., 1962. The diaphragme of capillary endothelial fenestrations. *J. Ultrastruct. Res.*, **6**, 171-185.
- RUDERMAN N. B., RICHARDS K. C., VALLES DE BOURGES V., JONES A. L., 1968. Regulation of production and release of lipoproteins by the perfused rat liver. *J. Lipid Res.*, **9**, 613-619.
- SCHOEFL G. I., 1968. The ultrastructure of chylomicra and of the particles in an artificial fat emulsion. *Proc. R. Soc., B.*, **169**, 147-152.
- SCHOEFL G. I., FRENCH J. E., 1968. Vascular permeability to particulate fat: morphological observations on vessels of lactating mammary gland and lung. *Proc. R. Soc., B.*, **169**, 153-165.
- SELIGMAN A. M., WASSERKRUG H. L., HANKER J. S., 1966. A new staining method (OTO) for enhancing contrast of lipid-containing membranes and droplets in osmium tetroxide fixed tissue with osmophilic thiocarbonylhydrazide (TCH). *J. Cell Biol.*, **30**, 424-432.
- SIVADAS P., 1965. Absorption of fat in the alimentary canal of *Tilapia mossambica* (PETERS) (Teleostei). *J. cell comp. Physiol.*, **645**, 249-254.
- SUTER E. R., MAJNO G., 1965. Passage of lipid across vascular endothelium in newborn rats. An electron microscopic study. *J. Cell Biol.*, **27**, 163-177.
- TSUCHIYA Y., JAYAMA M., 1958. Studies on the conjugated fatty acids. Part. III. — Fat absorption and distribution study in fish. I. Application to the conjugated fatty acids for the research of the fat metabolism of the carp, *Cyprinus carpio* LINNÉ. *Tohoku J. agric. Res.*, **9**, 41-52.
- VASILIEVA N. E., KOROVINA V. M., 1969. Comparative histological analysis of mid-gut of some salmonidae. (russe). *Vop. Ichtyol.*, **9**, 191-195.
- VODOVAR N., FLANZY J., FRANÇOIS A. C., Répartition des acides gras ingérés entre vaisseaux sanguins et lactéales centrales dans le stroma des villosités. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, **7**, 423-435.
- WEINREB E. L., BILSTAD N. M., 1955. Histology of the digestive tract and adjacent structures of the rainbow trout, *Salmo gairdnerii irideus*. *Copeia*, **3**, 194-195.
- YAMAMOTO T., 1966. An electron microscopic study of the columnar epithelial cell in the intestine of fish water teleosts: Goldfish (*Carassius auratus*) and Rainbow trout (*Salmo irideus*). *Z. Zellforsch.*, **72**, 66-67.



## PLANCHE I

Zone apicale et sous-apicale de la cellule épithéliale absorbante (coupes légèrement obliques par rapport au grand axe de la cellule absorbante). Base des microvillosités (MV). Invaginations (I) de la membrane plasmique libre apparaissant sous forme de tubules ou de vésicules. Membrane plasmique latérale (MP). Particules lipidiques (LP) dans la lumière du reticulum endoplasmique. Mitochondries (M) ( $\times 39\ 000$ ). Truites acclimatées à 7°C.

Fig. 1

8 h après administration d'acide linoléique :  
Fixation simple, double coloration.

Fig. 2

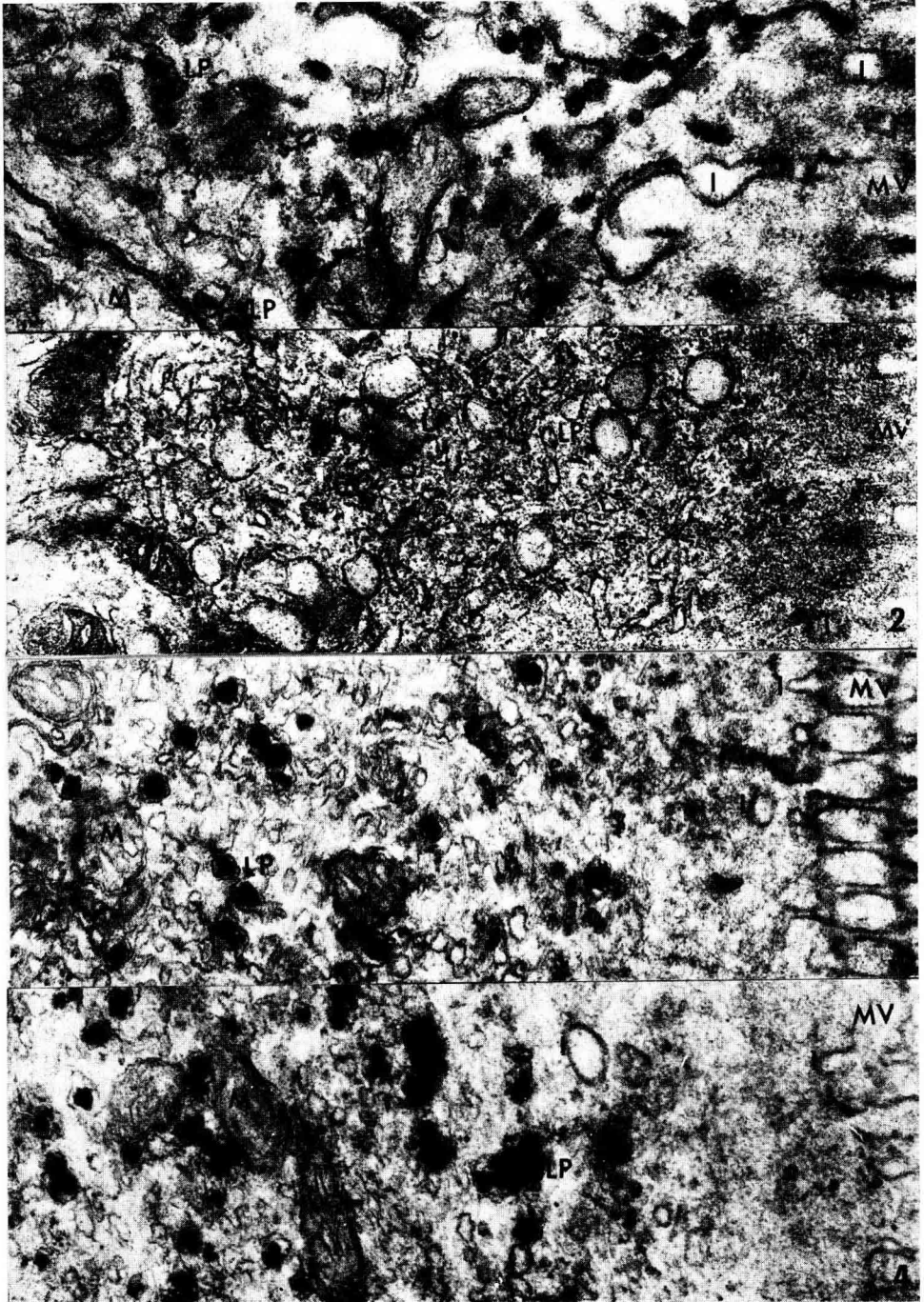
8 h après administration d'acide oléique :  
Double fixation, double coloration.

Fig. 3

28 h après administration d'acide oléique :  
Fixation simple, double coloration.

Fig. 4

*id.* Fixation simple, méthode OTO.



P. BERGOT, J.-E. FLÉCHON

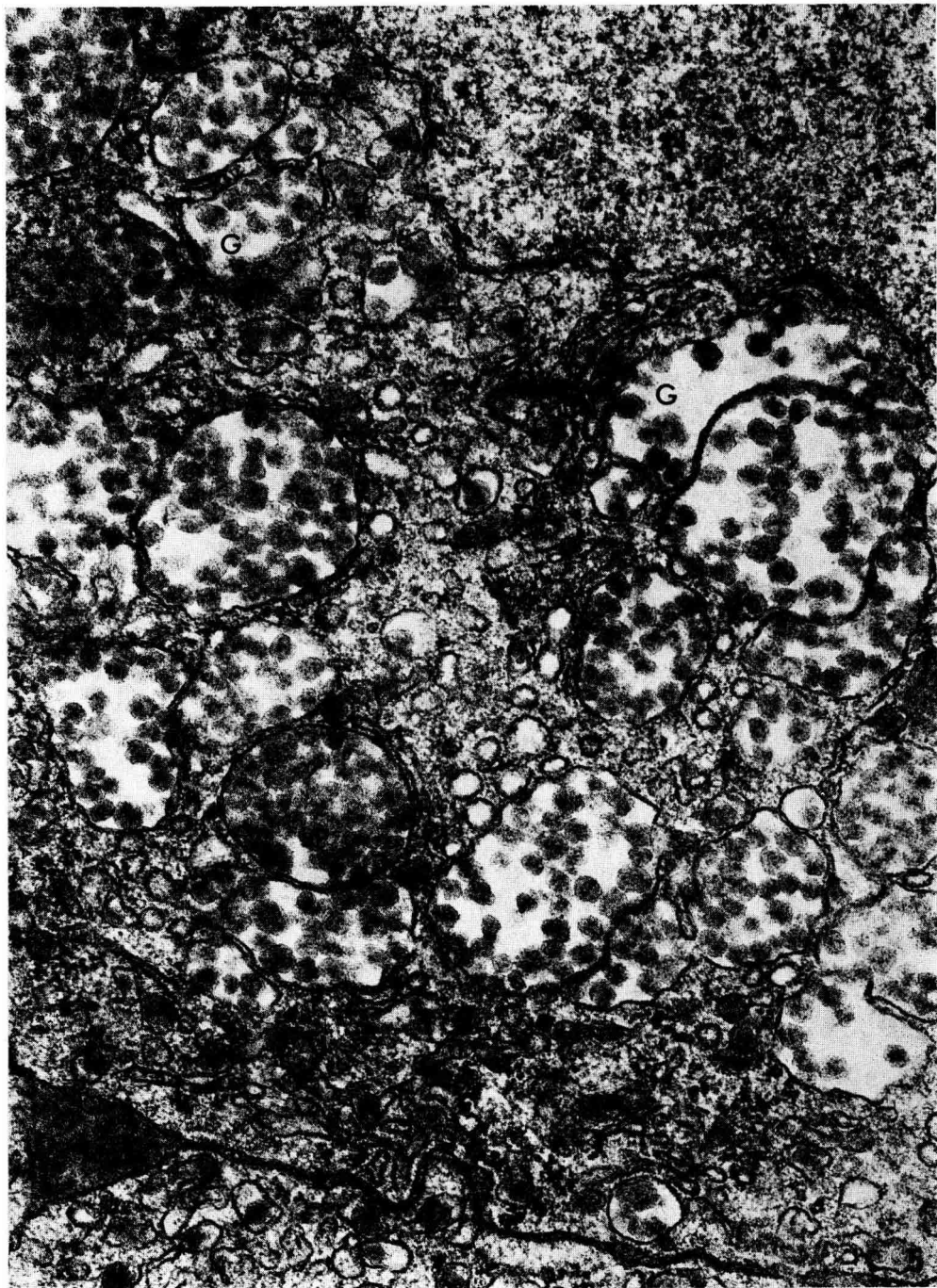
PLANCHE II

Truite acclimatée à 7 °C, 16 h après administration d'acide oléique. Fixation simple. Double coloration.

FIG. 5

Coupe transversale de la cellule absorbante au niveau du noyau (N). Lipides en particules (LP) dans les vésicules golgiennes (GO) et l'espace intercellulaire (EI).

X 50 000.



P. BERGOT, J.-E. FLÉCHON

PLANCHE III

Partie basale de l'épithélium et stroma. Truite acclimatée à 22 °C, 16 h après administration d'acide oléique. Fixation simple. Double coloration.

FIG. 6

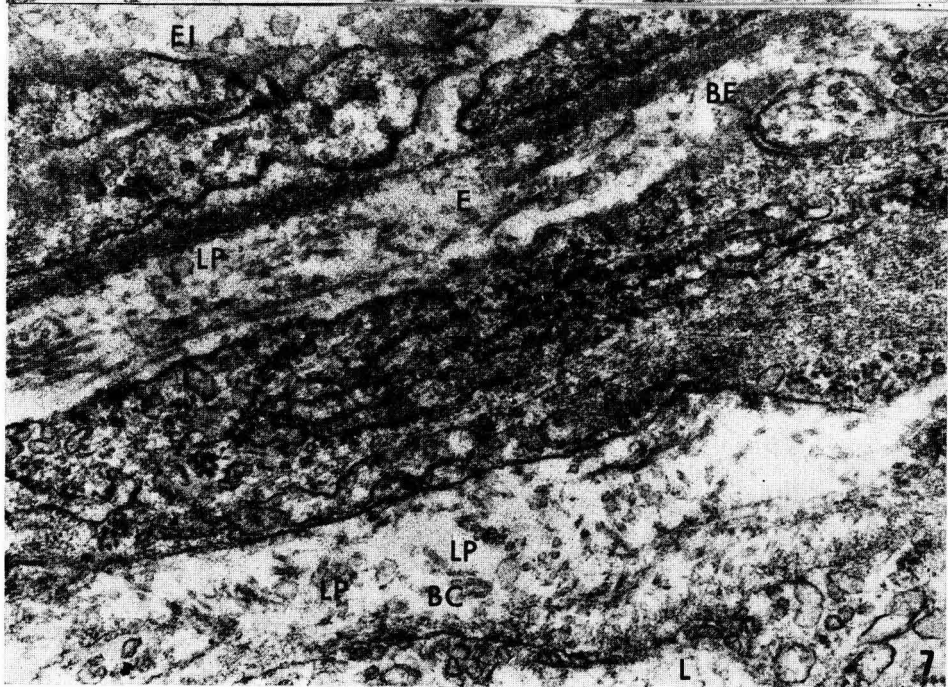
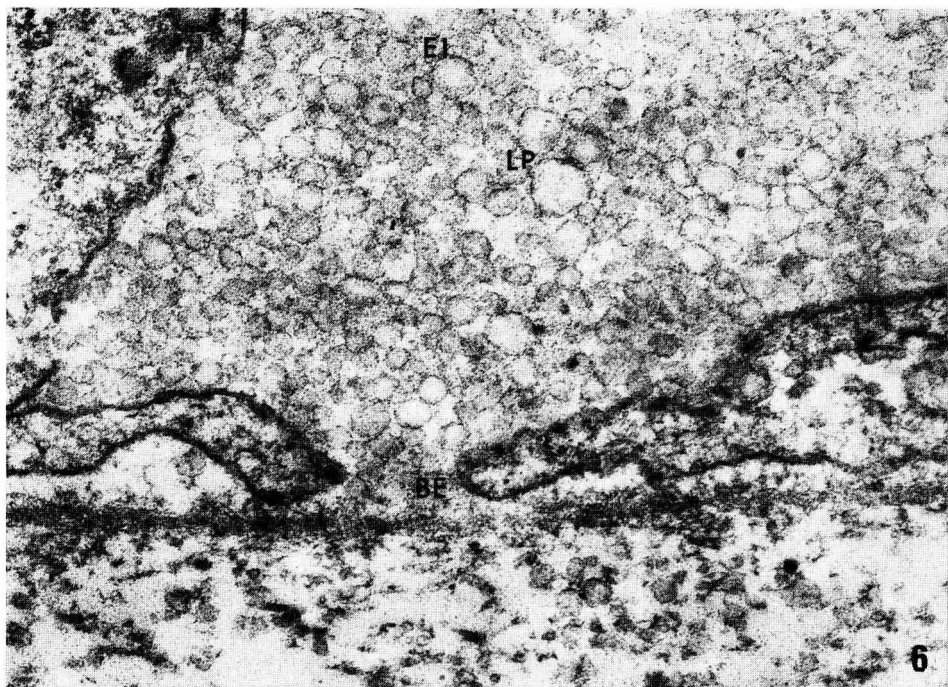
Accumulation de particules lipidiques (LP) dans l'espace intercellulaire (EI) au-dessus de la basale sous épithéliale (BE).

X 60 000.

FIG. 7

Étirement (E) de la basale sous épithéliale (BE), épaisse, laquelle se distingue de la basale entourant un capillaire sanguin (BC), lâche et irrégulière. L = lumière du capillaire.

X 40 000.



P. BERGOT, J.-E. FLÉCHON

#### PLANCHE IV

Parois de capillaires sanguins du tissu conjonctif sous épithélial. Truite acclimatée à 22 °C, 16 h après administration d'acide oléique. Fixation simple. Double coloration.

##### FIG. 8

Coupe transversale de la paroi d'un capillaire sanguin. Basale du capillaire (BC) lâche et irrégulière. Vésicules pinocytotiques (V) et pores (P) obturés par un diaphragme (d).

X 55 000.

##### FIG. 9

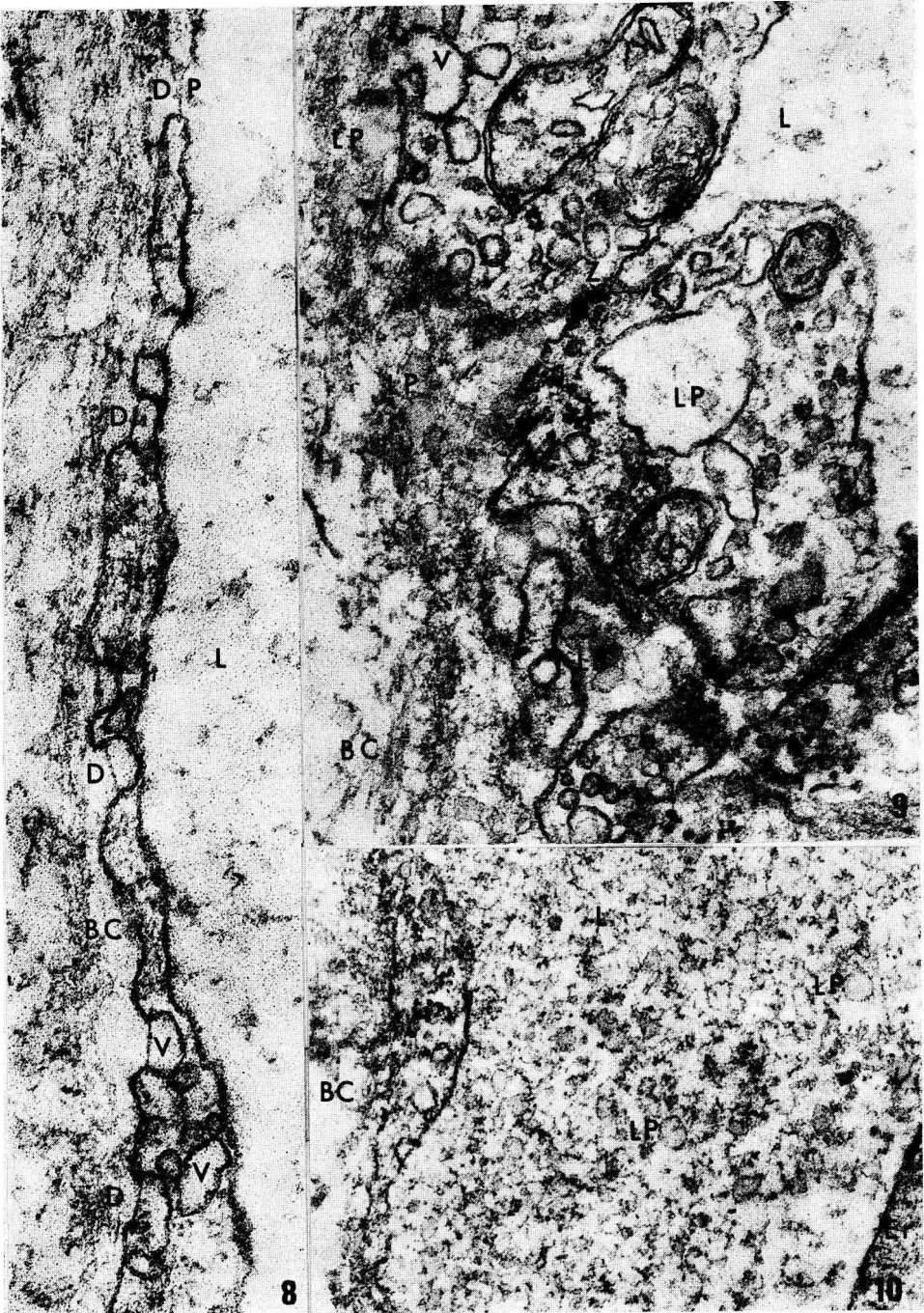
Coupe très oblique de la paroi d'un capillaire sanguin. Zones d'occlusion (Z) entre les cellules endothéliales. Lipides en particules (LP) entre la basale du capillaire (BC) et la membrane plasmique des cellules endothéliales.

X 45 000.

##### FIG. 10

Lipides en particules (LP) dans la lumière (L) d'un capillaire sanguin. Er : érythrocyte.

X 35 000.



P. BERGOT, J.-E. FLÉCHON

## PLANCHE V

Truite acclimatée à 22 °C, 16 h après administration d'acide oléique. Fixation simple. Double coloration.

FIG. 11

Microscopie photonique. Coupe semi-fine parallèle à l'axe de l'intestin et passant par la partie inférieure des plis.

Dans l'axe formé par la réunion du stroma des plis (S) on reconnaît une artériole (A), une veinule (V) et un vaisseau lymphatique (LY) dont la paroi contient des granules. Ep. = épithélium.

X 1 000.

FIG. 12

Mêmes vaisseaux que dans la figure 11. Coupe parallèle à la précédente mais plus proche de la base des plis.

X 1 000.

FIG. 13

Microscopie électronique. Coupe à mi-hauteur des plis.

Lipides en particules (LP) dans la lumière d'un vaisseau lymphatique (Ly) et le stroma (S). Absence de basale autour des cellules endothéliales (CEL) contenant des granules (G). Basale (BC) et lumière (L) d'un vaisseau sanguin.

X 21 000.

