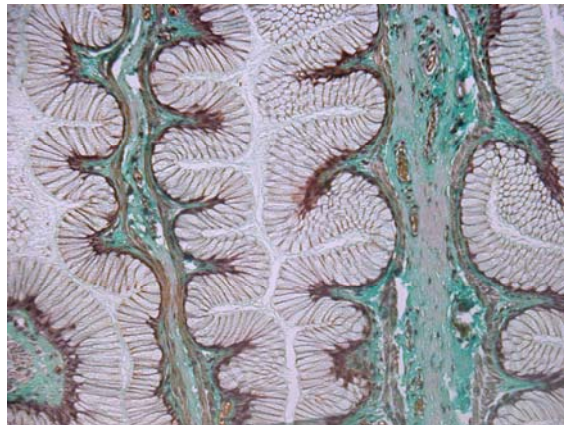


Par
Cécile Helmstetter

Réponses morpho-fonctionnelles du système digestif du Python de Birmanie (*Python molurus bivittatus*) au jeûne et à la réalimentation.



Soutenue publiquement le 13 Octobre 2008 devant la commission d'examen :

Yvon Le Maho

Directeur de recherche, CNRS, Strasbourg

Directeur de thèse

Jean-Louis Gendrault

Professeur, Université Louis Pasteur, Strasbourg

Rapporteur Interne

Vincent Bels

Professeur, Muséum National d'Histoire Naturelle
externe

Rapporteur

Xavier Bonnet

Directeur de recherche, CNRS, Chizé
externe

Rapporteur

Jean-Hervé Lignot

Maître de Conférences, Université Louis Pasteur, Strasbourg

Membre Invité



Thèse présentée pour l'obtention du titre de
Docteur de l'Université Louis Pasteur
Strasbourg I

Discipline : Sciences du vivant

Par

Cécile Helmstetter

Réponses morpho-fonctionnelles du système digestif du Python de Birmanie (*Python molurus bivittatus*) au jeûne et à la réalimentation.
Volume 1 : Textes, Tableaux et Figures.

Soutenue publiquement le 13 Octobre 2008 devant la commission d'examen :

Yvon Le Maho

Directeur de recherche, CNRS, Strasbourg

Directeur de thèse

Jean-Louis Gendrault

Professeur, Université Louis Pasteur, Strasbourg

Rapporteur Interne

Vincent Bels

Professeur, Muséum National d'Histoire Naturelle

Rapporteur externe

Xavier Bonnet

Directeur de recherche, CNRS, Chizé

Rapporteur externe

Jean-Hervé Lignot

Maître de Conférences, Université Louis Pasteur, Strasbourg

Membre Invité

Remerciements

Aucun travail de thèse n'est le fait d'un labeur solitaire mais requiert l'apport de multiples personnalités, que j'ai le plaisir de remercier.

Je remercie tout d'abord Monsieur Yvon Le Maho, qui m'a donné l'opportunité de réaliser ce travail de recherche en m'accueillant au sein de son laboratoire, mais aussi pour sa relecture attentive et ses précieuses corrections du mémoire.

Je remercie également Monsieur Jean-Hervé Lignot, qui m'a initiée à la microscopie, encadrée, prodiguée de nombreux conseils et relu attentivement ce manuscrit. Son analyse critique des résultats et son enthousiasme contagieux ont été déterminants pour mener à bien ces recherches.

Celles-ci n'auraient d'ailleurs pas pu être réalisables sans la contribution des différents membres de mon équipe : Nathalie Reix, Matthieu T'Flachebba, François Reichardt et Alain Ackermann. Les collaborations de Monsieur Stephen Secor et Monsieur Robert Pope ont également été précieuses.

Je suis reconnaissante à Monsieur Jean-Louis Gendrault, Monsieur Vincent Bels et Monsieur Xavier Bonnet d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse.

Je remercie aussi tous ceux qui m'ont apporté leur aide et leurs encouragements tout au long de ces années : Monsieur Jean-Patrice Robin toujours pertinent et consciencieux ; Mesdames Jacqueline Brencklé, Nicole Liewig, Caroline Habolt, Martine Schneider, Brigitte Gaillard, Hélène Gachot pour leurs encouragements ainsi que pour leur aide administrative ou technique ; Sabrina et Audrey, mes comparses de DEA et évidemment ma famille et ma belle-famille.

Et enfin, je remercie mes irremplaçables compagnons de paillasse : Georges B., Pat M., Jaco P., Michel P., Bobby McF., Zachary B., Gabor S., Marcus M., et Chet B.

Sommaire

Lexique des acronymes fréquemment utilisés dans le manuscrit	13
Introduction	
I) OBJECTIFS ET PLAN DE TRAVAIL	15
II) LES SERPENTS : ORIGINE ET EFFECTIF	16
A) <u>ORIGINE DES SERPENTS</u>	16
B) <u>EFFECTIF</u>	17
III) BIOLOGIE DE <i>PYTHON MOLURUS BIVITTATUS</i>	18
A) <u>SYSTEMATIQUE, CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET ANATOMIE</u>	18
B) <u>REPARTITION GEOGRAPHIQUE NATURELLE</u>	21
C) <u>ECOLOGIE</u>	21
1) Habitats et Comportement	21
2) Développement et Reproduction	23
3) Comportement alimentaire	23
4) Perception en rapport avec la prise alimentaire	25
5) Le squelette	25
a) <u>Le crâne</u>	26
b) <u>Les vertèbres et les côtes</u>	26
6) Statut de conservation	27
IV) LE JEUNE DANS LE MONDE ANIMAL- ASPECTS COMPARATIFS	27
A) <u>QUELS SONT LES DIFFERENTS TYPES DE JEUNES CONNUS ?</u>	27
1) Le jeûne naturel	28
a) <u>Jeûne et optimisation du succès reproducteur</u>	28
b) <u>Jeûne et stratégies d'évitement de la mauvaise saison</u>	29
2) Le jeûne imposé	30
B) <u>QUELLES SONT LES REPERCUSSIONS HISTOLOGIQUES, PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DU JEUNE ?</u>	31

1) Description des phases du jeûne chez les Endothermes	31
2) Le jeûne des Ectothermes procède t- également par phase ?	35
3) Comment réduire son métabolisme ?	37
a) <u>Réduire le métabolisme basal ou standard</u>	37
• <i>Par la réduction de la température</i>	37
• <i>Par un remodelage organique</i>	37
• <i>Par la réduction de la synthèse protéique</i>	40
• <i>Par des adaptations cellulaires</i>	40
b) <u>Réduire l'activité locomotrice</u>	40
c) <u>Réduire ou inhiber la reproduction et des soins parentaux</u>	41
V) JEUNE ET REALIMENTATION DU PYTHON DE BIRMANIE	42
A) <u>COMPORTEMENT NATUREL</u>	42
B) <u>REPONSES PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES AU JEUNE DES SERPENTS</u>	42
C) <u>REPONSES A LA REALIMENTATION EXPERIMENTALE</u>	43
1) Observations et Mesures	43
a) <u>Quelles sont les réponses fonctionnelles ?</u>	43
b) <u>Quelles sont les réponses morphologiques ?</u>	45
c) <u>Quels sont les signaux inducteurs des réponses morfo-fonctionnelles du tractus digestif ?</u>	
d) <u>Quels sont les agents régulateurs de la période post-prandiale ?</u>	48
• <i>Au niveau intestinal</i>	48
• <i>Au niveau cardio-vasculaire</i>	48
• <i>Au niveau de l'équilibre acido-basique</i>	49
e) <u>Quelles sont les hypothèses avancées pour expliquer la croissance intestinale ?</u>	49
2) Les apports de l'action dynamique spécifique	51
a) <u>Qu'est-ce que la SDA?</u>	51
b) <u>Comment est mesurée la SDA ?</u>	52
c) <u>Quels sont les paramètres qui influencent la SDA ?</u>	52
d) <u>Quelles sont les conclusions ?</u>	53
3) Les problématiques abordées dans cette thèse	54

Matériels et Méthodes

I) ANIMAUX	60
II) CONDITIONS D'ELEVAGE	60
III) EUTHANASIE ET DISSECTION	62
IV) TRAITEMENT DES ECHANTILLONS	62
A) HISTOLOGIE ET TECHNIQUES DE MICROSCOPIE OPTIQUE	64
1) Obtention de coupes fines	64
2) Techniques de coloration des coupes fines	64
a) <u>Coloration au trichrome de Masson Variante Goldner</u>	64
b) <u>Coloration au rouge d'alizarine: méthode de Dahl et McGee-Russel</u>	66
c) <u>Coloration au nitrate de cobalt : méthode de Stoelzner</u>	66
d) <u>Coloration au nitrate d'argent : méthode de Von Kossa</u>	66
e) <u>Coloration au noir Soudan</u>	66
3) Technique de marquage sur coupes fines	68
a) <u>Marquage des cellules en phase S du cycle cellulaire : marquage au BrdU</u>	68
b) <u>Marquage d'enzymes par immunofluorescence</u>	68
4) Obtention de coupes semi-fines	70
5) Coloration des coupes semi-fines : technique de Mayoz	70
6) Quantification du renouvellement cellulaire	71
B) TECHNIQUES DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE	72
1) Microscopie électronique à balayage	72
a) <u>Techniques d'observation</u>	72
b) <u>Aperçu historique de l'utilisation du MEBE appliqué à la biologie</u>	72
2) Microanalyse chimique EDX (Energy Dispersive X-ray spectrometry) couplée à la microscopie électronique à balayage environnementale	75
3) Observations en microscopie électronique en transmission (MET)	78
C) ANALYSE PAR WESTERN BLOTTING SDS-PAGE	79
D) DETERMINATION DE LA COMPOSITION CORPORELLE DES ANIMAUX	79
1) Lyophilisation des échantillons	79

2) Extraction des lipides totaux	80
E) <u>STATISTIQUES</u>	80
Etudes morphologiques	82
I) L'ŒSOPHAGE	83
II) L'ESTOMAC	84
A) <u>LE CARDIA</u>	84
B) <u>LE FUNDUS</u>	84
C) <u>LE PYLORE</u>	86
III) L'INTESTIN GRELE	86
IV)LE CAECUM	87
V) LE COLON	87
VI)LE CLOAQUE	88
VII) LE FOIE	88
VIII)LE PANCREAS	89
IX)LES REINS	90
X) LES POUMONS	91

Résultats

I) DETERMINATION DE LA COMPOSITION CORPORELLE EN LIPIDES DES ANIMAUX	94
II) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR L'ESTOMAC DE <i>P. MOLURUS</i>	
ASPECTS HISTOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES	95
A) <u>MICROSCOPIE ELECTRONIQUE</u>	95
1) L'estomac au MEBE	95
2) Le Fundus au MET	96
3) Mesure de la hauteur des cellules oxyntopeptiques	97
B) <u>IMMUNOHISTOCHEMIE.</u>	100
1) Comportement de la H ⁺ /K ⁺ ATPase (ou pompe à protons)	100
2) Comportement de la Na ⁺ /K ⁺ ATPase	100
C) <u>REPLICATION CELLULAIRE</u>	101
III) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR L'INTESTIN DE <i>P. MOLURUS</i>	
ASPECTS HISTOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES	104
A) <u>MICROSCOPIE OPTIQUE</u>	104
B) <u>MICROSCOPIE ELECTRONIQUE</u>	105
1) Microscopie électronique en balayage en mode conventionnel (MEB) et environnementale (MEBE)	105
2) Microscopie électronique en transmission (MET)	107
C) <u>LOCALISATION ET EXPRESSION DE LA Na⁺/K⁺ ATPase</u>	109
1) Immunomarquage sur coupes fines	109
2) Werstern-blot et immunomarquage	109
D) <u>REPLICATION CELLULAIRE</u>	109
IV) EFFETS D'UNE REALIMENTATION AVEC DES PROIES FORTEMENT DELIPEEES SUR L'HISTOLOGIE DE L'INTESTIN GRELE DE <i>P. MOLURUS</i>	113
A) <u>MICROSCOPIE OPTIQUE</u>	113
B) <u>MICROSCOPIE ELECTRONIQUE</u>	114
V) IDENTIFICATION D'ELEMENTS SPHEROÏDES DANS LES VILLOSITES INTESTINALES	116
A) <u>ETUDES D'ULTRA-FINES (TEM)</u>	116

B) <u>COLORATIONS DES COUPES FINES</u>	116
C) <u>DONNEES DES MICRO-ANALYSES</u>	117
VI) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR LE COLON DE <i>P. MOLURUS</i>	
ASPECTS HISTOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES	118
A) <u>MICROSCOPIE ELECTRONIQUE</u>	118
B) <u>REPLICATION CELLULAIRE</u>	118
VII) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR LE RECYCLAGE INTRACELLULAIRE	120

Discussion

I) L'ACQUISITION DES FONCTIONNALITES ET DE L'EFFICACITE DIGESTIVE SUITE A LA REALIMENTATION	124
A) <u>ACQUISITION IMMEDIATE ET COMPLETE (P. MOLURUS)</u>	124
1) Acquisition de la morphologie épithéliale stomacale	124
2) Acquisition de la morphologie épithéliale intestinale	124
3) Acquisition des capacités biochimiques stomacale et intestinale	125
B) <u>ACQUISITION IMMEDIATE MAIS PARTIELLE (ESSENTIELLEMENT BIOCHIMIQUE) CHEZ D'AUTRES ESPECES (~JEUNE COURT)</u>	126
C) <u>ACQUISITION ANTICIPEE (SITUATIONS CRITIQUES)</u>	126
D) <u>ACQUISITION RETARDEE DE LA FONCTIONNALITE (~JEUNE LONG)</u>	127
E) <u>INFLUENCE DE LA COMPOSITION DU REPAS SUR LE DELAI D'ACQUISITION</u>	129
F) <u>COMPENSATION MORPHOLOGIQUE DU JEUNE A LA REALIMENTATION</u>	129
II) MECANISMES RESPONSABLES DE L'ACQUISITION DES CARACTERES MORPHO-FONCTIONNELS DU TRACTUS INTESTINAL SUITE A LA REALIMENTATION	130
A) <u>AU NIVEAU STOMACAL</u>	130
1) Conversion structurelle : translocation du STV	130
2) Activation des fonctionnalités enzymatiques	132
3) Renouvellement cellulaire	133
B) <u>AU NIVEAU INTESTINAL</u>	134
1) Action et origine des gouttelettes lipidiques	134
2) Action de la pression hydrostatique	135
3) Autres procédés pouvant potentiellement participer à une hypertrophie cellulaire	136
4) Action de la multiplication cellulaire	136
5) Modulation de la hauteur des microvillosités	138
6) Mécanismes plausibles de la modulation de la hauteur des microvillosités	139
C) <u>AU NIVEAU COLIQUE</u>	140
D) <u>AU NIVEAU DES AUTRES ORGANES</u>	141
1) Le foie	141
2) Le pancréas	142
3) Le cœur	142

4) Autres	142
E) <u>RENOUVELLEMENT DIFFERENTIEL DES ORGANES</u>	142
III) ORIGINE DU CARBURANT ENERGETIQUE MIS EN JEU LORS DES PROCESSUS DE REALIMENTATION	143
IV) CONTRIBUTION DE <i>P. MOLURUS</i> AUX COUTS ENERGETIQUES ASSOCIES À LA REALIMENTATION	144
V) RAPPORT JEUNE-FONCTION DE REPRODUCTION : ELEMENTS DE REFLEXION	146
VI) <i>P. MOLURUS</i> : UN NOUVEAU MODELE D'ETUDE POUR LA BIOLOGIE CELLULAIRE ?	146
A) <u>LES CELLULES INTESTINALES ASSOCIEES AUX SPHEROÏDES</u>	146
1) Les sphéroïdes de <i>P. molurus</i>	153
2) Les sphérites des « Invertébrés »	154
a) <u>Description</u>	154
b) <u>Composition Chimique</u>	154
c) <u>Genèse</u>	154
d) <u>Rôle</u>	156
e) <u>Elimination</u>	156
3) Interprétation des sphéroïdes de <i>P. molurus</i>	
B) <u>LES CELLULES DU CAECUM ET DU COLON</u>	156
C) <u>LES ENDOSOMES</u>	
1) Les corps multi-vésiculaires	
2) Comment s'opère le tri des molécules dans les CMVs ?	157
3) Quelles sont les fonctions des endosomes ?	158

Conclusions et Perspectives 160

Références bibliographiques 164

Lexique des acronymes fréquemment utilisés dans le manuscrit

ATP : Adénosine triphosphate

ADN: Acide désoxyribonucléique

BrdU: 5- bromo-2'-désoxyuridine

CCK: Cholécystokinine

CRM: Cellule riche en mitochondries

CMV: Corps multi-vésiculaires

CITES: Convention for International Trade of Endangered Species.

DAB: 3-3' diaminobenzidine

Da : Dalton

DEPE : Département d'Ecologie, de Physiologie et Ethologie

GIP: Gastric inhibitor polypeptide

EMBL: European Molecular Biology Laboratory

HR : Humidité relative

HRP : Horse radish peroxydase

MEB ou CSEM : microscopie électronique à balayage en mode conventionnel (Conventional scanning electronic microscope)

MEBE ou ESEM : microscopie électronique à balayage en mode environnemental (*Environmental scanning electronic microscope*)

MET ou TEM : microscopie électronique en transmission (Transmission electronic microscope)

MO : Microscopie optique

O₂ : Dioxygène

PFA : Paraformaldéhyde

PBS : Phosphate buffer saline (*tampon phosphate*)

PM : Poids moléculaire

SDA : Specific dynamic action (*thermogénèse liée à l'alimentation*)

UV : Ultra-violet

VIL : Vésicule intra-lumenale

VIP : Vasoactive Intestinal Peptid

Introduction

I) OBJECTIFS ET PLAN DE TRAVAIL

Le jeûne et la régulation des fonctions digestives sont des thèmes qui ont été longuement étudiés chez les Vertébrés supérieurs. La description des étonnantes capacités de jeûne du Python de Birmanie, *Python molurus*, a ainsi soulevé de nombreuses interrogations et laissé supposer l'existence de réponses physiologiques ajustées à la privation d'aliments différentes de celles des Mammifères. Cette thèse s'inscrit dans ce contexte d'exploration fonctionnelle du système digestif de *Python molurus bivittatus*. Elle a en effet pour objet de décrire les adaptations morpho-fonctionnelles requises par le jeûne et la réalimentation, d'en déterminer les mécanismes sous-jacents et de comprendre quelles en sont les portées écologiques.

Deux constats ont permis d'établir les problématiques de cette étude : le premier, commun à de nombreuses espèces soumises au jeûne prolongé, est le fait que *P. molurus* puisse endurer de longs jeûnes post-prandiaux à l'instar d'animaux migrants, hibernants ou en période de reproduction. Cette aptitude implique l'existence et l'instauration d'un système efficace d'économie d'énergie au niveau des organes alors inusités comme les organes digestifs.

Le second, présent chez *P. molurus*, est sa capacité à retrouver ses fonctionnalités digestives quasi-simultanément à l'ingestion de sa proie, ce qui permet d'imaginer des ajustements physiologiques particuliers à cette espèce. En effet, la plupart des espèces animales requièrent un délai de recouvrement de leurs aptitudes digestives plus ou moins important lorsqu'elles sont soumises à un jeûne prolongé. Cette même nécessité s'est révélée dans l'espèce humaine lors du retour de prisonniers de camps de rétention et de concentration. Nombreux en effet sont ceux qui affamés ont succombé de façon inattendue à des repas ordinaires. Aujourd'hui des protocoles stricts de réalimentation sont appliqués dans de telles situations, comme par exemple l'arrêt d'une grève de la faim ce qui en soi démontre la réalité d'un délai nécessaire au recouvrement des fonctionnalités digestives.

Cependant, les Serpents chassant à l'affût ne peuvent attendre la restauration de leur tractus digestif au risque de voir leur proie s'échapper. L'immédiateté de leur réalimentation dégage plusieurs problématiques. Comment *P. molurus* peut-il vaincre l'inertie probablement

inhérente à la réversion des dispositifs d'économie mis en place durant le jeûne ? Comment retrouve t-il des fonctionnalités digestives avec potentiellement peu d'énergie ? Existe t-il un point d'irréversibilité du jeûne chez ces animaux, pareillement à ce qui est observé chez les Oiseaux et les Mammifères ?

Des travaux antérieurs, décrits ultérieurement, ont montré que des variations structurelles sont corrélées à cette réhabilitation des fonctionnalités digestives. C'est pourquoi nous avons préalablement procédé à un travail de description morpho-fonctionnelle des tissus digestifs de cette espèce. Puis pour tester, les hypothèses avancées concernant la dynamique de la croissance cellulaire, une mesure de la multiplication des cellules de certains organes digestifs a été effectuée. Des études annexes, enfin, se sont greffées à ces principales directives de travail, enrichissant notre conception de la dynamique digestive qui s'opère lors de la réalimentation, étape initiatrice de la mise en place des structures et du métabolisme qui permettent au Python de Birmanie de vivre sans apport énergétique prolongé.

II) LES SERPENTS : ORIGINE ET EFFECTIF

A) ORIGINE DES SERPENTS

L'analyse de séquences de neuf gènes nucléaires indique que les plus proches parents des Squamates sont les Anguimorphes ou les Iguanes (Vidal et Hedges, 2005). L'évolution et la diversification des Squamates semblent s'être principalement effectuée durant le Trias et le Jurassique ; cependant, les processus par lesquels les Ophidiens ont acquis leur forme allongée et perdu leurs membres restent discutés, peu de fossiles de Serpents dotés de membres étant connus à ce jour. L'étude du fossile du Serpent *Wonambi* (Madtsoiidae) semble indiquer que cette morphologie filiforme ne dériverait pas d'un petit ancêtre fouisseur, assertion jusqu'alors largement répandue, mais d'un gros animal, vivant activement à la surface de l'eau ou de la terre (Scanlon et Lee, 2000).

La découverte d'un fossile d'Ophidien, *Najash rionegra*, daté du Crétacé supérieur possédant un sacrum muni d'une ceinture pelvienne et de membres robustes et fonctionnels a fourni des informations nouvelles. Ce spécimen possède des adaptations crâniennes, vertébrales et morphologiques associées à une vie souterraine, qui permettent de supposer qu'il menait une vie active en surface en utilisant occasionnellement des tunnels conçus par

des animaux fouisseurs. Cette découverte soutient ainsi l'hypothèse d'une origine terrestre plutôt que marine des Serpents. (Apesteguia et Zaher, 2006)

La majorité des recherches menées sur l'appareil alimentaire des Ophidiens repose sur l'hypothèse que les adaptations permettant l'ingestion de grosses proies ont joué un rôle prépondérant dans les succès évolutif et écologique des Serpents. Ces innovations auraient conduit à la divergence phénotypique des Macrostromates (littéralement : grande bouche)-auxquels appartiennent les Pythons- alors capables de se nourrir de très gros animaux. Ce postulat est plausible étant donné que ce groupe de Serpents est de loin le plus répandu et qu'il consomme des proies diversifiées en terme de nature, de taille et de forme comparativement aux Serpents des autres clades. (Vincent *et al.*, 2006)

Des analyses comparatives ont récemment montré que la largeur de la tête est une variable qui, en plus d'être dépendante de la longueur du corps, est significativement couplée à la masse maximale moyenne pouvant être ingérée par les Serpents. Ainsi, l'évolution de la macrophagie chez ces animaux est étroitement liée à une augmentation de la largeur de la tête qui définit l'espace disponible pour le passage de la nourriture dans le pharynx. D'autres données indiquent que ce paramètre covarie avec la longueur des mâchoires : ainsi, les sélections évolutives agissant sur la largeur de la tête engendrent de façon concomitante des modifications de la longueur des mâchoires.

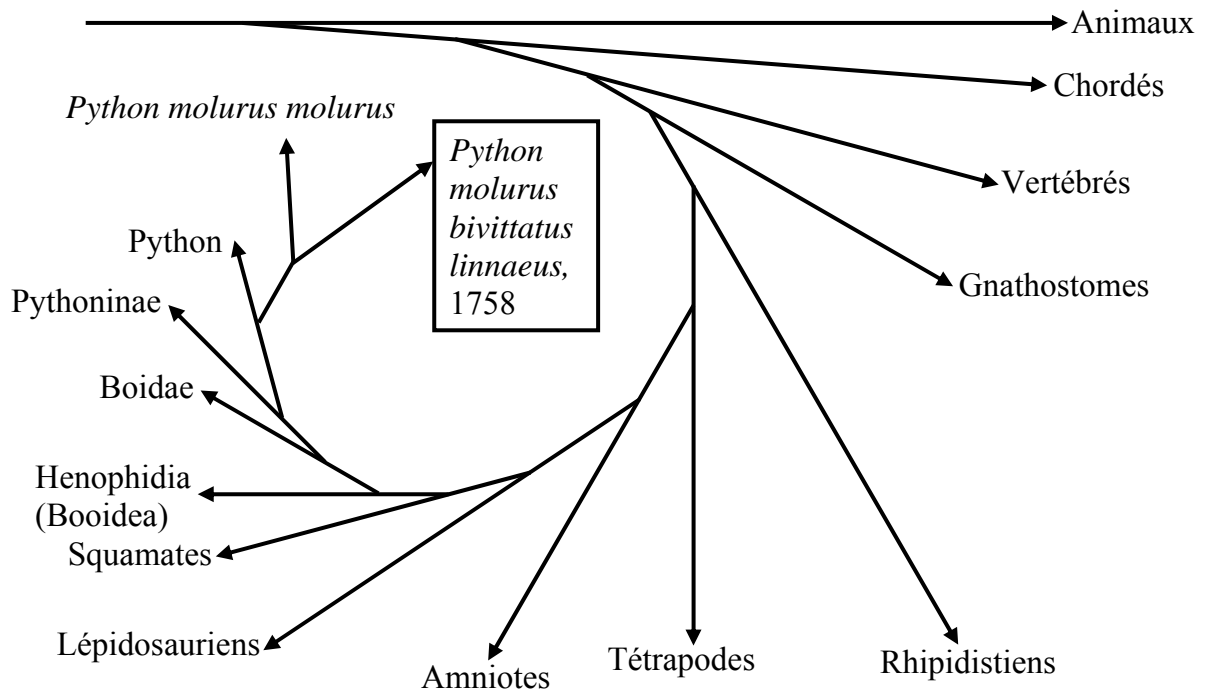
Une étude menée sur des Ophidiens aquatiques (Hibbits et Fitzgerald, 2005) établit également que la forme de la tête est directement influencée par l'environnement de capture des proies. Ainsi, des pressions de sélection comme l'habitat, la locomotion, le profil de la proie doivent en plus du facteur « masse des proies » contrôler la forme de la tête.

B) EFFECTIF

En janvier 2005, l'EMBL (European Molecular Biology Laboratory) répertorie 4765 espèces de Serpents non fossiles.

III) BIOLOGIE DU PYTHON DE BIRMANIE

A) SYSTEMATIQUE, CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET ANATOMIE



Position systématique de *P. molurus*

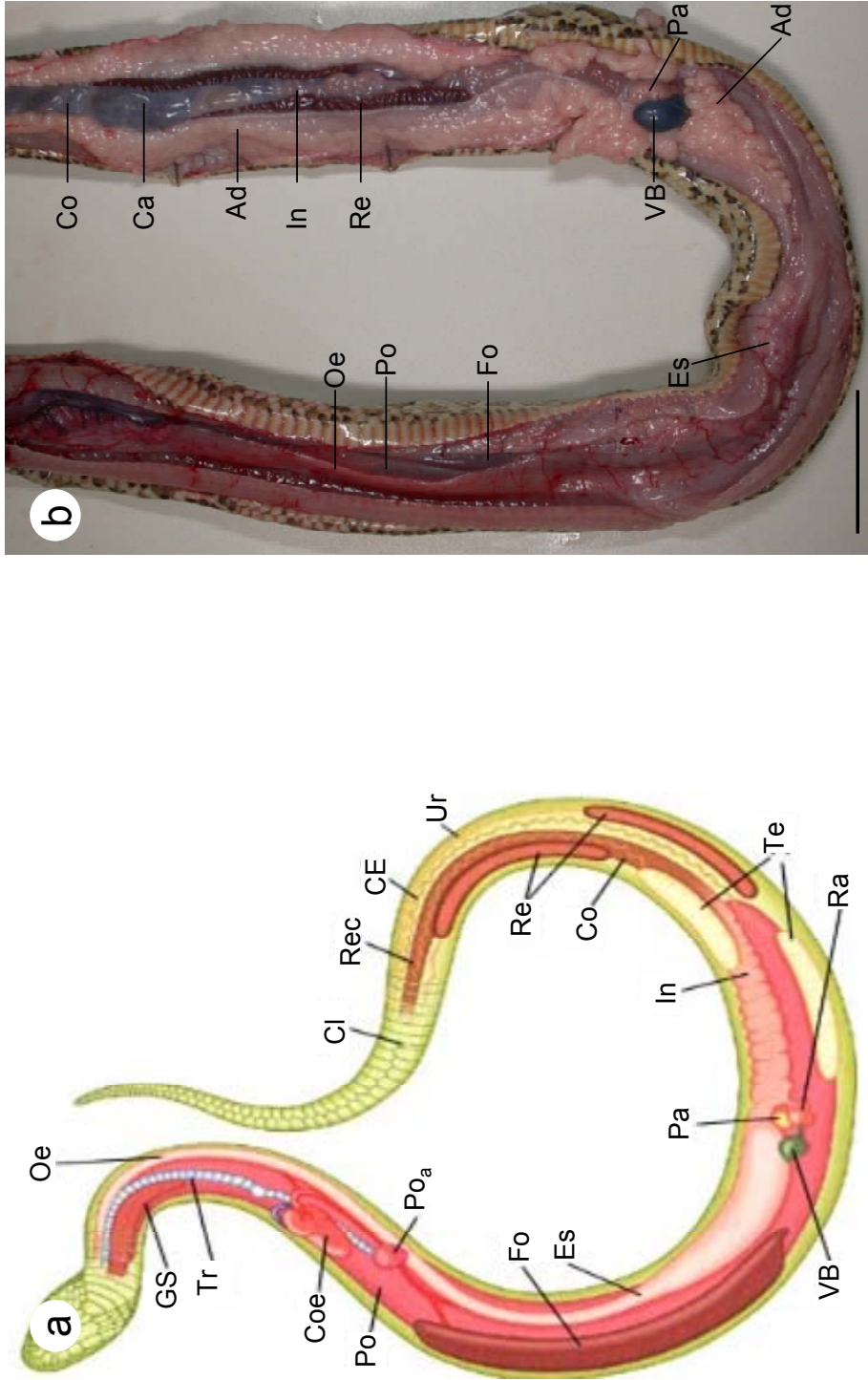


Planche 1: Anatomie du Python. a: Représentation schématique de l'anatomie de *P. regius*. L'atrophie du second poumon n'est pas une caractéristique commune à *P. molurus*. Oe : oesophage; GS : glandes salivaires; Tr : trachée; Coe : coeur; Po : poumon; Poa : poumon atrophié; Fo : foie; Es : estomac; VB : vésicule biliaire; Pa : pancréas; Ra : rate; In : intestin grêle; Te : testicule; Co : colon; Re : rein; Ur : urètre; CE : canal éjaculateur; Rec : rectum; Cl : cloaque. b: dissection de *P. molurus* à jeun. Oe : oesophage; Po : poumon; Fo : foie; Es : estomac; VB : vésicule biliaire; Pa : pancréas; Ad : réserves adipeuses; In : intestin grêle; Ca : caecum; Co : colon; Re : rein; Cl : cloaque. Barre d'échelle : 5cm. (a extrait de educ.csmv.qc.ca/.../rep/python/python.htm)

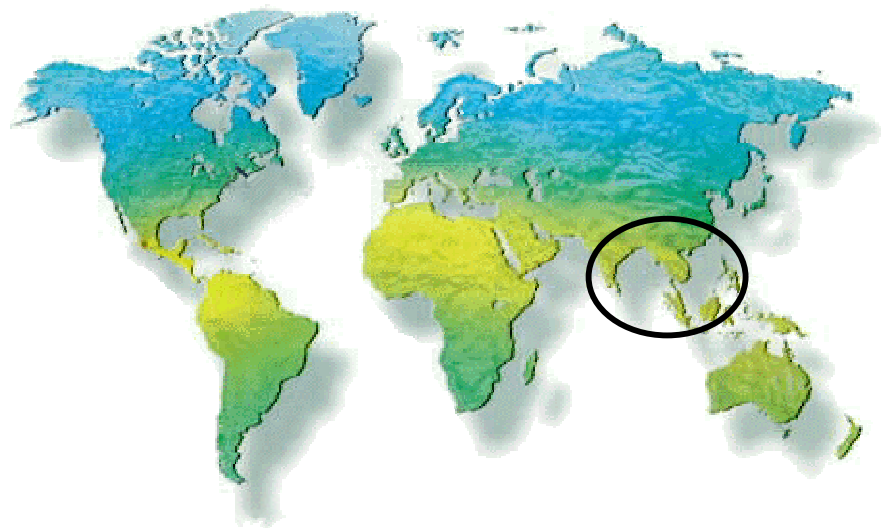


Planche 2: Aspect de *P.molurus bivittatus* et répartition géographique naturelle. L'ellipse présente sur le planisphère localise les régions natives de *P.molurus bivittatus*.

Le Python de Birmanie peut atteindre une longueur de 7,6 m et un poids de 137 kg. Sur toute sa longueur, la peau est ornée de mosaïques rectangulaires de teinte brune sur fond brun. Le sommet de la tête porte une marque en forme de flèche d'où partent les mosaïques.

Cette espèce est dimorphique : les femelles sont plus longues et plus lourdes que les mâles, qui eux possèdent des éperons cloacaux, considérés comme les vestiges de membres postérieurs atrophiés. Ces derniers se localisent de part et d'autre de l'orifice anal. (Coborn, 1991; Murphy et Henderson, 1997; Woodland Park Zoo, 2000). L'anatomie de *P. molurus* est représentée sur la Planche 1.

B) REPARTITION GEOGRAPHIQUE NATURELLE

Le Python de Birmanie se rencontre dans la moitié sud de l'Asie (Planche 2). Son aire de répartition est limitée à l'ouest par la vallée de l'Indus, au nord par le Quingchuan County (province chinoise de Sichuan) et au sud par Bornéo. Cette espèce de Python semble absente de la péninsule Malaisienne. Deux sous-espèces de *P. molurus* sont connues: *P. molurus molurus* natif de l'Inde, du Pakistan, du Sri Lanka et du Népal et *P. molurus bivittatus* ou Python Birman, plus gros et plus sombre que le précédent, qui se retrouve de la Birmanie jusqu'au sud de l'Asie (Pakistan, Inde, Bangladesh, Népal, Sri Lanka, Myanmar, Laos, Vietnam, Thaïlande, Malaisie, Cambodge, Chine, Indonésie) (Murphy et Henderson, 1997).

C) ECOLOGIE

1) **Habitats et Comportement**

Le Python de Birmanie occupe des habitats tropicaux très variés comme des forêts pluviales, des lits de rivière, des broussailles, de la savane ou des chemins rocailleux mais qui procurent tous une couverture et une humidité suffisantes. Il reste abrité dans un trou du sol ne sortant essentiellement que la nuit pour chasser. En dehors des périodes d'accouplement, cette espèce est solitaire, terricole, à faible déplacement. L'animal excelle à la nage et peut rester en apnée pendant trente minutes. De février à octobre, il hiverne caché (Murphy et Henderson, 1997; Woodland Park Zoo, 2000).

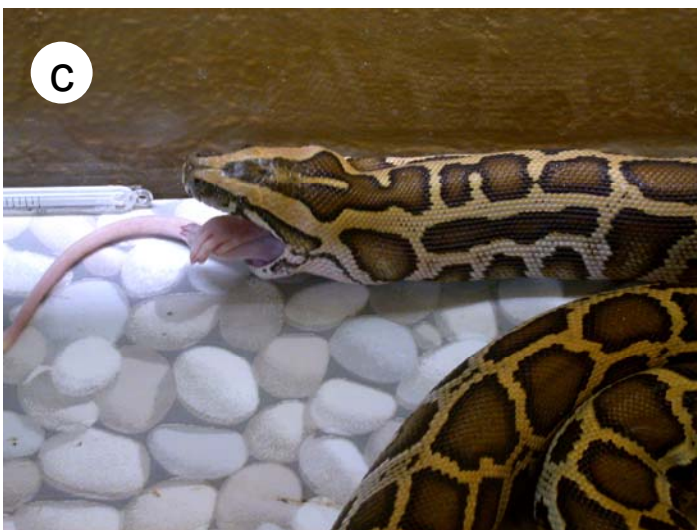


Planche 3: Préhension et déglutition chez *P. molurus*. a: La proie précédemment asphyxiée, maintenue entre les anneaux du serpent est avalée. b et c: Le volume de la proie entraîne une déformation considérable des mâchoires et une forte dilatation de l'œsophage. d: la proie atteint rapidement l'estomac (flèche).

2) Développement et Reproduction

Les Pythons sont indépendants dès l'éclosion et deviennent sexuellement matures entre deux et trois ans si leur masse corporelle le permet. Durant la parade nuptiale, le mâle s'enroule autour de la femelle et se frotte longuement à elle. Une fois leur cloaque aligné, le mâle utilise ses membres vestigiaux pour stimuler la femelle ; la copulation s'ensuit. Ce processus dure entre cinq et trente minutes et se déroule souvent la nuit. Trois à quatre mois plus tard, la femelle pond près d'une centaine d'œufs autour desquels elle s'enroule et frissonne pour procurer une température suffisante à leur développement embryonnaire. L'incubation se poursuit deux à trois mois. A l'éclosion, les jeunes mesurent environ 60 cm (Murphy et Henderson, 1997 ; American Museum of Natural History, 1998; Woodland Park Zoo, 2000).

3) Comportement alimentaire

Le Python molure est carnivore. Il se nourrit le plus couramment de rongeurs ou d'autres mammifères et occasionnellement d'oiseaux, de batraciens ou d'autres squamates. Il peut aussi être charognard. Il ne chasse pas activement mais à l'affût et achève ses proies par constriction. L'attaque s'effectue à grande vitesse ce qui contraste avec la lenteur ordinaire de ses autres mouvements. L'animal est saisi par morsure puis le serpent s'enroule autour de lui tout en positionnant la tête de l'animal vers sa gueule. Il resserre ensuite les anneaux formés par son corps dont il accentue la pression jusqu'à ce que les zones tactiles réparties dans sa peau ne détectent plus de battement cardiaque. La cage thoracique est broyée et l'animal meurt par asphyxie (Murphy et Henderson, 1997; Woodland Park Zoo, 2000 ; observations personnelles). Le Python l'avale, le plus souvent, la tête en avant et sans le mâcher (Planche 3), ce qui requiert de considérables capacités de déformations des mâchoires et de l'œsophage, d'autant plus que certains repas peuvent atteindre 175% de la propre masse du serpent (Secor et Nagy, 1994 ; Greene, 1997). Des articulations crâniennes particulières et un tégument élastique autorisent une telle dilatation. L'ouverture très avancée de la trachée et une cage thoracique sans sternum permettent un maintien de la respiration malgré les fortes contraintes exercées sur les voies respiratoires durant la déglutition (Bauchot *et al.*, 1994 ; Murphy et Henderson, 1997; Woodland Park Zoo, 2000).

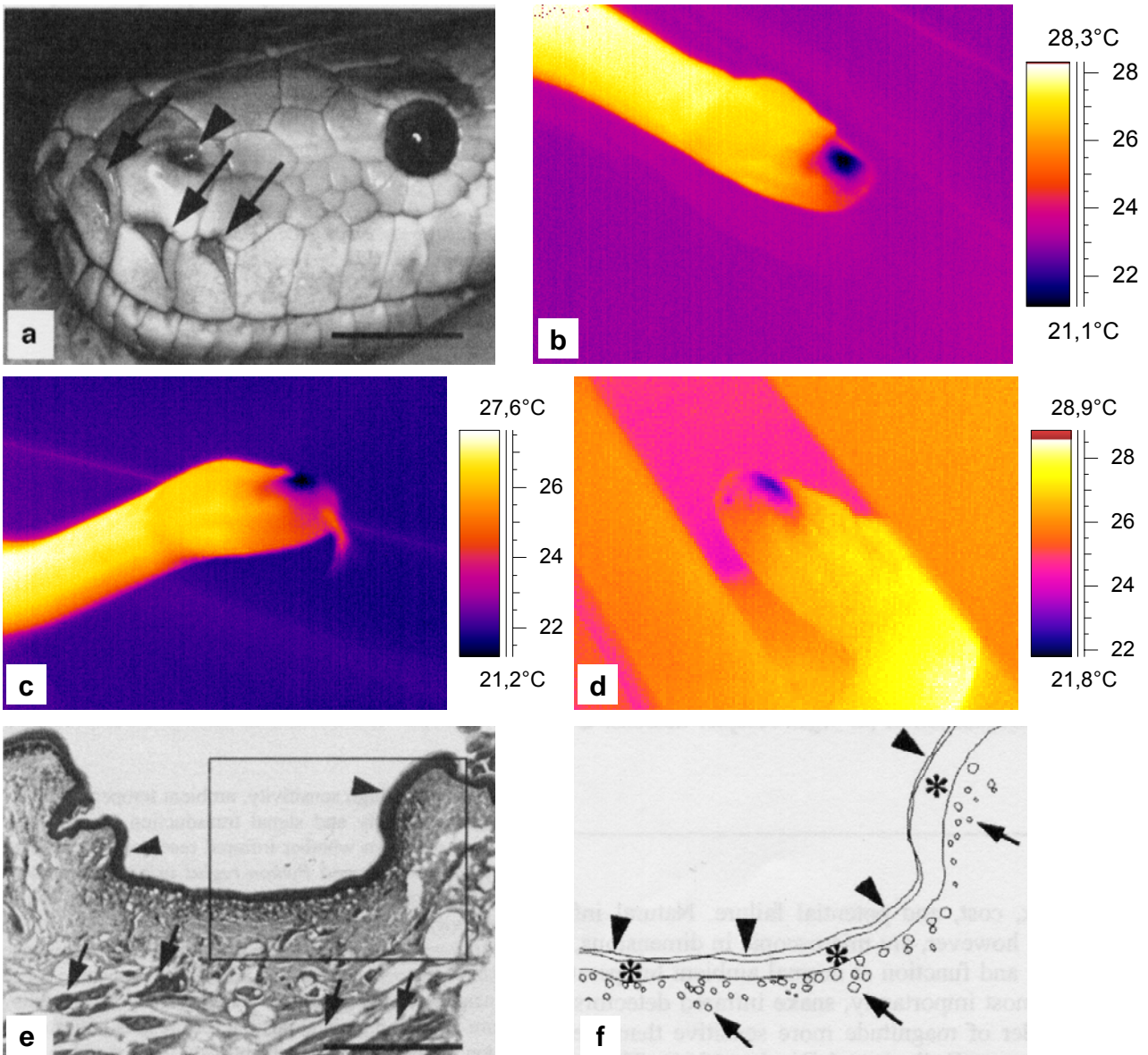


Planche 4: Fossettes labiales de *P. molurus bivittatus*. **a:** Vue latérale de la tête d'un animal albinos permettant d'identifier les fossettes labiales qu'indiquent les flèches. La tête de flèche désigne la narine gauche. *Barre d'échelle 3 cm.* **b, c et d:** Images prises à la caméra thermique de différentes vues de la tête, échelle des températures ci-contre. Les fossettes labiales apparaissent être des zones plus froides que le reste du corps. **e:** Section de 20 μm d'épaisseur d'une fossette labiale de *P. molurus* colorée à l'hématoxyline-éosine et observée en microscopie optique. Les extensions nerveuses latérales sont indiquées par des têtes de flèches. Les flèches désignent les fibres nerveuses acheminant les informations infra-rouges aux voies ascendantes. *Barre d'échelle 500 μm .* **f:** Dessin d'interprétation de la surface encadrée en e. Les astérisques indiquent les zones de terminaisons des neurones sensibles aux infra-rouges. Un dense réseau capillaire sous-jacent est visualisé par les flèches. Les têtes de flèches désignent l'épiderme.

(**a, e et f** extraits de Grace *et al.*, 1999; **b, c et d** Lignot, *Comm. Pers.*)

4) Perception en rapport avec la prise alimentaire

La prédation repose sur une combinaison de systèmes sensoriels pour détecter, localiser et attaquer les proies. A cette fin, le Python analyse à la fois les signaux visuels et les variations d'infra-rouges renvoyées par son environnement, notamment ceux des Endothermes dont la température corporelle dépasse celle du milieu extérieur (Grace *et al.*, 1999).

Les structures sensibles aux infra-rouges sont des fossettes labiales présentes sur les mâchoires supérieures et inférieures de l'animal (Planche 4). Seuls les Boïdea et les Viperidea en sont pourvus. Elles fournissent une représentation spatiale de l'environnement en utilisant des voies sensorielles distinctes des voies visuelles. Elles reposent sur un mécanisme photique de détection qui est stimulé par des longueurs d'onde comprises entre 3-5 μm et 8-12 μm . L'optimum d'absorption correspond à ce dernier intervalle, ce qui coïncide aux ondes émises par les Endothermes (pic à 10 μm). Les photorécepteurs impliqués diffèrent des opsines rétiniennes et le mécanisme de transduction du signal n'est pas assuré par la calmoduline (Grace *et al.*, 1999).

Lors de la prédation, le recours à ce système de perception semble être prépondérant à celui de la vue ; en effet des *P. molurus* expérimentalement ou congénitalement aveugles ou borgnes détectent et attaquent une proie avec autant d'efficacité et de précision que des animaux témoins alors que des *P. molurus* dont les fossettes labiales ont été recouvertes, assaillent leur proie moins fréquemment et moins précisément que les animaux témoins. (Grace *et al.*, 2001).

D'autre part, la langue des Serpents possède des chémo- et des mécanorécepteurs permettant également de détecter la présence de proies ou de prédateurs. Elle oscille en permanence pour recueillir des informations provenant de l'environnement extérieur. Durant cette phase d'exploration, la langue fait saillie en avant, darde l'air à une vitesse moyenne de 4,3 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ collectant ainsi les particules en suspension ou fixées à des substrats qui, dans la bouche, stimuleront l'organe voméronasal (De Groot *et al.*, 2004).

5) Le squelette

L'absence de membre restreint le squelette des Ophidiens au crâne, à la colonne vertébrale et aux côtes. Le sternum et la ceinture scapulaire sont absents, la ceinture pelvienne se limite à des vestiges de bassin (Bauchot *et al.*, 1994).

a) Le crâne

Le crâne des Serpents est diapside: deux ouvertures, les fenêtres temporales, allègent la région postérodorsale du crâne. La barre osseuse temporale qui sépare les deux fenêtres chez les Lézards s'ouvre également. Les mâchoires offrent une grande mobilité par rapport au reste du crâne (Ginsburg, 1970 ; Bauchot *et al.*, 1994).

Très rigide, le crâne est capable de résister aux forces exercées par l'ingestion de grosses proies. La mâchoire supérieure n'entretient que des liens lâches avec le neurocrâne et s'allonge au point de dépasser en longueur la base de celui-ci. Les os dentés de la mâchoire supérieure sont indépendants de l'os carré et ce dernier sur lequel s'articule la mandibule est capable d'assurer, en pivotant jusqu'à prendre une orientation verticale, une très large ouverture buccale. Cette capacité d'ouverture est intensifiée par la mobilité de la région nasale et par l'indépendance des deux mandibules, elles-mêmes non soudées par une symphyse (Bauchot *et al.*, 1994).

Le mode de suspension de la mandibule, la mobilité de l'os carré et les relations de la mâchoire supérieure avec le crâne expliquent la faculté qu'ont les Serpents à avaler des proies d'un diamètre supérieur au leur. Seuls les Scolécophidiens, Serpents fouisseurs qui se nourrissent de petites proies, ont les mâchoires supérieures solidement soudées au crâne et les mandibules unies par une symphyse cartilagineuse (Bauchot *et al.*, 1994).

b) Les vertèbres et les côtes

Les apophyses articulaires des vertèbres s'opposent aux mouvements verticaux et aux torsions de la colonne ; toutefois, leur nombre très important, plus de 400 chez les Pythons, permet au corps de se courber avec souplesse. Les côtes, généralement robustes et fortement ossifiées, s'articulent sur les vertèbres par une double facette articulaire. L'absence de sternum rend les côtes libres, ce qui autorise l'ingestion de proies volumineuses (Bauchot *et al.*, 1994).

6) Statut de conservation

P. molurus bivittatus est une sous-espèce inscrite à l'annexe 2 du CITES (Convention for International Trade of Endangered Species) alors que *P. molurus molurus* est inscrite à l'annexe 1. L'annexe 2 répertorie des espèces qui ne sont pas actuellement menacées d'extinction mais dont le commerce pourrait à terme nuire à leur survie. Ces êtres vivants ne peuvent être commercialisés que s'ils sont accompagnés de documents prouvant leur légalité et sont en vente libre dans l'Union Européenne. L'annexe 1 concerne les espèces en voie d'extinction : le commerce des êtres vivants qui y sont consignés est strictement interdit excepté dans certains cas exceptionnels, comme la naissance en captivité.

IV) LE JEUNE DANS LE MONDE ANIMAL- ASPECTS COMPARATIFS

Beaucoup d'animaux vivent dans des environnements où l'abondance et la qualité de la nourriture varient drastiquement dans le temps et sont alors confrontés à des périodes de jeûne. Durant ces phases, où tout apport énergétique exogène est supprimé, la demande énergétique est satisfaite par la mobilisation des réserves endogènes : la conservation de l'énergie par l'animal apparaît dès lors essentielle.

De fait, la résistance au jeûne reflète à la fois les capacités à mettre au préalable de l'énergie en réserve et à en contrôler son allocation.

A) QUELS SONT LES DIFFERENTS TYPES DE JEUNES CONNUS ?

Le jeûne, qui correspond à « une privation d'aliment », est classiquement répertorié en deux catégories selon son origine (Mrosovsky et Sherry, 1980): le jeûne dit imposé car consécutif à certaines conditions environnementales et le jeûne dit naturel car inhérent au cycle de vie de l'animal, codé par le génome. Ces deux types de jeûne se distinguent également par leur rythmicité, le jeûne naturel survenant régulièrement tandis que le jeûne imposé a évidemment un caractère imprévisible.

1) Le jeûne naturel

Le jeûne naturel survient à différentes étapes du cycle de vie, lorsque l'animal s'engage dans des processus prépondérants à celui de la recherche de nourriture. Comme le budget énergétique et temporel de chaque individu est limité, l'augmentation des demandes énergétiques d'une fonction s'effectue aux dépens des autres (Congdon *et al.*, 1982). Les exemples sont multiples : défendre un territoire ou un harem, prodiguer des soins parentaux, migrer, hiberner, muer (revu par Mrosovsky et Sherry, 1980).

Les fluctuations saisonnières sont souvent prévisibles et l'organisme peut combiner ses rythmes endogènes aux signaux environnementaux -comme la photopériode- pour s'adapter aux modifications des conditions alimentaires (Starck, 2005a). La période de déséquilibre énergétique est généralement, anticipée par une accumulation de réserves nutritives destinées à faire face aux futurs besoins (*e.g* : Hume et Biebach, 1996).

a) Jeûne et optimisation du succès reproducteur

La pérennité d'une espèce repose en grande partie sur son succès reproducteur. La défense efficace du territoire, des œufs ou des jeunes qui s'opère chez certaines espèces, laisse peu de temps allouable à la recherche de nourriture. Ce type de jeûne affecte différemment les animaux selon leur sexe.

Ainsi, la défense des territoires et des harems provoque une perte de poids importante, essentiellement liée à une perte de graisse, chez les Phoques à fourrure mâles (*Callorhinus alascanus*). Elle atteint jusqu'à 14 et 17% du poids pré-rut pour les mâles de *Cervus elephas* (Cervidés) (Mrosovsky et Sherry, 1980).

Dans un autre registre, les Crapauds mâles *Rheobatrachus silus* et *R. vitellinus* incubent œufs et têtards dans leur estomac, demeurant de sorte incapables de se nourrir durant huit semaines (Tyler *et al.*, 1983).

Mais, l'un des exemples les plus étudiés et qui constitue actuellement un modèle de choix pour étudier le jeûne prolongé chez les Vertébrés supérieurs est certainement celui du Manchot empereur (*Aptenodytes forsteri*). Le mâle, qui assure seul l'incubation, endure un jeûne de deux mois dans des conditions climatiques extrêmes ; cette durée se voit doublée du fait du délai nécessaire pour rejoindre la mer, zone de réalimentation. Il perd ainsi près de 40% de sa masse corporelle avant de pouvoir retourner se nourrir en mer (Robin *et al.*, 1987)

Différentes modifications métaboliques, comme l'augmentation du ratio plasmatique corticostérone/insuline (Robin *et al.*, 1988), le catabolisme accru des protéines corporelles (Le Maho *et al.* 1988 ; Robin *et al.*, 1988 ; 1998), la réduction de la disponibilité des lipides et de leur utilisation (Robin *et al.*, 1988 ; Groscolas et Robin, 2001) sont associées à l'induction d'un signal de réalimentation. L'augmentation des glucocorticoïdes et une chute de la prolactine entraînent un abandon de l'œuf ou du poussin, ce qui permet la réalimentation en mer de l'individu, assurant alors sa survie au détriment de celle de son descendant (Groscolas, 1990 ; Groscolas et Robin, 2001). A leur départ, les mâles possèdent encore la capacité de survivre 3 semaines, ce qui équivaut à un déplacement de 200 km et est suffisant pour rejoindre une zone d'eau libre. Le signal anticipe la déplétion des réserves énergétiques avec une marge de sécurité correspondant à la durée nécessaire pour se réalimenter (Groscolas, 1990 ; Robin *et al.*, 1998 ; 2001).

b) Jeûne et stratégies d'évitement de la mauvaise saison

La fluctuation saisonnière des conditions environnementales instaure une période défavorable à la survie et la pérennité des êtres vivants. La cyclicité de cette « mauvaise saison » a, d'un point de vue évolutif, généré l'apparition de différents comportements échappatoires et dans certains cas le développement d'une série d'organes qui permettent la synchronisation de l'horloge interne au cycle nyctéméral. Ces stratégies d'évitement impliquent une restriction de l'alimentation voire une cessation.

L'hibernation et la migration sont les processus les plus connus. Ils sont illustrés par de nombreux exemples comme ceux de l'Écureuil terrestre, *Spermophilus sp.*, (Carey, 1990) ou de la Fauvette, *Sylvia sp.*, (Karasov et Pinshow, 1998).

Durant l'hibernation, le métabolisme de l'animal en torpeur diminue et sa fréquence cardiaque diminue (Campbell, 1993). Cette phase est ponctuée de brèves phases de réveil indispensables au réchauffement corporel. L'individu ne se nourrit généralement pas mais puise dans les réserves énergétiques, qu'une hyperphagie automnale lui a permis d'établir.

Les déplacements migratoires imposent aux Oiseaux une alternance de périodes hyperphagiques, lors des haltes migratoires, et de périodes de jeûne correspondant aux déplacements entre ces sites. Ces intervalles sans nourriture peuvent être courts, de quelques

heures, ou de plusieurs jours lors de traversées d'océans ou de barrières naturelles, comme les désert ou les montagnes. Les Oiseaux doivent en conséquence faire face à des compromis physiologiques spécialement en terme d'alimentation et de digestion. (McWilliams et Karasov, 2001). La période pré-migratrice est également hyperphagique. De nombreux animaux répartis dans diverses autres classes ont recours à ce type de stratégie :

Les Papillons monarques (*Danaus plexippus*) migrent à la fin de l'été, de l'est de l'Amérique du Nord vers des aires d'hivernage situées dans les montagnes du centre du Mexique (Brower, 1996). Ces Papillons d'un demi-gramme environ effectuent un déplacement de près de 4000 km (Brower, 1996 ; Brower *et al.*, 2006).

La baleine *Eschrichtius robustus* se meurt de la mer de Béring au Sud de la Californie. Dû fait du jeûne et de la nage, elle perd, entre 11 et 29% de sa masse initiale durant son trajet (revue de Mrosovsky et Sherry, 1980).

L'hivernation, cas de l'Ours *Ursus americanus* (Ofstedal *et al.*, 1993) et de nombreux Ectothermes et l'estivation constituent des variantes non moins répandues. Ainsi, la Grenouille *Cyclorana alboguttata* estive dans un terrier où elle est alors protégée pendant près de 10 mois, période durant laquelle elle ne se nourrit pas. La première pluie déclenche son retour en surface. L'Amphibien ne dispose alors que de quelques jours pour se nourrir, se reproduire et reconstituer complètement ces réserves endogènes en vue de l'estivation suivante (Cramp et Franklin, 2003 et 2005 ; Secor, 2005a).

2) Le jeûne imposé

Lors de périodes de gel ou de neige prolongées, les ressources alimentaires deviennent dans certains cas inaccessibles. Les animaux actifs sont dès lors contraints au jeûne (Robin *et al.*, 1991). Ainsi, le Canard colvert, *Anas platyrhynchos*, peut présenter une masse corporelle inférieure de 50% aux normes saisonnières (revue de Robin et Zorn, 1991), malgré le fait que le déficit d'entrée énergétique soit anticipé par un stockage préalable de réserves (Thouzeau, 1998). Certains individus sont tellement dénutris qu'ils ne peuvent être réalimentés avec succès dans les centres de soins de la faune sauvage (Geiger, 2004).

Les Oiseaux marins soumis aux pollutions pétrolières endurent également ce type de jeûne. L'engluement du plumage par le pétrole provoque en effet l'alourdissement de l'oiseau

et diminue sa flottabilité. Ne pouvant alors ni plonger ni voler de manière adéquate, l'oiseau de haute mer ne peut plus s'alimenter (Jauniaux *et al.*, 1996 ; Ferlaux, 2001).

Bien qu'ils s'instaurent dans des conditions variées, les différents types de jeûne engendrent des accommodations physiologiques et biochimiques comparables. Celles-ci, bien étudiées chez les Endothermes, découpent le jeûne en trois phases (Goodmann *et al.*, 1980 ; Le Maho, 1984 ; Henry, 1990). Elles reposent sur deux stratégies physiologiques majeures (revu par Reidy et Weber, 2004), à savoir : déprimer le métabolisme afin d'économiser l'énergie corporelle et adapter la ressource énergétique dans le but de maintenir la glycémie et d'épargner les composants non synthétisables de novo et donc essentiels.

B) QUELLES SONT LES REPERCUSSIONS HISTOLOGIQUES, PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DU JEUNE ?

1) **Description des phases du jeûne chez les Endothermes**

Chacune des trois phases du jeûne (Planche 5) est caractérisée par des données différentielles en ce qui concerne la perte de masse quotidienne, la nature des carburants énergétiques consommés, et la composition des déchets azotés (Goodman *et al.*, 1980 ; Le Maho, 1983 ; Cherel *et al.*, 1991 ; Robin *et al.*, 1998 ; Groscolas et Robin, 2001 ; Reidy et Weber, 2004 ; Wang *et al.*, 2006). Conjointement à la mobilisation séquentielle des réserves, les concentrations plasmatiques des hormones du métabolisme énergétique sont modifiées (Goodmann *et al.*, 1980 ; Cherel *et al.*, 1988a; 1988b; 1988c ; Robin *et al.*, 1988 ; Challet *et al.*, 1995 ; Bertille, 2003).

Phase I : Cette phase est dite d'adaptation ; elle est courte et caractérisée par une diminution rapide de la masse corporelle. Les réserves limitées de glucides s'épuisent rapidement (Cherel *et al.*, 1988a ; Groscolas et Robin, 2001 ; Reidy et Weber, 2004) et sont relayées par l'augmentation de la mobilisation des réserves lipidiques pour soutenir une demande énergétique restreinte.

L'utilisation des protéines diminue mais autorise une production suffisante de glucose par néoglucogenèse hépatique. (Owen *et al.*, 1998 ; Bertille, 2003 ; Reidy et Weber, 2004 ; revu par Wang *et al.*, 2006). Comparativement à des animaux nourris, la glycémie et l'urémie diminuent au cours de la phase I, reflétant l'épuisement du glycogène hépatique et la faible protéolyse (Goodman *et al.*, 1980 ; Cherel *et al.*, 1991 ; Robin *et al.*, 1998 ; Groscolas et Robin, 2001)

Phase II : Cette phase est caractérisée par une diminution lente et régulière de la masse corporelle. La contribution de la néoglucogenèse se réduit corrélativement à l'augmentation de la libération de glycérol par le tissu adipeux (Robin *et al.*, 1987 ; Cherel *et al.*, 1988c ; Reidy et Weber, 2004 ; revu par Wang *et al.*, 2006). L'accroissement de l'oxydation des acides gras conduit à une élévation de la production de corps cétoniques (Goodman *et al.*, 1980 ; Cherel *et al.*, 1988a ; Cherel *et al.*, 1992), carburant potentiel de différents tissus dont notamment du système nerveux. Cette conversion de carburant énergétique permet un surcroît d'épargne de glucose et, de la sorte, autorise une moindre néoglucogenèse d'origine protéique. Elle génère alors une véritable épargne des protéines car la protéolyse est alors réduite à un niveau minimum et incompressible (Cahill, 1970 ; Reidy et Weber, 2004).

L'épargne protéique est particulièrement efficace chez les hibernants/hivernants, et notamment chez l'Ours noir, *Ursus americanus*, en raison d'un recyclage de l'azote. Cet animal n'excrète quasiment aucun déchet azoté durant son jeûne d'hivernation de six mois : il réutilise 99,7% de l'urée produite, ce qui reflète une uréolyse microbienne et une résorption de l'azote uréique intenses (Barboza *et al.*, 1997 ; Tinker *et al.*, 1998). Les faibles pertes d'azote au cours de la dormance sont probablement dues à la transformation de l'azote non uréique en créatinine (Barboza *et al.*, 1997).

Ainsi, au fur et à mesure que la phase II progresse, la vitesse de dégradation des protéines ralentit tandis que celle du tissu adipeux alimente la plus grande partie du métabolisme. Le haut contenu énergétique des lipides explique que la perte de masse soit ralentie durant cette phase qui peut durer plusieurs semaines chez l'Homme (Cahill, 1970).

Chez la Chouette effraie (*Tyto alba*), les lipides contribuent à plus de 90% de la consommation d'énergie en phase II contre 2,5% à partir des protéines (Thouzeau *et al.*, 1999). Cherel *et al.* (1995) ont estimé que pour des espèces adaptées au jeûne, l'oxydation des

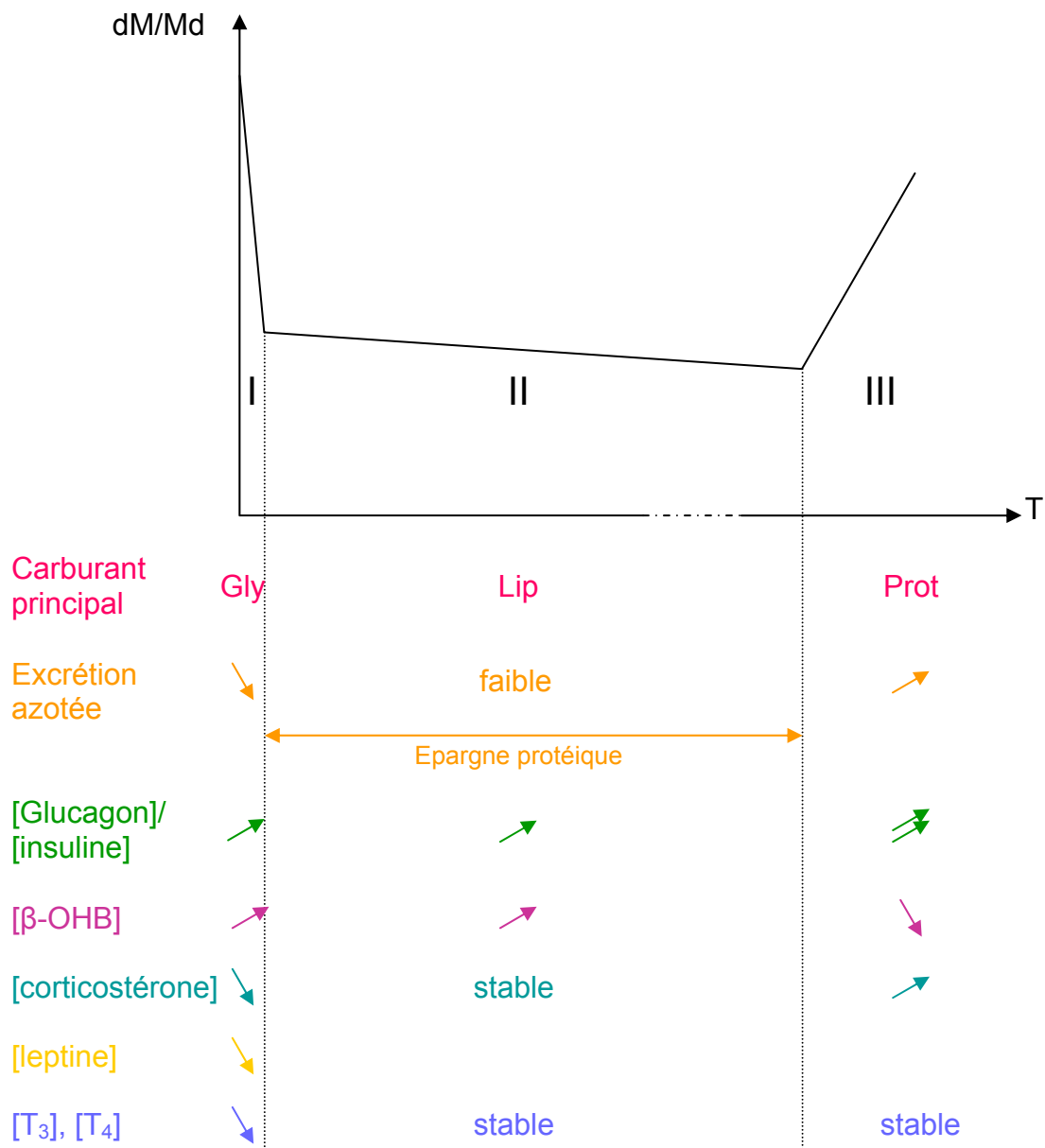


Planche 5: Schéma théorique de la perte de masse quotidienne en fonction de la durée du jeûne. Les trois phases du jeûne (I, II et III) sont caractérisées par des données différentielles en ce qui concerne la perte de masse quotidienne, la nature des carburants énergétiques consommés, et l'intensité de l'excrétion azotée. Conjointement à la mobilisation séquentielle des réserves, les concentrations plasmatiques des hormones du métabolisme énergétique sont modifiées. **Gly:** Glycogène; **Lip:** Lipides; **Prot:** Protéine; **β-OHB:** β-hydroxybutyrate ; **T₃:** Triiodothyronine; **T₄:** Thyroxine.

protéines soutient 1 à 10% de la production totale d'ATP: pour exemple, 4% chez le Manchot empereur (Groscolas, 1988) et 7% chez le Manchot royal (Cherel *et al.*, 1994) ; mais cette valeur peut excéder 25% pour une espèce qui ne l'est pas (Cahill, 1970 ; Goodman *et al.*, 1980 ; Cherel *et al.*, 1992 ; Reidy et Weber, 2004).

Phase III : L'atteinte d'un seuil critique de déplétion lipidique et la diminution de la disponibilité en substrats lipidiques circulants correspondent à l'entrée en phase III. Cette transition ne correspond pas simplement à l'épuisement des réserves lipidiques, car il reste alors 20 à 25% du stock lipidique initial (Robin *et al.*, 1988 ; Belkhou *et al.*, 1991).

Les protéines sont rapidement dégradées pour la néoglucogenèse (Goodman, *et al.*, 1984 ; Lowell et Goodman, 1987 ; Reidy et Weber, 2004) et la masse corporelle diminue rapidement. Les fonctions musculaires commencent à être compromises, particulièrement au niveau cardiaque (Garnett *et al.*, 1969 ; Van Itallie et Yang, 1984). La mort de l'animal peut alors survenir (Wang *et al.*, 2006).

Cette réorientation des flux métaboliques engendre une augmentation de l'urémie (ou de l'uratémie pour les Oiseaux), de l'excrétion azotée (Goodman *et al.*, 1980 ; Lowell et Goodman, 1987 ; Cherel *et al.*, 1988a ; Le Maho *et al.*, 1988 ; Robin *et al.*, 1988 ; Owen *et al.*, 1998) qui étaient fortement dépréciées en phase II, et du taux plasmatique des amino-acides totaux (Groscolas, 1987). Corrélativement, la diminution des taux plasmatiques des corps cétoniques et des acides gras marque la régression de la contribution lipidique à la dépense énergétique (Goodmann *et al.*, 1980 ; Lowell et Goodman, 1987 ; Cherel *et al.*, 1988a ; 1988b).

Cette dernière phase apparaît critique mais demeure pour certaines espèces réversible, même tardivement, puisqu'à la réalimentation, la restauration des réserves endogènes est observée. (Cherel *et al.*, 1988b ; Robin *et al.*, 1988 ; 1991 ; Belkhou *et al.*, 1991 ; Cherel et Le Maho, 1991 ; Hibold *et al.*, 2004 et 2007).

Les concentrations plasmatiques des principales hormones métaboliques sont affectées par le jeûne (Planche 5) (Goodmann *et al.*, 1980 ; Cherel *et al.*, 1988a ; 1988b ; 1988c, Robin *et al.*, 1988 ; Challet *et al.*, 1995). Ainsi, l'insuline, activatrice des synthèses protéiques, lipidiques et glucidiques, voit son taux plasmatique décroître dès le début du jeûne. Ce même comportement s'observe pour les hormones thyroïdiennes, T₃ et T₄, connues pour élever le métabolisme de base et les mobilisations des différents carburants énergétiques. En revanche,

les concentrations du plasma en glucagon et en corticostérone, hormone à l'action protéolytique (Odedra et Millward, 1982 ; Quan et Walser, 1991) s'accroissent en phase III (Cherel *et al.*, 1988c ; Belkhou *et al.*, 1991 ; Challet *et al.*, 1995). Enfin, la diminution dès le début du jeûne de la leptinémie semble impliquée dans l'adaptation à la restriction et à la cessation alimentaire (Ahima *et al.*, 1996 ; Ahima et Flier, 2000 ; Campfield *et al.*, 1996).

2) Le jeûne des Ectothermes procède-t-il également par phase ?

Lors de la privation d'aliment, le faible métabolisme des Ectothermes autorise évidemment, la persistance des fonctions corporelles plus longtemps que chez les Endothermes (Nagy *et al.*, 1999). Ils peuvent, en conséquence, tolérer des périodes de jeûne plus longues que ces derniers.

Des mâles de Xénope, *Xenopus laevis*, ont survécu à des jeûnes expérimentaux de 18 à 24 mois. Leur capacité à se réalimenter alors sans délai et le gain de poids consécutif observé, suggèrent une récupération fonctionnelle immédiate de leur tractus digestif (Merkle et Hanke, 1988a ; 1988b). De telles durées de jeûne ont également été établies chez *Rana esculenta* où la perte de poids occasionnée, comprise entre 35 à 45% du poids initial (Grably et Piery, 1981), est comparable à celles relevées chez d'autres Ectothermes comme les Téléostéens (revu par Merkle et Hanke, 1988a ; 1988b). Certaines espèces font montre d'aptitudes de résistance au jeûne vraiment surprenantes. Ainsi, l'Anguille européenne *Anguilla anguilla* endure un manque de nourriture de plus de 180 jours, pendant sa migration de 5500 km (Van Ginneken *et al.*, 2005). Qui plus est, elle peut survivre à un manque de nourriture de trois à quatre années à l'issue desquelles elle aura perdu entre 70 et 80% de sa masse corporelle, alors qu'un Mammifère de taille équivalente, mourrait de faim en quelques jours ou semaines (revu par Wang *et al.*, 2006). Plus étonnant encore est le Protée *Proteus anguinus*, espèce cavernicole, qui peut survivre à des jeûnes bien plus longs, jusqu'à 8 ans, sans présenter de signes pathologiques (Hervant *et al.*, 2001).

Des expérimentations effectuées sur les Xénopes, *Xenopus laevis*, (Merkle et Hanke, 1988a ; 1988b) ont mis en évidence trois phases métaboliques au cours du jeûne prolongé ici équivalent à douze mois, à savoir :

- Une phase précoce du jeûne. Elle se réfère à une chute des taux plasmatiques de l'aldostérone et de la corticostérone à de très bas niveaux après 2 à 4 mois

d'expérience. Simultanément, le glycogène hépatique puis ovarien, ainsi que les protéines ovariennes, sont utilisés. En revanche, le glycogène rénal ne semble pas avoir été affecté. Cette phase pourrait correspondre à la phase I du jeûne observé chez les Endothermes. Chez la Carpe (*Cyprinus carpio*), celle-ci est très longue, le glycogène hépatique n'étant toujours pas épuisé au bout de 100 jours de jeûne (Nagai et Ikeda, 1971).

- Une seconde phase d'une durée de 4 à 6 mois, marquée par une réduction de divers paramètres. La consommation d'O₂ décroît de 30%, les taux plasmatiques d'urée et de lactate ainsi que celui d'excrétion azotée diminuent. Cette phase se caractérise donc par une épargne protéique et pourrait correspondre à la phase II du jeûne décrite chez les Endothermes.
- Une dernière période qui comporte une réduction plus importante de l'activité métabolique. Les taux d'excrétion azotée et d'urée plasmatique augmentent corrélativement au déclin de la concentration des protéines dans le plasma. Parallèlement, une décroissance de la concentration des protéines dans le muscle indique que l'origine des protéines consommées est musculaire. Ces ajustements témoignent d'une intensification du catabolisme protéique pour soutenir une demande énergétique restreinte. Cette phase semble donc correspondre à la phase III décrite chez les Endothermes.

D'autres études ont montré que le jeûne prolongé de nombreux Ectothermes comme la Truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Storebakken *et al.*, 1991), l'Esturgeon blanc *Acipenser transmontanus* (Hung *et al.*, 1997), certains Saumons du Pacifique *Oncorhynchus sp* (Brett, 1995) ou *Proteus anguinus* (Hervant *et al.*, 2001) procède par des phases métaboliques similaires

La succession des ajustements physiologiques qui s'opèrent durant les différentes phases du jeûne semble similaire chez la plupart des Vertébrés. La dissemblance majeure réside dans le fait qu'à la fois le métabolisme de base et le métabolisme maximal sont plus bas chez les Ectothermes que chez les Endothermes, autorisant des capacités de résistance à la privation d'aliment importantes et allongeant par là même la durée des phases métaboliques impliquées dans le jeûne. Ces adaptations à la privation d'aliment requièrent également une

mobilisation séquentielle des réserves énergétiques avec une épargne des composants essentiels, notamment protéiques, de l'organisme.

3) Comment réduire son métabolisme ?

De multiples processus, souvent connexes, visent à réduire le métabolisme basal ou standard. Corrélativement, de nombreux animaux réduisent leur activité locomotrice et/ou inhibent leur reproduction.

a) En réduisant le métabolisme basal ou standard

- *Par la réduction de la température*

La diminution de la température corporelle conduit à une réduction immédiate et automatique du métabolisme via l'effet Q10, ou loi d'Arrhenius, qui correspond à la relation entre l'intensité de l'agitation moléculaire et la température (la hausse de la température est en fait une agitation moléculaire plus importante). A jeun, certaines espèces de Poissons (Van Dijk *et al.*, 2002) et de Lézards (Brown et Griffin, 2005) diminuent de quelques degrés leur température corporelle de préférence, épargnant ainsi de l'énergie durant cette période.

Une diminution de température corporelle de près d'un degré Celsius a également été mise en évidence chez des Endothermes soumis à des jeûnes expérimentaux comme des Marmottes (*Marmota monax*), des Lapins de Nouvelle-Zélande (*Oryctolagus cuniculus*) (Reidy et Weber, 2004), et des Rats (*Ma et Foster*, 1986). Les entrées en torpeur saisonnière (Ours, Ectothermes) ou quotidienne (Passereaux, Chauve-souris, Microcèbes) et en hibernation (Spermophile, Marmotte, Hérisson, Putois) reposent en partie sur cette même stratégie d'épargne énergétique.

- *Par un remodelage organique*

La demande métabolique totale d'un organisme dépend du nombre de cellules actives qui le composent ; réduire le nombre de ces cellules réduit de fait la dépense énergétique globale. Ainsi, les Manchots empereurs et royaux (*Aptenodytes forsteri* et *patagonicus*) qui ont atteint les phases II et III du jeûne présentent un métabolisme de base réduit par le simple fait de la perte importante de leur masse corporelle (Le Maho, 1983 ; Cherel *et al.*, 1988c).

En période de restriction alimentaire imposée par le phénomène climatique El Niño, la masse corporelle des Iguanes marins, *Amblyrhynchus cristatus*, se réduit de 20% en deux ans, ce qui induit une économie d'énergie appréciable. Ce remodelage corporel réversible résulterait d'une diminution du cartilage et des tissus de soutien mais aussi d'une résorption osseuse (Wikelski et Thom, 2000).

En suivant ce même raisonnement, la régression au cours du jeûne des fonctionnalités des organes gastro-intestinaux, dont la part dans le métabolisme de base est estimée à 40% (Wang *et al.*, 2006), confèrerait une sauvegarde énergétique importante. Celle-ci s'observe en fait, chez la majorité des groupes de Vertébrés.

Chez la Souris, la masse totale de l'intestin et celle de la muqueuse intestinale diminuent de 30% après un seul jour de jeûne (Diamond and Karasov, 1984) et de moitié après cinq jours de jeûne chez le Rat (Dunel-Erb *et al.*, 2001 ; Hibold *et al.*, 2005). L'épithélium intestinal résorbé présente un raccourcissement des villosités, qui apparaissent par ailleurs moins nombreuses et fissurées à leur base (Altmann, 1972 ; Aldewachi, *et al.*, 1975 ; Karasov et Diamond 1983 ; Dunel-Erb *et al.*, 2001 ; Hibold *et al.*, 2005). De telles observations se retrouvent aussi chez le Poulet (Karasov *et al.*, 1988). Chez le Rat, la taille des cryptes de Lieberkühn, siège de la prolifération entérocytaire est également réduite (Dunel-Erb *et al.*, 2001). Le temps de rétention des cellules y est accru et le taux de migration ralenti. Les entérocytes sont dits hypermatûres (Levin, 1984 ; Karasov et Diamond 1987 ; Karasov, 1988).

Les données concernant l'évolution des microvillosités durant la privation de nourriture sont, en revanche, moins consensuelles. Ces structures ne semblent pas affectées (Mayhew, 1990) ou leur hauteur et leur densité augmentent chez le Rat (Gupta et Waheed, 1992 ; Waheed et Gupta, 1997) mais leur hauteur diminue chez le Hamster (Misch *et al.*, 1980).

Ces données expérimentales sont relayées par des mesures effectuées sur des animaux endothermes sauvages dans des conditions naturelles, où les hibernants ainsi que les Oiseaux migrateurs (Hume et Biebach, 1996 ; Karasov and Pinshow, 1998 ; Piersma, 1998 ; Piersma et Gill, 1998 ; McWilliams *et al.*, 2001 ; Bauchinger, 2002 ; Karasov *et al.*, 2004) ou les jeûneurs forcés (Robin *et al.*, 1991)) présentent également un système digestif atrophié. *Sylvia atricapilla* perd ainsi 45% et 36% de ses masses intestinale et hépatique, respectivement lors de son vol migratoire (Karasov *et al.*, 2004).

Concernant les aspects fonctionnels, les mécanismes cellulaires au niveau de l'épithélium intestinal sont transitoirement interrompus chez le Rat (Goodlad *et al.*, 1998). Les mitoses sont en effet bloquées, et le taux de migration des cellules indifférenciées des cryptes vers les villosités est réduit (Brown *et al.*, 1963 ; Habold *et al.*, 2004). Corrélativement, de 1 à 3 jours de jeûne, l'apoptose et l'exfoliation des cellules augmentent (Elmes, 1977 ; Boza *et al.*, 1999 ; Iwakiri *et al.*, 2001 ; Habold *et al.*, 2005). Cette dynamique s'inverse en phase III de jeûne où une décroissance de la mort cellulaire et une élévation de la prolifération cellulaire et de la migration sont observées (Dunel-Erb *et al.*, 2001 ; Habold *et al.*, 2004 et 2005). Cette évolution a été interprétée comme une réponse anticipatrice destinée à préparer l'intestin à une réalimentation prochaine (Habold *et al.*, 2007). Elle s'accompagne de changements comportementaux et locomoteurs illustrés par une hyperactivité chez le Rat (Koubi *et al.*, 1991).

Cette restauration de l'intestin en phase III peut être reliée à un signal de réalimentation qui a été préalablement décrit chez les Manchots empereurs et qui s'accompagne également de changements comportementaux et locomoteurs comme un arrêt des soins parentaux et un départ de la colonie vers la mer nourricière (Groscolas, 1990 ; Robin *et al.*, 1998 ; Groscolas et Robin, 2001). Un signal similaire a aussi été mis en évidence chez des patients atteints d'anorexie nerveuse et proches de la mort (Rigaud *et al.*, 2000).

Chez les Vertébrés ectothermes, de nombreuses espèces présentent de la même manière une atrophie sévère du tractus digestif et des organes associés : l'Anguille (Van Ginneken *et al.*, 2005), le Saumon *Salmo salar* (Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005), l'Esturgeon (Hung *et al.*, 1997), différentes espèces d'Amphibiens *Rana esculenta* (Grably et Piery, 1981), *Cyclorana alboguttata* (Cramp et Franklin, 2003), *Xenopus laevis* (Merkle et Hanke, 1988).

Chez la carpe commune *Cyprinus carpio*, l'épaisseur de la muqueuse intestinale n'est pas affectée par 42 jours de jeûne, et les événements cellulaires comme la prolifération et l'apoptose restent actifs durant cette période. Cependant, après 16 jours sans nourriture, l'expression de plusieurs gènes digestifs régresse jusqu'à la suppression (Wang *et al.*, 2006). Ainsi, la réponse au jeûne de la Carpe commune apparaît reposer plutôt sur des régulations fonctionnelles que sur des ajustements morphologiques ou de dynamique cellulaire.

- *Par la réduction de la synthèse protéique*

Plusieurs expérimentations effectuées notamment chez la Carpe commune (Hung, 2005), le Rat (Morrisset et Webster, 1972 ; Samuels *et al.*, 1996) et l'Ecureuil terrestre (Balslev-Clausen *et al.*, 2002) montrent que la synthèse protéique décroît et que l'expression de nombreux gènes métaboliques se réduit durant le jeûne. Il n'est néanmoins, pas évident d'identifier si ces réductions interviennent en réponse à la dépression énergétique ou si elles l'induisent (Wang *et al.*, 2006).

- *Par des adaptations cellulaires*

L'arrêt temporaire du cycle cellulaire a déjà été mentionné puisqu'il engendre un remodelage du tractus intestinal par une réduction de croissance (Poon, 2005 ; Wang *et al.*, 2006). Chez le Rat, Murray et Wild (1980) ont mis en évidence une diminution de l'activité enzymatique de la pompe Na^+/K^+ au pôle baso-latéral des entérocytes suite au jeûne. L'activité enzymatique spécifique des enzymes de la digestion et de l'absorption régresse chez le Cabillaud *Gadus morhua* (Bélanger *et al.*, 2002) ou chez la Carpe commune *Cyprinus carpio*, où la phosphatase alcaline des microvillosités diminue progressivement jusqu'à treize mois de jeûne ; elle n'est alors plus détectable dans les tissus (Gas et Noailliac-Depeyre, 1976). Enfin, des changements dans la composition de la bicouche phospholipidique des entérocytes altèrent les propriétés physico-chimiques de la bordure en brosse et notamment sa fluidité, ce qui modifie ses fonctions de transport (Waheed *et al.*, 1998).

b) En réduisant l'activité locomotrice

Chez des Rats captifs, la privation de nourriture induit une réduction de l'activité physique dans la phase initiale du jeûne (Sclafani et Rendel, 1978). Certains Amphibiens et Poissons réduisent également leur activité (Wang *et al.*, 2006). Mendez et Wieser (1993) proposent que les réponses comportementales des Poissons au jeûne consistent en trois phases qui se superposent aux variations biochimiques décrites chez les Endothermes. La première phase dure environ 24h et implique une augmentation de la recherche de nourriture. Durant la phase suivante, le Poisson réduit son activité de nage et par voie de conséquence sa dépense énergétique. La phase finale se caractérise par une basse activité et un bas métabolisme qui

persistent jusqu'à ce qu'une opportunité alimentaire se présente. Cependant, ces phases comportementales n'ont pas été observées chez tous les Poissons (Van Dijk *et al.*, 2002).

c) En réduisant ou inhibant la reproduction et les soins parentaux

De nombreux exemples illustrent l'influence du jeûne sur la reproduction. En effet, cette fonction est très onéreuse en énergie pour la mère ou les parents qui prennent soin de leurs descendants. C'est pourquoi la reproduction est généralement synchronisée avec la période de l'année qui offre des conditions environnementales les plus favorables et notamment une disponibilité importante de nourriture.

La répercussion de la malnutrition, ou du jeûne, est palpable dans l'espèce humaine où la plupart des femmes anorexiques ne présentent plus de menstruations et ne peuvent pas concevoir (Keys *et al.*, 1950). Expérimentalement, l'ovulation des femelles Hamster et leur appétence sexuelle sont supprimées par un jeûne subi sur un à deux cycles oestriens. Cette absence d'ovulation est corrélée à celle du pic de gonadotropine (Morin, 1986). Chez la Ratte, un jeûne de trois jours supprime la réceptivité sexuelle. Celle-ci est associée à une réduction de la réponse oestrogénique dans le noyau ventro-médian de l'hypothalamus (Jones et Wade, 2002). Enfin, le nombre d'œufs par ponte de Poissons-zèbres diminue rapidement avec le jeûne. Ce prompt déclin est corrélé à une diminution de l'expression de CYP19a, un enzyme qui convertit la testostérone en œstrogène chez les femelles (Hung, 2005).

Où classer le jeûne que connaît *P. molurus* ? Inscrit dans le comportement alimentaire, produit de l'évolution, il est bien naturel mais il ne s'arrime pas précisément à un point de son cycle de vie, sa survenue et sa durée étant dépendantes de l'évènement alimentaire, un paramètre bien environnemental.

V) JEUNE ET REALIMENTATION DU PYTHON DE BIRMANIE

Le jeûne du Python de Birmanie s'inscrit dans une catégorie de comportement alimentaire bien précise : la prédation par affût.

A) COMPORTEMENT NATUREL

Adulte, le Python de Birmanie ne se nourrit que rarement -tous les un à deux mois- mais ses repas représentent alors un fort pourcentage de sa masse corporelle, le plus souvent d'environ 25% mais jusqu'à 160% (Secor et Nagy, 1994 ; Greene, 1997). A titre de comparaison, le repas d'un Mammifère ne représente que quelques pour cents de sa masse corporelle (Secor et Diamond, 1998) mais se produit plusieurs fois par jour. Le Python de Birmanie peut tolérer des privations de nourriture s'étendant à plus de 2 années (Pope, 1961 ; Greene, 1997)

B) REPONSES PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES AU JEUNE DES SERPENTS

Six mois de jeûne induisent chez le Crotale une diminution de la glycémie (McCue, 2007a) comparable à celle qui se produit chez d'autres Reptiles jeûneurs (Gist, 1972 ; Martin et Bagby, 1973), Mammifères et Oiseaux (*cf.* IV B1) mais bien plus importante que celle que connaissent les Poissons (Barton et Schreck, 1998 ; Foster et Moon, 1991 ; Soengas *et al.*, 1998). Parallèlement, le taux plasmatique des corps cétoniques s'accroît mais regagne parfois au cours du jeûne, par des processus métaboliques mal identifiés, le niveau caractéristique des animaux nourris (McCue, 2007a). Cette capacité à réduire la cétogenèse malgré la permanence de l'oxydation des acides gras suggère que ces animaux possèdent un enzyme β -hydroxybutyrate déshydrogénase dont l'activité semble équivalente à celle des Endothermes (McCue, 2007a).

La composition corporelle relative des Crotales se modifie au cours du jeûne, conformément à ce qui a déjà été décrit chez d'autres animaux (*cf.* IV, B, 1). En effet, leurs réserves lipidiques, qui assurent la demande énergétique diminuent, et leur hydratation relative augmente. Le contenu relatif en protéines se maintient.

Des changements drastiques s'observent cependant dans la composition des réserves d'acides gras avec une augmentation de la proportion des acides gras insaturés, ce qui indique

que les acides gras saturés sont utilisés prioritairement. D'autre part, les acides gras essentiels comme l'acide linoléique et l'acide arachidonique semblent être épargnés, mais le mécanisme de discrimination des différents acides gras, qui existe aussi chez certains Poissons (Jeziarska *et al.*, 1982 ; French *et al.*, 1983), n'est pas encore connu.

Les protéines connaissent une mobilisation séquentielle avec une utilisation précoce et continue des protéines labiles et une consommation ultime des protéines non labiles et structurales (McCue, 2007a). En revanche, les amino-acides sont utilisés de manière indifférenciée, qu'ils soient essentiels ou non (McCue, 2007a).

C) REponses A LA REALIMENTATION EXPERIMENTALE

1) **Observations et Mesures**

De profondes modifications morphologiques et physiologiques surviennent de 0 à 14 jours après l'ingestion de la proie (Planche 6).

a) Quelles sont les réponses fonctionnelles ?

Pour des repas équivalents à 25% et 100% de la masse du prédateur, la consommation de dioxygène augmente respectivement de 17 à 45 fois par rapport à celle d'un animal à jeun (Secor et Diamond, 1995, 1998). Cet incrément surpasse les amplifications de 7 à 10 fois de la consommation de dioxygène observées consécutivement à des exercices musculaires vigoureux effectués à jeun (Secor *et al.*, 2000b). A titre de comparaison, la consommation en dioxygène des Mammifères qui fait suite à l'ingestion d'un repas s'accroît de 25 à 50% pour Brody (1945) et de 60 à 160% pour Jobling (1981).

Les capacités de transport des nutriments au sein de l'épithélium intestinal augmentent entre 6 et 26 fois suivant le type de transporteur, et se maintiennent à ce niveau durant six jours. Ces taux diminuent ensuite progressivement pendant près de huit jours au terme desquels ils retrouvent les valeurs connues chez les animaux à jeun (Secor et Diamond, 1995).

Cette conséquente réponse métabolique à la réalimentation sollicite fortement le système cardio-vasculaire qui, de surcroît, doit assurer un flux sanguin important au niveau gastro-intestinal pour transporter efficacement les nutriments nouvellement absorbés (Starck et

Wimmer, 2005b (chez *P. regius*) ; Skovgaard, *et al.*, 2007) et les peptides régulateurs entre les différents organes et tissus (Wang *et al.*, 2001).

La réaction cardio-vasculaire à la digestion se traduit par une augmentation de 360% de la fréquence respiratoire (Secor *et al.*, 2000b), qui est cependant associée à une décroissance du volume pulmonaire durant les premières 24h. Cette dernière est attribuée à la présence de la proie dans l'estomac qui entraîne une contrainte mécanique sur les poumons et/ou les muscles respiratoires (Wang *et al.*, 2001).

La fréquence et le débit cardiaque double et quadruple respectivement à la réalimentation [Secor *et al.*, 2000 ; Wang *et al.*, 2001b (chez *Boa constrictor*); Secor, 2005 ; Skovgaard, *et al.*, 2007]. Le volume de sang éjecté à chaque battement est, de façon remarquable, supérieur de 50% à celui d'un animal à jeun soumis à un intense exercice musculaire (Andersen *et al.*, 2005).

Overgaard et Wang (2002) ont montré que l'affinité du sang pour le dioxygène s'accroît, ce qui favorise l'extraction du gaz au niveau pulmonaire mais s'oppose à sa décharge au niveau tissulaire. Cependant, les tissus et organes présentent corrélativement une capacité d'extraction de dioxygène plus importante en période post-prandiale (Wang *et al.*, 2001 ; Overgaard et Wang, 2002). En revanche, l'hématocrite diminue de 25%, probablement du fait de l'absorption de fluides digestifs qui engendrent un volume plasmatique relativement plus important rapporté à celui des érythrocytes (Secor *et al.*, 2001 ; Overgaard *et al.*, 2002).

Les taux artériel et pulmonaire en dioxygène restant élevés durant la digestion, le système cardio-vasculaire ne semble pas constituer un facteur limitant du métabolisme durant la digestion (Secor *et al.*, 2000b ; Andersen *et al.*, 2005).

La période post-prandiale se caractérise également par une alcalinisation du sang, phénomène dénommé aussi « marée alcaline ». Elle résulte de l'augmentation de la concentration sanguine en HCO_3^- concomitante à la sécrétion gastrique d'HCl (Secor et Diamond, 1995 ; Overgaard *et al.*, 1999). Des réponses semblables sont observées chez *Rana*, *Alligators*, *B. constrictor* ainsi que chez les Mammifères (Overgaard *et al.*, 1999 ; Busk *et al.*, 2000a et 2000b ; Andrade *et al.*, 2004).

En dépit de la « marée alcaline », le pH artériel n'est pas grandement affecté par la réalimentation. L'alcalose métabolique apparaît pleinement compensée par une élévation artérielle de la P_{CO_2} causée par une hypoventilation relative (*i.e.* la ventilation n'augmente pas

proportionnellement avec la production de CO₂ qui par conséquent s'accumule) (Wang *et al.*, 2001 ; Andrade *et al.*, 2004). De plus, la dégradation des sulfures contenus dans certains amino-acides conduit à une acidification qui pourrait partiellement tamponner la marée alcaline (Overgaard *et al.*, 1999). Le pH artériel apparaît ainsi comme un paramètre qui doit être prioritairement régulé à la P_{CO_2} durant la période post-prandiale, ce qui permet d'établir une homéostasie contrecarrant les perturbations de l'équilibre acido-basique, et assure les activités enzymatiques et les processus métaboliques en cours (Wang *et al.*, 2001 ; Andrade *et al.*, 2004).

La concentration en potassium du plasma demeure très stable au cours de la digestion. Son contrôle semble dès lors prédominant sur la régulation des autres concentrations ioniques comme Na⁺ ou Cl⁻, du fait sans doute de son rôle primordial dans les fonctions cardiaque et neuronale (Overgaard *et al.*, 1999).

Enfin, le taux plasmatique de lactate reste faible, ce qui indique que l'augmentation post-prandiale du taux métabolique est entièrement assurée par des réactions aérobies (Overgaard *et al.*, 1999) au contraire des exercices musculaires qui impliquent une importante part du métabolisme anaérobie (Wang *et al.*, 2001).

La réalimentation signe la transition entre « dormance » et activité des fonctions digestives et d'absorption. Elle engendre également de profondes modifications du fonctionnement cardio-vasculaire. Quelles structures sont le support d'une telle fonctionnalité ?

b) Quelles sont les réponses morphologiques ?

Les masses fraîche (Holmberg *et al.*, 2002) et sèche (Secor et Diamond, 1998) de l'intestin doublent lors de la réalimentation, l'épaisseur de sa muqueuse triple (Secor et Diamond, 1995). Les dimensions des villosités et des microvillosités augmentent respectivement de 79% et 378% dans les deux jours qui suivent la réalimentation (Starck et Beese, 2001). La longueur des microvillosités est multipliée par un facteur de 6 (Secor et Diamond, 1998). Tous ces changements se produisent alors que le bol alimentaire commence à peine à atteindre l'intestin et perdurent dans l'ensemble pendant les six jours suivant le repas. Ils régressent pour retrouver les caractéristiques morpho-fonctionnelles d'un intestin à jeun au bout de 14 jours (Secor et Diamond, 1995).

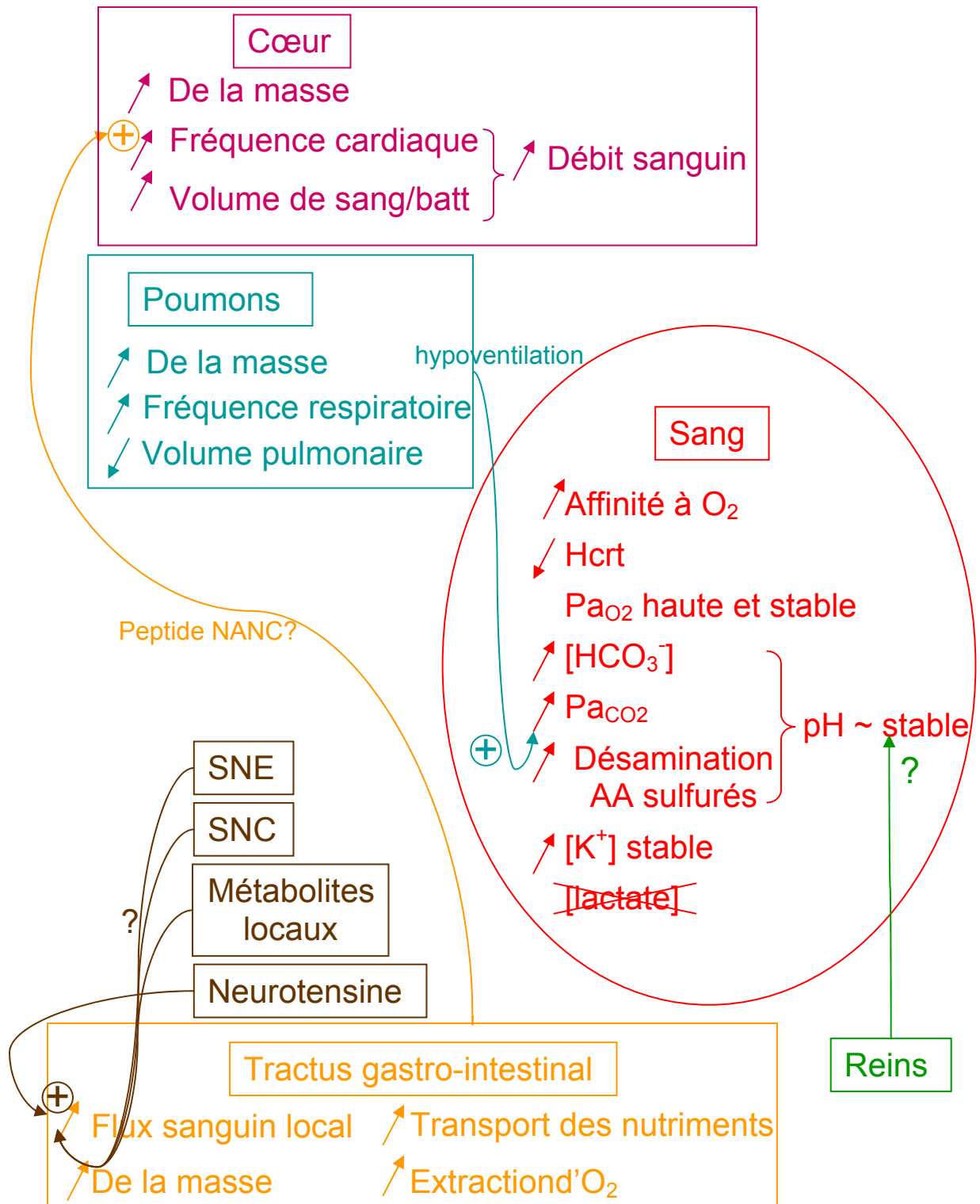


Planche 6: Les réponses post-prandiales et leurs régulations. **Hcrt:** Hématocrite; **Pa:** Pression partielle artérielle; **AA:** Amino-acides; **NANC :** Non adrénérique non cholinérique ; **SNC:** Système nerveux central; **SNE:** Système nerveux entérique

La réalimentation n'affecte, par contre, ni l'épaisseur ni le fonctionnement des couches musculaires sous-jacentes (Starck, 2001; Holmberg *et al.*, 2002). Des variations dans la densité des réseaux nerveux et des proportions de neurotransmetteurs impliqués dans la motilité n'ont pas non plus été constatées (Holmberg *et al.*, 2002). Cela s'expliquerait par la nécessité de maintenir le péristaltisme qui élimine les fragments tissulaires et autres microorganismes du tube digestif afin de prévenir les risques d'infections et ce, même en période de jeûne.

D'autres modifications massives se produisent sur divers organes comme le cœur, les poumons, les reins, le foie (Secor et Diamond, 1995, 1998 ; Starck, 2002). Le myocarde ventriculaire s'hypertrophie de 40% en près de 48h par l'accumulation de protéines contractiles consécutive à l'augmentation de l'expression de leurs gènes. Les stimuli vraisemblablement d'origine nerveuse ou hormonale demeurent inconnus à l'heure actuelle. (Andersen *et al.*, 2005)

La réalimentation chez le Python de Birmanie induit donc des bouleversements majeurs qui remodelent l'organisme tout entier pour l'ajuster à ses nouvelles conditions trophiques.

c) Quels sont les signaux inducteurs des réponses morpho-fonctionnelles du tractus digestif?

Les signaux céphaliques générés par la vue, l'odeur, le goût, le contact d'une proie vivante, ainsi que par les signaux gastriques induits par des distensions mécaniques de la paroi stomacale semblent incapables de conduire à une réponse fonctionnelle ou morphologique de l'intestin grêle (Secor *et al.*, 2002). De même, les sécrétions pancréatiques et biliaires n'agissent pas en tant que signaux trophiques (Secor *et al.*, 2000). Cependant, l'ingestion d'acides aminés et de peptides induisent une réponse physiologique intermédiaire: le transport de nutriments augmente modérément, les dimensions des microvillosités s'accroissent. Aucun effet sur les villosités n'est toutefois constaté.

La consommation de lipides entraîne une augmentation de la masse intestinale équivalente à celle atteinte un jour après réalimentation ainsi qu'une croissance des villosités par agrandissement des volumes cellulaires ; cette réponse est cependant considérée par

l'auteur comme ni morphologique ni fonctionnelle, mais comme un phénomène passif inhérent à l'absorption (Secor *et al.*., 2002).

d) Quels sont les agents régulateurs de la période post-prandiale ? (Planche 6)

- *Au niveau intestinal*

Le tractus gastro-intestinal synthétise et libère des peptides qui, par un mode d'action paracrine, hormonal ou neuro-hormonal, contrôlent différents paramètres de la digestion. Leurs tissus de sécrétion sont chez *P. molurus* identiques à ceux des Mammifères, excepté pour le GIP, d'origine pancréatique pour ce Serpent, mais de provenance intestinale pour les Mammifères. Leur taux plasmatique varie, en général, dans le même sens que ceux des Mammifères, en les surpassant toutefois (Secor *et al.*, 2000). Cependant, le glucagon, qui chez les Mammifères stimule la glycogénolyse, la lipolyse et la néoglucogenèse (Jiang et Zhang, 2003) de façon à fournir des carburants énergétiques durant les repas, accroît chez cet animal, de six fois son taux plasmatique mesuré à jeun (Secor *et al.*, 2000).

Par conséquent, l'harmonisation des fonctionnalités organiques au cours de la digestion (gestion de la motilité de l'ensemble du tractus, de la vidange gastrique, du déversement coordonné des différentes sécrétions) apparaît peu différente de celle des Mammifères.

- *Au niveau cardio-vasculaire*

La fréquence cardiaque serait régulée par un facteur NANC, c'est-à-dire de nature non adrénergique et non cholinergique, qui agirait directement sur le cœur. Bien qu'encore non identifié, il s'agirait d'un peptide régulateur relargué par le système gastro-intestinal durant la digestion (Wang *et al.*, 2001b) similairement à ce qui se produit chez les Humains (Kelbaeck *et al.*, 1987).

L'incrément de la demande cardio-vasculaire est probablement orchestré par un accroissement du flux sanguin systémique, concomitant à une augmentation de l'extraction du dioxygène. Une modification du degré de mélange des sangs veineux et artériel dans le ventricule unique de *P.molurus* conduisant à réduire le taux de dioxygène dans le sang mélangé en circulation dans les veines se superposerait aux précédents procédés (Wang *et al.*, 2001 ; Andrade *et al.*, 2004).

Une redistribution du sang vers l'estomac et l'intestin durant la digestion est par ailleurs établie chez les Mammifères, *Crocodylus sp* et plusieurs espèces de Poissons (Wang *et al.*, 2001). L'augmentation locale du flux sanguin au niveau gastro-intestinal est contrôlée par des métabolites locaux et des innervations appartenant à la fois aux systèmes nerveux central et entérique (Wang *et al.*, 2001). Skovgaard *et al.*, (2007) ont récemment démontré que la neurotensine est un important médiateur hormonal de l'hyperémie intestinale post-prandiale. Son implication dans la médiation des réponses cardiaques à la digestion est, par contre, relativement mineure.

- *Au niveau de l'équilibre acido-basique*

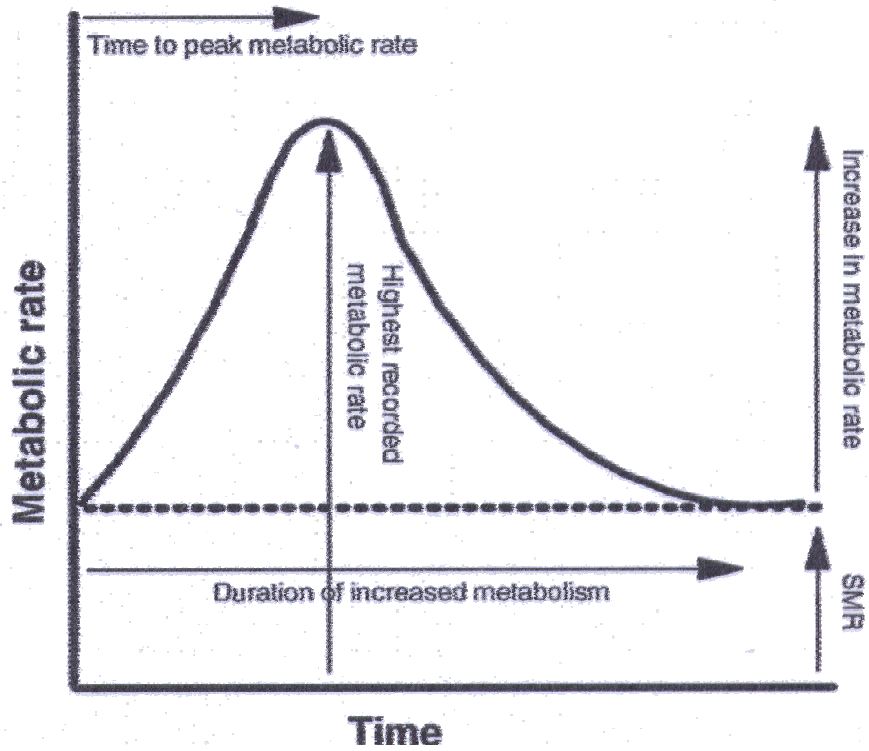
Chez les Mammifères, la « marée alcaline » est accompagnée d'une excrétion d'urine basique ; il n'est pas connu si les reins contribuent également à réguler la balance acido-basique chez *P.molurus* (Wang *et al.*, 2001 ; Andrade *et al.*, 2004). Chez les Amphibiens, les reins, la vessie et la peau sont des sites importants de transfert d'équivalents acido-basique qui concourent à l'homéostasie ionique du milieu intérieur (Wang *et al.*, 2001).

e) Quelles sont les hypothèses avancées pour expliquer la croissance intestinale ?

Deux hypothèses majeures ont été élaborées sur les mécanismes qui sous-tendent la croissance intestinale observée. D'un point de vue chronologique, la première repose sur une croissance de l'épithélium qui s'effectuerait par hyperplasie, ce qui impliquerait un turnover cellulaire et un coût énergétique élevés. Les réserves de l'animal seraient ainsi mises à contribution alors même que l'animal jeûne depuis une durée déterminée : c'est la théorie du « pay before pumping » (payer avant de consommer) avancée par Secor et Diamond (1994).

La seconde, énoncée par Starck et Beese (2001 et 2002), s'appuie sur les observations microscopiques qui révèlent la conversion, supposée mécanique, de la structure épithéliale pseudostratifiée en une organisation monostratifiée lors de la réalimentation. Elle résulterait de l'action d'un fluide sous pression déroulant des circonvolutions membranaires basales et latérales mises en évidence. L'adjonction de gouttelettes lipidiques dans les entérocytes pourrait amplifier le processus. Les coûts impliqués seraient en conséquence assez faibles, ce qui constituerait une stratégie intéressante car le jeûne amenuise les réserves énergétiques de l'animal.

a



b

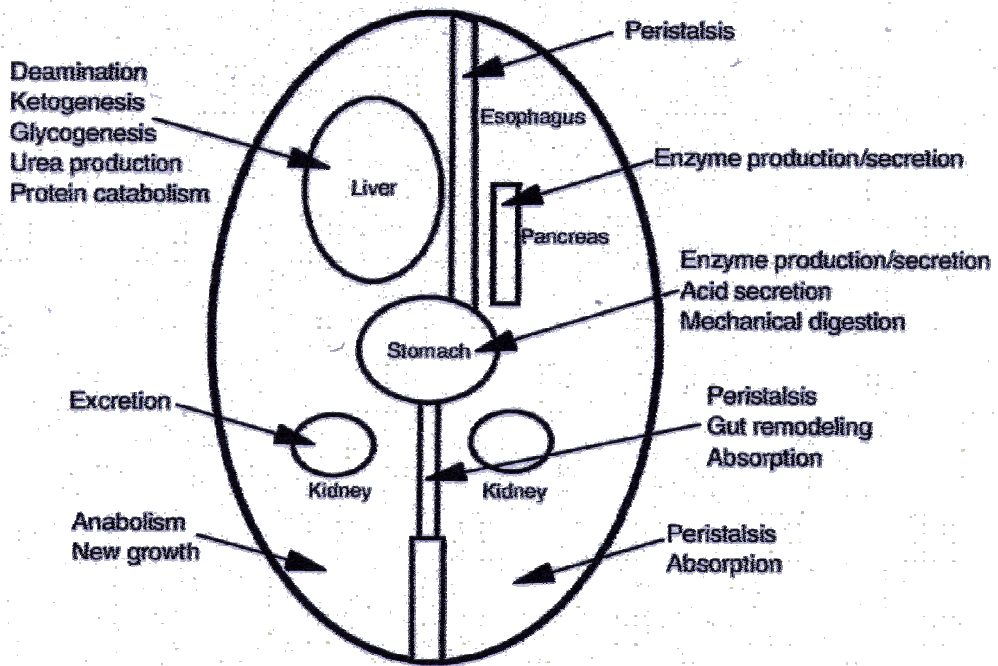


Planche 7: a: Représentation graphique d'une SDA arbitraire, annotée des paramètres couramment utilisés pour sa description (Extrait de McCue, 2006). **b:** Processus physiologiques pouvant potentiellement contribuer à la SDA (Extrait de McCue, 2006).

Par conséquent, dans le but de vérifier laquelle de ces hypothèses prévaut, de nombreuses études tentent de quantifier, via la mesure de la SDA (Specific Dynamic Action), le coût de la croissance intestinale que connaît *P. molurus* consécutivement à sa réalimentation.

2) Les apports de l'action dynamique spécifique (SDA)

a) Qu'est-ce que la SDA?

La SDA correspond à l'augmentation du taux métabolique qu'un animal endure après un repas (Brody, 1945 ; Kleiber, 1975 ; Jobling, 1981) (Planche 7). Les causes physiologiques supposées de ce phénomène peuvent se regrouper en trois catégories, les processus pré-absorptifs, absorptifs et post-absorptifs (McCue, 2006) (Planche 7).

Coûts pré-absorptifs : Réchauffement du repas (pour les endothermes), péristaltisme du tractus digestif, sécrétion enzymatique, catabolisme protéique, sécrétion acide, remodelage intestinal, régulation du pH sanguin.

Coûts absorptifs : Absorption intestinale, transport des nutriments à travers les membranes extradiigestives, sécrétion des hormones inductrices d'augmentation du métabolisme post-prandial.

Coûts post-absorptifs : Synthèse protéique, synthèse des corps cétoniques, désamination et/ou oxydation d'amino-acides, glycogénèse, d'uréogénèse, excrétion rénale, coûts généraux de croissance.

Dans un sens strict, la SDA inclut les coûts métaboliques impliqués dans la digestion, absorption et utilisation de la nourriture ; alors que la SDA apparente, celle qui est mesurée, correspond au taux métabolique pendant la période post-prandiale et comprend d'autres coûts associés à l'évènement alimentaire comme la préhension de la proie et l'hypertrophie gastro-intestinale (Wang *et al.*, 2001)

b) Comment est mesurée la SDA ?

L'évaluation requise du taux métabolique se base, en général, sur la consommation de dioxygène de l'animal avant, pendant et après l'ingestion. Il est supposé que l'individu n'accomplit aucune autre activité en dehors de celles entrant dans le calcul du métabolisme standard (ectothermes) ou basal (endothermes) et que les conditions de rétention de l'animal restent constantes. La SDA correspond donc à l'énergie excédentaire par rapport au métabolisme standard ou basal et qui est imputée à la dépense énergétique du système digestif, tandis que le coefficient de SDA est défini comme le rapport entre l'énergie dépensée par l'ensemble des processus digestifs nécessaires au traitement du repas et l'énergie ingérée contenue dans ce repas, la valeur obtenue étant multipliée par cent (Secor et Diamond, 1995 ; Overgaard *et al.*, 1999 ; 2002 ; Iglesias *et al.*, 2003 ; McCue *et al.*, 2005 ; McCue, 2006 ; Großmann et Starck, 2007 ; liste non exhaustive).

c) Quels sont les paramètres qui influencent la SDA ?

L'amplitude de la SDA dépend de plusieurs facteurs:

- La masse et/ou la taille du repas (Overgaard *et al.*, 1999 ; Hicks *et al.*, 2002 ; Busk *et al.*, 2000 ; Secor et Diamond, 1997 ; Secor, 2003)
- La composition du repas (Secor *et al.*, 2000a et 2000b ; Secor et Faulkner, 2002 ; McCue *et al.*, 2005 ; McCue, 2006).
- La masse de l'animal (Secor et Faulkner, 2002)
- Les caractères allométriques (\approx forme) de l'animal (Secor et Diamond, 1997 ; Secor et Faulkner, 2002 ; Toledo *et al.*, 2003 ; Ott et Secor, 2006),
- La température ambiante (Secor et Faulkner, 2002 ; Wang *et al.*, 2003 ; Toledo *et al.*, 2003)
- La consistance du repas (Secor, 2003 ; McCue *et al.*, 2005 ; Großmann et Starck, 2007).
- Cycles circadiens (Iglesias *et al.*, 2003)
- Durée du jeûne (McCue, 2006), cette donnée étant controversée par les études de Overgaard *et al.*, 2002.

d) Quelles sont les conclusions ?

Le coefficient de SDA a été estimé entre 27% (Overgaard *et al.*, 2002) et 30% (Secor et Diamond, 1997) pour l'ingestion d'un repas équivalent à 25% de la masse corporelle de l'animal.

Le fait que le coefficient de SDA s'élève brusquement dans les premières 48h du processus digestif, alors même que la proie se trouve toujours dans l'estomac, a de prime abord été corrélé avec l'impressionnante croissance de la muqueuse intestinale qui survient de façon concomitante. De sorte, ce facteur témoignerait du haut coût énergétique que nécessite la reconstruction de l'épithélium intestinal après une période de jeûne et validerait l'hypothèse « pay before pumping » énoncée par Secor en 1995.

Cependant, si Overgaard *et al.*, (2002) confirment la valeur élevée du coefficient de SDA, ils ne l'attribuent pas aux coûts des transformations que subit la muqueuse. En effet, des mesures de consommation de dioxygène suite à l'ingestion de deux repas espacés d'un intervalle compris entre 3 à 60 jours montrent que ce facteur ne varie pas. Or, d'autres données indiquent que la masse des organes gastro-intestinaux ainsi que le taux de transport des nutriments restent élevés pendant au moins six jours pour un repas équivalent à 25% de la masse du Python (Secor et Diamond, 1995). Ainsi, si la SDA était due aux coûteuses transformations morpho-fonctionnelles de l'épithélium intestinal, elle devrait diminuer lorsque l'ingestion des deux repas est espacée de 3 à 6 jours car, à cette date, les coûts de croissance de l'intestin sont inexistant, ce dernier étant encore fonctionnel. Le fait que la thermogénèse liée à l'alimentation reste stable signifie donc qu'elle n'est pas affectée par les dépenses engendrées par les modifications de la muqueuse intestinale qui, de sorte, doivent être faibles.

Ces résultats créditeraient plutôt l'hypothèse d'un remodelage énergétiquement peu onéreux de la muqueuse intestinale émise par Starck et Beese en 2001 et 2002.

Secor (2003) estime, au final, que seuls 4,9% de la SDA serait impliqués dans l'accroissement de la muqueuse gastro-intestinale. La plus grande partie (55%) serait dévolue au travail gastrique considérable, étant donné que l'animal avale sa proie entière. Le reste de la SDA serait due pour 26,3% à la synthèse protéique et pour 13,8% à l'activité du pancréas, de la vésicule biliaire, du foie, des reins, de l'intestin grêle et du côlon.

La mesure de la SDA chez un Colubridé, *Dasypeltis scabra*, mangeur exclusif d'œufs non incubés, donc de contenu liquide, réalisée par Großmann et Starck (2007) est la

plus basse répertoriée actuellement chez un Serpent. Ces résultats rejoignent les précédents ; l'estomac n'effectue, dans ce cas précis, que peu de travail de réduction alimentaire qui expliquerait la faible valeur de la thermogenèse liée à l'alimentation.

Cependant, plusieurs données expérimentales viennent en désaccord avec les interprétations précédentes. La ligature du pylore, qui interdit le passage du chyme vers l'intestin grêle, abolit la SDA (Wang *et al.*, 2006) ce qui suppose que le travail gastrique (production d'acides et d'enzymes) se réalise à faible coût. De même, le blocage de la H^+ , K^+ -ATPase, responsable de l'acidité gastrique n'induit pas la régression de la SDA, ce qui suggère des coûts énergétiques relativement faibles pour ce processus (Andrade *et al.*, 2004). D'autre part, McCue *et al.* (2005) mesurent une SDA plus importante pour un repas constitué d'une purée de Souris comparativement à celle générée par une Souris intacte et obtiennent des résultats similaires chez un Colubridé, *Pituophis catinifer*. Une homogénéisation de la carcasse induisant un relargage intégral et plus immédiat des métabolites que celui d'une proie entière serait l'hypothèse avancée. De plus, l'inhibition de la synthèse protéique post-prandiale se traduit par une diminution de 70% de la SDA, ce qui suggère que ce processus explique la plus grande partie de la SDA. Ces observations sont en accord avec celles mesurées chez les Crocodiliens et les Silures (revue de McCue *et al.*, 2005).

Si les données disponibles restent contradictoires quant au facteur prépondérant causant la SDA, elles semblent donc désormais soutenir l'hypothèse du remodelage énergétiquement peu onéreux de la muqueuse intestinale suggéré par Starck et Beese en 2001 et 2002.

3) Les problématiques abordées dans cette thèse.

Deux constats (Planche 8) ont permis d'établir les problématiques de cette étude : le premier, commun à de nombreuses espèces soumises à un jeûne prolongé, est le fait que le Python de Birmanie puisse endurer de longs jeûnes à l'instar d'animaux migrants, hibernants, en période de reproduction ou de croissance. Cette aptitude suppose l'existence et l'instauration d'un système efficace d'économie d'énergie dont certains aspects ont déjà été défrichés mais qui soulèvent à leur tour de nouvelles interrogations : quel est le support de la croissance intestinale? Comment est-elle orchestrée? Comment affecte-t-elle l'absorption?

Quelles sont les réponses au jeûne des autres organes digestifs, des organes non digestifs ? Existe-t il une limite d'irréversibilité du jeûne ?

Le second, propre à certains Serpents mais dont l'amplitude est remarquable chez *P. molurus*, est sa capacité à retrouver ses fonctionnalités digestives quasi-immédiatement lors de l'ingestion de sa proie, ce qui implique des ajustements physiologiques autres que ceux des Mammifères et des oiseaux. En effet, les espèces soumises à un jeûne prolongé requièrent classiquement un délai de recouvrement plus ou moins important de leurs aptitudes digestives qui n'apparaît cependant pas chez les Serpents chassant à l'affût.

De surcroît, les très longues périodes de jeûne endurées par ce Python conduisent, à la possibilité d'un épuisement énergétique. Néanmoins, pour être tenable d'un point de vue évolutif, celui-ci, ne doit pas nuire à l'éventualité d'une réalimentation et doit, en conséquence, reposer sur des mécanismes énergétiquement peu onéreux, d'ailleurs mis en évidence dans la bibliographie.

L'immédiateté de la réalimentation d'une part, et la nécessité de recourir au moins d'énergie possible à l'initiation de cette réalimentation d'autre part, dégagent plusieurs problématiques dont les **deux premières** seront étudiées dans ce travail de thèse.

Pb1 : Comment *P.molurus* vainc-il l'inertie inhérente à la réversion des dispositifs d'économie mis en place durant le jeûne ? Les procédés sont-ils les mêmes pour tous les organes ?

Pb2 : Comment *P.molurus* retrouve t-il ses fonctionnalités digestives avec potentiellement peu d'énergie ?

Pb3 : Existe il chez *P.molurus* un point d'irréversibilité du jeûne, pareillement à ce qui est observé chez les Oiseaux et les Mammifères ?

Pb4 : Comment s'opère la compatibilité du jeûne avec les autres fonctions? (i.e. existe-t il une concurrence d'allocation d'énergie entre reproduction, alimentation et croissance)

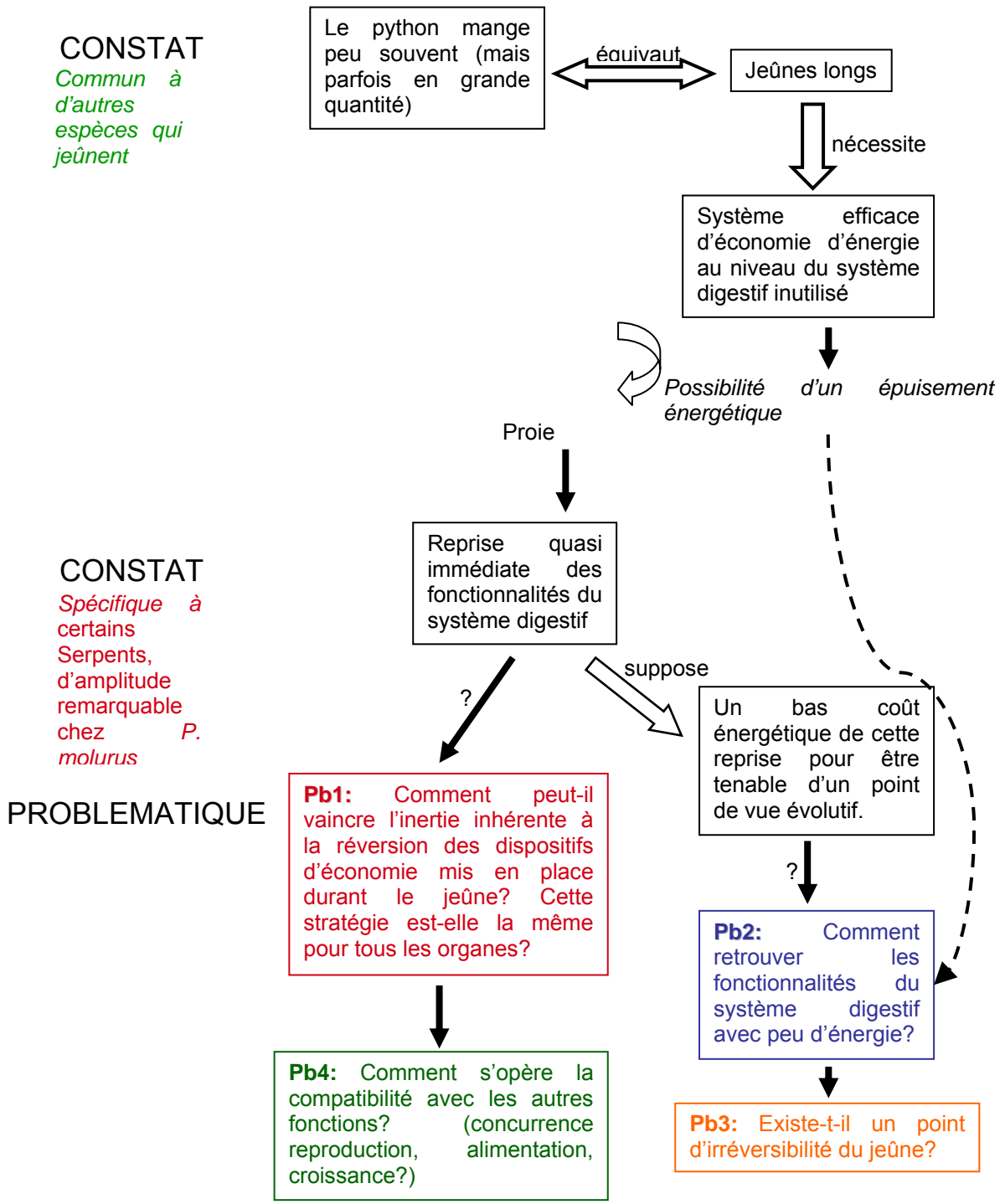


Planche 8 : Problématiques traitées et abordées dans ce travail de thèse

Pour tenter de répondre à ces questions, les travaux de recherche ont consistés :

- 1) A cartographier les différents organes supposés affectés par le jeûne de manière à posséder un référentiel histologique.
- 2) A établir la chronologie des évènements morphologiques survenant dans l'estomac et l'intestin de la reprise des capacités digestives jusqu'au retour de l'état à jeun, et ce afin de mieux comprendre la plasticité phénotypique de ces organes.
- 3) A observer le comportement d'enzymes-clef du fonctionnement digestif dans l'estomac et l'intestin.
- 4) A quantifier la multiplication cellulaire de l'épithélium intestinal, les données de l'hyperplasie intestinale étant assez controversées dans la bibliographie.
- 5) A vérifier quel est le support de la croissance de la muqueuse intestinale (*i.e.* pompe hydraulique versus accumulation de gouttelettes lipidiques).
- 6) A mesurer la multiplication cellulaire des épithélia de l'estomac et du côlon pour vérifier si les stratégies de croissance sont identiques dans ces différents organes.
- 7) A identifier certaines structures observées dans les cellules épithéliales.

Matériels et Méthodes

I) ANIMAUX.

Les animaux maintenus au DEPE et utilisés pour l'expérimentation étaient des Pythons de Birmanie (*Python molurus bivittatus*) provenant de différents revendeurs (Jungleshop, Amiens, Zooland et Nilufar, Strasbourg). Ces juvéniles âgés d'un mois à leur arrivée ont été maintenus au laboratoire pendant six mois et pesaient en moyenne 775 ± 44 g au moment de l'expérimentation. Les conditions d'élevage au laboratoire ont été identiques pour tous les animaux étudiés.

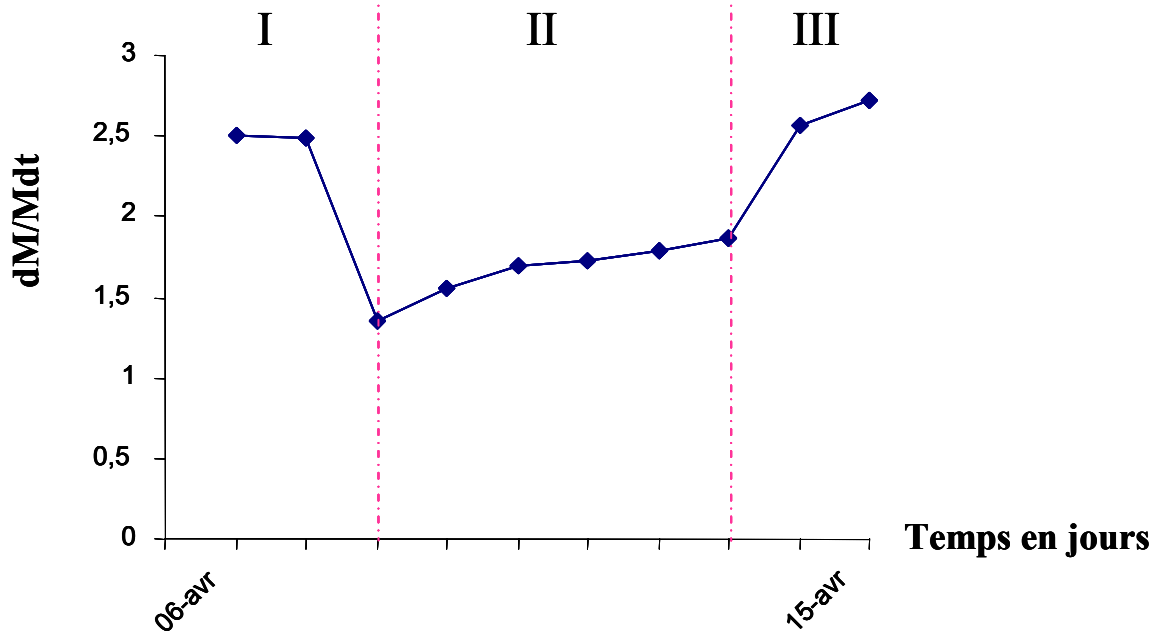
D'autres échantillons de muqueuse intestinale de *P. molurus*, envoyés gracieusement par le Dr S. M. Secor (Université de Tuscaloosa, USA), ont également été utilisés pour ces travaux (analyse en microscopie électronique à balayage conventionnel et détermination de la nature des sphéroïdes). Les échantillons provenaient de Serpents à jeun et réalimentés douze heures, un, deux, trois, quatre, six et quatorze jours avant euthanasie.

II) CONDITIONS D'ELEVAGE ET D'EXPERIMENTATION.

Les animaux ont été maintenus individuellement dans des terrariums terricoles de type « tout en verre » (dimensions : 120 x 50 x 50 cm) dans une salle de 16 m². Les vivariums étaient pourvus d'un récipient d'eau régulièrement changé, d'une cachette, d'un point chaud, d'une zone fraîche et les aérations des bacs étaient croisées (en haut au fond et en bas en avant du terrarium) (Planche 9). Un cycle de photopériode 12 : 12 a été appliqué sous une hygrométrie comprise entre 70% et 80% avec une température de 27°C le jour et de 22°C la nuit. Les Serpents ont été nourris avec des proies mortes, soit fraîchement euthanasiées, soit décongelées. Les repas étaient constitués de souriceaux, de souris et de rats de laboratoire élevés en continu au DEPE qui représentaient 25% de la masse corporelle des Pythons. Les conditions d'élevage au laboratoire du Dr S. M. Secor étaient identiques.

Dans une première expérimentation, les Pythons ont été répartis en différents lots suite à un jeûne de 30 à 45 jours : un groupe a été euthanasié suite à cette période de jeûne, les autres 12h, 1 jour, 3 jours ou 6 jours après réalimentation.

(a)



(b)



(c)

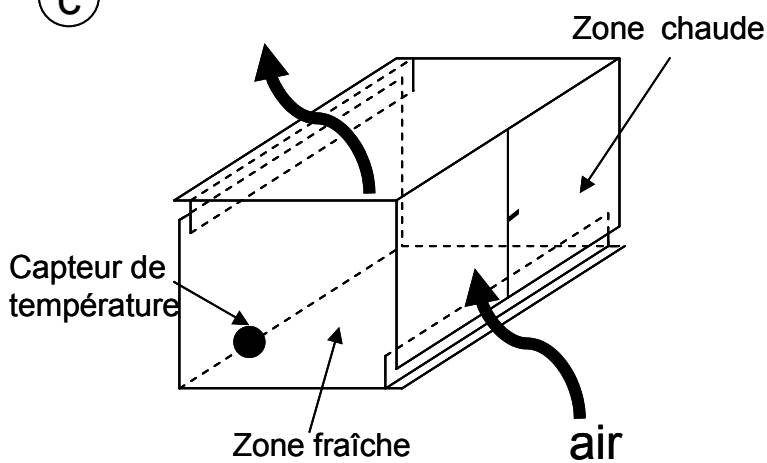


Planche 9 : a : Perte de masse spécifique en fonction du temps d'un Rat utilisé pour la seconde expérimentation. b : Terrarium type. c : Représentation schématique de la circulation d'air au sein du terrarium.

Dans une seconde expérimentation, et afin de mettre en évidence une différence dans la morphologie intestinale des Pythons molure en fonction de la teneur en lipides de la proie, quatre Pythons ont été alimentés à la suite d'une période de jeûne de 30 à 45 jours avec des Rats ayant moins de 1,3% de lipides. Les lipides présents correspondaient essentiellement aux lipides structuraux (membranes biologiques). Ces Serpents ont été comparés à des Pythons de même taille alimentés avec des Rats possédant environ 12% de lipides (Rats Wistar nourris normalement).

Pour obtenir ces Rats pauvres en lipides, un jeûne prolongé leur a été imposé en utilisant comme condition contrôlée la perte de masse spécifique des individus (Le Maho *et al.*, 1981, Chérel *et al.*, 1987). Les Rats, amenés en phase III de jeûne ou en fin de phase II (Planche 9), présentaient une adiposité quasi-épuisée estimée à 1,3% de leur masse corporelle (Chérel *et al.*, 1991). Les Rats riches et pauvres en lipides représentaient 25% de la masse des Serpents, et les expériences ont été réalisées dans une pièce à 30°C (hygrométrie 70%).

III) EUTHANASIE ET DISSECTION.

Les Pythons ont été sacrifiés par décapitation. Pour tous les animaux maintenus au DEPE, cette euthanasie a été effectuée 1h après une injection péritonéale de BrdU (50 mg/Kg de serpent). Pour tous les animaux, le tube digestif a été prélevé de l'œsophage jusqu'au cloaque et a été découpé en tronçons de 2 à 4 cm.

IV) TRAITEMENT DES ECHANTILLONS.

Les segments obtenus ont subi différents traitements selon qu'ils aient été destinés à être observés en microscopie optique (MO), en microscopie électronique à balayage en mode environnemental (ESEM) ou en mode haut vide ou conventionnel (CSEM), ou en microscopie électronique en transmission (MET). Une autre série d'échantillons a été collectée afin de réaliser des analyses biochimiques par Western blotting.

Tableau 1 : Conditions expérimentales et solutions nécessaires à l'obtention de coupes fines

Etapes	Solutions	Conditions
Fixation	PFA 3% dans du PBS	2h, TA
Lavages	PBS	2 x10 min
Déshydratation	Alcool 70 Alcool 95 Alcool 100	2 x10 min 3 x15 min 2 x30 min, TA
Imprégnation	Histoclear	3 x15 min
Inclusion	Paraffine	3 x20 min
Coupes		Sur lames Poly-L-lysine

Tableau 2 : Protocole de la coloration de Masson variante Goldner.

Etapes	Solutions	Durée
Déparaffiner	Histoclear	2x10 min
Hydrater	Alcool 100, 95,70 et eau	5 min par produit
Colorer à l'hématoxyline	Hématoxyline de Groat	5 min
Laver	Eau courante	5 min
Colorer à la fuchsine	Fuchsine-Ponceau	5 à 15 min
Rincer	Solution aqueuse d'acétate à 1%	Tremper 3 fois
Colorer à l'orangé	Orangé-G molybdique	5 min
Rincer	Solution aqueuse d'acétate à 1%	Tremper 3 fois
Colorer au vert	Vert lumière	5 min
Rincer	Alcool 100	Tremper 3 fois
Déshydrater	Alcool 100 puis butanol	5 min par produit
Monter	Histoclear puis Eukitt sur lame	2 x10 min

Tableau 3 : Protocole expérimental de la coloration au rouge d'alizarine.

Etapes	Solutions	Durée
Déparaffinage	Histoclear	2 x 10 min
Hydratation	Alcools 100, 95, 70, eau	5 min chacun
Coloration	Alizarine 2% dans de l'eau	30 sec
Déshydratation	Acétone, acétone/histoclear	20 sec puis 10 min
Montage	Résine hydrophobe Eukitt	

A) HISTOLOGIE ET TECHNIQUES DE MICROSCOPIE OPTIQUE

1) **Obtention de coupes fines (Tableau 1)**

Après prélèvement, les échantillons sont immédiatement fixés par une solution de PFA diluée à 3% dans du PBS pendant 2 h et à température ambiante (Martoja et Martoja, 1967). Les échantillons sont ensuite placés dans de l'alcool 70°, renouvelé pendant 24 à 48 h, où ils peuvent être conservés. Une déshydratation est ensuite effectuée par passages successifs des échantillons dans trois bains d'alcool 95° puis 100° d'une quinzaine de minutes chacun. L'inclusion est réalisée par trois bains consécutifs d'histoclear précédant la pénétration de la paraffine à 60°C. Avant la mise en bloc, les échantillons sont orientés de façon à obtenir des coupes transversales, puis coupés finement (4-6 µm d'épaisseur) par un microtome de type OSI. Les coupes obtenues sont étalées et collées sur des lames préalablement poly-L-lysiniées et enfin placées à l'étuve à 37°C pour une durée minimale de 24 h.

Les coupes réalisées ont concerné des échantillons d'œsophage, d'estomac, d'intestin, de côlon, de cloaque, de foie, de rein, de pancréas et de poumon.

2) **Techniques de coloration des coupes fines.**

Plusieurs types de coloration ont été effectuées : le trichrome de Masson pour la cartographie cellulaire, coloration à l'alizarine, au nitrate d'argent, au nitrate de cobalt pour identifier le calcium, au noir Soudan pour identifier les graisses.

a) Coloration au trichrome de Masson Variante Goldner (Tableau 2).

Cette coloration utilise l'hémoxylène de Groat, le mélange Fuchsine-ponceau, l'orange G molybdique et le vert lumière. Elle permet de différencier les constituants tissulaires et cellulaires. Les noyaux sont colorés en noir, l'appareil de Golgi en gris, les cytoplasmes acidophiles et nucléoles en roses. Les sécrétions sont soit rouges soit vertes. Les muscles apparaissent en rouge et les fibres de collagène en vert.

Tableau 4 : Protocole expérimental de la coloration au nitrate de cobalt.

Étapes	solutions	durée
Déparaffinage	Histoclear	2 x10 min
Hydratation	Alcools 100, 95, 70, eau	5 min chacun
Coloration	Solution aqueuse de nitrate de cobalt (1%)	5 min
Lavages	3x à l'eau distillée	3 x 5 min
Révélation	Solution aqueuse à 2% de sulfure d'ammonium	2 min
Lavage	Eau courante	5 min
Déshydratation	Bains successifs d'alcools 70,95 et 100	5 min chacun
Montage	Histoclear puis Eukitt sur lames	2 x 10 min

Tableau 5 : Protocole expérimental de la coloration au nitrate d'argent.

Étapes	Solutions	Durée
Déparaffinage	Histoclear	2 x10 min
Hydratation	Alcools 100, 95, 70, eau	5 min chacun
Coloration	Solution aqueuse de nitrate d'argent (2%) sous U.V	1 h
Lavages	3 x à l'eau distillée	3 x 5 min
Révélation	Solution aqueuse à 3% de thiosulfate de sodium	2 min
Lavage	Eau distillée	5 min
Déshydratation	Bains successifs d'alcools 70,95 et 100	5 min chacun
Montage	Histoclear puis Eukitt sur lames	2 x 10 min

Tableau 6 : Protocole expérimental de la coloration au noir Soudan.

	H ₂ O ₂	20 min
Lavage	Eau distillée	5 min
Coloration	Solution alcoolique à 0,3% de noir Soudan	45 min à 60°C
Rinçage	Alcool 70	30 sec
Lavage	Eau courante	30 sec
Déshydratation	Bains successifs d'alcools 70,95 et 100	5 min chacun
Montage	Histoclear puis Eukitt sur lames	2 x 10 min

b) Coloration au rouge d'alizarine: méthode de Dahl et McGee-Russel (Tableau 3)

Cette coloration repose sur l'utilisation du rouge d'alizarine qui est spécifique du calcium. Néanmoins, au vu des risques d'interférences, cette coloration a également été pratiquée sur des lames contrôles préalablement décalcifiées. Pour cela, les lames sont baignées pendant 10 min dans une solution aqueuse de citrate d'ammonium à 10% après l'étape d'hydratation. La suite du protocole reste inchangée. Une coloration rouge apparaît à l'emplacement du calcium.

c) Coloration au nitrate de cobalt : méthode de Stoelzner (Tableau 4)

Cette coloration repose sur l'utilisation du nitrate de cobalt qui se substitue au calcium. Le cobalt est mis en évidence par précipitation par du sulfure d'ammonium. Une coloration sombre apparaît à l'emplacement du calcium.

d) Coloration au nitrate d'argent : méthode de Von Kossa (Tableau 5)

Cette coloration repose sur l'utilisation du nitrate d'argent qui se substitue au calcium et précipite sous l'action d'UV. Le précipité est ensuite révélé par le thiosulfate de sodium. Une coloration noire apparaît à l'emplacement du calcium.

e) Coloration au noir Soudan (Tableau 6)

Cette coloration repose sur l'utilisation du noir Soudan qui colore les gouttelettes lipidiques en noir.

Tableau 7 : Protocole expérimental du marquage au BrdU

Étapes	Solutions	Durée
Déparaffinage	Histoclear	2 x10 min
Étapes	solutions	Conditions expérimentales
Déparaffinage	Histoclear alcool 100	2 x10 min chacun
Hydratation	PBS (Sigma) puis eau distillée	5 min chacun
Lavages	Eau distillée	2 x5 min
Blocage de la peroxydase endogène lavages	Eau oxygénée 3% Eau distillée	10 min à 37°C 2 x5min
Dénaturation de l'ADN lavages	HCl 2N Borax 0.1M puis PBS	30 min à 37°C 5 min puis 2x 5 min
Prétraitement enzymatique Lavages	Trypsine (Sigma) PBS	10 min à 37°C 2 x5 min
Blocage des sites aspécifiques	Blocking (5% de NGS Gibco) dans du diluant	15 min à RT
Réaction avec l'anticorps primaire Lavages	Anti Brdu monoclonal (Sigma)1/200 dans du diluant PBS	2 h 37°C 4 x 5 min
Réaction avec l'anticorps secondaire lavages	Anticorps II Goat anti-Mouse biotinilé (Sigma)1/200 dans du diluant PBS	1 h à TR 3 x 5 min
Mise en présence du substrat Lavages	Extravidine (Sigma)1/100 dans du diluant PBS	30 min àRT 3 x 5 min
Révélation Arrêt	DAB (Sigma) Eau distillée	5 min à l'obscurité à RT
Déshydratation	Bains successifs d'alcools 70,95 et 100	5 min chacun
Montage	Histoclear puis Eukitt sur lames	2 x 10 min

3) Technique de marquage sur coupes fines

a) Marquage des cellules en phase S du cycle cellulaire : marquage au BrdU. (Tableau 7)

Le marquage au BrdU s'effectue directement sur des coupes fines après déparaffinage et met en évidence les cellules en duplication. Il s'agit d'une substance qui s'insère dans l'ADN pendant la réplication. Sa détection est immuno-histochimique par le biais de deux anticorps : un anticorps primaire anti-BrdU de souris et un anticorps secondaire anti-souris de chèvre anticorps lié à une peroxydase. Lorsque le substrat (extravidine HRP) est ajouté sur les coupes, l'activité de cette peroxydase est révélée par le DAB (système d'amplification de type biotine/avidine couplé à la peroxydase). Les coupes sont montées puis observées au microscope optique (Zeiss axioplan 2). Les noyaux en réplication sont marqués en brun.

b) Marquage d'enzymes par immunofluorescence (Tableau 8)

Les pompes à proton et à sodium appartiennent à la famille des ATPases de type P, qui sont caractérisées par leur capacité à transporter des ions à travers la membrane en utilisant l'énergie de la dégradation d'un ATP. Le mécanisme de transport actif d'ion par les ATPases de type P s'explique par l'alternance de deux états conformationnels et l'existence de plusieurs équilibres d'affinité entre les espèces ioniques, l'ATP et la pompe dans ses deux états.

Marquage de la H^+ , K^+ -ATPase : L'anticorps primaire utilisé pour cette réaction est l'anti- H^+ , K^+ -ATPase de lapin (Chemicon international, AB1674) dilué à 1/1000 dans du PBS. Il reconnaît la partie C-terminale de la sous-unité α de la pompe H^+ , K^+ . La pompe à protons est un enzyme magnésium-dépendant qui assure l'échange d'un proton contre un ion potassium à travers une membrane. Il est présent au niveau du côlon, du rein, mais surtout de l'estomac où il est particulièrement actif et où il assure la sécrétion de protons responsables de l'acidité du liquide gastrique. Il génère ainsi un gradient de pH de plus de 6 unités : alors que le pH du sang est de 7,3, celui du liquide gastrique est voisin de 1.

La pompe à protons est située dans les cryptes de la muqueuse gastrique au pôle apical (luminal), des cellules pariétales chez les Mammifères et des cellules oxyntopeptiques chez les vertébrés non-mammaliens. Elle échange un ion potassium contre un proton d'une

Tableau 8 : Protocole de marquage par immunofluorescence

Étapes	Solutions	Conditions
Déparaffiner	Histoclear	2x10 min, TA
Hydrater	Alcool 100, 95,70 et eau	5 min chacun, TA
Perméabilisation membranaire	Solution A : 0.01% de Tween 20, chlorure de sodium 150mM dans du PBS	10 min, TA
	Solution B :	5 min, TA
Blocage des sites aspécifiques	Solution C : 1% de BSA, 0.1% de gélatine dans du PBS	10 min, TA
Réaction avec l'anticorps primaire	Se référer au texte	2 h, 37°C
Lavages	PBS	3x 5 min
Réaction avec l'anticorps secondaire conjugué au fluorochrome	Alexa Fluor 488 Goat Anti-Mouse (Molecular Probes A11001) ou Anti-Rabbit (Molecular Probes A11034) 1/200 dans du PBS	1 h, TA à l'obscurité
Lavages	PBS	3x5 min, TA à l'obscurité
Montage	Fluoromount	Conserver à 4°C dans l'obscurité

Tableau 9 : Conditions expérimentales et solutions nécessaires à l'obtention de coupes semi-fines.

Étapes	Solutions	Conditions
Fixation	Glutaraldéhyde à 2,5% dans Na-cacodylate 0,1M ; pH : 7,5	2 h, 4°C
Lavages	Tampon Na-cacodylate	3 x10 min, 4°C
Post-fixation	Tétroxyde d'osmium à 1% dans du Na cacodylate	1 h, 4°C
Déshydratation	Alcools 70, 95	10 min chacun
	Alcool 100	10 puis 20 min
	Oxyde de propylène	2 x15 min, TA
Imprégnation	Araldite et oxyde de propylène (1/2 et 1/2)	1 h, TA
	Araldite et oxyde de propylène (2/3 et 1/3)	1 nuit, 4°C
	Araldite pure	1 h, TA
Inclusion	Araldite pure	
Polymérisation		37°C, 3 h
		45°C, 24 h
		60°C, 2 jours

manière électroneutre, c'est-à-dire sans modification de la polarisation cellulaire. L'énergie requise pour assurer cet échange est fournie par l'hydrolyse de l'ATP régénérée par les mitochondries. La sécrétion de Cl^- est couplée à celle du K^+ qui est recyclé. Le principal stimulant de la pompe H^+/K^+ -ATPase est la prise d'aliments.

Marquage de la Na^+ , K^+ -ATPase : L'anticorps primaire utilisé pour cette réaction est l'anti- Na^+ , K^+ -ATPase de poulet (Hybridoma Bank, $\alpha 5$) dilué à 1/1000 dans du PBS. Il reconnaît la partie C-terminale de la sous-unité α de la pompe à sodium et a été utilisé avec succès sur un nombre important de Vertébrés et de non-Vertébrés (Lebovitz *et al.*, 1989 ; Baumann et Takeyasu, 1993 ; Baumann *et al.*, 1994 ; Just et Walz, 1994 ; Ziegler, 1997 ; Lignot et Charmantier, 2001 ; Lignot *et al.*, 1999, 2005). La pompe sodium/potassium ou Na^+/K^+ -ATPase découverte en 1958 sur des neurones de Crabes par Jens Christian Skou (prix Nobel de chimie en 1997), est un enzyme transmembranaire dont l'activité enzymatique utilise l'énergie issue de la dégradation de l'ATP en ADP et phosphate inorganique pour transporter des ions potassium et sodium contre leur gradient de concentration. Il joue un rôle dans le maintien du potentiel de repos des cellules nerveuses, musculaires et cardiaques. Cette pompe permet d'échanger les ions sodium, Na^+ , issus du milieu intracellulaire avec les ions potassium, K^+ , issus du milieu extracellulaire dans un rapport précis ($3 \text{ Na}^+ / 2 \text{ K}^+$). Cette pompe est enfin responsable du rétablissement de l'équilibre initial après un potentiel d'action.

4) Obtention de coupes semi-fines (Tableau 9)

De dimensions réduites (1 cm / 2 mm), les échantillons ont été inclus dans une résine (Araldite 502, Polysciences) après avoir été fixés au glutaraldéhyde à 2,5% et post-fixés au tétroxyde d'osmium. Des coupes semi-fines (1,5 μm) ont alors été réalisées à l'ultramicrotome (Reichert-Jung) avec des couteaux en verre.

5) Coloration des coupes semi-fines : technique de Mayoz (1961)

La déplastification des coupes nécessite du méthoxyde de sodium (bain de 20-30 sec). Les lames sont ensuite passées dans des bains de benzène-alcool méthylique (1:1) et d'acétone avant d'être rincées à l'eau distillée. Les coupes sont alors colorées au bleu de

toluidine 1,5% dans du carbonate de sodium à 2% pendant une minute puis rincées, déshydratées, et montées entre lame et lamelle avec de l'Eukitt.

6) Quantification du renouvellement cellulaire.

Le renouvellement cellulaire a été calculé à partir de coupes fines marquées au BrdU issues des cinq lots de pythons : un lot resté à jeun (n=2), un autre euthanasié un jour après réalimentation (n=3) et un dernier groupe euthanasié trois jours après réalimentation (n=3).

Les photos numériques des différentes coupes ont été obtenues grâce à une caméra numérique Zeiss couplée au microscope et grâce au logiciel Axiovision. Le nombre de noyaux marqués a été rapporté à la distance de la villosité ; comme ces dernières ne sont pas symétriques, cette longueur correspond à la distance comprise entre la base gauche de la villosité jusqu'au sommet et du sommet jusqu'à la base droite de la villosité. Le tracé suivi a été celui de la lame basale. Les calculs de distances ont été effectués par le logiciel Scan PRO (Jandel) sur une moyenne de trente villosités par animal en coupe longitudinale (dix provenant de la région antérieure de l'intestin, dix de la région médiane et dix de la région distale). Les villosités ont été sélectionnées au hasard mais étaient entières de la base au sommet et ne présentaient ni déchirure, ni pliure ni enroulement. Des quantifications du renouvellement des cellules stomacales et coliques ont également été réalisées.

B) TECHNIQUES DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

1) **Microscopie électronique à balayage (Tableau 10)**

a) Techniques d'observation

Dans ces techniques, les tissus sont observés en trois dimensions et non en coupe, ce qui permet l'analyse des surfaces lumineuses. Les échantillons sont métallisés à l'or dans un métalliseur (Edwards) (Planche 10) après avoir été fixés chimiquement, déshydratés et séchés. Ils sont ensuite observés grâce à un microscope électronique à balayage de type ESEM XL30 de chez FEI en mode haut vide (mode « conventionnel »), à différents voltages (5-30 keV) et grâce à la détection des électrons secondaires émis par l'échantillon.

En mode « environnemental » (pression variable) (Planche 10), les échantillons, uniquement fixés, sont observés hydratés, dans un état proche de l'état *in situ*, permettant ainsi l'absence d'éventuels artefacts liés à la technique tels que les effets de charge du fait d'une métallisation insuffisante ou non homogène, de contaminations et des fractures. Les électrons secondaires émis par l'échantillon, accélérés par la tension positive imposée au détecteur, entrent en collision avec les atomes du gaz environnemental qui sont ionisés, formant en cascade de nouveaux électrons, d'où une amplification du signal formant l'image. Les ions positifs ainsi formés neutralisent les charges négatives, qui s'accumulent sur l'échantillon d'où disparition des phénomènes de charges. Le détecteur utilisé présente ainsi un double avantage: il permet l'observation d'échantillons non-conducteurs et amplifie le courant d'image.

Il est ainsi possible d'observer des échantillons dans un état hydraté ou vivant, à la fois en condition d'humidité relative variable (HR de 0 à 100 %) et dans un grand intervalle de températures (utilisation d'une platine Peltier entre -10°C à 50°C). Ces propriétés font qu'il est possible d'étudier les échantillons dans leur état naturel, c'est-à-dire sans préparation préalable susceptible de détériorer les échantillons et de modifier leur structure. Cette méthode apporte des informations visuelles directes inaccessibles par les techniques de microscopie électronique à balayage conventionnelle (MEB). De plus, la microscopie environnementale permet une étude dynamique en temps réel.

Tableau 10 : Conditions expérimentales et solutions nécessaires pour des observations de type MEB et MEBE.

	MEB	MEBE
Fixation	PFA 3% dans du PBS 2 h, 4°C	PFA 3% dans du PBS 2 h, TA
Lavages	PBS	PBS
Liquide d'attente	Alcool 70	Eau physiologique
Déshydratation	Alcool 100 3x5 min, TA Héxaméthylsilazane 2 bains, TA	-
Séchage à l'air		-
Collage	Scotch double face et colle d'argent	-
Métallisation		-
Observation	10-20 kV Décteur Thorney-Everhart Spot 3-4 Distance de travail : 10 mm	10-15 kV Décteur gazeux d'électrons secondaires (GSED) 4°C, 1-5 Torr Humidité relative : 15-80%

b) Aperçu historique de l'utilisation du microscope électronique à balayage en mode environnemental appliqué à la biologie

Collins (1993) a été un pionnier dans l'utilisation du MEBE appliqué à la biologie. Il a étudié des micro-organismes (Bactéries, Champignons, « micro-Algues », etc.) ayant subi une très courte préparation et avec une résolution et une profondeur de champ typiques du MEB. Les images ainsi réalisées en mode hydraté, en collectant les électrons rétrodiffusés sur des échantillons marqués, ont permis de montrer que la structure interne de certaines Bactéries peut être observée grâce à une information venant d'une profondeur plus importante de l'échantillon, spécifique de ces électrons plus énergétiques que les électrons secondaires.

Tai et Tang (2001) ont réalisé une étude assez complète d'échantillons biologiques en MEBE, parmi lesquels des Insectes, des micro-organismes, des tissus animaux et végétaux, et des cellules vivantes. Ils ont établi que le taux d'humidité optimal est de 85% ; au-delà, la condensation de gouttelettes d'eau à la surface des objets perturbe l'observation, et en-deçà, la déshydratation provoquée induit un rétrécissement de l'échantillon, voire la cristallisation de sels présents.

Cette valeur a été également retenue par Stokes (2003) dans des études de biocompatibilité et de biomatériaux. Ces conditions favorisent, en effet, la qualité des images (augmentation du rapport signal/bruit) aux dépens d'une déshydratation des échantillons, mais qui apparaît mineure car très lente du fait de la basse température inhérente à l'observation.

Callow *et al.*, (2003) ont révélé grâce au MEBE, que la substance adhésive produite par certaines spores d'« Algues » marines s'hydrate lors de sa libération pour former un semi-fluide qui durcit rapidement pour former un gel. Jusqu'alors observée en MEB, elle se présentait sous forme de structures fibrillaires. Cette découverte a permis de progresser dans la conception de nouveaux produits « antifouling ».

Wallström et Karlsson (2004) ont étudié grâce au MEBE l'adhérence des biofilms (dépôts constitués de micro-organismes dans une matrice hydratée). En effet, les isolants de type élastomères chargés en silice et utilisés dans les dispositifs haute tension d'extérieur sont souvent sujets à des dépôts de ce type qui induisent une dégradation du matériau.

Au travers de diverses études d'échantillons biologiques, le MEBE a eu le grand intérêt de conserver ces derniers dans leur état natif pour en obtenir une analyse plus juste,

moins altérée par les séquelles artéfactuelles. L'étude des effets de conditions dynamiques d'hydratation, de déshydratation, et/ou à différents gradients de températures peut également être pertinente pour des échantillons biologiques hydratés et même vivants.

2) Microanalyse chimique EDX (Energy Dispersive X-ray spectrometry) couplée à la microscopie électronique à balayage environnementale

L'ESEM XL30 est équipé du système de détection *Spirit* (Princeton Gamma Tech distribué en France par Synergy4) (Planche 10). L'échantillon est dans notre expérimentation, bombardé par un faisceau d'électrons d'énergie fixé à 20 keV ; une émission de rayons X caractéristiques des éléments constituant l'échantillon peut ainsi être obtenue.

L'émission se produit dans une poire d'interaction de dimensions de l'ordre du micromètre ce qui entraîne que la résolution spatiale de l'analyse et la profondeur analysée sont de l'ordre du micron. Grâce au détecteur EDX constitué par un semiconducteur et composé d'un monocristal de silicium, dopé au lithium et polarisé, il est alors possible de reconstituer le spectre d'émission de l'échantillon à partir des photons X reçus. Seuls sont pris en compte dans l'analyse, les photons X qui atteignent le détecteur et qui se sont donc échappés de l'échantillon selon un angle d'émergence ("take-off") déterminé par la géométrie du système. Chaque photon X d'énergie produit et détecté par le système induit ainsi un certain nombre de paires 'électrons-trous' au niveau du détecteur, proportionnel à l'énergie du photon dégagé.

Pour le bon fonctionnement de l'appareil, il est nécessaire de maintenir le détecteur à très basse température pour avoir une conductivité électrique minimale du semiconducteur en dehors de la présence de paires électrons-trous et pour réduire au maximum le bruit de la chaîne d'acquisition.

L'analyse spectrale peut être obtenue à partir d'un point déterminé, d'un transect établi sur l'échantillon ou à partir d'un champ donné et à un grossissement fixé. Une cartographie X est également réalisable par une acquisition point par point, chaque élément analysé étant représenté par une couleur différente.

Il est nécessaire de bien connaître la technique d'analyse ainsi que la nature des éléments analysés (numéro atomique, nombre de raies, position des éléments considérés dans le tableau périodique de Mendeleïev). Une raie d'émission X ne peut pas être excitée si l'énergie des électrons incidents est inférieure à l'énergie du photon X correspondant. Il est ainsi estimé empiriquement qu'une excitation optimale est obtenue pour une énergie incidente de l'ordre de 1,5 à 2 fois l'énergie de la raie d'émission : la raie de plus haute énergie utilisée dans la quantification fixe donc la tension d'accélération optimale pour l'analyse d'un système. Le 'temps mort' pendant l'acquisition est également une donnée importante. En effet, si deux photons arrivent presque simultanément dans le cristal, les paires électrons-trous créées par les deux photons s'additionnent et le système détecte un faux photon d'énergie égale à la somme de celles des deux photons incidents. Pour éviter cet artefact, la chaîne électronique élimine systématiquement les deux mesures si l'arrivée d'un nouveau photon est détectée avant que la décroissance du nombre de paires créées par le premier ne soit complète. Il s'ensuit un blocage de la chaîne correspondant à un temps mort exprimé en pourcentage du temps d'acquisition et ne devant pas excéder 35%. Le temps d'acquisition a été également fixé à 100 secondes pour les analyses spectrales. Pour la cartographie X, la résolution dépend du temps d'analyse mais également du voltage

L'expérimentation a consisté à analyser des surfaces de blocs d'araldite contenant les échantillons préparés pour la microscopie électronique en transmission (*cf.* paragraphe B3)) selon la technique détaillée par Laüe (Laüe *et al.*, 2005). Une autre série d'échantillons correspond à des villosités intestinales fixées au paraformaldéhyde 1% ou 2%, si l'échantillon n'a pas subi de post-fixation à l'osmium. Enfin, des surfaces de villosités intestinales fixées pendant 2 heures au paraformaldéhyde à 3 % dans du PBS puis maintenues pendant quelques heures dans de l'eau distillée avant analyse ont également été étudiées.

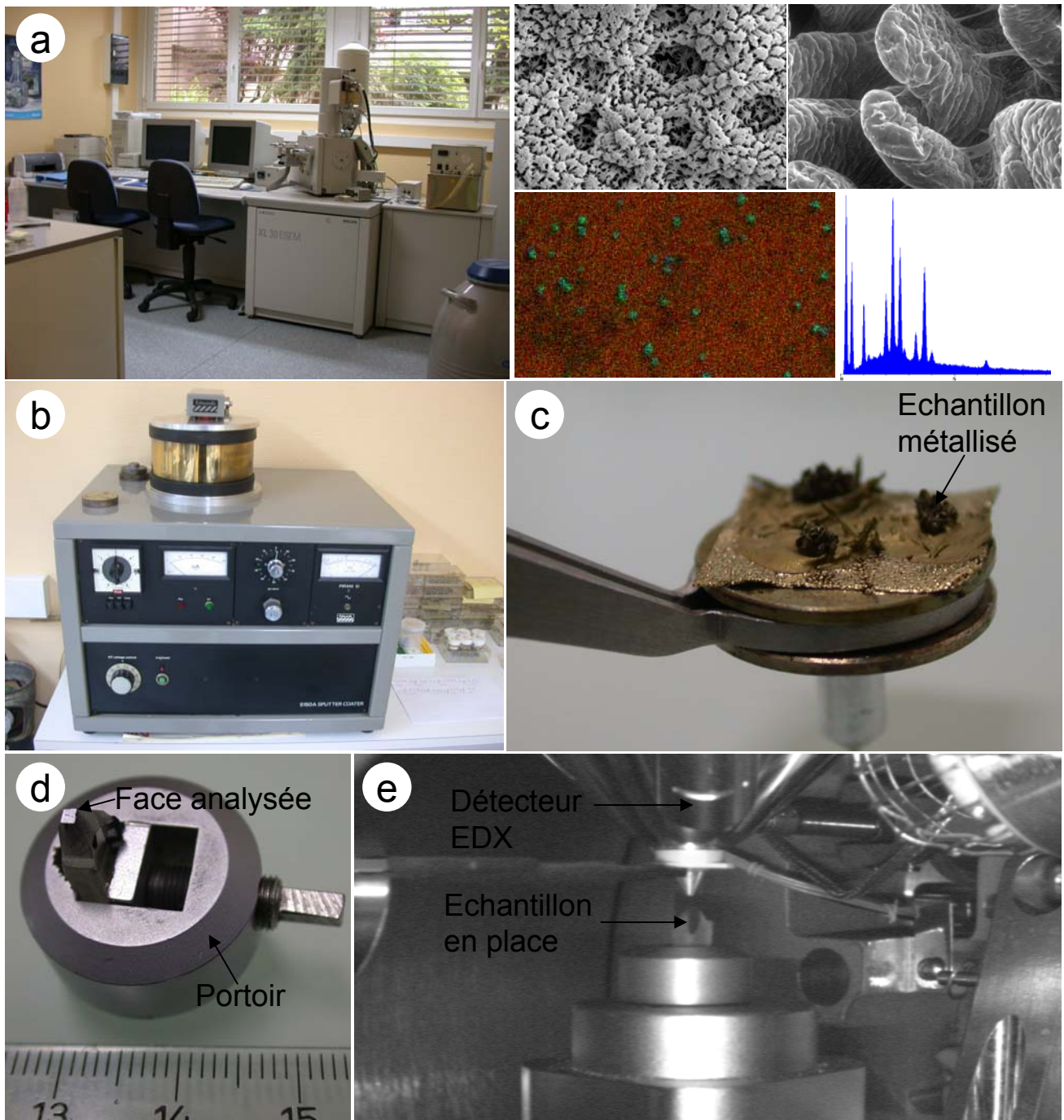


Planche 10 : a : Aspect extérieur du microscope électronique à balayage ESEM XL30 équipé du système de détection *Spirit* (Princeton Gamma Tech distribué en France par Synergy4) et les différents types d'observations permis. De gauche à droite et de haut en bas : Microvillosités observées en mode conventionnel (mode haut vide) ; villosités observées en mode environnemental ; chyme intestinal sous micro-analyse EDX en mode cartographie X ; chyme intestinal sous micro-analyse EDX en mode transect. b : Métalliseur Edwards. c : Echantillons après métallisation à l'or sur leur portoir. d : Echantillon inclus dans un bloc d'araldite. La face supérieure, coupée au diamant est celle étudiée par micro-analyse. e : Echantillon en place dans la chambre d'analyse de l' ESEM XL30.

3) Observations en microscopie électronique en transmission (MET)

a) Fixation des échantillons

Les échantillons sont inclus dans de l'araldite puis coupés à une épaisseur de $0,06\mu\text{m}$ avec un ultramicrotome (Reichert-Jung) équipé d'un couteau en diamant de marque Diatome. Les coupes récupérées sur des grilles en cuivre (mesh 300) sont ensuite contrastées par la méthode de Reynolds.

b) Contraste des coupes ultra-fines (méthode de Reynolds)

Les coupes subissent un premier contraste à l'acétate d'uranyle puis un second au citrate de plomb.

Contraste à l'acétate d'uranyle : La solution (7% acétate d'uranyle dans l'alcool méthylique) filtrée dans une seringue pourvue d'une membrane filtrante est répartie dans des salières, immédiatement bouchées et mises à l'obscurité. Les grilles sont déposées sur la solution d'acétate d'uranyle pendant 30 minutes (3 bains successifs). Chaque grille est ensuite rincée rapidement une vingtaine de fois dans de l'eau distillée, en ayant soin de « couper » à chaque fois la surface du liquide. Les grilles, coupes vers le haut, sont alors placées sur un papier filtre, dans une boîte de Pétri, pour le séchage.

Contraste au citrate de Plomb : A l'intérieur d'une boîte de Pétri contenant une couche de soude en pastilles qui absorbent le gaz carbonique de l'air, des gouttes de citrate de plomb (2,13g de $\text{Na}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$, $5\text{H}_2\text{O}$ ou 1,76g de $\text{Na}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$, $2\text{H}_2\text{O}$ dans 30 mL d'eau distillée) sont disposées sur une couche de parafilm. Les grilles, côté coupes contre les gouttes, sont alors mises en contact avec le citrate de plomb (1,33g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dans 30 mL d'eau distillée) pendant 3 minutes puis rincées dans de l'eau distillée.

c) Observations

Les observations en microscopie électronique en transmission ont été réalisées au centre INSERM de Hautepierre (unité U682) sur un microscope de type Philips CM10, à l'Institut d'Histologie de la faculté de médecine de Strasbourg sur un microscope de type Siemens 102

et à la Plateforme de Microscopie Electronique de l'institut de Neurosciences de Strasbourg sur un microscope de type Hitachi 7500 équipé d'une caméra numérique Hamamatsu. Quel que soit le type d'appareil, le voltage a été de 60 kV. Les négatifs 24x36 (obtenus avec le Philips CM10) et 6x9 (obtenus avec le Siemens 102) ont été développés en chambre noire puis scannés à haute résolution, de 600 ou 1200 dpi, par un appareil de type canscan de Canon

C) ANALYSE PAR WESTERN BLOTTING SDS-PAGE (SDS-POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS)

Le western blotting est une méthode de protéomique, qui fait appel à la biologie moléculaire, la biochimie et l'immunogénétique, pour détecter une protéine spécifique dans un échantillon donné d'extrait ou d'homogénéisat tissulaire. La technique utilise l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide pour séparer les protéines, préalablement dénaturées, selon leur masse. Les protéines sont ensuite transférées depuis le gel sur une membrane de nitrocellulose, où elles sont exposées à un anticorps spécifique de la protéine d'intérêt.

Il est possible grâce à cette technique de détecter la présence d'une protéine dans un tissu, d'évaluer sa taille, sa concentration, les variations de cette concentration, effectuer des comparaisons de concentrations entre différents groupes, etc. D'autres techniques utilisant les anticorps permettent la détection de la protéine dans les cellules après fixation (immunocytochimie) et dans les tissus (immunohistochimie).

D) DETERMINATION DE LA COMPOSITION CORPORELLE DES DES ANIMAUX

1) Lyophilisation

Cette opération consiste à éliminer l'eau des tissus par sublimation. Les carcasses des pythons préalablement broyées et congelées à -20°C sont lyophilisées pendant plusieurs jours jusqu'à ce que la masse sèche soit stable. La différence de masse entre les masses sèche et fraîche correspond à la masse d'eau de l'animal.

2) Extraction des lipides totaux : méthode de Folch *et al.* (1957)

Cette méthode consiste à extraire les lipides totaux d'un d'échantillon par dissolution des lipides dans un mélange de solvant, d'éliminer le solvant par distillation et de peser l'extrait obtenu.

L'échantillon (environ 1 g) est déposé dans un ballon auquel on ajoute 30 mL d'un mélange chloroforme/méthanol 2/1 (v/v) qui est agité pendant une nuit. Après filtration, le liquide obtenu est récupéré dans un tube à centrifugation dans lequel 8 mL de KCl sont ajoutés à froid ; le tout, mélangé, est centrifugé 10 min à 2000 rpm ; le filtre et les restes de l'échantillon délipidé sont conservés. La distillation dans un rotavapor de la phase inférieure obtenue après centrifugation permet de séparer les lipides du mélange de solvant. L'opération est renouvelée avec le filtre contenant la fraction délipidée afin d'extraire le maximum des lipides contenus dans l'échantillon.

E) STATISTIQUES

Les comparaisons statistiques des données expérimentales ont été effectuées par des analyses de covariance à un facteur (ANOVA ; ANCOVA) suivies de tests post-hoc (Student-Newman-Keuls ; Dunn ; Bonferroni ; Mann-whitney) en utilisant le logiciel Sigmastat (Jandel). Les niveau de signification statistique a été fixé à $P < 0,05$

Etudes morphologiques :

- HISTOLOGIE FONCTIONNELLE DES ORGANES AFFECTES PAR LA REALIMENTATION
- ASPECTS COMPARATIFS

Les Serpents n'ont pas de lèvre mobile. La langue bifide, fortement protractile est protégée au repos dans un étui corné (Guibé, 1970 ; De Groot, *et al.* 2004). La partie postérieure de la langue peut s'allonger de 160% alors que la partie antérieure de 60% au maximum (De Groot, *et al.* 2004).

Tous les Reptiles possèdent deux catégories dentaires : les dents marginales qui sont disposées en série linéaire sur le pré-maxillaire, le maxillaire et le dentaire, et les dents palatales placées sur certains os dermiques du plafond buccal. Ces dents isomorphes mais protérodontes, coniques et recourbées vers l'arrière permettent la contention de la proie avalée entière et sa progression jusqu'à l'œsophage. Elles s'implantent dans l'os par l'intermédiaire de petites cupules qui se soudent à leur base; à l'inverse des Mammifères et des Crocodiles, ces dents n'ont pas de racine et certaines sont mêmes mobiles (Guibé, 1970b ; Bauchot *et al.*, 1994). Comme les autres Reptiles, les Pythons connaissent plusieurs dentitions successives, chaque dent n'étant fonctionnelle que plusieurs mois. Leur remplacement est latéral par résorption de la vieille dent et de sa base osseuse. (Guibé, 1970b ; Bauchot *et al.*, 1994)

Le tractus digestif (Planche 13) présente le même type d'agencement de ses structures de l'œsophage jusqu'à l'anus: sa paroi est constituée de quatre tuniques concentriques dont l'épaisseur et la morphologie varient selon les régions (Planche 14) (Gartner et Hiatt, 1997 ; Heusser et Dupuy, 2000 ; Gilles *et al.*, 2006).

- La muqueuse est la couche la plus interne ; elle est elle-même composée de trois couches concentriques :
 - l'épithélium bordant la lumière dispose de propriétés de sécrétion et d'absorption.

- le chorion ou *lamina propria* contient des glandes et des vaisseaux.
 - la musculaire muqueuse constituée par deux fines couches de muscles lisses, responsable de la contraction de la muqueuse.
- La sous-muqueuse est faite d'une épaisse couche de conjonctif. Elle joue le rôle de soutien mécanique de la muqueuse et fournit à cette dernière la vascularisation sanguine et lymphatique. Le Python, comme certains autres Reptiles, ne présente pas de plexus nerveux submucosal (observé entre autres chez les Mammifères) (Holmberg *et al.*, 2003)
 - La musculature est composée d'une couche musculaire lisse circulaire interne et d'une couche musculaire lisse longitudinale externe. Les plexus vasculaires et nerveux myentérique sont localisés entre ces deux couches. Elle a pour fonction le malaxage et la propulsion du bol alimentaire le long du tube digestif par péristaltisme.
 - La tunique la plus externe est soit une séreuse pour les régions situées en dehors de la cavité abdominale, soit une adventice pour les autres zones qui sont alors solidement arrimées aux structures voisines par des fibres conjonctives (Gartner et Hiatt, 1997).

I) L'ŒSOPHAGE

L'œsophage (Planche 15) est un organe longiligne qui peut s'étirer de manière considérable. Ses parois sont minces et plissées longitudinalement. La muqueuse œsophagienne fortement digitée comprend un épithélium simple, riche en cellules caliciformes (Guibé, 1970b). Chez le Triton, ces cellules produisent de la mucine acide (Liquori *et al.*, 2005). Le mucus assure la lubrification de la surface œsophagienne favorisant ainsi la progression de la proie vers l'estomac. La transition entre ces deux organes est morphologiquement difficile à déterminer car aucune dilatation appréciable ne permet d'en identifier la limite (Guibé, 1970b).

Certains Amphibiens possèdent des glandes oesophagiennes. Celles-ci produisent la majorité du pepsinogène nécessaire à leur digestion (Liquori, *et al.*, 2002). Les Mammifères, quant-à eux, présentent un épithélium oesophagien de type pavimenteux stratifié non kératinisé, excepté chez les Rongeurs. Leur sous-muqueuse comprend des glandes sous-oesophagiennes sécrétrices de mucus (Gartner et Hiatt, 1997). Elles sont absentes chez le Python et le Triton où la mucine est produite au niveau de l'épithélium (Guibé, 1970b).

II) L'ESTOMAC

L'estomac (Planches 16, 17) comprend trois zones : le cardia, le fundus et le pylore, qui ont chacune des activités sécrétrices (Guibé, 1970 ; Gilles *et al.*, 2006). La face interne de la cavité stomacale est garnie de replis longitudinaux orientés vers le pylore. Ce dernier est rétréci par une valvule pylorique constituée de replis saillants qui entraînent l'occlusion de l'orifice pylorique par contraction de la musculature sous-jacente (Guibé, 1970b)

A) LE CARDIA

A l'avant, aucun sphincter ne sépare le cardia de l'œsophage ; la transition entre les deux organes s'opère progressivement au niveau de la jonction oesogastrique. A la dissection, le cardia apparaît plus clair et plus lisse que les autres régions gastriques. Son épithélium prismatique comprend essentiellement des cellules à mucus.

B) LE FUNDUS

A l'œil nu, le fundus apparaît rosâtre, épais et fortement plissé. L'épithélium unistratifié constitué de cellules mucipares forme de nombreux replis. Il surmonte une muqueuse épaisse constituée de glandes tubulaires, simples et profondes dont l'ouverture est formée de cellules à mucus d'un type différent de celles de l'épithélium : les cellules du collet (Guibé, 1970 ; Gilles *et al.*, 2006). Les cryptes fundiques ne renferment qu'un seul type de cellule glandulaire exocrine, petite, cubique, d'aspect granuleux, nommée oxynticopeptique (Smit, 1968 ; Helander, 1981). Chez le Triton, le tiers basal de la crypte comprend de nombreuses

cellules endocrines (Liquori *et al.*, 2005). Le mucus produit par la muqueuse est composé de protéoglycanes neutres ou acides, ces derniers possédant des groupements carboxyles ou sulfates (Lehninger, 1970). Ces molécules recouvrent l'épithélium gastro-intestinal, le lubrifient et le protègent des agressions mécaniques et chimiques générées par le passage du chyme.

L'organisation de la muqueuse gastrique du Python présente ainsi de notables différences avec celle des Mammifères où deux types de cellules glandulaires exocrines sont différenciés, distinctement localisés dans la crypte. La face luminale contient majoritairement des cellules pariétales productrices de HCl alors que le fond de la glande renferme une majorité de cellules principales, responsables de la sécrétion du pepsinogène (Campbell, 1993 ; Gartner et Hiatt, 1997 ; Eckert *et al.*, 1999 ; Wehner et Gehring, 1999 ; Liquori *et al.*, 2000 ; Gilles *et al.*, 2006). Le fait de ne distinguer qu'un seul type de cellule glandulaire dans la muqueuse gastrique du Python molure implique que les seules cellules appelées de fait, oxynticopeptiques, cumulent les fonctions des cellules principales et pariétales des Mammifères. Cette hypothèse a été vérifiée chez le Triton par Liquori *et al.* (2005) grâce à des marquages immuno-histochimiques de la pepsine par la méthode de Bowie et de la H^+/K^+ ATPase, qui est l'enzyme génératrice des protons nécessaire à la production d'acide. Les deux marquages apparaissent dans la cellule oxynticopeptique.

L'organisation fonctionnelle des cryptes fundiques observée chez le Python constitue le modèle le plus répandu chez les Tétrapodes non-mammaliens (Smit, 1968 ; Vial et Garrido, 1979 ; Helander, 1981), cependant des modèles intermédiaires entre celui-ci et celui des Mammifères ont été répertoriés (revu par Liquori *et al.*, 2000).

Les Amphibiens ranoides (Shirakawa, 1986) et certains Reptiles comme le Lézard japonais (Imai *et al.*, 1991a,b) présentent une séparation spatiale et cellulaire des sécrétions gastriques. Le pepsinogène est produit dans l'œsophage par des amas de cellules peptiques et l'acide chlorhydrique par les cellules oxyntiques constituant les glandes gastriques.

Le crapaud vert, *Bufo viridis*, *Potamotrigon sp* (Chondrichthyen) et certains Squamates comme *Chalcides chalcides* ou *Podarcis sicula campestris* offrent un modèle de sécrétion gastrique plus proche de celui du Python avec une séparation spatiale partielle s'effectuant par le biais d'un seul type cellulaire, la cellule oxynticopeptique. Ainsi, la sécrétion du

pepsinogène décroît selon l'axe oral-aboral du fundus au contraire de celle de l'acide qui augmente (Liquori *et al.* 2002).

La raie *Dasyatis sabina* et certains Requins, comme *Hexanchus griseus* (Michelangeli *et al.*, 1988) présentent un modèle plus proche de celui des Mammifères ; la partie supérieure de la glande gastrique étant occupée par les cellules oxyntiques (productrices exclusives de HCl) alors que le fond de la glande comprend les cellules peptiques (sécrétrices de pepsinogène). La distinction d'avec le modèle Mammifère réside en la présence de cellules oxynticopeptiques dans la zone intermédiaire de la glande gastrique (Smolka *et al.*, 1994).

C) LE PYLORE

La région pylorique apparaît plus claire et moins plissée que la précédente. Elle comprend un épithélium unistratifié muqueux qui recouvre des glandes courtes et épaisses très riches en cellules à mucus (Gilles *et al.*, 2006). Des cellules entéro-endocrines y ont également été mises en évidence chez le Triton (Liquori *et al.*, 2005).

L'intestin (grêle et côlon) des Serpents, en regard à leur régime carnivore, est assez court ; il mesure 175% de la longueur totale de l'animal ce qui apparaît faible comparé aux valeurs constatées chez un omnivore comme l'Homme (450%) ou chez un herbivore comme la vache (2000%) (Bauchot *et al.*, 1994).

III) L'INTESTIN GRELE

La muqueuse intestinale, en grande partie conforme à celle des autres Vertébrés, se compose d'entérocytes qui absorbent les divers métabolites et minéraux libérés par la digestion, de cellules caliciformes qui produisent un mucus protecteur contre l'autodigestion et de cellules endocrines (Guibé, 1970b ; Campbell, 1993 ; Schmidt, 1995 ; Wehner *et* Gehring, 1999 ; Gilles *et al.*, 2006). Cependant, les cellules de Paneth semblent être absentes chez les Ophidiens (Guibé, 1970b). D'autre part, le renouvellement de l'épithélium à la différence de celui des Vertébrés supérieurs et des Crocodiliens (Kotzé *et al.*, 1992) n'est pas assuré par des glandes spécialisées (cryptes de Lieberkühn) (Andrew, 1959 ; Patt *et* Patt,

1969), mais s'effectue sur l'ensemble de l'épithélium, tout le long des villosités intestinales (*c.f.* Résultat intestin). Cette fonctionnalité se retrouve chez d'autres Vertébrés inférieurs comme les Grenouilles (Heusser et Dupuy, 2000).

La muqueuse intestinale a une structure qui assure un maximum de surface (Planche 18) concourant à sa fonction d'absorption: des replis, des villosités et une bordure en brosse formée par les microvillosités situées à la face luminale des entérocytes (Guibé, 1970b ; Campbell, 1993 ; Schmidt, 1995 ; Eckert *et al*, 1999 ; Wehner et Gehring, 1999 ; Gilles *et al.*, 2006). Les villosités présentent des mouvements de rétractation qui facilitent le mouvement des molécules dans l'épaisse couche de mucus qui tapisse l'intestin (Wehner et Gehring, 1999 ; Gilles *et al.*, 2006). La structure de l'épithélium intestinal diffère selon l'état digestif de l'animal. Pseudostratifié à jeun, il se transforme en une structure monostratifiée dans les stades post-prandiaux. (*c.f.* Résultat intestin).

IV) LE CAECUM

L'intestin grêle est séparé du colon par un rétrécissement. A ce niveau, il existe une dilatation dorsale ou caecum, qui correspond à une évagination de la paroi postérieure du côlon qui s'insinue entre deux replis péritonéaux du mésentère dorsal (Guibé, 1970b).

V) LE COLON

Le côlon représente 27% à 30% de la longueur totale de l'intestin (Guibé, 1970b). Sa fonction principale est de compléter la réabsorption de l'eau et d'électrolytes entamée dans l'intestin grêle ; il concentre ainsi les résidus alimentaires, ce qui aboutit à la formation de fèces. Il est exempt de pli et de villosité (Gartner et Hiatt, 1997 ; Eckert *et al*, 1999 ; Wehner et Gehring, 1999 ; Gilles *et al.*, 2006). Son épithélium simple (Planche 19) de type prismatique contient des entérocytes et des cellules caliciformes dont il s'enrichit graduellement dans la direction aborale (Guibé, 1970b ; Gilles *et al.*, 2006). Celles-ci sécrètent un gel de mucus abondant qui favorise le glissement des particules alimentaires non digérées. Guibé, (1970b) rapporte que ces cellules peuvent s'organiser en véritables cryptes glandulaires, mais ceci n'a pas été observé chez nos animaux. Les entérocytes, quant à eux,

présentent des microvillosités nettement plus courtes (Planche 20) et moins nombreuses que dans l'intestin grêle (Gilles *et al.*, 2006).

VI) LE CLOAQUE

Le cloaque correspond au carrefour des voies digestives, génitales et urinaires (Guibé, 1970b, Gilles *et al.*, 2006). Il joue un rôle important dans la récupération de l'eau et des ions provenant du système urinaire.

L'allongement du corps rend nécessaire la présence de cœurs lymphatiques dans cette région. Ils se situent dans une cage osseuse formée par des côtes bifurquées et mesurent jusqu'à 2 cm chez certains Pythons. Le cloaque est subdivisé en trois chambres successives.

Les fécès se forment dans la partie antérieure, assimilée à un coprodeum de structure intestinale. Un sphincter de type anal sépare cette partie antérieure d'un urodeum intermédiaire dans lequel débouchent uretères et voies génitales et où l'urine se mélange aux fécès. Comme chez les Lézards, le proctodeum postérieur s'ouvre à l'extérieur par une fente transversale. Des glandes odorantes, dont les sécrétions jouent probablement le rôle de phéromones permettant la reconnaissance lors de l'accouplement, débouchent également dans le cloaque (Bauchot *et al.*, 1994).

VII) LE FOIE

Le foie apparaît pourpre, allongé, non lobé et volumineux. Situé en arrière de l'apex cardiaque, contre le poumon droit, il se poursuit jusqu'au milieu de l'estomac. Il est traversé sur toute sa longueur par la veine caudale.

Le tissu hépatique (Planche 21) est essentiellement constitué de cellules parenchymateuses, les hépatocytes, et de capillaires veineux (Guibé, 1970b ; Gilles *et al.*, 2006) ou sinusoides. Les hépatocytes renferment de nombreuses gouttelettes lipidiques qui pénètrent par la face apicale de la cellule repoussant le noyau vers le bas, ainsi que le fait a été remarqué chez le Caïman (Starck *et al.*, 2007). Sa structure diffère de celle des Mammifères qui est lobulaire (Starck *et al.*, 2007). Des associations de branches d'artère hépatique, de veine porte et de canaux biliaires sont dispersées dans le parenchyme.

Les voies biliaires débutent dans le parenchyme hépatique par des canalicules sans paroi propre ; il s'agit essentiellement de l'espace intercellulaire qui forme un réseau en relation avec les canaux biliaires intra-hépatiques. Ceux-ci se réunissent en canaux biliaires extra-hépatiques aboutissant au canal cholédoque qui conduit la bile jusqu'à la partie proximale de la vésicule biliaire (Gilles *et al.*, 2006).

VIII) LE PANCREAS

Le pancréas est rosâtre, plurilobulaire et logé au voisinage du duodénum dans le ligament hépato-gastrique. Il présente d'étroites relations avec la rate qui apparaît sous l'aspect d'une petite masse sphérique à la partie antérieure du pancréas auquel elle est reliée (Guibé, 1970b). La structure du pancréas apparaît très similaire chez tous les Vertébrés, excepté les Cyclostomes et la majorité des Actinoptérygiens où le tissu est diffus (Gilles *et al.*, 2006).

Le pancréas exocrine est constitué de cellules acineuses organisées en glandes ou acini (Guibé, 1970b ; Slot et Geuze, 1979 ; Gilles *et al.*, 2006). Ces cellules se prolongent dans la lumière des acini en cellules dites centroacineuses (Planche 22). Leurs produits de sécrétion sont déversés dans un canal intercalaire dont les cellules peuvent en modifier la composition, en général par un ajout de HCO_3^- , un retrait d'eau et des modifications de concentration en Na^+ , K^+ et Cl^- . Les enzymes digestifs produits sont inactifs et stockés dans de gros granules, les grains de zymogène. Des grains immatures, ou vacuoles de condensation, sont eux aussi présents (Gilles *et al.*, 2006).

A côté de ses fonctions digestives, le pancréas exerce une fonction endocrine : des îlots endocriniens, les îlots de Langerhans, sont disséminés dans l'ensemble de la glande (Guibé, 1970b) et sécrètent diverses hormones dont l'insuline et le glucagon (Campbell, 1993 ; Eckert *et al.*, 1999 ; Schmidt, 1999 ; Wehner et Gehring, 1999 ; Gilles *et al.*, 2006).

Des modifications physiologiques ont été constatées au cours de la réalimentation de *P. molurus* au niveau d'organes non directement impliqués dans la digestion (Secor et Diamond,

1998 ; Overgaard *et al.*, 1999). Par conséquent, des études histologiques ont également été menées sur certains de ces organes.

IX) LES REINS

Les reins des Serpents ont une forme allongée et se situent relativement en avant du corps, le rein droit en avant du gauche. La face ventrale est plane tandis que la face dorsale est convexe, divisée en nombreux lobules disposés en série crânio-caudale (Guibé, 1970).

La structure de base des reins des Vertébrés est le néphron. Il est constitué de deux parties : un glomérule et un tubule (Planche 23) (Wehner et Gehring, 1999 ; Heusser et Dupuy, 2000 ; Gilles *et al.*, 2006). Aux glomérules, ici centraux, succèdent les tubules qui s'abouchent à des canaux collecteurs périphériques qui se jettent eux-mêmes dans l'uretère (Gilles *et al.*, 2006)..

Le glomérule (Planche 24) consiste en un peloton vasculaire organisé en un système d'ultra-filtration dû à l'arrangement de podocytes autour des capillaires glomérulaires (Wehner et Gehring, 1999). Le tubule permet la réabsorption de l'eau et des sels (Gilles *et al.*, 2006). Il débute par le collet, segment tapissé d'un épithélium de cellules cubiques pourvues d'un long flagelle (Guibé, 1970). Il se poursuit par un tube à bordure en brosse -dit strié- qui devient insensiblement un tube grêle cilié. Un segment terminal (ou distal) fait suite et aboutit aux canaux collecteurs (Regaud et Policard, 1904 ; Guibé, 1970 ; St Girons, 1972). Chez les Ophidiens, l'anse de Henlé n'est pas présente (Gilles *et al.*, 2006).

Chez les individus matures, le segment grêle est suivi du segment sexuel. Alors que chez les femelles il ne se distingue que peu du précédent, il est caractérisé chez le mâle, par un grand diamètre, un épithélium simple de cellules hautes et étroites, à noyau basal, et au cytoplasme riche en granules. Le nombre et la densité de ses granules sexuels varient significativement avec la saison (Krohmer *et al.*, 2004). La fonction ultime de cette structure reste discutée mais elle est corrélée avec l'activité testiculaire et les sécrétions androgéniques (Krohmer, 2004).

Les Squamates comportent entre 900 et 7500 néphrons par rein contre 10 millions chez l'Homme. Les glomérules sont petits, environ 40 nm de diamètre, et peu vascularisés

comparés à ceux des Mammifères qui mesurent environ 200 nm de diamètre (Gilles *et al.*, 2006).

X) LES POUMONS

Le Python de Birmanie présente dorsalement des poumons pairs fonctionnels et cylindriques, le poumon gauche étant plus court d'un tiers. La trachée se divise en deux bronches qui les pénètrent dans leur partie orale (Guibé, 1970c, Beaumont *et al.*, 1995 ; Gilles *et al.*, 2006). Ils possèdent deux régions histologiquement distinctes : une portion respiratoire antérieure qui contrairement à la majorité des Ophidiens est très développée chez les Pythons, et une portion sacculaire, mécanique postérieure (Guibé, 1970c ; Luchteld et Kardongk, 1981 ; Beaumont *et al.*, 1995 ; Gilles *et al.*, 2006).

Dans la partie respiratoire, trois générations de septa subdivisent la paroi pulmonaire en cul-de-sacs prismatiques, à section généralement hexagonale, appelés favéoles (Planche 25) (Luchteld et Kardongk, 1981 ; Beaumont *et al.*, 1995 ; Wehner et Gehring, 1999). Le cloisonnement reste cependant incomplet (Guibé, 1970c). Le bord libre des septa de premier ordre délimite une vaste cavité pulmonaire centrale dans laquelle débouche la bronche extrapulmonaire (Beaumont *et al.*, 1995).

Chaque septum est fait d'un axe conjonctivo-élastique avec des fibres musculaires lisses qui sont particulièrement développées au niveau de leur crête interne épaissie, axe dans lequel se situe un abondant réseau vasculaire (Planches 25 et 26) (Luchteld et Kardongk, 1981 ; Beaumont *et al.*, 1995). Les fibres musculaires jouent un rôle important dans la rigidité et contractibilité propre du poumon, formant d'épais faisceaux dans les cloisons. (Guibé, 1970c). Un épithélium formé de pneumocytes de type I (respiratoires) et de type II (production de surfactants et de mucus) recouvre les septa (Luchteld et Kardongk, 1981 ; Beaumont *et al.*, 1995 ; Wehner et Gehring, 1999 ; Gilles *et al.*, 2006). Les crêtes internes des septa de premier ordre ne sont pas respiratoires mais recouvertes d'un épithélium composé de cellules ciliées, de cellules à mucus et de cellules neuroendocrines isolées ou groupées en petit corps neuroépithéliaux (Beaumont *et al.*, 1995).

La partie pulmonaire postérieure, dilatée, lisse et non vascularisée, s'apparente à un sac aérien assurant un rôle mécanique (Guibé, 1970c ; Luchteld et Kardongk, 1981 ; Bauchot *et*

al., 1994 ; Beaumont *et al.*, 1995 ; Wehner et Gehring, 1999). Différentes hypothèses ont été émises quant à sa fonction. Sa position caudale permettrait un passage supplémentaire de l'air inspiré dans la partie respiratoire (Guibé, 1970c). En effet, les côtes présentes sur toute la longueur du poumon provoquent un flux inspiratoire qui peut être limité à une seule région pulmonaire lorsque l'animal avale une proie. Lorsque le repas est localisé dans la partie antérieure de l'animal, la ventilation est obtenue par la dilatation de sa partie postérieure (Gilles *et al.*, 2006). De plus, la trachée artère, située dans un renflement lingual, s'ouvre très en avant dans l'arrière bouche, ce qui procure une arrivée d'air malgré l'obstruction générée par l'ingestion (Bauchot *et al.*, 1994).

La partie mécanique pourrait également être impliquée dans la régulation thermique en accroissant la surface d'évaporation. D'autre part, du fait de la proximité avec les testicules, elle pourrait aussi jouer un rôle quant au refroidissement de ces derniers ainsi que cette fonctionnalité a été signalée chez les Oiseaux (Guibé, 1970c ; Bauchot *et al.*, 1994).

Pour Beaumont *et al.*, (1995), ces sacs aériens interviennent aussi dans le gonflement du corps lors des réactions de défense ; après leur distension, le volume des poumons peut atteindre jusqu'à 30% du volume corporel.

Le volume pulmonaire des Serpents est en général supérieur à celui de Mammifères de même taille. Cependant, comme ses organes sont peu « alvéolisés », les surfaces d'échanges respiratoires sont inférieures de l'ordre de 1/1000 à celle des Mammifères. La faiblesse relative des échanges gazeux respiratoires qui en résulte est à rapprocher du métabolisme assez bas des serpents (Bauchot *et al.*, 1994).

RESULTATS

I) DETERMINATION DE LA COMPOSITION EN LIPIDES DES ANIMAUX

La teneur moyenne en lipides des animaux est comprise entre 39 et 53%. Elle augmente au cours de la réalimentation d'un facteur 1,5 entre le stade à jeun et trois jours après réalimentation (3DPF).

Tableau 11 : Teneur en lipides de *P. molurus* en pourcentage de la masse sèche en fonction du stade digestif. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,05$). F : Animaux à jeun ; 1 DPF : Animaux euthanasiés 1 jour après réalimentation ; 3 DPF : Animaux euthanasiés 3 jours après réalimentation. (Anova, test post-hoc : S-N-K)

	F	1 DPF	3DPF
Effectif	3	3	3
Teneur en lipides en pourcentage de la masse sèche	$39,69 \pm 4,38^a$	$46,80 \pm 4,86^{a,b}$	$52,63 \pm 0,63^b$

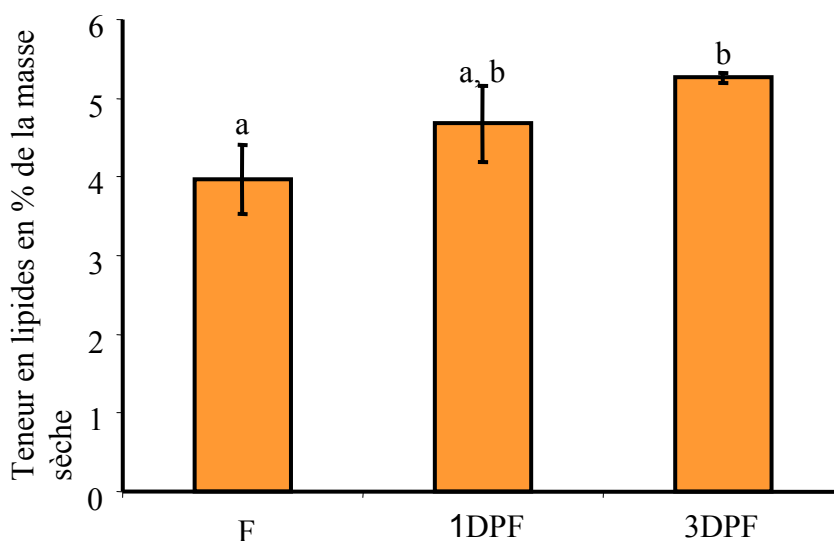


Figure 1 : Teneur en lipides de *P. molurus* en pourcentage de la masse sèche en fonction du stade digestif. Notez que cette teneur est maximale trois jours après réalimentation (Anova, test post-hoc : S-N-K)

II) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR L'ESTOMAC DE *P. MOLURUS* : ASPECTS HISTOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES.

L'estomac de *P. molurus* comprend donc trois régions fonctionnellement et structurellement différentes : le cardia, le fundus et le pylore. J'ai donc abordé l'exploration de ces trois parties sous l'aspect de microscopie descriptive et immuno-histochimique dans un souci de rendre la chronologie des événements la plus exacte possible afin de répondre aux problématiques suivantes : Comment les structures et les acteurs de la digestion sont-ils mis en place si rapidement? Comment le coût énergétique de ces changements peut-il être réduit ?

A la dissection (Planches 27, 28 et 29), les Pythons à jeun présentent un estomac de faible diamètre qui occupe un volume très restreint de la cavité générale. Entre douze et vingt-quatre heures après réalimentation, l'estomac distendu par des proies bien identifiables occupe un volume important qui déforme la silhouette longiligne de l'animal. Trois jours après réalimentation, il retrouve un diamètre réduit ne contenant plus le squelette désarticulé de la proie. Au bout de six jours, l'estomac renferme encore les poils de la proie.

A) MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

1) L'estomac au MEBE

La muqueuse gastrique du cardia, ici prélevée à jeun, forme de nombreux replis (Planche 30). Les cellules épithéliales prismatiques disposées en mosaïque sécrètent du mucus. Les muqueuses fundique et pylorique présentent également un épithélium organisé en damier qui forme des replis. Des « cavités » apparaissent assez régulièrement dans l'épithélium : elles correspondent à l'embouchure des cryptes gastriques. Dans le pylore, ces cryptes sécrètent du mucus (*c.f.* Etudes morphologiques)

Le fundus est la zone de l'estomac effectrice de la digestion. La chronologie des événements qui s'y opèrent est donc essentielle pour comprendre les effets de la réalimentation ; c'est pourquoi cette étude s'est plus particulièrement focalisée sur cette région.

2) Le Fundus au MET

Lorsque l'animal est à jeun (Planches 31 et 32), les cryptes présentent une lumière très étroite bordée de courtes digitations éparses. Les cellules oxyntopeptiques qui constituent ces cryptes comprennent de très nombreux grains de zymogène répartis de façon uniforme et sont également très riches en mitochondries. L'apex cellulaire est occupé par un vaste système membranaire formant à la fois des tubules et des vésicules et appelé de fait système tubulo-vésiculaire (*c.f.* Fig. c). D'autre part, la membrane plasmique s'enroule par endroits formant des replis membranaires.

De douze heures à un jour après réalimentation (Planche 33), la lumière des cryptes est dilatée et facilement identifiable. La membrane luminale des cellules oxyntopeptiques s'arrange à présent en de nombreuses digitations allongées. Corrélativement, le système tubulo-vésiculaire n'est plus visualisable et le volume cellulaire apparaît réduit suite à la conversion du système tubulo-vésiculaire en digitations lumineales. Les granules de sécrétion (zymogène), moins nombreux, se présentent soit accolés à la membrane luminale, pour favoriser leur exocytose, soit en position basale, ce qui peut être interprété comme un reste de granules ou comme un début de renouvellement de ces derniers.

Trois jours après réalimentation (Planche 34), la lumière des cryptes est encore dilatée. Les digitations moins nombreuses, mais encore souvent allongées, subsistent. La cellule retrouve progressivement une organisation d'animaux à jeun, avec un apex occupé par un vaste système tubulo-vésiculaire, et sous-jacents, des mitochondries et d'importants grains de sécrétions. D'autre part, la membrane plasmique forme à nouveau des replis. Des corps multi-vésiculaires, visualisables dans le système tubulo-vésiculaire, témoignent d'une dynamique de recyclage ou de stockage membranaire transitoire au sein de la cellule oxyntopeptique à ce stade digestif.

Six jours après réalimentation, l'organisation des cryptes et de cellules oxyntopeptiques apparaît similaire à celle d'un stade digestif à jeun.

3) Mesure de la hauteur des cellules oxyntopeptiques

La hauteur des cellules oxyntopeptiques, mesurée de la lame basale à la base des digitations est maximale au stade à jeun avec une valeur de $8,17 \pm 1,84 \mu\text{m}$. Dans les douze heures qui suivent la réalimentation, cette valeur s'effondre significativement de moitié puis réaugmente faiblement (x 1,3 environ) dans les jours qui suivent.

Tableau 12 : Hauteur des cellules oxyntopeptiques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,05$). F : Animaux à jeun ; 12 HPF : Animaux euthanasiés 12 h après réalimentation ; 1 DPF : Animaux euthanasiés 1 jour après réalimentation ; 3 DPF : Animaux euthanasiés 3 jours après réalimentation. (Anova, test post-hoc : S-N-K)

	F	12 HPF	1 DPF	3DPF
Effectif	3	4	2	3
Hauteur des cellules oxyntopeptiques en μm	$8,17 \pm 1,84^a$	$4,17 \pm 1,37^b$	$5,22 \pm 1,41^c$	$5,62 \pm 1,21^c$

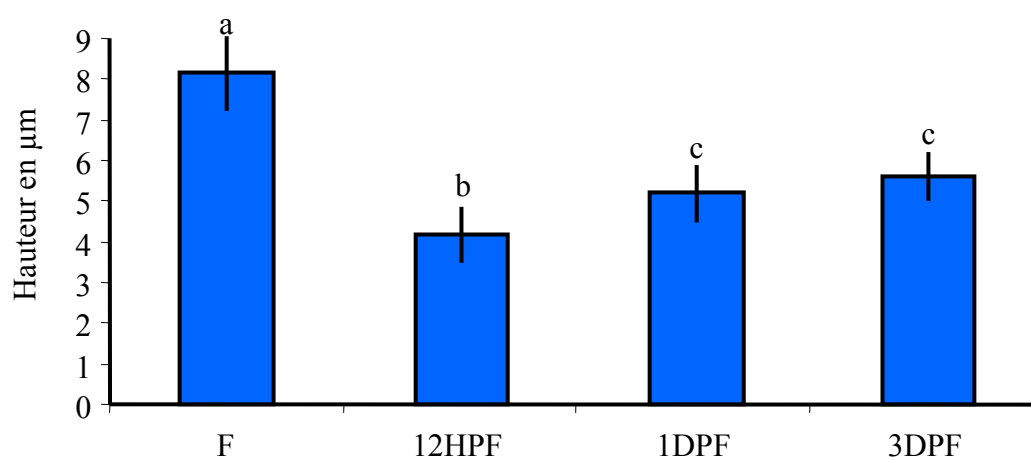


Figure 2 : Hauteur des cellules oxyntopeptiques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. La hauteur des cellules est maximale à jeun puis elle diminue significativement de moitié dans les douze heures qui suivent le repas. (Anova, test post-hoc :S-N-K)

La co-réalisation de différents évènements tels que la vidange des granules de zymogène dans la lumière, la conversion du système tubulo-vésiculaire en digitations ou l'exercice de contraintes mécaniques dues à la présence transitoire du bol alimentaire, peut être avancée pour expliquer ces variations significatives de hauteur.

Les mesures des hauteurs des digitations en fonction du stade digestif ont permis de déterminer l'impact de celles-ci dans l'évolution de la grandeur des cellules oxyntopeptiques.

La taille des digitations varie significativement entre les différents stades digestifs (Tableau 13, Figure 3a). L'évolution est importante entre le stade à jeun et 12DPF où la hauteur des digitations triple du fait de la conversion du système tubulovésiculaire, interne à la cellule, en digitations lumineales (*c.f.* Observations TEM). Elle n'explique cependant pas la totalité de la diminution de la hauteur des cellules oxyntopeptiques (Figure 3b) imputée majoritairement dès lors à la vidange des enzymes gastriques. Les contraintes mécaniques s'exerçant sur les parois gastriques du fait de la proie peuvent également influencer mais ce paramètre est difficile à évaluer.

Dans les stades digestifs suivants, les digitations voient leur hauteur diminuer progressivement en conséquence de leur reconversion en système tubulo-vésiculaire (*c.f.* Observations TEM). La réaugmentation de la hauteur des cellules oxyntopeptiques est progressive (Tableau 12, Figures 2 et 3b). Elle s'explique par le stockage d'enzymes digestifs nouvellement synthétisés et mis en réserves dans des vésicules au pôle basal de la cellule (*c.f.* Observations TEM) ainsi que par la reconversion partielle et graduelle des digitations en système tubulo-vésiculaire.

Tableau 13 : Hauteur des digitations des cellules oxyntopeptiques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,05$). F : Animaux à jeun ; 12 HPF : Animaux euthanasiés 12 h après réalimentation ; 1 DPF : Animaux euthanasiés 1 jour après réalimentation ; 3 DPF : Animaux euthanasiés 3 jours après réalimentation. (Anova, test post-hoc : Dunn)

	F	12 HPF	1 DPF	3DPF
Effectif	2	4	2	3
Hauteur des digitations en μm	0,41 \pm 0,12 ^a	1,21 \pm 0,46 ^b	1,01 \pm 0,39 ^c	0,68 \pm 0,23 ^d

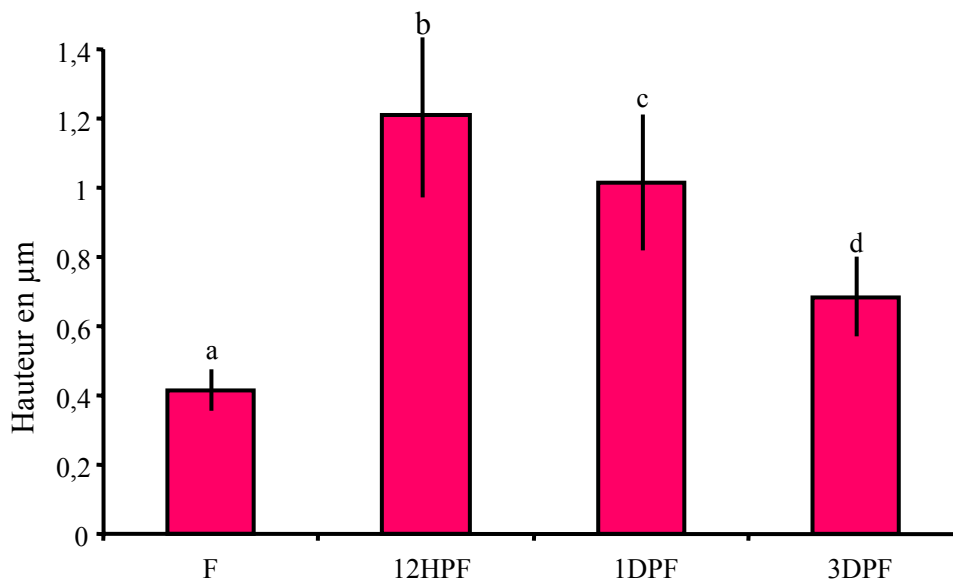


Figure 3a : Hauteur des digitations des cellules oxyntopeptiques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. La hauteur des digitations est maximale au stade 12 HPF où elle atteint le triple de la valeur mesurée à jeun. Cette variable diminue significativement dans les jours qui suivent le repas (respectivement de 1,2 puis 1,5 aux stades 1 et 3 DPF). (Anova, test post-hoc : Dunn)

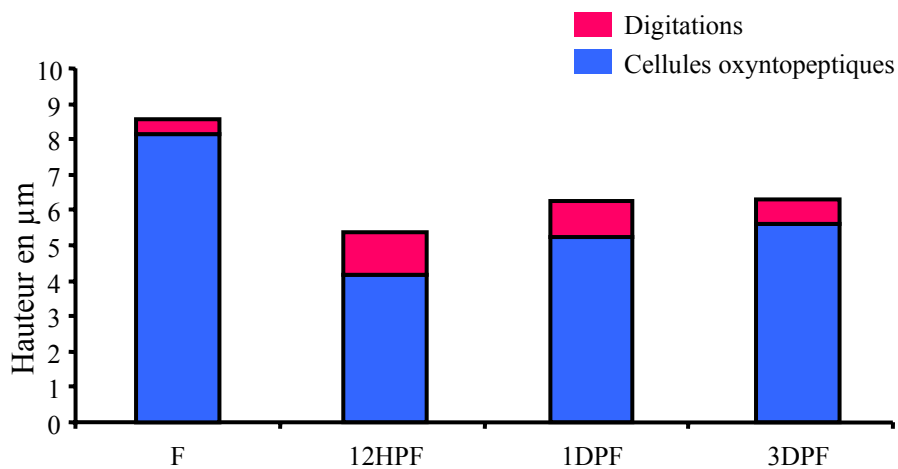


Figure 3b : Hauteur des cellules oxyntopeptiques et de leurs digitations en fonction du stade digestif chez *P. molurus*. La variation de la hauteur des digitations n'explique qu'en partie la variation de la hauteur de la cellule notamment lors du passage du stade à jeun au stade 12 HPF.

B) IMMUNOHISTOCHEMIE.

1) Comportement de la H^+/K^+ -ATPase (ou pompe à proton)

Le marquage de cet enzyme s'est révélé être positif uniquement dans la partie fundique de l'estomac. A jeun, la H^+/K^+ -ATPase est exprimée dans le cytoplasme des cellules oxyntopeptiques où sa répartition apparaît diffuse mais cependant plus dense vers la membrane luminale. Les cellules du collet ne présentent pas de marquage spécifique (Planche 35).

Douze heures après réalimentation, le marquage est plus net et plus dense : la pompe à protons se localise dans la membrane apicale de la cellule. Cette localisation de la H^+/K^+ -ATPase se maintient jusqu'à deux jours après réalimentation (Planche 36).

Trois jours et six jours après l'ingestion du repas, le marquage réapparaît diffus et cytoplasmique (Planche 37).

2) Comportement de la Na^+/K^+ -ATPase

Aucun marquage spécifique n'a été détecté dans les conditions nutritionnelles à jeun (Planche 38). Les échantillons prélevés de douze heures jusqu'à six jours après réalimentation révèlent un marquage spécifique dans les membranes baso-latérales des cellules oxyntopeptiques des glandes fundiques (Planche 38) mais également dans celles des cellules à mucus des glandes pyloriques (Planche 39) : la pompe Na^+/K^+ -ATPase est donc présente dans ces zones, dès réalimentation. L'intensité de la fluorescence s'accroît durant l'intervalle 1-3 DPF, ce qui semble signaler une phase temporelle où l'enzyme est actif en grande quantité. Les observations réalisées à plus fort grossissement indiquent que la fluorescence spécifique est restreinte aux surfaces situées sous les jonctions serrées des cellules. Aucun marquage spécifique n'a été détecté dans les sections extraites du cardia quel que soit le stade nutritionnel étudié.

C) REPLICATION CELLULAIRE.

A jeun et douze heures après réalimentation, aucun noyau marqué au BrdU n'est visible quelle que soit la région gastrique considérée (Tableau 14, Figure 4). Un jour après réalimentation, quelques noyaux en répliation ont été observés sous la zone du collet dans les régions fundique et pylorique. Cela correspond à une moyenne de $0,046 \pm 0,032$ (n=5) cellules en répliation par glande gastrique. L'intensité de la répliation a tendance à être plus conséquente (de 12 à 25 fois) aux stades 3 DPF et 6 DPF avec des valeurs respectives de $0,6 \pm 0,43$ (n=4) et $1,26 \pm 0,19$ (n= 3) cellules en répliation par glande gastrique, cependant les disparités inter- et intra-groupes expérimentaux ne permettent pas de mettre en évidence des différences statistiquement significatives.

Tableau 14 : Réplication des cellules des glandes gastriques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,05$). F : Animaux à jeun ; 12 HPF : Animaux euthanasiés 12 h après réalimentation ; 1 DPF : Animaux euthanasiés 1 jour après réalimentation ; 3 DPF : Animaux euthanasiés 3 jours après réalimentation ; 6 DPF : Animaux euthanasiés 6 jours après réalimentation. (Anova, test post-hoc : Dunn)

	F	12 HPF	1 DPF	3DPF	6 DPF
Effectif	5	5	5	4	3
Noyaux marqués/glande gastrique	0	0	$0,046 \pm 0,032^a$	$0,60 \pm 0,43^a$	$1,26 \pm 0,19^a$

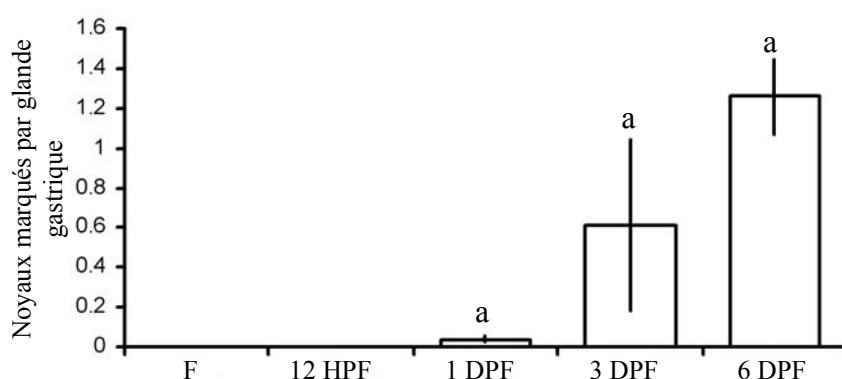


Figure 4 : Réplication des cellules des glandes gastriques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. L'intensité de la répliation cellulaire des glandes gastriques est plus importante dans les stades digestifs respectifs de 3 DPF et 6 DPF par rapport aux autres stades digestifs testés. (Anova, test post-hoc : Dunn)

Conclusion intermédiaire

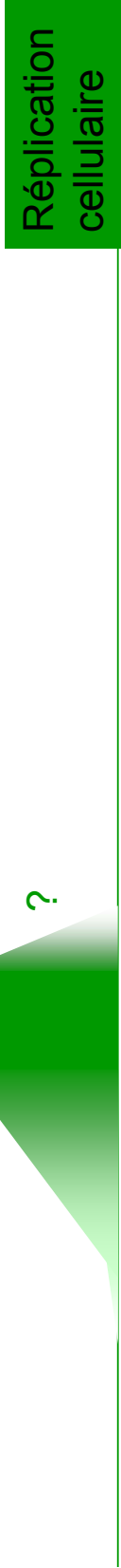
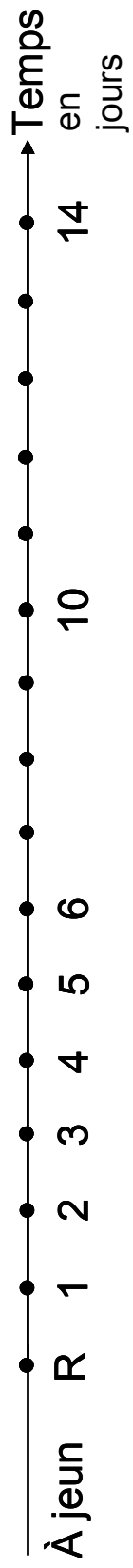
L'activité gastrique responsable de la digestion de la proie se concentre dans les trois jours qui suivent le repas. Le renouvellement des cellules épithéliales succède à cette intense activité gastrique. Cette dernière est caractérisée par un ensemble d'éléments :

- Une lumière cryptique dilatée bordée de nombreuses digitations qui représentent une importante surface d'émission des protons.
- Une intense présence des transporteurs membranaires qui entraîne une acidité importante et durable du bol alimentaire.
- Une forte densité de mitochondries : Sièges des décharges enzymatiques et acides, elles fournissent l'énergie nécessaire aux échanges.

Une vidange puis un renouvellement des stocks de zymogène qui démontrent que ceux-ci sont utilisés.

A contrario, à jeun et à partir de 3 jours après la réalimentation, les caractéristiques morpho-fonctionnelles des cryptes gastriques et de leurs cellules traduisent un métabolisme réduit de par :

- La faible ouverture des cryptes vers la lumière de l'estomac et l'absence de la Na^+/K^+ -ATPase, enzyme clé du transport membranaire ne permettent pas de décharge et de transport efficace.
- La hauteur plus conséquente des cellules oxyntopeptiques. Elle traduit la mise en réserve des principaux acteurs de la digestion (grains de sécrétions accumulés à la base des cellules oxyntopeptiques, réversion des digitations en un système tubulo-vésiculaire, séquestration cytoplasmique de la H^+/K^+ -ATPase), et indique que ces derniers ne sont plus utilisés et que la digestion arrive à son terme.



Bilan : Chronologie des événements induits par la réalimentation au niveau stomacal.

III) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR L'INTESTIN DE *P. MOLURUS* : ASPECTS HISTOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES.

Pour l'étude, l'intestin grêle a été subdivisé en trois parties bien que celles-ci ne présentent pas de différence macroscopique évidente.

A la dissection (*c.f.* Planche 27), le diamètre de l'intestin grêle d'un Python à jeun apparaît réduit et ne présente pas de repli visible ; une fois ouvert, de courtes villosités sont observables. Douze heures après réalimentation, l'intestin grêle est bien plus épais. Le diamètre maximal est atteint un jour après réalimentation ; à ce moment, l'intestin présente d'importants replis serrés et turgescents. Une fois sectionné, il montre des villosités longues et gonflées. Cet aspect persiste 3 jours après la réalimentation.

A) MICROSCOPIE OPTIQUE.

À jeun (Planche 40), les noyaux des entérocytes sont décalés et ne dessinent pas une ligne homogène dans l'épithélium intestinal : cette organisation est typique des épithélia pseudostratifiés (*c.f.* Fig.b). De nombreux macrophages intra-épithéliaux sont visibles. Les coupes colorées au noir Soudan, colorant qui caractérise les lipides par une couleur noire, ne permet pas de mettre de gouttelettes lipidiques en évidence dans les entérocytes.

Douze heures (Planche 40) après réalimentation, les noyaux des cellules sont alignés dans la majorité des zones de l'épithélium : celui-ci est alors monostratifié. Il contient quelques gouttelettes lipidiques. Les vaisseaux de la lamina propria apparaissent élargis.

Aux stades 1 et 2 DPF (Planche 41), les villosités comptent d'innombrables gouttelettes de lipides de part et d'autre du noyau. Celles-ci sont généralement réduites à l'apex et s'élargissent au milieu de la cellule, peut-être par un effet de fusion. Les vaisseaux de la lamina propria ainsi que les espaces intercellulaires sont à présent dilatés et la bordure en brosse s'est épaissie. La coloration au noir Soudan confirme la nature lipidique des gouttelettes observées.

Trois et quatre jours après réalimentation (Planche 42), les caractéristiques histologiques des stades 1 et 2 DPF perdurent (épithélium monostratifié, épaisseur de la bordure en brosse, engorgement lipidique des entérocytes, espaces inter-cellulaires dilatés) mais semblent accentués. Le sommet des villosités et les bords fins des villosités contiennent le

plus grand nombre de gouttelettes lipidiques et apparaissent être des zones préférentielles quant à l'absorption des lipides.

Entre les stades digestifs 6 DPF et 14 DPF, l'épithélium intestinal recouvre progressivement les caractéristiques de celui d'un animal à jeun.

B) MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

1) **Microscopie électronique en balayage en mode conventionnel (MEB) et environnemental (MEBE)**

A jeun (Planche 43), les villosités présentent des plis indiquant un affaissement de ces dernières. L'analyse de la surface apicale de l'épithélium intestinal montre une structure en damier. Cette organisation correspond à la répartition en mosaïque des cellules de l'épithélium ; les entérocytes étant imbriqués en quinconce. Le contour correspondant aux limites cellulaires ressort par rapport au restant de la surface cellulaire, car rehaussé par les jonctions intercellulaires. Les éléments distingués à la surface sont les microvillosités.

De nombreuses concavités plus ou moins accentuées sont bien visibles à la surface de l'épithélium. A plus fort grossissement, ces cavités correspondent à des cellules, individuelles ou regroupées, dont la surface apicale apparaît affaissée, ce qui témoigne de leur hypotrophie.

Les observations au MEBE, plus proches des conditions *in vivo* (cette technique conserve l'hydratation des tissus et du mucus) rejoignent les données précédentes. L'épithélium intestinal des animaux à jeun apparaît ainsi recouvert d'une fine couche de mucus répartie de manière uniforme. Les variations de surface de l'épithélium intestinal observées en mode conventionnel et qui correspondent à l'hypotrophie des cellules et à l'arrangement en mosaïque des cellules épithéliales sont également constatées.

Ces observations sont similaires quelle que soit la région de l'intestin étudiée et se retrouvent chez tous les animaux à jeun observés (**n=8**).

Douze heures après la réalimentation (Planche 44), les villosités présentent encore des zones riches en cellules hypotrophiques (cavités) mais apparaissent aussi plus turgescentes, gonflées par des renflements. A plus fort grossissement, la structure en damier de l'épithélium

est moins évidente du fait du rehaussement des cellules par rapport à leurs limites cellulaires. Ceci indique que les cellules sont moins affaissées. D'autre part, les microvillosités semblent s'être allongées par rapport au stade à jeun (**n=5**).

Les villosités intestinales des animaux réalimentés depuis un jour (Planche 45) ne présentent plus l'aspect des villosités des animaux à jeun mais apparaissent plus longues. Les renflements plus nombreux qu'au stade 12 HPF augmentent la surface de l'épithélium intestinal. A plus fort grossissement, les limites cellulaires ne sont plus visibles du fait du rehaussement de la cellule par rapport à ses limites cellulaires et de l'allongement des microvillosités par rapport à l'état à jeun.

Au MEBE, les échantillons provenant d'animaux 1 DPF présentent des amas de graisse à la surface de l'épithélium intestinal. La faible pression nécessaire à l'observation (2,5 Torr) a ainsi fait ressortir les graisses du tissu : celles-ci apparaissent principalement au sommet et sur les bords fins des villosités ce qui permet de penser que ces zones sont celles où l'absorption est majoritaire. Cette hypothèse est confortée par les observations en microscopie optique (*c.f.* II)A) (Planches 41 et 42). Les villosités de la région antérieure de l'intestin présentent un grand nombre de ces gouttelettes lipidiques. Celles-ci ne sont visualisables qu'exceptionnellement au niveau de l'intestin médian et sont inexistantes dans l'intestin distal : ainsi une régionalisation de l'absorption semble s'opérer à ce stade digestif (**n=8**).

Des stades 2 à 4 DPF (Planche 46), l'épithélium de l'intestin antérieur présente d'imposantes craquelures aux sommets des villosités et le long de leurs bords latéraux. Les microvillosités sont toujours très allongées mais manquent par endroits. Des corps apoptotiques sont visualisés. Au MEBE, les amas de graisses sont plus nombreux, à la fois dans les régions proximale et médiane mais n'ont pas été observés dans la région distale.

Les craquelures sommitales, également remarquées en MO (Planche 47), semblent être artéfactuelles : en effet, l'importante absorption de lipides désorganise en permanence l'épithélium et modifie considérablement le volume cellulaire, ce qui peut expliquer la genèse de ces fractures lorsque les échantillons sont exposés à des conditions extrêmes, mais inhérentes aux techniques d'observation. Ainsi, la faible pression atmosphérique qui règne lors des observations MEB et MEBE entraîne la remontée et la sortie des lipides vers l'extérieur, ce qui déstructure l'épithélium intestinal et occasionne les larges cassures observées. Pour autant,

ces artéfacts restent informatifs, car ils signalent les zones d'absorption préférentielle de lipides (le sommet et les bords apicaux des villosités) et témoignent de l'ampleur de celle-ci. Le fait que les villosités de la partie distale de l'intestin grêle ne soient pas craquelées indique que l'absorption de lipides est assez faible dans cette région.

Ainsi, la régionalisation de l'absorption intestinale, marquée par la présence des amas de graisse mais aussi par des craquelures artéfactuelles se poursuit et ce au moins jusqu'à quatre jours après la réalimentation (n=13).

Au stade 6 DPF (Planche 48), les villosités présentent divers faciès intermédiaires vers le retour à l'hypotrophie. Les unes apparaissent encore turgescentes avec une bordure en brosse encore allongée et dense, absorbant encore de la graisse (*c.f.* Planche 43, image d). D'autres, présentent un épithélium en mosaïque avec de nombreuses cellules affaissées, qui témoignent d'une hypotrophie de la villosité (n=4).

Quatorze jours après la réalimentation (Planche 48), l'épithélium intestinal est proche de celui observable à l'état à jeun, à savoir parsemé de plis dus à l'affaissement du tissu et de nombreuses cavités qui correspondent à des cellules hypotrophiées (n=2).

2) Microscopie électronique en transmission

Une des plus notables réponses post-prandiales de l'intestin grêle de *P. molurus* est la variation d'épaisseur de la bordure en brosse mise en évidence en MO et MEB. Des mesures effectuées à partir des observations MET ont permis de quantifier ces modifications pour la partie proximale de l'intestin.

Les microvillosités des pythons à jeun, sont relativement courtes et tassées avec en moyenne une longueur de $0,49 \pm 0,032 \mu\text{m}$ (Tableau 15, Figure 5). Dans les six heures qui suivent le repas, cette moyenne double. Par après, les microvillosités continuent de s'allonger, la longueur moyenne atteignant un pic à 1DPF à $2,39 \pm 0,18 \mu\text{m}$, soit 4,8 fois la longueur moyenne des animaux à jeun. Elle se maintient jusqu'au stade 6 DPF puis diminue progressivement. Deux semaines après l'ingestion, les microvillosités ont une longueur moyenne de $0,741 \pm 0,061 \mu\text{m}$ qui n'est pas significativement différente de celles des animaux à jeun.

Tableau 5 : Longueur des microvillosités de *P. molurus* en fonction du stade digestif. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,00001$). F : Animaux à jeun ; 6 HPF : Animaux euthanasiés 6 h après réalimentation ; 12 HPF : Animaux euthanasiés 12 h après réalimentation ; 1 DPF : Animaux euthanasiés 1 jour après réalimentation ; 2 DPF : Animaux euthanasiés 2 jours après réalimentation ; 3 DPF : Animaux euthanasiés 3 jours après réalimentation ; 4 DPF : Animaux euthanasiés 4 jours après réalimentation ; 6 DPF : Animaux euthanasiés 6 jours après réalimentation ; 14 DPF : Animaux euthanasiés 14 jours après réalimentation ; 30 DPF : Animaux euthanasiés 30 jours après réalimentation. (Ancova, test post-hoc S-N-K)

	F	6HPF	12 HPF	1 DPF	2 DPF	3DPF	4DPF	6 DPF	14 DPF	30 DPF
Effectif	4	3	3	6	3	6	3	5	3	3
Longueur moyenne des microvillosités	0,494 \pm 0,032 ^a	0,991 \pm 0,060 ^a	1,241 \pm 0,083 ^b	2,393 \pm 0,186 ^c	2,128 \pm 0,095 ^c	2,239 \pm 0,211 ^c	2,178 \pm 0,078 ^c	1,959 \pm 0,032 ^c	0,741 \pm 0,061 ^a	0,539 \pm 0,026 ^a

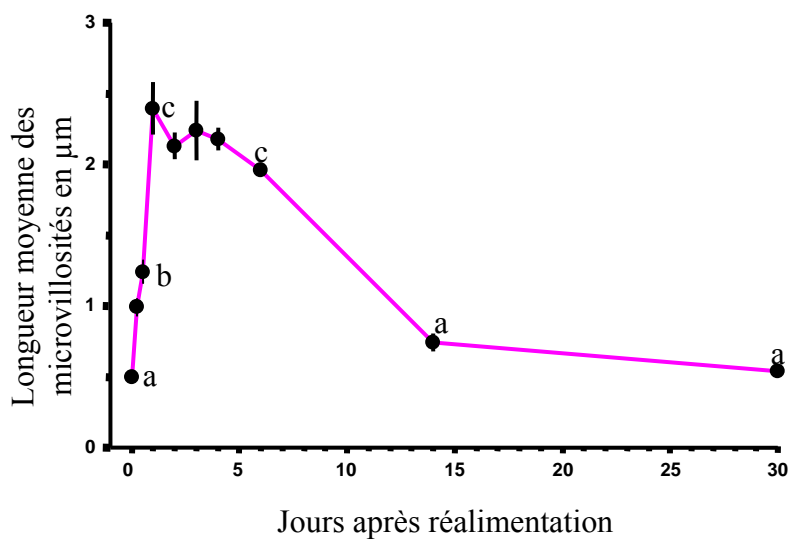


Figure 5 : Longueur des microvillosités de *P. molurus* en fonction du stade digestif. La longueur des microvillosités augmente significativement de 4,8 fois dans les 24 h suivant le repas et retrouve sa dimension initiale près de quatorze jours après l'ingestion.

C) LOCALISATION ET EXPRESSION DE LA Na⁺/K⁺-ATPase

1) Immunomarquage sur coupes fines

Aucun marquage spécifique de la Na⁺/K⁺-ATPase n'a été détecté dans l'épithélium intestinal des animaux à jeun (Planche 49). Celui-ci apparaît dès 12 heures après réalimentation dans la région proximale de l'intestin, au niveau des membranes latérales des entérocytes, sous les jonctions serrées. Il se maintient de façon marquée jusqu'au stade 3 DPF puis s'atténue au stade 6 DPF.

Dans la partie distale, le marquage occupe la même localisation que dans la zone proximale mais apparaît tardivement au stade 3 DPF.

2) Western-blot et immunomarquage

Les immunomarquages réalisés après migration des protéines totales présentent une bande de la taille attendue, soit 113 KDa, pour l'anticorps dirigé contre la pompe à sodium (Planche 50). Des différences entre les états nutritionnels apparaissent, avec une tendance à une surexpression de l'enzyme chez les animaux réalimentés. Les faibles effectifs des lots et des conditions expérimentales, liés à des difficultés de marquage, ne permettent malheureusement pas d'effectuer des comparaisons statistiques.

D) REPLICATION CELLULAIRE.

L'action des enzymes digestifs ainsi que l'action mécanique de la progression du bol alimentaire et l'absorption massive de nutriments désorganisent et altèrent les cellules, ce qui engendre une baisse de leur efficacité : elles doivent être renouvelées. Cependant, les entérocytes engagés dans une division mitotique ne peuvent assumer leur fonction soustrayant de fait, une surface plus ou moins étendue de l'aire d'échange intestinale. La mesure de l'effort réplicatif de ces cellules permet de situer chronologiquement cet événement par rapport à l'absorption et permet d'estimer dans quelle mesure ces deux processus entrent en synergie ou en compétition.

Les animaux sacrifiés à jeun présentent un très faible marquage au BrdU, ce qui témoigne d'un taux de réplication proche de zéro (Table 16, Figure 6). Ce taux a tendance à s'accroître dans les douze heures qui suivent la réalimentation pour atteindre de $3.122 \pm 1.356 \times 10^{-3}$ noyaux marqués/ μm . L'augmentation du taux de réplication devient significative au stade 3 DPF où il est multiplié par 27 par rapport à celui mesuré à jeun. L'intensité de la réplication se maintient au moins jusqu'au stade 6 DPF.

Tableau 16 : Réplication des cellules des villosités intestinales de *P. molurus* en fonction du stade digestif. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,001$). F : Animaux à jeun ; 12 HPF : Animaux euthanasiés 12 h après réalimentation ; 1 DPF : Animaux euthanasiés 1 jour après réalimentation ; 3 DPF : Animaux euthanasiés 3 jours après réalimentation ; 6 DPF : Animaux euthanasiés 6 jours après réalimentation. (Anova, test post-hoc Bonferroni)

	F	12 HPF	1 DPF	3DPF	6 DPF
Effectif	5	5	3	4	3
Noyaux marqués x 10^{-3} /μm	$0,752 \pm 0.165$	$3,122 \pm 1.356$	$6,530 \pm 0,82$	$20,493 \pm 2,428^a$	$17,033 \pm 3,444^a$

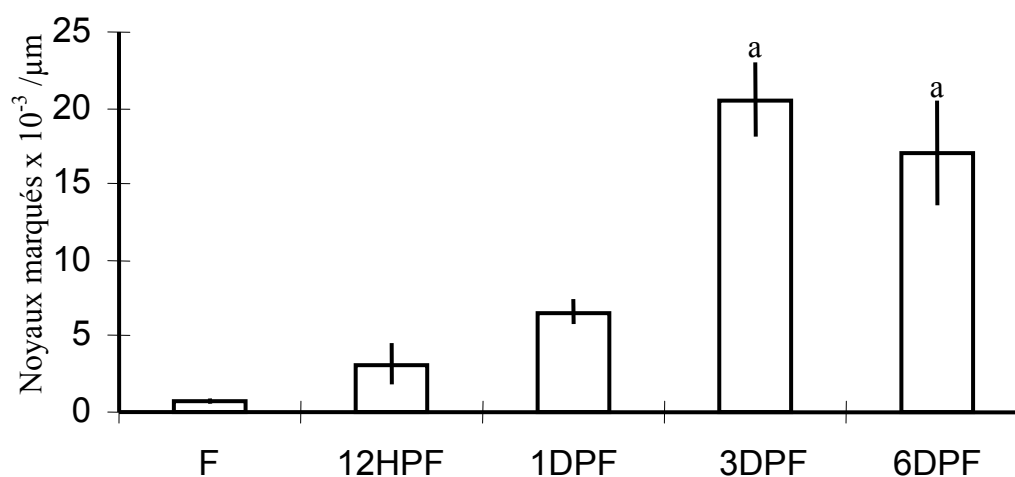


Figure 6: Réplication des cellules des villosités intestinales de la partie proximale de *P. molurus* en fonction du stade digestif. L'intensité de la réplication cellulaire des villosités intestinales est de 27 à 22 fois plus importante dans les stades digestifs respectifs 3 DPF et 6 DPF par rapport au stade à jeun. (Anova, test post-hoc Bonferroni)

Deux premiers constats peuvent être établis :

- La réplication de la muqueuse intestinale est liée à l'évènement digestif.
- Son pic d'activité se situe dans les trois à six jours qui suivent l'ingestion : ainsi, elle se déroule conjointement aux processus d'absorption. Le maintien de l'efficacité des entérocytes à un niveau optimum apparaît donc prépondérant à celui d'une surface d'échange plus étendue

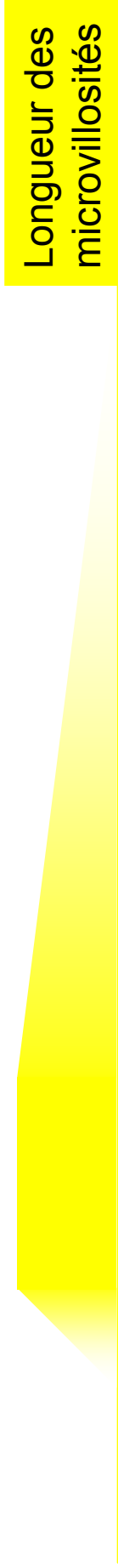
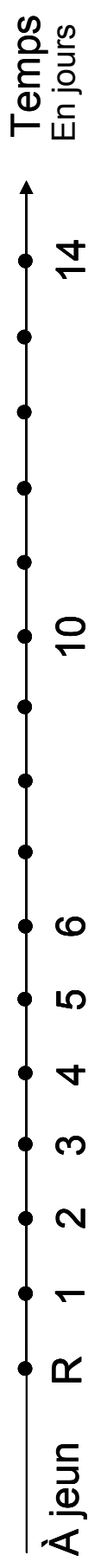
Conclusion intermédiaire

L'activité intestinale se concentre dans les 6 jours qui suivent le repas. En dépit d'une non-différenciation histologique évidente, le fonctionnement de l'intestin apparaît néanmoins régionalisé, rythmé par la progression du chyme dans le tractus intestinal. L'activité intestinale est caractérisée par une superposition des évènements qui, pour la plupart, s'initient dans la région proximale, puis s'étendent dans les parties médiane et distale :

- Une conversion de l'épithélium pseudostratifié en une organisation monostratifiée qui concourt à l'accroissement de la surface de contact.
- Une dilation des différentes surfaces d'échange : Les villosités plissées aux cellules affaissées et aux courtes microvillosités observables à jeun évoluent en villosités renflées, allongées constituées de cellules rehaussées recouvertes d'une bordure en brosse développée.
- Une absorption massive de gouttelettes de nature lipidique localisée principalement au niveau des sommets et des bords fins de la villosité.
- Une reprise de l'activité enzymatique (pompe à sodium).
- Une réplication cellulaire simultanée au pic d'absorption

La confrontation de ces observations et mesures exclut une croissance de la muqueuse intestinale par l'hyperplasie du tissu. Quels sont les processus de la dilation tissulaire?

Ils reposeraient sur l'entrée de graisses et/ou de fluides dans les cellules dont le volume augmenterait subséquemment. De proche en proche, celui des villosités, des replis et de l'intestin s'accroîtrait aussi. Pour tester cette hypothèse, des Rats fortement délipidés ont constitué le repas des Pythons.



Bilan : Chronologie des événements induits par la réalimentation au niveau intestinal.

IV) EFFETS D'UNE REALIMENTATION AVEC DES PROIES FORTEMENT DELIPEDEES SUR L'HISTOLOGIE DE L'INTESTIN GRELE DE *P. MOLURUS*.

Les Pythons (n=4) ont été euthanasiés deux et trois jours après réalimentation effectuée avec des Rats en fin de phase III de jeûne. L'adiposité de ces proies essentiellement structurelle, est estimée à 1,3% de la masse corporelle (Cherel et Le Maho, 1991). A la dissection, les Pythons n'ont pas montré de différences anatomiques notables avec les Pythons témoins et présentaient tous des réserves adipeuses sous-cutanées.

A) MICROSCOPIE OPTIQUE

L'épithélium intestinal apparaît pseudostratifié (Planche 51). Les cellules sont séparées par de larges espaces intercellulaires. Les microvillosités apparaissent plus longues et les vaisseaux de la lamina propria dilatés. Aucune gouttelette lipidique n'a été visualisée au cours des nombreuses observations effectuées.

	Caractères de python à jeun	Caractères de pythons 2-3DPF	Caractères inédits
Pythons 2-3 DPF expérimentaux	<ul style="list-style-type: none"> • Pas de gouttelettes lipidiques intra-épithéliales. • Epithélium pseudostratifié. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bordure en brosse développée. • Espaces intercellulaires dilatés. • Vaisseaux élargis de la lamina propria 	<ul style="list-style-type: none"> • Longueur importante des microvillosités

B) MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

L'une des réponses post-prandiales de l'intestin grêle de *P. molurus* les plus remarquables est la variation d'épaisseur de la bordure en brosse. Elle a précédemment été mise en évidence en MO et MEB. Cette variable apparaît renforcée par la faible teneur en lipides du chyme (*c.f.* III.A). Des mesures effectuées à partir des observations MET ont permis de quantifier ces modifications pour la partie proximale de l'intestin.

La hauteur des microvillosités de la partie proximale de l'intestin des animaux réalimentés par des proies fortement délipidées est significativement multipliée par un facteur 1,6 par rapport à celle des animaux témoins (Table 17, Figure 7)

Tableau 17 : Longueur des microvillosités intestinales de *P. molurus* en fonction du régime alimentaire. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,001$). TEMOIN: *P. molurus* dont le repas a été constitué de rats non jeûnants d'une masse équivalente à 25% de la masse corporelle de l'animal. EXP: *P. molurus* dont le repas a été constitué de rats délipidés d'une masse équivalente à 25% de la masse corporelle de l'animal. (Anova, test post-hoc Mann-Whitney)

	TEMOIN	EXP
Effectif	4	4
Longueur des microvillosités en μm	2, 13 \pm 0,41	3,37 \pm 0,72 ^a

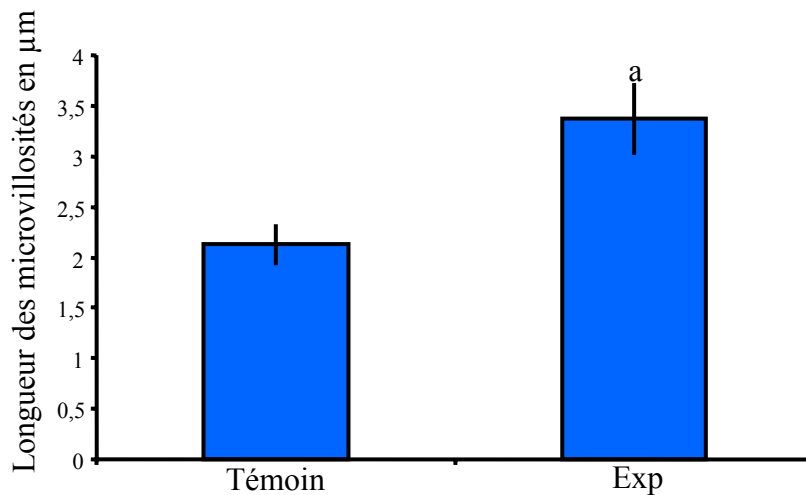


Figure 7 : Longueur des microvillosités de *P. molurus* en fonction du régime alimentaire. TEMOIN: *P. molurus* dont le repas a été constitué de Rats normalement nourris d'une masse équivalente à 25% de la masse corporelle de l'animal. EXP: *P. molurus* dont le repas a été constitué de Rats délipidés d'une masse équivalente à 25% de la masse corporelle de l'animal. La longueur des microvillosités est 1,6 fois plus importante pour les animaux nourris avec des Rats délipidés par rapport aux animaux témoin.

Conclusion intermédiaire

- La conversion de la structure épithéliale pseustratifiée en monostratifiée dépend de l'absorption de graisse exogène.
- L'allongement des microvillosités à la réalimentation n'est pas tributaire de l'absorption des graisses et apparaît même plus important lors de l'absorption d'une proie délipidée.
- Le transport paracellulaire n'est pas affecté par l'absence d'absorption de graisse.

V) IDENTIFICATION D'ÉLÉMENTS SPHÉROÏDES DANS LES VILLOSITÉS INTESTINALES.

Des éléments sphériques de bonne taille ($3,30 \pm 0,20 \mu\text{m}$ de diamètre, $n = 60$), inclus partiellement dans la bordure en brosse (Planche 52), ont été observés par différentes méthodes. Ces particules présentent des stries concentriques et se retrouvent dans la région proximale de l'intestin pour la majorité des échantillons provenant d'animaux réalimentés. Que sont-elles ? D'où viennent-elles ? Quel impact ont-elles sur le métabolisme de l'animal ? Ont-elles un lien avec le jeûne ou la réalimentation ? Pour répondre à ses multiples interrogations, des investigations par des techniques classiques de coloration ainsi que des techniques de micro-analyse élémentaires ont été entreprises.

A) ETUDES DE COUPES ULTRA-FINES (MET)

Les observations au MET montrent que les stries de croissance des sphéroïdes sont d'une épaisseur inégale, plus larges dans la région qui jouxte la membrane. Celle-ci est bordée d'excroissances courtes et éparsees, sans doute des microvillosités, recouvertes de glycocalix (Planche 52, d). Dans les échantillons d'animaux nourris, chaque particule est associée à une cellule qui semble différente des entérocytes (Planche 53). Elle apparaît polarisée, étroite, sans véritable bordure en brosse. Son cytoplasme a un aspect moins granuleux que celui des entérocytes ; il ne contient pas, d'autre part, de gouttelette lipidique. Apicalement, des vésicules au contenu indéterminé semblent se déverser dans l'invagination de la cellule qui entoure le sphéroïde (Planche 52)

De telles cellules ont également été identifiées sur les coupes d'animaux à jeun mais l'invagination apparaît alors dépourvue de sphéroïde. Parfois, des canaux intra-cytoplasmiques sont visualisables dans la partie apicale de la cellule (Planche 53).

B) COLORATIONS DES COUPES FINES

Les colorations au rouge d'alizarine, au nitrate d'argent et au nitrate de cobalt (Planche 54) indiquent une nature calcique des sphéroïdes. L'absence de sphéroïde et de coloration au

rouge d'alizarine après décalcification des coupes par une solution aqueuse de citrate d'ammonium confirme les précédents résultats.

C) MICRO-ANALYSES ELEMENTAIRES

Les micro-analyses chimiques réalisées en MEBE (Planches 55) sur des échantillons non débités en coupe mais encore inclus dans leur bloc de résine mettent en avant deux éléments principaux au niveau des sphéroïdes, en plus de la présence d'osmium : l'oxygène et le calcium. Ces résultats complètent, par conséquent ceux obtenus par coloration histologique, en indiquant également une composition calcique des sphéroïdes. La présence d'osmium est liée à la post-fixation des échantillons. Cet élément est détecté grâce à la présence de plusieurs pics, dont un superposé au pic principal lié au phosphore. Des micro-analyses supplémentaires, effectuées à partir d'échantillons non post-fixés, ont permis, en ne détectant plus le pic d'osmium, de mieux mettre en évidence le pic principal de phosphore.

L'arrangement de ces différents éléments pourrait correspondre à de l'hydroxyapatite, matériel constitutif de l'os. Ainsi, ces sphéroïdes pourraient être de la matière osseuse provenant de la proie, reconstituée en concrétions après digestion, absorption et métabolisation, et destinée à être soit rejetée soit incorporée.

Des micro-analyses complémentaires effectuées sur des échantillons frais de villosités et de chyme intestinaux (Planche 56) corroborent les résultats précédents. Les villosités apparaissent envahies de sphéroïdes et le bol alimentaire contient également un grand nombre de ces particules formées de carbone, calcium et phosphore.

Conclusion intermédiaire

- L'apparition de ces particules est liée à l'évènement digestif.
- Elles correspondent à de la matière osseuse reconstituée.
- Des cellules spécifiques, présentes également à l'état à jeun, leurs sont associés.
- La production de ces particules par ces cellules constituerait un moyen d'excrétion ou de stockage des ions en excès issus de la digestion des os.

VI) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR LE COLON DE *P. MOLURUS* : ASPECTS HISTOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

A) MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

A jeun, les épithélia du caecum et du côlon présentent une structure similaire, monostratifiée (Planche 57). Les entérocytes apparaissent extrêmement riches en mitochondries et sont munis d'une bordure en brosse assez développée. Suite à la réalimentation, la hauteur des microvillosités apparaît légèrement plus importante ; par contre, les nombreux espaces intercellulaires sont fortement dilatés, notamment au niveau des replis membranaires. Des gouttelettes lipidiques résiduelles ainsi que d'abondants dépôts de glycogène sont fréquemment visualisables dans les entérocytes. Quel que soit le stade digestif, un grand nombre de corps multivésiculaires est observé (*c.f.* VI).

B) REPLICATION CELLULAIRE

Les animaux sacrifiés à jeun présentent un marquage sporadique au BrdU témoignant d'une faible réplication cellulaire (Tableau 18). Dès 12 HPF, le taux de réplication s'accroît et atteint une moyenne de $17,72 \pm 21,78 \times 10^{-3}$ noyaux marqués/ μm . Il progresse significativement aux stades suivants où il est multiplié respectivement par 4,5 et 3,5 pour les conditions 1 DPF et 3 DPF. A 6 DPF, l'intensité de la réplication cellulaire régresse d'un facteur 1,5.

Tableau 18 : Réplication des cellules des villosités coliques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. Les valeurs correspondent à des moyennes \pm l'écart-type. Les valeurs qui ne portent pas le même exposant sont significativement différentes ($P < 0,001$). F : Animaux à jeun ; 12 HPF : Animaux euthanasiés 12 h après réalimentation ; 1 DPF : Animaux euthanasiés 1 jour après réalimentation ; 3 DPF : Animaux euthanasiés 3 jours après réalimentation ; 6 DPF : Animaux euthanasiés 6 jours après réalimentation. (Anova, test post-hoc Dunn)

	F	12 HPF	1 DPF	3DPF	6 DPF
Effectif	3	3	4	4	3
Noyaux marqués x 10⁻³ /μm	7,64 \pm 9,12 ^a	17,72 \pm 21,78 ^a	64,6 \pm 40,6 ^b	20,493 \pm 59,43 ^b	42,90 \pm 30,64 ^{a,b}

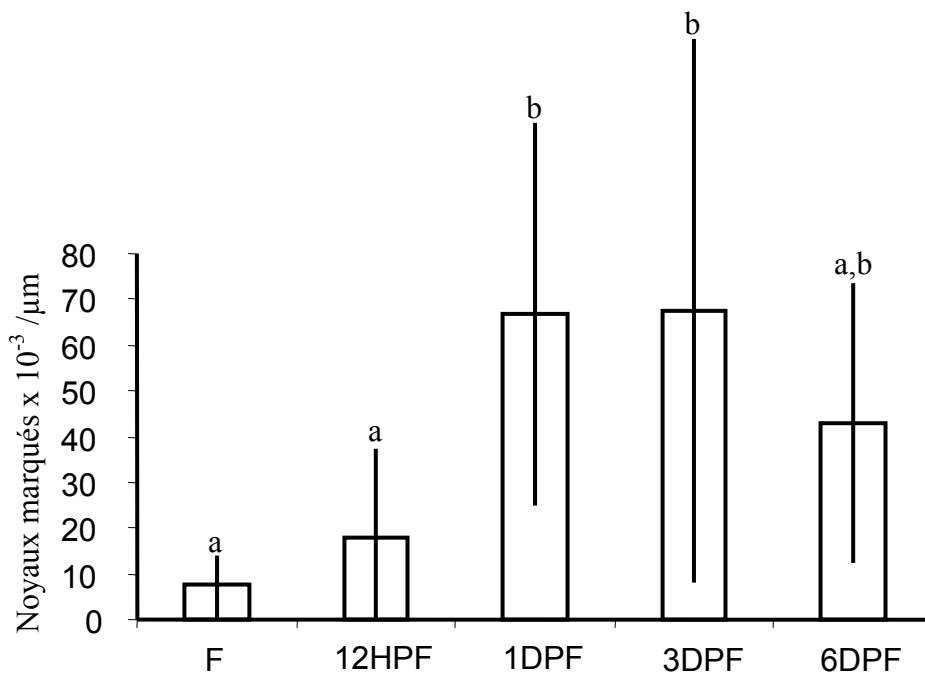


Figure 8: Réplication des cellules des villosités coliques de *P. molurus* en fonction du stade digestif. L'intensité de la réplication cellulaire est 4,5 et 3,5 fois plus importante dans les stades digestifs respectifs 1DPF et 3DPF par rapport au stade à jeun. Elle régresse progressivement dans les stades digestifs suivants (Anova, test post-hoc Bonferroni)

Conclusion intermédiaire

Les épithélia du caecum et du côlon sont caractérisés par une omniprésence de cellules riches en mitochondries qui témoignent des considérables absorptions d'électrolytes et d'eau qui s'y déroulent. Ces organes semblent d'autre part le siège de dépôts de glycogène.

Excepté le paramètre « dilatation des espaces intercellulaires », l'amplitude des modifications liées à la réalimentation est assez modeste, ce qui suggère que les structures du caecum et du côlon sont encore relativement actives malgré les 30 à 45 jours de jeûne. Ce retour très lent à la « quiescence », pourrait traduire une stratégie de maximisation de l'absorption du repas, en contrepartie d'un intervalle de temps d'activité plus long. Celui-ci serait alors mis à profit pour parfaire d'une part le renouvellement cellulaire initié à 1DPF. Il permettrait d'autre part, le recyclage de certains constituants de cellules partiellement endommagées. Ces deux hypothèses expliqueraient à la fois l'hétérogénéité dans les lots d'animaux par rapport au renouvellement cellulaire (certains animaux à jeun ont une intensité de renouvellement semblable à des animaux 6DPF) et la richesse des cellules en endosomes à différents stades de maturation.

VI) EFFETS DE LA REALIMENTATION SUR LE RECYCLAGE INTRACELLULAIRE

Des compartiments cellulaires particuliers, (endosomes précoce ou tardif, corps multivésiculaires, lysosomes primaire, secondaire ou lamellaire), sont impliqués dans la dégradation et le recyclage des molécules de la membrane plasmique. Ceux-ci ont été fréquemment visualisés dans les épithélia des tissus étudiés. Ils semblent plus nombreux au cours de la période post-prandiale, bien qu'ils aient également été identifiés dans les cellules du caecum et du colon d'animaux à jeun. Nos observations consignent les différents stades de maturation de ces éléments (Planches 58-59).

Les corps multivésiculaires (CMVs) situés essentiellement au pôle apical des cellules (58, a) se caractérisent par des vésicules intraluminales (VILs) qui se forment par invagination de la membrane limitante (58, e). Ils portent, ainsi que leurs VILs, une double membrane. Leur lumière est peu dense aux électrons. Les CMVs précoces (ou endosomes précoces) sont associés à des domaines tubulaires munis également d'une double membrane (58, b. c. d), qui sont absents chez les CMVs tardifs (ou endosomes tardifs). Ces derniers sont aussi plus sphériques (58, a. d).

Les lysosomes primaires (58, f) s'identifient par leur contenu homogène, au contraire des secondaires (58, f ; 59, b) qui présentent un contenu hétérogène parfois très chargé. D'autres, nommés multi-lamellaires (58, g ; 59, a), forment des superpositions membranaires. Les lysosomes se rencontrent dans la périphérie du noyau, le bas des cellules ainsi que dans les espaces intercellulaires (59, c), excepté pour les lysosomes primaires. Ces éléments ont aussi été observés dans des macrophages intra-épithéliaux vraisemblablement suite à une phagocytose (59, d. e. f.).

Conclusion intermédiaire

- Les cellules endommagées et non dirigées vers des processus de renouvellement cellulaire sont restaurées via un recyclage ou une dégradation des membranes et de leurs protéines.
- Ce processus de recyclage/dégradation est prépondérant au niveau des cellules du côlon et du caecum.
- Ce processus semble être lié à l'évènement alimentaire.

Discussion

Les animaux réagissent en continu aux demandes environnementales et comportementales par des réponses physiologiques et/ou des ajustements structuraux qui assurent la mise en place des fonctions adéquates à ces demandes. Ainsi, la réponse au jeûne naturel ou imposé se traduit chez de très nombreuses espèces (Oiseaux, Mammifères, Reptiles, Amphibiens, Téléostéens), par une atrophie des organes digestifs et une régression de leurs capacités fonctionnelles (Gleeson *et al.*, 1972 ; Johnson *et al.*, 1975), inutilisés durant cette période, et fort coûteux en énergie.

La contrepartie histologique de ce processus d'atrophie est, au niveau intestinal, une diminution de la surface épithéliale (Levin, 1984 ; Carey, 1990 ; Dunel-Erb, 2001 ; Cramp et Franklin, 2003) et de la hauteur des villosités (Carey, 1990 ; Mayhew, 1990 ; Dunel-Erb, 2001). En effet, les villosités et les microvillosités amplifient respectivement de 5 à 10 fois et de 50 à 80 fois la surface intestinale (Ferraris *et al.*, 1989) et représentent dès lors des paramètres prépondérants à réguler pour réduire une surface d'absorption devenue inutile et énergétiquement onéreuse.

Les activités spécifiques et/ou l'expression des enzymes de ces mêmes organes sont de surcroît, diminuées chez certains animaux (Gas et Noailiac-Depeyre, 1976 ; Holt et Yeh, 1992 ; Hung *et al.*, 1997 ; Balslev-Clausen *et al.*, 2002 ; Bélanger *et al.*, 2002), ce qui génère des économies énergétiques supplémentaires. Des stratégies complémentaires, plus spécifiques, se mettent également en place et concourent à la sauvegarde énergétique (*c.f.* Introduction, IV, B, 2).

Conformément à ce qui est observé chez d'autres espèces, le tractus digestif du Python molure en période de jeûne est réduit en masse, dimensions et activité biochimique (Secor et Diamond, 1995). Nos études en microscopie électronique à balayage montrent également que la muqueuse intestinale offre une faible surface luminale sur toute sa longueur. Les villosités plissées, affaissées, sont largement constituées de cellules hypotrophées à la bordure en brosse peu développée.

En microscopie optique, nos observations rejoignent celles de Starck et Beese, (2001). L'organisation histologique témoigne d'un tissu peu propice à l'absorption : les entérocytes apparaissent tassés, superposés en plusieurs couches, par un arrangement pseudostratifié. Les

étroits espaces inter-cellulaires, sièges du transport para-cellulaire, ne sont pas identifiables. La Na^+/K^+ -ATPase, enzyme-clef du métabolisme cellulaire, est difficilement détectable.

D'autres zones du tractus digestif présentent également un faciès inactif. Leur masse et leurs dimensions sont minimales (Secor et Diamond, 1995 ; Starck et Beese, 2002).

Notre étude décrit, au stade à jeun, une histologie stomacale aux fonctionnalités réduites ne permettant pas de décharge d'acide ou d'enzymes efficace: les cryptes gastriques ont une lumière étroite, la surface sécrétoire est restreinte du fait de la faible densité des digitations, l'enzyme producteur d'HCl, la H^+/K^+ -ATPase, est séquestré dans le cytoplasme et Na^+/K^+ -ATPase n'est pas perceptible.

P. molurus, à l'instar du Chien (Helander et Hirschowitz, 1992) ou de certains Requins (Papastamatiou et Lowe, 2005), cesse ses sécrétions acides durant le jeûne (Secor, 2003), au contraire de certains Vertébrés, comme les Humains ou les Rats (Sachs, 1994). Il a été suggéré que le maintien d'une acidité gastrique instaure une aseptie qui limite la croissance de la flore bactérienne (Hunt, 1988 ; Joseph et Kirschner, 2004). Des bouffées de sécrétions acides inter-prandiales pourraient donc contribuer à éliminer les microorganismes opportunistes de la muqueuse digestive de *P. molurus*.

Ces processus, appropriés en période de jeûne, contraignent cependant fortement la reprise alimentaire en diminuant l'efficacité digestive maximale immédiate car, dans certaines situations, à l'instar des prédateurs à l'affût dont *P. molurus*, cette efficacité doit être prompte au risque de compromettre reproduction et survie. Ce dernier, en effet, ne peut attendre la réhabilitation de ses structures et fonctions digestives au risque de voir sa proie s'échapper.

Comment *P. molurus* vainc-il l'inertie inhérente à la réversion des dispositifs d'économie mis en place durant le jeûne ? Les processus sont-ils les mêmes pour tous les organes (Problématique 1).

D) L'ACQUISITION DES FONCTIONNALITES ET DE L'EFFICACITE DIGESTIVE SUITE A LA REALIMENTATION.

A) ACQUISITION IMMEDIATE ET COMPLETE (P. MOLURUS)

1) Acquisition de la morphologie épithéliale stomacale

L'estomac, observé 12 heures après réalimentation (12 HPF), présente un aspect actif. La lumière des cryptes est dilatée, bordée de nombreuses digitations hautes et denses. L'exocytose a réduit le nombre de granules de sécrétion apicaux et de nombreuses mitochondries occupent l'apex de la cellule.

La masse sèche stomacale de *P. molurus* est maximale 36 heures après réalimentation (Secor et Diamond, 1995); ce qui est également le délai nécessaire à l'Amphibien *Cyclorana alboguttata* pour retrouver sa masse stomacale d'animal actif et nourri (Cramp et Franklin, 2003). Chez le Python, cette valeur régresse progressivement vers sa valeur initiale d'animal à jeun après six jours de réalimentation (Secor et Diamond, 1997).

2) Acquisition de la morphologie épithéliale intestinale

La réalimentation requiert, au niveau intestinal, la mise en place de processus plus spécifiques que ceux qui s'instaurent durant le jeûne. Chez *P. molurus*, cette étude et d'autres (Secor et Diamond, 1995 ; Starck et Beese, 2001), montrent que cette mise en place est quasi immédiate, des processus de restauration étant détectables dans l'intestin seulement 6 heures après réalimentation. Malgré ce stade précoce, pour un repas équivalent à 25% de la masse corporelle du Serpent, la masse de l'intestin proximal augmente déjà de 40% (Secor et Diamond, 1995) et la longueur des microvillosités de cette même région double. Dans les six heures suivantes, l'épithélium des trois régions intestinales présente les caractéristiques d'un épithélium fonctionnel muni d'une surface d'échange importante: il est monostratifié, les entérocytes sont larges (Starck et Beese, 2001 ; notre étude) et portent une bordure en brosse 2,5 fois plus haute que celle des animaux à jeun.

L'optimum morphologique, de forte amplitude, semble atteint dans l'intestin proximal un jour après réalimentation. A ce stade, nos observations montrent une muqueuse composée

de villosités renflées, turgescents. Les entérocytes à la bordure en brosse 5 fois plus développée que chez les animaux à jeun, aux espaces inter-cellulaires dilatés, ont déjà entamé dans la région proximale des processus d'absorption, puisqu'ils renferment dès 12 heures après réalimentation des gouttelettes lipidiques intra-cytoplasmiques. Ce moment correspond aussi au pic de consommation d'O₂ de l'animal, qui a alors déjà réduit la masse de sa proie de 27% et ce essentiellement au niveau de la musculature de la tête et de la cage thoracique (Secor et Diamond, 1995).

3) Acquisition des capacités biochimiques stomacale et intestinale

La réhabilitation digestive est **également fonctionnelle** car l'activité de nombreuses enzymes s'initie ou augmente. Dans l'estomac, la Na⁺/K⁺-ATPase et la H⁺/K⁺-ATPase sont actives 12 heures après réalimentation. Conjointement, dans l'intestin proximal, les immuno-marquages localisent la Na⁺/K⁺-ATPase avec intensité. Dès les six premières heures Secor et Diamond (1995) ont mesuré un taux de transport de plusieurs acides aminés qui dépasse celui des animaux à jeun. Celui-ci progresse rapidement pour atteindre un maximum dès 1 jour après réalimentation et reste élevé dans les six jours suivants (Secor et Diamond, 1995). L'activation de la Na⁺/K⁺-ATPase est régionalisée car son marquage apparaît plus tardivement, dans l'intestin distal, trois jours après réalimentation.

Les capacités biochimiques des entérocytes dépendent de l'activité de la Na⁺/K⁺-ATPase qui instaure un gradient cytosolique de sodium, générateur d'énergie potentielle indispensable au fonctionnement des autres échangeurs moléculaires ou ioniques (Campbell, 1993 ; Lingrel et Kuntzweiler, 1994) Cet enzyme se localise communément dans les membranes basolatérales des cellules polarisées (Towle, 1981 ; Péqueux *et al.*, 1988), au contraire de ce que nos immuno-marquages indiquent dans l'épithélium intestinal de *P. molurus* où **la Na⁺/K⁺-ATPase apparaît sous les jonctions serrées des membranes latérales**. Ailleurs, notamment dans le fundus et le pylore de l'estomac, la localisation de cet enzyme est tout à fait ordinaire.

Ce positionnement singulier pourrait être conditionné par le transit important des lipides au travers de la membrane basale, qui rejoignent les chylifères sous-jacents. Celui-ci pourrait considérablement désorganiser la membrane rendant la pompe à sodium inopérante à

cet endroit. D'autre part, cette situation particulière pourrait favoriser des mouvements d'eau, d'électrolytes ou de nutriments au niveau des espaces intercellulaires et occasionner un gain de temps, *i.e.* une optimisation de l'absorption et ce, d'autant plus que la membrane basale est encombrée par le traitement des lipides.

B) ACQUISITION IMMEDIATE MAIS PARTIELLE (ESSENTIELLEMENT BIOCHIMIQUE) CHEZ D'AUTRES ESPECES (~JEUNE COURT)

Cette immédiateté de la reprise morpho-fonctionnelle du tractus digestif après un jeûne, apparaît chez d'autres espèces, bien que souvent partielle et sous-tendue par des mécanismes différents de ceux réalisés chez *P. molurus* (*c.f.* Discussion. II.).

Certains animaux, souvent associés à des jeûnes courts, comme la Paruline à croupion jaune (*Dendroica coronata*), migrateur de courte distance (Lee *et al.*, 2002), le Vison d'Amérique (Bjornvad *et al.*, 2004), ou le Hamster européen (*Cricetus cricetus*) (Galluser *et al.*, 1988 ; Ferraris et Carey, 2000) qui se nourrit frugalement à chaque phase de réveil d'hibernation, conservent -ou même augmentent dans le cas du Vison d'Amérique- les activités spécifiques des enzymes de la bordure en brosse durant tout leur jeûne.

Ferraris et Carey, (2000) expliquent cette persistance du transport des nutriments notamment par un changement du ratio entérocytes matures/ entérocytes immatures, et/ ou un changement d'affinité des transporteurs et/ou des synthèses de transporteurs différents. Bjornvad *et al.* (2004) interprètent ces résultats comme une compensation de l'atrophie du tractus digestif qui permettrait de préserver la fonction d'absorption dans le but de maintenir à court terme une réalimentation efficace.

C) ACQUISITION ANTICIPEE (SITUATIONS CRITIQUES)

À la sortie d'une estivation de 10 mois, l'Amphibien *Cyclorana alboguttata* présente pour son premier repas, une vitesse de passage du digesta beaucoup plus lente qu'un animal actif et nourri (contrôle) bien qu'il possède un tractus digestif raccourci par l'atrophie respective de 50% et de 80% de l'estomac et de l'intestin grêle (Cramp et Franklin, 2003). Ce

ralentissement s'effectue essentiellement dans l'estomac, où le repas séjourne deux fois plus de temps que pour les contrôles et compte pour 50% du temps passé dans le tube digestif.

Cette rétention stomacale maintiendrait une assimilation efficace en permettant une stimulation nerveuse des sécrétions digestives par le biais de la muqueuse gastrique. L'assimilation des nutriments, similaire à celle des contrôles, serait également maximisée par ce processus qui favorise un contact prolongé entre le chyme et la muqueuse intestinale (Cramp et Franklin, 2003).

L'accroissement de différents paramètres morphologiques est d'autre part, réalisé avant même l'ingestion du premier repas. La surface des entérocytes augmente ainsi de 40% et la hauteur et la densité des microvillosités atteint et dépasse respectivement celles des contrôles. Cette anticipation pourrait être initiée à la sortie de l'estivation par le basculement de l'hypométabolisme de torpeur vers un métabolisme actif, de manière à préparer le tractus gastro-intestinal et maximiser l'absorption (Cramp et Franklin, 2003).

Un autre exemple est celui du Rat en phase III de jeûne. Des changements comportementaux (Koubi *et al.*, 1991) mais également histologiques (Dunel-Erb *et al.*, 2001 ; Habold *et al.*, 2004) interviennent, anticipant la déplétion létale des réserves énergétiques. L'animal peut se réalimenter immédiatement bien que la restauration complète de la muqueuse intestinale ne sera effective que trois jours après réalimentation (Dunel-Erb *et al.*, 2001).

D) ACQUISITION RETARDEE DE LA FONCTIONNALITE (~JEUNE LONG)

A l'opposé, certains Oiseaux migrateurs à longue distance (Hume et Biebach, 1996 ; Klaassen *et al.*, 1997 ; Gannes, 2002 ; Karasov *et al.*, 2004) nécessitent un délai de réhabilitation de leurs capacités digestives au niveau de haltes migratoires ; ainsi , le jeûne migratoire a engendré un déclin de la masse protéique corporelle qui atteint 44% chez la Fauvette à tête noire (*Sylvia atricapilla*) (Karasov et Pinshow, 1998).

Cette période cependant, a également été attribuée à une répercussion du stress migratoire (Muller et Berger, 1966), à un délai pour établir un territoire de chasse (Rappole et Warner, 1976), ou à une compétition inter-migrants qui limite l'accès à la nourriture (Moore et Yong, 1991), toutes ces hypothèses n'étant pas mutuellement exclusives.

De même, certains hibernants/hivernants comme respectivement la Marmotte (*M. monax*) et l'Ours noir américain (*U. americanus*) sont connus pour jeûner pendant plusieurs semaines après leur sortie de dormance alors même qu'ils sentent et visualisent de la nourriture disponible (Wang *et al.* 2006).

Le Saumon atlantique (*Salmo salar*) nécessite une semaine pour retrouver une efficacité digestive optimale (Krogdahl et Bakke-McKellep, 2005). Le tableau 19 tente de mettre en évidence des parallèles entre la durée du jeûne des espèces et les modalités de restauration morpho-fonctionnelle du tractus digestif des individus y appartenant.

Tableau 19 : Essai de classification théorique des espèces en fonction des modalités de la restauration morpho-fonctionnelle de leur tractus digestif.

Situations	Jeûne quasi permanent Prédateur à l'affût, apport alimentaire sporadique	Jeûne court <i>e.g.</i> Migrateurs de courte distance	Situations critiques <i>e.g.</i> Rat en phase III de jeûne, réalimentation unique et courte	Jeûne long <i>e.g.</i> Migrateurs de longue distance ; certains hibernants/hivernants
Délai d'acquisition	immédiat	immédiat	immédiat	retardé
Caractéristiques de la restauration morpho-fonctionnelle du tractus digestif	Totale : morphologique et biochimique	Partielle : essentiellement biochimique	Anticipée : Amorce de la croissance intestinale, et sans doute de la biochimie (pas de mesure explicite)	Reconstruction progressive de la morphologie et des capacités biochimiques

Hume et Biebach (1996) ainsi que Gannes, (2002) et Karasov *et al.*, (2004), ont émis l'hypothèse que l'atrophie causée par le jeûne entraîne une perte en protéine de la paroi intestinale qui explique la diminution de la capacité, de la motilité ou de l'activité hydraulique

Cependant, le déclin des fonctionnalités digestives n'apparaît pas être une simple conséquence de la perte de masse des organes digestifs. Karasov *et al.* (2004) ont en effet montré que les villosités intestinales de *S. atricapilla* réalimentées depuis moins de deux jours sont altérées, comme coupées au milieu, le haut relargué dans la lumière. Le délai observé au niveau des haltes migratoires apparaît dès lors nécessaire pour reconstruire puis amplifier les structures et la biochimie de digestion et d'absorption.

E) INFLUENCE DE LA COMPOSITION DU REPAS SUR LE DELAI D'ACQUISITION

Le délai de réhabilitation des fonctionnalités digestives, le gain de masse, et donc le pattern de la migration, dépendent de la composition du repas chez l'Oiseau migrateur *Zonotrichia albicollis* (Pierce et McWilliams, 2004). Ces résultats diffèrent des nôtres, obtenus en nourrissant des *P. molurus* avec des Rats « délipidés ». Comme nous l'avons observé le délai de recouvrement des fonctionnalités digestives n'a pas été modifié bien qu'il ait fait varier l'histologie épithéliale.

F) COMPENSATION MORPHOLOGIQUE DU JEUNE A LA REALIMENTATION

Suite à une réalimentation, les Téléostéens *Gadus mohrua* (Cabillaud) (Bélangier *et al.*, 2002) et *Hoplias malabaricus* (Rios *et al.*, 2004) acquièrent des dimensions intestinales (caeca pyloriques inclus) plus importantes que celles des animaux qui n'ont pas subi de jeûne prolongé. La croissance qui ne s'est pas réalisée durant le jeûne serait ainsi compensée (Bélangier *et al.*, 2002).

II) MECANISMES RESPONSABLES DE L'ACQUISITION DES CARACTERES MORPHO-FONCTIONNELS DU TRACTUS INTESTINAL SUITE A LA REALIMENTATION.

A) AU NIVEAU STOMACAL

1) Conversion structurelle : translocation du système tubulo-vésiculaire

Nos observations mettent en évidence que les cellules oxyntopeptiques des glandes fundiques présentent une alternance de structure entre les états à jeun et nourri. Cette réversion repose en grande partie sur le changement de distribution du système tubulo-vésiculaire (STV). Ce compartiment apical apparaît considérablement réduit durant la sécrétion gastrique, alors même que la surface luminale est maximale.

Ces résultats suggèrent que le STV participe à la formation et à l'allongement des digitations lumineales. La surface de sécrétion est alors rapidement démultipliée sans requérir de biosynthèse membranaire. Une telle translocation a été visualisée chez d'autres Vertébrés (Sedar, 1961 ; Helander et Hirschowitz, 1972 ; Giraud *et al.*, 1979 ; Forte *et al.*, 1981 ; Ogata, 1997 ; Duman *et al.*, 2002a).

Dans les cellules pariétales des Mammifères (Planche 60), ce processus s'effectuerait par la fusion et le transfert des membranes du STV vers les canaliculi intracellulaires, qui correspondent à des invaginations de la membrane apicale (Forte *et al.*, 1981 ; Helander et Hirschowitz, 1972 ; Ogata, 1997 ; Duman *et al.*, 2002a). Ces canaliculi sont bordés de microvillosités (Mercier *et al.*, 1989) plus nombreuses et allongées en période de sécrétion acide

Je n'ai pas observé ces structures dans les cellules oxyntopeptiques de *P. molurus*. Celles-ci n'ont pas, non plus, été identifiées chez le Lézard *Tiliqua scincoides* (Giraud *et al.*, 1979) ni chez la Grenouille *Rana catesbiana* (Sedar, 1961) et pourraient être restreintes aux seules cellules pariétales. Ces deux espèces présentent par contre, des canaliculi intercellulaires c'est-à-dire localisés entre deux cellules adjacentes, non visualisés chez *P. molurus*, et qui accroissent encore davantage la surface sécrétoire.

Le STV apparaît dense et apical chez *P. molurus* au stade à jeun, **ce qui favorise un remodelage membranaire massif et rapide lors de la réalimentation.** Une telle orientation

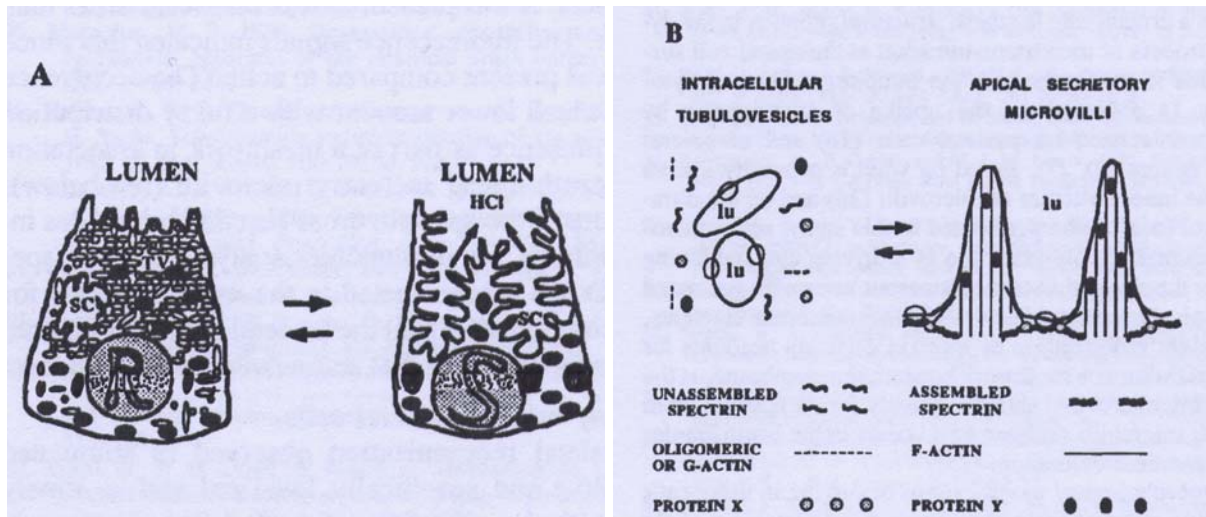


Planche 60: A) Représentation des changements morphologiques qui affectent la cellule pariétale lors d'une stimulation de la sécrétion acide. **R:** cellule en phase non-sécrétrice; **S:** cellule stimulée; **TV:** Tubulo-vésicules; **SC:** Canaliculi intra-cytoplasmiques. **B)** Modèle d'organisation des membranes sécrétrices d'acide et du cytosquelette dans une cellule non stimulée (à gauche) et stimulée (à droite). **A gauche**, les membranes du STV internes et inactives côtoient un pool dispersé de protéines du cytosquelette. Les membranes porteraient des protéines stabilisatrices de la structure active. **A droite**, les éléments du cytosquelette s'organisent pour former les microvillosités des cellules pariétales. *Extrait de Mercier et al., 1989.*

préférentielle n'a été consignée ni chez les Mammifères (Ogata et Yamasaki, 2000), ni chez *R. catesbiana*, ni encore chez *T. scincoides*, peut-être du fait de l'existence et de la répartition de canaliculi intra- ou intercellulaires (respectivement) dans la cellule.

Le STV n'entretient pas de continuité permanente avec la membrane plasmique (Sedar, 1961 ; Helander et Hirschowitz, 1972 ; Ogata, 1997) ce qui implique une redistribution des membranes, des processus de fusion et de changement structurels pour former des digitations (ou des microvillosités chez les Mammifères) opérés par le cytosquelette (Mercier *et al.*, 1989 ; Forte *et al.*, 1998). Des données récentes démontrent que la H⁺, K⁺ATPase établit un lien essentiel entre les membranes et le cytosquelette (Miller *et al.*, 2004) puisque son absence induit des modifications fondamentales dans l'ultrastructure de la membrane de la cellule pariétale.

Les cellules oxyntopeptiques de nos animaux retrouvent progressivement leur caractère inactif. Trois jours après réalimentation les digitations lumineuses régressent au profit de la reconstitution du STV. Corrélativement, des corps multivésiculaires apparaissent, ce qui suggère un recyclage des membranes surnuméraires ou endommagées. De tels éléments sont notifiés chez *Tiliqua scincoides* (Giraud *et al.*, 1979) sans qu'il ne soit mentionné de stade digestif.

Des enroulements membranaires sont d'autre part, couramment visualisés à la base des cellules pariétales et oxyntopeptiques (Sedar, 1961 ; Giraud *et al.*, 1979 ; Helander et Hirschowitz, 1972 ; Ogata, 1997). Leur rôle serait de réaliser des pinocytoses avec le milieu extracellulaire (Sedar, 1961). Ils sont également présents chez *P. molurus* mais leur localisation est souvent latérale.

Par ailleurs, *Rana catesbiana* (Sedar, 1961) présente des accumulations de glycogène qui n'ont pas été observées dans les cellules de nos animaux.

2) Activation des fonctionnalités enzymatiques

L'immédiateté de la réponse fonctionnelle des cellules oxyntopeptiques réside en la mobilisation prompte et efficace de leurs effecteurs. Ceux-ci, séquestrés massivement à proximité de leur site d'action et rapidement recrutés exploitent l'important incrément de surface offert par la conversion du STV. L'anticipation de leur biosynthèse réduit le délai de

leur opérationnalité. La Na^+/K^+ -ATPase diffère cependant de ce schéma, car elle n'apparaît pas mise en réserve au stade à jeun -à moins qu'elle ne le soit sous une forme non détectable par l'anticorps utilisé- et doit être générée par des synthèses protéiques accrues comme l'indique l'intense immuno-marquage dans les membranes baso-latérales des cellules oxyntopeptidiques. Celui-ci se retrouve également dans celles des cellules à mucus des glandes pyloriques ce qui témoigne d'une relance des fonctionnalités à ce niveau.

Des données récentes indiquent que la H^+ , K^+ -ATPase ne devient fonctionnelle chez le Rat, qu'après fusion du STV à la membrane sécrétoire (Duman *et al.*, 2002b ; Schubert, 2002). Nos observations sont compatibles avec une telle dynamique, bien que nous ne puissions préjuger de l'état d'activité de cet enzyme. A jeun, le marquage de la pompe à protons apparaît en effet diffus dans le cytoplasme, préférentiellement en position apicale ce qui est superposable à la localisation du STV. Mais 12 heures après réalimentation, il se retrouve densément dans les membranes lumineales des cryptes gastriques.

Chez le Rat, cet enzyme est composé des deux sous-unités α et β , toutes deux indispensables à la sécrétion acide. α comprend le site catalytique de l'enzyme et dix domaines transmembranaires dont M6 qui contrôle son inhibition. La sous-unité β possède un domaine transmembranaire qui doit être utilisé pour la formation des membranes tubulovésiculaires, le transport du complexe enzymatique et la protection de l'enzyme contre la dégradation (revue de Schubert, 2002).

Trois jours après réalimentation, l'estomac est vide (pour une proie équivalente à 25% de la masse corporelle de l'animal) ; les cellules oxyntopeptiques présentent des grains de zymogène qui pourraient correspondre à un renouvellement du stock épuisé par l'exocytose. Cette caractéristique semble commune à de nombreux Vertébrés (Sedar, 1961 ; Moxey et Yeomans, 1976 ; Giraud *et al.*, 1979 ; Michelangeli *et al.*, 1988 ; Galledo-Huidobro et Pastor, 1996).

3) Renouvellement cellulaire

Les réplifications cellulaires s'initient à la base des cellules du collet à la fin des processus digestifs lorsque l'épithélium n'est plus sollicité: **elles s'inscrivent donc dans un processus de renouvellement cellulaire.** Cette localisation est identique chez les

Mammifères (revu par Willems, 1972) chez lesquels des mitoses se produisent également dans la zone muqueuse. Partant de ces zones de prolifération, la majorité des cellules nouvellement produites migrent vers la surface (revu par Willems, 1972).

Le gain de masse de *C.alboguttata* observé à la sortie de l'estivation ne serait pas non plus le reflet d'une hyperplasie du tissu gastrique, mais pourrait-être attribué à une accumulation de produits de sécrétion (Cramp et Franklin, 2005).

B) AU NIVEAU INTESTINAL

1) **Action et origine des gouttelettes lipidiques**

L'un des mécanismes majeurs qui sous-tendent l'expansion intestinale est la réversion d'un arrangement compact, pseudostratifié, de l'épithélium intestinal en une structure déployée, monostratifiée (Starck et Beese 2001). Cette nouvelle conformation permet d'amplifier de 2 à 3 fois la surface d'absorption initiale (Starck 2005a). Elle est en partie attribuée à l'incorporation massive de gouttelettes lipidiques par les entérocytes (Starck et Beese 2001) qui augmente mécaniquement le volume et la surface des cellules (Secor *et al.*, 2002). Ce dispositif contribue donc à l'hypertrophie des cellules et de proche en proche à celle de l'organe tout entier. Ce processus a également été observé chez la Carpe commune (Noaillac-Depeyre et Gas, 1974, 1979), chez des Amphibiens (Cramp et Franklin, 2003 ; Secor, 2005a), chez un Crocodile (Starck *et al.*, 2007), et chez plusieurs Serpents (Starck et Beese, 2002 ; Starck, 2005 ; Großmann et Starck, 2006).

Nos observations montrent que cette incorporation est quantitativement variable suivant la position de l'entérocyte dans la villosité. L'accumulation des gouttelettes lipidiques est maximale au sommet et dans les bords fins (plan central longitudinal) des villosités. Cette absorption apparaît aussi régionalisée, précoce et croissante selon l'axe oral-aboral. Une fois incorporées, les gouttelettes lipidiques traversent l'entérocyte et la membrane basale puis rejoignent les chylifères.

L'épithélium de nos animaux nourris avec des Rats « délipidés » ne présente pas d'accumulation de gouttelettes lipidiques intra-cytoplasmiques, au contraire de ceux nourris avec des proies ordinaires. **Cette graisse cytoplasmique est donc celle de la proie**, sans quoi sa présence serait indépendante de la teneur en lipides du repas.

Six jours après réalimentation, c'est-à-dire à la fin de la digestion, les gouttelettes sont en moyenne plus petites, et concentrées à la base de la cellule. A ce même moment, la masse intestinale a diminué de 20% par rapport à ce qui a été observé après trois jours de réalimentation (Secor et Diamond, 1995). **Ceci démontre que l'incorporation des graisses dans les entérocytes est un paramètre important dans la variation de la masse intestinale.**

L'épithélium de nos animaux nourris avec des Rats « délipidés » n'a par ailleurs pas réalisé la réversion vers une structure monostratifiée, ce qui indique que cette réversion est dépendante de l'absorption des graisses de la proie. **L'accumulation des gouttelettes lipidiques dans les entérocytes est également un moyen efficace de réguler la surface d'absorption intestinale en réalisant la conversion d'une structure épithéliale pseudostratifiée en monostratifiée.**

À la dissection, le tractus digestif de ces Pythons ne diffère pas de celui des animaux alimentés avec des proies ordinaires, ce qui suggère que **l'accumulation de gouttelettes lipidiques n'est pas le seul facteur inducteur de l'incrément intestinal.** Cette hypothèse est confortée par le fait que l'absorption progressive et régionalisée des graisses n'entraîne pas une croissance également progressive et régionalisée de l'intestin. En effet, entre les 12 et 24 heures qui suivent la réalimentation, seule la région proximale de l'intestin présente des gouttelettes lipidiques, ce qui ne devrait conduire qu'au seul épaissement de cette partie de l'intestin à ce stade digestif. Or, à la vue des dissections réalisées, il apparaît que l'ensemble de la muqueuse intestinale s'épaissit et non pas la seule partie proximale.

2) Action de la pression hydrostatique

Pour expliquer la croissance de la muqueuse intestinale, Starck et Beese (2001, 2002) puis Starck et Wimmer (2004) ont évoqué la possibilité d'une arrivée d'un fluide sous pression d'origine sanguine et/ou lymphatique, en plus de la charge lipidique. Les entérocytes pourvus à leur base de « réserves » de membranes, sous la forme d'enroulements, se dilateraient sans nécessité de biosynthèse membranaire supplémentaire.

Au cours de nos nombreuses observations, nous avons certes, visualisés des replis membranaires latéraux qui permettent la cohésion de l'épithélium et augmentent la surface de contact avec les espaces intercellulaires mais n'avons discerné aucune circonvolution

membranaire basale. L'accroissement de l'enveloppe cellulaire, pourtant indispensable à une telle hypertrophie des cellules, pourrait davantage s'expliquer par des ajouts de membranes provenant d'organites.

D'autre part, pour des raisons osmotiques, Wang *et al.* (2006) excluent la contribution de la pression lymphatique. Chez les Rongeurs, Hibold *et al.* (2004) émettent l'hypothèse que la restauration de la morphologie des villosités pourrait être due à une augmentation du transport de petits peptides, corroborée à une absorption d'eau, ce qui conduirait à une rapide réhydratation de ces dernières.

3) Autres procédés pouvant potentiellement contribuer à une hypertrophie cellulaire

- Le gésier de la Caille japonaise *Coturnix coturnix japonica* subit des changements de taille importants selon son régime alimentaire. Ces changements sont liés à l'hypertrophie des muscles lisses sous-jacents (Starck, 1999). A contrario, la réalimentation n'affecte ni l'épaisseur ni le fonctionnement des couches musculaires du tractus digestif de *P. molurus*, (Holmberg *et al.*, 2002), de la Fauvette *S. atricapilla* (Karasov, *et al.*, 2004) ou des Rats (Dou *et al.* 2002).
- Chez le Rat, l'épaisseur de la muqueuse serait contrôlée par la rétraction/élongation des chylifères (Hibold *et al.*, 2004) associée à une contraction/relâchement des myofibrilles constitutives de la lamina propria (Blikslager et Roberts, 1997).

4) Action de la multiplication cellulaire

Deux processus majeurs permettent de réguler les dimensions d'un tissu : faire varier le nombre de cellules (hyperplasie/hypoplasie) ou leur taille (hypertrophie/hypotrophie). Les paragraphes précédents ont montré que l'hypertrophie cellulaire contribue à l'expansion intestinale mais l'hyperplasie y participe-t-elle également ?

Nos données indiquent que la multiplication cellulaire varie significativement suivant l'état digestif de *P. molurus*. L'intensité de la réplication augmente respectivement de 27 à 22 fois durant les stades 3 et 6 jours après réalimentation par rapport au stade à jeun. Elle coïncide par conséquent avec les processus d'absorption, et ce, alors que la surface intestinale est déjà maximale.

Ces résultats ne confortent pas l'hypothèse d'une réplication cellulaire intense avant absorption des métabolites (Secor et Diamond, 1995) car cette dernière est tardive alors que nous avons montré que l'absorption des graisses est effective dès les premières douze heures qui suivent la réalimentation, dans la partie proximale tout du moins. Ils ne confortent pas non plus l'hypothèse d'un renouvellement se produisant après le pic d'absorption (Starck et Beese, 2002), car d'après nos observations celui-ci survient à trois et quatre jours après l'ingestion de la proie, voire entre les stades 1 et 6 jours après réalimentation d'après des mesures établies sur le taux d'absorption de transporteurs membranaires (Secor et Diamond, 1997).

La multiplication cellulaire s'instaure ainsi précocement par rapport aux évènements digestifs mais ne précède pas l'absorption des nutriments. Elle ne survient pas non plus à la régression de l'absorption. **Elle s'inscrit dans un processus de renouvellement cellulaire, et non d'hyperplasie, et ce simultanément à l'absorption massive des nutriments.**

Nos observations en microscopie électronique confortent cette hypothèse puisque nous avons décelé des corps apoptotiques (éléments qui correspondent à la fin du processus de mort cellulaire) trois jours après la prise du repas. Ces figures étaient plus fréquentes au quatrième jour, voire parfois visibles dès le deuxième jour. Leur présence pourrait s'expliquer par la nécessité de remplacer des cellules altérées, à l'efficacité amoindrie, de manière à maintenir une optimalité du tissu d'absorption : cela s'inscrit bien dans un processus de renouvellement cellulaire et non d'hyperplasie.

Par conséquent, la croissance de la muqueuse intestinale (Secor et Diamond, 1995 ; Starck et Beese, 2001 ; Holmberg *et al.*, 2002) en réponse à la réalimentation n'est pas consécutive à l'hyperplasie du tissu mais correspond à un changement de structure de l'épithélium intestinal dû en partie à l'incorporation de graisses.

Le renouvellement cellulaire permet de reconstruire l'épithélium intestinal altéré par les intenses processus d'absorption, en anticipation de la prochaine opportunité alimentaire qui achèvera un jeûne d'une durée indéterminée.

Des données convergentes sont apportées par l'étude de l'Amphibien estivant *Cyclorana alboguttata* (Cramp et Franklin, 2005). Ces animaux recouvrent leur morphologie et leur surface intestinale dans les 36 heures qui suivent leur premier repas.

Les auteurs estiment que le renouvellement cellulaire, très lent chez les Amphibiens (Kiss *et al.*, 1986), ne peut pas être responsable de cette croissance. Elle pourrait en partie être induite par l'accumulation intracytoplasmique de gouttelettes lipidiques dans les entérocytes (Cramp et Franklin, 2005), comme ce qui se produit chez *P. molurus*, bien que cette espèce ne présente pas d'épithélium pseudostratifié à l'état à jeun.

A contrario, des études menées sur de nombreuses espèces d'Endothermes (Altmann, 1972 ; Hume et Biebach, 1996 ; Dunel-Erb, 2001 ; Ferraris et Carey, 2000 ; Starck et Rahmann, 2003 ; Habold *et al.*, 2004 ; Karasov *et al.*, 2004) révèlent que la régulation des dimensions de leur tractus digestif repose à la fois sur des dispositifs d'hypertrophie et d'hyperplasie avec une importance prépondérante pour ce dernier processus (Wang *et al.*, 2006).

5) Modulation de la hauteur des microvillosités

Nos mesures indiquent que la hauteur des microvillosités est étroitement corrélée à l'état digestif de *P. molurus* avec une valeur maximale obtenue qui survient 24 heures après le nourrissage et qui correspond à environ 5 fois la valeur de celles d'un animal à jeun. Ces résultats sont légèrement supérieurs à ceux décrits précédemment (Secor *et al.*, 2000a). Cette modulation intervient rapidement après l'ingestion de la proie puisque les hauteurs sont significativement plus élevées dès 12HPF. L'Amphibien *Cyclorana alboguttata* (Cramp et Franklin, 2005) et le Rat (Buts *et al.*, 1990 ; Hodin *et al.*, 1994 ; Dunel-Erb, 2001) contrôlent également les caractères morphologiques (hauteur, densité) de la bordure en brosse mais dans des amplitudes moins spectaculaires, avec une latitude de 1,5 fois et de 1,13 fois pour les hauteurs des microvillosités respectives de *C. alboguttata* et du Rat. Par contre, ce paramètre n'apparaît pas être régulé chez les hibernants (Carey et Sills, 1996 ; Carey 2001).

Nos données montrent en outre, que l'épaisseur de la bordure en brosse s'accroît d'un facteur de 1,6 par rapport à celle d'animaux nourris, suite à un régime extrêmement pauvre en lipides. Cet incrément supplémentaire **indique que la bordure en brosse est un**

paramètre extrêmement flexible. Est-ce une réponse au contenu qualitatif du repas ou au contraire à son aspect quantitatif ?

Nos réalimentations expérimentales avec de petits Mammifères ne transcrivent pas fidèlement les conditions alimentaires naturelles de ces animaux. Ceux-ci se nourrissent, le cas échéant, de proies de constitution différente (*e.g.* moins riches en lipides) dont l'absorption requerrait les propriétés accrues de la bordure en brosse. Mais ces résultats peuvent également s'interpréter comme une croissance compensatoire de la bordure en brosse qui permet de maximiser l'absorption d'un repas énergétiquement faible ou de pallier à un déficit de surface intestinale. Du fait d'une moindre altération des entérocytes suite à de plus faibles processus d'absorption, leur renouvellement sera-il alors moins intense ?

6) Mécanismes plausibles de cette modulation

Deux mécanismes (Planche 61) ont été proposés pour expliquer cette flexibilité (revue de Secor, 2005b)

Scénario 1 : Les microvillosités s'allongent par la polymérisation des filaments d'actine qui s'opère par l'ajout de G-actine à leur extrémité. Ces monomères migrent depuis des réserves cytoplasmiques ; les autres protéines constitutives des microvillosités sont mobilisées depuis le cytoplasme et s'insèrent. Parallèlement, des vésicules membranaires fusionnent pour fournir le complément de membrane. Le raccourcissement se produit par dépolymérisation de la F-actine ; les protéines et les membranes sont séquestrées dans le cytoplasme ou dégradées.

Scénario 2 : Les microvillosités maintiennent constamment leur longueur et sont élevées ou descendues en fonction du stade digestif. Le réseau terminal et certaines fibres de myosine agiraient comme des moteurs intracellulaires, propulsant ou rétractant les filaments d'actine. La compensation membranaire s'effectuerait soit par des ajouts/retraits de membranes soit par des étirements/rapprochements de la membrane plasmique.

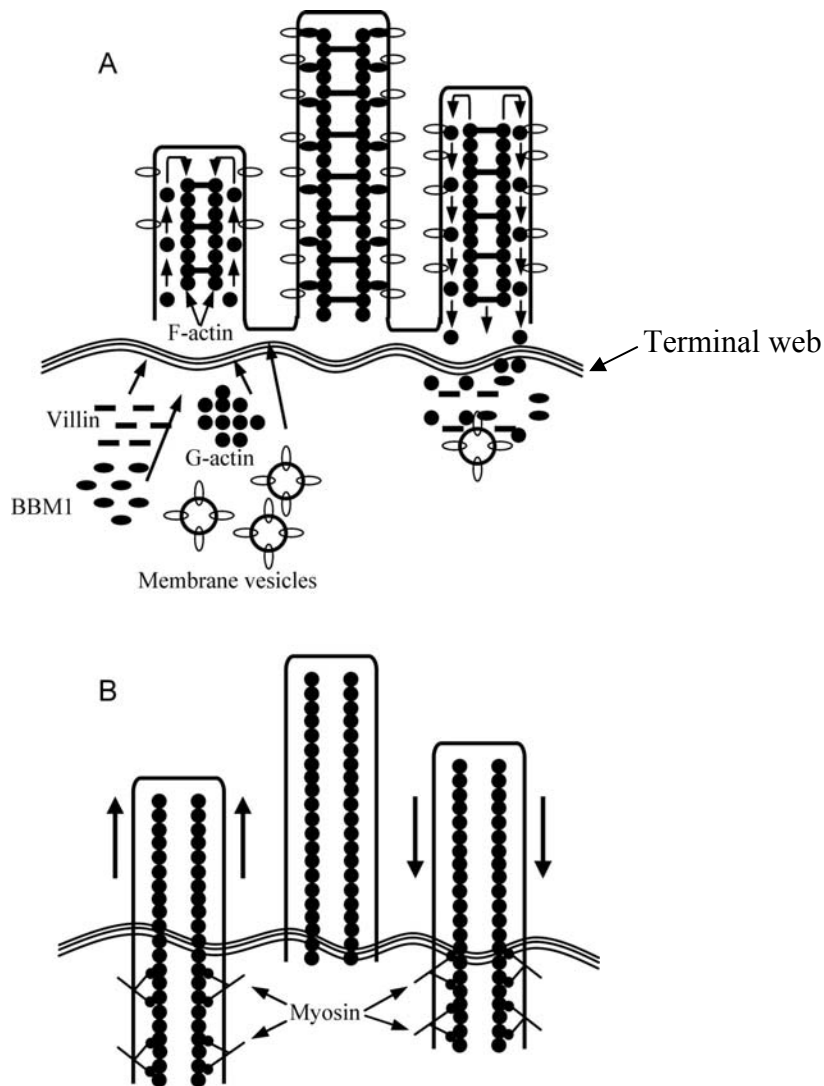


Planche 61: Mécanismes hypothétiques sous-tendant la modulation de la hauteur des microvillosités. A: Scénario 1: L'allongement et le raccourcissement des microvillosités se fait par polymérisation/dépolymérisation de la F-actine et l'ajout/retrait de protéines constitutives et de membranes séquestrées dans le cytoplasme. **B: Scénario 2:** Les microvillosités disposent d'une longueur fixe ; elles sont élevées ou descendues en fonction du stade digestif ce qui fait varier l'épaisseur de la bordure en brosse. Le réseau terminal et certaines fibres de myosine agirait comme des moteurs intracellulaires, propulsant ou rétractant les filaments d'actine. La compensation membranaire s'effectuerait soit par des ajouts/retraits de membranes soit par des étirements/rapprochements de la membrane plasmique. *Extrait de Secor, 2005b.*

C) AU NIVEAU COLIQUE

L'augmentation de masse relevée pour le côlon (Secor et Diamond, 1995) n'est pas le fait d'une hyperplasie car les multiplications cellulaires s'initient 24 heures après la réalimentation. **Les multiplications cellulaires assureraient plutôt le renouvellement de l'épithélium en anticipation de la prochaine réalimentation.** Ainsi, le gain de masse constaté pourrait peut-être s'expliquer par un enrichissement en eau, en graisses résiduelles ou en glycogène du tissu.

La permanence structurelle colique, *i.e.* monostratifiée, constatée au cours des différents stades digestifs pourrait s'expliquer par la faible charge lipidique qui s'y incorpore à la réalimentation, alors incapable de produire une réversion structurelle. La modeste variation d'amplitude des microvillosités et le taux de réplication des animaux jeûneurs conduisent cependant, à penser que l'épithélium est encore actif, même à jeun : il semblerait que la durée du jeûne imposée soit trop courte, en regard du délai nécessaire au caecum et au colon pour retrouver leur état « quiescent ». **Cette mise en repos retardée pourrait maximiser l'absorption et serait mise à profit à la fois pour parfaire le renouvellement cellulaire et procéder à la dégradation et au recyclage de divers éléments cellulaires,** comme semble l'indiquer l'omniprésence des CMVs. Les épithélia sont ainsi préparés à la prochaine opportunité alimentaire.

Il serait intéressant d'analyser la structure de ces derniers après un jeûne très prolongé, *e.g.* 5 mois, pour observer s'il s'est produit une réversion de structure, même modeste, ou si ces structures sont effectivement monostratifiées.

D) AU NIVEAU DES AUTRES ORGANES

La réalimentation s'accompagne d'une élévation concomitante de la masse de nombreux organes, en plus de ceux du tractus digestif: le foie, le pancréas, les reins, le cœur, les poumons (Secor et Diamond, 1998). Leur variation significative de masse pourrait résulter d'un afflux sanguin plus important, de biosynthèses, d'accumulation de produits de sécrétion ou d'absorption ou/et d'une hyperplasie cellulaire.

1) Le foie

La variation de la masse hépatique de la Couleuvre *Thamnophis sirtalis parietalis* a été attribuée à l'incorporation transitoire de gouttelettes lipidiques, maximale à 1DPF, et non à un processus de prolifération cellulaire (Starck et Beese, 2002).

Déjà à jeun, les hépatocytes de nos animaux présentent une accumulation importante de gouttelettes lipidiques. La durée du jeûne qui leur a été imposée a peut-être été trop courte par rapport au délai nécessaire au transfert de leurs graisses vers les corps adipeux.

2) Le pancréas

A jeun, les cellules acineuses sont chargées à leur base de grains de zymogène et présentent également de nombreux grains immatures (vacuoles de condensation). Douze heures après le nourrissage, les cellules acineuses apparaissent délestées de leurs sécrétions, relarguées pour la digestion intestinale. Encore douze heures plus tard, les cellules comptent à nouveau d'innombrables grains de zymogène, et adoptent une conformation semblable à celle du stade à jeun. Ceci ne peut rendre compte de l'augmentation post-prandiale de 71% de la masse pancréatique (Secor et Diamond, 1998); même si la fonction endocrine et ses productions n'ont pas été mesurées, l'explication serait plutôt un afflux de sang supplémentaire.

L'évènement digestif induit une décharge des produits pancréatiques ainsi que de massives synthèses protéiques pour reconstituer en trois jours les réserves de zymogène en anticipation de la future réalimentation.

3) Le cœur

L'hypertrophie cellulaire, par adjonction d'éléments contractiles synthétisés *de novo*, est responsable de l'augmentation réversible de 40% du muscle cardiaque (Andersen *et al.*, 2005). Cette hypertrophie ventriculaire expliquerait pourquoi le volume d'éjection cardiaque est 50% plus grand que celui mesuré lors d'un exercice physique intense (Secor *et al.*, 2000b). Elle est, de plus, très rapide comparée à celle qui se produit chez les Mammifères pour

lesquels un incrément comparable de la taille du ventricule nécessiterait plusieurs semaines (Quinn, *et al.*, 1998).

4) Autres

Les études histologiques préalables réalisées sur des échantillons de reins et de poumons n'ont pas mis en évidence de modifications structurelles majeures, ce qui conforterait l'hypothèse d'un gain de masse par une augmentation d'afflux sanguin ou liquidiens. La masse sèche des reins est cependant, maximale 36 heures après la réalimentation (Secor et Diamond, 1995) ce qui implique un autre processus, tel qu'une accumulation de déchets issus de l'hypermétabolisme post-prandial.

E) RENOUVELLEMENT DIFFERENTIEL DES ORGANES

Le renouvellement cellulaire se produit à différentes échéances temporelles par rapport au pic d'activité des organes étudiés précédemment (Planche 62). En effet, les cellules gastriques assurent d'abord la digestion de la proie avant d'être renouvelées, alors que le renouvellement des cellules intestinales et coliques est concomitant à l'absorption des nutriments.

L'entrée en mitose ou en apoptose ne permet plus à la cellule d'assurer sa fonction. Ainsi, à grande échelle, le renouvellement cellulaire induit une diminution des capacités du tissu considéré. C'est pourquoi, la surface développée par un organe pourrait constituer un paramètre important dans la stratégie de renouvellement de ce dernier.

L'estomac, disposant d'une aire assez réduite par rapport à l'intestin, sollicite l'activité de toutes ses cellules dont le renouvellement est différé, ce qui permet de maintenir des capacités digestives maximales. La surface démultipliée de l'intestin autorise par contre un renouvellement cellulaire qui coïncide avec l'absorption. Une telle synchronisation pourrait également réduire l'intervalle de temps durant lequel l'intestin fonctionne activement, et favoriser le retour rapide de l'atrophie occasionnant une sauvegarde énergétique supplémentaire.

Au niveau du caecum et du côlon, les conditions du renouvellement cellulaire sont similaires à celles de l'intestin. Celui-ci semble cependant s'étaler sur une période plus longue, ce qui serait autorisé par un retour également plus lent des tissus à l'état de « quiescence ». Afin de vérifier cette hypoyhèse, il serait d'ailleurs intéressant de quantifier la multiplication cellulaire de ces épithélia à des stades digestifs plus avancés, par exemple après 14 jours de réalimentation, ou après un jeûne bien plus prolongé que celui enduré par nos animaux.

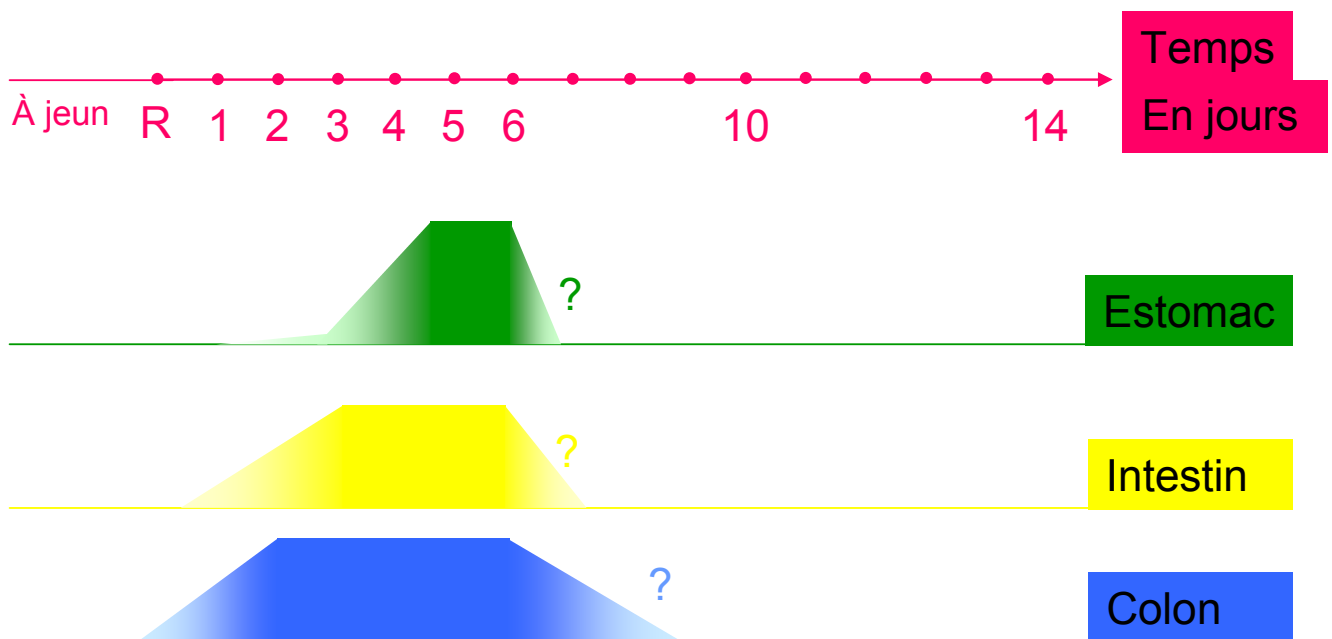


Planche 62 : Renouvellement cellulaire différé. Les cellules gastriques assurent d'abord la digestion de la proie avant d'être renouvelées, alors que le renouvellement des cellules intestinales et coliques est concomittant à l'absorption des nutriments.

L'analyse des données précédentes démontre que la réponse à la réalimentation de *P. molurus* est intégrée à chaque niveau de son organisation (organe, tissu, cellule, molécule). Celle-ci se réalise même après un jeûne exceptionnellement long (McCue, 2007a) alors que les réserves énergétiques de l'animal doivent être proches de l'épuisement. **Comment *P. molurus* retrouve-t-il ses fonctionnalités digestives avec potentiellement peu d'énergie ?** (Problématique 2)

III) ORIGINE DU CARBURANT ENERGETIQUE MIS EN JEU LORS DES PROCESSUS DE REALIMENTATION

La digestion et l'absorption des nutriments contenus dans une proie imposent un coût métabolique important (*c.f.* Introduction V. C. e.). Starck *et al.* (2004) montrent que dans le jour suivant la réalimentation, l'animal, ici *P. regius*, change la nature de son carburant énergétique : **le Serpent subvient alors à ses dépenses énergétiques par la métabolisation de sa proie.** Les auteurs suggèrent que les dépôts cytoplasmiques de glycogène ou de lipides suffisent à assumer les coûts pré-absorptifs (*c.f.* Introduction V. C. e.), les coûts ultérieurs étant assurés par la dégradation de la proie et prioritairement de ses tissus mous.

Ces auteurs indiquent également que la réponse post-prandiale de *P. regius* est similaire à celle décrite chez *P. molurus* : il est donc probable que *P. molurus* recourt à cette même stratégie pour pourvoir aux coûts de sa réalimentation. Nos données de composition corporelle confortent cette hypothèse. Elles indiquent, en effet, une augmentation du contenu lipidique des animaux dès un jour après réalimentation, ce qui signifie qu'ils n'utilisent pas leurs réserves mais les reconstituent bien au contraire. De nombreuses espèces d'Oiseaux migrateurs font d'ailleurs de même, puisqu'ils restaurent leurs capacités digestives en se réalimentant lors de leurs haltes migratoires (Hume et Biebach, 1996).

A l'opposé, d'autres espèces comme la Caille japonaise *Coturnix coturnix japonica* (Starck et Rahmann, 2003), l'Amphibien *C. alboguttata* (Cramp et Franklin, 2005) ou la Fauvette des jardins *Sylvia borin* (Hume et Biebach, 1996) mobilisent leurs réserves adipeuses pour assumer les coûts de la flexibilité de leur tractus gastro-intestinal.

La durée du jeûne enduré par *P. molurus* est imprévisible car dépendante de l'opportunité alimentaire. Miser sur l'énergie apportée par la proie plutôt que celle de ses

propres réserves, dont la quantité demeure une variable inconnue, lui garantit la pérennité de la réalisation de ses réalimentations.

IV) LA CONTRIBUTION DE *P. MOLURUS* AUX COÛTS ÉNERGETIQUES INHERENTS A LA REALIMENTATION

De nombreuses hypothèses ont été émises pour expliquer la spectaculaire thermogénèse corrélée à la réalimentation (*c.f.* Introduction, V. C. e) bien qu'aucune ne soit unanimement vérifiée. Quoiqu'il en soit, **la chronologie des évènements mise en évidence dans ces travaux suggère une contribution énergétiquement peu onéreuse de *P. molurus* aux processus de restauration morpho-fonctionnelle de son tractus gastro-intestinal.** Cette stratégie repose sur trois axes :

- Les modifications structurales se mettent en place suite à des processus mécaniques réversibles.
- Ces conversions structurelles s'appuient sur des éléments immédiatement disponibles (mis en réserve ou qui proviennent de la proie)
 - Au niveau stomacal : réserve de membranes, séquestration de la pompe à protons et des précurseurs enzymatiques.
 - Au niveau intestinal : réserves de membranes, apport partiel de volume par l'incorporation de gouttelettes lipidiques exogènes.
- Une grande partie de la dépense métabolique liée à la digestion ne sollicite pas les réserves énergétiques de l'animal car elle recourt directement à la métabolisation de la proie nouvellement ingérée.

L'amorce de la réalimentation n'est pas énergétiquement onéreuse du fait qu'elle bénéficie des investissements réalisés durant le repas précédent. Peu de biosynthèses immédiates sont alors requises. Les processus suivants, notamment les synthèses *de novo*, le transport ou la sécrétion, et le renouvellement cellulaire entraînent davantage de dépenses, mais ne constituent pas un facteur limitant du fait qu'ils se produisent lorsque l'entrée

d'énergie est maximale et directement disponible. D'autre part, de nombreuses structures témoignent que les cellules sont le siège d'intensifs processus de recyclage moléculaire.

La tolérance remarquable du Python de Birmanie au jeûne réside en cette combinaison d'éléments. L'évènement digestif suivant, anticipé lors du repas présent peut survenir à une très longue échéance : l'animal aux réserves énergétiques amenuisées par le jeûne peut promptement rétablir ses fonctions digestives avec une sollicitation minimale de ses réserves énergétiques endogènes. Ainsi, il se produit bien un « pay before pumping » comme l'avaient suggéré Secor et Diamond en 1995, mais au cours du repas précédent et non à l'ingestion de la proie.

Le jeûne des prédateurs à l'affût comme celui de *P. molurus* se rapproche de celui d'espèces cavernicoles. Celles-ci occupent notamment des systèmes karstiques aquifères caractérisés par des apports alimentaires minimes et sporadiques, tributaires d'apports extérieurs imprévisibles, du fait de l'absence de production autotrophique. A l'instar de *P. molurus*, le jeûne constitue l'ordinaire chez ces espèces, et l'alimentation un évènement, au contraire des animaux qui mangent fréquemment. Le Protée *Proteus anguinus*, est d'après nos connaissances, un exemple vraiment exceptionnel de tolérance au jeûne, puisqu'elle peut se réalimenter sans signe pathologiques, après des périodes de jeûne comprises entre 18 et 96 mois (Hervant *et al.*, 2001)

Chez les Mammifères, la flexibilité du tractus gastro-intestinal peut être également rapide (*e.g.* Dunel-Erb *et al.*, 2001 ; Habold, 2005) mais elle est énergétiquement coûteuse du fait du recours à la prolifération cellulaire (Aldewachi *et al.*, 1975 ; Goodlad *et al.*, 1998).

Nos expérimentations ne permettent pas de vérifier si, en dépit de son extrême tolérance à la privation de nourriture, *P. molurus* peut connaître une irréversibilité de son jeûne. Toutefois, l'ensemble de nos résultats laisse présumer que l'échéance temporelle à laquelle celle-ci pourrait potentiellement se produire est très éloignée.

Nos investigations soulèvent une nouvelle interrogation : comment la croissance ou la reproduction (pour les femelles), qui sont deux fonctions énergétiquement coûteuses, se réalisent-elles dans cet organisme en état de jeûne quasi permanent ?

V) RAPPORT JEUNE- FONCTION DE REPRODUCTION : ELEMENTS DE REFLEXION

Certaines espèces inhibent leur reproduction durant le jeûne prolongé (*c.f.* Introduction IV. B. 2. c) ; alors que d'autres, pour lesquels le jeûne est naturel, comme le migrateur *Sylvia borin* (Bauchinger *et al.*, 2005) ou l'hibernant *Spermophilus citellus* (Miller *et al.*, 2008) s'y préparent de façon concomitante à la privation de nourriture.

Les *P. molurus* femelles, à l'instar de celles de nombreuses espèces d'Ectothermes (revu par Bonnet *et al.*, 1998), doivent vraisemblablement accumuler durant plusieurs années les ressources énergétiques dont elles auront besoin pour assurer la fabrication de leurs œufs et leur couvaion. Comment la répétition des jeûnes prolongés joue-t-elle sur cette mise en réserve ? La fréquence de la reproduction et la taille des pontes sont-elles liées à celles des repas ? Chez la Vipère aspic, *Vipera aspis*, ces paramètres sont majoritairement contrôlés par la température qui influe indirectement sur le niveau du risque de prédation auquel ces animaux sont soumis (Bonnet *et al.*, 2002).

Inversement les efforts alloués à la reproduction et aux soins parentaux ne peuvent-ils compromettre les capacités à se réalimenter ? Des mesures effectuées chez le Boa arc-en-ciel, *Epicrates cenchria maurus*, montrent que les femelles gravides sollicitent non seulement leurs réserves adipeuses mais catabolisent aussi leurs protéines corporelles occasionnant une perte de musculature, donc une diminution de leur force et de leur capacité de constriction (Lourdais *et al.*, 2004).

VI) *P. MOLURUS* : UN NOUVEAU MODELE D'ETUDE POUR LA BIOLOGIE CELLULAIRE ?

A) LES CELLULES INTESTINALES ASSOCIEES AU SPHEROIDES

1) Les sphéroïdes de *P. molurus*

A partir du stade digestif 1DPF, les régions proximale et médiane de l'intestin de nombreux animaux présentent des particules sphériques, ou sphéroïdes, engoncées dans la bordure en brosse. La nature phosphato-calcique de ces éléments, indiquée par nos données de coloration classique et de micro-analyse, nous permet de considérer qu'ils proviennent du

squelette de la proie ingérée. Celui-ci est alors totalement dissous dans l'estomac (Secor, 2003).

Les observations en MET ont mis en évidence qu'une cellule particulière, qui à notre connaissance n'a encore jamais été décrite, est associée à ses sphéroïdes. Les dispositions respectives de la cellule et du sphéroïde favoriseraient l'hypothèse d'une phagocytose de ces éléments à partir du chyme ; il est cependant difficile de concevoir que celle-ci soit réalisée par quelques rares cellules éparpillées dans l'épithélium : les particules auraient peu de chance d'être collectées par ce type cellulaire et d'y être phagocytées. Ces cellules pourraient aussi résulter de la transformation d'un entérocyte suite à la phagocytose. Comment expliquer alors l'absence de gouttelette lipidique intra-cytoplasmique et la présence de ces cellules à l'état à jeun ?

Le postulat subsidiaire est donc l'exocytose de ces particules dans le chyme depuis ces cellules. Les ions calcium et phosphore absorbés suite au repas seraient ainsi collectés par ces cellules depuis les entérocytes voisins ayant absorbés ces éléments en excès. Ces cellules pourraient alors agglomérer progressivement ces éléments engendrant ainsi les stries concentriques de croissance du sphéroïde. Enfin, ce dernier serait expulsé de la crypte apicale de la cellule et serait ainsi déversé directement dans la lumière intestinale. Ce mécanisme permettrait donc de neutraliser l'excès d'ions calcium et phosphore provenant de la proie.

2) Les sphérites des « Invertébrés » (Planche 63)

a) Description

Les sphérites sont des inclusions cytoplasmiques concentriques trouvées communément dans les cellules digestives d'espèces de taxons variés comme les Mollusques, les Crustacés, les Arachnides, les Opilions et les Insectes (revu par Delakorda *et al.*, 2008). Ils se retrouvent également dans des tissus excréteurs comme les tubes de Malpighi des Insectes (Gouranton, 1968) ou les cellules du manteau de certains Bivalves (Colvill et Lim, 2003). Leur taille est comprise entre 2 et 5 μm (Gouranton, 1968).

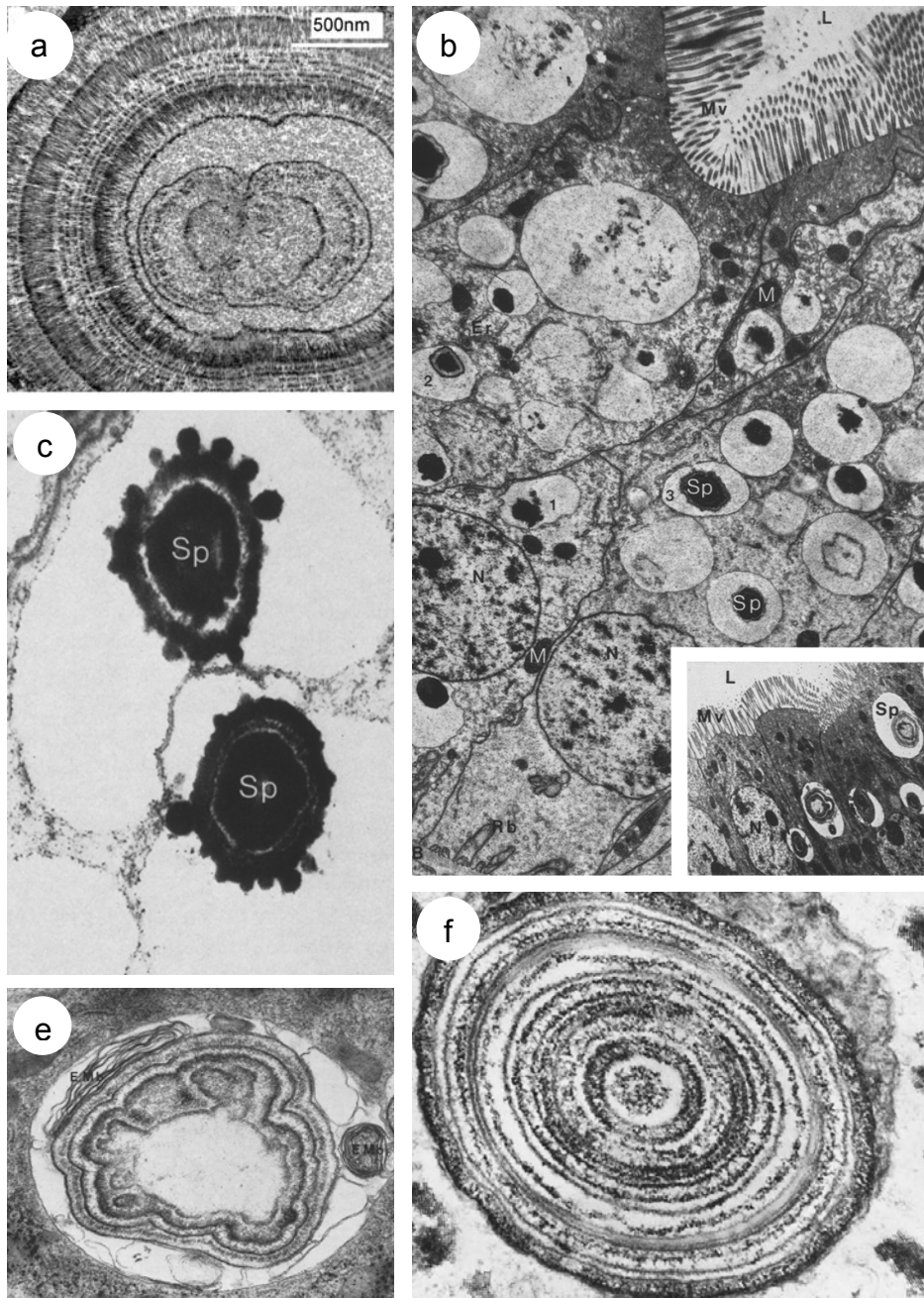


Planche 63 : a. Coupe ultra-fine de la glande digestive de l'Escargot *Chilostoma lefeburiana* (Mars). Extrait de Colville et Lim, 2003. b. Section transversale du mésentéron de *Pogonognathellus longicornis* (Insecte) adulte Extrait de Delakorda et al. 2008. Noter l'abondance de sphérocristaux dans la région supranucléaire. **B:** Basale; **L:** lumière; **M:** Mitochondries ; **Mv** : Microvillosités; **N:** Noyau; **Rb:** Replis basaux de la membrane plasmique; **Sp** :Sphérocristaux; **1, 2, 3** trois stades dans la genèse des sphérites. Grossissement $\times 6\ 300$. **Encart:** Section transversale du mésentéron de *Tomocerus minor* (Insecte) stade 1. Noter la taille des sphérocristaux. Grossissement $\times 3\ 500$. Extrait de Humbert, 1974. c. *Pogonognathellus longicornis* ; Croissance des sphérocristaux par adjonction de petites inclusions très denses aux électrons. Grossissement $\times 21\ 000$. Extrait de Humbert, 1974. d. Sphérites de *Tomocerus minor*. Sphérocrystal « agé » formé de la réunion de plusieurs nucléi entourés de couches concentriques communes. Noter la présence d'enroulements membranaires (**EMb**) Grossissement $\times 29\ 700$. Extrait de Humbert, 1974. e. Sphérites de *Philaenus spumarius* (Insecte) adulte. Notez les nombreuses couches opaques. Grossissement $\times 70\ 000$. Extrait de Gouranton, 1968.

b) composition Chimique

Les analyses des sphérites indiquent qu'ils sont composés de Ca, Mg, Si, P, S, K, Fe, Cu, Ba mais leur composition est variable en qualité et proportions (Gouranton, 1968 ; revues de Humbert, 1974 et de Delakorda *et al.*, 2008) à l'instar du Gastropode *Chilostoma lefeburiana* qui présente des combinaisons minérales corrélées à ses périodes d'activité saisonnières (Delakorda *et al.*, 2008).

c) Genèse

Les éléments minéraux sont incorporés dans les cellules par endocytose à partir du tractus digestif, transférés dans des lysosomes puis dans des corps résiduels. Ils sont ensuite accumulés sélectivement dans des cellules spécialisées (Delakorda *et al.*, 2008). Une autre modalité de synthèse a été mise en évidence chez les Collemboles (Humbert, 1974) où les sphérites se formeraient dans de petites citernes basales de l'appareil de Golgi, par condensation de sels originaires de l'hémolymphe.

d) Rôle

Les sphérites semblent jouer différents rôles suivant les taxons considérés. Chez les Arthropodes, ils semblent contribuer à la dureté de l'exosquelette alors que chez les Mollusques et les Crustacés, ils constitueraient des réserves de calcium pour la formation respectivement, de la coquille ou de la carapace. Chez de nombreuses espèces d'animaux dont des Insectes herbivores (Da Cruz-Landim et Serrão, 1997), des Crustacés (Guary et Negrel, 1981 ; Schill et Köhler, 2004) ou des Mollusques (Delakorda *et al.*, 2008), ces éléments assurent une fonction d'excrétion de substances toxiques ou non métabolisables.

e) Elimination

Chez les Insectes Homoptères, les sphérites sont éliminées par différentes modalités dont la plus efficace correspond au renouvellement de l'épithélium intestinal lors des mues. Des processus d'excrétion apocrine (une partie de cytoplasme chargé de sphérites est expulsé) et holocrine (évacuation de la cellule dégénérante) ont été mis en évidence.

3) Interprétation des sphéroïdes de *P. molurus*

Les sphéroïdes observés chez *P. molurus* comportent de nombreuses analogies avec les sphérites des taxons sus-nommés : leur taille d'une moyenne de 3,3 µm, leur aspect concentrique, une composition chimique approchante, le fait d'être produit par une cellule spécialisée et peut-être un mode de croissance par adjonction de petites inclusions. Cependant, ils diffèrent sur plusieurs points dont notamment le mode de libération. En effet, chez le Python molure, seule la particule apparaît relâchée dans la lumière et non tout ou partie de la cellule qui la contient. D'autre part, nous n'avons jamais observé plus d'un sphéroïde par cellule spécialisée et ceux-ci, n'apparaissent pas englobés dans une vésicule mais sont toujours à l'extérieur de la cellule, dans l'évagination bordée des microvillosités de la membrane apicale. Leur mode de synthèse et leur rôle restent par ailleurs à élucider ; cependant, nous proposons le scénario suivant :

- La digestion du squelette apporte des phosphates et du calcium en excès.
- Le calcium peut potentiellement perturber l'homéostasie du milieu intérieur et/ou causer des problèmes musculaires en modifiant le potentiel de membrane (Da Cruz-Landim et Serrão, 1997).
- Les cellules intestinales spécialisées récupèrent ces éléments à partir de la lumière, entérocytes, ou de la circulation générale (à déterminer).
- Ces minéraux sont agglomérés en sphéroïde, ce qui les neutralise.
- La concrétion est éliminée via la lumière du tractus digestif.

Dans ce contexte, les sphéroïdes constitueraient un mode d'excrétion, à nos connaissances pas encore décrit chez les Vertébrés, et qui serait équivalent à celui des sphérites répandu, chez les non-Vertébrés.

Pour vérifier le rôle excréteur de ces éléments, il serait intéressant d'étudier comment les autres espèces qui digèrent les os les éliminent, de vérifier si le Colubridé *Dasypeltis Scabra*, mangeur exclusif d'œufs non incubés ou bien *P. molurus* suite à un régime appauvri en Ca, présentent également des sphéroïdes, ou encore d'observer si des repas enrichis en polluants minéraux induisent un changement de composition des sphéroïdes.

Et enfin, pour tester un éventuel rôle de stockage, il serait intéressant de déterminer si les pythons juvéniles n'utilisent pas ces particules pour contribuer à leur croissance.

B) LES CELLULES DU CAECUM ET DU COLON

Les épithélia du caecum et du côlon comportent des cellules qui présentent des similarités avec des cellules riches en mitochondries (CRMs) telles qu'elles ont été répertoriées par Brown et Breton en 1996.

1) **Les cellules riches en mitochondries.**

Les cellules riches en mitochondries (CRMs), spécialisées dans la sécrétion de protons ou d'ions bicarbonates (Brown et Breton, 1996), ont été très étudiées à partir du canal collecteur des reins de Mammifères (Schachowa, 1876). Elles se retrouvent également dans d'autres tissus : le canal déférent et l'épididyme (Brown *et al.*, 1992), le tissu osseux (Baron *et al.*, 1990), le coprodeum de Poule (Eldrup *et al.*, 1980 ; Elbrøn *et al.*, 2004), la vessie (Schiefferdecker, 1881) et l'épiderme (Schultze, 1876) d'Amphibien, la vessie de Tortue (Durham et Nagel, 1986), les branchies de la Truite arc-en-ciel (Goss *et al.*, 2001), l'intestin moyen (Anderson et Harvey, 1966 ; Brown, 1978), les glandes salivaires et les tubes de Malpighi (Harvey *et al.*, 1983) de certains Insectes.

Au MET, les cellules riches en mitochondries sont caractérisées, entre autre, par **une abondance de mitochondries, des microvillosités apicales bien développées et des vésicules intracellulaires** (Brown et Breton, 1996 ; Madsen et Tisher, 1986) **similairement à ce qui est observé chez nos animaux.**

Ces cellules expriment une pompe à protons de type vacuolaire, ou H⁺V-ATPase, dans leurs vésicules intracellulaires mais également dans des domaines spécifiques de leur membrane plasmique (Brown *et al.*, 1988). La localisation fluctuante de cet enzyme entre ces deux compartiments permet de réguler les capacités de sécrétion de la cellule : les vésicules libèrent par exocytose les transporteurs séquestrés dans leur membrane, induisant un enrichissement de la membrane apicale en pompes à protons et par là même, un accroissement de la sécrétion de H⁺. Ce mécanisme est réversible par l'endocytose des transporteurs (Durham et Nagel, 1986 ; Brown, 1989 ; Bastani *et al.*, 1991, 1994). Le principe de ce dispositif (ajout ou retrait membranaires) rappelle celui des cellules oxyntopeptiques (ou pariétales) de l'estomac (*c.f.* Discussion II. A. 1.).

Dans les cellules riches en mitochondries du tégument des Amphibiens, la H⁺V-ATPase fournit l'énergie potentielle nécessaire au transport transépithélial de Na⁺ (Harvey, 1992) et le stade fonctionnel de ces cellules est régulé par l'aldostérone (Devuyst *et al.*, 1991) et les prostaglandines (Yorio *et al.*, 1991). Ce rôle dans le transport de Na⁺ se retrouverait dans le coprodeum de Poule, *Gallus gallus*, (Eldrup *et al.*, 1980 ; Elbrøn *et al.*, 2004) où la morphologie des cellules riches en mitochondries varie en fonction de la quantité de Na⁺ présente dans le repas (Eldrup *et al.*, 1980). L'épithélium de ce coprodeum est similaire à celui du côlon (Lavery *et al.*, 2001) qui est lui-même, en exceptant la présence de cryptes, proche de celui de *P. molurus*.

Les cellules riches en mitochondries de ces deux animaux présentent d'ailleurs d'autres similarités, en plus de celles communes aux CRMs : apicalement, une présence de corps multi-vésiculaires et latéralement des interdigitations cellulaires qui se complexifient vers la base des cellules. Ainsi, vraisemblablement les CRMs de *P. molurus* seraient impliquées dans des transports accrus d'ions dont la densité des transporteurs pourrait être contrôlée par des exo- et endocytoses *via* les endosomes et les corps multi-vésiculaires fréquemment observés dans ces cellules.

C) LES ENDOSOMES

1) **Les corps multi-vésiculaires (CMV)**

Les corps multi-vésiculaires (CMVs) sont des organelles acides endocytiques que l'on peut qualifier d'endosomes, caractérisés par de nombreuses vésicules intra-luminales (VILs) qui se forment par invagination de la membrane limitante (*e.g.* Babst, 2005 ; Hurley et Emr, 2006 ; Piper et Katzmann, 2007 ; Clague et Urbé, 2008 ; Woodman et Futter, 2008) et qui sont présents dans les cellules eucaryotes (Babst, 2005). Leur morphologie et leur composition varient suivant leur stade de maturation (Gruenberg et Stenmark, 2004) ; cependant ils contiennent des marqueurs comme Rab5 et LAMPs qui les distinguent d'autres compartiments munis de membranes internes comme les corps autophagiques et les lysosomes multilamellaires (Piper et Katzmann, 2007 ; Woodman et Futter, 2008).

La principale fonction des endosomes est de trier le matériel qui provient de la membrane plasmique pour l'orienter vers des processus de recyclage ou de dégradation lysosomale (Futter *et al.*, 1996 ; Bright *et al.*, 2005 ; Clague et Urbé, 2008 ; Woodman et

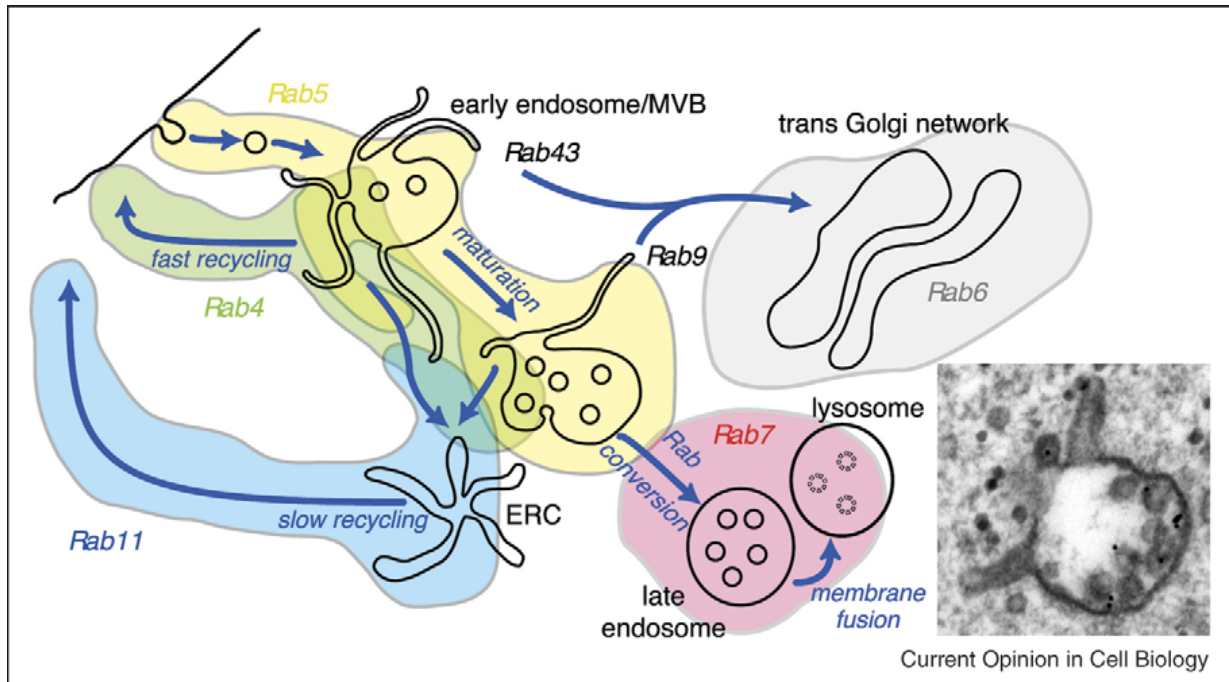


Planche 64: An overview of endosomal maturation. The early endosome/immature multivesicular endosome/body (MVB) consists of vacuoles and connecting tubules that carry recycling cargo. Overlapping pools of Rab GTPases confer functional and morphological properties to each domain. During maturation the vacuoles enlarge and increase their complement of internal vesicles whilst the amount of tubules diminishes. The final act during maturation is Rab conversion, at which point the endosome loses the ability to exchange material and becomes competent to fuse with the lysosome. The inset shows an example of an MVB 15 min after internalisation of EGF. The gold particles are conjugated to anti-EGFR. *D'après Woodman et Futter, 2008*

Futter, 2008). Différents types d'endosomes sont répertoriés suivant leur stade de maturation (Planche 64) :

Le CMV précoce est une structure composée de VILs et de domaines tubulaires (Woodman et Futter, 2008). Avec le temps, les protéines intra-membranaires « cargo » *i.e.* destinées à la dégradation se concentrent dans les VILs, alors que les protéines destinées au recyclage occupent les domaines tubulaires (Woodman et Futter, 2008). Les protéines retenues seront soit recyclées dans la face trans du réseau golgien ou la membrane plasmique, soit livrée à la membrane du lysosome (Yamashiro *et al.*, 1984 ; Babst, 2005). Parallèlement, le corps multi-vésiculaire se déplace depuis la périphérie vers le centre de la cellule.

Une fois distribué l'ensemble des protéines à recycler, cet élément devient un CMV mature compétent à fusionner avec un lysosome, qui peut être de type secondaire (Piper et Katzmann, 2007), où se réalise la dégradation effective des molécules-cargo. Cette interaction se produit soit par fusion directe (Futter *et al.*, 1996), soit par un mécanisme de « kiss and run » (Bright *et al.*, 2005). L'acquisition de la compétence à fusionner est marquée par la conversion de Rab5 en Rab7 (Rink *et al.*, 2005)

2) Comment s'opère le tri des molécules dans les CMVs ?

Les molécules à recycler ou à rétro-réguler sont endocytées, livrées à un endosome précoce et rapidement discriminées les unes des autres (Dunn *et al.*, 1989). La formation et le tri des protéines-cargo est un procédé extrêmement régulé. De nombreuses études indiquent que la mono-ubiquitination sert de signal pour diriger les protéines-cargo, l'ubiquitine étant un polypeptide hautement conservé de 76 amino-acides qui se lie de manière covalente avec son substrat (Katzmann *et al.*, 2002). Le traitement des protéines ubiquitinées dépend d'autres protéines (au moins 18) conservées depuis les Levures jusqu'aux Mammifères, appelées Vps de classe E (Vacuolar protein sorting) (revue de : Katzmann *et al.*, 2003 ; Gruenberg et Stenmark, 2004 ; Babst, 2005 ; Woodman et Futter, 2008).

Les Vps de classe E appartiennent à trois complexes protéiques séparés dénommés ESCRT-I, ESCRT-II et ESCRT-III (Endosomal Sorting Complex Required for Transport). Ces complexes sont transitoirement recrutés depuis le cytoplasme vers la membrane de l'endosome où ils agissent successivement, opérant à la fois le tri des protéines

transmembranaires et la formation des vésicules intra-luminales (Katzmann *et al.*, 2001 ; Babst *et al.*, 2002 ; Hurley et Emr, 2006 ; Hanson *et al.*, 2008 ; Hurley, 2008).

3) Quelles sont les fonctions des endosomes ?

- Homéostasie cellulaire

Les endosomes participent à l'homéostasie cellulaire en maintenant et ajustant la composition en protéines de la membrane plasmique (Katzmann *et al.*, 2002 ; Babst, 2005 ; Hurley et Emr, 2006).

- Modulation des signaux cellulaires :

Les corps multi-vésiculaires modulent les signaux cellulaires par rétro-régulation de récepteurs ou de leurs agonistes. Ainsi, le récepteur EGFR du facteur de croissance EGF, un peptide qui stimule les divisions cellulaires est soustrait de la surface cellulaire puis détruit par le biais des CMVs (Planche 65 a) (Gorden *et al.*, 1978 ; Haigler *et al.*, 1979 ; Miller *et al.*, 1986 ; Futter *et al.*, 1996). Un autre exemple est celui de l'activation de Notch, un récepteur qui intervient à différents niveaux dans la différenciation embryonnaire, par l'endocytose de son inhibiteur delta (Planche 65 b) (Deblandre *et al.*, 2001 ; Pavlopoulos *et al.*, 2001).

- Activation de la réponse immunitaire (Planche 65 c)

Dans les cellules dendritiques immatures, les complexes majeur histocompatibilité de classe II (CMHII) sont séquestrés dans les vésicules intra-luminales des CMVs. Une fois la cellule stimulée par l'antigène, ces vésicules fusionnent à la membrane limitante puis à la membrane plasmique permettant la présentation de l'antigène par les CMHII aux lymphocytes T naïfs (Kleijmeer *et al.*, 2001 ; Chow et Mellman, 2005). Cette stimulation peut également conduire à la fusion complète de la membrane limitante du CMV à la surface cellulaire induisant la libération des vésicules intra-luminales appelées alors exosomes. Ces derniers contiennent le CMHII et des facteurs de stimulation des lymphocytes T. Une large variété de cellules comme les neurones, les mastocytes, les cellules épithéliales, les cellules cancéreuses, les mélanocytes et les cellules de la lignée hématopoïétique sécrètent des exosomes (Zitvogel *et al.*, 1998 ; Van Niel *et al.*, 2006).

Quelles peuvent être les fonctions des corps multi-vésiculaires observés dans les cellules épithéliales de *P. molurus*? Et pourquoi sont-ils en si grand nombre? Ils réalisent vraisemblablement le tri et le recyclage de certaines protéines membranaires et en livrent d'autres aux lysosomes pour destruction. Ils pourraient également participer à la régulation de la signalétique membranaire ou encore moduler la densité de transporteurs en fonction des stades digestifs. En effet, il a été montré que certaines protéines-cargo de Mammifères sont des canaux à Na^+ , toutefois leur devenir n'est pas une rétro-régulation mais une destruction lysosomale. (Katzmann *et al.*, 2002). Cependant, il est tentant de corréliser l'abondance des corps multi-vésiculaires dans les cellules riches en mitochondries avec un contrôle de la densité des transporteurs d'ions, à l'image de ce qui se produit dans les autres cellules riches en mitochondries *via* des vésicules intra-cytoplasmiques apicales (*c.f.* A.1). Il est certain que cet aspect nécessite des études approfondies. Dans un contexte plus général, *P. molurus* pourrait d'ailleurs, faciliter l'étude de ces éléments qui engendrent actuellement un important effort au niveau de la recherche fondamentale appliquée au fonctionnement cellulaire de part leur abondance et leur accessibilité.

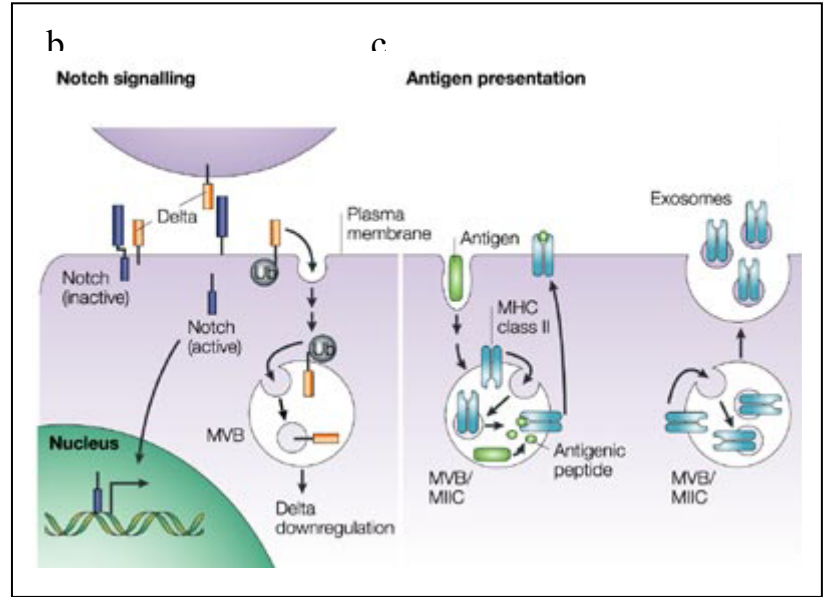
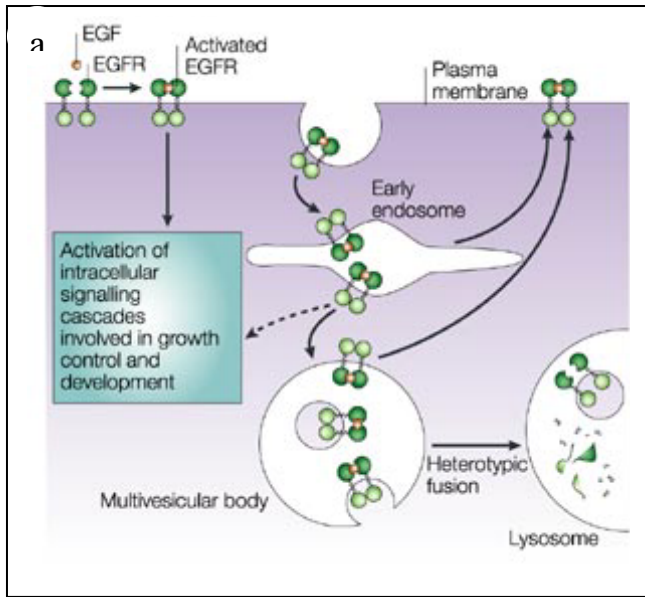


Planche 65: a: A schematic of vesicular transport between, plasma membrane and lysosomes/vacuoles. By coordinating protein traffic between these organelles, the endosomal system directs the trafficking of biosynthetic, endocytic and recycling cargoes. Activated receptors are sorted into the luminal vesicles of a multivesicular body (MVB), which results in their delivery to the lumen of the hydrolytic vacuole/lysosome. **EGF:** Epithelial growth factor; **EGFR:** Epithelial growth factor receptor. **b:** Multivesicular bodies in the regulation of Notch signalling; **c:** Activation of the immune response. D'après Katzmann *et al.*, 2002

Conclusions et Perspectives

Au terme de ce travail, nous avons montré que le Python de Birmanie constitue un excellent modèle de flexibilité phénotypique en regard des paramètres de jeûne et de réalimentation. Ses réponses intégrées et coordonnées dès réalimentation et au cours de la période postprandiale et ce à tous les niveaux de l'organisme organisent l'anticipation de la prochaine réalimentation et la sauvegarde énergétique assurant la pérennité de cette espèce.

Nos résultats rejoignent ceux relevés dans la littérature (masse, changements morphologiques et physiologiques). Ils affinent cependant, la perception des mécanismes qui régissent la plasticité intestinale de *P. molurus* (e.g. hyperplasie versus hypertrophie) et enrichissent nos connaissances sur la dynamique fonctionnelle de l'estomac et du colon et ce, à différentes échelles d'étude.

Il reste néanmoins de multiples aspects à approfondir ou à élucider pour parfaire notre compréhension de la cinétique et de la régulation des événements consécutifs à la réalimentation.

- 1) Vérifier si l'apport de fluides participe à l'augmentation de la croissance intestinale et les mécanismes par lesquels ils agissent le cas échéant.** L'étude de la cinétique de « pompes à eau » de type aquaporine par marquage ou quantification d'expression permettrait sans doute d'y concourir.
- 2) Déterminer l'impact du régime alimentaire et notamment de la richesse en lipides des proies sur la thermogénèse post-prandiale,** par des méthodes de calorimétrie ou par des mesures directes de température via, par exemple, l'utilisation de capteurs internes de type « i-buttons » et/ou d'une caméra thermique comme cela a déjà effectué chez le Crotale *Crotalus durissus* (Tattersall *et al.*, 2004).
- 3) Quantifier l'apoptose au cours de la période post-prandiale** pour confirmer que les procédés de multiplications cellulaires s'inscrivent bien dans une stratégie de renouvellement et non d'hyperplasie du tissu.

- 4) **Analyser la structure épithéliale colique et mesurer son taux de réplication à des stades digestifs éloignés et après un jeûne bien plus prolongé** pour vérifier l'hypothèse d'un retour tardif à la « quiescence » qui maximiserait l'absorption.

- 5) **Explorer les compromis énergétiques et temporels entre jeûne, croissance et reproduction.**

P. molurus en tant que modèle de flexibilité phénotypique a suscité des recherches sur d'autres Ophidiens et « Reptiles » (Secor et Diamond, 1999 ; Starck, 1999 ; Secor 2000, 2005 ; Großmann et Starck, 2006 ; Ott et Secor, 2006 ; Christel *et al*, 2007 ; Starck *et al.*, 2007) dans le but de comprendre si ses dispositifs adaptatifs sont hérités de caractères ancestraux ou acquis secondairement pour faire face aux fluctuations environnementales. Des études comparatives de physiologie digestive de Serpents terricoles, fouisseurs, arboricoles ou liés phylogénétiquement permettraient sans doute d'apporter des éléments de réponse. Ces comparaisons seraient d'autant plus aisées que tous les Ophidiens sont des carnivores, ce qui diminue les biais expérimentaux corrélés au régime alimentaire.

Pour l'heure actuelle, les données publiées montrent que ces processus sont assez répandus dans le spectre des espèces étudiées, bien qu'ils n'atteignent pas l'amplitude relevée chez *P. molurus* ; leur origine est cependant encore débattue à ce jour.

Notre étude a mis en lumière que *P. molurus* est également remarquable pour ces particularités cellulaires en raison desquelles il pourrait constituer un nouveau modèle d'étude de biologie cellulaire.

La richesse des cellules épithéliales en corps multi-vésiculaires, notamment au niveau du caecum et du colon, permettrait un accès facilité à ces organelles ordinairement qualifiés de rares. Ce domaine d'étude est actuellement en plein essor et de nombreuses avancées ont déjà été obtenues (étape de maturation des endosomes, fonction, tri et transfert des molécules), mais ce, essentiellement à partir de cellules de Levures et de Mammifères et souvent dans des conditions pathologiques. L'étude de ces compartiments cellulaires chez *P. molurus* apporterait un comparatif supplémentaire et conduirait sans doute à affiner les données actuelles et ce à partir d'un organisme « intermédiaire » phylogénétiquement. Ces

épithélia contiennent aussi en grand nombre, des cellules riches en mitochondries dont le rôle est supputé mais non établi. Là encore, leur étude à partir de *P. molurus* pourrait conduire à enrichir la conception actuelle de ces structures.

Enfin, la découverte des sphéroïdes et des cellules qui leur sont associées entraîne la formulation de nombreuses hypothèses qu'il faut vérifier : Quelle en est l'origine ? Comment sont-ils produits ? Quel est leur rôle ? Différentes expérimentations sont envisageables pour répondre à ses interrogations et consignées dans le tableau ci-dessous :

Détermination de l'origine	Détermination des modalités de production	Détermination de la fonction
<ul style="list-style-type: none"> • Repas consistant en une proie désossée. La présence de particules indiquera que leur origine n'est pas le squelette • Repas effectué avec une proie dont le squelette est marquée. Le marquage des particules confirmera l'origine osseuse de ces éléments 	<ul style="list-style-type: none"> • Repas consistant en une proie désossée mais contenant l'équivalent en Ca et P du squelette sous forme soluble. La présence de sphéroïdes indiquera qu'ils proviennent bien d'une métabolisation et non d'une dégradation des os. • Etude des enzymes, des agents de régulation potentiellement impliqués 	<ul style="list-style-type: none"> • Repas enrichi excessivement en minéraux autres que Ca et P. Le rôle excréteur de ces particules sera testé par la variation de la composition des sphéroïdes corrélativement à l'enrichissement en minéraux du repas. • Recherche de ces éléments chez d'autres espèces d'Ophidiens appartenant à d'autres niches écologiques (arboricoles, fousseurs, aquatiques), d'autres Ectothermes et chez le Gypaète barbu, rapace connu pour digérer les os. • Mesure de la corrélation éventuelle entre production de sphéroïdes, stade de maturité et sexe de l'individu, pour tester une contribution de ces particules à la croissance du squelette ou à l'élaboration des coquilles d'oeufs.

Références bibliographiques

A

Ahima, R.S., Prabakaran, D., Mantzoros, C., Qu, D., Lowell, B., Maratos-flier, E., Flier, J.S. 1996. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. **382**, 250-252.

Ahima, R.S., Flier, J.S. 2000. Leptin and the neuroendocrinology of fasting. *Front. Horm. Res.* **26**, 42-56.

Aldewachi, H.S., Wright, N.A. Appleton, D.R., Watson, A.J. 1975. The effect of starvation and refeeding on cell population kinetics in the rat small bowel mucosa. *J. Anat.* **119**, 105-121.

Altmann, G.G. 1972. Influence of starvation and refeeding on mucosal size and epithelial renewal in the rat small intestine. *Am.J. Anat.* **133**, 391-400.

Andersen, J.B., Rourke, B.C., Caiozzo, V.J., Bennett, A.F., Hicks, J.W. 2005. Postprandial cardiac hypertrophy in pythons. *Nature*. **434**, 37-38.

Anderson, E., Harvey, W. R. 1966. Active transport by the *Cecropia* midgut. II. Fine structure of the midgut epithelium. *J. Cell Biol.* **31**, 107-134.

Andrade, D.V., Toledo, L.F., Abe, A.S., Wang, T. 2004. Ventilatory compensation of the alkaline tide during digestion in the snake *Boa constrictor*. **207**, *J. Exp. Biol.* 1379-1385.

Andrew, W. 1959. Textbook of comparative histology. 1ère edition, New York: Oxford University Press.

Apesteguia, S., Zaher, H. 2006. A Cretaceous terrestrial snake with robust hindlimbs and a sacrum. *Nature* **440**, 1037-1040.

Astarita, G., Rourke, B.C., Andersen, J.B., Fu, J., Kim, J.H., Bennett, A.F., Hicks, J.W., Piomelli, D. 2006. Postprandial increase of oleoylethanolamide mobilization in small intestine of the Burmese python (*Python molurus*). *Am. J. Physiol. Regulatory. Integrative. Comp. Physiol.* **290**(5), R1407-14012.

B

Babst, M. 2005. A protein's final ESCRT. *Traffic* **6**, 2-9.

Babst, M., Katzmann, D.J., Espeta-Sabal, E.J., Meerloo, T., Emr, S.D. 2002. ESCRT-III: an endosome associated heterooligomeric protein complex required for MVB sorting. *Dev. Cell* **3**, 271-282.

Balslev-Clausen, A., McCarthy, J.M., Carey, H.V. 2002. Hibernation reduces pancreatic amylase levels in ground squirrels. *Comp. Biochem. Physiol. A* **134**, 573-578.

Barboza, P.S., Farley, S.D., Robbins, C.T. 1997. Whole-body urea cycling turnover during hyperphagia and dormancy in Growing bear (*Ursus americanus* and *U. arctos*). *Can. J. Zool.* **75**, 2129-2136.

Baron, R., Neff, L., Brown, W., Louvard, D., Courtoy, P. J. 1990. Selective internalization of the apical plasma membrane and rapid redistribution of lysosomal enzymes and mannose 6-phosphate receptors during osteoclast inactivation by calcitonin. *J. Cell Sci.* **97**, 439-447.

Barton, B.A., Schreck, C.B. 1988. Fasting and diet content affect stress-induced changes in plasma glucose and cortisol in juvenile chinook salmon. *Prog Fish-Cult.* **50**, 16-22.

Bastani, B., Ross, F.P., Kopito, R.R., Gluck, S.L. 1996. Immunocytochemical localization of the vacuolar H⁺-ATPase and Cl⁻-HCO₃⁻ anion exchanger (Erythrocyte Band-3 Protein) in avian osteoclasts: Effect of calcium-deficient diet on polar expression of the H⁺-ATPase pump. *Calcif. Tissue. Int.* **58**, 332-336.

Bastani, B., McEnaney, S., Yang, L., D., Gluck, S. 1994. Adaptation of inner medullary collecting duct vacuolar H-adenosine triphosphatase to chronic acid and alkali loads in the rat. *Exp. Nephrol.* **2**, 171-175.

Bastani, B., Purcell, H., Hemken, P., Trigg, D., Gluck, S. 1991. Expression and distribution of renal vacuolar protontranslocating adenosine triphosphatase in response to chronic acid and alkali loads in the rat. *J. Clin. Invest.* **88**, 126-136.

Bauchinger, U., Wohlmann, A., Biebach, H. 2005. Flexible remodeling of organ size during spring migration of the garden warbler (*Sylvia borin*). *Zool.* **108**, 97-106.

Bauchot, R., Bon, C., David, P., Fourcade, P., Gasc, J-P., Gravier, L., Heuclin, D., Matz, G., Naulleau, G., Platel, R., Rage, J-C., Saint Girons, H., Saint Girons, M.C., Vasse, Y. 1994. Les serpents. *Encyclopédie visuelle Bordas*.

Baumann, O., Lautenschläger, B., Takeyasu, K. 1994. Immunolocalization of Na,K-ATPase in blowfly photoreceptor cells. *Cell Tissue Res.* **275(2)**, 225-234.

Baumann, O., Takeyasu, K. 1993. Polarized distribution of Na,K-ATPase in honeybee photoreceptors is maintained by interaction with glial cells. *J. Cell Sci.*, **105(2)** 287-301,

Beaumont, A., Cassier, P. 1987. *Biologie animale: les cordés, anatomie comparée des Vertébrés*. Dunod Université

Beaumont, A., Truchot, J.-P., Du Pasquier, L. 1995. Respiration- Circulation- Système immunitaire. *Dunod*.

Bélangier, F., Blier, P.U., Dutil, J.-D. 2002. Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiol. Biochem.* **26(2)**, 121-128.

Belkhou, R., Cherel, Y., Heitz, A., Robin, J.-P., Le Maho, Y. 1991. Energy contributions of proteins and lipids during prolonged fasting in the rat. *Nutrition research* **11**, 365-374.

Bertille, F. 2003. Thèse : Mécanismes de régulation de la balance et des réserves énergétiques chez le rat: Rôle de la leptine lors du jeûne et de la réalimentation. Université Louis Pasteur Strasbourg. 299 pp.

Bjornvad, C.R., Elnif, J., Sangild, P.T. 2004. Short-term fasting induces intra-hepatic lipid accumulation and decreases intestinal mass without reduced brush-border enzyme activity in mink (*Mustela vison*) small intestine. *J. Comp. Physiol. B.* **174**, 625-632.

Blikslager, A.T, Roberts, M.C. 1997. Mechanisms of intestinal mucosal repair. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **211**, 1437-1441.

Bonnet, X., Lourdais, O., Shine, R., , Naulleau, G. 2002. Reproduction in snakes (*Vipera aspis*): Costs, currencies, and complications. *Ecology* **83**, 2124-2135.

Bonnet, X., Bradshaw, D., Shine, R. 1998. Capital versus income breeding: an ectothermic perspective. *Oikos* **83(2)**, 333-342.

Boza, J.J., Moennoz, D., Vuichoud, J., Jarret, A.R., Gaudard-de- Weck, D., Frischte, R., Donnet, A., Schiffrin, E.J., Perruisseau, G., Ballevre, O. 1999. Deprivation and refeeding influence growth, nutrient retention and fonctionnal recovery of rats. *J. Nutr.* **129(7)**, 1340-1346.

Brett, J.R. 1995. Energetics. In physiological ecology of Pacific salmon, ed. C Groot, L Margolis, WC Clarke, pp **1-68**. Vancouver: UBC Press.

Bright, N.A., Gratian, M.J., Luzio, J.P. 2005. Endocytic delivery to lysosomes mediated by concurrent fusion end kissing events in living cells. *Curr. Biol.* **15**, 360-365.

Brody, S., 1945. Bioenergetics and Growth. Reinhold, New York.

Brower, L. P. 1996. Monarch butterfly orientation: missing pieces of a magnificent puzzle. *J. Exp. Biol.* **199**, 93-103.

- Brower, L. P., Fink, L. S., Walford, P.** 2006. Fueling the fall migration of the monarch butterfly. *Int. Comp. Biol.* **46(6)**, 1123-1142.
- Brown, D.** 1978. Freeze–fracture of *Xenopus laevis* kidney: rodshaped particles in the canalicular membrane of collecting tubule flask cells. *J. Ultrastruct. Res.* **63**, 35–40.
- Brown, D.** 1989. Membrane recycling and epithelial cell function. *Am. J. Physio.* **256**, F1-F12.
- Brown, D., Breton, S.** 1996. Mitochondria-rich, proton-secreting epithelial cells. *J. Exp. Biol.* **199**, 2345-2358.
- Brown, D., Hirsch, S., Gluck, S.** 1988. An H⁺ATPase is present in opposite plasma membrane domains in subpopulations of kidney epithelial cells. *Nature* **331**,622-624.
- Brown, D., Lui, B., Gluck, S., Sabolic, I.** 1992. A plasma membrane proton ATPase in specialized cells of rat epididymis. *Am. J. Physiol.* **263**, C913–C916.
- Brown, C.R. and Cameron, J.N.** 1991a. The induction of specific dynamic action in channel catfish by infusion of essential amino-acid. *Physiol. Zool.* **64**. 276-297.
- Brown, C.R. and Cameron, J.N.** 1991b. The relationship between specific dynamic action (SDA) and protein-synthesis rates in the channel catfish. *Physiol. Zool.* **64**, 298-309.
- Brown, H.O., Levine, L.M., Lipkin, M.** 1963. Inhibition of intestinal epithelial cell renewal and migration induced by starvation. *Am. J. Physiol.* **205(5)**, 868-872.
- Brown, R.P., Griffin, S.** 2005. Lower selected body temperatures after food deprivation in the lizard *Anolis Carolinensis*. *J. Thermal Biol.* **24**, 79-83.
- Busk, M., Jensen, F.B., Wang, T.** 2000a. The effects of feeding on arterial blood gases, acid-base parameters and selected metabolites in the bullfrog *Rana catesbeina*. *Am. J. Physiol.* **278**, R185-R195.

Busk, M., Overgaard, J., Hicks, J.W., Bennett, A.F., Wang, T. 2000b. Effects of feeding on arterial blood gases in the American Alligator, *Alligator mississippiensis*. *J. Exp. Physiol.* **203**, 2437-2445.

Buts, J.P., Vijverman, V., Barudi, C., De Keyser, N., Maldague, P., Dive, C. 1990. Refeeding after starvation in the rat: comparative effects of lipids, proteins and carbohydrates on jejunal and ileal mucosal adaptation. *Eur. J. Clin. Invest.* **20**, 441-452.

C

Cahill, G.F. 1970. Starvation in man. *New Engl. J. Med.* **282**, 668-675 ;

Callow, J.A., Osborne, M.P., Callow, M.E., Baker, F., Donald, A.M. 2003. Use of environmental scanning electron microscopy to image the spore adhesive of the marine alga *Enteromorpha* in its natural hydrated state. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **27**, 315-321.

Campbell, N.A., 1993. Biologie, Adaptation et révision scientifique de Richard Mathieu. *De Boeck Université*.

Campfield, L.A., Smith, J.F., Burn, P. 1996. The ob protein (leptin) pathway- A link between adipose tissue mass and central neural networks. *Horm. Metab. Res.* **28**, 619-632.

Canjani, C., Andrade, D.V., Cruz-Neto, A.P., Abe, A.S. 2002. Aerobic metabolism during predation by a boid snake. *Comp. Biochem. and Physiol. Part A.* **133**, 487-498.

Carey, H.V. 1990. Seasonal changes in mucosal structure and function in ground squirrel intestine. *Am. J. Physiol. Regulatory. Integrative. Comp. Physiol.* **259**, 385-392.

Carey, H.V., Sills, N.S. 1996. Hibernation enhances D-glucose uptake by intestinal brush-border membrane vesicles in ground squirrels. *J. Comp. Physiol. B.* **166**, 254-261.

Challet, E., Le Maho, Y., Robin, J.-P., Malan, A., Cherel, Y. 1995. Involvement of corticosterone in the fasting-induced rise in protein utilization and locomotor activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **50**, 405-412.

Chapron, C. 1999. Principes de Zoologie. Structure-Fonction et Evolution. *Sciences Sup. Dunod.*

Cherel, Y., Burnol, A.F., Leturque, A., Le Maho, Y. 1988a. In vivo glucose utilization in rat tissues during the three phases of starvation. *Metabolism.* **37**, 1033-1039.

Cherel, Y., Robin, J.-P., Le Maho, Y. 1988b. Physiology and biochemistry of long-term fasting in birds. *Can. J. Zool.* **66**. 159-166.

Cherel, Y., Robin, J.P., Walch, O., Karmann, H., Netchitailo, P., Le Maho, Y. 1988c. Fasting in king penguin. I. Hormonal and metabolic changes during breeding. *Am. J. Physiol.* **254R**, 170–R177.

Cherel, Y., Le Maho, Y. 1991. Refeeding after the late increase in nitrogen excretion during prolonged fasting in the rat. *Physiol. Behav.* **50**. 345-349.

Cherel, Y., Robin, J.-P., Heitz, A., Calcari, C., Le Maho, Y. 1992. Relationship between lipid availability and protein utilization during prolonged fasting. *J. Comp. Physiol. B* **162**, 305-313.

Cherel, Y., Gilles, J., Handrich, Y., Le Maho, Y. 1994. Nutrients reserve dynamics and energetics during long-term fasting in the king penguins (*Aptenodytes Patagonia*). *J. Zool. Lond.* **234**, 1-12.

Cherel, Y., El Omari, B., Le Maho, Y., Saboureau, M. 1995. Protein and lipid utilization during fasting with shallow and deep hypothermia in the European Hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *J. Comp. Physiol. B* **164**, 653-658.

Chow, A.Y., Mellman, I. 2005. Old lysosomes, new tricks: MHC II dynamics in DCs. *Trends Immunol.* **26**, 72–78

Christel, C.M., DeNardo, D.F., Secor, S.M. 2007. Metabolic and digestive response to food ingestion in a binge-feeding lizard, the Gila monster (*Heloderma suspectum*). *J. Exp. Biol.* **210**, 3430- 3439.

Clague, M.J., Urbé, S. 2008. Multivesicular bodies. *Curr. Biol.* **18**, R402.

Coborn, J. 1991. The Atlas of Snakes of the World. NJ: T.F.H. Publications.

Collins, S.P., Pope, R.K., Scheetz, R.W., Ray, R.I., Wagner, P.A., Little, B.J. 1993. Advantages of environmental scanning electron microscopy in studies of microorganisms. *Microsc. Res. Techn.* **25**, 398-405.

Colville, A. E., Lim, R. P. 2003. Microscopic structure of the mantle and palps in the freshwater mussels *Velesunio ambiguus* and *Hyridella depressa* (Bivalvia: Hyriidae). *Molluscan Res.* **23**, 1–20.

Congdon, J.D., Dunham, A.E., Tinkle, D.W. 1982. Energy budgets and life histories of reptiles, in Biology of the reptilia. *Academic Press.* **13**.

Cramp, R.L., Franklin, C.E. 2003. Is re-feeding efficiency compromised by prolonged starvation during aestivation in the green striped burrowing frog, *Cyclorana alboguttata*? *J. Exp. Zool.* **300A**, 126-132.

Cramp, R.L., Franklin, C.E. 2005. Arousal and re-feeding rapidly restores digestive tract morphology following aestivation in green-striped burrowing frogs. *Comp. Biochem. Physiol.* Part A. **142**, 451-460.

D

Da Cruz-Landim, C., Serrão, J. E. 1997. Ultrastructure and histochemistry of the mineral concretions in the midgut of bees (Hymenoptera: Apidae). *Nether. J. Zool.* **47**, 21–29.

David, P., Barons, R. 1994. The catalytic cycle of the vacuolar H⁺-ATPase. Comparison of the proton transport in kidney and osteoclast-derived vesicles. *J. Bio. Chem.* **269**, 30158-30163.

Deblandre, G.A., Lai, E.C., Kintner, C., Rubin, G.M. 2001. *Xenopus* neuralized is an ubiquitin ligase that interacts with Xdelta 1 and regulates Notch signaling. *Dev. Cell* **1**, 795-806.

De Groot, J.H., Van der Sluijs, I., Snelderwaard, P.C., Van Leeuwen, J.L. 2004. A three-dimensional analysis of tongue flicking in *Python molurus*. *J. Exp. Biol.* **207**, 827-839.

Delakorda, S.L., Letofsky-Papst, I., Novak, T., Giovannelli, M., Hofer, F., Pabst, M.A. 2008. Application of elemental microanalysis to elucidate the role of spherites in the digestive gland of the helioid snail *Chilostoma lefeburiana*. *J Microsc.* **231(1)** ,38-46.

Devuyst, O., Beaujean, V. Crabbé, J. 1991. Aldosterone and chloride conductance of amphibian skin. *Biochim. biophys. Acta.* **1066**, 268–270.

Diamond, J.M., Karasov, W.H., Cary, C., Enders, D., Yung, R. 1984. Effect of dietary carbohydrate on monosaccharide uptake by mouse small intestine in vitro. *J. Physiol.* **349**, 419- 440.

Dou, Y., Gregersen, S., Zhao, J., Zhuang, F., Gregersen, H. 2002. Morphometric and biomechanical intestinal remodeling induced by fasting in rats. *Dig. Dis. Sci.* **47**, 1158- 1168.

Duman, J. G., Pathak, N. J., Ladinsky, M. S., McDonald, K. L., Forte, J. G. 2002a. Three-dimensional reconstruction of cytoplasmic membrane networks in parietal cells. *J. Cell Sci.* **115**, 1251-1258.

Duman, J.G, Singh, G., Lee, G.Y., Machen, T.E., Forte, J.G. 2002b. Ca^{2+} and $\text{Mg}^{2+}/\text{ATP}$ independently trigger homotypic membrane fusion in gastric secretory membranes. *Traffic*, **3**, 203–217.

Dunel-Erb, S., Chevalier, C., Laurent, P., Bach, A., Decrock, F., Le Maho, Y. 2001. Restoration of the jejunal mucosa in rats refed after prolonged fasting. *Comp. Biochem. Physiol. A* **129**, 933-947.

Dunn, K.W., McGraw, T.E., Maxfield, F.R. 1989. Iterative fractionation of recycling receptors from lysosomally destined ligands in an early sorting endosome. *J. Cell Biol.* **109**, 3303-3314.

Durham, J.H., Nagel, W. 1986. Evidence for separate cellular origins of sodium and acid-base transport in the turtle bladder. *Am. J. Physiol.* **250**, C609-C616.

E

Eckert, R., Randall, D., Burggren, W., French, K. 1999. *Physiologie animale: Mécanismes et adaptations*. Traduction de la 4ème édition américaine par François math. *DeBoeck Université*.

Elbrøn, V.S., Jones, C.J.P., Skadhauge, E. 2004. Localization, morphology and function of the mitochondria rich-cells in relation to transepithelial Na^{+} -transport in chicken lower intestine (coprodeum). *Comp. Biochem. Physiol A* **137**, 683-696.

Eldrup, E., Møllgaard, K., Bindsvlev, N. 1980. Possible epithelial sodium channels visualized by freeze-fracture. *Biochim. Acta.* **596**, 152-157.

Elmes, M.E. 1977. Apoptosis in the small intestine of zinc-deficient and fasted rats. *J. Pathol.* **123**, 219-223.

F

Ferlaux, C. 2001. Thèse vétérinaire N°066 : Traitement des oiseaux mazoutés de la marée noire de l'Erika au centre de soin de l'école nationale vétérinaire de Nantes. Ecole vétérinaire de Nantes.

Ferraris, R.P., Lee, P.P., Diamond, J.M. 1989. Origin of regional and species differences in intestinal glucose uptakes. *Am. J. Physiol.* **257**, G689-697.

Ferraris, R.P., Carey, H.V. 2000. Intestinal transport during fasting and malnutrition. *Ann. Rev. Nutr.* **20**, 195-219.

Ferri, S., Medeiros, L.O., Stipp, A.C.M. 1974. Gastric wall histological analysis and cellular types distribution in *Xenodon merremii* Wagler, 1824 (Ophidia). *Gegenbaurs. Morph. Jahrb.* **120**, 627-637.

Ferri, S., Gremski, W., Stipp A. C. M., Medeiros, L. O. 1974. Ultrastructure of the gastric epithelial cells of *Xenodon merremii* Wagler, 1824 (Ophidia). *Gegenbaurs. Morph. Jarhb.* **120**, 905-916.

Forte, J. G., Black, J. A., Forte, T. M., Machen, T. E., Wolosin, J. M. 1981. Ultrastructural changes related to functional activity in gastric oxyntic cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* **241**, G349-G358.

Forte, J. G., Ly, B., Rong, Q., Ogihara, S., Ramilo, M., Agnew, B., Yao X. 1998. State of actin in gastric parietal cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **274**, C97-C104.

Foster, G.D., Moon, T.W. 1991. Hypometabolism with fasting in the yellow perch (*Perce Flavescens*): a study of enzyme hepatocyte metabolism, and tissue size. *Physiol. Zool.* **64**, 259-275.

French, C.J., Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. 1983. Metabolic organization of liver during spawning migration of sockeye salmon. *Am. J. Physiol.* **245**, R827-830.

Friedman, M. H. 1986. Principles of biological transport. *Springler Verlag*.

Fuery, C. J., Withers, P. C., Hobbs, A. A., Guppy, M. 1998. The role of protein synthesis during metabolic depression in the Australian desert frog, *Neobatrachus centralis*. *Comp. Biochem. Physiol.* **119A**, 469-476.

Futter, C.E., Pearse, A., Hewlett, L.J., Hopkins, C.R. 1996. Multivesicular endosomes containing internalized EGF-EGF receptor complexes mature and then fuse with lysosomes. *J. Cell Biol.* **132**, 1011-1023.

G

Garcia-Rodriguez, T., Ferrer, M., Carrillo, J. C., Castroviejo, J. 1986. Metabolic responses of *Buteo buteo* to long term fasting and refeeding. *Comp. Biochem. Physiol. A.* **87(A)**, 381-387.

Galledo-Huidobro, J., Pastor, L.M. 1996. Histology of the mucosa of the oesophagogastric junction and the stomach in the adult *Rana perezii*. *J. Anat.* **188**, 439-444.

Galluser, M., Raul, F., Canguilhem, B. 1988. Adaptation of intestinal enzymes to seasonal and dietary changes in a hibernator: the European hamster (*Cricetus cricetus*). *J. Comp. Physiol. (B)* **158(2)**, 143-149.

Gannes, L.Z. 2002. Mass change pattern of blackcaps refueling during spring migration : evidence for physiological limitations to food assimilation. *Condor* **104**, 231-239.

Garnett, E.S., Barnard, D. L., Ford, J., Goodbody, R. A., Woodehouse, M. A. 1969. Gross fragmentation of cardiac myofibrils after therapeutic starvation for obesity. *Lancet* **1**, 914-916.

Gartner, L.P., Hiatt, J.L. 1997. Atlas en couleur d'histologie. *Editions Pradel, 2^e édition française.*

Gas, N., Noailliac-Depeyre, J. 1976. Studies on intestinal epithelium involution during prolonged fasting. *J. Ultrastruc. Research.* **56**, 137-151.

Geiger, S. 2004. Thèse vétérinaire: Modification de la muqueuse du jejunum au cours du jeûne chez l'Oiseau. Etude expérimentale chez le Canard colvert et la Buse variable. Ecole vétérinaire de Nantes.

Gilles, R., Anctil, M., Baguet, F., Charmantier, G., Charmantier, M., Gilles, R. Jr., Péqueux, A., Plumier, J.-C., Sébert, P. 2006. Physiologie animale. *De Boeck.*

Ginsburg, L. 1970. Les Reptiles fossiles. Dans *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie. Tome XIV (fascicule II): Reptiles, Caractères généraux et Anatomie.* Grassé, P.-P. *Masson et Cie Editeurs.* 1161-1188.

Giraud, A. S., Yeomans, N. D., St. John, D. J. B. 1979. Ultrastructure and cytochemistry of the gastric mucosa of a reptile, *Tiliqua scincoides*. *Cell Tissue Res.* **197(2)**, 281-294.

Gist, D.H. 1972. The effects of starvation and refeeding on carbohydrate and lipid reserves of *Anolis carolinensis*. *Comp. Biochem. Physiol.* **43A**, 771-780.

Gleeson, M.H., Cullen, J., Dowling, R.H. 1972. Intestinal structure and function after small bowel by-pass in the rat. *Clin. Sci.* **43**, 731-742.

Goodlad, R.A., Kirchgessner, A.L., Wade, P.R. 1998. Epithelial cell proliferation and intestinal absorptive function during starvation and refeeding in the rat. *Clin. Sci.* **74**, 301-306.

Goodman, M. N., Larsen, P. R., Kaplan, M. M., Aoki, T. T., Vernon, R. Y., Ruderman, N.B. 1980. Starvation in the rat. II. Effect of age and obesity on protein sparing and fuel metabolism. *Am. J. Physiol.* **239**, E277-E286.

Goodman, M. N., Lowell, B., Belur, E., Ruderman, N.B. 1984. Sites of protein conservation and loss during starvation: influence of adiposity *Am. J. Physiol.* **246**, E383-E390.

Gorden, P., Carpentier, J.L., Cohen, S., Orci, L. 1978. Epidermal growth factor : morphological demonstration of binding, internalization, and lysosomal association in human fibroblast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**, 5025-5029.

Goss, G.G., Adamia, S., Galvez, F. 2001. Peanut lectin binds to a subpopulation of mitochondria-rich cells in the rainbow trout gill epithelium. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* **281**, 1718-1725.

Gouranton, J. 1968. Composition, structure, et mode de formation des concrétions minérales dans l'intestin moyen des Homoptères Cercopides. *J. Biol.* **37(2)**, 316-328.

Grably, S., Piery, Y. 1981. Weight and tissue changes in long-term starved frogs, *Rana esculenta*. *Comp. Biochem. Physiol.* **69A**, 683-688.

Grace, M.S., Church, D.R., Kelly, C.T., Lynn, W.F., Cooper, T.M. 1999. The *Python* pit organ: imaging and immunocytochemical analysis of an extremely sensitive natural infrared detector. *Biosns. Bioelectr.* **14**, 53-59.

Grace, M.S., Woodward, O.M., Church, D.R., Calisch, G. 2001. Prey targeting by the infrared- imaging snake *Python*: effects of experimental and congenital visual deprivation. *Behav. Brain Res.* **119**, 23-31.

Greene, H.W. 1997. Snakes. The evolution of mystery in nature. *University of California Press*.

Groscolas, R., Robin, J.-P. 2001. Long-term fasting and re-feeding in penguins. *Comp. Biochem. Physiol.* **128A**, 645-655.

Groscolas, R. 1990. Metabolic adaptations to fasting in emperor and king penguins. Dans *Penguins Biology* édité par L.S. Davis et J.T. Darby. San Diego, CA : Academic, 269-296.

Groscolas, R. 1988. The use of body mass loss to estimate metabolic rate in fasting seabird : a critical examination based on emperor penguins (*Aptenodytes forsteri*). *Comp. Biochem. Physiol.* **90(A)**, 361-366.

Groscolas, R. 1987. Adaptation au jeûne prolongé : rôle et métabolisme du tissu adipeux Chez les oiseaux antarctiques et subantarctiques. Actes du colloque sur la recherche française dans les terres australes. 67-77.

Großmann, J., Starck, J.M. 2006. Postprandial responses in the African rhombig egg eater (*Dasypeltis scabra*). *Zool.* **109**, 310-317.

Gruenberg, J., Stenmark, H. 2004. The biogenesis of multivesicular endosomes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **5**, 317-323.

Guary, J. C., Negrel, R. 1981. Calcium phosphate granules: a trap for transuranics and iron in crab hepatopancreas. *Comp. Biochem. Physiol. A* **68**, 423-427.

Guibé, J. 1970. Introduction et diagnose. Dans *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie*. Tome XIV (*fascicule II*): Reptiles, Caractères généraux et Anatomie. Grassé, P.-P. *Masson et Cie Edite*. 3-5.

Guibé, J. 1970b. L'appareil digestif. Dans *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie*. Tome XIV (*fascicule II*): Reptiles, Caractères généraux et Anatomie. Grassé, P.-P. *Masson et Cie Edite*. 499-520.

Guibé, J. 1970c. L'appareil respiratoire. Dans *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie*. Tome XIV (*fascicule II*): Reptiles, Caractères généraux et Anatomie. Grassé, P.-P. *Masson et Cie Edite*. 521-548.

Guppy, M., Withers, P. 1999. Metabolic depression in animals: Physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol. Rev.* **74**, 1-40.

Gupta, P.D., Waheed, A.A. 1992. Effect on starvation on glucose transport and membrane fluidity in rat intestinal epithelial cells. *FEBS Lett.* **6(303)**, 263-267.

Gupta, B.L. 1989. The relationship of mucoid substances and ion and water transport, with new data on intestinal goblet cells and a model for gastric secretion, in mucus and related topics. *Symposia of the society for experimental biology n°XLIII, The company of biologists limited*.

H

Habold, C., Reichardt, F., Foltzer-Jourdaine, C., Lignot, J.-H. 2007. Morphological changes of the rat intestinal lining in relation to body stores depletion during fasting and after refeeding. *Pflugers Arch.* **455(2)**, 323-332.

Habold, C. 2005. Thèse: Mécanismes cellulaires et moléculaires de l'absorption intestinale au cours du jeûne et après réalimentation. Université Louis Pasteur Strasbourg. 216 pp.

Habold, C., Chevalier, C., Dunel-Erb, S., Foltzer-Jourdaine, C., Le Maho Y, Lignot, J.-H. 2004. Effects of fasting and refeeding on jejunal morphology and cellular activity in rats according to body stores depletion. *Scand. J. Gastroenterol.* **39(6)**, 531-539.

Haigler, H.T., McKanna, J.A., Cohen, S. 1979. Direct visualization of the binding and the internalization of a ferritin conjugate of epidermal growth factor in human carcinoma cells A-431. *J. Cell Biol.* **81**, 382-395.

- Hanson, P.I., Roth, R., Lin, Y., Heuser, J.E.** 2008. Plasma membrane deformation by circular arrays of ESCRT-III protein filaments. *J. Cell Biol.* **180(2)**, 389-402.
- Harlow, H.J.** 1995. Fasting biochemistry of representative spontaneous and facultative hibernators: the white-tailed prairie dog and the black-tailed prairie dog. *Physiol. Zool.* **68**, 915-934.
- Harvey, B. J.** 1992. Energization of sodium absorption by the H⁺-ATPase pump in mitochondria-rich cells of frog skin. *J. exp. Biol.* **172**, 289–309.
- Helander, H.F.** 1981. The cells of gastric mucosa. *Int. Rev. Cytol.* **70**, 117-119.
- Helander, H.F., Hirschowitz, B.I.** 1972. Quantitative ultrastructural studies on gastric parietal cells. *Gastroenterology* **63(6)**, 951-961.
- Henry, C.J.K.** 1990. Body mass index and the limits of human survival. *Eur. J. Clin. Nutr.* **44**, 329-335.
- Hervant, F., Mathieu, J., Durand, J.** 2001. Behavioural, physiological and metabolic responses to long-term starvation and refeeding in a blind cave-dwelling (*Proteus anguinus*) and a surface dwelling (*Euproctus asper*) salamander. *J. Exp. Biol.* **204**, 269-281.
- Heusser, S., Dupuy, H.-G.** 2000. Atlas de biologie animale. 2- Les grandes fonctions. Dunod.
- Hibbits, T.J., Fitzgerald, L.A.** 2005. Morphological and ecological convergence in two natricine snakes. *Biol. J. Linn. Soc.* **85**, 363-371.
- Hicks, J.W., Wang, T., Bennett, A.F.** 2002. Patterns of cardiovascular and ventilatory responses to elevated metabolism states in the lizard *Varanus exanthematicus*. *J. Exp. Zool.* **203**, 2437-2445.
- Hodin, R.A., Graham, J.R., Meng, S. Upton, M.P.** 1994. Temporal pattern of rat small intestinal gene expression with refeeding. *Am. J. Physiol.* **266**, G83-G89.

Holmberg, A., Kaim, J., Persson, A., Jensen J., Wang, T., Holmgren, S. 2002. Effect of digestive status on the reptilian gut. *Comp. Biochem. and Physiol. Part A.* **133**, 499-518.

Holt, P.R., Yeh, K. 1992. Effect of starvation and refeeding on jejunal disaccharidase activity. *Dig. Dis. Sci.* **37**, 827-832.

Houlihan, D.F., 1991. Protein turnover in ectotherms and its relationships to energetics. *Adv. Comp. Physiol. Biochem.* **7**, 1-43.

Humbert, W. 1974. Localisation, structure et genèse des concrétions minérales dans le mésentéron des Collembolles Tomoceridae (Insecta, Collembola). *Z. Morph. Tiere* **78**, 93-109.

Hume, I.D., Biebach, H. 1996. Digestive tract function in the long-distance migratory garden warbler, *Sylvia borin*. *J. Comp. Physiol. B* **166**, 388-395.

Hung, C.Y. 2005. Survival strategies of common carp, *Cyprinus carpio*, to prolonged starvation and hypoxia. PhD thesis. City Univ. Hong kong. 254 pp.

Hung, S.S.O, Liu, W., Li, H., Storebakken, T., Cui, Y. 1997. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeons, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture* **151**, 357-363.

Hunt, R. 1988. The protective role of gastric acid. *Scand. J. Gastroenterol., Suppl.* **146**, 34–39.

Hurley, J.H. 2008. ESCRT complexes and the biogenesis of multivesicular bodies. *Curr. Opin. Cell Biol.* **20**, 4-11.

Hurley, J.H., Emr, S.D. 2006. The ESCRT complexes: Structure and mechanism of a membrane-trafficking network. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **35**, 277- 298.

I

Iglesias, S., Thompson, M.B., Seebacher, F. 2003. Energetics cost of a meal in a frequent feeding lizard. *Comp. Biochem. Physiol. A* **135**, 377-382.

Imai M., Shibata, T., Moriguchi, K., Hayama, H. 1991a. Glands distributed in the lamina propria mucosae of the oesophagus in the gecko and Japanese lizard. *Okajimas Folia Anat. Jp.* **68**, 289-293.

Imai M., Shibata, T., Moriguchi, K., 1991b. Pepsinogen granules in the oesophageal epithelium of the rock snake. *Okajimas Folia Anat. Jp.* **68**, 231-234.

Iwakiri, R., Gotoh, Y., Noda, T., Sugihara, H., Fujimoto, K., Fuseler, J., Aw, T.Y. 2001. Programmed cell death in rat intestine: Effect of feeding and fasting. *Scand. Gastroenterol.* **36**, 39-47.

J

Jauniaux, T., Brosens, L., Farnir, F., Manteca, C., Losson, B., Tavernier, J., Vindevogel, H., Loignoul, F. 1996. Mortalité des oiseaux marins lors de l'hiver 1992-1993 le long du littoral belge. *Ann. Med. Vet.* **140**, 149-159.

Jeziarska, B., Hazel, J.R., Gerking, S.D. 1982. Lipid mobilization during starvation in the rainbow trout, *Salmo Gairdneri* Richardson, with attention to fatty acids. *J. Fish. Biol.* **32**, 492-501.

Jiang, G., Zhang, B.B. 2003. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **284(4)**, E671-678.

Jobling, M., 1981. The influences of feeding in the metabolic rate of fishes: a short review. *J.Fish Biol.* **18**, 385-400.

Johnson, L.R., Copeland, E.M., Dudrick, S.J., Lightenberger, L.M., Castro, G.A. 1975. Structural and hormonal changes in the gastrointestinal tract of parenterally fed rats. *Gastr.* **68**, 1177-1183.

Jones, J.E., Wade, G.N. 2002. Acute fasting decreases sexual receptivity and neural estrogen- α in female rats. *Physiol. Behav.* **77**, 19-25.

Joseph, I., Kirschner, D. 2004. A model for the study of Helicobacter pylori interaction with human gastric acid secretion. *J. Theor. Biol.* **228**, 55–80.

Just, F., Walz, B. 1994. Immunocytochemical localization of Na⁺/K⁺-ATPase and V-H⁺-ATPase in the salivary glands of the cockroach, *Periplaneta americana*. *Cell Tissue Res.* **278(1)**, 161-170

K

Karasov, W.H., Pinshow, B. 1987. Adaptations of intestinal nutrient transport. Dans L.R. Johnson, ed. *Physiology of the Gastro intestinal Ttract*. Raven, New York. pp 1489-1497.

Karasov, W.H. 1988. Nutrient transport across vertebrate intestine. Dans R. Gilles, ed *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. Springer, Berlin. pp 131-172.

Karasov, W.H., Pinshow, B., Starck, J.M., Afik, D. 2004. Anatomical and Histological Changes in the alimentary tract of migrating Blackcaps (*Sylvia atricapilla*): A Comparison among Fed, Fasted Food-restricted, and Refed Birds. *Physiol.Biochem. Zool.* **77**, 149-160.

Karasov, W.H., Pinshow, B. 1998. Changes in lean mass and in organs of nutrients assimilation in a long-distance Passerine migrant at a springtime stopover site. *Physiol. Zool.* **71**, 435-448.

Karasov W.H., Diamond, J.M. 1983. A simple method for measuring intestinal solute uptake *in vitro*. *J. Comp. Physiol.* **152**, 105-112.

Katzmann, D.J., Stefan, C.J, Babst, M., Emr, S.D. 2003. Vps27 recruits ESCRT machinery to endosomes during MVB sorting. *J. Cell Biol.* **162**, 413-423.

Katzmann, D. J., Odorizzi, G., Scott, D.E. 2002. Receptor downregulation and multivesicular-body sorting. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **3**, 893-905.

Katzmann, D.J., Babst, M., Emr, S.D. 2001. Ubiquitin dependent sorting into the multivesicular body pathway required the function of a conserved endosomal protein sorting complex, ESCRT-I. *Cell* **106**, 145-155.

Kelbaeck, H., Munck, O., Christensen, N.J., Godtfredsen, J. 1987. Autonomic nervous control of post-prandial hemodynamic changes at rest and upright exercise. *J. Appl. Physiol.* **63**, 1862-1865.

Keys, A., Brosek, J., Henschel, A., Michelsen, O., Taylor, H.L. 1950. The biology of human starvation. Minneapolis: Univ. Minn. Press

Kiss, R., De Launoit, Y., Lenglet, G., Danguy, A. 1986. Evaluation of the cell cycle kinetic parameters in the mucosal epithelium of the amphibian digestive tract. *Arch. Biol. (Liege)* **97**, 237-257.

Kivelä, A.J., Kivelä, J., Saarnio, J., Parkkila, S. 2005. Carbonic anhydrase in normal gastrointestinal tract and gastrointestinal tumors. *World. J. Gastroenterol.* **11** (2), 155-163.

Klaassen, M., Lindström, A., Zijlstra, R. 1997. Composition of fuel stores and digestive limitations to fuel deposition rate in the long-distance migratory thrush nightingale, *Luscinia luscinia*. *Physiol Zool.* **70**(1), 125-133.

Kleiber, M. 1975. *The Fire of Life*. Krieger, New York.

Kleijmeer, M., Ramm, G., Schuurhuis, D., Griffith, J., Rescigno, M., Ricciardi-Castagnoli P., Rudensky, A.Y., Ossendorp, F., Melief, C. J.M., Stoorvogel, W., Geuze, H. J. 2001. Reorganization of multivesicular bodies regulates MHC class II antigen presentation by dendritic cells. *J. Cell Bio.* **155(1)**, 53-64

Kotzé, S.H., Van Der Merwe, N.J., Aswegen, G., Smith, G.A. 1992. A light study of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*, Laurenti, 1768). *Onderstepoort. J. Vet. Res.* **59**, 249-252.

Koubi, H.E., Robin, J.-P., Dewasmes, G., Le Maho, Y., Frutoso, J., Minaire, Y. 1991. Fasting inducing rise in locomotor activity in rats coincides with increased protein utilization. *Physiol. Behav.* **50**, 337- 343.

Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.-M. 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) *Comp. Biochem. Phys. A* **141**, 450-460.

Krohmer, R., W., Martinez, D. Mason, R., T. 2004. Development of the renal sexual segment in immature snakes: effect of sex steroid hormones. *Comp. Biochem. Phys. A* **139**, 55-64.

Krohmer, R., W. 2004. Variation in seasonal ultrastructure of sexual granules in the renal segment of the northern water snake, *Nerodia sipedon sipedon*. *J. Morph.* **261**, 70-80.

L

Laüe, M., Kiefer G., Leis, B., Pütz, N., Mestres, P. 2005. Use of the environmental scanning electron microscopy to study a resin block face. *Eur. Micros. Anal.* **97**, 13-15.

Laverty, G., Bjarnadottir, S., Elbrønd, V.S., Arnason, S.S. 2001. Aldosterone suppresses expression of an avian colonic sodium glucose co-transport. *Am. J. Physiol.* **281**, R1041-1050.

Lebovitz, R M, Takeyasu, K, Fambrough, D M. 1989. Molecular characterization and expression of the (Na⁺ + K⁺)-ATPase alpha-subunit in *Drosophila melanogaster*. *EMBO J.* **8(1)**, 193–202.

Lee, K.A., Karasov, W.H., Caviedes- Vidal, E. 2002. Digestive response to restricted feeding in migratory yellow-rumped Warblers. *Physiol.Biochem. Zool.* **75** (3), 314-323.

Lehninger, A.L. 1970. Biochimie, 6ème Edition. *Flammarion*.

Le Maho, Y., Robin, J.P., Cherel, Y. 1988. Starvation as a treatment for obesity: the need to conserve body protein. *News Physiol. Sci.* **3**, 21-24.

Le Maho, Y. 1984. Metabolic adaptations to prolonged fasting in birds. *J. Physiol.* **79**, 113-119.

Le Maho. 1983. Metabolic adaptations to long-term fasting in antarctic penguins and domestics geese. *J. Therm. Biol.* **8**, 91-96.

Levin, R.J. 1984. Intestinal adaptation to dietary change as exemplified by dietary restriction studies. Dans R.M. Batt T.L.J. Lawrence, eds. *Function and Dysfunction of the small intestine*. Liverpool University Press, Liverpool. Pp 77-93.

Lieske, J.C, Norris R., Swift, H., Toback, F.G. 1997. Adhesion, internalization and metabolism of calcium oxalate monohydrate crystals by renal epithelial cells. *Kidn. Intern.* **52**, 1291-1301.

Lignot, J.-H., Helmstetter, C., Secor, S.M. 2005. Postprandial morphological response of the intestinal epithelium of the Burmese python (*Python molurus*). *Comp. Bioch. Phys. Part A* **141**, 280-291.

- Lignot, J.-H., Charmantier, G.** 2001. Immunolocalization of Na^+K^+ -ATPase in the branchial cavity during the early development of the European lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, Decapoda). *J. Histochem. Cytochem.* **49(8)**, 1013-1023.
- Lignot, J.-H., Charmantier-Daures, M., Charmantier, G.** 1999. Immunolocalization of Na^+K^+ -ATPase in the organs of the branchial cavity of the European lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, Decapoda). *Cell Tissue. Res.* **296(2)**, 415-426.
- Lingrel, J.B., Kuntzweiler, T.** 1994. Na^+K^+ -ATPase, minireview. *J. Biol. Chem.* **269(31)**, 19659-19662.
- Liquori, G.E., Ferri, D., Scillitani, G.** 2000. Fine structure of the oxynticopeptic cells in the gastric glands of the ruin lizard, *Podarcis sicula campestris* De Betta, 1857. *J. Morph.* **243**, 167-171.
- Liquori, G.E., Scillitani, G., Mastrodonato, M., Ferri, D.** 2002. Histochemical investigations on the secretory cells in the oesophagogastric tract of the Eurasian toad, *Bufo viridis*. *Histochem. J.* **34**, 517-524.
- Liquori, G.E., Zizza, S., Mastrodonato, M., Scillitani, G., Calamita, G., Ferri, D.** 2005. Pepsinogen and H^+K^+ -ATPase mediate acid secretion in gastric glands of *Triturus carnifex* (Amphibia, Caudata). *Acta. Histochem.* **107**, 133-141.
- Lourdais, O., Brischoux, F., DeNardo, D., Shine, R.** 2004. Protein catabolism in pregnant snakes (*Epicrates cenchria maurus* Boidae) compromises musculature and performance after reproduction. *J. Comp. Physiol. B* **174**, 383-391.
- Lowell, B.B., Goodman, M. N.** 1987. Protein sparing in skeletal muscle during prolonged starvation. Dependence on lipid fuel availability. *Diabetes* **36**, 14-29.
- Lutcheld, L., Kardongk, V.** 1981. Ultrastructure of the lung of the rattlesnake, *Crotalus viridis oreganus*. *J. Morph.* **169**, 29-47.

M

Ma, S.W., Foster, D.O. 1986. Starvation-induced changes in metabolic rate, blood flow and regional energy expenditure in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **64**, 1252-1258.

Madsen, K. M., Tisher, C. C. 1986. Structure-function relationships along the distal nephron. *Am. J. Physiol.* **250**, F1-F15

Marshall, W.S., Howard, J.A., Cozzi, R.R.F., Lynch, E.M. 2002. NaCl and fluid secretion by the intestine of the teleost *Fundulus heteroclitus*: involvement of CFTR. *J. Exp. Biol.* **205**, 745-758.

Martin, J.H., Bagby, R.M. 1973. Effects of fasting on the blood chemistry of the rattlesnake, *Crotus atrox*. *Comp. Biochem. Physiol.* **44A**, 813-820.

Martinez, A-S., Cutler, C.P., Wilson, G.D., Phillips, C., Hazon, N., Cramb, G. 2005. Regulation of expression of two aquaporin homologs in the intestine of the european eel: effects of seawater acclimation and cortisol treatment. *Am. J. Physiol. Regulatory. Integrative. Comp. Physiol.* **288**, 1733-1743.

Mayhew, T.M. 1990. Striated brush border of intestinal absorptive epithelial cells : stereological studies of microvillous morphology in different adaptive states. *J. Electron. Microsc. Tech.* **16(1)**, 45-55.

McCue, M.D., Bennett, A.F., Hicks, J.W. 2005. The effect of meal composition on the specific dynamic action in Burmese Pythons (*Python molurus*). *Physiol. Biochem. Zool.* **78**, 182-192.

McCue, M.D. 2006. Specific dynamic action: A century of investigation. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* **144**, 381-394.

- McCue, M.D.** 2007a. Western diamondback rattlesnakes demonstrate physiological et biochemical strategies for tolerating prolonged starvation. *Physiol. Biochem. Zool.* **80**(1), 000-000.
- McCue, M.D.** 2007b. Snakes survive starvation by employing supply- and demand-side economic strategies. *Zool.* In press
- McLeese, J.M., Moon, T.W.** 1989. Seasonal changes in the intestinal mucosa of the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Wallbaum) from Passamquoddy Bay, New Brunswick. *J.Fish Biol.* **35**, 381-393.
- McWilliams, S.R., Karasov, W.H.** 2001. Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance. *Comp. Bioch. Phys. Part A* **128**, 579-593.
- Mendez, G., Wieser, W.** 1983. Metabolic responses to food deprivation and refeeding in juveniles of *Rutilus rutilus* (Teleostei: Cyprinidae). *Environ. Biol. Fishes* **36**, 73-81.
- Mercier, F., Reggio, H., Devilliers, G., Bataille D., Mangeat, P.** 1989. Membrane-cytoskeleton dynamics in rat parietal cells: mobilization of actin and spectrin upon stimulation of gastric acid secretion. *J. Cell Biol.* **108**, 441-453.
- Merkle, S., Hanke, W.** 1988a; Long-term starvation in *Xenopus laevis*, Daudin- I. Effects on general metabolism. *Comp. Biochem. Physiol.* **89B**, 719-730.
- Merkle, S., Hanke, W.** 1988b; Long-term starvation in *Xenopus laevis*, Daudin- II. Effects on several organ. *Comp. Biochem. Physiol.* **90A**, 491-495.
- Michelangeli, F., Ruiz, M.C., Dominguez, M.G., Parthe, V.** 1988. Mammalian-like differentiation of gastric cells in the shark *Hexanchus griseus*. *Cell Tissue Res.* **251**, 225-227.
- Miller, K., Beardmore, J. Kanety, H., Schlessinger, J., Hopkins, C.R.** 1986. Localization of the epidermal growth factor (EGF) receptor within the endosome EGF-stimulated epidermoid carcinoma (A431) cells. *J. Cell Biol.* **102**, 500-509.

- Miller, M. L., Judd, L. M., Van Driel, I. R., Andringa, A., Flagella, M., Bell, S. M., Schultheis, P. J., Spicer, Z., Shull, G. E.** 2004. The unique ultrastructure of secretory membranes in gastric parietal cells depends upon the presence of H⁺, K⁺-ATPase. *Cell Tissue Res.* **309(3)**, 369-380.
- Millesi, E., Strauss, A., Burger, T., Hoffmann, I. E., Walzl M.** 2008. Follicular development in European ground squirrels (*Spermophilus citellus*) in different phases of the annual cycle. *Reproduction* **136**, 205-210.
- Misch, D.W., Giebel, P.E., Faust, R.G.** 1980. Intestinal microvilli: responses to feeding and fasting. *Eur. J. Cell. Biol.* **21(3)**, 269-279.
- Morgan, H. E., Gordon, E. E., Kira, Y., Chua, B. H. L., Russo, L. A., Peterson, C. J., McDermott, P. J., Watson, P. A.** 1987. Biochemical Mechanisms of Cardiac Hypertrophy. *Annu. Rev. Physiol.* **49**, 533–543.
- Morin, L.P.** 1986. Environment and hamster reproduction: responses to phase-specific starvation during estrous cycle. *Am. J. Physiol.* **251**, R663-669.
- Moore, F., Yong, W.** 1991. Evidence of food-based competition among passerine migrants during stopover. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **28**, 85-90.
- Moore, R., Carlson, S., Madara, J.L.** 1989. Villus contractions aids repair of the intestinal epithelium after injury. *Am. J. Physiol.* **257**, G274-G283.
- Morrisset, J.A., Webster, P.D.** 1972. Effects of fasting and feeding on protein synthesis by the Rat pancreas. *J. Clin. Invest.* **51**, 1-8.
- Moxey, P.C., Yeomans, N.D.** 1976. Identification of cell types in semithin epoxy section of gastric fundic mucosa. *J. Histochem. Cytochem.* **24(6)**, 755-756.
- Mrosovky, N., Sherry, D.F.** 1980. Animal anorexias. *Science.* **207**, 837-842.

Muller, H.C., Berger, D.D. 1966. Analysis of weight and fat variations in transient Swainson's thrushes. *Bird- Banding* **34**, 83-111.

Murphy, J., Henderson, R. 1997. Tales of Giant Snakes: A Natural Historical History of Anacondas and Pythons. *FL: Krieger Publishing Co.*

Murray, D., Wild, G.E. 1980. Effect of fasting on Na-K-ATPase activity in rat small intestine mucosa. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **58(6)**, 643-649.

N

Nagai, M., Ikeda, S. 1971. Carbohydrate metabolism in fish- I. Effects of starvation and dietary composition on the blood glucose level and the hepatopancreatic glycogen and lipid content in carp. *Bull. Jap. Scient. Fish* **37**, 404-409.

Nagy, K.A., Girard, I.A., Brown, T.K. 1999. Energetics of free-ranging mammals, reptiles, and birds. *Annu. Rev. Nutr.* **19**, 247-277.

Nelson, R. A. 1980. Protein and fat metabolism in hibernating bears. *Fed. Proc.* **39**, 2955-2958.

Noaillac-Depeyre, J., Gas, N. 1974. Fat absorption by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.). *Cell Tiss. Res.* **155**, 353-365.

Noaillac-Depeyre, J., Gas, N. 1976. Electron microscopic study on gut epithelium of the tench (*Tinea tinea* L.) with respect to its absorptive functions. *Tissue & Cell* **8**, 511-530.

O

Odedra, B.R., Millward, D.J. 1982. Effect of corticosterone treatment on muscle protein turnover in adrenalectomized rats and diabetic rats maintained on insulin. *Biochem. J.* **204**, 663–672.

Oftedal, O.T., Alt, G.L. Widdowson, E.M., Kakubasz, M.R. 1993. Nutrition and growth of suckling black bears (*Ursus americanus*) during their mother's winter fast. *British J. Nutr.* **70**, 59-79.

Ogata, T., Yamasaki, Y. 2000. Morphological studies on the translocation of the tubulovesicular system toward the intracellular canaliculus during stimulation of the gastric parietal cell. *Micros. Res. Tech.* **48**, 282-292.

Ogata, T. 1997. Gastric oxyntic cell structure as related to secretory activity. *Histol. Histopath.* **12**, 739 -754.

Olsson, C., Holmgren, S., 2001. The control of gut motility. *Comp. Biochem. Physiol. A* **128**, 481-503.

Ott, B.D., Secor, S.M. 2007. Adaptive regulation of digestive performance in the genus *Python*. *J. Exp. Biol.* **210**, 340-356.

Overgaard, J., Busk, M., Hicks, F.B., Jensen, F.B., Wang, T. 1999. Respiratory consequences of feeding in the snake *Python molurus*. *Comp. Biochem. and Physiol. Part A* **124**, 359-365.

Overgaard, J., Wang, T. 2002. Increased blood oxygen affinity during digestion in the snake *Python molurus*. *J. Exp. Biol.* **205**, 3327-3334.

Overgaard, J., Andersen, J.B., Wang, T. 2002. The effect of fasting duration on the metabolic response to feeding in *Python molurus* : An evaluation of the energetic costs

associated with gastrointestinal growth and upregulation. *Physiol. Biochem. Zool.* **75**, 360-368.

Owen, O. E., Smalley, K. J., D'Alessio, D. A., Mozzoli, M. A., Dawson, E. K. 1998. Protein, fat, and carbohydrate requirements during starvation. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 12-34.

P

Papastamatiou, Y.P. 2007. The potential influence of gastric acid secretion during fasting on digestion time in leopard sharks (*Triakis semifasciata*). *Comp. Biochem. Physiol. A* **147**(1), 37-42.

Papastamatiou, Y.P., Lowe, C.G. 2005. Variations in gastric acid secretion during periods of fasting between two species of shark. *Comp. Biochem. Physiol. Part A.* **141**, 210-214.

Patt, D.I., Patt, G.R. 1969. *Comparative Vertebrate Histology*. 1ère édition, New York: Harper and Row.

Pavlopoulos, E., Pitsouli, C., Klueg, K.M., Muskavitch, M.A., Moschonas, N.K., Delidakis, C. 2001. Neuralized Encodes a peripheral membrane protein involved in delta signaling and endocytosis. *Dev Cell* **1**(6), 807-16

Péqueux, A., Gilles, R. Marshall, W.S. 1988. NaCl transport in gills and related structures. In "Advances in comparative and environmental Physiology". Greger, R., ed., Springer, Berlin. pp. 1-73.

Pierce, B.J, McWilliams, S.R. 2004. Diet quality and food limitation affect the dynamics of body composition and digestive organs in a migratory songbird (*Zonotrichia albicollis*). *Physiol Biochem Zool.* **77**(3), 471-483.

Piersma, T. 1998. Phenotypic flexibility during migration: optimization of organ size contingent on the risks and rewards of fueling and flight. *J. Avian Biol.* **25**, 511-520.

Piersma, T., Gill, R. E. J. 1998. Guts don't fly: Small digestive organ in obese bartailed godwits. *Auk* **115**, 196-203.

Piersma, T., Lindström, A. 1997. Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptative behaviour. *Tree.* **12**, 134-138.

Piper, R.C., Katzmann, D.J. 2007. Biogenesis and function of multivesicular bodies. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **23**, 519-547.

Poon, W.L. 2005. In vivo changes in common carp (*Cyprinus carpio L.*) liver during hypoxia at the molecular and cellular levels. PhD thesis. City Univ. Hong-Kong. 182pp.

Pope, C.H. 1961. *The Giant Snakes*. A.A. Knopf, New York.

Q

Quinn, K. E., Castellani, L., Ondrias, K., Ehrlich, B.E. 1998. Characterization of the ryanodine receptor/channel of invertebrate muscle. *Am. J. Physiol.* **274**, R494-502.

Quan, Z.Y., Walser, M. 1991. Effect of corticosterone administration at varying levels on leucine oxidation and whole body protein synthesis and breakdown in adrenalectomized rats. *Metabolism* **40**, 1263–1267.

R

Rappole, J.H., Warner, D.W. 1976. Relationships between behaviour, physiology and weather in avian transients at a migration stopover site. *Oecologia* **26**, 193-212.

Raul, F., Schleiffer, R. 1996. Intestinal adaptation to nutritional stress. *Proc. Nutr. Soc.* **55**, 279-289.

Regaud, C., Policard, A. 1903. Variations sexuelles de structures dans le segment préterminal du tube urinaire de quelques Ophidiens. *C. R. Soc. Biol.* **55**, 216-218.

Regaud, C., Policard, A. 1904. Recherches sur la structure du rein de quelques Ophidiens. *Arch. Anat. Micros.* **6**, 191-282.

Reidy, S.P., Weber, J.-M. 2004. Metabolism of normothermic woodchucks during prolonged fasting. *J. Exp. Biol.* **207**, 4525-4533.

Rigaud, D., Hassid, J., Meulemans, A., Poupard, A.T., Boulier, A. 2000. A paradoxal increase in resting energy expenditure in malnourished patients near death: the king penguin syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**, 355-360.

Rink, J., Ghigo, E., Kalaidzidis, Y., Zerial, M. 2005. Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes. *Cell* **122**, 735-749.

Rios, F. S.A., Moraes, G., Oba, E.T., Fernandes, M. 2006. Mobilization and recovery of energy stores in traíra, *Hoplias malabaricus* Bloch (Teleostei, Erythrinidae) during long-term starvation and after re-feeding. *J. Comp. Physiol. B: Biochem., Systemic, Environ. Physiol.* **176**(7)

Robin, J.P., Fayolle, C., Decrock, F., Thill, M. A, Côté, S.D., Bernard, S., Groscolas, R. 2001. Restoration of body mass in King Penguins after egg abandonment at a critical energy depletion stage: early vs late breeders. *J. Avian. Biol.* **32**, 303-10.

Robin, J.P., Boucontet, L., Chillet, P., Groscolas, R. 1998. Behavioural changes in fasting emperor penguins: evidence for a « refeeding signal » linked to a metabolic shift. *Am. J. Biol.* **274**, R746-53.

Robin, J.P., Zorn, T., Le Maho, Y. 1991. Résistance au jeûne hivernal et réalimentation chez le Canard colvert : évolution des réserves énergétiques et de la prise alimentaire. *C. R. Acad. Sci. Paris.* **313**, 529-35.

Robin, J.-P., Frain, M., Sardet, C., Groscolas, R., Le Maho, Y. 1988. Protein and lipid utilization during long-term fasting in emperor penguins. *Am. J. Physiol.* **254**, R61-68.

Robin, J.-P., Cherel, Y., Frain, M., Sardet, C., Groscolas, R., Le Maho, Y. 1987. Metabolic adaptations to long-term fasting during the breeding cycle in emperor and king penguins. Colloque de Chizé, 1987 (Edition du CNRS) 30309.

S

Sachs, G. 1994. The gastric H⁺/K⁺-ATPase: regulation and structure/function of the acid pump of the stomach, in “Physiology of the gastrointestinal tract”, 3rd ed Raven Press. **2**

Sakata, T., von Engelhardt, W. 1983. Stimulatory effect of short chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in rat large intestine. *Comp. Biochem. Physiol. A* **74**, 459-462.

Sabesin, S.M., Frase, S. 1977. Electron microscopic studies of the assembly, intracellular transport, and secretion of chylomicrons by rat intestine. *J.Lipid.Res.* **18**, 496-511.

Samuels, S.E., Taillandier, D., Aourousseau, E, Cherel, Y., Le Maho, Y., Arnal, M. Attaix, D. 1996. Gastrointestinal tract protein synthesis and mRNA levels for proteolytic systems in adult fasted rats. *Am. J. Physiol.* **271(2 Pt 1)**, E232-238.

- Scanlon, J. D., Lee, M. S. Y.** 2000. The pleistocene serpent Wonambi and the early evolution of snakes. *Nature* **403**, 416-420.
- Schachowa, S.** 1876. Untersuchungen über die Niere. *Medical thesis dissertation*, Berne, Switzerland.
- Schiefferdecker, P.** 1881. Zur Kenntnis des Baues der Schleimdrüsen. *Arch. Mikrosk. Anat.* **23**, 382–412.
- Schill, R. O., Köhler, H. -R.** 2004. Energy reserves and metal-storage granules in the hepatopancreas *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber* (Isopoda) from a metal gradient at Avonmouth, UK. *Ecotoxicology* **13**, 787–796.
- Schubert, M.L.** 2002. Gastric secretion. *Curr. Opin. Gastr.* **18(6)**, 639-649.
- Schulze, F. E.** 1876. Epithel- und Drüsen-Zellen. *Arch. Mikrosk. Anat. EntwMech.* **3**, 137-203
- Schwarting, H., Koop, H., Gellert, G., Arnold, R.** 1986. Effect of starvation on endocrine cells in the rat stomach. *Regul. Pept.* **14**, 33-39.
- Sclafani, A., Rendel, A.** 1978. Food deprivation-induced activity in dietary obese, dietary lean and normal weight rats. *Behav. Biol.* **24**, 220-228.
- Secor, S.M., Diamond, J.** 1994. Evolution of the adaptative response to feeding among snakes. *Am. Zool.* **34**, 48A.
- Secor, S.M., Diamond, J.** 1995. Adaptative response to feeding in Burmese Pythons: pay before pumping. *J. Exp. Biol.* **198**, 1313-1325.
- Secor, S.M., Diamond, J.** 1997. Determinants of the post feeding metabolic response of Burmese Python, *Python molurus*. *Physiol. Zool.* **70**, 202-212.

Secor, S.M., Diamond, J. 1998. A vertebrate model of extreme physiological regulation. *Nature* 995, 659-662.

Secor, S.M., Whang, E.E, Lane, J.S., Ashley, S.W. and Diamond, J. 2000a. Luminal and systemic signals trigger intestinal adaptation in the juvenile python. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* **279**, G1177-G1187.

Secor, S.M., Diamond, J. 2000. Evolution of regulatory responses to feeding in Snakes. *Physiol. Biochem. Zool.* **73**, 123-141;

Secor, S.M., Hicks, J.W., Bennett, A.F. 2000b. Ventilatory and cardiovascular responses of a Python (*Python molurus*) to exercise and digestion. *J.Exp.Biol.* **203**.2447-2454.

Secor, S.M., Nagy, TR., Johnston, K.E., Tamura, T. 2001. Effect of feeding on circulating micronutrient concentrations in the Burmese python (*Python molurus*). *Comp. Biochem Phys. A* **129**, 673-679.

Secor, S.M., Fehsenfeld, D., Diamond, J. Adrian, T.E. 2001. Responses of Python gastrointestinal regulatory peptides to feeding. *Biochem.* **98**, 13637-13642.

Secor, S.M., Whang, E.E, Lane, J.S., Ashley, S.W. and Diamond, J. 2002. Luminal nutrients signals for intestinal adaptation in pythons. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* **283**, G1298-G1309.

Secor, S.M., Faulkner, A.C., 2002. Effects on meal size, meal type, body temperature, and body size on the specific dynamique action on the marine toad, *Bufo marinus*. *Physiol.Biochem. Zool.* **75**, 557-571.

Secor, S.M. 2003. Gasric function and its contribution to the post-prandial metaolic response of the Burmese python *Python molurus*. *J. Exp. Biol.* **206**, 1621-1630.

Secor, S.M. 2005a. Physiological responses to feeding, fasting and estivation for anurans. *J. Exp. Biol.* **208**, 2595-2608.

Secor, S.M. 2005b. Evolutionary and cellular mechanism regulating intestinal performance of amphibians and reptiles. *Integr. Comp. Biol.* **45**, 282-294.

Sedar A.W. 1961. Electron microscopy of the oxyntic cell in the gastric glands of the bullfrog (*Rana catesbiana*) I. The Non-Acid-Secreting Gastric Mucosa. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9(1)**, 1–18.

Sedar A.W. 1961. Electron microscopy of the oxyntic cell in the gastric glands of the bullfrog (*Rana catesbiana*) II. The Acid-Secreting Gastric Mucosa. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **10**, 47–57.

Shine, R. 1991. Why do larger snakes eat larger prey items? *Funct.Ecol.* **5**, 493-502.

Shine, R., Sun, L. X. 2003. Attack strategy of an ambush predator: which attributes of the prey trigger a pit-viper's strike? *Funct.Ecol.* **17**, 340-348.

Shirakawa, T. 1986. Seasonal fluctuations in pepsinogen secretion from oesophageal peptic glands. *Am. J. Physiol.* **250**, G 484-G488.

Skovgaard, N., Comlon, J.M., Wang, T. 2007. Evidence that neurotensin mediates post-prandial intestinal hyperemia in the python, *Python regius*. *Am. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **10**, 1152-

Slot, J. W., Geuze, J. J. 1979. A morphometrical study of the exocrine pancreatic cell in fasted and fed frogs. *J. Cell Biol.* **80**, 692-707.

Smit, H. 1968. Gastric secretion in the lower vertebrates and birds. In *Code CF, editor. Handbook of physiology, Washington: American Physiological Society vol5*, section 6, 2791-2805.

Smolka, A.J., Lacy, E.R., Luciano, L., Reale, E. 1994. Identification of gastric H,K-ATPase in a early vertebrates, the Atlantic stingray *Dasyatis sabina*. *J. Histochem. Cytochem.* **42**, 1323-1332.

- Soengas, J.L., Strong, E.F., Andres, M.D.** 1998. Glucose, lactate, β -hydroxybutyrate utilization by rainbow trout brain: changes during food deprivation. *Physiol. Zool.* **71**, 285-293.
- Starck, J.M.** 1999. Structural flexibility of the gastro intestinal tract of vertebrates. Implications for evolutionary morphology. *Zool. Anz.* **238**, 87-101.
- Starck, J.M., Beese, K.** 2001. Structural flexibility of the intestine of Burmese Python in response to feeding. *J.Exp.Biol.* **204**, 325-335.
- Starck, J.M., Beese, K.** 2002. Structural flexibility of the small intestine and liver of garter snake in response to feeding and fasting. *J.Exp.Biol.* **205**, 1377-1388.
- Starck, J. M., Rahmaan, G. H. A.** 2003. Phenotypic flexibility of structure and function of the digestive system of Japanese quail. *J.Exp.Biol.* **206(11)**, 1887-1897.
- Starck, J.M., Moser, P., Werner, R.A, Linke, P.** 2004. Pythons metabolize prey to fuel the response to feeding. *Proc. R. Soc. Lond.* **271**, 903-908.
- Starck, J.M, Wimmer, C.** 2004. Pattern of blood flow during the postprandial response in ball pythons, *Python regius*. *J.Exp.Biol.* **208**, 881-889.
- Starck, J.M.** 2005a. Structural flexibility of the digestive system of tetrapods- Pattern and processes on the level of cells and tissues. Dans *Starck, J.M., Wang, T.(Eds.), Physiological and Ecological Adaptations To Feeding in Vertebrates*. Science Publishers, Enfield, NH, pp 175-200.
- Starck, J.M., Cruz-Neto, A. P., Abe, A. S.** 2007. Physiological and morphological responses to feeding in broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*). *J.Exp.Biol.* **210**, 2033-2045.
- St Girons, H.** 1972. Morphologie comparée du segment sexuel du rein des Squamates (Reptilia). *Arch. Anat. Micros.* **61** (3), 243-266.

Stokes, D.J., Rea, S.M., Best, S.M., Bonfield, W. 2003. Electron Microscopy of Mammalian Cells in the Absence of Fixing, Freezing, Dehydration, or Specimen Coating. *Scanning* **25**, 181-184.

Storebakken, T., Hung, S.S.O, Calvert, C.C., Plisetskaya, E.M. 1991. Nutrient partitioning in rainbow trout at different feeding rates. *Aquaculture* **96**, 191-203.

Sulak, K.J., Randall, M. 2002. Understanding sturgeon life history: Enigmas, myths, and insights from scientific studies. *J. Appli. Ichthyol.* **18**, 519-528.

T

Tai, S.S.W., Tang, X.E. 2001. Manipulating biological samples for environmental scanning electron microscopy observation. *Scanning* **23**, 267-272.

Tattersall, G.J., Milsom W.K., Abe, A.S., Brito, S.P., Andrade, D.V. 2004. The thermogenesis of digestion in rattlesnakes. *J. Exp. Biol.* **207**, 579-585.

Thouzeau, C., Robin, J.-P., Le Maho, Y., Handrich, Y. 1999. Body reserve dynamics and energetics of barn owls during fasting the cold. *J. Comp. Physiol.* **169(B)**, 612-620.

Tinker, D.B., Harlow, H.J., Beck, T.D.I. 1998. Protein use and muscle-fiber changes, hibernating black bears. *Physiol. Zool.* **71**, 414-424.

Toledo, L.F., Abe, A.S., Andrade, D.V. 2003. Temperature and meal size effects on the postprandial metabolism and energetics in a boid snakes. *Physiol. Biochem. Zool.* **76**, 240-246.

Tracy, C.R., Diammond, J. 2005. Regulation of gut function varies with life-story traits in chuckwalla (*Sauromalus obesus*: Iguanidae). *Physiol. Biochem.Zool.* **78(4)**, 469-481.

Tso, P., Balint, J.A. 1986. Formation and transport of chylomicrons by enterocytes to the lymphatics. *Am J Physiol.* 6 Part 1. **250**, G715-726.

Towle, D.W. 1981. Role of Na, K- ATPase in ionic regulation by marine and estuarine animals. *Mar. Biol. Lett.* **2**, 107-122.

Tyler, M.J., Shearman, D.J., Franco, R., O'Brien, P., Seamark, R.F., Kelly, R. 1983. Inhibition of gastric acid secretion in the gastric brooding frog, *Rheobatrachus silus*. *Science.* **220**(4597), 609-610.

V

Van Dijk, P.L.M., Staaks, G., Hardewig, I. 2002. The effect of fasting and refeeding on temperature preference, activity and growth of roach, *Rutilus rutilus*. *Oecologia* **130**, 496-504.

Van Ginneken, V.J.T., Antonissen, E. Müller, U.K., Booms, R., Eding, E. 2005. Eel migration to the Sargasso: remarkably high swimming efficiency and low energy costs. *J. Exp. Biol.* **208**, 1329-1335.

Van Itallie, T. B., Yang, M. -U. 1984. Cardiac dysfunction in obese dieters: a potential lethal complication of rapid, massive weight loss. *Amer. J. Clin. Nutr.* **39**, 695-702.

Van Niel, G., Wubbolts, R., Ten Broeke, T., Buschow, S.I., Ossendorp, F.A., Melief, C.J., Raposo, G., Van Balkom, B.W., Stoorvogel, W. 2006. Dendritic cells regulate exposure of MHCclass II at their plasma membrane by oligoubiquitination. *Immunity* **25**, 885–94.

Vial, J.D., Garrido, J. 1979. Comparative cytology of hydrochloric acid secreting cells. *Arch. Biol. Med. Exp. (Santiago)* **12**, 39-48.

Vidal, N., David, P. 2003. New insights into the early history of snakes inferred from two nuclear genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* **31**, 783-787.

Vidal, N., Hedges, S.B. 2004. Molecular evidence for a terrestrial origin of snakes. *Proc. R. Soc. Lond. B* **271** (Suppl.) S226-S229.

Vidal, N., Hedges, S.B. 2005. The phylogeny of squamate reptiles (lizards, snakes, and amphisbaenians) inferred from nine nuclear protein-coding genes. *C.R. Biologies* **328**, 1000-1008.

Vincent, S.E., Dang, P.D., Herrel, A., Kley, N.J. 2006. Morphological integration and adaptation in the snake feeding system : a comparative phylogenetic study. *European society for evolutionary biology.* **19**, 1545-1554.

W

Waheed, A.A, Yasuzumi, F., Gupta, P.D. 1998. Lipid and fatty acid composition of brush border membrane during starvation. *Lipids* **33(11)**, 1093-1097.

Waheed, A.A., Gupta, P.D. 1997. Changes in structural and functional properties of rat intestinal brush border membrane during starvation. *Life Sci.*, **61**, 2425-2433.

Wallström, S., Karlsson, S. 2004. Biofilms on silicone rubber insulators; microbial composition and diagnostics of removal by use of ESEM/EDS Composition of biofilms infecting silicone rubber insulators. *Polymer Degradation and Stability* **85**, 841-846.

Wang, T., Busk, M., Overgaard, J. 2001a. The respiratory consequence of feeding in amphibians and reptiles. *Comp. Biochem. Physiol.* **128A**, 535-549.

Wang, T., Taylor, E.W., Andrade, D., Abe, A.S. 2001b. Autonomic control of heart rate during forced activity and digestion in the snake *Boa constrictor*. *J. Exp. Biol.* **204**, 3553-3560.

Wang, T., Hung, C.C.Y., Randall, D.J. 2006. The comparative physiology of food deprivation: from feast to famine. *Ann. Rev. Physiol.* **68**, 223-251.

Wehner, R., Gehring, W. 1999. Biologie et physiologie animaux. Traduction de la 23ème édition allemande par Christiane Meyer. *DeBoeck Université*.

Wikelski, M., Thom, C. 2000. Marine iguanas shrink to survive El Niño. *Nature* **403**, 37-38.

Willems, G. 1972. Cell renewal in the gastric mucosa. *Dig.* **6**, 46-63.

Woodman, P.G., Futter, C.E. 2008. Multivesicular bodies: co-ordinated progression to maturity. *Curr. Opin. Cell Biol.* **20**, 408-414.

Y

Yamashiro, D.J., Tycko, B., Fluss S.R., Maxfield, F.R. 1984. Segregation of transferrin to a mildly acidic (pH 6,4) para-Golgi compartment in the recycling pathway. *Cell* **37**, 789-800.

Yorio, T., Page, R. D., Frazier, L. W. 1991. Prostaglandin regulation of H⁺ secretion in amphibian epithelia. *Am. J. Physiol.* **260**, R866–R872.

Z

Ziegler, A. 1997. Immunocytochemical Localization of Na⁺,K⁺-ATPase in the Calcium-transporting Sternal Epithelium of the Terrestrial Isopod *Porcellio scaber* L. (Crustacea). *J. Histochem. Cytochem.* **45**, 437-446.

Zitvogel, L., Regnault, A., Lozier, A., Wolfers, J., Flament, C., Tenza, D., Ricciardi-Castagnol, P., Raposo, G., Amigorena, S. 1998. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell derived exosomes. *Nature Med.* **4**, 594 - 600.

Ressources en ligne (internet):

Anatomie du Python: educ.csmv.qc.ca/.../rep/python/python.htm.

American Museum of Natural History, 1998. "Indian Python". Accessed Feb. 19, 2001 at <http://www.amnh.org/nationalcenter/Endangered/python/python.html>.

European Molecular Biology Laboratory (EMBL) <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/db-info/SpeciesStat.html>

Woodland Park Zoo, 2000. "Indian Python". Accessed Feb. 19. 2001 at http://www.zoo.org/educate/fact_sheets/python/python.htm.

Publications & Participations à des conférences

Lignot J.H., Helmstetter C., Secor S.M. (2004). Structural changes of the intestinal epithelium with fasting and feeding for the Burmese python (*Python molurus*). *Integrative and Comparative Biology*, 44 (6): 719.

Helmstetter C., Habold C., Artbiol C., Le Maho Y., Lignot, J.H. (2004). Cellular events and apoptosis in the intestinal mucosa of the Burmese python. Society of Experimental Biology Annual Meeting. Edimbourg, Ecosse. *Poster*.

Lignot J.H., Helmstetter C., Secor S.M. (2005). Postprandial morphological response of the intestinal epithelium of the Burmese python. *Comp. Biochem. Physiol., Part A*, 141: 280-291.

Helmstetter C., Secor S.M., Lignot J.H. (2005). Postprandial cellular replication and morphological responses of the Burmese python gastrointestinal tract. Society for Experimental Biology, Barcelone. *Présentation orale*.

Reix N., T'Flachebba M., Helmstetter C., Secor S.M., J.H. Lignot (2005). Postprandial morphological changes within the intestine of Burmese pythons. Society for Experimental Biology, Barcelone. *Poster*.

Helmstetter C., Secor S.M., Pope R.K., Lignot J.H. (2006). Postprandial cellular replication and morphological responses of the Burmese python gastrointestinal tract. Society for Integrative and Comparative Biology, Orlando. *Poster*.