ASPECTS ORIGINAUX DE LA GLANDE INTERSTITIELLE OVARIENNE CHEZ LE HÉRISSEON : MORPHOLOGIE, HISTOGENÈSE, HYPERPLASIE, ENZYMES DE LA STÉROÏDOGENÈSE

A. GOUGEON ⁽¹⁾

Laboratoire de Physiologie comparée

Faculté des Sciences, 86022 Poitiers,

*Centre d'Études biologiques des Animaux sauvages du C. N. R. S.,
79360 Beauvoir sur Niort*

RÉSUMÉ

Chez le Hérisson européen, la glande interstitielle de l'ovaire se présente sous la forme d'un nodule localisé au niveau du hile : c'est le nodule interstitiel hilair (n. i. h.).

Situé à proximité des tubules du *rete ovarii*, il n'apparaît chez la jeune femelle qu'à l'âge de 3 mois (6 à 9 mois avant la puberté). LH et FSH permettent son induction précoce.

Il provient de l'évolution des cellules de certains tubules du *rete ovarii* ; son volume s'accroît progressivement par apport et différenciation de cellules conjonctives fusiformes issues de la médulla ovarienne.

L'analyse histoenzymologique montre que l'équipement du n. i. h. en enzymes de la stéroïdogénèse est proche de celui du corps jaune. La $\Delta_5-3\beta$ -HSD est l'enzyme la plus active, les 17β - et 6β -HSD sont aussi mises en évidence.

La diminution du volume des cellules interstitielles pendant la période d'activité sexuelle refléterait l'existence d'une synthèse hormonale suivie de sécrétion.

Le n. i. h. est sujet à l'hyperplasie chez les animaux âgés ($\geq$ à 4 ans). Le nodule atteint alors des dimensions importantes (2 à 5 mm de diamètre). Les cellules interstitielles hypertrophiées constituent le seul type cellulaire, il n'y a pas de mitose.

INTRODUCTION

L'ovaire du Hérisson (*Erinaceus europaeus*) a été l'objet de quelques travaux effectués principalement par LIMON (1903), ATHIAS (1923), VELLOSO DE PINHO (1923), DEANESLY (1934), GIROD *et al.* (1967), WALIN *et al.* (1968), BALBONI (1969), MARCHAL-DACHEUX (1970).

⁽¹⁾ Nouvelle adresse : Obstétrique et Gynécologie, Maternité de l'Hôpital Antoine Béchère, 157, rue de la Porte de Trivaux, 92140 Clamart.

La glande interstitielle n'a jamais été étudiée de façon approfondie, seuls quelques auteurs signalent brièvement son existence en lui attribuant une origine thécale.

En 1970, MARCHAL-DACHEUX met en évidence une formation composée de cellules interstitielles située au hile de l'ovaire ; elle lui donne le nom de « nodule interstitiel hilaire » (n. i. h.).

Par sa localisation et par sa morphologie bien définie, ce n. i. h. présente des caractères originaux. Nous avons cherché à en préciser la différenciation et l'évolution avec l'âge, ainsi que la fonction.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. — Animaux

Ils proviennent pour une part de l'« élevage » du Centre d'Études biologiques des Animaux sauvages du C. N. R. S. (Forêt de Chizé) où certains sujets se reproduisent. Les autres hérissons ont été capturés dans la région de Poitiers.

Après anesthésie légère, les animaux sont décapités. Un ovaire et le tractus génital sont fixés au Bouin ou au Bouin Hollande, sublimé ou non. L'autre gonade est congelée rapidement, enveloppée dans du « Parafilm » et stockée à — 18°C.

B. — Détermination quantitative des types cellulaires

Nous avons utilisé pour cette étude un « Visopan » dont l'écran est divisé en carrés de 5 mm de côté.

Pendant l'œstrus hivernal, le n. i. h. contient deux catégories de cellules interstitielles ; on compte les points d'intersection se superposant à chacun des types cellulaires.

Le rapport des points est égal au rapport des surfaces, ce dernier étant identique au rapport des volumes (SOLARI, 1973) ; nous pouvons écrire : $\frac{100 \times x}{y}$ = pourcentage du volume du n. i. h. occupé par des cellules du type 1.

x : nombre de points correspondant aux cellules de type 1

y : nombre de points correspondant à la surface du n.i.h.

Le nombre de cellules par unité de surface est inversement proportionnel à leur taille ; il constitue un bon critère d'appréciation de l'état dans lequel se trouvent ces cellules à un moment donné.

C. — Analyses histologique et histoenzymologique

a) Analyse histologique.

Les différents organes inclus dans la paraffine sont coupés à 7 ou 10 μ . Les colorations utilisées sont l'hémalum éosine, l'hémalum picroindigocarmin et le bleu Masson.

b) Analyse histoenzymologique.

Nous avons étudié l'équipement du n. i. h. en enzymes de la stéroïdogénèse.

La technique utilisée découle de la méthode de WATTENBERG (1958). La composition du milieu étant inspirée des données fournies par LEVY *et al.* (1959) pour les enzymes de la stéroïdogénèse et de celles de NACHLAS *et al.* (1957) pour la succinodéshydrogénase.

L'enrobage de l'ovaire dans de la gélatine à 5 p. 100 facilite la réalisation des coupes effectuées à l'aide d'un cryostat ($t = -25^{\circ}\text{C}$), elles sont collées sur une lamelle, puis mises à sécher 5 mn à l'air libre.

Chez le Hérisson, un repérage du n. i. h. par coloration (hémalum P. I. C.) de la coupe est nécessaire.

Les coupes sont rincées 5 mn dans du tampon phosphate afin de déplacer les stéroïdes endogènes.

Un prétraitement d'usage par l'acétone à 4°C a été tenté. Il s'est révélé déprimer l'activité enzymatique et n'a pas été généralisé.

Le milieu d'incubation est le suivant :

Nitro Bleu de tétrazolium (N. B. T.)	0,5 ml d'une solut. à 1 mg/ml H ₂ O distillée
Coenzyme NAD ⁺	0,5 ml d'une solut. à 3 mg/ml H ₂ O distillée
Tampon phosphate (selon SØRENSEN)	5 ml d'une solut. à pH 7,4
Substrat (voir tabl. 1) :	
Succinate de sodium	0,5 ml d'une solut. 0,2 M
Séroïde	0,1 ml d'une solut. à 2 mg/ml de N. N. diméthyl formamide.

TABLEAU I

Histoenzymologie.
Enzymes testées et substrats utilisés

3 α -Hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- 5 α -androstane-3 α -ol-17-one (androstérone).
- 5 β -androstane-3 α -ol-17-one (étiocholanolone).

Δ_5 -3 β -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Pregn-5-ène-3 β -ol-20-one (prégnénolone).
- Pregn-5-ène-3 β , 17 α -diol (17 α -hydroxy prégnénolone).
- Androst-5-ène-3 β -ol-17-one (déhydroépiandrostérone).
- Androst-5-ène-3 β , 17 β -diol (androstènediol).

6 β -Hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Pregn-4-ène-6 β -ol-3, 20-dione (6 β -hydroxyprogestérone).

11 α -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Pregn-4-ène-11 α -ol-3, 20-dione (11 α -hydroxyprogestérone).

11 β -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Pregn-4-ène-11 β , 17 α , 21-triol-3, 20-dione (cortisol).
- Androst-4-ène-11 β -ol-3, 17-dione (11 β -hydroxyandrostènedione).

16 α -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Estra-1, 3, 5 (10)-triène-3, 16 α -diol-17-one (16 α -hydroxyœstrone).
- Estra-1, 3, 5 (10)-triène-3, 17 β , 16 α -triol (œstriol).

16 β -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Estra-1, 3, 5 (10)-triène-3, 16 β -diol-17-one diacétate (16 β -hydroxyœstrone diacétate).
- Estra-1, 3, 5 (10)-triène-3, 16 β , 17- β -triol (16-épioestriol).

17 α -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Estra-1, 3, 5 (10)-triène-3, 17 α -diol (œstradiol-17 α).

17 β -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Estra-1, 3, 5 (10)-triène-3, 17 β -diol (œstradiol-17 β).
- Androst-4-ène-17 β -ol-3-one (testostérone).

20 α -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Pregn-4-ène-20 α -ol-3-one (20 α -dihydroprogestérone).
- 5 α -pregnane-3 α , 20 α -diol (pregnanediol).

20 β -hydroxystéroïde-déshydrogénase :

- Pregn-4-ène-20 β -ol-3-one (20 β -dihydroprogestérone).
-

La concentration finale en stéroïdes du milieu est de l'ordre de 30 $\mu\text{g/ml}$; cette faible quantité de substrat présente l'avantage de n'être pas trop éloignée des concentrations physiologiques et de diminuer la quantité de diméthyl formamide utilisée.

L'utilisation de plusieurs substrats par enzyme est justifiée par leur spécificité, un substrat n'étant pas suffisant pour s'assurer de la présence ou de l'absence d'une enzyme donnée. C'est ainsi que chez la Taupe (GOUGEON, 1972) l'utilisation de la 20 α -dihydroprogestérone permet la mise en évidence d'une forte activité 20 α -HSD, le pregnandiol étant inefficace.

L'incubation dure une heure, la coupe est fixée 15 mn dans l'alcool formol, lavée à l'eau distillée puis montée au glycérogel.

II. — RÉSULTATS

A. — Situation et morphologie du n. i. h.

Le n. i. h. est toujours situé en position hilare, à proximité immédiate des tubules du rete ovarii (fig. 2, planche I) ; son diamètre augmente avec l'âge, il passe de 100 μ chez les animaux les plus jeunes à 600-700 μ chez les adultes. Plusieurs nodules interstitiels de petite taille (50 à 100 μ de diamètre) peuvent voisiner, puis se confondre en un n. i. h. plus gros.

Les cellules interstitielles peuvent se présenter sous trois aspects :

Type 1 : cellules inactives à petit noyau rond (3 μ de diamètre), de petite taille (5 μ de diamètre environ), elles sont surtout regroupées en ilots (fig. 1, pl. II).

Type 2 : cellules polyédriques à noyau globuleux (5 μ de diamètre) renfermant plusieurs nucléoles. De grande taille pendant l'ancestrus hivernal (5 $\mu \times 10 \mu$) (fig. 2, pl. II), elles retrouvent une taille moyenne au printemps (5 $\mu \times 7 \mu$) ; elles sont hypertrophiées (10 $\mu \times 16 \mu$) au niveau des nodules hyperplasiés (fig. 3, pl. II).

Type 3 : de mêmes caractéristiques générales que les cellules du type 2 hypertrophiées, leur cytoplasme est fortement éosinophile ; elles sont vraisemblablement en dégénérescence (fig. 3, pl. II).

Les petites cellules conjonctives fusiformes sont nombreuses au sein du n. i. h. des jeunes femelles impubères. Elles semblent se différencier en cellules interstitielles de type 1.

Les capillaires sanguins y abondent ; en outre, de nombreux vaisseaux hilaires cotoient ce nodule, par ailleurs enclavé dans un conjonctif médullo-hilaire lâche (fig. 1, pl. I).

Il n'y a pas de cristaux de Reincke au niveau de ces cellules ; elles ne sont donc pas analogues aux cellules du hile de l'ovaire rencontrées chez la Femme et la Truie.

B. — Age et déterminisme de l'apparition du n. i. h. chez le jeune Hérisson femelle

MARCHAL-DACHEUX (1970) émettait à propos du n. i. h., l'hypothèse suivante : « Nous pourrions être en présence de cellules sympathicotropes, analogues à celles des Primates et des Porcellets. Absentes chez le jeune Hérisson de trois semaines, elles apparaîtraient dans l'ovaire à la puberté. »

Afin de préciser le moment d'apparition de ce tissu, nous avons observé de la naissance jusqu'à l'âge de 6 mois, les ovaires de 30 femelles impubères.

- A la fin de l'ovogenèse, vers la 3^e semaine post natale, le n. i. h. est absent.
- Vers 3 mois, quelques follicules possèdent un antrum, le n. i. h. est alors présent.

D'abord de taille modeste (30 à 40 μ de diamètre), il croît rapidement, tandis que les cellules, de petite taille, mais dotées d'un noyau globuleux, évoluent rapidement vers la forme polyédrique.

Le nodule interstitiel semble donc se différencier, chez le jeune Hérisson femelle, vers l'âge de trois mois, au moment où apparaissent les follicules à antrum.

C. — Essai d'induction du n. i. h. par les gonadotropines LH et FSH

Nous avons cherché à induire précocement la formation du n. i. h. par l'administration de gonadotropines, la glande interstitielle ovarienne de divers Mammifères étant particulièrement sensible à ces hormones (PONSE, 1965 ; ASCHHEIM, 1968 ; ARMSTRONG *et al.*, 1969).

Des Hérissons âgés de 2,5 mois au maximum, ont reçu des injections de LH bovine (NIH-LH-B 7) ou de FSH porcine (NIH-FSH-P 1).

- Le protocole expérimental est résumé sur le tableau 2.

TABLEAU 2

*Traitement de jeunes Hérissons femelles par les gonadotropines
(NIH-LH-B 7 et NIH-FSH-P 1)*

Numéro	381	389	390	401	419	420	421	422	237
Poids (g)	204	262	237	227	220	228	130	160	252
Age (j)	60	75	75	$\simeq$ 60	68	68	55	55	$\simeq$ 60
Hormone injectée :	LH	LH	LH	LH	LH	FSH	FSH	FSH	Sérum physiologique
12-7-1971	5 μ g	10 μ g	10 μ g	30 μ g	30 μ g	15 μ g	30 μ g	30 μ g	0,4 ml
13-7-1971	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14-7-1971	5 μ g	—	—	—	—	15 μ g	—	—	—
15-7-1971	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16-7-1971	—	S	—	S	—	—	S	—	S
17-7-1971	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18-7-1971	S	—	—	—	—	S	—	—	—
18-7-1971	—	—	S	—	S	—	—	S	—

Les quantités d'hormone injectée sont exprimées en μ g pour 100 g de poids corporel.

S : sacrifice.

- Plusieurs points ont retenu notre attention :

- Il n'y a pas de différence significative entre l'aspect histologique des ovaires d'animaux traités soit par LH, soit par FSH.

- Le nombre des follicules à antrum est important ; ils sont généralement atrophiques et ne montrent pas de lutéinisation des thèques ou de la granulosa.

Rappelons que l'ovaire de l'animal témoin ne comporte pas encore de follicules à antrum.

— Les Hérissons traités présentent un ou plusieurs n. i. h. de petite taille (50 à 100 μ de diamètre). Tous sont situés à proximité des tubules du *rete ovarii*. Les cellules ont un gros noyau (5 μ de diamètre), leur cytoplasme est spumeux. Aucune mitose n'y est visible.

D. — *Histogenèse du n. i. h.*

Chez le Hérisson, la position du n. i. h. et l'étude des coupes, après stimulation hormonale ou non, montrent que toute participation thécale à l'élaboration du n. i. h. doit être exclue. En fait, c'est au niveau du hile que certaines cellules se différencient en cellules interstitielles.

Il ne semble pas que le n. i. h. du Hérisson soit comparable aux formations, d'origine surrénalienne, observées dans l'ovaire de nombreux Mammifères (« Adreno Cortical Like cells »). Cette conclusion est confirmée par quelques observations : âge tardif d'apparition du n. i. h., comparaisons histologique et histoenzymologique du tissu interstitiel et des différentes zones du cortex surrénal.

Chez cet Insectivore, la glande interstitielle est toujours située à proximité des tubules du *rete ovarii* (vestiges de la partie crâniale du corps et du canal de Wolff).

Quelques images montrent la différenciation de cellules adjacentes à certains tubules du *rete ovarii*, d'autres, une évolution de l'épithélium de ces mêmes formations en cellules de type interstitiel (fig. 4, pl. I).

La présence de nodules multiunitaires et la similitude morphologique de nombre d'entre eux avec les cordons du *rete* (fig. 3, p. I) semblent confirmer cette évolution, les fibres conjonctives présentes dans le n. i. h. pouvant être résiduelles et provenir de la destruction de la capsule des tubules transformés.

En conclusion, nous pensons que le n. i. h. est issu de la différenciation de cellules de certains tubules du *rete ovarii* et des cellules conjonctives situées à leur contact.

E. — *Évolution du n. i. h. au cours de la vie sexuelle*

Nous avons observé les ovaires de 46 femelles adultes, à tous les stades du cycle, 6 d'entre elles étaient gestantes.

Le volume du n. i. h. s'accroît avec l'âge de l'animal, non par multiplication cellulaire, mais par apport et différenciation d'éléments extérieurs vraisemblablement issus de la médulla ovarienne (cellules conjonctives fusiformes).

1. *Des variations cycliques affectent la taille des cellules interstitielles.*

À la fin de l'automne et pendant l'hiver, il existe 2 types de n. i. h. suivant l'âge des animaux :

— Chez les jeunes femelles nées au printemps le n. i. h. est petit : 100 μ de diamètre en moyenne. Il renferme des cellules interstitielles du type 2 et de nombreuses cellules conjonctives, jusqu'à 60 p. 100 du nombre total de cellules.

— Chez les femelles adultes, le n. i. h. est plus gros : 600 μ de diamètre en moyenne. Il est composé :

TA

Activité des hydroxystéroïde-déshydrogénases (HSD) et

— : activité nulle ; (+) : très faible

	Succinate de Na	3 α -HSD		Δ_5 -3 β -HSD				6 β -HSD	11 α -HSD
		Androstérone	Étiocholanolone	Pn	17 α -OH-Pn	DHEA	Androstènediol	6 β -OH-Pg	11 α -OH-Pg
Anœstrus	++	—	(+)	+++	+	+++	+++		—
Activité sex.	+++	(+)	(+)	++	+	+++	+++	+	—
Gestation	+++	(+)	(+)	++	+	+++	+++	+	—
Hyperplasies	++	+	(+)	+++	+	+++	+++		—

Coupes témoins : incubées en l'absence de substrat.

Abréviations : Pn : Prénénolone.

 DHEA : Déhydroépiandrostéone.

 Pg : Progestérone.

E₁ : Œstrone.

E₂ : Œstradiol.

E₃ : Œstriol.

TAI

Équipement stéroïdogène du n. i. h., du corps jaune et du cortex

Activité : — : nulle ; (+) : très faible

	Succinate de Na	3 α -HSD		Δ_5 -3 β -HSD				6 β -HSD	11 α -HSD
		Androstérone	Étiocholanolone	Pn	17 α -OH-Pn	DHEA	Androstènediol	6 β -OH-Pg	11 α -OH-Pg
N. i. h.	+++	(+)	(+)	++	+	+++	+++	+	—
Corps jaune	+++	(+)	—	++	(+)	+++	+++	+	(+)
Cortex surrénalien	+++	—	—	+++	(+)	+++	+++	++	(+)

Coupes témoins incubées sans substrat.

Abréviations : Pn : Prénénolone.

 DHEA : Déhydroépiandrostéone.

 Pg : Progestérone.

E₁ : Œstrone.

E₂ : Œstradiol.

E₃ : Œstriol.

AU 4
succino oxydase au niveau du n. i. h. chez le Hérisson
- : faible ; ++ : moyenne ; +++ : forte

11 β-HSD		16 α-HSD		16 β-HSD		17 α-HSD	17 β-HSD		20 α-HSD		20 β-HSD
11 β-Androstènediol	Cortisol	16 α-OH-E ₁	E ₃	16 β-OH-E ₁	Épi E ₃	17 α-E ₂	Testo	17 β-E ₂	20 α-OH-Pg	Pregnanediol	20 β-OH-Pg
(+)	(+)	—	—	—	—	—	+	+	(+)	(+)	—
—	(+)	—	—	—	—	—	—	+	(+)	(+)	(+)
(+)	(+)	—	—	—	—	—	(+)	(+)	(+)	+	(+)
(+)	(+)	—	—	—	—	—	(+)	(+)	(+)	+	(+)

AU 5
surrénalien chez le Hérisson pendant la phase d'activité sexuelle
- : faible ; ++ : moyenne ; +++ : forte

11 β-HSD		16 α-HSD		16 β-HSD		17 α-HSD	17 β-HSD		20 α-HSD		20 β-HSD
11 β-Androstènediol	Cortisol	16 α-OH-E ₁	E ₃	16 β-OH-E ₁	Épi E ₃	17 α-E ₂	Testo	17 β-E ₂	20 α-OH-Pg	Pregnanediol	20 β-OH-Pg
—	(+)	—	—	—	—	—	—	+	(+)	(+)	(+)
—	(+)	—	—	—	—	(+)	—	(+)	(+)	—	—
—	++	—	—	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	—	—

Cette homogénéité des types cellulaires est sans doute due à deux processus s'opérant de façon simultanée :

- une croissance cytoplasmique et nucléaire des cellules interstitielles de type 1 ;
- une diminution quantitative des précurseurs stockés dans les cellules hypertrophiées de type 2 au profit de la libération d'un produit de synthèse.

2. *Hyperplasies interstitielles.*

Les ovaires de certaines femelles présentent des nodules de grande dimension (2 à 5 mm de diamètre). De forme grossièrement sphérique (fig. 4, p. II) ils sont surtout composés de cellules interstitielles hypertrophiées de types 2 et 3. On ne les observe que chez des animaux très âgés dont les ovaires, parfois kystiques, sont pauvres en follicules.

Ces hyperplasies apparaissent chez 70 p. 100 des vieux hérissons (âge ≥ 4 ans environ). L'appréciation de l'âge se fait par examen de l'animal : aspect externe, état de la denture et coloration de l'utérus et du vagin (rosé chez les jeunes et les adultes, orangé chez les vieilles femelles).

Nous avons examiné 24 ovaires porteurs d'une telle hyperplasie, un vingt-cinquième étant atteint d'une tumeur selon toute vraisemblance d'origine interstitielle.

En raison de l'importance de la population étudiée nous avons pu observer les différentes étapes du processus de tumorigénèse :

— Dans un premier temps le n. i. h. hyperplasié est remarquable par le nombre et l'hypertrophie des cellules interstitielles de type 2 ; il n'y a pas de mitose.

— Ensuite, certaines se transforment en cellules de type 3, en se lysant celles-ci entraînent l'apparition de lacunes (fig. 5, pl. II).

— Le tissu se désorganise, les cellules n'ont plus leur forme polyédrique caractéristique.

— La glande interstitielle perdrait ensuite son individualité et envahirait les autres tissus ovariens. A ce stade (I cas), on peut observer la présence de nombreux composés lipoprotéiques, probablement d'origine lytique (fig. 6, pl. II).

F. — *Analyse histoenzymologique*

Trente-neuf ovaires ont été soumis à l'analyse histoenzymologique. Les résultats sont consignés dans le tableau 4.

Pour les enzymes prises en considération il n'y a pas chez le Hérisson de variation sensible d'activité enzymatique en fonction du cycle reproducteur annuel.

Deux enzymes sont nettement mises en évidence : la succino oxydase et la $\Delta_5-3\beta$ -HSD.

— L'activité succino déshydrogénase suggère l'existence d'un métabolisme élevé (égal à celui du corps jaune) au niveau du n. i. h. pendant toutes les phases du cycle reproducteur annuel.

L'étude de cette enzyme confirme que les cellules interstitielles de type 1 sont bien inactives (fig. 1, pl. III).

— La $\Delta_5-3\beta$ -HSD est abondante au sein du n. i. h. hyperplasié ou non, le dépôt de diformazan, fort important, y est sensiblement égal toute l'année (fig. 2 et 4, p. III). (L'androstènediol et la D. H. E. A. permettent d'obtenir les meilleurs résultats).

Pendant l'ancœstrus hivernal, le n. i. h., hyperplasié ou non, est le seul tissu ovarien présentant une forte activité Δ_5 -3 β -HSD.

D'autres HSD ont été mises en évidence dans les cellules de l'interstitielle hilare ; les 3 α -, 6 β - et 17 β -HSD sont après la Δ_5 -3 β -HSD, les enzymes les mieux représentées (fig. 3, pl. IV).

— Les équipements enzymatiques des différents types de corps jaune et du n. i. h. (hyperplasié ou non) ont été comparés (tabl. 5).

Les résultats indiquent qu'il n'existe pas de différence qualitative ou quantitative sensible entre les potentialités sécrétoires de ces deux tissus.

— Afin de mieux connaître la nature et l'origine du n. i. h. nous avons procédé à une analyse comparative des enzymes de la stéroïdogénèse et de la corticosurrénale et de l'interstitielle ovarienne (tabl. 5).

Le cortex surrénalien ne montre aucune activité 3 α -HSD, ni 20 β -HSD, par contre, les 20 α - et 6 β -HSD y sont plus abondantes qu'au niveau du n. i. h. Avec le cortisol, le cortex développe une belle activité 11 β -HSD.

On ne peut donc pas assimiler le n. i. h. du Hérisson aux « Adreno Cortical Like cells » décrites par DUKE (1952), CHESTER-JONES (1963) et MOSSMAN (1965) dans le hile de l'ovaire d'autres Mammifères.

III. — DISCUSSION

Le n. i. h. apparaît chez la femelle impubère vers l'âge de 3 mois. Cette genèse peut être induite expérimentalement par des gonadotropines. Son apparition résulte donc de l'élévation gonadotrope prépubertaire.

Il n'est pas apparu de différence d'action entre LH et FSH mais l'expérimentation ayant été effectuée chez des animaux entiers, il est possible qu'un effet de synergie ait joué.

Les gonadotropines permettraient la différenciation des cellules de certains tubules du *rete ovarii* ou (et) de cellules conjonctives situées à leur contact, en cellules interstitielles, aboutissant ainsi à la formation du n. i. h.

Nous avons montré que les cellules interstitielles (type 2) de l'ovaire du Hérisson sont soumises à des variations morphologiques cycliques et qu'elles synthétisent des stéroïdes.

Cette évolution est analogue à ce qui est observé au niveau de la glande interstitielle des autres espèces. Chez ces dernières, les cellules interstitielles sont toujours hypertrophiées avant ou au moment de l'ovulation ; elles marquent un net fléchissement peu de temps après (HERLANT, 1956 ; MOSSMAN, 1964 ; KOERING, 1969).

Comme la glande interstitielle des autres Mammifères, le n. i. h. pourrait sécréter un stéroïde ayant un rôle (inconnu) au moment de l'ovulation.

Il est délicat de tirer une conclusion ferme sur l'activité stéroïdogène après la seule analyse histoenzymologique, le défaut principal de cette technique étant la fuite de certaines enzymes solubles dans le milieu d'incubation. Cette solubilité varie suivant la localisation intracellulaire de l'enzyme, le tissu et parfois même l'espèce animale.

La 20 α -HSD est réputée soluble chez la Lapine où son activité est forte au sein de l'interstitielle ovarienne (HILLIARD *et al.*, 1967, 1969). Chez le Rat, BALOGH (1964) ne la révèle que difficilement alors que chez la Taupe, GOUGEON (1972) met en évidence, à l'aide de cette technique histoenzymologique, non seulement son abondance, mais des variations cycliques importantes de son niveau d'activité.

Chez le Hérisson, cette méthode nous permet de faire quelques remarques :

— Il est intéressant de noter la similitude existant entre les équipements enzymatiques du n. i. h. et du corps jaune.

— Comme de plus, la Δ_5 -3 β -HSD est l'enzyme la plus active, une synthèse de progestérone, par le n. i. h. peut être envisagée.

Cependant, seule une étude plus approfondie permettra de vérifier cette hypothèse déjà démontrée chez le Rat (UCHIDA *et al.*, 1969 ; ARMSTRONG *et al.*, 1969), le Macaque (KOERING, 1969), le Hamster (LUKASZEWSKA et GREENWALD, 1970).

Le n. i. h. présente toujours, quelle que soit la phase du cycle reproducteur annuel, une stéroïdogenèse et un métabolisme général importants. Cette activité reflète-t-elle l'existence d'une sécrétion continue? Les cellules interstitielles sont hypertrophiées et bourrées de graisses dans deux cas : pendant l'anœstrus hivernal et quand le n. i. h. est hyperplasié.

Bien que la coloration par le noir Soudan B et le test de Schultz soient négatifs, ces lipides peuvent être composés de cholestérol, car de nombreuses glandes endocrines stéroïdogènes contiennent des réserves de cholestérol lié, histochimiquement impossible à mettre en évidence (GURAYA, 1973).

Les cellules interstitielles hypertrophiées ne synthétiseraient pas de stéroïde biologiquement actif, mais stockeraient du cholestérol lié, mobilisable pour une stéroïdogenèse ultérieure. Certaines observations confirment l'inactivité sécrétoire de ce type cellulaire, notamment l'absence de différence histologique significative entre les effecteurs sexuels des animaux, que le n. i. h. soit hyperplasié ou non.

— Ces cellules interstitielles hypertrophiées se rencontrent pendant l'anœstrus hivernal et au niveau des n. i. h. hyperplasiés (donc chez de vieux animaux). Dans ces deux cas LH est peu ou pas libérée. Or cette hormone favorise la synthèse de la progestérone à partir du cholestérol estérifié, en activant la cholestérol-estérase (ARMSTRONG *et al.*, 1969). Sa libération aurait pour résultat de mobiliser le cholestérol lié, provoquant ainsi une réduction des graisses stockées donc de la taille des cellules.

Comment interpréter la mise en évidence d'une forte activité Δ_5 -3 β -HSD au niveau des cellules interstitielles hypertrophiées?

Ces cellules ne sécrèteraient pas en raison du freinage s'exerçant au niveau de la cholestérol-estérase. Cependant, la stéroïdogenèse peut normalement se poursuivre si on introduit dans le milieu d'incubation le stéroïde dont la synthèse est bloquée expliquant ainsi l'observation d'un dépôt de diformazan.

Ultérieurement, l'injection de LH à des animaux en anœstrus hivernal ou porteurs d'un n. i. h. hyperplasié permettrait de vérifier si cette hormone favorisant la mobilisation du cholestérol, entraîne une diminution de volume des cellules interstitielles hypertrophiées. De plus, la nature du stéroïde synthétisé pourrait être éclaircie par l'incubation, avec et sans LH, de nodules hyperplasiés en présence de précurseurs marqués.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le professeur CANIVENC de nous avoir accueilli au Centre d'Études biologiques des Animaux sauvages du C. N. R. S., le professeur PEYRE au Laboratoire duquel le présent travail a été effectué et le professeur THIBAUT des conseils et de l'aide matérielle qu'il nous a apportés.

SUMMARY

ORIGINAL ASPECTS OF THE OVARIAN INTERSTITIAL GLAND
IN THE HEDGEHOG : MORPHOLOGY, HISTOGENESIS, HYPERPLASIA,
STEROIDOGENIC ENZYMES

The ovarian interstitial gland in the European hedgehog is in the form of a nodule located at the hilum ; it is called the hilar interstitial nodule (n. i. h.).

Situated near the rete ovarii tubules, it only appears in the young female at 3 months (6 to 9 months before puberty), but may be induced earlier by LH or (and) FSH.

It results from the evolution of certain rete ovarii tubule cells and its volume increases progressively due to the contribution and differentiation of spindle-shaped connective cells from the ovarian medulla.

Histoenzymologic analysis shows that n. i. h. steroidogenic enzymes resemble those of the corpus luteum. Δ_5 -3 β -HSD is the most active enzyme, and 17 β - and 6 β -HSD are also determined.

Decrease in interstitial cell volume during the period of sexual activity expresses hormone synthesis followed by secretion.

The n. i. h. is subject to hyperplasia in old animals (≥ 4 years). The nodule then becomes large (2-5 mm in diameter). Hypertrophied interstitial cells constitute the only cell type and there is no mitosis.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARMSTRONG D. T., MILLER L. S., KNUDSEN K. A., 1969. Regulation of metabolism and progesterone production in Rat corpora lutea and ovarian interstitial tissue by prolactin and luteinizing hormone. *Endocrinology*, **85**, 394-401.
- ASCHHEIM P., 1968. Contenu hypophysaire en hormone lutéinisante (LH) et réaction histophysiologique à la LH circulante du tissu interstitiel ovarien chez divers types de Rattes séniles. *C. R. Acad. Sci.*, **267**, 1397-1400.
- ATHIAS M., 1923. Sur la signification des phénomènes d'atrésie folliculaire et des cellules interstitielles de l'ovaire. *C. R. Séanc. Soc. Biol.*, **88**, 1315-1318.
- BALBONI G. C., 1969. Observations on the ovary of the Hedgehog (*Erinaceus europæus*) in physiological and experimental hibernation and awakening. *Acta Anat., suppl.*, **56**, 60-71.
- BAILLIE A. H., FERGUSON M. M., MCHART D., 1966. *Development in steroid histochemistry*, 186 p. Acad. Press, London and N. Y.
- BALOGH K., 1964. A histochemical method for the demonstration of 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity in rat ovary. *J. Histochem. Cytochem.*, **12**, 670-673.
- CHESTER-JONES I., HENDERSON I. W., 1963. The ovary of the 13-lined ground squirrel (*Citellus tri-decemlineatus* MITCHELL) after adrenalectomy. *J. Endocr.*, **26**, 265-272.
- DEANESLY R., 1934. The reproductive processes of certain mammals. Part IV : The reproductive cycle, of the female Hedgehog. *Ph. Trans. r. Soc. London*, **233 B**, 239-276.
- DUKE K. L., 1952. Ovarian histology of Ochotona princeps : the rocky mountain pika. *Anat. Rec.*, **112**, 737-759.
- GIROD C., DUBOIS P., CURE M., 1967. Recherches sur les corrélations hypophysogénitales chez la femelle de Hérisson (*Erinaceus europæus* L.). *Ann. Endocrinol.*, **28**, 581-610.
- GOUGEON A., 1972. *Analyse histologique et histoenzymologique de l'interstitielle ovarienne chez deux Insectivores européens : la Taupe (Talpa europea) et le Hérisson (Erinaceus europeus)*. Thèse de 3^e cycle, Physiologie animale, Paris, 112 p.

- GURAYA S. S., 1973. Interstitial gland tissue of mammalian ovary. *Acta Endocr. Copenh.*, **72**, suppl. **171**, 5-27.
- HILLIARD J., PENARDI R., SAWYER C. H., 1967. A functional role for 20 α -hydroxy pregn-4-en-3-one in the Rabbit. *Endocrinology*, **80**, 901-909.
- KOERING M. J., 1969. Cyclic changes in ovarian morphology during the menstrual cycle in *Macaca mulatta*. *Amer. J. Anat.*, **126**, 73-101.
- LEVY H., DEANE H. W., RUBIN B. L., 1959. Visualisation of steroid-3 β -ol-dehydrogenase activity in tissue of intact and hypophysectomised rats. *Endocrinology*, **65**, 932-942.
- LIMON M., 1902-1903. Étude histologique et histogénique de la glande interstitielle de l'ovaire. *Arch. Anat. micr. Morphol. expér.*, **5**, 155-188.
- LUKASZEWSKA J. H., GREENWALD G. S., 1970. Progesterone levels in the cyclic and pregnant Hamster. *Endocrinology*, **86**, 1-9.
- MARCHAL-DACHEUX F., PEYRE A., 1970. Variations saisonnières des hydroxystéroïdo-déshydrogénases ($A_3-3\beta$ et 17β) dans l'ovaire de Hérisson : *Erinaceus europaeus*. *C. R. Soc. Biol.*, **164**, 2084.
- MOSSMAN H. W., 1966. The rodent ovary. In : *Comparative biology of reproduction in mammals*, ROWLANDS I. W. ed., Acad. Press London and N. Y., 455-470.
- NACHLAS M. M., TSOU K. C., DESOUZA E., CHENG C. S., SELIGMAN A. M., 1957. Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p. nitro phenyl substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.*, **5**, 420-436.
- PONSE K., 1966. Action de LH sur l'ovaire. In : *Fonction endocrinienne de l'ovaire*, JAYLE F. ed., Gauthiers-Villars, Paris, 17-52.
- SOLARI A., 1973. Étude quantitative d'organes et de tissus. I. Méthode d'estimation des volumes. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **13**, 247-265.
- UCHIDA K., KADOWAKI M., MIYAKE T., 1969. Ovarian secretion of progesterone and 20 α -hydroxy-pregn-4-en-3-one during rat estrous cycle in chronological relation to pituitary release of luteinizing hormone. *Endocr. Jap.*, **16**, 227-237.
- VELLOSO DE PINHO A., 1923. Atrésie de l'épithélium folliculaire ovarique chez les Mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, **88**, 830-833.
- WALIN T., SOIVIO A., KRISTOFFERSON R., 1968. Histological changes in the reproductive system of female Hedgehogs during the hibernation season. *Ann. Zool. Fenn.*, **5**, 227-229.
- WATTENBERG L. W., 1958. Microscopic histochemical demonstration of steroid 3- β -dehydrogenase in tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.*, **6**, 225-232.

PLANCHE I

FIG. 1

N. i. h. enclavé dans un conjonctif lâche chez une femelle en reprise d'activité génitale (printemps). Les cellules interstitielles ont toutes la même taille ($\times 160$).

FIG. 2

Proximité des tubules du *rete ovarii* (r. o.) et du n. i. h. ($\times 250$).

FIG. 3

N. i. h. jeune ; sa taille et sa forme sont semblables à celles des tubules du *rete ovarii* (r. o.) dont il semble dériver ($\times 100$).

FIG. 4

Transformation de cellules des tubules du *rete ovarii* (r. o.) en cellules interstitielles. Le n. i. h. renferme des cellules interstitielles de type 1 et de type 2 ($\times 250$).

PLANCHE II

FIG. 1

Cellules interstitielles inactives de type 1. ($\times 1000$)

FIG. 2

Cellules interstitielles de type 2. ($\times 1000$)

FIG. 3

Cellules interstitielles de type 2 (hypertrophiées) et de type 3 (hyperplasie interstitielle). ($\times 1000$)

FIG. 4

Hyperplasie interstitielle. ($\times 25$)

FIG. 5

Evolution lytique de cellules interstitielles de type 3 entraînant l'apparition de lacunes. ($\times 250$)

FIG. 6

Tumeur ayant pour origine un n. i. h. hyperplasié ; la plupart des cellules dégénèrent. ($\times 1000$)

PLANCHE III

FIG. 1

Succino déshydrogénase, anœstrus hivernal ; les cellules de type 1 (C. 1) sont moins actives que les cellules de type 2 (C. 2). ($\times 100$)

FIG. 2

Forte activité Δ_5 -3 β -HSD (substrat : D. H. E. A.) au sein du n. i. h. pendant la reprise d'activité génitale. ($\times 100$)

FIG. 3

Faible activité 17 β -HSD (substrat : œstradiol-17 β) au sein du n. i. h. pendant la reprise d'activité génitale. ($\times 160$)

FIG. 4

n. i. h. hyperplasié chez une femelle gestante.
(Activité Δ_5 -3 β -HSD). ($\times 10$)