

CLASSIFICATION DES FOLLICULES OVARIENS : PRINCIPES ET MÉTHODES D'ÉTUDE

J.-C. MARIANA

*Station de Physiologie de la Reproduction,
Centre de Recherches de Tours, I. N. R. A.,
37 - Nouzilly*

RÉSUMÉ

Les follicules ovariens de la ratte adulte ont été classés en trois grandes catégories à partir de critères morphologiques objectifs et quantitativement mesurables de type allométrique.

Le follicule ovarien peut être défini comme un ensemble multicellulaire qui croît à partir d'un primordium. Cette croissance est à la fois qualitative et quantitative ; elle est fonction de l'âge et de l'état du follicule au cours de la croissance elle-même.

La croissance qualitative se traduit par des modifications de forme, de structure (ADN de l'ovocyte), ultrastructure, activité enzymatique et dépend aussi de la direction des multiplications cellulaires (WEAKLEY, 1966).

La croissance quantitative est globalement exprimée par une augmentation de volume résultant d'une multiplication des cellules de la thèque et de la granulosa, par une augmentation de la taille de l'ovocyte, par une augmentation du volume des espaces intercellulaires.

Ainsi, de nombreux auteurs ont essayé de donner une image de l'état folliculaire :

1° soit, en comptant le nombre des cellules entourant l'ovocyte,

2° soit, en mesurant le volume ou la surface de la section du follicule contenant le nucléole de l'ovocyte par estimation de deux diamètres orthogonaux de cette section.

PETERS et PEDERSEN (1968) ont résumé la bibliographie de ces techniques d'analyse.

Ces différents critères permettent certainement une analyse rapide de la réponse globale de l'ovaire à différentes hormones (MAULÉON, 1965), mais ils sont peu discriminants pour analyser des actions plus fines.

C'est pourquoi nous nous attacherons dans cet article à proposer des critères d'étude de la croissance folliculaire de ratte adulte permettant d'établir une classification et un classement des follicules, soit directement au moment de la lecture, soit après analyse statistique (DAGNELIE, 1966 ; TOMASSONE, 1967).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour ce travail, nous avons utilisé des rattes *Wistar* adultes de 3 à 6 mois.

Les ovaires de rattes ont été prélevés et immédiatement fixés au Bouin Hollande sublimé, inclus et coupés à 10 μ d'épaisseur ; les coupes ont été montées en série et colorées par le APS-Hémalum. Cette coloration visualise très bien les membranes dans les tissus déjà adultes et permet de voir la membrane basale des follicules ; l'Hémalum est suffisant pour mettre en évidence les nucléoles des ovocytes.

A d'autres rattes, nous avons injecté de la thymidine tritiée, à raison de 2 microcuries par gramme de poids vif, les animaux étant répartis en plusieurs lots : le 1^{er} lot traité à l'œstrus, le second 6 heures après, le troisième 12 heures après, etc., l'intervalle entre chaque traitement et le suivant étant ainsi de 6 heures sur l'ensemble d'un cycle. Les ovaires des rattes ont été prélevés 1 heure après l'injection de thymidine, fixés, traités selon les techniques classiques de l'autoradiographie et colorés par le Feulgen vert lumière.

Les coupes ont été examinées au microscope ordinaire (les grossissements étant de 320 et 800 fois).

Pour les mesures, nous avons utilisé un réticule oculaire constitué de 6 rayons écartés de 60°, chaque rayon étant régulièrement divisé en intervalles égaux.

Les critères sont : la forme des cellules folliculaires, leur situation dans l'ensemble cellulaire de la granulosa, le nombre de cellules des différentes couches, l'importance des espaces intercellulaires et, le cas échéant, les mitoses et leur orientation.

La difficulté à définir avec précision les limites externes des thèques nous a conduit à ne considérer que l'ensemble (granulosa et ovocyte) limité par la membrane basale.

Pour étudier l'homogénéité de la granulosa, l'isotropie des cellules dans une direction radiale (LIPNER et CROSS, 1968), l'homogénéité des multiplications cellulaires dans le mur de la granulosa, nous avons utilisé le réticule précédent, en plaçant son centre sur le nucléole de l'ovocyte et les rayons orientés au hasard sur le follicule.

On compte alors le nombre de noyaux des cellules de la granulosa rencontré par chaque rayon du réticule et ceci de la membrane basale à la pellucide, ainsi que leur répartition dans les différents intervalles déterminés sur les rayons par les points de division ; on fait de même avec les espaces intercellulaires ; chaque rayon constitue ainsi un échantillon (de HOFF, 1967).

Les critères ou des fonctions des critères pourront être utilisés ultérieurement en analyse multivariée pour définir des classes ou des étapes à l'intérieur de chaque phase de la croissance du follicule.

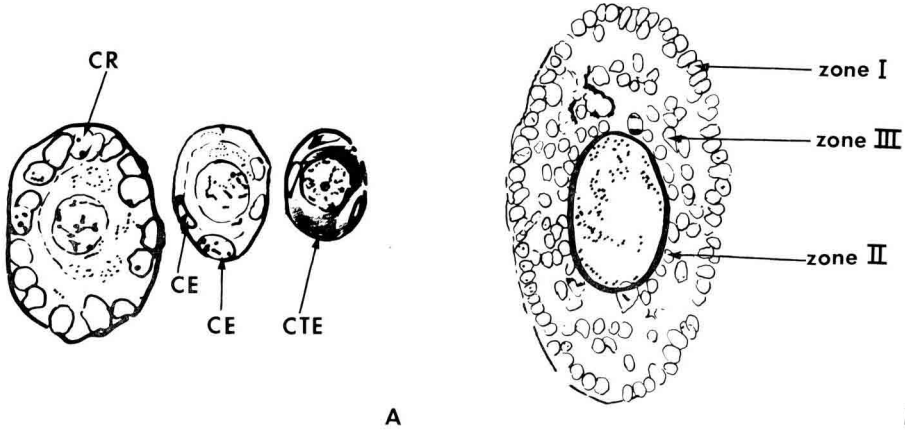
RÉSULTATS

I. — *Follicules à une seule couche cellulaire*

Dans cette catégorie, nous avons distingué trois grands types de cellules folliculeuses : les cellules à noyau en croissant et plat, les cellules à noyau ellipsoïdal et les cellules à noyau rond (fig. 1 A). Dans un même follicule, les trois types cellulaires peuvent voisiner. Les follicules dont les cellules sont toutes à noyau rond

correspondent à une phase de démarrage de la croissance, alors que les follicules dont les cellules sont toutes à noyau allongé ou ellipsoïdal n'ont pas encore commencé leur croissance.

En effet, seules les cellules à noyau rond sont marquées en phase S du cycle cellulaire après injection de la thymidine tritiée à la ratte.



A

FIG. 1

B

(A) Détail des types cellulaires entourant le follicule à une seule couche

CTE: Cellule à noyau très allongé

CE: Cellule à noyau ellipsoïdal

CR: Cellule à noyau rond

(B) Détail des zones de peuplement cellulaire dans un follicule à 3 couches

Les figures A et B ont été obtenus par dessin d'une image projetée

2. — Follicules en croissance

a) La croissance du follicule se poursuit par la multiplication des cellules de cette première couche basale et lorsque leur nombre dépasse 26 ± 6 , un certain nombre d'entre elles se détache vers la périphérie de l'ovocyte et constituent une deuxième couche cellulaire périovocytaire (fig. 2).

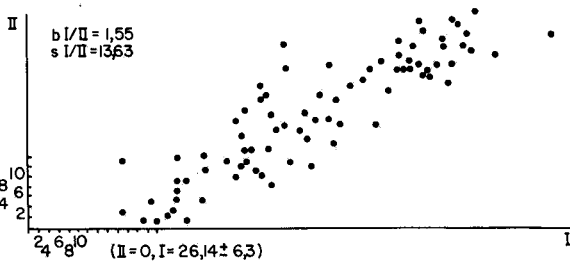


FIG. 2. — Régression du nombre de cellules de la couche I sur le nombre de cellules de la couche II

L'importance de la zone I semblant conditionner celle des zones II et III, nous avons examiné l'éventualité d'une régression linéaire du nombre de cellules de la zone II (resp. III) par rapport à celui de la zone I. Les deux régressions sont linéaires

et nous ont permis de déduire à partir de quel nombre de cellules minimum de la zone I, la zone II (resp. III) se développait.

Quand le nombre des cellules de la première couche atteint 51 ± 3 , des cellules peuplent l'espace entre les couches cellulaires précédemment définies et s'y multiplient (fig. 3, fig. 1 B).

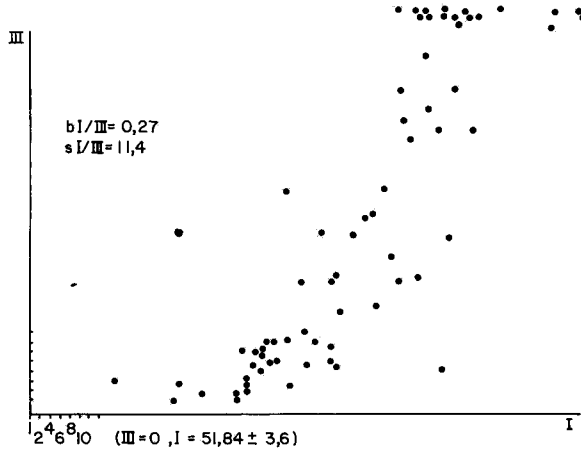


FIG. 3. — Régression du nombre de cellules de la couche I sur le nombre de cellules de la couche III

Cette description de la croissance se fait donc en précisant l'existence des trois niveaux cellulaires et en dénombrant les cellules de chacun d'eux.

b) Au-delà de 100 cellules en zone I, les trois zones précédentes se confondent : la zone III augmente par automultiplication et apport de zones I et II. Les mitoses de la zone II sont souvent perpendiculaires à la pellucide ; ce groupe correspond à un stade de croissance plus important (fig. 4 A et B).

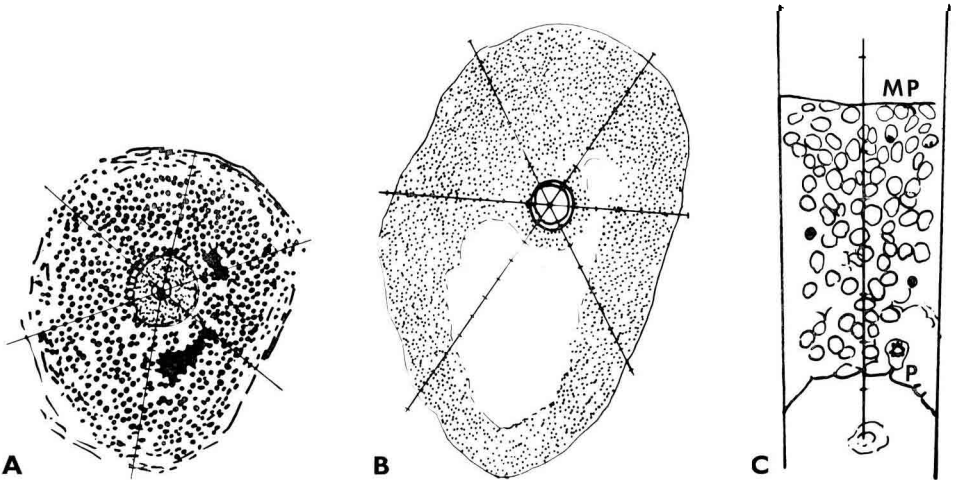


FIG. 4

Deux stades folliculaires (A) et (B) et application du réticule
Détail du rayon du réticule (C)

appliqué sur l'épaisseur de la granulosa de la membrana propria (M. P.) à la pellucide P

3. — *Étude de l'homogénéité de la distribution des cellules de la granulosa*

Comme nous l'avons indiqué précédemment, les critères retenus pour cette étude sont : le nombre moyen de cellules rencontrées par un rayon du réticule de la membrana propria à la pellicule et le pourcentage moyen d'espaces intercellulaires le long du rayon du réticule.

Ces critères nous ont permis d'obtenir des informations sur les dimensions du follicule, la répartition des cellules de la granulosa, l'importance et la répartition de l'antrum. Ainsi, à titre d'exemple, les caractéristiques d'un follicule au début de la phase de formation d'antrum et d'un follicule à antrum pleinement formé sont rapportées dans le tableau I. Dans le cas du follicule à antrum pleinement formé, nous avons assorti les valeurs trouvées pour les différents critères, non pas de l'écart type, mais de l'étendue des réponses, compte tenu de l'hétérogénéité (fig. 4 B).

TABLEAU I

Caractéristiques de deux types de follicules à antrum

Caractéristiques	Follicule en début de formation d'antrum	Follicules à antrum formé
Nombre moyen de noyaux rencontrés par un rayon	6,1	8,5 (2-13)
Nombre moyen d'intervalles par rayon occupé par des noyaux	5,2	4 (2-6)
Nombre moyen d'intervalles de la <i>membrana propria</i> à la pellicule	7	5,8 (4-7)
P. 100 moyen de vides extracellulaires le long d'un rayon	0,29	0,51 (0,2-0,83)

Ces différents critères peuvent être modifiés, combinés à d'autres pour définir des indices adaptés au problème d'analyse qu'on se propose.

En conclusion, nous avons distingué trois grands types folliculaires avec pour chacun d'eux une description quantitative et qualitative.

Ces critères quantitatifs pourront être les éléments de départ d'une analyse en composantes principales, à l'issue de laquelle nous pourrions définir une hiérarchie des types folliculaires, cette hiérarchie étant l'image de compartiments de croissance folliculaire.

Par ailleurs, cette description plus fine nous permettra de déceler des signes précoces de dégénérescences ou de modifications endocrines.

Reçu pour publication en février 1972.

SUMMARY

CLASSIFICATION OF OVARIAN FOLLICLES

The ovarian follicles of the adult rat have been classified in three large classes by mean of objective morphological criteria that can be quantitatively measured as allometrical characters.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DAGNELIE P., 1968. Introduction aux problèmes et aux méthodes de classification numérique. *Bio-métr.-Praxim.*, **9**, 85.
- de HOFF R. T., 1967. Sampling of material and statistical analysis in quantitative stereology. In *Stereology, Proceedings of the second congress for stereology*, Chicago. H. ELIAS ed., Springer-Verlag, 119-130.
- LIPNER H., CROSS N. L., 1968. Morphology of *membrana granulosa* of the ovarian follicle. *Endocrinology*, **82**, 638-641.
- MAULÉON P., 1967. Cinétique de l'ovogenèse chez les mammifères. *Arch. Anat. Microsc. Morph. exp.*, **56**, suppl. 3-4, 125-150.
- PETERS H., PEDERSEN T., 1968. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *J. Reprod. Fert.*, **17**, 555-557.
- TOMASSONE R., 1967. Discrimination et classement. *Séminaire de probabilités et statistiques*, Nancy.
- WEAKLEY B. S., 1966. Electron microscopy of the oocyte and *granulosa* cells in the developing ovarian follicles of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Anat.*, **100**, 503-534.
-