

FOLLICULOGENÈSE CHEZ LA VACHE

J.-C. MARIANA et N. NGUYEN HUY (1)

avec la collaboration technique de Marie-José MANICOM

*Station de Physiologie de la Reproduction, I. N. R. A.,
B. P. 1, Nouzilly, 37380 Monnaie (France)*

RÉSUMÉ

Il existe vraisemblablement une phase de croissance active des follicules de 200 à 500 μ au début du cycle œstrien de la vache et une autre vers le 12^e jour du cycle pour les follicules de 500 μ à 1 580 μ .

Les effectifs folliculaires sont très variables d'un animal à l'autre, mais semblent corrélés pour chaque animal et indépendamment du moment du cycle avec le nombre de follicules de 150 à 680 μ .

La superovulation avec PMSG injectée à J₄ (800 UI ou 1 000 UI) et à J₁₆ (800 UI) augmente le nombre total de follicules mais semble conserver un pourcentage convenable de follicules atrophiques par rapport aux follicules normaux.

Enfin l'ovaire semble être soumis à des régulations internes mal connues.

INTRODUCTION

Depuis les travaux de RAJAKOSKI (1960) sur la croissance des follicules de l'ovaire de vache, de nombreuses questions restent posées.

Ainsi, les auteurs ne sont pas unanimes sur le nombre des poussées de croissance folliculaire au cours du cycle.

RAJAKOSKI (1960) repousse l'hypothèse d'une croissance continue d'une seule vague folliculaire au cours d'un cycle, car alors il n'observerait pas l'atrésie d'un trop gros follicule le 11^e jour.

MARION et GIER (1971) ne trouvant pas de variation cyclique du nombre des follicules de taille supérieure à 5 mm concluent que la croissance des follicules est continue et indépendante des moments du cycle.

(1) Ingénieur I. T. E. B. : 149, rue de Bercy, 75012 Paris.

Les uns et les autres se trouvent aux prises avec plusieurs mécanismes physiologiques très intriqués.

Le premier est celui du renouvellement des poussées folliculaires : ce processus consiste en la naissance d'une ou plusieurs vagues à partir d'un pool ; puis en leur atrésie ou leur ovulation. Si l'ovulation est facile à définir, l'atrésie l'est beaucoup moins et reste difficile à préciser à cause de la rémanence des follicules atrétiques dans l'ovaire.

Le deuxième est celui de la croissance d'un follicule : on ignore encore la courbe de croissance complète d'un follicule, cette courbe présentant certainement plusieurs paliers (De REVIERS et MAULÉON, 1973) correspondant à des vitesses de croissance différentes.

Le troisième problème est celui de la constitution du pool de départ des follicules actifs, c'est-à-dire, des follicules qui permettent le renouvellement et cette croissance folliculaire.

Ces différentes analyses ont été faites chez la Souris par PETERS (1971) au moyen du marquage des follicules par la thymidine tritiée, ceci est le moyen idéal d'étude d'une dynamique car il permet de mémoriser la croissance du follicule avant sa fixation histologique ; malheureusement, chez la Vache cette étude ne peut être envisagée pour des raisons économiques.

Par ailleurs l'analyse histologique ponctuelle des ovaires de différents animaux prélevés à différents moments du cycle ne permet pas de reconstituer la photo de départ du processus, les deux raisons principales étant la dispersion de la longueur du cycle et la très grande variabilité du nombre des follicules entre animaux ; on peut cependant espérer que les relations existant entre les différentes classes folliculaires seront plus stables et moins variables d'un animal à l'autre que les effectifs folliculaires eux-mêmes, c'est ce que nous avons essayé d'examiner au moyen d'une étude histologique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude suivante a été réalisée en septembre, octobre sur des vaches *F. F. P. N.*-primipares. Les chaleurs des animaux ont été prises matin et soir à l'aide de taureaux vasectomisés et nous conviendrons d'appeler J_0 le moment où l'animal est observé en chaleur pour la première fois. Les animaux ont été abattus tous les deux jours à partir du jour des chaleurs. Sur deux animaux on a pratiqué un traitement de superovulation en injectant 800 UI de PMSG le 6^e jour du cycle et soit 800 UI soit 1 000 UI au 16^e jour du cycle, ces deux animaux ont été abattus au début des chaleurs.

Les ovaires prélevés immédiatement après abattage ont été fixés *in toto* dans le Bouin Hollande sublimé, inclus dans la paraffine et des coupes de 10 μ d'épaisseur ont été réalisées. Pour l'analyse histologique, il a été conservé 1 coupe sur 5, la coloration utilisée a été le trichrome de Mallory.

Les follicules ont été localisés et le profil de chacun d'eux limité à la membrane basale a été décalqué. Pour cela nous avons utilisé un projecteur Leitz grossissant 8,1 fois.

Chaque follicule est ensuite examiné plus en détail avec un microscope à projection ($\times 125$, $\times 340$, $\times 770$). Pour chaque follicule on a mesuré trois diamètres orthogonaux et le rayon de la sphère de même volume que le follicule est à un coefficient près, la moyenne géométrique de ces 3 diamètres, c'est ce rayon que nous considérerons par la suite.

En ce qui concerne l'atrésie, nous avons utilisé les critères d'atrésie définis par RAJAKOSKI (1960), GIER, CHOUDARY, (1968), ERICKSON, (1966). Nous n'avons cependant pas conservé les formes extrêmes d'atrésie car il est très difficile de les dater et les formes régressées entraînent un biais dans l'estimation des tailles.

Il est souvent difficile de distinguer l'atrésie réelle des formes anormales entraînées par le traitement histologique des ovaires et ceci est particulièrement net pour les gros follicules présents au moment de l'ovulation ; cette difficulté avait déjà été signalée par RAJAKOSKI et nous ne l'avons pas esquivée.

EXPRESSION DES RÉSULTATS

Nous avons regroupé les follicules en 7 classes selon leur diamètre (diamètre de la sphère de volume équivalent), les extrémités des classes forment une progression géométrique dont nous avons calculé la raison, après avoir fait l'inventaire de toutes les tailles possibles observées au cours du cycle, et de façon à avoir un nombre suffisant de classes : elle est égale à 2,3.

La classe inférieure n'est pratiquement pas représentée car elle correspond à des follicules observables mais non repérés au grossissement 8,3 et dont le diamètre est voisin de 120,0 μ . Nous avons numéroté les classes par ordre de taille croissant ; la classe 2 correspond aux follicules dont le diamètre moyen est compris entre 125 et 292 μ et la classe 7 comprend les follicules de diamètre supérieur à 8 567 μ et inférieur à 2 cm (tabl. 1).

TABLEAU I

*Classe de taille des follicules observés
après repérage au grossissement ($\times 8,3$)*

Diamètre moyen en μ	Catégories folliculaires
125-292	2
292-680	3
680-1 583	4
1 583-3 683	5
3 683-8 567	6
8 567-20 000	7

Pour chaque classe nous avons retenu deux paramètres. Le premier est le pourcentage de follicules normaux (respectivement atrétiques) de la classe considérée en prenant comme base du pourcentage la totalité des follicules normaux et atrétiques de cette classe.

Le second est le pourcentage des follicules normaux (resp. atrétiques) de la classe considérée par rapport à l'ensemble des follicules normaux (resp. atrétiques) des deux ovaires.

La considération de la seule valeur absolue nous semble en effet insuffisante pour caractériser un phénomène évolutif et relatif. Le premier paramètre donne nous semble-t-il une indication de l'évolution de chaque classe au cours du cycle et le deuxième situe l'importance de la classe par rapport aux autres.

RÉSULTATS

La première question posée est de savoir comment évoluent les différentes classes au cours du cycle œstrien.

1. On observe sur la figure 1 que les classes 2 et 3 présentent un maximum du pourcentage des follicules normaux entre le 4^e et le 6^e jour du cycle œstrien.

Ce pourcentage est voisin de 75 pour la classe 2 et 60 en classe 3 ; plus généralement le pourcentage de follicules normaux est plus important en classe 2 qu'en

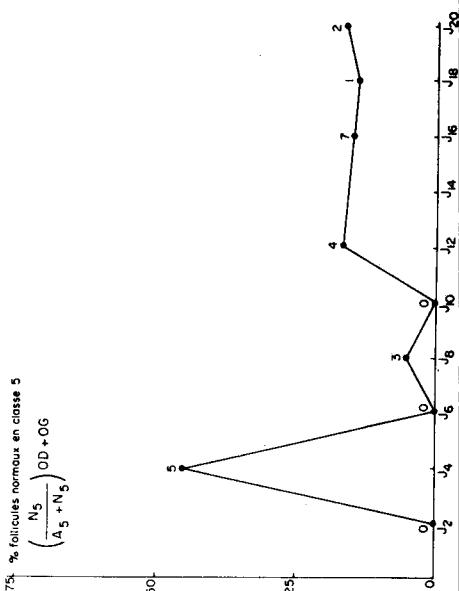
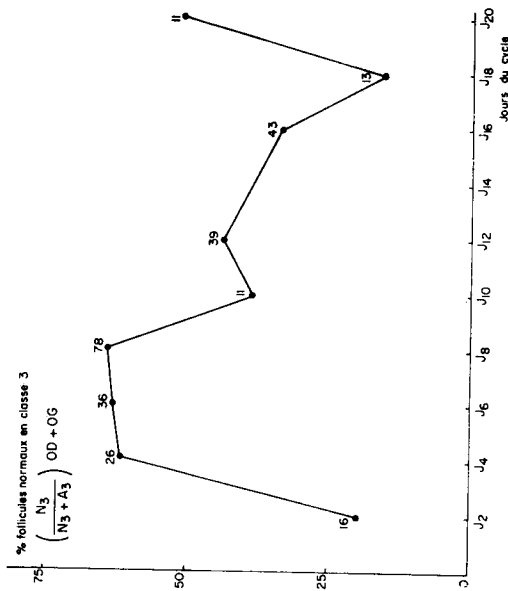
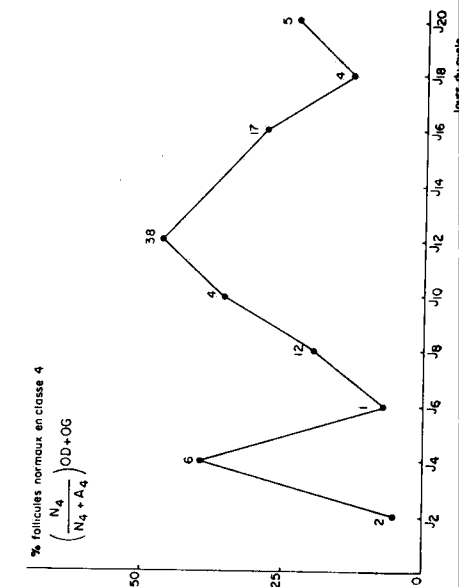
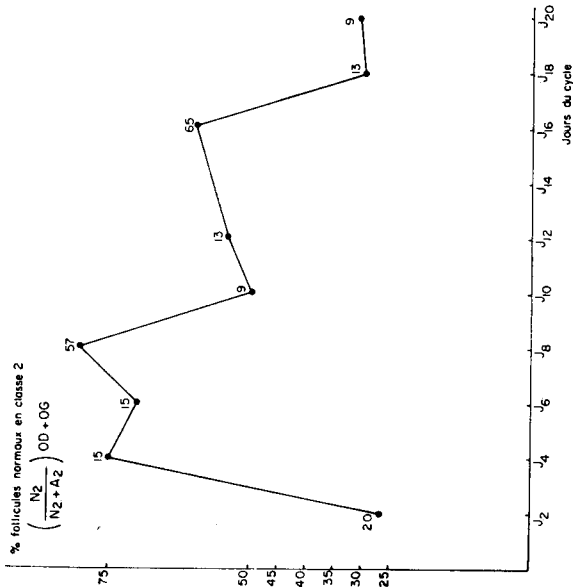


FIG. 1. — Pourcentage de follicules normaux par classe de diamètre (classes 2, 3, 4, 5) au cours du cycle oestrien
 (N_j : nombre de follicules normaux en classe j ,
 A_j : nombre de follicules atreétiques en classe j)
 Les chiffres inscrits directement sur les courbes sont les nombres absolus de follicules normaux atreétiques.

classe 3 : les variations du pourcentage étant assez voisines pour ces 2 classes au cours du cycle.

Les classes 4 et 5 ont encore des variations graphiquement représentables mais le maximum présent en classe 2 et 3 le 6^e jour n'existe plus. Ici, il semble que le pourcentage de follicules normaux passe par un maximum et décroisse après le 12^e jour en classe 4.

Les effectifs folliculaires sont trop faibles en classe 5 pour qu'on puisse attribuer une signification aux pourcentages calculés à partir de ces effectifs.

L'existence d'extréma à J₄ en classe 4 et 5 s'explique difficilement à ce moment du cycle, et leur signification est contestable, on peut juste constater qu'après l'ovulation il reste quelques follicules normaux en classe 4 et 5.

L'interprétation histologique de la normalité des follicules reste très difficile pour les classes 5 et 6 et éventuellement 7 en fin de cycle.

Il est difficile d'interpréter les variations des différents pourcentages au cours du cycle car plusieurs facteurs peuvent concourir à les modifier tels que, par exemple, des vitesses de croissance différentes des follicules dans chaque classe, ou des intensités d'atrésie très variables au cours du cycle et dans chaque classe.

Par ailleurs les effectifs folliculaires étant très variables d'un animal à l'autre au même moment du cycle, la précision des pourcentages ne sera pas la même.

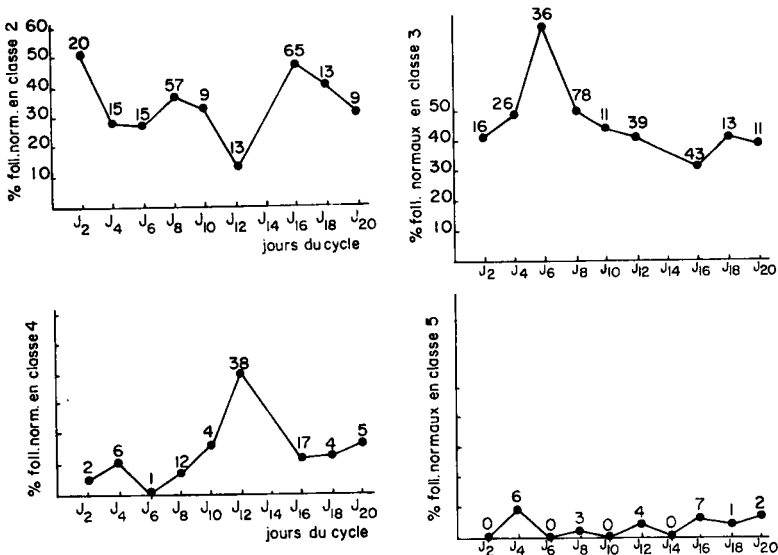


FIG. 2. — Pourcentage de follicules normaux au cours du cycle par classe de diamètre, ici la base du pourcentage est la totalité des follicules normaux des deux ovaires : $\frac{N_j}{\sum N_t}$

$\sum N_t$ étant la totalité des follicules normaux et N_j le nombre de follicules normaux dans la classe j considérée.

2. Si on considère, maintenant, le pourcentage de follicules normaux dans une classe de taille donnée par rapport à l'ensemble des follicules normaux

$$\left(\frac{N_t}{\sum N_t} (i = 1, 2 \dots 7) \right)$$

dans les 2 ovaires, on constate (fig. 2) que les classes 3 et 4 présentent un maximum au cours du cycle, pour la première au 6^e jour, pour la seconde au 12^e jour. Ce pourcentage semble assez peu varier au cours du cycle pour la classe 2 ; classe de follicules de petite taille ; les follicules de la classe 5 ne représentent qu'un faible pourcentage de l'ensemble des follicules normaux des deux ovaires et le nombre des follicules normaux ne dépasse pas 7, au cours du cycle.

TABLEAU 2

Évolution du nombre total de follicules des 7 classes au cours du cycle, nous n'avons pas dans ce bilan conservé les formes extrêmes d'atrésie

Nombre total de follicules des 7 classes par ovaire		
	Ovaire gauche	Ovaire droit
J ₂	123	104
J ₄	40	57
J ₆	58	62
J ₈	190	121
J ₁₀	50	27
J ₁₂	103	122
J ₁₄	123	
J ₁₆	225	126
J ₁₈	77	86
J ₂₀	43	52

TABLEAU 3

P. 100 de follicules normaux par rapport au total de follicules normaux dans les 2 ovaires

Jour du cycle	Classe de taille						
	1 OD + OG	2 OD + OG	3 OD + OG	4 OD + OG	5 OD + OG	6 OD + OG	7 OD + OG
J ₂		51,28	41,02	5,12		2,56	
J ₄		28,30	49,06	11,32	9,43	1,89	
J ₆	3,70	27,77	66,66	1,85			
J ₈	1,96	37,25	50,98	7,84	1,96		
J ₁₀	4	36	44	16			
J ₁₂	1,05	13,68	41,05	40	4,21		
J ₁₄							
J ₁₆	4,34	47,10	31,15	12,31	5,07	?	?
J ₁₈	6,45	41,93	41,93	12,90	3,22	?	?
J ₂₀	3,57	32,14	39,28	17,85	7,14	?	?

Les (?) correspondent à des follicules dont la définition de normalité est insuffisante au niveau histologique pour être rapportée.

TABLEAU 4

Nombre de follicules normaux dans chaque classe à J_{16} , J_{18} , J_{20}
 et après traitement avec PMS
 (800 UI à J_6 + 800 UI ou 1 000 UI à J_{16})

Classe	Jour du cycle				
	J_{16}	J_{18}	J_{20}	J_0 800·800	J_0 800·1 000
1	6	2	1	3	2
2	65	11	9	28	32
3	43	12	11	43	23
4	17	4	5	13	14
5	7	1	2	25	16
6	0?	0?	0?	1	0
7	0	0	0	1	1

Les (?) correspondent à des follicules dont la définition de normalité est insuffisante au niveau histologique pour être rapportée.

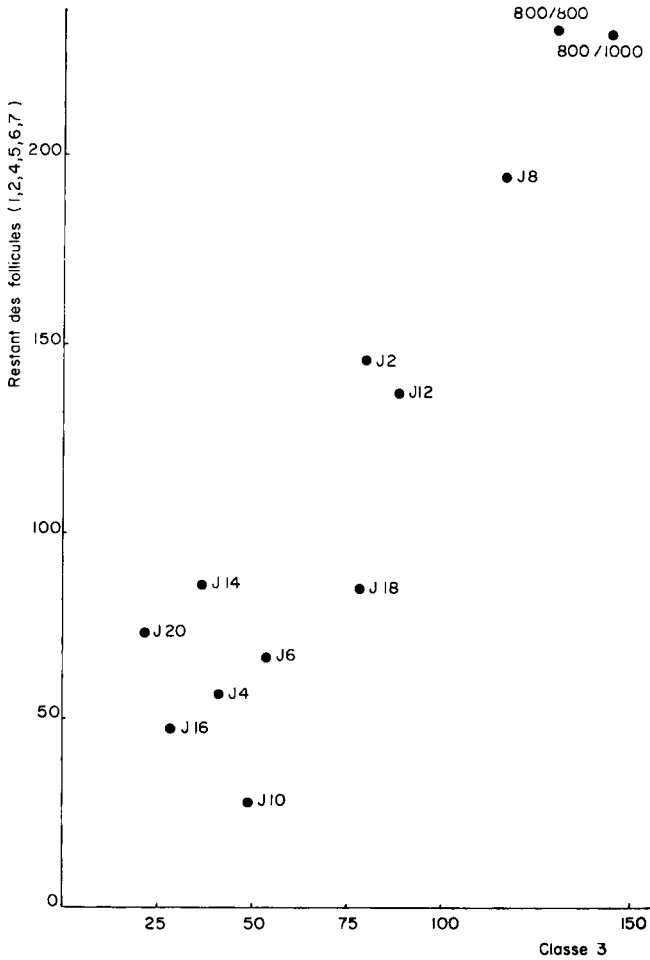


FIG. 3. — Relation entre le nombre de follicules de la classe 3 et les autres classe

Les remarques faites précédemment s'appliquent également ici. Particulièrement les importantes dispersions du nombre total de follicules normaux et atériques (tabl. 2) chez des animaux assez voisins dans le cycle (par exemple J₈ et J₁₀) ne permettent pas de comparer les pourcentages de façon statistique.

L'examen des histogrammes des classes de taille (fig. 5; et tabl. 4), en fonction du jour du cycle montre l'importance des classes 2 et 3 par rapport aux autres classes,

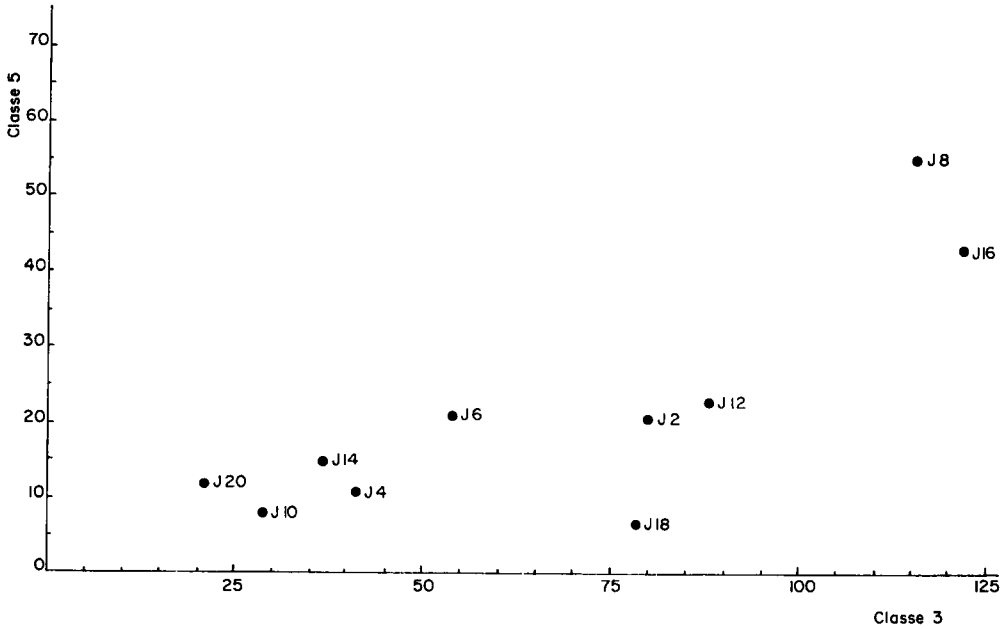


FIG. 4. — Relation entre le nombre de follicules de la classe 3 et de la classe 5

TABLEAU 5

Pourcentage de follicules normaux de chaque classe par rapport au total des follicules normaux dans les ovaires

Classe	Jour du cycle				
	J ₁₈	J ₁₈	J ₂₀	J ₀ PMSG 800·800	J ₀ PMSG 800·1 000
1	4,3	6,6	3,7	2,6	2,2
2	47,1	36,6	32,1	24,5	36,3
3	31,1	40,0	39,9	37,7	26,1
4	12,3	13,3	17,8	11,4	15,9
5	5,0	3,3	7,1	21,9	18,1
6	0?	0?	0?	0,8	0
7	0?	0?	0?	0,8	1,1

la classe I est tronquée pour la raison que nous avons déjà évoquée, elle comprend l'ensemble des follicules en tout début de croissance, les classes 2 et 3 correspondent aux follicules classiquement dénommées : à plusieurs couches et au début de formation de l'antrum, elles représentent une part importante de la population folliculaire.

Nous avons essayé de voir si ces classes avaient, outre leur importance numérique, un rôle dans l'intensité des processus de croissance folliculaire.

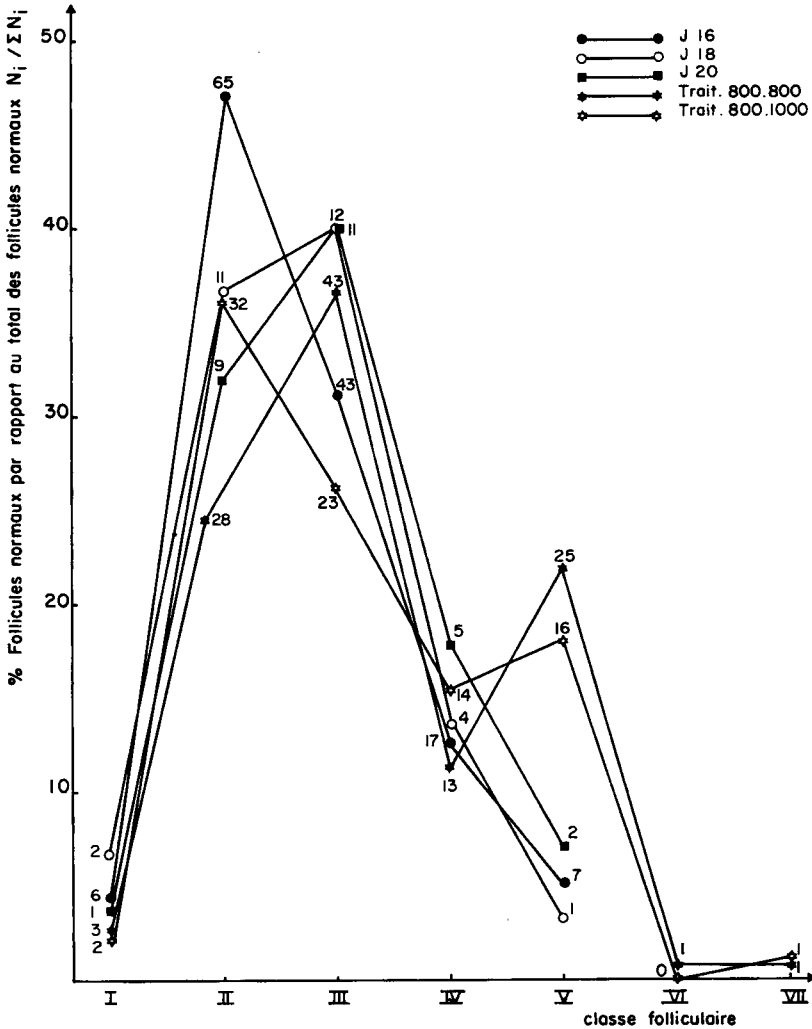


FIG. 5. — Histogramme des classes folliculaires ($i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$) pour les jours j_{16} , j_{18} et j_{20} du cycle et après traitement PMSG

L'examen de la figure 5 montre qu'il y a vraisemblablement une relation entre le nombre de follicules normaux et atériques de la classe 3 et le nombre des follicules des autres classes regroupées ; cette relation semble exister à tout moment du cycle, on remarquera que les animaux stimulés par PMSG associent à un nombre important

de follicules en classe 3 un nombre important dans les autres classes (fig. 3). On pourra objecter que la classe 2 représente un pourcentage des follicules des classes 1, 4, 5, 6, 7, la relation est en fait surtout nette entre 2 et 3 ; la figure 6 montre que entre la classe 3 et la classe 5 il semble également exister une relation, moins perceptible cependant, les effectifs de la classe 5 étant très faibles.

La stimulation, telle qu'elle est pratiquée par PMSG semble maintenir globalement l'équilibre de la croissance folliculaire (fig. 5 ; tabl. 3), les follicules des classes 5, 6 et 7 représentent un pourcentage plus important que chez les témoins (tabl. 5).

DISCUSSION

Il est très difficile de tirer des conclusions sur la durée de la croissance folliculaire chez la Vache au vu de ces seuls résultats. On peut cependant rejeter un schéma où les vagues de croissance folliculaire naissent uniformément au cours du cycle.

Il existe vraisemblablement des moments importants de démarrage ou d'accélération de la croissance, en particulier du 4^e au 8^e jour du cycle pour les follicules en croissance et formation de l'antrum de moins de 4 mm ; le 12^e jour du cycle semble également important dans la croissance des follicules de 0,5 à 1,5 mm.

Ces résultats sont à rapprocher des résultats de dosages d'œstrogènes publiés par SHEMESH et AYALON (1972) qui trouvent des extréma relatifs du niveau d'œstrogène le 6^e jour du cycle chez des Vaches laitières.

Les effectifs folliculaires des différentes classes semblent très liés ; les classes de petits follicules de taille inférieure à 0,5 mm paraissent avoir un rôle directeur important dans la suite de la folliculogénèse mais certains animaux ont des niveaux folliculaires extraordinairement différents.

La stimulation modérée de l'ovaire par 2 injections de PMSG le 6^e jour et 16^e jour du cycle se traduit non seulement par une augmentation en valeur absolue mais aussi relative d'un nombre des follicules normaux des classes 5, 6 et 7. Le nombre des follicules en classe 2 et 3 augmente en valeur absolue et en pourcentage par rapport à l'ensemble des follicules normaux.

L'équilibre semble identique à la normale, le nombre total des follicules normaux et atrétiques augmente en fonction du nombre de follicules des classes 2 et 3 après stimulation.

Malgré la très grande dispersion des effectifs folliculaires chez des animaux pourtant de même race, il semble que l'ovaire soit le siège de régulations : régulations entre le nombre de petits follicules en croissance et le restant des autres de taille supérieure, régulation entre le nombre de follicules normaux et nombre de follicules atrétiques au cours du cycle et à l'intérieur de chaque classe. Une stimulation modérée conserve ces équilibres tout au long du cycle.

On peut faire l'hypothèse que ces régulations sont d'origine ovarienne et mal connues ; les stéroïdes ou des substances sécrétées par les follicules eux-mêmes et les follicules atrétiques en particulier pouvant être le support de ces régulations (PETERS, 1972).

SUMMARY

FOLLICULOGENESIS IN THE COW

There seem to be two active phases of follicular growth in the cow, one of 200-500 μ follicles at the beginning of the estrous cycle and another of 500-1 580 μ follicles at day 12 of the cycle.

The number of follicles varies, depending on the animal, but seems to be correlated in each animal with the number of 150-680 μ follicles, independently of the estrous cycle stage.

Superovulation with PMSG injected at day 6 (800 IU or 1 000 IU) and at day 16 (800 IU) increases the total number of follicles, but seems to conserve a correct percentage of atresic follicles in relation to normal follicles.

Finally, the ovary seems to be controlled by internal regulation which we know little about.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ERICKSON B. H., 1966. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J. Anim. Sci.*, **25**, 800-805.
- MARION G. B., GIER H. T., CHOUDARY J. B., 1968. Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. Anim. Sci.*, **27**, 451-465.
- PEDERSEN J., PETERS H., 1971. Follicle growth and cell dynamics in the mouse ovary during pregnancy. *Fertil. Steril.*, **22**, 42-52.
- PETERS H., BYSKOV A. G., FABER M., 1972. Intraovarian regulation of follicle growth in the immature mouse. *Congrès sur le développement et la maturation des organes de reproduction et leur fonction chez la femelle*. Copenhague, 1972 (juillet).
- RAJAKOSKI E., 1960. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special references to seasonal cyclical and Left-Right variations. *Acta Endocr.*, Suppl. 52, **34**, 1-68.
- REVIERS M.-M. DE, MAULÉON P., 1973. Action des hormones gonadotropes sur l'ovaire de ratte immature. *Colloque sur l'ovogenèse et la folliculogenèse*, Nouzilly, 1972 (décembre).
- SHEMESH H., AYALON N., LINDNER H. R., 1972. Oestradiol levels in the peripheral blood of cows during the oestrous cycle. *J. Endocr.*, **55**, 73-78.
-