

ÉTUDE HISTOLOGIQUE DE LA TRANSFORMATION DU FOLLICULE PRÉOVULATOIRE EN CORPS JAUNE CYCLIQUE CHEZ LA BREBIS

I. — ÉVOLUTION DES ULTRASTRUCTURES DES CELLULES DE LA GRANULOSA

Marie CORTEEL

avec la collaboration technique de J.-L. COURTENS

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

RÉSUMÉ

L'évolution ultrastructurale des cellules de la granulosa du follicule a été étudiée au cours de la première partie du cycle sexuel des brebis : du début de l'œstrus au stade d'activité maximale du corps jaune. Les organites cellulaires qui subissent le plus de modifications sont ceux décrits classiquement comme caractéristiques des cellules à sécrétion de stéroïdes (mitochondries à crêtes tubuleuses, réticulum endoplasmique lisse, lipides, Golgi et corps denses). Des corps glycogéniques ont été observés, nous les considérons comme des structures à l'origine du réticulum endoplasmique lisse. Des images montrent l'excrétion des corps denses, ils pourraient avoir un rôle dans la sécrétion de la progestérone. La discussion porte sur ces deux derniers points.

INTRODUCTION

L'aspect ultrastructural des cellules des divers organes varie, et cela d'autant plus que les fonctions des organes sont plus éloignées. En général, les cellules correspondant à une synthèse ou à une sécrétion de matériel protéique ont un réticulum endoplasmique bordé de ribosomes, des mitochondries allongées avec des crêtes lamelliformes, un appareil de Golgi localisé, plus important dans le cas d'une sécrétion. Par contre, les cellules qui correspondent à une synthèse de stéroïdes ont un réticulum endoplasmique lisse, en association plus ou moins étroite avec des mito-

chondries à crêtes nombreuses en partie tubuliformes, des gouttelettes lipidiques et des éléments dispersés de l'appareil de Golgi.

Peu de travaux ont été effectués en microscopie électronique sur la mise en place du corps jaune (BLANCHETTE, 1965, 1966 *a*, 1966 *b* ; BJERSING, 1967 *a* ; PRIEDKALNS, 1966 ; PRIEDKALNS et WEBER, 1968 *a*, 1968 *b* ; BJERSING *et al.*, 1972).

Il en résulte cependant que les cellules de la granulosa qui, avant l'ovulation, synthétisent des protéines (celles de la *liquor folliculi*) diffèrent par leurs ultrastructures des cellules du corps jaune qui synthétisent et libèrent des stéroïdes dans le sang (la progestérone). Il existe peu de données sur les transformations d'un type d'association ultrastructurale vers l'autre. Nous avons donc étudié celles-ci lors de la formation du corps jaune chez la Brebis.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. — Matériel animal

Ayant choisi le moment d'apparition du comportement d'œstrus comme point de départ de l'étude chronologique de la mise en place du corps jaune, un soin particulier a été apporté à la recherche de ce moment d'apparition. A cet effet, le comportement des animaux est observé toutes les six heures lorsque les prélèvements sont faits dans les 48 heures après le début de l'œstrus et deux fois par jour s'ils ont lieu plus tard. L'apparition de l'œstrus marque le temps zéro (0 h) et le jour d'apparition le jour zéro (J_0). L'ovulation a lieu vers 30 h (COGNIE *et al.*, 1970) et les brebis ont des cycles de 17 jours en moyenne.

B. — Traitement des échantillons

La fixation est une étape très délicate en raison de la fragilité du réticulum endoplasmique lisse des cellules lutéales ; les ovaires ont donc été fixés par perfusion : après anesthésie des animaux l'artère ovarienne est mise à nu et cathétérisée. Les vaisseaux ovariens sont rincés par injection de 5 ml de sérum physiologique puis l'ovaire est prélevé avec la partie du plexus pampiniforme porteuse du cathéter et perfusé immédiatement avec 50 ml de glutaraldéhyde 4,25 p. 100 dans du tampon phosphate 0,1 M, mélange additionné parfois de dextran T 70 (Pharmacia, Uppsala) à raison de 4 p. 100 en poids du mélange (BOHMAN et MAUNSBACH, 1970).

La perfusion est faite avec un débit de 4 ml/mn pour les cinq à dix premiers ml puis avec un débit de 1 ml/mn pour le volume restant. Après avoir circulé dans l'ovaire, le fixateur sort librement par les veines sectionnées lors du prélèvement ; il baigne alors l'organe placé dans un bécher reposant dans un cristallisateur rempli de glace fondante. Le fixateur est refroidi avant d'atteindre l'ovaire en circulant dans le cathéter plongé dans la glace.

Après fixation, le follicule préovulatoire ou le corps jaune est prélevé et sectionné sous loupe binoculaire en chambre froide à 4°C. Une partie est post-fixée pendant une heure à 4°C dans 2 p. 100 de tétraoxyde d'osmium dans du tampon phosphate 0,1 M et le reste placé dans le mélange glutaraldéhyde sans dextran pour une étude histochimique complémentaire éventuelle. Le rinçage est effectué dans du tampon 0,1 M où les blocs peuvent éventuellement séjourner une heure ou deux à 4°C, la déshydratation à l'éthanol est rapide, l'inclusion est faite dans l'epon en passant par l'oxyde de propylène. Nous avons abandonné le temps long dans un alcool à 70 p. 100 ainsi que la déshydratation au méthanol qui extraient trop de lipides ; un certain nombre de nos premiers prélèvements ont cependant subi ces traitements.

Des coupes de 90 m μ environ sont faites à l'ultramicrotome Reichert OM-U₂. Elles sont colorées par une solution d'acétate d'uranyle à 4 p. 100 dans le méthanol 100 puis par une solution de citrate de plomb à 0,4 p. 100 dans la soude 0,1 N (STENPACK et WARD, 1964). Elles sont recouvertes d'un film de carbone. Les observations sont faites avec un microscope électronique EM₃₀₀ Philips.

OBSERVATIONS

Certains éléments ultrastructuraux montrant une évolution caractéristique pendant la transformation des cellules de la granulosa du follicule préovulatoire en cellules lutéales du corps jaune, nous nous limiterons à leur description. Celle d'un certain nombre d'organites trouvés classiquement ou non dans chacun des types cellulaires est volontairement omise.

A. — *Les liaisons cellulaires* (Pl. I et II, 1-2)

Avant l'ovulation, les cellules de la granulosa, plus petites que celles du corps jaune, sont par endroits « étroitement » liées entre elles par des jonctions de membranes dont la structure n'a pas été étudiée de façon approfondie. Ailleurs, elles sont séparées par un espace intercellulaire de taille variable dont le fin précipité correspond sans doute à la *liquor folliculi*.

Au moment de l'ovulation, la chute de pression provoque des décollements entre les cellules de la granulosa ; les groupes de cellules qui restent associées sont ensuite compressés par les travées de conjonctif et de vascularisation qui pénètrent et se développent à partir de la thèque. A l'intérieur des groupes, les cellules de la granulosa restent en contact étroit, leurs contours sont d'abord réguliers comme dans le follicule puis dès le stade 48 h des microvillosités apparaissent sur le bord de quelques-unes d'entre elles. A J₃, les cellules les plus différenciées sont déjà liées entre elles par un véritable réseau de microvillosités s'imbriquant « étroitement » dans celles des cellules voisines. Nous avons considéré la présence de microvillosités comme un critère de maturité des cellules.

B. — *Les mitochondries* (Pl. I et II, 3-4)

Le nombre des mitochondries augmente rapidement ; par coupe de cellule avec noyau, on en compte 15 à 20 dans la granulosa, trois fois plus au bout des 24 premières heures après l'ovulation et plus de 150 dans les cellules lutéales de J₃.

Les mitochondries grossissent et s'arrondissent progressivement : dans la granulosa, elles ont souvent la forme de bâtonnets de petit diamètre (0,25 à 0,35 μ) et parfois une forme d'haltère suggérant des divisions ; dans les cellules lutéales les mitochondries sont rondes ou ovoïdes, parfois en bâtonnet court et leurs petits diamètres sont deux fois plus grands que ceux des mitochondries de la granulosa.

Dans les cellules de la granulosa, les crêtes mitochondriales sont lamelliformes et espacées. Dans les cellules lutéales, nombreuses et étroites, elles remplissent toute la mitochondrie. D'après leur section, certaines apparaissent tubuleuses, d'autres lamelliformes ou peut-être fenestrées.

C. — *Le réticulum et les corps glycogéniques* (Planche III)

Les éléments de réticulum endoplasmique granuleux sont peu nombreux dans la granulosa mais leurs profils sont longs pour la taille des cellules, leurs feuillettes sont distants de 80 m μ environ.

Les cellules de la granulosa possèdent une structure particulière : les corps glycoéniques. Ces corps résultent de la concentration de réticulum endoplasmique, lisse en majorité, accompagné de glycogène. On peut les concevoir comme une petite portion de cytoplasme enveloppée de citernes de réticulum sur plusieurs couches avec en alternance, des grains de glycogène. Il y a parfois jusqu'à trois corps (3 à 4 μ de diamètre) par coupe de cellule, situés en général à proximité du pôle nucléaire.

Très vite après l'ovulation, le glycogène disparaît ; des tourbillons de membranes lisses demeurent, puis, de longs profils de réticulum prolifèrent très rapidement à travers toute la cellule semblant trouver leur origine au voisinage des tourbillons qui disparaissent à leur tour. Au début, ces citernes sont bordées irrégulièrement de ribosomes qui disparaissent progressivement. Le réticulum devient ensuite tubuleux se ramifiant de plus en plus. Toutes ces transformations se font très progressivement et un léger asynchronisme, maximum vers J₃ ou J₄, existe dans l'évolution des cellules voisines.

Dans les cellules lutéales différenciées, la majorité du réticulum est lisse, tubuleux et ramifié. Il prend facilement l'aspect de myriades de vésicules dans de mauvaises conditions de fixation. Le réticulum endoplasmique granuleux est localisé en empilements parallèles et les feuillettes de ses citernes ne sont distants que de 50 μ environ ; il résiste beaucoup mieux que le réticulum lisse aux mauvaises conditions de fixation.

D. — *L'appareil de Golgi* (Pl. I et II, 5-6)

Dans les cellules de la granulosa, l'appareil de Golgi est bien localisé. Selon les coupes il semble formé de trois à cinq groupes d'empilements disposés en anneau au voisinage des deux centrioles ; peu ou pas de vésicules denses l'accompagnent.

Pendant la phase d'évolution, les éléments de Golgi se dispersent dans les cellules, et se confondent alors avec les éléments de réticulum lisse. Ce n'est que dans les cellules les plus différenciées du J₅ que les éléments de Golgi se distinguent à nouveau.

Dans les cellules lutéales, les éléments de Golgi sont bien repérables : dispersés dans tout le cytoplasme, les dyctiosomes ont un feuillet sombre sur leur face interne et sont accompagnés de ce côté par de petites vésicules également sombres. Les plus petites de ces vésicules ont en général un contour épineux, les plus grosses sont lisses et plus opaques aux électrons.

E. — *Les lipides et les corps denses* (Pl. IV)

Nous associons la description de ces deux types d'organites parce que les uns prenant chronologiquement le relais des autres, la même chose pourrait se produire du point de vue métabolique.

Dans les cellules de la granulosa, les gouttelettes lipidiques peu nombreuses mais parfois assez grosses, peuvent atteindre 2 μ . Elles sont moyennement opaques aux électrons quand la déshydratation est modérée, ou complètement transparentes quand la déshydratation est faite au méthanol ou avec un séjour prolongé dans l'alcool 70 p. 100. Il n'y a pas de corps denses.

Après l'ovulation, souvent groupées dans les cellules et généralement du côté d'un capillaire, les gouttelettes augmentent en nombre puis elles disparaissent en

grande partie avec la maturité des cellules tandis que les corps denses apparaissent, très épars d'abord. A J₆, ils sont déjà beaucoup plus nombreux et on remarque quelques images de leur excrétion.

A J₈, les cellules lutéales sont bourrées de mitochondries et de corps denses. La présence de ces corps denses est pour nous un signe de la maturité des cellules. Les corps denses sont sphériques avec un diamètre de 0,25 μ ; ils sont opaques aux électrons même quand la fixation est faite en absence de tétr oxyde d'osmium. Ils sont entourés d'une membrane mais elle est parfois un peu plissée et située à l'extérieur d'une frange claire, ce qui donne l'impression d'un contour flou.

Les corps denses se forment aux environs des éléments de Golgi par fusion des vésicules. Chez des animaux différents et dans des corps jaunes d'âges différents, plusieurs images d'expulsion de ces corps denses ont été observées dans l'espace intercellulaire, au niveau des microvillosités. A l'extérieur ils sont alors dépourvus de membrane sauf du côté de la cellule s'ils sont encore contre celle-ci. Nous n'avons pas remarqué de corps denses loin des membranes cellulaires, ils donnent l'impression de se diluer dans le milieu intercellulaire.

Dans les cellules lutéales, les gouttelettes lipidiques sont peu nombreuses et ne sont pas plus grosses que les mitochondries.

DISCUSSION

La présence de mitochondries à crêtes tubuleuses, de réticulum endoplasmique lisse et de gouttelettes lipidiques est générale dans toutes les cellules productrices de stéroïdes et en particulier dans les cellules lutéales. Leur association correspond aux données biochimiques sur la localisation des enzymes de la chaîne de synthèse

Tableau chronologique des transformations des ultrastructures

L'épaisseur des traits indique l'importance volumétrique ou numérique des organites. Les flèches indiquent des relais ou des passages de substances entre les organites.

ORGANITES	GRANULOSA	J ₀	J ₁	J ₂	J ₃	J ₄	J ₅	J ₆	J ₇	J ₈	LUTEALE	
Liaisons Cellulaires	Jonctions Etroites	Début de l'œstrus ↓ Ovulation										
Mitochondries	longues Ø 0,3 μ peu et lamellif.	[Barres horizontales indiquant la présence et l'évolution des mitochondries]										Microvillosités courtes Ø 0,6 μ bcp. et tubul.
Reticulum Endoplasmique	granul. > lisse pas encore caractéristiques	[Barres horizontales indiquant la présence et l'évolution du RE]										lisse > granul. absents
Tourbillons lisses		[Barres horizontales indiquant la présence et l'évolution des tourbillons lisses]										absents
Corps Glycogéniques		[Barres horizontales indiquant la présence et l'évolution des corps glycogéniques]										absents
Goutelettes Lipidiques	grosses	[Barres horizontales indiquant la présence et l'évolution des gouttelettes lipidiques]										petites
Corps Denses	absents	[Barres horizontales indiquant la présence et l'évolution des corps denses]										nombreux
Appareil de Golgi	en anneau	[Barres horizontales indiquant la présence et l'évolution de l'appareil de Golgi]										dispersé

des stéroïdes (BJERSING, 1967 *b* ; LAFFARGUE *et al.*, 1972). Un certain nombre d'auteurs ajoute l'appareil de Golgi aux éléments caractéristiques et c'est aussi notre conception.

L'intérêt de cette étude est d'avoir suivi chronologiquement la différenciation des cellules de la granulosa. Il résulte de nos observations que les transformations subies par les cellules affectent précisément les éléments ultrastructuraux impliqués dans la synthèse des stéroïdes.

Les observations de corps glycogéniques et de l'excrétion des corps denses sont moins classiques et nous limiterons la discussion à ces deux points.

A. — Les corps glycogéniques

Les corps glycogéniques sont formés par l'association de deux éléments ultrastructuraux que l'on peut trouver indépendamment dans le cytoplasme. D'après nos observations chronologiques, le glycogène est présent dans les cellules de la granulosa avant les éléments lisses du réticulum endoplasmique : dans de très jeunes ou même de gros follicules de de Graaf, le réticulum endoplasmique est uniquement sous forme granuleuse et des amas de glycogène se trouvent à la périphérie de vacuoles claires. Leurs grains correspondent à la description de DROCHMANS (1962) et leur nature a été vérifiée par coloration. Quelques heures après l'ovulation, les grains de glycogène ont disparu mais les tourbillons de citernes lisses sont toujours présents. Par la suite, il semble se dérouler dans le cytoplasme, des images montrant une continuité entre les tourbillons et les longs profils trouvés dans le cytoplasme. Enfin, quand les cellules sont entièrement parcourues de réticulum endoplasmique lisse vers J₃ ou J₄, il n'y a plus de tourbillons. Ces faits nous suggèrent que les tourbillons pourraient être des zones de concentration de réticulum lisse, soit de stockage, soit fonctionnelles.

Les descriptions de tourbillons membranaires sont relativement fréquentes dans les études de corps jaunes : corps jaune de gestation humaine (MOTTA, 1967 ; PEDERSEN et LARSEN, 1968 ; ADAMS et HERTIG, 1969 ; CRISP *et al.*, 1970), corps jaune de Vache (PRIEDKALNS et WEBER, 1968 *a*), de Truie (BJERSING, 1967 *c* ; GOODMAN *et al.*, 1968 ; CAVAZOS *et al.*, 1969 ; BELT *et al.*, 1970) et de Cobaye (CROMBIE *et al.*, 1971) ou même dans des études de stimulation portant sur d'autres glandes stéroïdiennes : cellules interstitielles du testicule de Souris (WÆLBROECK et DROCHMANS, 1970), surrénale de Poulet (KJÆRHEIM, 1968 *a*, 1968 *b*), tissu interstitiel ovarien de Poulet (DAHL, 1971). Mais les observations de glycogène y sont très rares. BLANCHETTE (1965) en a trouvé chez la Lapine, avant et deux heures après l'ovulation, parmi les profils de réticulum endoplasmique lisse mais sans qu'il y ait de corps glycogéniques : l'association entre les deux éléments n'y est pas nette.

D'après LE BEUX (1969), des corps glycogéniques ont été observés quelquefois dans des tissus nerveux, musculaires ou hépatiques et dans les cellules de la trompe de Fallope de la Lapine. Depuis, CORVAJA *et al.* (1970) et SCHIAFFINO et HANZLIKOVA (1972) en ont décrit également.

La signification métabolique de ces corps n'est toujours pas définie. Dans la plupart des cas, leur présence correspond à des phases de remaniement profond des cellules, que ce soit lors de la différenciation d'une fibre musculaire, de la stimulation hormonale de la trompe de Fallope ou d'un cas pathologique du foie. Dans la vie

d'un follicule, la présence de corps glyco-géniques est une phase relativement éphémère (24 à 48 heures) mais c'est celle qui précède ou entame un remaniement total. L'observation de corps glyco-géniques a vraisemblablement été favorisée par les prélèvements assez rapprochés d'où nos constatations et l'observation voisine de BLANCHETTE (1965) ou bien cette phase de l'évolution des tissus est plus longue chez la Brebis que chez les espèces où rien n'a été observé.

LE BEUX pense que la mobilisation du glucose à travers la cellule et, dans certains cas, vers le courant sanguin, pourrait être facilitée par la présence de la glucose-6-phosphatase accolée au réticulum lisse. Nous sommes tentés de penser que le glycogène servirait de matière première à la formation des membranes lisses. Ou bien on pourrait envisager sa mobilisation comme la base de la synthèse de cholestérol puis de progestérone mais la disparition massive et totale du glycogène nous semble trop précoce par rapport à la libération de la progestérone qui atteint son maximum de production à J₈ ou J₁₀ et n'en est qu'à la moitié à J₅ (THIMONIER, 1972, communication personnelle).

B. — *Les corps denses*

Sur des prélèvements effectués à J₆ et à J₈, nous avons observé un très grand nombre de corps denses situés non seulement dans les cellules mais à leur périphérie ainsi que dans l'espace intercellulaire au niveau des microvillosités. Le fait d'en avoir trouvé un grand nombre provient de conditions particulièrement heureuses de préservation et d'observation d'une phase de libération massive au moment des prélèvements. Des images semblables ont été retrouvées dans des corps jaunes de différents âges donnant à cette observation une valeur générale.

BLANCHETTE (1965) a peut-être fait la même observation lorsqu'il écrit : « La figure 30 illustre la jonction de quatre cellules, lieu où il y a un élargissement de l'espace intercellulaire et des circonvolutions des membranes plasmiques et où on peut aussi observer dans l'espace intercellulaire des petites vésicules de 400 Å aussi bien que du matériel de nature osmiophile diffuse. » La qualité des reproductions photographiques que nous possédons ne nous permet pas de vérifier la similitude de ses observations et des nôtres.

Les corps denses sont donc excrétés mais leur nature reste inconnue. Leur opacité aux électrons lors d'une fixation aldéhydrique suggère une composition en partie protéique. Leur apparition dans les cellules commence peu de temps après l'ovulation de même que le début de la sécrétion de progestérone. Leur nombre augmente parallèlement à l'augmentation de la quantité de progestérone dans le plasma périphérique. Comme vérification supplémentaire, nous avons fait des prélèvements aux stades où il y a eu chute de la concentration de progestérone dans le sang (J₁₅ et J₁₆), là seules des mitochondries et des membranes persistent. Nous sommes donc tentés sans preuve histo-chimique d'en déduire une relation entre la progestérone et les corps denses.

Mais les stéroïdes sont très facilement extraits des tissus (dès la fixation) (IDELMAN, 1968 ; FRÜHLING *et al.*, 1969 ; GAUTHERON et CHEVALLIER, 1971) et on peut se demander si les corps denses observés correspondent bien à la progestérone. Les corps denses doivent se former à partir des vésicules de Golgi impliquées de façon assez générale dans les phénomènes de sécrétion, en particulier de protéines et de

mucopolysaccharides. Un rôle de rétention et éventuellement de synthèse est également attribué à l'appareil de Golgi. Il est possible que, dans ce cas, il ait un rôle dans une liaison de la progestérone avec une protéine par exemple et que cette forme liée de la progestérone permette son maintien dans la cellule malgré les traitements de fixation, déshydratation et inclusion. Une fois la sécrétion faite, la progestérone perdrait sa forme liée et alors les corps denses de l'espace intercellulaire sembleraient s'y dissoudre. Il se peut aussi que seul le transporteur reste en place et soit visible dans la cellule tandis que la progestérone est éliminée. Le mécanisme d'excrétion dont nous avons émis l'hypothèse resterait cependant le même.

Lors d'un colloque non publié (DUFAYRE et OZON, 1971), certains auteurs pensaient à un rôle de l'appareil de Golgi, mais à notre connaissance, aucune remarque sur la sécrétion éventuelle des stéroïdes n'a encore été formulée.

SUMMARY

HISTOLOGICAL STUDY OF THE TRANSFORMATION OF THE PRIMORDIAL FOLLICLE IN CYCLIC *CORPUS LUTEUM* IN EWE

I. — ULTRASTRUCTURAL EVOLUTION OF GRANULOSA CELLS

The ultrastructural evolution of the follicle granulosa cells has been studied in the cyclic ewe from the onset of oestrus to the stage of maximal activity of the *corpus luteum*. The cellular organelles that undergo the most modification are those classically described as characteristic of steroid secreting cells: mitochondria with tubular cristae, smooth endoplasmic reticulum, lipids, Golgi apparatus and dense bodies. We have considered the smooth endoplasmic reticulum to originate from the glycogenic bodies that we observed. The excretion of dense bodies which may play a role in the secretion of progesterone is discussed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADAMS E. C., HERTIG A. T., 1969. Studies on the human *corpus luteum*. II. Observations on the ultrastructure of luteal cells during pregnancy. *J. Cell. Biol.*, **41**, 716-735.
- BELT W. D., CAVAZOS L. F., ANDERSON L. L., KRAELING R. R., 1970. Fine structure and progesterone levels in the *corpus luteum* of the Pig during pregnancy and after hysterectomy. *Biol. Reprod.*, **2**, 98-113.
- BJERSING L., 1967 a. On the morphology and endocrine function of granulosa cells in ovarian follicles and *corpora lutea*. *Acta Endocr.*, suppl. 125, 1-23.
- BJERSING L., 1967 b. On the ultrastructure of follicles and isolated follicular granulosa cells of porcine ovary. *Z. Zellforsch.*, **82**, 173-186.
- BJERSING L., 1967 c. On the ultrastructure of granulosa lutein cells in porcine *corpus luteum*. With special reference to endoplasmic reticulum and steroid hormone synthesis. *Z. Zellforsch.*, **82**, 187-212.
- BJERSING L., HAY M. F., KANN G., MOOR R. M., NAFTOLIN F., SCARAMUZZI R. J., SHORT R. V., YOUNGLAI E. V., 1972. Changes in gonadotrophins, ovarian steroids and follicular morphology in sheep at oestrus. *J. Endocr.*, **52**, 465-479.
- BLANCHETTE E. J., 1965. *Electron and light microscope study of the development of the lutein cell and the organization of the corpus luteum in the rabbit*. Ph. D. thesis, Columbia Univ.
- BLANCHETTE E. J., 1966 a. Ovarian steroid cells. I. Differentiation of lutein cell from granulosa follicle cell during the preovulatory stage and under the influence of exogenous gonadotropins. *J. Cell. Biol.*, **31**, 501-516.
- BLANCHETTE E. J., 1966 b. Ovarian steroid cells. II. The lutein cell. *J. Cell. Biol.*, **31**, 517-542.

- BOHMAN S. O., MAUNSBACH A. B., 1970. Effects on tissue fine structure of variations in colloid osmotic pressure of glutaraldehyde fixatives. *J. Ultrastr. Res.*, **30**, 195-208.
- CAVAZOS L. F., ANDERSON L. L., BELT W. D., HENRICKS D. M., KRAELING R. R., MELAMPY R. M., 1969. Fine structure and progesterone levels in the *corpus luteum* of the Pig during the estrous cycle. *Biol. Reprod.*, **1**, 83-106.
- CHRISTENSEN A. K., GILLIM S. W., 1969. The correlation of fine structure and function in steroid-secreting cells, with emphasis on those of the gonads. In : *The gonads*, McKerns K. W. ed., North Holland publishing company, Amsterdam, 415-488.
- COGNIE Y., MARIANA J. C., THIMONIER J., 1970. Étude du moment d'ovulation chez la Brebis normale ou traitée par un progestagène associé ou non à une injection de PMSG. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 15-24.
- CORVAJA N., MAGHERINI P. C., POMPEIANO O., 1970. Ultrastructural association of smooth membranes and glycogen particles in sensory nerve fibres of cat muscle spindles. *VII^e Congr. Int. Micr. Electr.*, Grenoble, III, 101-102.
- CRISP T. M., DESSOKY D. A., DENYS F. R., 1970. The fine structure of the human *corpus luteum* of early pregnancy and during the progestational phase of the menstrual cycle. *Am. J. Anat.*, **127**, 37-70.
- CROMBIE P. R., BURTON R. D., ACKLAND N., 1971. The ultrastructure of the *corpus luteum* of the guinea-pig. *Z. Zellforsch.*, **115**, 473-493.
- DAHL E., 1971. Studies of the fine structure of ovarian interstitial tissue. 5. Effects of gonadotropins on the thecal gland of the domestic fowl. *Z. Zellforsch.*, **113**, 133-156.
- DROCHMANS P., 1962. Morphologie du glycogène. Étude au microscope électronique de colorations négatives du glycogène particulaire. *J. Ultrastruct. Res.*, **6**, 141-163.
- DUFAURE J.-P., OZON R., 1971. Cellules à sécrétion de stéroïdes. Aspects ultrastructuraux et biochimiques. *A. D. E. R. « Auvergne »*, Clermont-Ferrand.
- FRÜHLING J., PÉNASSE W., SANG G., CLAUDE A., 1969. Préservation du cholestérol dans la cortico surrénale du Rat au cours de la préparation des tissus pour la microscopie électronique. *J. Micr., Fr.*, **8**, 957-982.
- GAUTHERON C., CHEVALIER F., 1971. Problèmes posés par la radio-autographie à haute résolution du cholestérol tissulaire, cérébral en particulier. *J. Micr., Fr.*, **10**, 99-106.
- GOODMAN P., LATTA J. S., WILSON R. B., KADIS B., 1968. The fine structure of sow lutein cells. *Anat. Rec.*, **161**, 77-90.
- IDELMAN S., 1968. Préservation des stéroïdes de la glande corticosurrénale du rat au cours de la fixation puis de l'inclusion dans l'épon. *C. R. Acad. Sci.*, **266**, série D, 2103-2106.
- KJAERHEIM A., 1968 a. Studies of adrenocortical ultrastructure. 4. Effects of ACTH on interrenal cells of the domestic fowl. *J. Micr., Fr.*, **7**, 715-738.
- KJAERHEIM A., 1968 b. Studies of adrenocortical ultrastructure. 5. Effects of metopiron on interrenal cells of the domestic fowl. *J. Micr., Fr.*, **7**, 739-754.
- LAFFARGUE P., CHAMLIAN A., ADECHY-BEN KOEL L., 1972. Localisation probable en microscopie électronique de la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase, de la glucose-6-phosphate déshydrogénase et de la NADH diaphorase dans le corps jaune ovarien de la femme. *J. Micr., Fr.*, **13**, 235-246.
- LE BEUX Y. J., 1969. An unusual ultrastructural association of smooth membranes and glycogen particles : The glycogen body. *Z. Zellforsch.*, **101**, 433-447.
- MOTTA P., 1967. Sulla fine struttura della cellula luteinica umana durante alcune tappe del suo ciclo evolutivo con particolare riferimento alla sua attività secretiva. *Biol. latina*, **20**, 201-224.
- PEDERSEN P. H., LARSEN J. F., 1968. The ultrastructure of the human granulosa lutein cell of the first trimester of gestation. *Acta Endocr.*, **58**, 481-496.
- PRIEDKALNS J., 1966. *Morphological studies of the wall of the bovine ovarian follicle and developing corpus luteum*. Ph. D. thesis, Minnesota Univ.
- PRIEDKALNS J., WEBER A. F., 1968 a. Ultrastructural studies of the bovine graafian follicle and *corpus luteum*. *Z. Zellforsch.*, **91**, 554-573.
- PRIEDKALNS J., WEBER A. F., 1968 b. Quantitative ultrastructural analysis of the follicular and luteal cells of the bovine ovary. *Z. Zellforsch.*, **91**, 574-585.
- SCHIAFFINO S., HANZLIKOVA V., 1972. Autophagic degradation of glycogen in skeletal muscles of the newborn rat. *J. Cell Biol.*, **52**, 41-51.
- STEMPACK J. G., WARD R. T., 1964. An improved staining method for electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **22**, 697-701.
- WÄELBROECK C., DROCHMANS P., 1970. Early response of interstitial cells of the mouse testis to gonadotropins and estrogens. *VII^e Congr. Int. Micr. Electr.*, Grenoble, III, 519-520.

PLANCHE I

*Comparaison des cellules de la granulosa
aux stades du follicule préovulatoire et du corps jaune actif de J₈
(vues d'ensemble)*

FIG. 1

Les cellules folliculaires sont de taille moyenne avec un contour régulier ; elles sont étroitement liées entre elles (*) ou bien séparées par un espace intercellulaire (O) plus ou moins large rempli par la *liquor folliculi* (LF). Leur noyau (N) est souvent excentré et on trouve dans le cytoplasme des mitochondries (M) allongées, du réticulum endoplasmique (RE_g) bordé de ribosomes et des éléments de Golgi (G), peu nombreux et rassemblés dans la zone centrale ($\times 5\ 800$).

FIG. 2

Les cellules lutéales sont beaucoup plus grosses, elles sont bordées de microvillosités (*mv*) parfois étroitement imbriquées dans la cellule voisine (*). Leur noyau (N) est central et sphérique. Dans le cytoplasme les mitochondries (M) sont grosses, courtes et nombreuses, le réticulum endoplasmique est en majorité lisse (RE_i) et dispersé dans toute la cellule tandis que le réticulum bordé de ribosomes (RE_g) est réduit à quelques éléments parallèles, ses feuilletts sont serrés. Les éléments de Golgi (G) sont nombreux et dispersés dans toute la cellule, on trouve de nombreux corps denses (flèches) ($\times 5\ 800$).

PLANCHE I

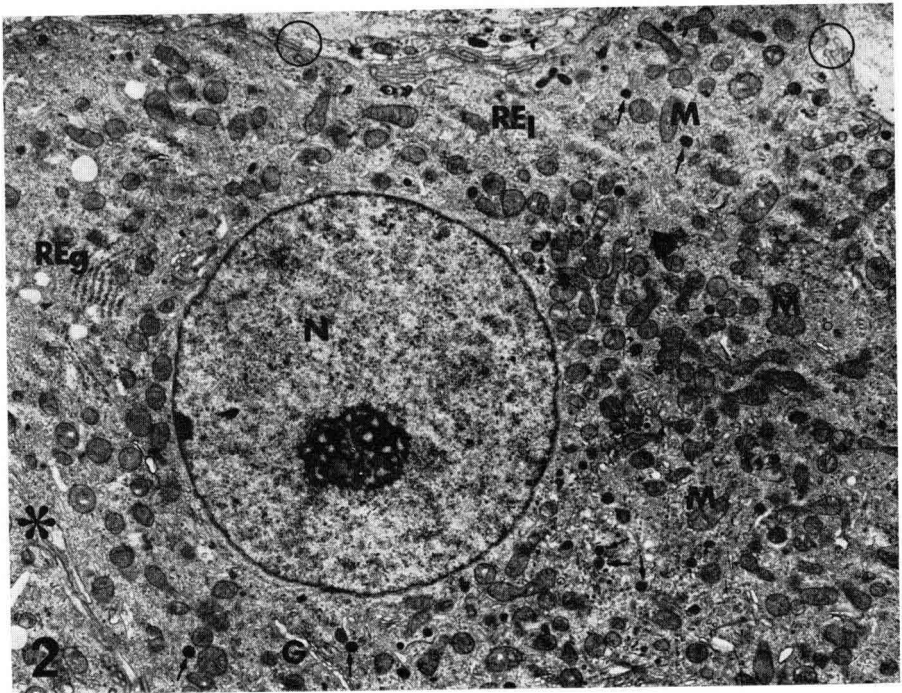


PLANCHE II

Comparaison des cellules de la Granulosa aux stades du Follicule Préovulatoire et du Corps Jaune actif de J₈ (Détails).

FIG. 1 et 2

Les membranes cytoplasmiques :

1. De façon générale les cellules de la Granulosa sont proches les unes des autres mais on y trouve des structures spécialisées d'accolement de membranes telles que des « zonula occludens » (flèche évidée) ou des desmosomes (flèche courbe) ou bien des membranes simplement accolées (double flèche). × 21.300.

2. Les cellules lutéales sont bordées de microvillosités qui donnent parfois sur l'espace intercellulaire mais qui peuvent également être étroitement liées à celles des cellules voisines et donner lieu à des structures spécialisées du genre « zonula occludens ». × 15.800.

FIG. 3 et 4

Les mitochondries :

3. Celles des cellules folliculaires sont allongées ou en haltère (flèches évidées) avec des crêtes peu nombreuses et lamelliformes ce qui est traduit par des sections allongées (flèches simples) × 8.500.

4. Celles des cellules lutéales sont plus grosses, arrondies et plus nombreuses et, bourrées de crêtes avec des sections circulaires ce qui suggère des crêtes tubuleuses (flèches). × 8.500.

FIG. 5 et 6

L'appareil de Golgi :

5. Dans les cellules folliculaires, il est localisé, souvent en anneau avec peu de vésicules denses. × 5.300.

6. Dans les cellules lutéales il est dispersé dans tout le cytoplasme, ses éléments ont souvent un feuillet sombre et ils donnent naissance à de nombreuses vésicules denses (flèches). × 5.300.

PLANCHE II

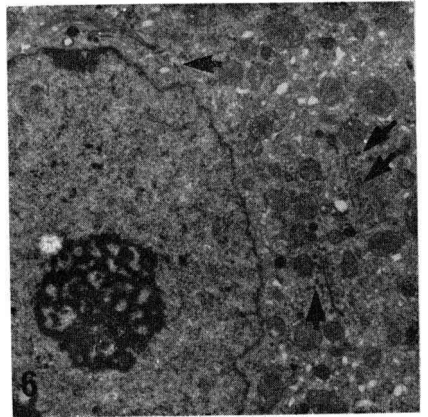
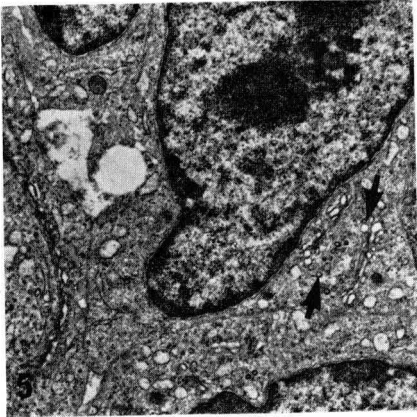
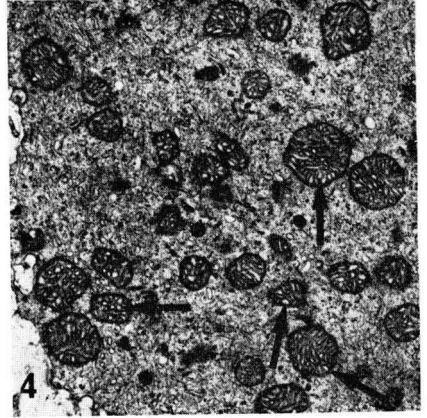
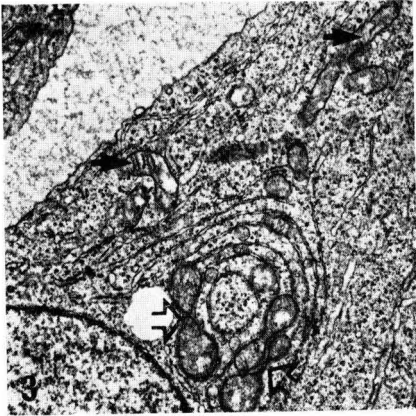
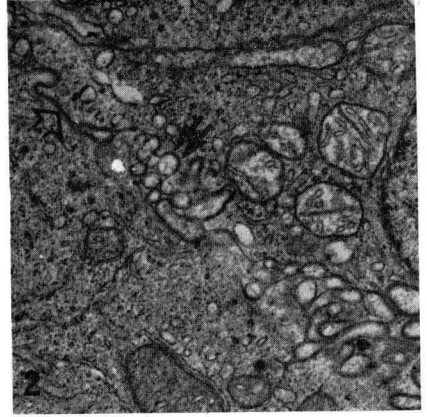
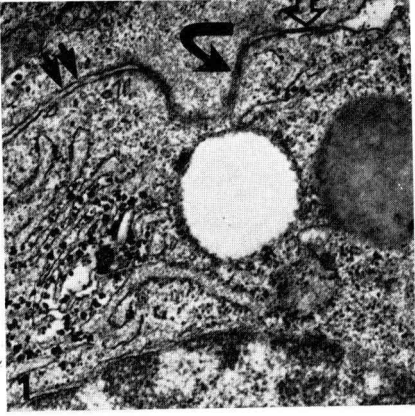


PLANCHE III

Divers stades du reticulum endoplasmique au cours de son évolution.

FIG. 1, 2 et 3

Différents aspects des corps glycogéniques suivant les plans de coupe :

1. Certaines citernes sont bordées de ribosomes (r), d'autres sont lisses et en alternance avec des grains de glycogène (gl); sur cette coupe le centre du corps glycogénique est en communication avec le cytoplasme. $\times 13.300$.

2. En coupe transversale, l'alternance de citernes lisses et de grains de glycogène est nette, le centre est occupé par une mitochondrie. $\times 15.800$.

3. En coupe oblique, la zone d'arrangement géométrique du glycogène suggère une disposition spiralee des citernes du corps glycogénique mais cela n'est pas net sur toutes les coupes transversales. $\times 14.300$.

FIG. 4

Stade de la disparition du glycogène : c'est la première transformation des corps glycogéniques après l'ovulation, ensuite les feuillettes externes commencent à se dérouler et à s'allonger dans le cytoplasme (flèches parallèles aux citernes). $\times 16.000$.

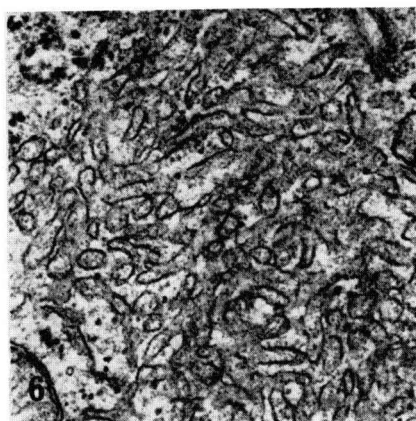
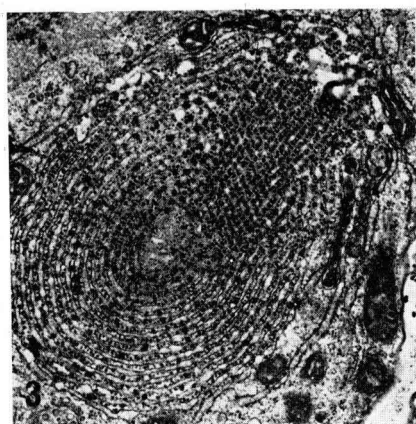
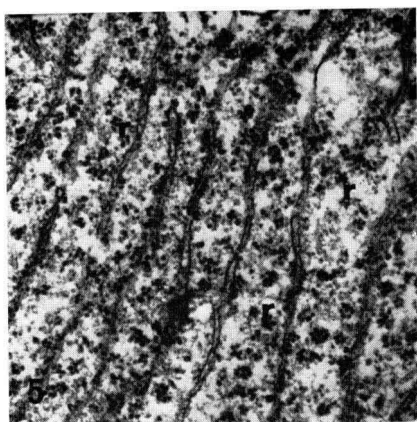
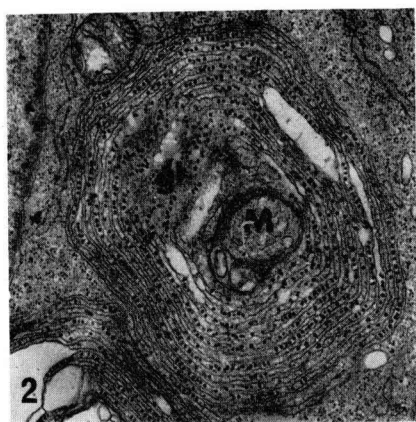
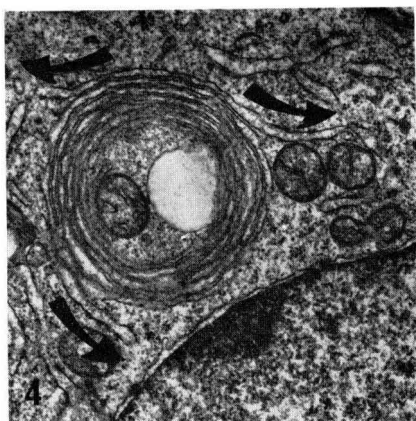
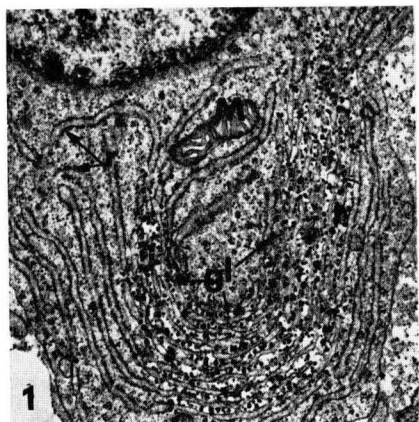
FIG. 5

Stade d'allongement du reticulum : vers J₃ de nombreuses cellules sont entièrement traversées par des citernes de reticulum endoplasmique, irrégulièrement bordées de ribosomes, entre les citernes on trouve des rosettes de ribosomes libres (r). $\times 23.300$.

FIG. 6

Stade terminal, reticulum endoplasmique lisse tubuleux et ramifié : cette forme de reticulum endoplasmique est celle qui domine dans les cellules lutéales ainsi que dans les autres cellules à sécrétion de stéroïdes. $\times 32.300$.

PLANCHE III



M. CORTEEL

PLANCHE IV

Evolution des lipides et des corps denses au cours de la formation des cellules lutéales.

FIG. 1 et 2

Gouttelettes lipidiques dans les premiers stades :

1. Dans les cellules folliculaires les lipides (L) forment souvent de grosses gouttelettes qui sont peu nombreuses. $\times 8.750$.
2. Après l'ovulation vers 48 h de nombreuses cellules possèdent des paquets de gouttelettes lipidiques (L). Ce stade est éphémère. Ici la déshydratation a entamé certaines gouttelettes ce qui donne des zones claires. $\times 8.000$.

FIG. 3, 4, 5 et 6

Formation des corps denses des cellules lutéales :

3. Les corps denses semblent se former par la fusion des vésicules des appareils de Golgi. Les flèches montrent les termes de passage. $\times 19.500$.
4. Les corps denses sont entourés d'une membrane lâche tant qu'ils sont dans la cellule (flèche noire), dès qu'ils franchissent la membrane cytoplasmique (mc) au niveau des microvillosités ils perdent leur membrane, leur contour devient diffus (flèche blanche) et ils semblent se dissoudre. $\times 37.300$.
5. A J₅, les corps denses (CD) ne sont pas encore très nombreux dans les cellules. Dans les mitochondries (M) les crêtes sont nombreuses. $\times 6.800$.
6. Bordure cellulaire : de nombreux corps denses (CD) sont situés à l'extérieur de la cellule au milieu des microvillosités (eic : espace intercellulaire). $\times 6.400$.

PLANCHE IV

