

Étude quantitative d'organes ou de tissus

IV. — Distribution de fréquences des diamètres de particules

par Aline SOLARI

*Station centrale de Physiologie animale, I.N.R.A.
78350 Jouy-en-Josas.*

Summary. *Quantitative study of organs or tissues. — IV. — Size frequency distribution of particles.*

In this paper are presented methods for determining size frequency distribution of particles from section size distribution. This extrapolation is based on the assumptions that (i) particles have a spherical shape, (ii) distribution of particle size can be represented by discontinuous distribution.

The first method was formulated by Wicksell (1925) and then modified by Bach. Both were discussed in detail by Baudhuin (1968) and applied to the quantitative analysis of cytoplasmic inclusions in rat hepatocytes. This method involves sequential calculation of the number of particles per unit volume in each class interval. The Schwartz-Saltikov procedure (Underwood, 1968, 1970) is a great improvement because the number of particles per unit volume in any particular class interval may be calculated directly. It only requires the use of one table of coefficients calculated by the authors for any number of class intervals up to 15. The Saltikov analysis (1967) is the most direct and simple because sequential calculation or coefficient tables are unnecessary. All the section diameters are divided by the maximum diameter measured, and the class intervals are based on an equispaced logarithmic scale. The maximum number of classes is 12. A numerical example is analyzed by these methods to illustrate the calculations and the use of the table of coefficients. Also included are references on biological applications and reviews of stereological techniques.

Les structures contenues dans un tissu organique sont fréquemment de dimensions variables et le problème pour l'histologiste consiste à rechercher la distribution de fréquences de leur taille. Elle lui permettra ensuite de reconstituer les caractéristiques principales de la population à savoir volume et diamètre moyens, surface moyenne.

Il existe de nombreux travaux théoriques traitant de ce sujet et déduisant la distribution de fréquences réelle de celle des diamètres des sections, mesurés sur coupe histologique. Ils sont en général difficilement accessibles au non-mathématicien ; le but de cet article est de présenter une synthèse des différentes méthodes existantes et de donner les éléments essentiels pour leur application.

A. — Particules de forme sphérique et de même diamètre.

En histologie, une coupe prélevée dans un tissu contenant des particules de taille identique présente une série de sections circulaires de dimensions variées. Pour estimer

le diamètre réel des structures on calcule habituellement la moyenne des diamètres mesurés. Cette valeur sous-estime le diamètre des particules qui, dans ce cas, a une valeur peu différente du diamètre maximum obtenu. L'hypothèse préalable d'égalité des tailles, ne peut être vérifiée qu'en comparant la distribution de fréquences des diamètres observés à celle que l'on devrait trouver quand l'hypothèse est vraie.

Considérons une sphère de diamètre $D = 2R$ coupée au hasard par un plan. L'intersection du plan et de la sphère produit une surface circulaire de diamètre $d = 2r$ dit diamètre apparent. La différence entre d et D est d'autant plus grande que le centre de la sphère est plus éloigné du plan de coupe car ce dernier ne passe pas nécessairement par la zone équatoriale (fig. 1). La valeur du diamètre apparent d est donc toujours inférieure à D : c'est une variable comprise entre 0 et D que l'on écrit $d = 2\sqrt{R^2 - h^2}$ avec h distance du centre de la sphère au plan de coupe. Pour des sphères de diamètre égal à $2R$ la probabilité de trouver un diamètre apparent de longueur comprise entre 0 et $2x$ se calcule par la relation suivante :

$$\int_0^x \frac{r dr}{2R\sqrt{4R^2 - r^2}} \quad (1)$$

avec $r = d/2 =$ rayon apparent.

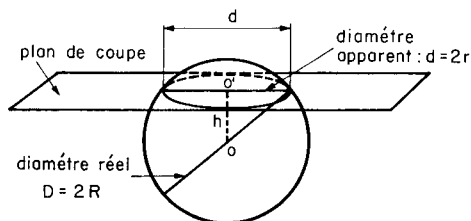


FIG. 1. — Différence entre le diamètre réel ($D = 2R$) et le diamètre apparent ($d = 2r$). ($O'O = h$).

Quand on effectue un grand nombre de coupes, cette relation permet de calculer le pourcentage de diamètres apparents dont la longueur est comprise entre 2 valeurs fixées. Par exemple, sur une coupe prélevée au hasard dans un tissu contenant des particules de $20\ \mu\text{m}$ de diamètre on doit dénombrer : 43,6 p. 100 de cercles dont le diamètre est compris entre 18 et $20\ \mu\text{m}$, 16,0 p. 100 de cercles dont le diamètre est compris entre 16 et $18\ \mu\text{m}$, etc... (fig. 2).

Plus simplement, 86,6 p. 100 des diamètres apparents doivent mesurer entre 10 et $20\ \mu\text{m}$, c'est-à-dire entre $0,5D$ et D (tabl. 1, Elias, 1954). Pratiquement, on confond D et le diamètre maximum observé, d_{max} ; on répartit ensuite l'ensemble des diamètres apparents en 2, 4 ou plusieurs classes et on calcule les fréquences relatives observées obtenant ainsi la distribution de fréquences des diamètres. Un écart trop important entre cette distribution observée et les pourcentages théoriques traduit une hétérogénéité des diamètres et conduit à rejeter l'hypothèse d'une population de particules de même taille (tabl. 2, Coupland, 1968 ; Mayhew et Williams, 1974).

A partir de la relation (1) on déduit la valeur du diamètre réel (D) des particules

$$D = \bar{d}(4/\pi) \tag{2}$$

avec \bar{d} : moyenne des diamètres apparents.

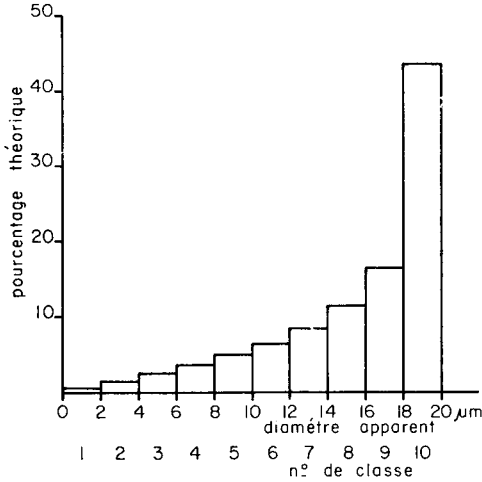


FIG. 2. — Distribution de fréquences des diamètres apparents des sections de sphères dont le diamètre est égal à 20 μm.

TABLEAU 1

Distribution des fréquences théoriques des diamètres apparents obtenus à partir des sections de sphères de même taille (cas particulier : 2 et 4 classes)

Diamètre des sections Limites de classes	Pourcentages théoriques
$0 < d \leq 0,25 D$	3,2
$0,25 D < d \leq 0,50 D$	10,2
$0,50 D < d \leq 0,75 D$	20,5
$0,75 D < d \leq D$	66,1
Total	100,0 100,0

L'équation (2) montre qu'un diamètre moyen observé égal à 20 μm correspond en fait à l'intersection d'un plan et de sphères de diamètre égal à 25,5 μm ; le diamètre moyen \bar{d} sous-estime la valeur réelle D de 27 p. 100.

En utilisant les diamètres moyens observés sans correction on sous-estime les effets éventuels d'un traitement. Par exemple, un écart observé de 2 μm, provenant de $\bar{d}_1 = 20 \mu\text{m}$ et de $\bar{d}_2 = 18 \mu\text{m}$, correspond à une différence de 2,50 μm puisque la relation 2 donne $D_1 = 25,5 \mu\text{m}$ et $D_2 = 23 \mu\text{m}$.

TABLEAU 2

Distribution de fréquences des diamètres apparents pour des sections de sphères de même taille (cas général, d'après Coupland, 1968 ; Mayhew et Williams, 1974)

i	Diamètre des sphères														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	100,00	13,40	5,72	3,18	2,02	1,40	1,03	0,78	0,62	0,50	0,41	0,35	0,30	0,26	0,22
2		86,60	19,74	10,22	6,33	4,32	3,14	2,40	1,88	1,52	1,26	1,05	0,89	0,77	0,67
3			74,54	20,46	11,65	7,68	5,48	4,12	3,22	2,59	2,12	1,78	1,51	1,29	1,13
4				66,14	20,00	12,06	8,28	6,10	4,70	3,74	3,06	2,54	2,15	1,85	1,60
5					60,00	19,26	12,08	8,54	6,43	5,05	4,08	3,37	2,84	2,49	2,10
6						55,28	18,48	11,92	8,61	6,60	5,26	4,48	3,59	2,99	2,63
7							51,51	17,73	11,69	8,59	6,67	5,20	4,46	3,75	3,21
8								48,41	17,04	11,41	8,51	6,70	5,44	4,54	3,85
9									45,81	16,41	11,13	8,39	6,66	5,46	4,59
10										43,59	15,84	10,86	8,26	6,61	5,46
11											41,66	15,31	10,61	8,13	6,55
12												39,97	14,83	10,35	7,99
13													38,46	14,40	10,11
14														37,11	13,99
15															35,90

↑
Tableau 1
↓

L'application des relations (1) et (2) à l'histologie ne se justifie que si l'épaisseur de la coupe est largement inférieure à la taille des particules et si tous les fragments de particules sont visibles. L'impossibilité de compter les fragments correspondant à des coupes passant près des pôles n'introduit pas de biais supplémentaires dans l'estimation du diamètre puisqu'on l'assimile au diamètre maximum mesuré. Par contre, il convient de dénombrer les petites sections avec soin si l'on veut tester l'hypothèse de particules de même taille dont le rejet implique la recherche du nombre de particules par mm^3 pour chaque classe de taille.

B. — Particules sphériques de diamètres différents.

1. — *Introduction.*

Généralement, les particules ou cellules contenues dans un même organe (follicules de l'ovaire, ovocytes...), varient en taille ce qui complique considérablement la tâche de l'histologiste, la difficulté augmentant avec le volume de l'organe. L'observation exhaustive de coupes sériées s'avère illusoire quant à son efficacité. En outre, le calcul du nombre global de particules par unité de volume N_V est biaisé et n'est plus une estimation qui résume avec suffisamment de précision la complexité de l'organe. D'après les résultats précédents, lorsque les particules sont toutes de même taille, la distribution de fréquences des diamètres observés (ou profils) — sur coupe fine — a une allure caractéristique représentée dans le tableau 2 et figure 2. Une répartition empirique significativement différente de celle-ci traduit donc la présence de particules dont les diamètres ne sont pas identiques. Si l'organe contient q classes de particules, de

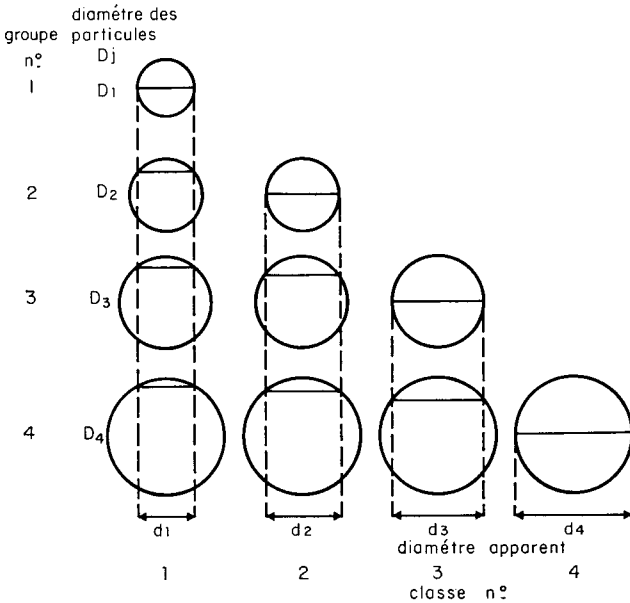


FIG. 3. — Relation entre le diamètre des sections et celui des particules.

diamètres $D_1, D_2, \dots, D_j, \dots, D_q$, on observe sur des coupes au hasard, des sections circulaires dont les diamètres d_i varient de 0 à D_q . Deux sections de même diamètre peuvent donc provenir de 2 sphères de taille différente. Par exemple, si $q = 4$, les diamètres observés qui se répartissent dans la 3^e classe proviennent de particules de diamètre D_3 et D_4 alors que ceux dénombrés dans la classe 4 sont dus exclusivement à l'intersection de particule de diamètre D_4 (fig. 3). Ainsi, à partir de la distribution de fréquences des diamètres apparents, il faudra déduire celle des diamètres D_j . C'est un problème mathématique complexe qui a été abordé pour la première fois par Wicksell (1925). D'autres auteurs s'y sont intéressés et ont apporté des améliorations du point de vue utilisation.

2. — Transformation de Wicksell.

Sur le plan théorique le problème se résume ainsi : un volume contient des particules de forme sphérique et de diamètre variable et on cherche à estimer leur probabilité : $F(D)$. On appelle :

$$\int_0^a F(D) dD$$

la probabilité qu'une particule choisie au hasard ait un diamètre inférieur ou égal à a (ou plus simplement fréquence relative des particules de taille inférieure à a). La section des particules par un plan donne naissance à un ensemble de cercles dont $f(x) dx$ ont un diamètre compris entre x et $x + dx$ *. On montre que :

$$f(x) dx = \frac{x}{D} \int_x^\infty \frac{F(D) dD}{\sqrt{D^2 - x^2}} dx \quad (3)$$

avec \bar{D} : diamètre moyen des particules.

De la relation (3) on déduit

$$F(D) = - \frac{2 D \bar{D}}{\pi} \int \frac{d}{dx} \left(\frac{f(x)}{x} \right) \frac{dx}{\sqrt{D^2 - x^2}} \quad (4)$$

(Kendall et Moran, 1963)

Cette solution théorique nécessite la connaissance de la forme analytique de $f(x)$ — pour le calcul de sa dérivée — ce qui est rarement obtenu en pratique. Cependant, grâce à l'introduction de certaines approximations et à la répartition des données expérimentales en q classes de taille, d'amplitude constante égale à Δ , on peut exprimer la relation (3) sous la forme de q équations linéaires dont la résolution est désignée sous le nom de *transformation de Wicksell* soit :

$$f_i = 2 \sum_{j=1}^q a_{ij} F_j \quad \text{pour} \quad 1 \leq i \leq q \quad (5)$$

où

i et j : sont les indices qui caractérisent les classes de diamètres apparents et réels ;
 q : le nombre total de classes ;

* On suppose une répartition uniforme des particules dans le volume.

f_i : est la valeur observée qui représente le nombre (ou la fréquence relative) de sections par mm^2 dont le diamètre est compris entre d_i et $d_{i+1} = d_i + \Delta$ (avec $d_i = 2 r_i$). Ces sections proviennent de la rencontre d'un plan et de particules dont le diamètre réel est égal ou supérieur à $d_i + \Delta$;

$a_{i,j}$: sont des coefficients que l'on calcule à partir des rayons avec $a_{i,j} = 0$ pour $i > j$;

F_j : est la valeur que l'on désire calculer et qui représente la fréquence des particules dont le diamètre est égal à D_j .

Par exemple pour 4 classes de diamètres ($q = 4$) la relation (5) s'écrit

$$\begin{aligned} f_4 &= 2 a_{4,4} F_4 \\ f_3 &= 2(a_{3,3} F_3 + a_{3,4} F_4) \\ f_2 &= 2(a_{2,2} F_2 + a_{2,3} F_3 + a_{2,4} F_4) \\ f_1 &= 2(a_{1,1} F_1 + a_{1,2} F_2 + a_{1,3} F_3 + a_{1,4} F_4). \end{aligned}$$

Le calcul des coefficients $a_{i,j}$ est réalisé en 2 étapes car ils dépendent eux-mêmes d'autres coefficients

$$a_{i,j} = \alpha_{i,j} - \alpha_{i+1,j} + 0,5 t \delta_{i,j} \tag{6}$$

où t est l'épaisseur de la coupe

et

$$\begin{aligned} \delta_{i,j} &= 1 \quad \text{si } i = j \\ \delta_{i,j} &= 0 \quad \text{si } i \neq j. \end{aligned}$$

Il existe 2 possibilités de calcul des coefficients $\delta_{i,j}$. Elles correspondent à des hypothèses différentes en ce qui concerne la loi de distribution des diamètres. La première est due à Wicksell (1925) (rapportée par Baudhuin, 1968) et suppose que toute les particules de la classe j ont des diamètres de même valeur égaux au centre de la classe, soit :

$$\alpha_{i,j} = \left\{ \begin{aligned} &\left(\left(r_j + \frac{\Delta'}{2} \right)^2 - r_i^2 \right)^{1/2} && \text{pour } 1 < i \leq j \\ &0 && \text{pour } i > j \end{aligned} \right. \tag{7a}$$

La deuxième relation est due à Bach (rapportée par Baudhuin, 1968) ; elle a été établie en faisant l'hypothèse que les particules prennent toutes les valeurs entre les limites de classe soit :

$$\alpha_{i,j} = \left\{ \begin{aligned} &\frac{(r_j + \Delta')}{2 \Delta'} \left((r_j + \Delta')^2 - r_i^2 \right)^{1/2} - \frac{r_j}{2 \Delta'} (r_j^2 - r_i^2)^{1/2} \\ &- \frac{r_i^2}{2 \Delta'} \text{LN} \left(\frac{r_j + \Delta' + \left((r_j + \Delta')^2 - r_i^2 \right)^{1/2}}{r_j + (r_j^2 - r_i^2)^{1/2}} \right) && \text{pour } 1 < i \leq j \\ &0 && \text{pour } i > j \end{aligned} \right. \tag{7b}$$

Dans les 2 cas $\alpha_{1,1} = \Delta'/2$ et Δ' : amplitude de classe des rayons.

Bien que les hypothèses de départ soient différentes, ces deux approximations donnent des résultats pratiquement identiques.

Une fois les $a_{i,j}$ calculés on déduit facilement les F_j . En effet, puisque $a_{i,j} = 0$ quand $i > j$, la dernière équation de (5) n'aura qu'une seule inconnue :

$$f_q = 2 a_{q,q} F_q \quad (8)$$

de (8) on détermine F_q et en substituant F_q dans l'équation précédente on obtient F_{q-1} . On normalise ensuite en divisant chaque F_q par leur somme.

L'application de ces résultats donne lieu à de laborieux calculs. Un programme en Fortran IV-E pour ordinateur de type IBM-360 a été mis au point par Baudhuin (1968), il permet le calcul simultané des équations précédentes et des moments de la distribution. Ces derniers seront présentés au chapitre 5.

3. Méthode de Schwartz-Saltikov (rapportée par Underwood 1968, 1970).

Cette méthode, similaire à celle de Wicksell, est d'accès plus simple ; son emploi évite le calcul des coefficients $a_{i,j}$ et le procédé séquentiel d'estimation du pourcentage de particules de taille donnée. La méthode de Schwartz-Saltikov offre l'avantage d'évaluer directement $N_V(j)$, le nombre par mm^3 de particules de diamètre égal à D_j , à partir du nombre par mm^2 de sections dont le diamètre est supérieur à D_j soit :

$$N_V(j) = \frac{1}{\Delta} \beta_{j,j} N_A(j) - \frac{1}{\Delta} \sum_{i=j+1}^q \beta_{i,j} N_A(i) \quad (9)$$

pour $1 \leq j \leq q$, avec :

q : nombre total de classes de la distribution observée ; il est toujours inférieur ou égal à 15 ;

$N_V(j)$: nombre de particules par mm^3 dont le diamètre est égal à D_j ;

Δ : intervalle de classe des diamètres, exprimé en mm ;

$\beta_{i,j}$: coefficient de Saltikov (tabl. 3). On le trouve à l'intersection de la colonne i et de la ligne j ;

$N_A(i)$: nombre de sections par mm^2 dont le diamètre est compris entre $(d_i - \Delta)$ et d_i .

Par exemple pour $q = 4$, on écrit d'après (9)

$$N_V(4) = \frac{1}{\Delta} \beta_{4,4} N_A(4) = \frac{1}{\Delta} 0,3779 N_A(4)$$

et

$$N_V(2) = \frac{1}{\Delta} (\beta_{2,2} N_A(2) - \beta_{3,2} N_A(3) - \beta_{4,2} N_A(4))$$

avec

$$\beta_{2,2} = 0,5774 ; \beta_{3,2} = 0,1529 ; \beta_{4,2} = 0,0420.$$

Une conclusion évidente s'impose : le nombre de particules par mm^3 dont le diamètre appartient au groupe j ne nécessite pas la connaissance du nombre de particules de plus grande dimension.

Les coefficients de Saltikov se déduisent aisément des probabilités du tableau 3. En effet, si $q = 4$, la section au hasard des particules de diamètre D_4 conduit à observer : 66,14 p. 100 de diamètres apparents entre $0,75 D_4$ et D_4 , 20,46 p. 100 de diamètres apparents entre $0,5 D_4$ et $0,75 D_4$ etc...

Ainsi, les $N_A(4)$ sections de diamètres maximum compris entre $(d_4 - \Delta)$ et d_4 représentent 66,14 p. 100 des particules de taille $d_4 = D_4$ soit : $N_A(4)/0,6614$. Ceci entraîne pour le nombre de particules par mm^3 *

$$N_V(4) = \left(\frac{N_A(4)}{0,6614} \right) / d_4.$$

En exprimant le diamètre en fonction du nombre de classes et de leur amplitude $d_4 = q \Delta$, l'équation précédente devient :

$$N_V(4) = \frac{1}{\Delta} 0,3779 N_A(4).$$

La valeur 0,3779 correspond bien au coefficient de Saltikov qui se trouve à l'intersection de la ligne 4 et de la colonne 4.

Des $N_A(3)$ sections observées dont le diamètre est compris entre $(d_3 - \Delta)$ et d_3 , on soustrait les 20,46 p. 100 de sections provenant des particules dont le diamètre est supérieur à d_3 soit :

$$N_A(3) - \frac{0,2046}{0,6614} N_A(4) = N_A(3) - 0,30934 N_A(4) = N'_A(3).$$

Or les $N'_A(3)$ représentent 74,54 p. 100 des sections de sphères ayant un diamètre égal à la valeur du groupe 3 (tabl. 2 ; $i = 3, j = 3$) ce qui donne pour $N_V(3)$

$$N_V(3) = \frac{1}{d_3} \left(\frac{N_A(3)}{0,7454} - \frac{0,30934}{0,7454} N_A(4) \right).$$

En posant $d_3 = 3 \Delta$, la relation précédente devient :

$$N_V(3) = \frac{1}{\Delta} (0,4472 N_A(3) - 0,1383 N_A(4))$$

avec $0,4472 = \beta_{3,3}$ et $0,1383 = \beta_{3,4}$.

On retrouve ainsi l'équation (8) pour $j = 3$.

TABLEAU 4

Distribution des fréquences théoriques des diamètres relatifs (d'après Saltikov, 1967)

Classe n^o	Limites de classes de diamètres d_i/d_{max}	Pourcentage théorique de sections par unité de surface	Nombre de sections observées par mm^2	Diamètre des particules en valeur relative	Nombre de sections par mm^3
1	1,000 0-0,794 3	60,75	$N_A(1)$	1,000 0	$N_V(1)$
2	0,794 3-0,631 0	16,83	$N_A(2)$	0,794 3	$N_V(2)$
3	0,631 0-0,501 2	8,95	$N_A(3)$	0,631 0	$N_V(3)$
4	0,501 2-0,398 1	5,20	$N_A(4)$	0,501 2	$N_V(4)$
5	0,398 1-0,316 2	3,13	$N_A(5)$	0,398 1	$N_V(5)$
6	0,316 2-0,251 2	1,93	$N_A(6)$	0,316 2	$N_V(6)$
7	0,251 2-0,199 5	1,20	$N_A(7)$	0,251 2	$N_V(7)$
8	0,199 5-0,158 1	0,75	$N_A(8)$	0,199 5	$N_V(8)$
9	0,158 1-0,125 9	0,47	$N_A(9)$	0,158 1	$N_V(9)$
10	0,125 9-0,100 0	0,29	$N_A(10)$	0,125 9	$N_V(10)$
11	0,100 0-0,079 4	0,19	$N_A(11)$	0,100 0	$N_V(11)$
12	0,079 4-	0,12	$N_A(12)$	0,079 4	$N_V(12)$

* Lorsque les particules sont de même taille et que l'épaisseur de la coupe est négligeable, on évalue leur nombre par mm^3 par la relation : $N_V = N_A''/D$ ou $N_A'' =$ nombre de sections par mm^2 provenant exclusivement de particules de diamètre D .

4. — *Méthode de Saltikov* (Saltikov, 1967 ; Underwood, 1970).

On s'intéresse ici à la distribution de fréquences des logarithmes des diamètres relatifs d_i/d_{\max} avec d_{\max} : diamètre maximum mesuré. Les intervalles de classe sont constants en logarithme et valent $\log 0,794\ 3$. En échelle arithmétique, les limites de la classe 1 sont : 1 et $0,794\ 3$; celles de la classe 2 sont égales à $0,794\ 3$ et $0,631\ 0$ ($0,631\ 0 = 0,794\ 3^2$). De même, les limites de la classe 3 correspondent à $0,631\ 0$ et $0,501\ 2 = 0,794\ 3^3$, etc. (tabl. 4, 2^e colonne). Les pourcentages théoriques des profils, par classe de taille, ont été calculés uniquement pour un nombre de classe inférieur à 12. La relation générale suivante se déduit de ces valeurs et donne :

$$N_V(j) = \frac{1}{D_j} [1,646\ 1\ N_A(i) - 0,456\ 1\ N_A(i - 1) - 0,116\ 2\ N_A(i - 2) \\ - 0,041\ 5\ N_A(i - 3) - 0,017\ 3\ N_A(i - 4) - 0,007\ 9\ N_A(i - 5) \\ - 0,003\ 8\ N_A(i - 6) - 0,001\ 8\ N_A(i - 7) - 0,001\ 0\ N_A(i - 8) \\ - 0,000\ 3\ N_A(i - 9) - 0,000\ 2\ N_A(i - 10) - 0,000\ 2\ N_A(i - 11)] \quad (10)$$

pour $i = j$;

elle permet d'obtenir directement le nombre par mm^3 de particules de taille donnée.

Pour $q = 4$, si on désire $N_V(3)$ sans connaître préalablement $N_V(1)$ et $N_V(2)$ on pose :

$$N_V(3) = \frac{1}{d_3} (1,646\ 1\ N_A(3) - 0,456\ 1\ N_A(2) - 0,116\ 2\ N_A(1)).$$

Quant à $N_V(1)$ il est égal à $1,646\ 1\ N_A(1)/d_1$ avec $d_1 = d_{\max}$ et $d_3 = d_{\max} \times 0,610$.

Cette méthode est particulièrement intéressante du point de vue pratique car elle ne nécessite ni usage de table ni calculs de coefficients. Le seul problème consiste à obtenir une bonne évaluation de d_{\max} ce qui suppose, comme précédemment, la mesure d'un grand nombre de sections.

5. — *Méthode des moments*.

La connaissance de la distribution de fréquences des diamètres des particules permet de déterminer leur diamètre, surface et volumes moyens qui sont proportionnels respectivement aux moments * d'ordre 1, 2 et 3 (m_1 ; m_2 ; m_3). Or, ces moments se déduisent directement des moments de la distribution observée puisque :

$$m_k = J_k M_{k-1}/M_{-1} \quad (11)$$

(Wicksell, 1925)

* Le moment d'ordre k est égal à : $m_k = \sum_j D_j^k P_j$ avec P_j , probabilité d'obtenir un diamètre égal à D_j .

Par exemple si : $k = 0$ $m_0 = 1$

$$k = 1 \quad m_1 = \sum D_j P_j = \bar{D}$$

$$k = 2 \quad m_2 = \sum D_j^2 P_j = \bar{D}^2$$

où :

J_k est un coefficient dépendant uniquement de l'ordre du moment (tabl. 5),
 M_k est le moment d'ordre k calculé à partir des données expérimentales.

TABLEAU 5
 Valeurs des coefficients J_k pour $1 \leq k \leq 6$

k	1	2	3	4	5	6
J_k	1,570 8	2,000 0	2,356 2	2,666 6	2,945 3	3,200 0

$$k = 1, J_1 = \pi/2$$

$$k > 1, J_k = \frac{\pi}{2} \frac{1 \times 3 \times 5 \times \dots \times k}{2 \times 4 \times 6 \times \dots \times (k-1)}, \text{ quand } k \text{ est impair}$$

$$J_k = \frac{2 \times 4 \times 6 \times \dots \times k}{3 \times 5 \times 7 \times \dots \times (k-1)}, \text{ quand } k \text{ est pair.}$$

Ainsi pour $k = 1$

$$m_1 = \bar{D} = \frac{\pi}{2} \frac{1}{M_{-1}} \quad (12)$$

avec M_{-1} la moyenne des inverses des diamètres apparents

$$M_{-1} = \frac{1}{n} \sum \left(\frac{1}{d_i} \right).$$

La méthode des moments a été commentée et développée par Fridman et Fridman-Manduzio (1976). Ils montrent qu'elle est de portée générale quand l'épaisseur de la coupe est largement inférieure aux diamètres D_j des particules. Selon les auteurs, lorsque l'épaisseur de la coupe est égale ou supérieure aux diamètres des structures, les résultats de Wicksell ne sont plus applicables car M_{-1} , basé sur l'inverse des diamètres, n'est plus connu avec suffisamment de précision. Dans ce cas on remplace l'équation (12) par

$$\bar{D} \neq \bar{d} \quad (13)$$

avec \bar{d} : moyenne des diamètres apparents.

C. — Particules de forme ellipsoïdale ou de forme quelconque.

La section de particules de forme ellipsoïdale conduit à observer, sur coupe, des sections elliptiques qui sont caractérisées par les diamètres des cercles ayant les mêmes surfaces que les ellipses c'est-à-dire :

$$d = \sqrt{ab} \quad (14) *$$

où a et b représentent respectivement le grand et le petit diamètre du profil (fig. 4a).

* d = moyenne géométrique des axes.

La transformation de Wicksell est ensuite appliquée à l'ensemble des diamètres calculés par la relation précédente. En assimilant des ellipsoïdes de révolution * à des sphères, l'erreur introduite est négligeable, du moins tant que l'excentricité moyenne e ** est inférieure ou égale à 0,8 (ou le rapport axial inférieur à 2) (Wicksell, 1926). Ce procédé appelé *réduction sphérique* conduit donc à des simplifications pour l'analyse des données expérimentales puisque l'on peut utiliser l'ensemble des résultats relatifs aux sphères. Toutefois, des sections elliptiques ou circulaires peuvent résulter de la coupe de particules cylindriques réparties pêle-mêle dans l'organe (Elias, Sokol et Lazarowitz, 1954). Avant toute analyse, il convient donc de déterminer la forme la plus probable (Elias, Hennig et Schwartz, 1971 ; Nourtier, 1971).

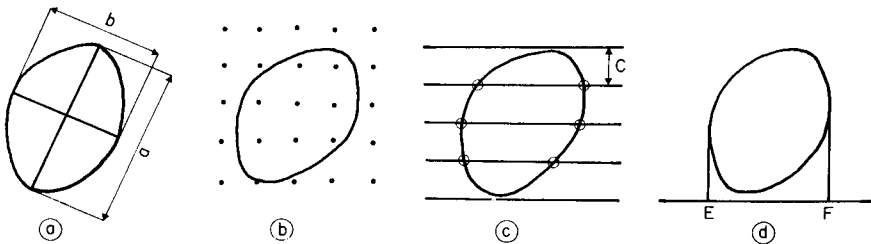


FIG. 4. — Evaluation de la taille des sections par différentes méthodes (cf. tabl. 6 pour les commentaires et explications).

(a) : mesure des axes, (b) : numération ponctuelle, (c) : intersection, (d) : projection.

TABEAU 6

Méthodes d'évaluation des dimensions des sections

Méthode	Numération ponctuelle	Intersection ou projection
Figure	4b	4 c ou 4 d
Mesure	$A_s = P_s A/P$ pour l'ensemble des n sections	$B = l\pi C/2$ $B = \bar{B}' (\pi/2)$ pour l'ensemble des n sections

avec :

A et P = surface totale observée et nombre total de points du réseau (.) ;

A_s et P_s = surface de toutes les sections observées et nombre total de points se superposant aux sections ;

B = périmètre total des sections ;

C et l = intervalle entre les parallèles et nombre d'intersections (o) des limites de la section et des droites du réseau ;

\bar{B}' = longueur moyenne de projection.

* : ellipsoïde de révolution = ellipsoïde ayant 2 axes égaux.

** : $e = \sqrt{(a^2 - b^2)}/a$ (fig. 4a).

Pour des particules de forme quelconque il n'existe pas de relation simple permettant d'obtenir la distribution de fréquences des tailles des particules à partir de celle des sections. Dans ce cas, on se limite à un résultat global à savoir le volume ou la surface (enveloppes cellulaires) de la totalité des particules. Ces paramètres sont estimés, sur coupe, par la méthode des numérations ponctuelles ou par celle des intersections (fig. 4, tabl. 6). Les sections de particules peuvent néanmoins être caractérisées par les index linéaires suivants (Humphries, 1969) :

- *le diamètre nominal* : c'est le diamètre du cercle qui a la même superficie que la section observée. On dispose généralement d'un ensemble de cercle de diamètre déterminé et on recherche celui qui s'adapte le mieux à la section ;
- *le diamètre de Feret* : c'est la projection sur un axe fixe de la distance maximale entre les tangentes à la section. C'est un index linéaire intéressant puisque la projection est proportionnelle au périmètre de la section (tabl. 6, fig. 4) ;
- *le diamètre de Martin* : c'est la longueur de la ligne qui partage l'aire de la section en deux parties égales. Elle est parallèle à une direction fixée et la division se fait habituellement à l'œil.

Tous ces index linéaires dépendent de l'orientation et de la distance du niveau d'intersection de la particule et du plan de coupe.

D. — Exemple d'application.

Sur une coupe, d'épaisseur négligeable, on a mesuré les diamètres de 500 sections de particules. Ils ont été répartis en 8 classes d'intervalle constant égal à $0,5 \mu\text{m}$. L'allure de la distribution traduit la présence, dans le volume initial, de particules de taille variable (tabl. 7). On va donc chercher à transformer cette distribution observée en une distribution de fréquences des diamètres de particules en utilisant successivement les 3 méthodes décrites et celle des moments.

TABLEAU 7

Distribution observée de 500 diamètres apparents

Diamètre des sections (en μm)	N_A nombre par mm^2	f_i pourcentage par mm^2
0-0,5	25	5,00
0,5-1,0	110	22,00
1,0-1,5	178	35,60
1,5-2,0	105	21,00
2,0-2,5	39	7,80
2,5-3,0	29	5,80
3,0-3,5	7	1,40
3,5-4,0	7	1,40
	500	100,00

Transformation de Wicksell. — Il s'agit de résoudre les équations (5) suivantes :

$$f_i = 2 \sum_{j=1}^i a_{i,j} F_j$$

c'est-à-dire : $f_8 = 2 a_{8,8} F_8$

$f_7 = 2(a_{7,7} F_7 + a_{7,8} F_8)$, etc...

La première étape consiste à calculer les coefficients $a_{i,j}$ selon les relations (6) et (7a) ou (7b). Ils dépendent de l'amplitude de classe des rayons observés c'est-à-dire $\Delta' = 0,25 \mu\text{m}$. Par exemple pour $i = 1$ et $j = 8$ on obtient selon les équations (6) et (7a) combinées :

$$a_{1,8} = \sqrt{(1,75 + 0,125)^2} - \sqrt{((1,75 + 0,125)^2 - 0,25^2)} = 0,01674.$$

Cette valeur est inscrite dans le tableau 8 à l'intersection de la ligne $i = 1$ et de la colonne $j = 8$.

Pour $i = 2 ; j = 8$

$$a_{2,8} = \sqrt{((1,75 + 0,125)^2 - 0,25^2)} - \sqrt{((1,75 + 0,125)^2 - 0,5^2)} = 0,05116$$

etc... (tabl. 8).

TABLEAU 8

Coefficients $a_{i,j}$ calculés à partir des relations de Wicksell et de Bach (valeurs entre parenthèse)

r_j	0	0,25	0,5	0,75	1,0	1,25	1,5	1,75	
j	1	2	3	4	5	6	7	8	
r_i	i								
0	1	0,125 (0,125)	0,095 49 (0,106 61)	0,052 18 (0,053 08)	0,036 47 (0,036 75)	0,028 13 (0,028 25)	0,022 92 (0,022 98)	0,019 35 (0,019 39)	0,016 74 (0,016 77)
0,25	2		0,279 51 (0,268 39)	0,197 82 (0,214 61)	0,120 46 (0,121 99)	0,089 09 (0,089 61)	0,071 21 (0,071 46)	0,059 49 (0,059 62)	0,051 16 (0,051 24)
0,5	3			0,375 00 (0,357 31)	0,267 38 (0,288 17)	0,169 25 (0,171 17)	0,12 843 (0,129 08)	0,104 59 (0,104 91)	0,088 63 (0,088 81)
0,75	4				0,450 69 (0,428 09)	0,323 14 (0,347 26)	0,208 71 (0,210 93)	0,160 70 (0,161 46)	0,132 40 (0,132 76)
1,0	5					0,515 39 (0,488 71)	0,370 91 (0,397 96)	0,242 54 (0,245 02)	0,188 53 (0,189 38)
1,25	6						0,572 82 (0,542 59)	0,413 33 (0,443 02)	0,272 54 (0,272 56)
1,50	7							0,625 00 (0,591 58)	0,451 85 (0,483 97)
1,75	8								0,673 15 (0,636 81)

Lorsque tous les $a_{i,j}$ sont calculés on résout aisément les 8 équations précédentes en commençant par la dernière qui ne dépend que d'une seule inconnue :

$$f_8 = 2 a_{8,8} F_8 \text{ soit } 1,40 = 2 \times 0,673 15 * \times 10^{-3} \times F_8$$

qui donne : $F_8 = 1 040$.

On porte cette valeur dans l'équation précédente pour obtenir F_7 :

$$f_7 = 2(a_{7,7} F_7 + a_{7,8} F_8)$$

soit :

$$1,40 = 2 \times 10^{-3}(0,625 0 F_7 + 0,451 8 \times 1 040)$$

$$F_7 = 368$$

ensuite :

$$f_6 = 2(a_{6,6} F_6 + a_{6,7} F_7 + a_{6,8} F_8)$$

soit :

$$5,80 = 2 \times 10^{-3}(0,572 82 F_6 + 0,413 33 \times 368 + 0,272 54 \times 1 040)$$

$$F_6 = 4 302$$

etc. (tabl. 9).

Dans cet exemple, la valeur de F_1 est négative en raison des soustractions successives ; elle est remplacée par la valeur nulle. Les pourcentages théoriques de particules par mm^3 sont déduits en divisant chaque F_j par leur somme (tabl. 9).

TABLEAU 9

Distribution de fréquences des diamètres des particules

Wicksell			Bach		
Diamètre des particules	F_j	Pourcentage théorique par mm^3	Diamètre des particules	F_j	Pourcentage théorique par mm^3
0,25	0	0,00	0-0,5	0	0,00
0,75	7 018	10,68	0,5-1,0	5 033	7,82
1,25	31 000	47,18	1,0-1,5	30 853	47,94
1,75	18 060	27,49	1,5-2,0	18 833	29,26
2,25	3 917	5,96	2,0-2,5	3 698	5,75
2,75	4 302	6,55	2,5-3,0	4 561	7,09
3,25	368	0,56	3,0-3,5	284	0,44
3,75	1 040	1,58	3,5-4,0	1 099	1,70
	65 705			64 361	

En utilisant la relation (7a), mise au point par Wicksell, on détermine le pourcentage de particules par mm^3 dont le diamètre est exactement égal au centre des classes de la distribution observée (tabl. 9, colonne 1). Au contraire, avec la modification introduite par Bach (relation (7b), tabl. 8, valeurs entre parenthèses) les diamètres réels

* Les $a_{i,j}$ sont ici fonction des rayons exprimés en mm.

peuvent prendre n'importe quelle valeur entre les limites de classe (tabl. 9, colonne 4). Cette dernière hypothèse, plus générale que celle de Wicksell, ne modifie pas significativement les résultats (tabl. 9, colonnes 3 et 6). Signalons que l'on obtient les mêmes pourcentages en utilisant la fréquence absolue N_A .

Méthode de Schwartz-Saltikov. — On utilise la relation 9 et le tableau des coefficients de Saltikov qui permettent de calculer directement le nombre de particules par mm^3 . L'intervalle de classe en μm est égal à $0,0005 = \Delta$.

Pour $j = 8$, le nombre de particules par mm^3 est égal à :

$$N_V(8) = 7 \times 0,2582 / 0,0005 = 3\,615.$$

On trouve le coefficient 0,2582 à l'intersection de ligne 8 et de la colonne 8 du tableau 3.

Le calcul du nombre de particules par mm^3 appartenant à la classe 5 donne :

$$N_V(5) = (39 \times 0,3333 - 29 \times 0,1161 - 7 \times 0,0366 - 7 \times 0,0168) / 0,0005.$$

Il existe donc 18 516 particules par mm^3 dont le diamètre est égal à $2,5 \mu\text{m}$ (tabl. 10).

La comparaison des méthodes précédentes et de celle de Schwartz-Saltikov s'avère satisfaisante (fig. 5).

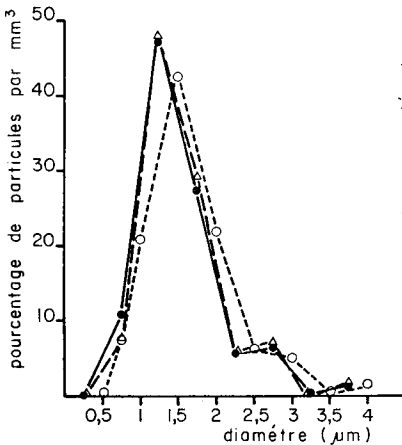


FIG. 5.

FIG. 5. — Distribution de fréquences des diamètres des particules

- } Wicksell,
- △---△ } Bach,
- } Schwartz-Saltikov.

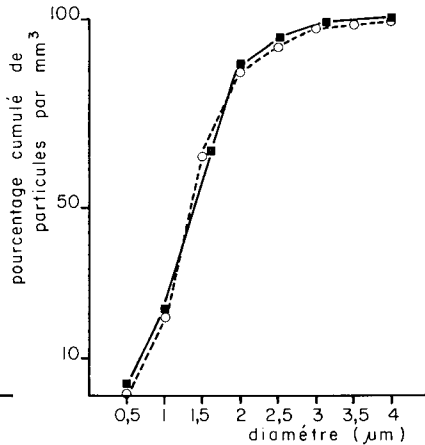


FIG. 6.

FIG. 6. — Distribution des fréquences cumulées des diamètres des particules.

- } Schwartz-Saltikov,
- } Saltikov.

Méthode de Saltikov. — Les 500 diamètres sont répartis dans des classes dont l'amplitude n'est pas constante en μm mais constante en échelle logarithmique. Les limites de classe sont calculées en multipliant les limites de classe pour les diamètres relatifs d_i/d_{max} par le diamètre maximum d_{max} (tabl. 11, colonnes 2 et 3).

TABLEAU 10

Distribution de fréquences des diamètres des particules (d'après Schwartz-Saltikov)

Classe	Diamètre des particules	N_V nombre par mm^3	Pourcentage théorique
1	0,5	0	0,00
2	1,0	61 822	20,99
3	1,5	125 756	42,69
4	2,0	66 916	22,72
5	2,5	18 516	6,29
6	3,0	15 489	5,26
7	3,5	2 460	0,84
8	4,0	3 615	1,21
		<u>294 574</u>	<u>100,00</u>

TABLEAU 11

Distribution de fréquences des diamètres (d'après Saltikov)

Classe n^0	Distribution observée			Distribution théorique		
	Limites de classes d_i/d_{max}	Limite de classes de diamètres en μm	$N_A(i)$ Nombre par mm^2	Diamètre des particules	Nombre par mm^3 $N_V(j)$	Pourcentage par mm^3
1	1,000 0-0,794 3	4-3,18	12	4	4 938	1,35
2	0,794 3-0,631 0	3,18-2,52	31	3,18	14 326	3,91
3	0,631 0-0,501 2	2,52-2,00	39	2,52	24 250	6,62
4	0,501 2-0,398 1	2,00-1,59	86	2,00	84 088	22,96
5	0,398 1-0,316 2	1,59-1,26	103	1,59	78 175	21,35
6	0,316 2-0,251 2	1,26-1,00	94	1,26	75 803	20,70
7	0,251 2-0,199 5	1,00-0,80	44	1,00	13 052	3,56
8	0,199 5-0,158 1	0,80-0,63	37	0,80	29 631	8,09
9	0,158 1-0,125 9	0,63-0,50	29	0,63	30 429	8,31
10	0,125 9-0,100 0	0,50-0,40	15	0,50	4 935	1,35
11	0,100 0-0,079 4	0,40-0,32	10	0,40	6 534	1,80
Total			<u>500</u>		<u>366161</u>	<u>100,000</u>

L'application de la relation (10) à l'exemple du tableau 11 montre qu'il existe 59 838 ou 22,96 p. 100 de particules par mm^3 dont le diamètre est égal à 2 μm . En effet :

$$N_V(4) = (86 \times 1,646 1 - 39 \times 0,456 1 - 31 \times 0,116 2 - 12 \times 0,041 5)/0,002$$

$$N_V(4) = 59 838 .$$

De même

$$N_V(1) = 1,646 1 \times 12/0,004 = 4 938 \text{ soit } 1,35 \text{ p. } 100 .$$

La comparaison de cette méthode et de celle de Schwartz-Saltikov ne fait apparaître aucune distorsion (fig. 6). Malgré sa rigidité en ce qui concerne les limites de classe fixées définitivement, l'avantage revient incontestablement à la méthode de Saltikov en raison de sa grande rapidité d'utilisation.

Méthode des moments. — A partir des valeurs du tableau 8, on obtient les moments empiriques suivants :

$$\begin{aligned} M_{-1} &= \text{moyenne des inverses des diamètres} = 0,961\ 93 \\ M_1 &= \bar{d}_1 = \text{diamètre moyen} = 1,423\ \mu\text{m} \\ M_2 &= \text{moyenne du carré des diamètres} = 2,504\ 5\ \mu\text{m}^2 \\ &\text{etc...} \end{aligned}$$

Ces valeurs introduites dans l'équation (8) permettent le calcul des moments théoriques, c'est-à-dire

$$\begin{aligned} m_1 &= \bar{D} = \frac{\pi}{2} 0,961\ 93 \neq 1,6\ \mu\text{m} \\ m_2 &= \bar{D}^2 = 2 \times 1,423/0,961\ 93 \neq 2,96\ \mu\text{m}^2 \\ m_3 &= \bar{D}^3 = 2,356\ 2 \times 2,504\ 5/0,961\ 93 \neq 6,13\ \mu\text{m}^3. \end{aligned}$$

Les moments théoriques se déduisent également de la distribution de fréquences des diamètres des particules.

Paramètre	Méthode			
	Wicksell	Bach	Schwartz-Saltikov	Saltikov
\bar{D}	1,5	1,6	1,7	1,6
\bar{D}^2	2,72	2,80	3,25	2,95
\bar{D}^3	5,51	5,72	7,02	6,39

Discussion et conclusion.

Pour déterminer la distribution de fréquences des tailles de particules à partir de leurs sections, on dispose des méthodes de Wicksell (1925), Schwartz-Saltikov (1968) et de Saltikov (1967). Leur application ne se justifie que si le nombre de diamètres mesurés est au moins égal à 500 voire 1 000 et si l'épaisseur de la coupe est largement inférieure à la dimension moyenne des particules. Les 3 méthodes supposent les particules de forme sphérique, néanmoins, les structures de forme ellipsoïdale peuvent être analysées comme des sphères si leur excentricité ou leur rapport axial sont respectivement inférieur à 0,8 ou 2. Le diamètre est alors défini comme la moyenne géométrique des axes.

La méthode la plus simple est celle de Saltikov puisqu'on utilise une relation dont les coefficients sont constants quel que soit le nombre de classes pourvu qu'il soit infé-

rieur à 12. A notre connaissance, il n'en existe pas d'application biologique, de même pour la méthode de Schwartz-Saltikov dont l'emploi se limite aux distributions dont le nombre de classe est inférieur à 15. Toutes deux semblent utilisées jusqu'à présent seulement par les géologues.

La transformation de Wicksell modifiée par Bach semble, par contre, avoir tenté les biologistes et on en trouvera une application détaillée chez Baudhuin et Berthet (1967) et Baudhuin (1968) qui l'ont utilisée pour chiffrer, en microscopie électronique, l'abondance de trois catégories d'inclusions cytoplasmiques des hépatocytes de foie de rat : mitochondries, lysosomes et peroxyosomes. Leur forme est considérée comme sphérique car les sections des peroxyosomes sont pratiquement circulaires ; l'excentricité moyenne des mitochondries est égale à 0,4 ; ce qui correspond à un rapport axial de 1,1, quant aux lysosomes le rapport entre le plus grand et le plus petit diamètre observé n'excède pas 1,9. Dans ces conditions, l'erreur introduite en employant la réduction sphérique serait au maximum de 7,5 et 15 p. 100 pour le rayon et le volume moyens respectivement. L'auteur a également été amené à procéder à une évaluation critique des avantages et des inconvénients des principales méthodes stéréologiques et, à ce titre, son travail constitue une référence fondamentale.

L'étude comparative des rayons folliculaires des glandes thyroïdes de souris naines et normales met en lumière l'intérêt pratique de la transformation de Wicksell (Cordier, Deneff et Haumont, 1976). En effet, chez les souris normales, l'application de cette transformation à la distribution de fréquences des rayons des sections conduit à une distribution nettement bimodale pour les rayons folliculaires. La présence de ces 2 pics n'est pas retrouvée chez les souris naines. La forme des follicules a été supposée sphérique, car les rapports axiaux sont en moyenne égaux à 1,14 chez les naines et 1,11 chez les normales. Ils ont été mesurés sur des coupes de 1 μm d'épaisseur et pour 1 coupe par ovaire. Le diamètre moyen folliculaire est de l'ordre de 21,1 μm chez les naines et 44,38 chez les normales.

La transformation de Wicksell et la réduction sphérique ont également été appliquées pour estimer la taille des follicules d'ovaires de souris (Sprumont, 1976). Dans l'expérience de Sprumont, l'échantillon est constitué d'une coupe par ovaire, celle-ci étant prélevée au hasard afin d'éliminer tout choix subjectif. Sur ces coupes de 5 μm d'épaisseur, l'estimation du diamètre folliculaire moyen est de 40,4 μm alors que le diamètre moyen observé est de 79,0 μm . On note, dans les exemples cités, que le rapport épaisseur de coupes à diamètre des particules est largement inférieur à 1. Il faut également rappeler que le choix d'un échantillon constitué d'une coupe par organe n'est valable que si l'on admet la répartition uniforme des follicules dans l'ovaire. En effet, l'échantillonnage doit retenir l'attention de l'expérimentateur : nombre de coupes à observer, choix de l'épaisseur et distance entre les coupes car l'ensemble des méthodes suppose que l'on utilise un échantillon de coupes orientées au hasard. Or, pour des raisons pratiques évidentes, l'échantillon est toujours constitué de coupes parallèles parfois sériées. Penel et Simon (1974, 1975, 1976) ont montré que l'on peut néanmoins appliquer les relations présentées à condition d'utiliser des coupes parallèles distantes d'au moins une fois la dimension des particules. On évitera les coupes sériées ; elles seront réservées à la reconstitution dans l'espace de structures de forme inconnue. Quant au choix de l'épaisseur de la coupe, il dépend du contraste entre les différentes structures et de la qualité de l'image qui en résultera.

Les méthodes stéréologiques — numération ponctuelle, intersections, transformation de Wicksell, etc. — bien qu'elles soient très élaborées sur le plan théorique, présentent néanmoins quelques inconvénients pratiques comme celui de compter et mesurer soigneusement les sections de très petite dimension. Or, il est parfois difficile, voire impossible de les mesurer et de les dénombrer principalement lorsque la coupe passe près du pôle des particules ; l'histogramme expérimental est donc tronqué puisque les classes de petites dimensions sont vides ou sous-représentées. Ceci n'entraîne pas une erreur très importante lorsque l'on utilise la transformation de Wicksell ou ses dérivés. Par contre, la détermination des moments et l'estimation du nombre de particules, selon Weibel et Gomez (1962) en dépendent de façon sensible puisqu'ils sont respectivement fonction de la moyenne des inverses des rayons et de la puissance $3/2$ du nombre de sections par unité de surface. Elles sont toutes de plus en plus employées en biologie et on peut se demander laquelle choisir pour décrire au mieux un organe ou un tissu. Il n'existe pas de réponse a priori car le choix dépend en définitive de la nature du phénomène physiologique à analyser et du travail histologique qui en découle. De toutes les méthodes stéréologiques, celle de Wicksell est la plus générale puisque la connaissance de la distribution de fréquences des diamètres des particules permet de déduire les autres caractéristiques : volume et surface. Elle tient compte à la fois de l'hétérogénéité des diamètres et, dans une certaine mesure, de l'épaisseur des coupes. Les distributions de fréquences, quand elles sont possibles, décrivent avec une plus grande précision la complexité d'un tissu.

Reçu en avril 1978.

Accepté en juillet 1978.

Remerciements. — Nous tenons à remercier M. Underwood pour ses judicieux conseils.

Références

- BAUDHUIN P., 1968. *L'analyse morphologique quantitative de fractions subcellulaires*. Thèse Fac. Louvain (Belgique).
- BAUDHUIN P., BERTHET J., 1967. Electron microscopic examination of subcellular fractions. II. Quantitative analysis of mitochondrial population isolated from rat liver. *J. Cell Biol.*, **35**, 631-648.
- CORDIER A. C., DENEJ J. F., HAUMONT S. M., 1976. Thyroid gland in dwarf mice. A stereological study. *Cell Tiss. Res.*, **171**, 449-457.
- COUPLAND R. E., 1968. Determining sizes and distribution of sizes of spherical bodies such as chromaffin granules in tissue sections. *Nature*, **217**, 384-388.
- ELIAS H., 1954. Contributions to the geometry of sectioning. III. Spheres in masses. *Z. wiss. Mikroskop.*, **62**, 32-40.
- ELIAS H., SOKOL A., LAZAROWITZ A., 1954. Contributions to the geometry of sectioning. II. Circular cylinders. *Z. wiss. Mikroskop.*, **62**, 20-31.
- ELIAS H., HENNIG A., SCHWARTZ D. E., 1971. Stereology : applications to biomedical research. *Physiol. Rev.*, **51**, 158-200.
- FRIDMAN M., FRIDMAN-MANDUZZIO A., 1976. La méthode des moments pour le comptage de noyaux cellulaires. *Ann. Biol.*, **15**, 389-428.
- HUMPHRIES D. W., 1969. Mensuration methods in optical microscopy. *Adv. Opt. Electr. Microsc.*, **3**, 33-98.
- KENDALL M. G., MORAN P. A. P., 1963. *Geometrical probability*. Griffin and Co., London, 125 pp.

- MAYHEW T. M., WILLIAMS M. A., 1974. A quantitative morphological analysis of macrophage stimulation. II. Changes in granule number, size and size distribution. *Cell. Tiss. Res.*, **150**, 529-543.
- NOURTIER C., 1971. Méthodes d'estimation quantitative au service de la cytologie. *Ann. Biol.*, **20**, 241-278.
- PENEL C., SIMON C., 1974. Modèle de la « boîte noire » pour l'histologie des structures sphériques. *C. R. Acad. Sci. Paris* **279**, 513-515.
- PENEL C., SIMON C., 1975. Coupes sériées ou coupes au hasard ? Application à la détermination du nombre d'entités sphériques contenues dans un organe. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **281**, 2021-2024.
- PENEL C., SIMON C., 1976. A stochastic approach to the problem of sampling and slicing in histology. Application to the détermination of the number and size-distribution of spherical structures. *J. Microsc. Biol. cell.*, **26**, 107-113.
- SALTIKOV S. A., 1967. A stereological method for measuring the specific surface area of metallic powders. 163-173. In ELIAS H., *Stereology*. Springer-Verlag, New-York.
- SPRUMONT P., 1976. Ovarian follicles of normal NMRI mice and homozygous « nude » mice. I. Quantitative methodological study in the pubescent-nude mouse. *Cell. Tiss. Res.*, **170**, 341-351.
- UNDERWOOD E. E., 1968. Particle-size distribution, 149-200. In de HOFF [R. T., RHINES F. N. *Quantitative microscopy*. Mc Graw-Hill Book Co, New-York.
- UNDERWOOD E. E., 1970. « *Quantitative sterology* ». Addison-Wesley Massachussets, U. S. A.
- WEIBEL E. R., GOMEZ D. M., 1962. A principe for counting tissue structures on random sections. *J. appl. Physiol.*, **17**, 343.
- WICKSELL S. D., 1925. The corpuscle problem. A mathematical study of a biometric problem. *Biometrika*, **17**, 84-99.
- WICKSELL S. D., 1926. The corpuscle problem. Second memoir. Case of ellipsoidal corpuscles. *Biometrika*, **18**, 151-172.
-