



138THV-2

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA  
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES**

**PROJET DE FIN D'ETUDES**

**HISTOLOGIE ET ULTRASTRUCTURE DES OVAIRES DE BREBIS**

**PREPUBERE DE LA RACE RUMBI**

**Présenté par :**

**- Melle Naziha larbi cherif**

**Promoteur :**

**- Dr Mohand Said HAMAIDI**

**Membres du jury:**

**- Président du jury: Mr GHARBI : Dr vétérinaire, enseignant  
Université SAAD DAHLEB**

**-Examineurs : Mr AMMI : Dr vétérinaire, enseignant  
Université SAAD DAHLEB**

**Mr YAHIMI : Dr vétérinaire, enseignant  
Université SAAD DAHLEB**

**Promotion : 2007**

*A ma famille*

*A mes amis*

*Monsieur Mohand Said HAMAIDI je ne saurais jamais comment vous remercier  
pour votre immense aide*

*Melle Saadi qui son aide m'était vitale pour la réussite de ce projet*

*Les techniciens du laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Franz Fanon  
(Blida)*

*Monsieur CHouikrat pour son soutien durant toutes mes années de fac*

*Les membres du juré : Mr : Gharbi, Mr Ammi et Mr Yahimi*

*Je vous dis à tous un grand Merci*

## LISTE DES FIGURES ET DES PLANCHES

### LISTE DES FIGURES :

**Figure 1 :** Schéma d'un ovaire humain. Image titrée et adaptée (GUENARD et al ; 1996)

**Figure 2 :** Représentation schématique d'une coupe histologique d'un follicule ovarien

**Figure 3 :** Représentation d'une coupe histologique d'un follicule à antrum (Figure tirée et adaptée de MONNIAUX, 1997)

**Figure 4 :** Modèle de la dynamique des vagues folliculaires chez le mouton (d'après MCNEILLY et AL, 1992)

**Figure 5 :** Evolution de la concentration hormonale au cours du cycle sexuel de la brebis

**Figure 6 :** Changements morphologiques caractéristiques de l'atrésie des follicules à antrum (d'après MONNIAUX et al, 1999)

**Figure 7 :** Brebis de la race Ouled Djellal

**Figure 8 :** Brebis de la race Hamra dite Beni Ighil

**Figure 9 :** Brebis de la race Rumbi

**Figure 10 :** Brebis de la race barbarine

**Figure 11 :** Brebis de la race Targuia-Sidaou

**Figure 12 :** Stéréomicroscope SV11-ZEISS

**Figure 13 :** Blocs de paraffine

**Figure 14 :** Microtome LIECA

**Figure 15 :** Automate de coloration

**Figure 16 :** Blocs de résine

Figure 17 : Ultramicrotome LKBIII

## LISTE DES PLANCHES

### Histologie

#### PLANCHE I :

- Figure 1 : Ovaire de brebis avec follicules primordiaux et primaires (Trichrome G x 10)  
Figure 2 : Ovaire de brebis avec follicules primordiaux et primaires (H&E G x 10)  
Figure 3 : Ovaire de brebis avec follicules primaires (H&E G x 10)  
Figure 4 : Ovaire de brebis avec follicule primaire (Trichrome G x 10)

#### PLANCHE II

- Figure 5 : Follicule secondaire (H&E G x 10)  
Figure 6 : Follicule plein (H&E G x 10)  
Figure 7 : Follicule plein (H&E G x 10)  
Figure 8 : Détail de l'ovocyte (Trichrome x 100)

#### PLANCHE III

- Figure 9 : Détail des deux thèques (H&E G x 10)  
Figure 10 : Follicule plein (H&E G x 10)  
Figure 11 : Follicule plein (H&E G x 10)  
Figure 12 : Follicule plein (H&E G x 10)

#### PLANCHE IV

- Figure 13 : Follicule plein (H&E G x 10)  
Figure 14 : Follicule cavitaire (H&E G x 10)  
Figure 15 : Follicule cavitaire (H&E G x 10)  
Figure 16 : Follicule cavitaire (H&E G x 10)

#### PLANCHE V

- Figure 17 : Follicule cavitaire (H&E G x 25)  
Figure 18 : Follicule cavitaire (Trichrome G x 25)  
Figure 19 : Follicule cavitaire (Trichrome G x 25)  
Figure 20 : Début de l'atrésique (H&E G x 10)

#### PLANCHE VI

- Figure 21 : Follicule atrésique (H&E G x 10)  
Figure 22 : Follicule atrésique (H&E G x 10)  
Figure 23 : Follicule en atrésie très avancée (Trichrome G x 40)  
Figure 24 : Atrésie d'un follicule mur (Trichrome G x 40)

## Ultrastructure

### PLANCHE I :

**Figure 1 :** Aspect d'un follicule primordial

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 5000X)

**Figure 2 :** Détail d'un ovocyte

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 6000X)

**Figure 3 :** Aspect d'une cellule folliculaire

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 12000X)

**Figure 4 :** Détail d'un follicule primaire

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

### PLANCHE II

**Figure 5 :** Aspect de cellule de granulosa

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

**Figure 6 :** Détail d'un ovocyte

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

**Figure 7 :** Détail d'un follicule secondaire

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

**Figure 8 :** Détail d'un follicule secondaire

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

### PLANCHE III

**Figure 9 :** Détail d'un follicule plein

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 4500X)

**Figure 10 :** Détail de la thèque et de la granulosa

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 4000X)

**Figure 11 :** Détail d'un follicule plein

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

**Figure 12 :** Détail d'un follicule plein

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

### PLANCHE IV

**Figure 13 :** Détail de la mitochondrie

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 55000X)

**Figure 14 :** Détail d'un follicule tertiaire

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 15000X)

**Figure 15 :** Détail d'un follicule tertiaire

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 3000X)

**Figure 16 :** Détail d'un follicule tertiaire

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 5000X)

### PLANCHE V

**Figure 17** : Détail d'un follicule atrésique

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

**Figure 18** : Détail d'un follicule atrésique

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 10000X)

**Figure 19** : Détail d'un follicule atrésique

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 7500X)

**Figure 20** : Détail d'un follicule atrésique

(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium, Grossissement original 3000X)

## Abréviations et symboles

3 $\beta$ HSD : 3 $\beta$ hydroxysteroid-deshydrogenase.  
COCs : complexe ovocyto-cumulus  
E2 : oestradiol  
EGF: epidermal growth factor  
FGF: fibroblast growth factor.  
FSH: folliculo-stimulating hormone  
GH: growth hormone  
GnRH: gonadotropine release hormone  
IGF-I: insulin-like growth factor I  
IGFBP: insulin-like growth factor binding protein  
LH: Luteinizing hormone  
LIF: leukemia inhibitory factor  
MEC: matrix extra-cellular  
 $\mu$ m : micromètre  
ml : millilitre  
mm : millimètre  
MMP: matrix metalloprotease  
P4: progesterone  
P450scc: P450 cholesterol side-chain cleavage  
SCF: stem cell factor  
TGF: transforming growth factor



## RESUME

Le travail présenté est une connaissance fondamentale de l'activité ovarienne par techniques d'histologie, d'immunohistochimie et d'ultrastructure chez la brebis de la race Rumbi.

Les résultats d'histologie obtenus montrent que l'ovaire présente une zone germinative constituée d'importantes plages de follicules primordiaux et primaires dont le nombre diminue en fonction de l'âge de la brebis qui est due à l'atrésie des follicules dans différents stades de développement.

Cette atrésie est prononcée dans les follicules pré-antraux et antraux.

Les observations de microscopie électronique, faites pour la première fois, sur les ovaires de la race Rumbi ont montré une ultrastructure ovarienne et folliculaire pareille à celle des autres mammifères telles la vache, la truie, la chèvre et la femme et cela à toutes les étapes du développement.

Cependant, quelques différences ont été observées, qui se situent dans l'aspect moléculaire de la croissance folliculaire et de l'atrésie chez la race Rumbi.

Mots clés : Folliculogénèse, atrésie folliculaire, ovaires, post natal, puberté, brebis, race Rumbi

## SOMMAIRE

Dédicaces	I
Remerciements	II
Liste des figures et des planches	III
Liste des abréviations et symboles	IV
Résumé	V
Sommaire	VI

### INTRODUCTION

#### ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE I : rappel anatomique de l'appareil génital femelle

L'appareil génital femelle	5
I Rappel anatomique	5
I.2 Les trompes (oviducte ou salpinx)	5
I.2.1 Isthme de la trompe	5
I.2.2 L'ampoule de la trompe	5
I.2.3 Le pavillon	5
I.3 L'utérus ou matrice	5
I.3.1 Deux cornes utérines	6
I.3.2 Corps utérin	6
I.3.3 Le col utérin ou cervix	6
I.4 Le vagin	6
I.5 La vulve	7
CHAPITRE II : les ovaires	
<b>II Les ovaires</b>	9
La zone médullaire	9
La zone corticale	9

## **CHAPITRE III : LES FOLLICULES**

III. Follicules	12
III.1 L'histologie du follicule	12
III.1.1 Follicules primordiaux	13
III.1.2 Follicules primaires	14
III.1.3 Follicules secondaires	14
III.1.4 Follicules tertiaires (antraux ou DE Graaf)	15
III.1.5 Corps jaune	17

## **CHAPITRE IV : la folliculogénèse**

VI.1a croissance folliculaire	19
VI.1.1 LES VAGUES FOLLICULAIRES	19
III.1.2 Folliculogénèse	21
VI.1.2.1 La croissance folliculaire	21
I) La croissance folliculaire basale	
A) Aspects descriptifs	
b) La régulation de la croissance folliculaire basale	22
II) La croissance du follicule préantral	2
III) La croissance folliculaire terminale	23
III.a. Facteurs de régulation et mécanismes généraux	24
III. b. Principales étapes du développement folliculaire	25
1. Le recrutement	25*
2 La sélection	25
3 La dominance	25
CHAPITRE V : l'atrésie	
V .L'atrésie	28
IV.1 Classification de l'atrésie	28
IV.1.1 Follicules sains ou non-atrésiés (NA)	30

IV.1.2 Atrésie primaire (niveau 1 de l'atrésie : A1)	30
IV.1.3 Atrésie secondaire (niveau 2 de l'atrésie A2)	30
IV.1.3 Atrésie tertiaire ou très avancée (niveau 3 de l'atrésie: A3)	30
IV.1.4 Atrésie très avancée ou luteinisante (niveau 4 de l'atrésie: A4)	30
 CHAPITRE VI : L'apoptose	
VI Apoptose ovocytaire	32
VI.1 Pendant la vie fœtale	32
VI 2 pendant la vie post natal	32
 <b>CHAPITRE VII : les différentes races de brebis</b>	
I.Ethnologie des populations ovines algérienne	34
II-1 les races locales principales	34
I-    La race Ouled Djellal	34
II-   La race Hamra dite Beni-Ighil	35
c) La race Rumbi	36
II-2 Les races locales secondaires	37
a) La race Berbère à laine zoulai	37
b) La race Barbarine (Oued Souf)	37
c) La race D'men	37
d) La race Targuia-Sidaou	38

## **PARTIE EXPERIMENTAL**

### **INTRODUCTION**

### **MATERIEL ET METHODES**

I. MATERIEL	42
I.1 Echantillons biologiques	42
I.2 Produits, réactifs et appareillage utilisés	42
II. METHODES	43
Préparation des lames pour l'étude histologique	43
Choix des méthodes	43
II- 1.METHODES HISTOLOGIQUES	43
1. Préparation des lames	43
2. la coloration	44
II.2 METHODES CYTOLOGIQUES	45
RESULTATS	50
I.Histologie	51
DISCUSSION	59
II.Ultrastructure	60
DISCUSSION	64
<b>III.CONCLUSION</b>	<b>69</b>
BIBLIOGRAPHIE	71

# **INTRODUCTION**

- En Algérie, l'élevage ovin occupe une place importante dans l'économie rurale. Il représente une source importante de viande rouge, de laine et de lait de par son effectif estimé à 18.293.000 têtes
- La production nationale en viande rouge, de 70 000 T/an ([MAP, 2004]), reste très insuffisante par rapport aux potentialités du cheptel. Elle est assurée par trois principales races : Ouled Djellal, Hamra et Rumbi.
- La cause de cette faible production peut avoir plusieurs origines : physiologiques, pathologiques et/ou zootechniques.
- La connaissance de la physiologie de la reproduction permet de maîtriser et d'améliorer la fonction de la reproduction qui doit passer par la connaissance des structures des organes mis en jeu, particulièrement l'ovaire.
- Il est reconnu et établi que :
- **L'ovaire** constitue :
  - le siège de la formation et de la maturation des ovocytes,
  - la différenciation cellulaire,
  - la synthèse des hormones,
  - la folliculogénèse et de l'atrésie folliculaire.
- C'est à son niveau que la réserve de cellules germinales se forme lors du développement embryonnaire, cette réserve représente un stock très important de follicules et d'ovocytes à l'âge pré pubère.
- **Le développement folliculaire** est un processus dynamique (folliculogénèse) qui commence par le recrutement d'un certain nombre de follicules primordiaux de la réserve; et à intervalle régulier, ces follicules arrivent :
  - soit à maturité et ovulent,
  - soit subissent l'atrésie.
- Chez la brebis, **la population de follicules primordiaux et primaires**, estimée entre 40.000 et 300.000 follicules, constitue **la réserve pour sa période de reproduction**. Cependant, seul un petit nombre de ces follicules arriveront à maturité et la majorité est vouée à l'involution ou atrésie folliculaire.

Comme la connaissance des caractéristiques de reproduction des brebis de nos races est encore restreinte, il nous a paru justifié d'entreprendre une étude des paramètres histologiques et ultrastructuraux des ovaires de la brebis de race Rumbi pour être capable, à terme, de connaître et de comprendre le fonctionnement et la physiologie des ovaires.

En effet, peu d'études ont été consacrées à cette brebis malgré qu'elle se distingue par des paramètres de reproduction appréciables : fertilité (80%), fécondité (95%) et prolificité (110%) et une puberté qui se manifesterait entre 10 et 12.

# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**



## L'appareil génital femelle

### I Rappel anatomique

#### I.2 Les trompes (oviducte ou salpinx)

Constitue la partie initiale des voies génitales femelles, c'est un conduit pair, étroit, tubulaire, flexueux, comprenant de l'arrière vers l'avant l'isthme, l'ampoule et le pavillon. Il assure la captation de l'ovocyte et il est le siège de la fécondation et du développement embryonnaire jusqu'au 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> jour. Conduisent l'ovule fécondé ou œuf jusqu'à l'utérus. (BARONE .1990).

##### I.2.1 Isthme de la trompe

Partie la plus rétrécie, à la base de l'oviducte, jouerait un filtre physiologique dans la remontée des spermatozoïdes jusqu'à l'ampoule (SOLTNER, D., 1993)

##### I.2.2 L'ampoule de la trompe

Partie médiane de l'oviducte, est le lieu de rencontre des spermatozoïdes et de l'ovule, donc de la fécondation.

##### I.2.3 Le pavillon

Ou bourse ovarique, il a la forme d'entonnoir évasé où s'introduit l'ovocyte et le liquide folliculaire au moment de l'ovulation.

#### I.3 L'utérus ou matrice

Partie de l'appareil génital de la femelle située entre le vagin et les oviductes représentent L'organe de la gestation (assurant le développement de l'embryon puis du fœtus), de point de vue morphologique, l'utérus présente 3 parties :

##### I.3.1 Deux cornes utérines

Segment cranial de l'utérus dans lesquelles débouchent les deux oviductes. Elles sont longues et recourbées ventralement ; elles ont un diamètre compris entre 2et 5 cm. De nature essentiellement musculieuse (myometre), elles présentent d'évidentes modifications de consistance au cours du cycle oestral. Leur paroi interne, l'endomètre, est largement impliquée dans la régulation du cycle (sécrétion de prostaglandines)

Le ligament large s'insère au niveau de leur courbure. Elles sont effilées à leur extrémité antérieure, et soudée sur une certaine étendue, à leur partie postérieure où elles sont réunies dans l'angle postérieur de bifurcation, par deux replis musculo-séreux superposés.

### **I.3.2 Corps utérin**

Appelé aussi cavité utérine. La paroi du corps utérin est formée de trois tissus :

#### **-Une muqueuse ou endomètre**

Epaisse et molle, elle présente des plis longitudinaux fragmentés en élevures arrondies : ce sont les caroncules. Après l'ovulation, l'épithélium de l'endomètre prolifère et forme des invaginations plus ou moins profondes, ou débouchent les glandes utérines. Les muqueuses jouent un rôle fondamental dans la gestation en participant à la formation du placenta.

#### **-Une musculieuse ou myomètre**

Composée de trois couches inégales de fibres musculaires lisses. Ces fibres permettent les contractions utérines et l'expulsion du fœtus à la mise bas.

#### **- Une séreuse ou Adventice**

Assurant la jonction utérus ligament large.

### **I.3.3 Le col utérin ou cervix**

Partie caudale de l'utérus située sur le plancher du bassin, il est de structure cylindrique il sépare le vagin du corps utérin. Il présente une paroi épaisse et dure de nature essentiellement fibreuse. Sa muqueuse est plissée et forme 2 à 3 et même 4 fleurs épanouies.

### **I.4 Le vagin**

C'est une partie du tractus génital, il est séparé de l'utérus par le col, il se termine vers l'extérieur par la vulve, formé d'un conduit membraneux s'étendant entre le méat urinaire et le col qui y forme une saillie bien marquée appelée fleur épanouie. (VAISSAIRE, 1977).

Il est en rapport en haut avec le rectum, en bas avec la vessie et le canal de l'urètre, la muqueuse vaginale est tapissée de plis muqueux qui lui permettent de se dilater considérablement lors du passage du fœtus (DERIVAUX et ECTORS, 1980)

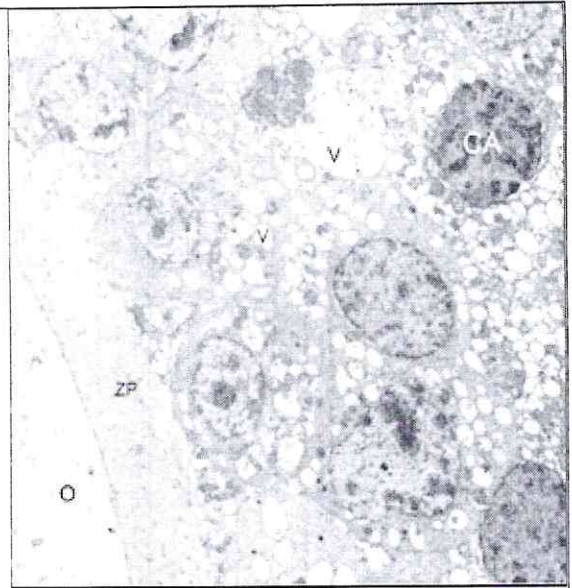
### **I.5 La vulve**

Partie la plus caudale du tractus génital, c'est un orifice qui termine le canal génital situé sous l'anus dont elle est séparée par le périnée (Le pont ano-vulvaire), (DERIVAUX et ECTORS, 1980).

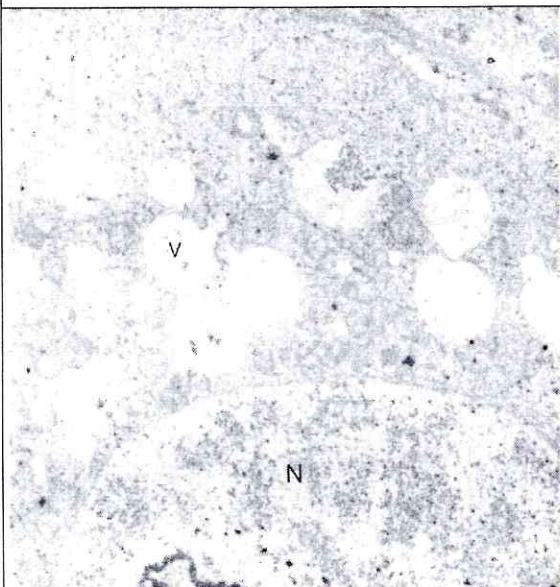
## Planche VI



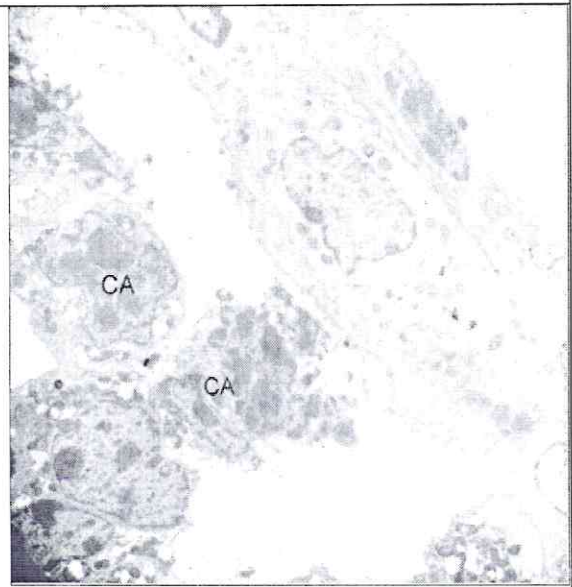
**Figure17 :** aspect microscopique de cellule de granulosa dans un follicule atrésique.  
(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X



**Figure 18 :** aspect microscopique d'un follicule atrésique  
**Légende :** CA : cellule atrésie, V : vacuole, ZP : zone pellucide, O : ovocyte (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X



**Figure19 :** aspect microscopique d'un follicule atrésique  
**Légende :** V : vacuole, N : noyau (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 7500X



**Figure20** aspect microscopique d'un follicule atrésique  
**Légende :** CA : cellule atrésie (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 3000X

## II.1 DISCUSSION :

Les résultats obtenues nous fournissant beaucoup d'information sur le follicule ovarien préantral de la brebis de la race Rumbi.

L'étude est basée sur l'aspect histologique et l'ultrastructure du follicule et de l'ovocyte dans les quatre stades de développement (Primordial, primaire, secondaire, tertiaire) et aussi dans le cas de l'atrésie.

Les follicules chez la brebis Rumbi sont plus petit que ceux de la vache (VAN WEZEL et RODGERS, 1996, BRAWTAL et YOSSEFI 1997, HYTTEL et al ,1997) ; mais la disposition, le nombre de cellules et des couche de granulosa sont similaires que chez la vache (BRAW-TAL et YOSSEFI, 1997) et chez la femme (LINTERN-MOORE et al, 1974) la seule différence est la taille de l'ovocyte et du follicule.

On général, l'ultrastructure du follicule préantral de cette race est pareille aux autres mammifères (VAN-WEZEL et RODGERS 1996, FAIR et al, 1997, HYTTEL et al, 1997). La différenciation se fait grâce à l'accumulation de plusieurs organelles dans le cytoplasme de l'ovocyte (DONG et al ; 1996)

Dans le follicule primordial l'ovocyte est la plus grande cellule entourée par une membrane plasmique nagent dans le cytoplasme et tout le follicule n'est pas complètement limiter par la lame basale

Dans le follicule primaire, on une prédominance d'organelles comme le réticulum endoplasmique lisse et les mitochondries qu'on peut aussi a travers sa forme identifié le stade du follicule la forme ronde veux dire que le follicule n'est pas mature (PERKINS et FREY ,2000)

Dans le stade secondaire les mitochondries migrent en périphérie qui étaient concentrées dans le centre dans les stades primordial et primaire cette migration est à mesure que l'ovocyte prend du volume (CRAN, 1985 ; FAIR, 1995)

Leur nombre démunira quelque peu car elles s'associeront avec des gouttelettes lipidiques et le réticulum endoplasmique.

L'appareil de Golgi augmente de nombre aussi avec le diamètre ovocytaire (FAIR, 1995) Les vésicules lipidiques, témoignent bien de l'état actif dans lequel se trouve l'ovocyte (CRAN, 1985)

La formation de la zone pellucide est semblable à celle observée chez la vache (BRAW-TAL et YOUSSEFI 1997), la chèvre (LUCCI et al ; 2001) et la brebis (LUNDY et al ; 1999) et sa première apparition a lieu dans les follicules secondaires. , mais différentes chez d'autres espèces telles que la souris (OAKBERG, 1979), la lapine (NICOSIA et al ; 1975), la chatte (JEWGENOWW et STOLTE, 1996), le singe (ZAMBONI, 1974) et la femme (HIMSELSTEIN et al ; 1976). Chez ces espèces, la zone pellucide apparaît dans les follicules primaires sous forme de petites plaques.

Au stade du follicule tertiaire on trouve que les cellules de la granulosa sont séparées par des espaces irréguliers (ZAMBONI 1974) rempli par le liquide folliculaire l'Antrum et les mitochondries sont de forme ovale.

L'ovocyte subit les dernières modifications dont une diminution de la dimension de l'appareil de Golgi, une augmentation partielle du nombre de vésicules lipidiques (CRAN ; 1985) et acquisition d'une forme très condensée et compacte du nucléole (FAIR et al ; 1995)

L'apparition de plusieurs figures d'atrésie folliculaires au niveau des ovaire chez la race Rumbi caractérise la période prépubère. L'atrésie est observée aux différents stades de développement folliculaire. L'atrésie débute par la mort des cellules de la granulosa et se termine tard par la dégénérescence de l'ovocyte (DRIANCOURT 1991). La mort cellulaire est due à l'apoptose (BLONDIN et al ; 1996).

L'atrésie est importante au cours de la période post natal du fait les plages de follicules surtout les follicules primordiaux observées morts.

Les coupes histologiques fêtent sur les ovaires de la race Rumbi au cours de la période pré pubère mettent en évidence les changement au niveau de la granulosa, la lame basale, les cellules de la thèque interne et l'ovocyte.

Dans les follicules primordiaux, l'atrésie est caractérisée par une condensation de la structure nucléaire avec réduction du volume cellulaire puis une rétraction du cytoplasme ovocytaire. Nos observations sont similaires à ceux de SILVA et al (2001) et DARZYNKIEWICZ et al (1992) dans les ovaires de chèvres.

Au niveau des autres stades de follicules l'atrésie débute par l'apoptose des cellules de la granulosa tandis que la lame basale ne subit rien. Et dans les follicules cavitaires on a l'apoptose des cellules de la granulosa mais l'ovocyte reste entouré de son cumulus et ne dégénère que dans le cas tardif de l'atrésie (MONNIAUX 2002).

Dans le follicule mur, l'atrésie débute par la dégénérescence de la lame basale, qui permet l'invasion de la granulosa par les cellules de la thèque interne. Ce stade a été observé au niveau des ovaires du yak (CUI et al 1999).

L'ultime stade d'involution dans tous les stades folliculaires est caractérisé par l'invasion de l'antrum par des fibres conjonctives.

Les ovaires de brebis la race Rumbi, comme dans les autres espèces, présentent deux zones distinctes :

- Une médulla riche en vaisseaux sanguins, en fibroblastes et en fibres.
- Un cortex formé par un épithélium ovarien superficiel, une tunica albugina et un Stroma ovarien.

La présence des follicules de De Graaf sans aucune anomalie de structure est signe de la première ovulation pour cette race a été caractérisée dans les ovaires de brebis de 8 mois.

La granulosa, la lame basale, les cellules de la thèque interne et l'ovocyte sont le siège des phénomènes de l'atrésie :

- La condensation de la structure nucléaire avec réduction du volume cellulaire puis une rétraction du cytoplasme ovocytaire caractérise l'atrésie des follicules primordiaux.
- L'apoptose des cellules de la granulosa sans altération de la lame basale caractérise l'atrésie des autres stades folliculaires
- La dégénérescence de la lame basale permettant l'invasion de la granulosa par les cellules de la thèque interne caractérise l'atrésie des follicules de De Graaf.

L'ultime stade d'involution des différents types de follicules est caractérisé par l'occupation de l'antrum par les fibres conjonctives.

Les différents changements d'ultrastructure mis en évidence dans les follicules au cours de leur évolution ainsi que la présence et la variation morphologique de certains organites cellulaires apportent les informations sur la biologie et la morphologie des follicules ovariens de la brebis de la race Rumbi.

L'étude présente a permis pour la première fois de décrire l'ultrastructure des follicules dans les ovaires de la race locale Rumbi.

Adams, G. P., Matteri, R. L., Kastelic, J. P., Ko, J. C., and Ginther, O. J. (1992). Association between surgers of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil*, **94**, pp. 177-88.

Albertini, D.F., and Anderson, E. (1974). The appearance and structure of intercellular connections during the ontogeny of the rabbit ovarian follicle with particular reference to gap junctions. *The Journal of Cell Biologie*, **63**, pp. 234-250.

Alttomoki, K., Pakarinen, P. and Sistonen, P. (1995). Maturation in the follicle-stimulating hormone receptor gene cause hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell*, **82**, pp. 959-968.

Anderson, E., and Albertini, D.F. (1976). Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary. *The Journal of Cell Biologie*, **71**, pp. 680-686.

Barlow, C., Liyanage, M., Moens, P. B., Tarsounas, M., Nagashima, K., Brown, K., et AL., (1998). Atm deficiency results in severe meiotic disruption as early as leptotema of prophase I. *Development*, **125(20)**, pp. 4007-17.

BHERER, J., J. DUFOUR et P. MATTON. 1976. Destinée des deux plus gros follicules des ovaires de brebis à la suite de la destruction des plus gros follicules &ou de l'enlèvement du corps jaune à deux moments du cycle. *Can J. Physiol. Pharmacol.* **54**: 7-11

BLACK ET ERICKSON, 1968 Oogenesis and ovarian development in the prenatal pig. *Anat Rec* **161**, pp045\_55

BRAW-TAL et YOSSEFI, 1997 Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J Report Fertil* **109**, 165-71.

BUCCIONE et al; 1990 Interactions between somatic cells and germ cells throughout mammalian Oogenesis. *Biology of Reproduction* **43**, 543-547

BYSCOV et LINTERN-MOORE, 1973 Follicle formation in the immature mouse ovary: The role of the rete ovarii. *J Anat*, **116**, pp.207-17

Cataldo, N.A. and Giudice L.C. (1992). Follicular fluid IGF binding protein profiles in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, **74**, pp. 695- 697.

Chellig, R. (1992). **Les races ovines algériennes. OPU. Alger. 80p.**

Christenson, R.K., Ford, J.J., and Redmer, D.A. (1985). Maturation of ovarian follicles in the prepubertal gilt. *J Reprod Fertil Suppl*, **33**, pp. 21-36..

Cui, Y. and Yu, S.J. (1999). Ovarian morphology and follicular Systems in yak of different ages. *The Veterinary Journal*, **157**, pp. 197-205.

Darzynkiewicz, Z., Bruno, S., Del Bino, G., W., G., Hotz, M. A., Lassota, P. And Traganos, F. (1992). Features of apoptotic cells measured by flow cytometry. *Cytometry*, **13**, pp. 795-808.

De Loos, F., Kastrop, P., Vanmaurik, P., Vanbeneden, T.H. and Kruip, T.A.M. (1991). Heterologous cell contacts and metabolic coupling in bovine cumulus oocyte complexes.

*Molecular Reproduction and Development*, **28**, pp. 255-259.

DERIVAUX et ECTORS, 1980 Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire. Edition du Point vétérinaire, Maison Alfort, 1-86

Dierich, A., Sairam, M. R., Monaco, L., Fimia, G. M., Gansmuller, A., Lemeur, M., and Sassone-Corsi, P. (1988). Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**, pp. 127- 136.

Dong, J., Albertini, D.F., Nishimori, K., Kumar, T.R., Lu, N., and Matzuk, M.M. (1996). Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*, **383**, Pp.531-535.

Driancourt, M.A., Reynaud, K., Cortvrindt, R., and Smitz, J. (2000). Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. *Rev Reprod*, **5**, pp. 143-152.

Dufour, J., Cahill, L.P., and Mauleon. P. (1979). Short and long term effects of hypophysectomy and unilatéral ovariectomy on ovarian follicular populations in sheep. *J Reprod Fertil*, **57**, pp.301-309.

Eppig, J.J. (1979). Gonadotropin stimulation of the expansion cumulus oophori isolated from mice: general condition for expansion in vitro. *J.Exp.Zool.*, **208**, pp. 111-120.

Erickson, G.F. and Shimasaki, S. (2001). The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertil Steril*, **76**, pp. 943-949.

Fair. T., Hulshof, S.C.J., Hyttel, P., Grève, T. and Bolland, M. (1997). Oocyte ultrastructure in bovine

Flechon, J.E., Motlik, J... Hunter, R.H., Flechon. B., Pivko, J., and Fluka, J. (1986). Cumulus oophorus mucification during resumption of meiosis in the pig. A scanning électron microscope study. *Reprod Nutr Dev*, **26**, pp. 989- 998.

Garett, W.M., and Guthrie, H.D. (1997). Steroidogenic enzyme expression during preovulatory follicle maturation in pigs. *ffio/ Reprod*, **56**, pp. 1424-1431.

Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., and Kot, K, (1996). Sélection of thé dominant follicle in cattle. *£io/' Reproc/, SS*, pp. 1187-1194

Ginther, O.J., Bergfeit, D.R.. Kulick, L.J.. and Kot, K. (2000). Sélection of dominant follicle in caltle: rôle ofthe two-xay functional coupling betwin follicle-stimulating hormone and thé follicles. *Reprod Fertil*, **62**, pp.920-927.

Gong, J. G., Bramiey. T., and Webb, R. (1991). Thé effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers : Follicular populations and peripheral hormones. *Biol reprod.*, pp.941 -949.

Gordon, I. (1994). Laboratory production of cattle embryos. In "Biotechnology m agriculture", vol.11 Edited by 1. Gordon.Cab International, Wallingford UK , pp. 640p.

Gore-Langton, R. E., and Armstrong. D.T. (1994). Follicular steroidogenesis and its control. In "The physiology or reproduction" (J.D. Neil, Ed.), vol.1, pp. 571-627. Raven Press, New york.



- Gospodarowicz, D., Delgado, D., and Vlodavsky, I. (1980). Permissive effect of extracellular matrix on cell proliferation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. L/SÁ*, 77, pp. 4094-4098.
- Guthrie, H. D., And Garrett, W. M. (2001). Apoptosis during folliculogenesis in pigs. *J Reprod Suppl*, 58, pp. 129-176.
- Hayat, M.A., 1970. Principales and technics of microscopy: Biological application. Van Nostrand Reinhold Company.
- Himmelstein-Braw, R., Byskov, A.G., Peters, H. and Faber, M. (1976). Follicular atresia in the infant human ovary. *J Reprod Suppl*, 46, pp. 66- 59.
- Hunter, M.G. (2000). Oocyte maturation and ovum quality in pigs. *Rev Reprod*, 5, pp.122-130
- Hyttel P, Fair T, Callesen, Hand Grève, T. (1997). Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle *Theriogenology*, 47, pp. 23-32.
- Hyttel, P., Grève, T., and Callesen, H. (1989). Ultrastructural aspects of oocyte maturation and fertilization in cattle. *J Reprod Suppl* Suppl.38, pp. 35-47.
- Ireland, J. J., (1987). Control of follicular growth and development. . *J Reprod Suppl*, 34, pp. 39-54.
- Ireland, J.J. and Roche, J.F. (1983). Development of non-ovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. *Endocrinology*, 112, pp. 150-156.
- Jewgenow, K. and Stolte, M. (1996), Isolation of preantral follicles from nondomestic cats - viability and ultrastructural investigations. *Anim. Reprod Sci.*, 44, pp. 183- 193.
- Kumar, T.R., Wang, Y., Lu, N. and Matzuk, M.M. (1997). Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. *Nat Genetics*, 15, pp. 202-204.
- Land, L.B. (1970). Number of oocytes present at birth in the ovary of pure and Finnish Landrace cross Blackface and Welsh sheep. 21, pp. 547-521.
- Larsen, W.J., and Wert, S.E. (1988). Rôles of cell junctions in gametogenesis and in early embryonic development. *Tissue & Cell*, 20, pp. 809-848.
- Lavoir M.C. and J.E. Fortune. (1990). Follicular dynamics in heifers after injection of PGF2a during the first wave of follicular development. *Theriogenology*, 33: 270 (Abstr.).
- Lucci, C.M., Silva, R.V., Carvalho, C.A , Figueiredo, R. and Bao, N. (2001). Light microscopical and ultrastructural characterization of goat preantral follicles. *Smal Ruminant Res.* 41, pp.61-69.
- Lyndy, T., Smith, P., O'Connell A., Hudson, N.L. and McNatty, K.P. (1999). Populations of granulose cells in small follicles of the sheep ovary *Reprod Fertil.* 115, pp. 251-262.
- Ministère de l'agriculture et de la pêche (MAP) 2003.

Mariana, J.C., Monniaux, D., Driancourt, M.A., Mauleon, P. (1991). Folliculogenesis. In: Crupps, P.T. (Ed), *Reproduction in Domestic Animals*. Académie Press, New York, pp. 119-171.

Martoja, M. and Martoja, R. (1967). *Initiation aux techniques d'histologie animale*. Masson et Cie. Paris.

Maxson, W. S., Haney, A. F, and Schomberg, D. W. (1985). Steroidogenesis in porcine atretic follicles: loss of aromatase activity in isolated granulosa and theca. *Biol Reprod*, **33**, pp. 495-501.

McGee, E. A. & Hsueh A. J. (2000). Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev*, **21**, pp. 200-214.

McNatty, K. P., Heath, D.A., Henderson K. M., Lun, S., Hurst, P. R., Ellis, L. M., Montgomery, G. W., Morrison, L., Thurley, D. C., (1984a). Some aspects of thecal and granulosa cell function during follicular development in the bovine ovary. *J Reprod Fertil*, **72**, pp.39-53.

McNeilly, A. S., Crow, W., Brooks, J., and Evans, G. (1992). Luteinizing hormone pulses, follicle-stimulating hormone and control of follicle selection in sheep. *J Reprod Fertil Suppl* **45**.pp.5-19.

Monniaux, D., Monget, P., Besnard, N., Huet, C., and Pisselet, C. (1997). Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology*, **47**, pp. 3-12.

Monniaux, D., Huet, C., Pisselet, C., Mandon-Pepin, B. and Monget, P. (1998). Mechanism, regulation, and manipulation of follicular atresia. *Contracept Fertil Sex*, **26**, pp. 528- 535.

Monniaux, D., Mandon-Pepin, B., and Monget, P. (1999). L'atrésie folliculaire, un gaspillage programmé. *Med Sci*, **15**, pp. 157-166.

Monniaux, D. (2002). Oocyte apoptosis and ovarian reserve. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité*, **30**, pp. 822-826.

Moor, R., M., and Trounson, A., O. (1997). Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes in vitro and their subsequent developmental capacity. *J Report Fertil.*, **49**, pp. 101-109.

Morbeck, D. E., Esbenshade, K. L., Flowers. W. L., and Britt, J. H. (1992). Kinetics of follicle growth in the prepubertal gilt. *Biol Reprod*, **47**, pp. 485- 491.

Morbeck, D. E., Flowers, W. L., and Britt, J. H. (1993). Response of porcine granulosa cells isolated from primary and secondary follicles to FSH, 8-bromo-cAMP and epidermal growth factor in vitro. *J Report Fertil*, **99**, pp. 577- 584.

Morita, Y., Manganaro, T. F., Tao, X. J., Martimbeau, S., Donahoe, P. K., Jilly, J. L. (1999). Requirement for phosphatidylinositol-3'-kinase in cytokine-mediated germ cell survival during fetal oogenesis in the mouse. *Endocrinology* **140**(2), pp. 941-949.

- Nicosia S.V., Evangelista I., Batta S.K. 1975. Rabbit ovarian follicles. Isolation technique and characterization at different stages of development. *J Report Fertil.*, **13**, pp. 423-447.
- Oakberg, E.F. (1979). Follicular growth and atresia in mouse. *in vitro*, **15**, pp. 41-49.
- O'Brien, M.L., Park, K., In, Y. and Park-Sarge, O.K. (1999). Characterization of estrogen receptor-P (ERp). messenger ribonucleic acid and protein expression in rat granulosa cells. *Endocrinology* **140**, pp. 4530- 4541.
- Perkins, G.A. and Frey, T.G. (2000). Recent structural insight into mitochondria gained by microscopy. *Micron*, **31**, pp. 97- 111.
- Peters, H., Byskov, A. G, Himelstein-Braw, R., and Faber, M. (1975). Follicular growth: the basic event in the mouse and human ovary. *J Report Fertil.*, **45**, pp. 559-566.
- Picton, H. M. (2001). Activation of follicle development: the primordial follicle. *Endocrinology*, **55**, pp. 1193-1210.
- Roche, J.F. (1996). Control and regulation of folliculogenesis - a symposium in perspective. *Reviews of Reproduction*, **1**, pp. 19-27.
- Rodgers, R.J., Van Wezel, I.L., Irving-Rodgers, H.F., Lavranos, T.C., Irvine, C.M., and Kriipa, M. (1999). Roles of extracellular matrix in follicular development. *J Report Fertil.*, Suppi **54**, pp.343-52.
- Russe L. (1983). Oogenesis in cattle and sheep. *Biblio Anat* **24**, pp. 77-92.
- Savio, J.D., W.W Thatcher, Badinga, L., De La Dota, R.L and Wolfenson, D. (1993). Regulation of dominant follicle turnover during the estrous cycle in cow. *J Report Fertil.* pp. 197-203.
- Shalgi, R., Kraicer, P., Rimon, A., Pinto, M., and Soferman, N. (1973). Proteins of human follicular fluid: the blood-follicle barrier. *Fertil steril* **24**, pp. 429-34.
- Silva, J.R.V., Bao, S.N., Lucci, C.M., Carvalho, F.C.A., Andrade, E.R., Ferreira, M.A.L. and Figueiredo, J.R. (2001). Morphological and ultrastructural changes occurring during degeneration of goat preantral follicles preserved in vitro, *Anim reprod Sci*, **66**, pp. 209-223.
- Sirois, J. Fortune, J.E. (1990). Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance, *J Reprod Fert.* **127**, pp.916-925.
- Skinner, M.K., Keski-Oja, J., Osteen, K.G., and Moses, H.L. (1987a). Ovarian thecal cells produce transforming growth factor-p which can regulate granulosa cell growth. *Endocrinology*, **121**, pp. 786-792.
- Stevens, A., and Lowe, J. (1997). "Human histology" Times Mirror International Publishers Limited, Paris Bruxelles.
- Tay, J., Ritcher, J. D., (2001). Germ cell differentiation and synaptonemal complex formation. are disrupted in CPEB knockout mice. *Dev Cell*, **1**, pp. 201-213.
- Thibault, C., and Levasseur, M. (2001). "La reproduction chez les mammifères et l'homme"

INRA, Paris.

Tilly, J., and Tilly, K., (1995). Inhibitors of oxidative stress mimic the ability of follicle-stimulating hormone to suppress apoptosis in cultured rat ovarian follicles *Endocrinology*. **136**, pp. 242-52..

Tsafiriri, A., Chun, S. Y., Zhang, R., Hsuet, A. J., and Conti, M. (1996). Oocyte maturation involves compartmentalization and opposing changes of cAMP levels in follicular somatic and germ cells: studies using selective phosphodiesterase inhibitors. *Dev Biol* 178, pp. 393-402.

VAISSAIRE, 1977 Sexualité et reproduction des mammifères domestique et de laboratoire. Maloine S.A, Editeur\_ PARIS 242-247.

Van Wezel, I. L., and Rodgers, R. J. (1996). Morphological characterization of bovine primordial follicles and their environment in vivo. *J Report Fertil.*, 55, pp. 1003-1011.

Wandji, S. A., Pelletier, G., and Sirard, M. A. (1992). Ontogeny and cellular localization of <sup>125</sup>I-labeled basic fibroblast growth factor and <sup>125</sup>I-labeled epidermal growth factor binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves. *Biologie of reproduction*, 47, pp. 807-813.

Wandji S.A., Srsen V., Nathanielsz P.W., Eppig J.J. and Fortune J.E. (1997). Initiation of growth baboon promordiales follicles in vito. *Human Reprod*, **121**, pp. 993- 1002.

Wandji, S. A., Srsen, V., Nathanielsz, P. W., Eppig, J. J. & Fortune, J. E. (1997). Initition of growth of baboon primordial follicles in vitro, *Human Reprod* , **12**, pp. 1993-2001.

Zamboni L. Merchant H. (1973). The fine morphology of mouse primordial germ cells in extragonadal locations. *Am J Anat*, pp. 299-336.

Zamboni, L. (1974). Fine morphology of the follicle wall and follicle cell-oocyte association. *Biol Reprod* **10**, pp. 125- 149

Elle comprend deux lèvres musculaires latérales qui assurant la bonne coaptation et deux commissures, supérieure et inférieure. Il en résulte un conduit impaire recevant l'organe male (pénis) pendant l'accouplement ou coït et donnant passage au nouveau-né lors de la parturition ou mise-bas.

## **II Les ovaires**

Les ovaires sont de petits organes pairs, de forme ovoïde, situés en position latérale de la cavité pelvienne. Un épithélium germinatif cubique simple enveloppe l'ovaire. Sous cet épithélium, on retrouve une couche de tissu conjonctif dense nommé l'albuginé.

L'ovaire est rattaché au ligament large par un repli péritonéal, le mésovarium qui permet le passage des vaisseaux et des nerfs dans l'ovaire. Au niveau du hile; il est tapissé par un épithélium cubique simple qui est une prolongation du revêtement épithélial pavimenteux du mésovarium. L'ovaire comprend une zone corticale et une zone médullaire :

### **La zone médullaire :**

Elle est formée d'un tissu conjonctif fibreux dans lequel circulent les vaisseaux sanguins, les vaisseaux lymphatiques et les nerfs; on note la présence d'artères spiralées appelées artères hélicines

### **La zone corticale :**

Elle comporte une couche conjonctive dense sous épithéliale qui constitue l'albuginée et qui donne sa teinte blanchâtre à l'ovaire à l'état frais. Sous l'albuginée, les follicules ovariens gamétogénèses sont éparpillés dans le stroma (tissu conjonctif particulier à potentialités multiples) ; il existe également des formes de dégénérescence des follicules.

Les ovaires possèdent deux fonctions principales : une fonction reproductrice et une fonction endocrine :

La fonction reproductrice : elle permet de produire des cellules reproductrices femelles appelées ovocytes, le follicule contenant l'ovocyte mature (ovule) se rompra au moment de l'ovulation pour libérer ce gamète femelle.

La fonction endocrine : elle se caractérise par la synthèse des hormones stéroïdiennes qui jouent un rôle dans la préparation de l'endomètre à l'implantation et au maintien d'une gestation, suite à une éventuelle fécondation.

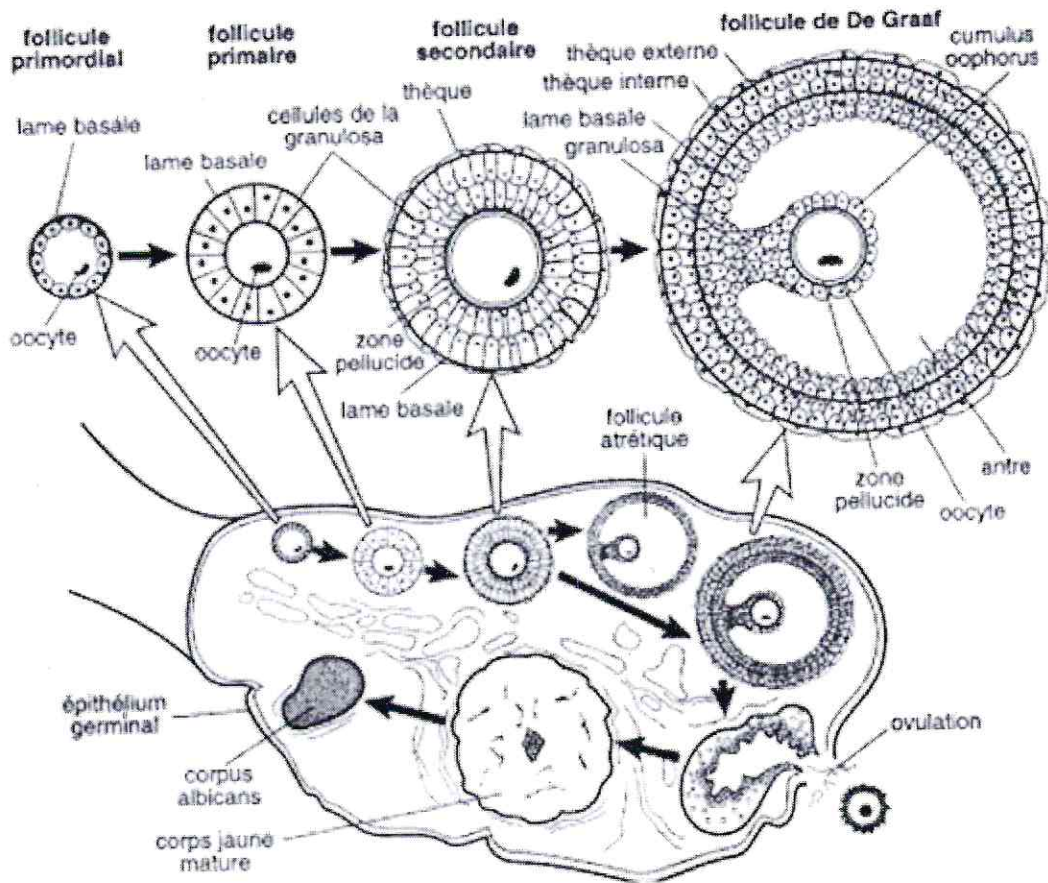


Figure1 : Représentation schématique d'un ovaire humain. Image titrée et adaptée (GUENARD et al ; 1996)

## **CHAPITRE III : LES FOLLICULES**



### **III. Follicules**

Les follicules constituent la structure ovarienne assurant le développement et la maturation du gamète femelle, l'ovocyte. L'évolution des follicules passe par plusieurs étapes : primordial, primaire, secondaire, tertiaire et de De Graaf.

#### **III.1 L'histologie du follicule**

Chaque follicule ovarien (figure 1) fournit un micro environnement permettant la croissance et la maturation d'un ovocyte (GORDON, 1994). De l'extérieur vers l'intérieur on retrouve les cellules de la thèque externe et interne, les cellules de la granulosa et les cellules du cumulus entourant l'ovocyte (STEVENS et LOWE, 1997).

Les cellules de la thèque sont des cellules de types fibroblastiques et se divisent en deux couches cellulaires : la thèque externe et la thèque interne.

La thèque externe est compacte et traversée de vaisseaux sanguins, elle n'a pas de fonction sécrétoire.

Au contraire, les cellules de la thèque interne sécrètent des stéroïdes (progestérone, androgène et oestrogène) (MOOR et TROUNSON, 1997) grâce à un important réticulum endoplasmique lisse et des mitochondries à crêtes tubulaires, ce qui est une caractéristique des cellules synthétisant des stéroïdes (STEVENS et LOWE, 1997).

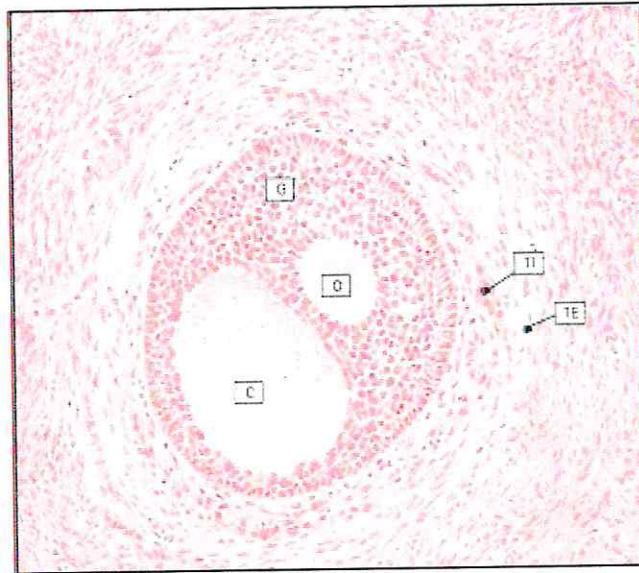
Une lame basale contenant du collagène, de la fibronectine, de la laminine et des protéoglycans (RODGERS et al; 1999) sépare les feuillettes des cellules de la thèque et de la granulosa qui ne sont pas irriguées par les vaisseaux sanguins et sont de type épithélial pseudostatifié.

Les cellules du cumulus oophorus sont des cellules de type granulosa entourant l'ovocyte qui se sont différenciées et qui constituent une sous population. Les cellules du cumulus servent à nourrir l'ovocyte (BUCCIONE et al ; 1990).

La couche de cellules du cumulus (la couche la plus interne) qui est en étroit contact avec l'ovocyte, via des extensions cytoplasmiques se projetant à travers la zone pellucide, forme la corona radiata (FLECHON et al ; 1986).

La corona radiata communique avec l'ovocyte et des cellules du cumulus via des pores appelés jonctions communicantes, « Gap junctions » (DE LOOS et al; 1991).

Ces cellules sont, de plus, impliquées dans la modulation d'inhibiteurs de la maturation ovocytaire (EPPIG et DOWNS, 1984 ; TSAFRIRI et al ; 1982).



**Figure 2** : Représentation schématique d'une coupe histologique d'un follicule ovarien.

Le follicule ovarien contient différents types cellulaires. TE : Cellule de la thèque externe ; TI : Cellules de la thèque interne, G : Cellules de la granulosa ; C : Cavité antrale ou antrum ; O : Ovocyte. Figure tiré et adaptée (STEVENS ET LOWE, 1997)

### **III.1 L'histologie du follicule**

Cette masse représente la réserve non-renouvelable de follicule pour la vie reproductive des mammifères (DRIANCOURT et al; 1991) Le follicule primordial, de forme ellipsoïde, contient l'ovocyte (ovule immature) et est l'unité de développement fondamental des ovaires de mammifères.

Le diamètre des follicules primordiaux est d'environ 40 à 50  $\mu\text{m}$  et contient un ovocyte immature de moins de 30 $\mu\text{m}$  de diamètre (MOBECK et al ; 1992). Ces follicules contiennent tous des ovocytes incapables de reprendre leur méiose (HUNTER, 2000).

L'apparition des follicules primordiaux dans l'ovaire a lieu durant l'embryogenèse. Chez le porc c'est environ au 40<sup>e</sup> jour de gestation que commence la formation des follicules primordiaux (BLACK et ERICKSON, 1968). Chez le bovin, ce phénomène se produit autour de 90<sup>e</sup> jour de gestation (RUSSE, 1983).

Ce type de follicule se caractérise par un ovocyte au stade dictyé entouré par une seule couche de cellules épithéliales aplaties : les cellules de la pré-granulosa (BYSKOV et LINTERN-MOORE, 1973) .Les pré-granulosa semblent être dérivés du rete ovarii (GORELANGTON et ARMSTRONG, 1994). La présence des cellules de la granulosa serait nécessaire pour que l'ovocyte puisse survivre et croître (BYSKOV et LINTERN-MOORE, 1973 ; PICTON, 2001)

Le follicule primordial est clairement délimité du stroma ovarien par une lame basale. Ces cellules stromales mésenchymateuses seraient probablement à l'origine des cellules de la thèque (GOUGEON, 1996).

Chez le rat, les cellules de la thèque seraient présentes dans les follicules primordiaux et primaires (HIRSHFIELD, 1991). Ces résultats suggèrent qu'il existerait une interaction entre les cellules de la thèque et les cellules de la granulosa jouant un rôle des plus importants dans la régulation de la croissance et de la différenciation du follicule très tôt au cours de la folliculogénèse.

### **III.1.2 Follicules primaires**

Les follicules primordiaux seront activés pour devenir follicules primaires. Cette activation se produit indépendamment des hormones pituitaires gonadotrophines et semble être soumise qu'au contrôle ovarien (PETERS et al ; 1975). Chez l'espèce bovine il se produit vers le 140<sup>ème</sup> jour de gestation (RUSSE, 1983).

Les ovocytes des follicules primaires ne diffèrent pas significativement en volume de ceux qu'on le retrouve au stade primordial. Ils contiennent des ovocytes d'environ 30 $\mu$ m de diamètre entourés de cellules de la granulosa de forme cuboidales (HYTTEL et al ; 1997, RUSSE, 1983 ; VAN WEZEL et RODGERS, 1996).

Les ovocytes ne commenceront à prendre du volume qu'au moment où il y aura un nombre suffisant de cellules de granulosa, soit environ 40 cellule chez le bovin (BRAW-TAL et YOSSEFI, 1997). Les cellules de la granulosa possèdent à ce stade des sites de liaison pour la FSH et le BFGF (MORBECK et al; 1993).

A ce stade, le diamètre folliculaire a progressé et mesure environ 100 $\mu$ m. Des changements importants prennent place lors du développement du follicule primaire.

La présence de jonctions communicantes et de desmosomes entre les cellules de la granulosa et l'ovocyte a été démontré (ALBERTINI et ANDERSON, 1974 ; ANDERSON et ALBERTINI, 1976). De plus c'est à ce stade que l'on observe la première trace de formation de la zone pellucide qui ceinturera complètement l'ovocyte qu'au moment où le follicule atteindra son stade préanté (BRAW-TAL et YOSSEFI, 1997).

La participation de l'ovocyte dans l'élaboration la zone pellucide a été reconnue en se basant sur l'importance de son appareil de Golgi (RUSSE, 1983). Les mitochondries sont encore de forme rondes, mais ont augmenté faiblement de volume.

### **III.1.3 Follicules secondaires**

Les follicules primordiaux, primaires et secondaires constituent ensemble 95% de la population folliculaire. Les follicules secondaires montrent une intense activité de divisions mitotiques qui se manifeste par l'apparition de plusieurs couches de cellules de granulosa de forme cubique, ainsi qu'un ovocyte plus volumineux dont le diamètre varie de 50 à 60 $\mu$ m

(HYTTEL et al ; 1997 ; RUSSE, 1983). Chez le bovin, les follicules secondaires apparaissent vers le 210<sup>ème</sup> jour de gestation.

Le diamètre folliculaire est maintenant de 120 $\mu$ m de diamètre. De plus les cellules de thèque deviennent clairement identifiables à la face externe du follicule, favorisant ainsi le développement du réseau capillaire entourant l'ovocyte.

Des sites de liaison à la FSH, au bFGF et à l'EGF sont présents sur les cellules de la granulosa, alors que les cellules de la thèque comportent plutôt des sites pour la LH chez le bovin (WANDJI et al ; 1992).

Bien que les sites de liaisons aux gonadotrophines soient présents à ce stade, il est bien reconnu que les premiers stades de croissance folliculaire sont indépendants des hormones gonadotropes (MONNIAUX et al ; 1997 ; ROCHE, 1996). Enfin, il y a élaboration des granules corticaux et une migration des mitochondries rondes en périphérie.

### **III.1.4 Follicules tertiaires (antraux ou DE Graaf)**

Les follicules secondaires deviendront tertiaires lorsqu'il aura formation d'une cavité à l'intérieur du follicule connue sous le nom d'antrum. Cette cavité est remplie de liquide folliculaire contenant de l'exsudat du plasma sanguin et de produits sécrétés par les cellules folliculaires. Le stade tertiaire correspond à la phase de recrutement folliculaire. Chez le bovin, c'est au 270<sup>ème</sup> jour de gestation que les premiers follicules antraux apparaissent.

Les follicules préantraux de cochettes prépubères croissent à un taux d'environ 313 $\mu$ m / jour (MORBECK et al ; 1992). A ce stade, la taille de l'ovocyte atteint environ 115 $\mu$ m (MORBECK et al ; 1992).

Le follicule antral est composé de plusieurs couches de cellules de thèque, d'une membrane basale, d'un épithélium stratifié de cellule de la granulosa et d'un complexe ovocyte-cumulus (COCs).

La zone pellucide entourant l'ovocyte est maintenant devenue complète (BRAW-TAL et YOSSEFI, 1997). Des projections de cellules de la corona radiata s'invaginent à la surface de l'ovocyte pour traverser la zone pellucide et former des jonctions communicantes ou gap junctions (HYTTEL et al ; 1989 ; LARSEN et WERT, 1988).

A mesure que la croissance folliculaire augmente, les jonctions communicantes augmentent en nombre et en dimension (LARSEN et WERT, 1988). Cette association permet maintenant l'échange de facteurs régulateurs de la maturation ovocytaire. Il y a aussi modification de la structure des régulateurs de la maturation ovocytaire. Juste avant l'ovulation un espace pévitellin se forme entre l'ovocyte et la zone pellucide.

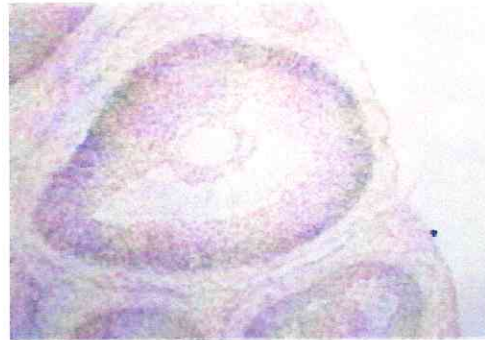
Des caractéristiques stéroïdogéniques différentes ainsi qu'une distribution différente

Des récepteurs démarquent les cellules du cumulus des cellules de la granulosa (GORDON et LU, 1990). Les cellules de la granulosa possèdent des récepteurs à la FSH, tandis que les cellules de la thèque possèdent des récepteurs à la LH à leur surface.

La stéroïdogénèse folliculaire est régulée par ces deux types cellulaires. C'est la théorie des deux cellules-deux gonadotrophines. Les cellules de la thèque produisent des androgènes endogènes une fois activées par leur récepteur LH.

Les cellules de la granulosa, sous influence de la FSH utilisent les androgènes produits par les théques. Les granulosa synthétisent les oestrogènes grâce à l'enzyme qu'elle possède : l'aromatase, qui transforme l'androstèdione (SPICER et al ; 1993 ; WANDJI et al ; 1992).

Les gonadotrophines peuvent influencer le développement des follicules antraux à partir du 60<sup>ème</sup> jour post natal (CHRISTENSON et al ; 1985). De plus, les cellules de la granulosa et de la thèque possèdent des sites de liaisons à l'IGF (« Insuline Like Growth Factor ») de croissance sont aussi présents dans le follicule tels le TGF $\beta$  (ROY et al ; 1992 ; SKINNER et al ; 1987), l'EGF (GOSPODAROWICZ et BIALECKI, 1978 ; MARUO et al ; 1993) et le FGF (VAN WEZEL et RODGERS, 1996 ; WANDJI et al ; 1992).



**Figure 3 :** Représentation d'une coupe histologique d'un follicule à antrum (Figure tirée et adaptée de MONNIAUX, 1997)

### III.1.5 Corps jaune :

Le corps jaune se forme à partir des cellules de la granulosa et de cellule de la thèque interne du follicule.

Les cellules de la granulosa qui sécrétaient principalement de œstradiol se transforment en cellules lutéals qui ont sécrété de la progestérone.

La lame basale qui isolait les cellules de la granulosa disparaît ; les vaisseaux sanguins et lymphatiques s'engouffrent en entraînant la cellule de la thèque interne vers l'intérieure du follicule.

-Les cellules subissent une hypertrophie ; leur taille augmente considérablement ; et le noyau devient polyploïde (LEMON et al ,1977).

- La plus part des corps jaunes cyclique restent creux ; *leur* formation est plus ou moins rapide ; il semble qu'il y a une bonne relation entre la durée de formation du corps jaune et l'élévation de la sécrétion de progestérone.

- Si la femelle est fécondée les corps jaunes deviennent plus gros ; et leur cavité centrale disparaît et présentent une vascularisation plus importante.

## **CHAPITRE IV : LA FOLLICULOGENESE**

## **VI.1a croissance folliculaire :**

### **VI.1.1 LES VAGUES FOLLICULAIRES**

Le modèle de vagues folliculaires a d'abord été évoqué chez la brebis (BHERER et al. 1976; MANON et al. 1977) ensuite chez le bovin (ADEIAKOUN et al. 1977; MATON et al. 1981; Ireland et ROCHE, 1983).

Depuis 1984, grâce à l'échographie, les chercheurs ont pu établir que plusieurs poussées de croissance et de régression de follicules se produisent durant le cycle du bovin (IRELAND et ROCHE, 1987).

Chaque poussée est appelée vague de croissance folliculaire. En 1987, IRELAND et ROCHE suggèrent pour la première fois qu'une vague comprend trois phases : Le recrutement, la sélection et la dominance.

- Le recrutement se définit comme étant l'entrée en croissance terminale d'un groupe de follicules de 4 à 5 mm (GOCIMAN et HODGEN, 1983; DRIANCOURT, 1991).
- La phase de sélection se caractérise par l'émergence d'un follicule appelé Follicule dominant (FD) qui présente une croissance plus rapide que les autres Il deviendra en principe le follicule ovulatoire (DRIANCOURT, 1991). Le follicule ovulatoire chez la femelle est identifié comme le plus gros des follicules présent sur la paire d'ovaires quelques jours avant l'oestrus (DUFOUR et al, 1972; QUIRQ et al, 1986)
- Durant la phase de dominance, les follicules < 11 mm appelés follicules subordonnés (FS) cessent de croître quelques jours après la détection de la vague de folliculaires de 4 à 5 mm (MELIC et al. 1989). Le follicule dominant parcourt une phase de dominance qui est suivie soit de son atresie, soit de son ovulation.

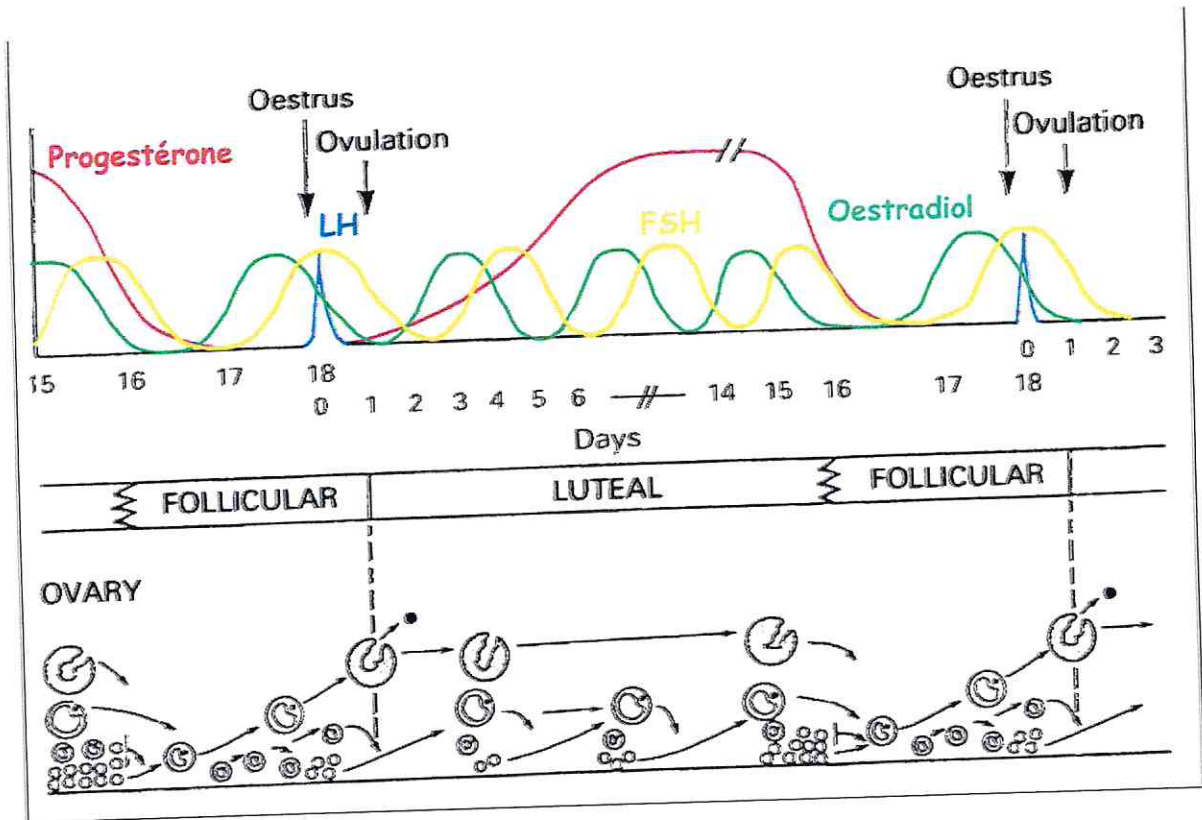
Une vague folliculaire comprend en moyenne, par paire d'ovaires, 16 à 20 petits follicules, 7 ou 8 follicules de taille moyenne et un gros follicule

En général, les vagues folliculaires sont au nombre de deux (PIERSON et GINTFIER 1984; KASTELIC et al, 1989; KNOPF et al, 1989; GINTHER et al, 1989) ou de trois (IRELAND et ROCHE, 1987; SAVIO et al. 1988; SIROIS et FORTUNE, 1988) par cycle oestral.

Étant donné que l'ovulation a lieu a la fin du cycle oestral, quel que soit le nombre de vagues dans un cycle, la vague ovulatoire est toujours la dernière ce que démontre la figure 4. (GINTHER et al. 1989) ont montré qu'il n'y a pas de différence significative entre la vague ovulatoire et les vagues anovulatoires quant au nombre de follicules de taille moyenne (4 - 6 mm) en croissance ou en régression.

De plus, le follicule dominant des vagues anovulatoires destiné normalement à l'atresie possède le potentiel d'ovuler si l'environnement endocrinien est modifié, de telle sorte qu'il y a un pic de LH (endogène ou exogène) (LAVOIR et FORTUNE, 1990).





**FIGURE 4 :** Modèle de la dynamique des vagues folliculaires chez le mouton (d'après MCNEILLY et AL, 1992)

### **III.1.2 Folliculogenèse**

La Folliculogenèse est la succession des différentes étapes du développement folliculaire ovarien, depuis le moment où il sort de la réserve jusqu'au moment de sa rupture au moment de l'ovulation ou à son involution (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001).

Ce phénomène s'opère de façon continue, puisque chaque jour des follicules entrent dans une phase de croissance.

Chez les mammifères domestiques, la croissance folliculaire implique la présence de trois phénomènes bien distincts les uns des autres soit : le recrutement, la sélection et la dominance folliculaire (GINTHER et al. 2001).

À noter que chez la femme et la truie, la folliculogenèse terminale n'aboutit que pendant la phase folliculaire du cycle (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001). L'œstradiol et l'inhibine, dont la sécrétion augmente avec la croissance folliculaire, condamnent la sécrétion de FSH.

La phase folliculaire couvre l'intervalle entre le début de la régression du corps jaune et l'ovulation (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001).

Le développement des follicules antraux est régulé par les hormones gonadotropes, la FSH et la LH ainsi que des facteurs locaux tels les facteurs de croissances, les cytokines, les stéroïdes et autres molécules régulatrices connues et inconnues.

Ces régulations peuvent être autocrines, paracrines et endocrines. Récemment, deux protéines, le récepteur kit et son ligand kit, ont été identifiés comme système paracrine étant impliqués dans la croissance ovocytaire et la différenciation des cellules de la thèque en début de la folliculogenèse (DRIANCOURT et al. 2000).

#### **VI.1.2.1 La croissance folliculaire :**

##### **I) La croissance folliculaire basale**

###### **a) Aspects descriptifs**

Le démarrage de la croissance des follicules primordiaux débute pendant la vie foetale et néonatale. La croissance folliculaire basale est un processus long et continu et peut durer toute la Vie de la femelle jusqu'à épuisement du pool de follicules primordiaux.

Lors de cette croissance, le follicule passe par trois stades morphologiques différents. La transition du follicule primordial au follicule primaire se caractérise par une croissance de l'ovocyte. Le passage du stade follicule primaire au stade follicule secondaire est caractérisé par

la prolifération des cellules de la granulosa qui s'organisent en une structure pluristratifiée autour de l'ovocyte.

La transition au stade follicule tertiaire est caractérisée par :

- La poursuite du processus de multiplication des cellules de granulosa (taux de prolifération maximum pour un diamètre folliculaire de 1 mm chez la brebis)
- La différenciation des cellules du stroma ovarien entourant le follicule en deux tissus distincts : la thèque interne et la thèque externe
- Le développement de la vascularisation dans les théques (interne et externe)
- La formation de l'antrum, cavité remplie de liquide folliculaire, constituée des produits de sécrétion des cellules de la granulosa et de la thèque ainsi que par des éléments extra ovariens ( $PM < 10^3$  kDa) (SHALGI et al., 1973) apportés par la vascularisation folliculaire.

Les changements morphologiques des follicules ovariens au cours de la croissance folliculaire basale sont comparables chez tous les mammifères.

La durée des stades et la taille atteinte par les follicules à la fin de chaque stade sont caractéristiques de chaque espèce.

Alors que l'apparition de l'antrum survient lorsque le follicule atteint 0,2 mm de diamètre chez la souris, la brebis et la femme, en fin de croissance folliculaire basale, le follicule atteint 0,2 mm chez la souris, 2 mm chez la brebis et 3 à 5 mm chez la femme et la vache. La durée de la croissance folliculaire basale est de 20 jours chez la souris, et d'environ 6 mois pour la brebis, la vache et la femme (MONNIAUX et al, 1997).

#### **b) La régulation de la croissance folliculaire basale**

Les mécanismes contrôlant l'initiation de la croissance folliculaire basale sont difficiles à étudier car c'est un processus long (ERICKSON et SHIMASAKI, 2001; MCGREE et HSUEH, 2000).

L'initiation de la croissance basale ne semble pas être sous l'influence des gonadotrophines FSH et LH. En effet, elle se poursuit normalement après hypophysectomie (DUFOR et al. 1979).

Chez la souris, des mutations de la sous unité  $\beta$  de la FSH (KUMAR et al., 1997) et du récepteur FSH (DIERICH et al., 1998) ainsi que chez la femme, la perte de fonction du récepteur

FSH (AITTOMAKI et al., 1995) n'empêche pas le développement folliculaire jusqu'au stade antral.

En revanche, des facteurs de croissance produits localement soit par l'ovocyte soit par les cellules de granulosa semblent être des éléments indispensables au recrutement initial.

## **II) La croissance du follicule préantral**

Elle est soumise à des régulations de nature paracrine et autocrine (MCGREE et HSUEH, 2000). Les communications ovocyte cellules de granulosa sont essentielles. L'inactivation par trançénèse de la connexine 37, protéine présente au niveau des jonctions fonctionnelles (gaps-junctions) ovocyte-cellules de granulosa, réduit la population de follicules à antrum chez la souris (SIMON et al. 1997).

Les interactions entre cellules de granulosa et cellules de la thèque ont aussi un rôle dans le développement des follicules préantraux. Chez le singe, l'addition d'androgènes, synthétisés in vivo par les cellules de la thèque, augmente le nombre de follicules préantraux et de petits follicules à antrum (VENDOLA et al. 1998).

La FSH et la LH ne semblent pas indispensables au développement des follicules en croissance basale et dont elles sont sensibles, les follicules sont sensibles.

En effet, lorsque le taux des gonadotrophines est diminué par hypophysectomie ou addition d'antagoniste du GnRH chez la rate, le poids des ovaires est diminué ainsi que le nombre de follicules en développement et le nombre de follicules atrétiques est augmenté.

Au contraire, un traitement à la FSH de jeunes rates augmente le poids de l'ovaire et le nombre de follicules préantraux en développement (MCGREE et al. 1997). Des souris porteuses de mutations pour la cycline D2, dont l'expression dépend de FSH, développent des petits follicules à antrum atypiques qui ne peuvent ovuler (SICINSKI et al. 1996).

Même si la FSH n'est pas indispensable, elle participe au développement des follicules au cours de cette croissance basale. (MCGREE et al. 1999). Les IGFs semblent également impliqués.

## **III) La croissance folliculaire terminale**

La croissance folliculaire terminale regroupe l'ensemble des processus de croissance et de maturation du follicule dominant depuis sa sélection jusqu'à l'ovulation ainsi que la régression (atrésie) des follicules dominés.

Cette phase de croissance est strictement dépendante des gonadotrophines. Cette dépendance apparaît à des tailles différentes selon les espèces (2 mm chez la brebis, 1 mm chez la truie, 3 à 5 mm chez la femme et la vache et 10 mm chez la jument). La durée de la croissance terminale est de 2 semaines chez la femme, 2-3 jours chez la brebis, 4-5 jours chez la vache et la truie (MONNIAUX et al. 1997).

Chez la brebis, le follicule en développement terminal passe de 2 mm de diamètre à 6-7 mm de diamètre au stade de follicule pré ovulatoire. Cette étape est caractérisée par un accroissement du volume de l'antrum, le développement de la vascularisation thécale, la diminution progressive de l'activité de prolifération des cellules de granulosa et la différenciation des cellules de granulosa et de la thèque interne en cellules stéroïdogènes.

### **III.a. Facteurs de régulation et mécanismes généraux**

La croissance folliculaire terminale est strictement dépendante des hormones gonadotropes mais des facteurs paracrines tels que des facteurs de croissance (IGFs, EGF, TGF...), les stéroïdes, l'inhibine, l'activine, la follistatine, les composants de la MEC viennent moduler l'action des ces hormones.

Dans les follicules à antrum, les récepteurs de FSH sont exprimés exclusivement par les cellules de granulosa et les récepteurs de LH sont exprimés par les cellules de la thèque. La FSH stimule in vivo la prolifération des cellules de granulosa des petits follicules à antrum (2-3 mm de diamètre chez la brebis) et la différenciation cellulaire des follicules de plus grande taille.

Au niveau des cellules de granulosa, la FSH stimule l'expression de ses propres récepteurs, des récepteurs à LH, des enzymes de la stéroïdogenèse (P450<sub>scc</sub>, P450<sub>arom</sub> et 3βHSD) permettant la sécrétion d'E2 et de P4. La FSH stimule aussi la production d'inhibine et de follistatine.

Au niveau des cellules thécales, la LH stimule l'expression de ses propres récepteurs et des enzymes de la stéroïdogenèse (P450<sub>scc</sub>, P450 17α et 3βHSD). La MEC, sécrétée par des cellules endothéliales, stimule la prolifération des cellules de granulosa (GOSPODAROWICZ et al. 1980) ainsi que la différenciation de ces cellules en cellules stéroïdogènes.

En effet, des cellules de granulosa cultivées sur un support de MEC sécrètent plus de P4 que celles cultivées sur un support plastique (AMSTERDAM et al. 1989).

Des cellules de granulosa cultivées sur laminine ou fibronectine sécrètent plus de P4 que celles cultivées sur un support de collagène de type I (ATEN et al. 1995).

Dans les follicules pré ovulatoires, la LH stimule la sécrétion d'androgènes par les cellules de la thèque, androgènes aromatisés par les cellules de granulosa en E2. L'E2 passe dans la circulation sanguine via la vascularisation du follicule et sa concentration sérique augmente avec la croissance folliculaire.

L'augmentation d'E2 constitue le signal ovarien induisant le déclenchement de la décharge ovulante de LH. Les follicules matures, possédant de récepteurs de LH sur leurs cellules de granulosa, ovulent 24h après cette décharge.

### **III. b. Principales étapes du développement folliculaire**

#### **1. Le recrutement**

Chez les primates et les rongeurs, le recrutement commence au début de la phase folliculaire du cycle. Par contre chez les ruminants, le recrutement se fait en continu, générant des vagues folliculaires.

Le démarrage de chaque vague de croissance chez les ruminants est corrélé à une élévation des taux de FSH (ADAMS et al. 1992; MCNEILLY et al. 1992). La diminution de la FSH par addition d'inhibine bloque le recrutement tandis que l'administration de GH induit l'augmentation de l'IGF-I biodisponible et augmente la taille de la cohorte chez la vache (GONG et al. 1991).

Au cours du recrutement des follicules à antrum se met en place une boucle d'auto amplification de l'action de la FSH : l'IGF-I stimule l'expression des récepteurs à FSH et la FSH stimule l'expression des récepteurs IGF-I (MONGT et BONDY, 2000).

#### **2 La sélection**

Le follicule destiné à ovuler continue sa croissance tandis que les autres follicules de la cohorte dégèrent par atresie. Les mécanismes contrôlant cette sélection ne sont pas connus à l'heure actuelle.

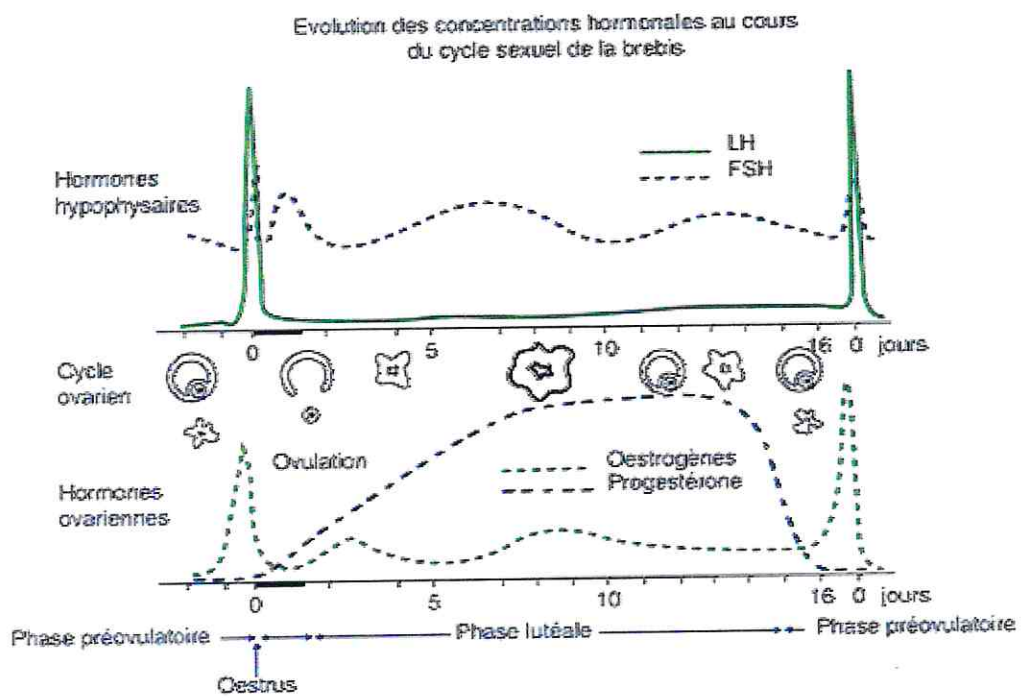
L'hypothèse la plus probable aujourd'hui est basée sur la combinaison d'un mécanisme endocrinien et local. La production d'E2 par le follicule dominant (GINTHER et al. 2000) ainsi que celle d'inhibine conduisent à une diminution de la sécrétion de FSH. La diminution des taux circulants de FSH bloque la croissance et la maturation des follicules les plus sensibles (faibles concentrations intrafolliculaires en IGF-I bio disponible et en E2) (MONNIAUX et al. 1996)

#### **3 La dominance**

La dominance est caractérisée par la croissance et la maturation du follicule pré ovulatoires, la régression par atresie des follicules subordonnés et le blocage du recrutement de nouveaux follicules.

Malgré le taux réduit de FSH circulante, le follicule dominant continue sa croissance. Chez la vache, le follicule dominant, qui possède des récepteurs de LH dans les cellules de la granulosa, est sensible aux stimulations pulsatiles de LH. (Figure 5)

Des régulateurs intra ovariens amplifient la réponse folliculaire à FSH et LH. Dans le follicule dominant, les protéines de liaisons aux IGFs (IGFBP-2, -4, -5) sont réduites, augmentant ainsi la biodisponibilité de l'IGF-I qui potentialise l'effet de LH sur les cellules thécales et de FSH sur les cellules de granulosa. Le follicule dominant, chez les primates, montre une meilleure Vascularisation induite par VEGF dont l'expression est stimulée par FSH, LH et IGF-I.



**Figure 5** Evolution de la concentration hormonale au cours du cycle sexuel de la brebis

## **CHAPITRE V : l'atrésie**



## V.L'atrésie

Le développement d'un follicule jusqu'à l'ovulation est un fait exceptionnel. En effet près de 99,9% des follicules en croissance dégèrent par le processus d'atrésie et ceci à n'importe quel stade du développement folliculaire. La transition entre le stade ovulatoire et le stade antral précoce est la période la plus sensible (MONNIAUX et al. 1996).

L'atrésie dans les follicules à antrum se caractérise par l'apparition de cellules pycnotiques, la fragmentation de la membrane basale qui sépare la granulosa de la thèque et la réduction de la vascularisation thécale (Figure 6).

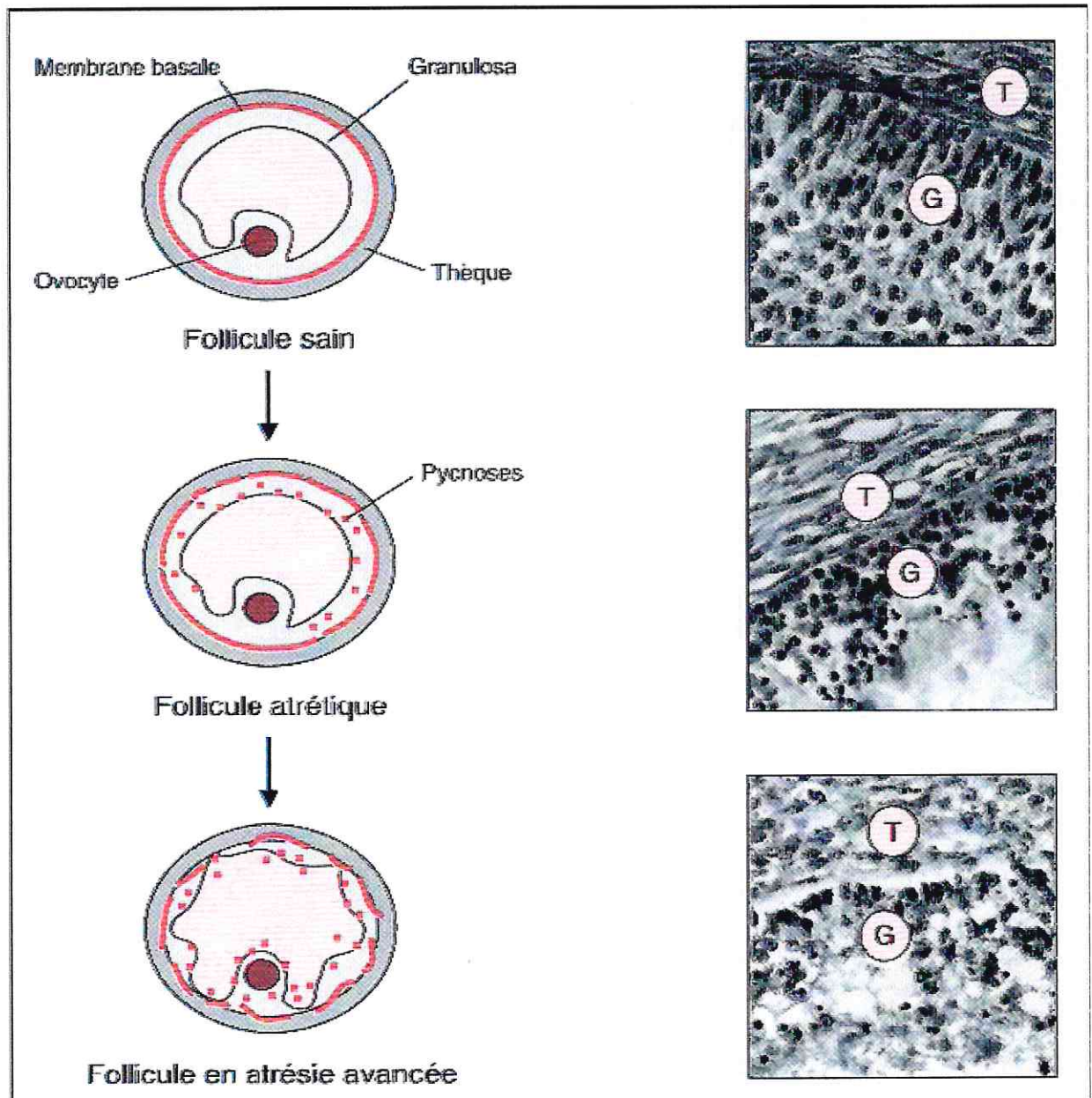
L'atrésie débute par une chute de l'activité mitotique dans les cellules de la granulosa, une perte de l'expression de la P450arom (entraînant une accumulation d'androgènes dans le liquide folliculaire), et de la connexine 43 (indiquant une disparition des gap junctions) dans la granulosa (HUET et al. 1998) et une augmentation de l'expression de l'IGFBP-2 dans la granulosa et la thèque (entraînant une chute de la biodisponibilité en IGFs) (CATALDO et GIUDICE, 1992).

Les stades plus tardifs sont caractérisés par la perte d'expression des récepteurs de FSH et l'accumulation de constituants matriciels, (laminine, fibronectine, collagène IV, protéoglycanes) dans les cellules de la granulosa, la perte progressive d'expression de la P450 17 $\alpha$  et des récepteurs de LH dans les cellules de la thèque. L'augmentation des concentration en métalloprotéases MMP-2 et -9 (responsables de remaniements tissulaires) (HUET et al., 1998) et en IGFBP-2, -4, -5 (piégeant La FSH semble être le facteur de survie prédominant).

En effet l'hypophysectomie entraîne l'atrésie des follicules en développement (MONNIAUX et al. 1998). In vitro, la FSH et l'IGF-I les IGFs et bloquant leur action) dans le liquide folliculaire (MONNIAUX et al. 1999).

In vitro ; la FSH et l'IGF-1 empêchent l'apoptose des cellules de la granulosa dans les follicules antraux de rate.

Des facteurs locaux exercent une action directe (anti-apoptotiques: IGF, laminine; pro-apoptotiques: Fas ligand) ou indirecte (anti-apoptotiques: P4, interleukine-1; pro-apoptotiques: follistatine, IGFBPs) sur la survie des cellules de granulosa.



**FIGURE 6 :** Changements morphologiques caractéristiques de l'atrésie des follicules à antrum (d'après MONNIAUX et al, 1999)

## **IV.1 Classification de l'atresie**

### **IV.1.1 Follicules sains ou non-atrésiques (NA)**

Le follicule est considéré comme sain lorsqu'un présente une granulosa bien organisée (de 10 à 15 couches de cellules) et quelques cellules fragmentées ou pycnotiques avec une membrane basale continue.

Les cellules basales de la granulosa sont cylindriques et l'épaisseur de la thèque interne est inférieure à celle de la granulosa. La thèque interne à une orientation parallèle à la membrane basale et l'antre ne renferme aucun débris cellulaires.

### **IV.1.2 Atrésie primaire (niveau 1 de l'atrésie: A1)**

Les cellules de la granulosa du follicule classé comme atrésie primaire sont lâches et elles ont perdu leur apparence granuleuse.

La limite de la granulosa est irrégulière, l'antre contient des fragments cellulaires, l'épaisseur de la granulosa varie entre 7 et 10 couches de cellules contenant des noyaux pycnotiques. La thèque interne s'épaissit.

### **IV.1.3 Atrésie secondaire (niveau 2 de l'atrésie A2)**

La granulosa du follicule en atrésie secondaire a perdu plus de 50% de ses cellules. Ces cellules sont pycnotiques et se retrouvent dans le liquide folliculaire.

La granulosa renferme 4 à 5 couches de cellules, souvent très désordonnées. La membrane basale est habituellement absente, et on note la présence de nombreuses pycnoses dans les cellules de la granulosa. La thèque interne est deux à trois fois plus épaisse que la granulosa.

### **IV.1.3 Atrésie tertiaire ou très avancée (niveau 3 de l'atrésie: A3)**

A ce stade, le follicule n'a plus de cellules cylindriques basales et la lame basale est habituellement absente, et on note la présence de nombreuses pycnoses dans les cellules de la granulosa. La thèque interne est deux à trois fois plus épaisse que la granulosa.

### **IV.1.4 Atrésie très avancée ou luteinisante (niveau 4 de l'atrésie: A4)**

La granulosa du follicule en atrésie très avancée est presque complètement absente. Elle est réduite à un cordon de cellules. Par contre, les cellules du cordon ressemblent à des cellules lutéales. Elles sont grosses et leur cytoplasme est abondant.

## **CHAPITRE VI : L'apoptose**

## **VI Apoptose ovocytaire**

### **VI.1 Pendant la vie fœtale :**

Plus de deux tiers des ovocytes dégèrent avant ou peut après la naissance, principalement au stade pachytène de la prophase méiotique. Il est présent établi que, dans le cordons ovigères et les follicules primordiaux, les ovocytes meurent par un mécanisme d'apoptose.

Deux hypothèses sont avancées pour expliquer cette perte massive de cellules germinales pendant la vie fœtale.

- Un contrôle de qualité, se traduisant par l'élimination des ovocytes contenant des anomalies méiotiques d'appariement ou de recombinaison chromosomiques. De telles anomalies sont observables dans les ovocytes d'ovaires fœtaux (TAY et RITCHER, 2001 ; BARLOW et al ; 1998 ; DRIANCOURT et al ; 2000)

- Un environnement limitant en facteurs de survie. In vivo chez la souris, la diminution d'expression du Stem-Cell-Facteur (SCF) conduit à une diminution du nombre de follicules primordiaux à la naissance (MORITA et al ; 2001). In vitro, l'addition de SCF, de LIF (Leukemia Inhibitory Factor) et de IGF (Insulin-Growth Factor) empêche l'apoptose des ovocytes dans les ovaires fœtaux (MORITA et al ; 1999). Ce mécanisme d'apoptose par déficit de facteurs de survie pourrait être impliqué dans la dégénérescence des follicules primordiaux pendant la vie fœtale. En effet, la population de follicules primordiaux nouvellement formés dans les cordons ovigères est très hétérogène, chaque follicule primordial pouvant posséder de 3 à 57 cellules de granulosa disposées autour de l'ovocyte (McNATTY et al ; 2000). Ce nombre de cellules détermine la concentration en SCF au niveau de ses récepteurs c-kit présents sur la membrane de l'ovocyte. Les ovocytes des follicules déficitaires en cellules de granulosa sont voués à l'apoptose.

### **VI 2 pendant la vie post natal**

Après la naissance et tout le long de la vie femelle, les ovocytes présents dans les follicules primordiaux, primaires et secondaires sont susceptibles de dégérer par le processus d'apoptose. En revanche, l'atrésie des follicules à antrum est initiée par l'apoptose des cellules de granulosa. Dont son ovocyte entouré par son cumulus ne dégère que dans un stade tardifs de l'atrésie.

L'apoptose nécessite la régulation de certains gènes spécifiques, tels que Bcl-2, BAX, Bcl-x ainsi que des membres de la famille des caspases (GUTHRIE et GARRETT, 2001 ; TILLY et al ; 1995).

## **CHAPITRE VII : les différentes races de brebis**

## LE CHEPTEL OVIN LOCAL

### I- Introduction

Le cheptel ovin local, de par son effectif est l'une des ressources en viande la plus importante en Algérie. Cet effectif est estimé en 1999 à 18 millions de tête, dont près de 10 millions de reproductrices (MAP, 2001). Ce cheptel est inégalement réparti sur le territoire national dont 75% se retrouve dans la steppe. Il se caractérise par une faible production qui est lié à son aspect extensif et aux conditions du milieu car il est dépendant de la végétation naturelle.

### II- Ethnologie des populations ovines algérienne

Le cheptel ovin est représenté par plusieurs races locales principales telles que la race Arabe Blanche dite race Ouled Djellal, la race Hamra ou race Béni-Ighil et la race Rumbi. Cependant, on retrouve d'autres races dites secondaires représentées par la race Berbère à la laine zoulaï, la race Barbarine de Ouled Souf, la race D'men et la race Targuia-Sidaou.

#### II-1 les races locales principales

##### a) La race Ouled Djellal

C'est la plus importante des races ovines algérienne et constitue près de la moitié de l'effectif ovin. C'est une race résistante aux zones arides, elle supporte la marche sur de longues distances, elle s'adapte aux différents pâturages des hauts plateaux, de la steppe et des parcours sahariens. Cependant, cette race craint les grands froids.



Figure 7 : Brebis de la race Ouled Djellal

## **PARTIE EXPERIMENTALE**



## LE CHEPTEL OVIN LOCAL

### I- Introduction

Le cheptel ovin local, de par son effectif est l'une des ressources en viande la plus importante en Algérie. Cet effectif est estimé en 1999 à 18 millions de tête, dont près de 10 millions de reproductrices (MAP, 2001).

Ce cheptel est inégalement réparti sur le territoire national dont 75% se retrouve dans la steppe. Il se caractérise par une faible production qui est lié à son aspect extensif et aux conditions du milieu car il est dépendant de la végétation naturelle.

### II- Ethnologie des populations ovines algérienne

Le cheptel ovin est représenté par plusieurs races locales principales telles que la race Arabe Blanche dite race Ouled Djellal, la race Hamra ou race Béni-Ighil et la race Rumbi. Cependant, on retrouve d'autres races dites secondaires représentées par la race Berbère à la laine zoulaï, la race Barbarine de Ouled Souf, la race D'men et la race Targuia-Sidaou.

#### II-1 les races locales principales

##### a) La race Ouled Djellal

C'est la plus importante des races ovines algérienne et constitue près de la moitié de l'effectif ovin. C'est une race résistante aux zones arides, elle supporte la marche sur de longues distances, elle s'adapte aux différents pâturages des hauts plateaux, de la steppe et des parcours sahariens. Cependant, cette race craint les grands froids.



Figure 7 : Brebis de la race Ouled Djellal

Cette race présente trois variétés principales qui diffèrent par la taille et leurs aptitudes :

- Type Laghouat – Chellala- Targuine (Oued Touil) Boghari : c'est la variété la plus petite de taille à laine très fine.
- Type du Hodna : Ouled Nail- Djelfa- Sidi Aissa- Boussaâda- M'sila- Sétif- Ain M'lila et Ain Beida : c'est le type le plus lourd, il se rapproche de la race Ile de France et c'est le plus recherché des éleveurs. Il est élevé dans toutes les exploitations céréalières des hauts plateaux.
- Type Ouled Djellal- Zibans- Biskra- Touggourt : c'est un mouton longiligne caractérisé par des pattes hautes et adapté au grand nomadisme. C'est le type de mouton marcheur. C'est le mouton des tributs nomades du piémont sud de l'Atlas Saharien.

b) La race Hamra dite Beni-Ighil

De par son effectif, c'est la deuxième race ovine en algérie. Sa répartition géographique s'étend du Chotte Chergui à la frontière marocaine. C'est une race de petite taille à ossature fine et aux formes arrondies, la tête et les pattes sont rouges acajou foncé et la toison blanc cassé. Cette race résiste aux froids et aux vents glacés.



**Figure 8** : Brebis de la race Hamra dite Beni Ighil

### c) La race Rumbi

La race Rumbi a les mêmes caractéristiques que la race Arabe Blanche Ouled Djellal sauf qu'elle a les membres et la tête fauves. C'est une race montagnarde de l'Atlas saharien, elle est robuste, les pattes sûres, les sabots durs et les cornes ont énorme chez les béliers. (CHELLIG, 1992). Cette race se répartie entre Tiaret, Sougueur, Djebel Amour, et Khenchela.

Le mouton de la race Rumbi est un animal bien adapté à la marche, il est capable de parcourir de grandes distances au cours de la transhumance. Il est également bien adapté aux sols rocaillieux sec, au sol de montagne de l'Atlas saharien avec un climat sec et chaud en été, froid avec gelée en hivers



**Figure 9** : Brebis de la race Rumbi

Selon CHELLIG (1992) la puberté chez l'agnelle se manifeste entre 10 et 11 mois. L'apparition des premières chaleurs chez les agnelles ne signifie pas pour autant qu'elle puissent être fécondées ; il faut que l'agnelle atteigne 65 à 75% de leur poids corporel adulte. L'âge minimum à la première saillie se situe entre 17 et 18 mois. A cet âge, l'agnelle pèse entre 26 et 30 kg, cela correspond au 2/3 de son poids adulte.

L'agnelle Rumbi qui est une race dessaisonnée, ne présente pas de période d'intensité sexuelle, la saison sexuelle étant très longue et présente deux périodes de lutte allant de septembre à décembre ( agnelage d'hivers) et d'avril à juillet ( agnelage de printemps) (CHELLIG, 1992). La période d'anoestrus saisonnier chez la race Rumbi s'observe en hivers .cependant cet anoestrus est relatif puisque l'activité ovarienne se poursuit pendant l'hivers pour certains sujets avec des saillies fécondantes (CHELLIG, 1992).

## II-2 Les races locales secondaires

- La race Berbère à laine zoulai : c'est une race des montagnes de l'Atlas Tellien de l'Afrique du Nord, elle est de petite taille, présente une laine mécheuse blanc brillant (Azoulai). Cette race se confond avec celle de Beni Ighil dont elle a les caractéristiques générales sauf la coloration et la laine qui est mécheuse chez la berbère.
- La race Barbarine (Oued Souf) : c'est un mouton barbarin à queue adipeuse apparenté au mouton barbarin tunisien et asiatique. On la rencontre à la frontière tunisienne dans l'erg oriental (Oued Souf). Cette race est remarquablement adaptée au désert de sable et aux grandes chaleurs d'été. Elle utilise très bien les pâturages maigres des dunes de l'erg oriental. Elle a une puissance digestive remarquable et elle s'engraisse rapidement.



Figure 10 : brebis de la race barbarine

- La race D'men : cette race a pris une grande importance ces dernières années à cause de sa prolificité élevée, sa précocité et sa faculté de donner des naissances double couramment, parfois elle donne cinq agneaux en une seule portée. Elle est destinée à augmenter par croisement la prolificité des races à viande. C'est une race saharienne répandue dans les oasis de l'Ouest algérien et du Sud marocain

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

# **INTRODUCTION**

Dans notre étude nous avons utilisé deux méthodes pour bien déterminer l'ovaire chez la brebis pré-pubère de la race Rumbi qui sont :

- Méthode histologique pour laquelle on a prélevé des ovaires de 20 brebis pré-pubère de la race Rumbi d'où on a pu obtenir 120 coupes.

Les coupes ont été préparées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie Franz Fanon (Blida)

- Méthode cytologique de 20 brebis pré-pubère de la race Rumbi dont on a prélevé les ovaires et obtenu 40 coupes préparées au niveau du laboratoire de l'université Saad Dahlab

## **I. MATERIEL**

### **I.1 Echantillons biologiques :**

Après examen anté-mortem pour la détermination de l'âge des brebis de race Rumbi, les ovaires sont prélevées sur les carcasses et mis dans piluliers contenant le fixateur approprié.

### **I.2 Produits, réactifs et appareillage utilisés**

Dans cette étude nous avons utilisé certains produits et réactifs spécifiques pour les études histologiques, immunohistochimiques et ultrastructurales :

- Histologie : alcool (degrés alcoométriques allant de 70° à 100°), formol à 10%, toluène, paraffine et des colorants tels que l'hématéine et l'éosine ainsi que le trichrome.
- Cytologie : glutaraldéhyde à 6%, tampon phosphate, tétr oxyde d'osmium, oxyde de propylène, résine époxy (Araldite et Epon), citrate de plomb et acétate d'uranyl.

Pour cette étude nous avons utilisé un microtome de marque (Leica), un ultramicrotome de marque LKB III, un stéréomicroscope (SV11 ZEISS) et un microscope électronique à transmission de marque PHILIPS du plateau de la microscopie électronique du CNRS de l'université Paul Sabatier de Toulouse.



**Figure 12 : Stéréomicroscope SV11-ZEISS**



## **II. METHODES**

### **Préparation des lames pour l'étude histologique :**

Le traitement des fragments d'ovaires en vue d'obtenir des blocs de paraffine destinés à ces études ont subi les mêmes étapes à savoir la fixation, la déshydratation, l'inclusion à la paraffine. Cependant, après l'obtention de coupes et leur étalement sur les lames, le protocole sera spécifique à chaque technique.

### **Choix des méthodes :**

#### **II.1 METHODE HISTOLOGIQUE**

##### **1. Préparation des lames :**

Afin de pouvoir comparer plus facilement nos résultats à ceux obtenus par différents auteurs, nous avons retenus pour l'étude des ovaires de brebis les méthodes histologiques les plus fréquemment utilisées. Cette méthode a été faite au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital Franz Fanon (Blida)

##### **a) Fixation**

La fixation est destinée à immobiliser les structures cellulaires et tissulaires, dans un état aussi proche que possible de leur état vivant. Ce temps si simple en apparence puisqu'il consiste à immerger le prélèvement dans le liquide fixateur choisi, est en réalité un des plus importants, sinon le plus important de la technique microscopique.

Un bon fixateur doit avoir une pénétration rapide et homogène, ne donner aucune réaction des tissus, révéler les organites intra-cellulaires et les structures latentes, éviter le déplacement des constituants solubles, tels que le glycogène, ménager l'activité de certaines enzymes, et permettre en principe de retrouver les éléments visibles sur les colorations vitales, en un mot ne pas créer d'artefact et assurer du tissu et des cellules, une conservation et une image fidèle.

Les fixateurs les plus utilisés sont à base d'acide picrique et de formol; ils fixent de façon homogène les pièces dont la taille est relativement importante ; ces fixateurs possèdent un bon pouvoir de pénétration

- Picroformol ou liquide de BOUIN

- Le formol

Le formol est sans doute de tous les fixateurs, le plus utilisé, car il réunit à la fois les propriétés d'un liquide fixateur et d'un liquide conservateur. Doué d'un grand pouvoir de pénétration, le formol fixe et durcit rapidement les tissus, ne déshydratant pas, il laisse aux tissus leur teneur en eau et partant ne les déforme pas. En revanche c'est un médiocre fixateur histologique, ne coagulant que lentement les albumines du cytoplasme et du noyau.

### b) Inclusion

Après un lavage à l'eau courante d'une durée de 12 à 24 heures selon le type de fixateurs, les fragments d'ovaires sont déshydratés par l'alcool éthylique, par palier croissant de degrés alcoométrique, puis plongés dans deux bains successifs de toluène. Ensuite les pièces sont imprégnées puis inclus dans du « Paraplast » avant d'être coupées au microtome à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur.



**Figure 13 :** Blocs de paraffine



**Figure 14 :** Microtome LEICA

## 2. La coloration

Après étalement qui se fait dans un bain Marie, le collage et le séchage des coupes sur des lames de verres, elles sont déparaffinées et hydratées avant la coloration.

Lames ainsi confectionnées serviront à l'étude histologique et immunohistochimique.

Les lames devant servir à l'étude sont colorées selon la technique de MARTOJA et MARTOJA (1967).

La coloration crée un contraste artificiel qui permet de différencier les structures histologiques. Plusieurs colorants entrent en jeu, ils se fixent respectivement sur les noyaux, le cytoplasme et sur les structures extracellulaires.

La coloration des noyaux est obtenue par les laques d'hématoxylines ou par l'Azocarmin G, les autres structures sont colorées par des colorants généralement acides ; ces colorants entrent en

compétition d'où l'existence de temps de différenciation qui permet la création d'un équilibre entre les différents colorants et de faire varier la teinte des structures.

Dans cette étude nous avons utilisé deux types de colorations topographiques :

- Trichrome en un temps
- Hématéine éosine

La coloration à l'hématéine éosine est réalisée par un automate et le trichrome d'une façon manuelle.



**Figure 15 :** Automate de coloration

## **II.2.METHODES CYTOLOGIQUES :**

Pour l'étude ultrastructurale des ovaires de la brebis de la race Rumbi, au niveau du laboratoire de boiologie de l'université Saad Dahlab (Blida) nous avons pus réalisé en utilisant la technique de double fixation glutaraldéhyde - tétroxyde d'osmium, cela nous a permis de fixer de façon homogène les structures contenues dans les portions prélevées.

Les ovaires prélevés sur les carcasses sont immédiatement déposés dans la glace pour arrêter les réactions enzymatiques.

### **a) la fixation**

Les fragments sont immergés dans un bain de fixation à base de glutaraldéhyde à 6% (2 volumes) dans du tampon phosphate à 0,4 M (1 volume) et solution aqueuse de NaCl à 7% (1 volume) pendant 2 heures dans la glace.

Les solutions utilisées se composent comme suit :

- Fixateur
  - glutaraldéhyde en solution aqueuse à 6% 2 volumes
  - tampon phosphate à 0.4 M 1 volume
  - solution aqueuse de NaCl à 7% 1 volume
  
- Liquide de lavage
  - Tampon phosphate à 0.4 M 01 volume
  - NaCl à 4% 01 volume
  
- Post fixation
  - Tetroxyde d'osmium à 2% 02 volumes
  - Tampon phosphate à 0.4 M 01 volume
  - NaCl à 10% 01 volume

Les ovaires sont ceux d'un mammifère, nous avons donc utilisé un fixateur dont l'osmolarité est proche de celle du sang. Le mélange retenu à une osmolarité de 420mOs, cette hyperosmolarité serait selon FAHIMI et DROCHMANS (1965) favorable à une meilleure fixation.

Les fragments d'ovaires préalablement bien découpés en petits morceaux sont plongés rapidement dans le mélange fixateur dont la température se situe entre 0° et 4°C.

Une heure après, et pendant 10 minutes on procède au lavage avec une solution contenant un mélange égal de solution saline et de tampon phosphate à 0.4 M. Les bains sont renouvelés trois fois.

La post fixation d'une durée de une heure à 4°C (pour une bonne conservation du tetroxyde d'osmium) est réalisé dans le mélange post fixateur.

Les pièces sont ensuite lavées au tampon pendant 15minutes. Cette opération est suivie d'une déshydratation par l'alcool éthylique et l'oxyde de propylène.

- alcool 50°	5mn
- alcool 70°	5mn
- alcool 80°	5mn
- alcool 95°	10mn
- alcool 100°	10mn
- oxyde de propylène	10mn
- oxyde de propylène	10mn

#### **b) Substitution, imprégnation et inclusion**

La substitution consiste en un remplacement progressif de l'oxyde de propylène par une résine, dans notre étude nous avons utilisé de l'Epon selon HAYAT (1970).

La substitution est réalisée en trois étapes d'une durée de 12heures chacune.

- Substitution I : On prépare un mélange contenant de la résine Epon et de l'oxyde de propylène dans les proportions 1/3 et 2/3
- Substitution II : la proportion de résine est augmentée et le mélange contient ½ de résine et ½ d'oxyde de propylène.
- Substitution III : le mélange de substitution contient plus de résine que d'oxyde de propylène dans les proportions 2/3 et 1/3.

Après la substitution III, on imprègne les pièces dans de la résine pure à température ambiante ; pour obtenir une bonne pénétration de la résine, l'opération est menée sous vide et les bains de 6heures sont renouvelés trois fois.

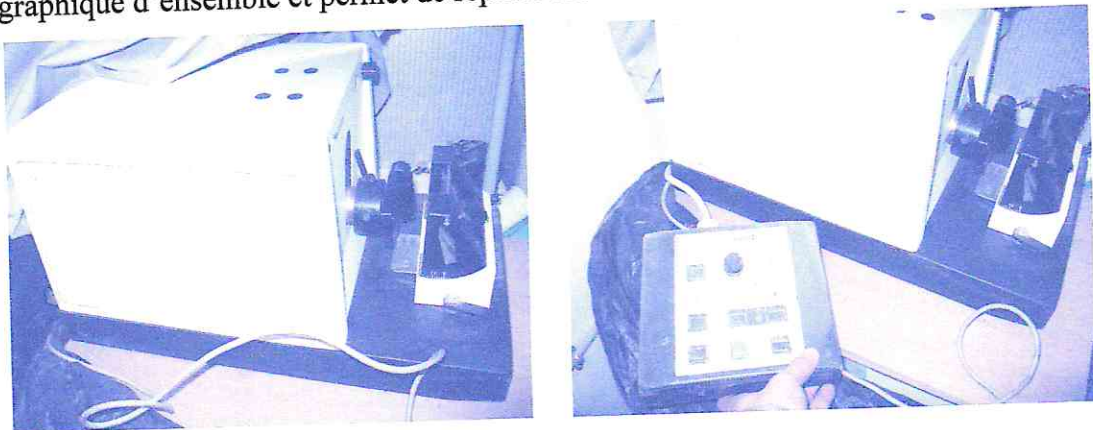
Les pièces sont ensuite incluses dans de la résine pure à l'intérieur des capsules BEEM ou dans des moules à blocs plats pour permettre une bonne orientation des fragments d'ovaires fixés.



**Figure 16 : Blocs de résine**

**a) Confection, coloration et observation des coupes**

Les structures recherchées à savoir les différents types de follicules sont disséminées dans du tissu conjonctif, leur disposition ne nous permet pas de faire directement des coupes fines, un repérage préalable des follicules est indispensable. Des coupes semi-fines de  $1\mu\text{m}$  d'épaisseur sont réalisées sur un ultramicrotome de type LKB III avec des couteaux de verre, elles sont ensuite au bleu de toluidine (TRUMP et al, 1961). Cette coloration donne une vue topographique d'ensemble et permet de repérer les follicules dans les blocs d'inclusion.



**Figure 17 : Ultramicrotome LKB III**

Une fois les follicules identifiés, on réalise des coupes ultrafines qui sont recueillies sur des grilles de 100mesh revêtues d'un film de collodion. Les coupes sont contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb selon REYNOLDS (1963). Cependant, certaines coupes n'ont pas

été contrastées et sont observées directement au microscope électronique car elles ont été fortement contrastées par le tetroxyde d'osmium.

Les coupes sont observées à l'aide d'un microscope électronique à transmission sous une tension accélératrice de 120Kvolts.

## **RESULTATS**



## **I. HISTOLOGIE**

Dans une coupe d'un ovaire entier de brebis pré-pubère de la race Rumbi on remarque une zone périphérique contenant des structures arrondies de différentes tailles : Les follicules ovariens (Planche I figure 1,2)

Chaque follicule est constitué d'un ovocyte (cellule pouvant évoluer en gamète femelle) entourée de cellules folliculaires

Les petits follicules situés à la périphérie de l'ovaire qui sont très nombreux formés d'un ovocyte de petite taille entouré de quelques cellules folliculaires sont des follicules primordiaux (Planche I figure 3, 4)

Ces follicules ensuite deviennent de plus en plus gros en allant vers le centre de l'ovaire par augmentation de taille de l'ovocyte et le nombre de cellules folliculaires.

On distingue :

Les follicules primaires :

L'ovocyte plus volumineux est entouré d'une couche régulière de cellules folliculaires qu'on appelle les cellules de la granulosa. (Planche I figure 3,4)

Les follicules secondaires :

L'ovocyte est encore plus gros et les cellules de la granulosa forment un massif de plus en plus épais de deux à plusieurs couches (Planche II figure 5,6)

Une couche amorphe apparaît autour de l'ovocyte qui est la zone pellucide qui est elle-même entourée par une couche de cellule dite corona radiata (Planche II Figure 7,8)

Deux enveloppes cellulaires entourant la lame basale du follicule : (Planche III figure 9)

Une thèque interne formée de cellules glandulaires

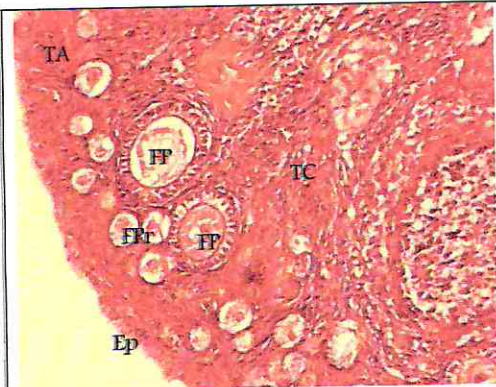
Une thèque externe formée de cellules aplaties

Petit à petit les cellules de la granulosa occupent tout le follicule formant ainsi un follicule plein ou la zone pellucide est plus distincte (Planche III figure 10, 11, 12) et (Planche VI figure 13)

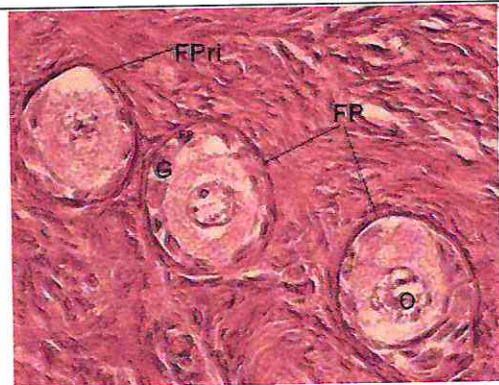
Les follicules cavitaires ou mur :

L'ovocyte a pu augmenter de volume mais la granulosa est creusée d'une cavité (Planche VI figure 14) la cavité grandit et c'est l'antrum qui se remplit de liquide folliculaire (Planche VI figure 15, 16) et (Planche V figure 17)

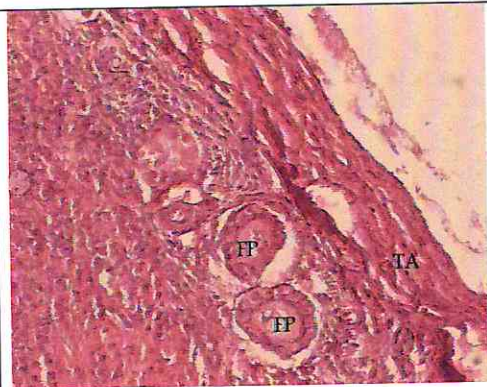
# Planchel



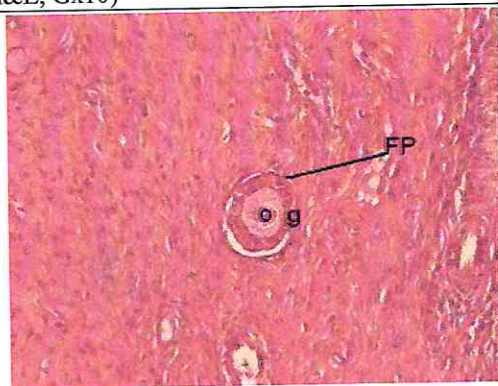
**Figure1 :** aspect d'un ovaire de brebis  
**Légende :** FPri : follicule primordial, FP : follicule primaire, TC : tissu conjonctif, TA : tunica albugina, Ep : épithélium ovarien. (Trichrome, Gx10)



**Figure2 :** aspect d'un ovaire de brebis présentant des follicules primordiaux et follicules primaires  
**Légende :** FPri : follicule primordiale, FP : follicule primaire, G : granulosa, O : ovocyte. (H&E, Gx10)



**Figure3 :** Aspect d'un ovaire de brebis présentant des follicules primaires.  
**Légende :** FP : follicule primaire, TA : tunica albugina (H&E Gx10)

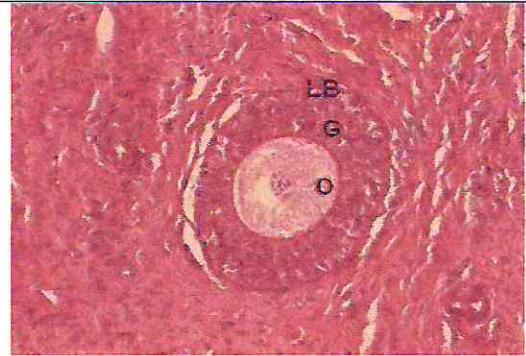


**Figure4 :** aspect d'un ovaire de brebis présentant des follicules primaire  
**Légende :** FP : follicule primaire, O : ovocyte, G : granulosa (Trichrome, Gx10)

## Planche II



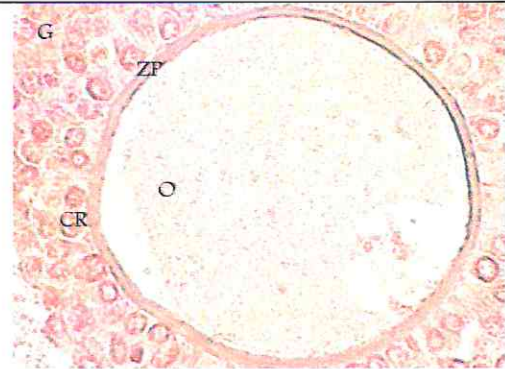
**Figure5 :** aspect d'un ovaire de brebis présentant des follicules secondaire  
**Légende :** FP : follicule primaire, G : granulosa, O : ovocyte. (H&E, Gx10)



**Figure6 :** aspect d'un follicule plein ovaire de brebis présentant un follicule plein  
**Légende :** LB : lame basal, G : granulosa, O : ovocyte. (H&E, Gx10)

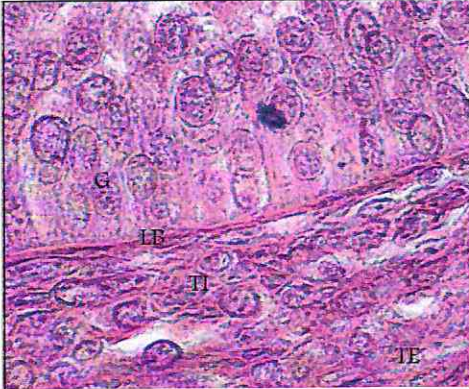


**Figure7 :** Aspect d'un follicule plein.  
**Légende :** G : granulosa, CR : corona radiata, ZR : zone pellucide, N : noyau (H&E, Gx40)

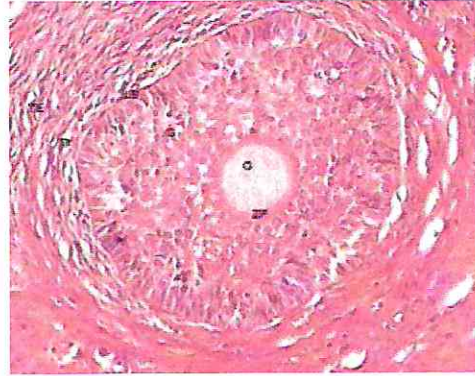


**Figure8 :** Aspect détaillé de l'ovocyte  
**Légende :** G : granulosa, CR : corona radiata, ZP : zone pellucide, O : ovocyte (Trichrome, Gx100)

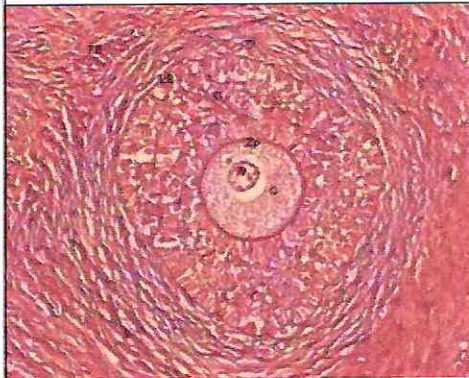
## Planche III



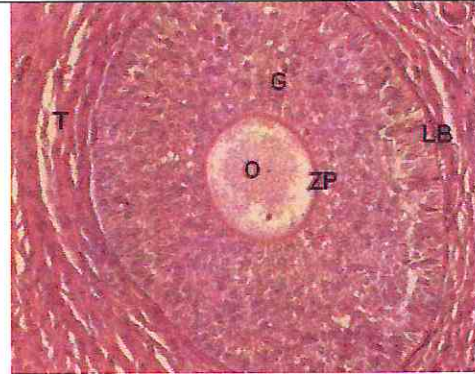
**Figure 09** : aspect détaillé des deux thèques  
**Légende** : G : granulosa, TE : thèque externe, TI : thèque interne, LB : lame basal, G : granulosa (H&E, Gx10)



**Figure 10** : aspect d'un follicule plein  
**Légende** : TE : thèque externe, TI : thèque thèque interne, LB : lame basal, G : granulosa, ZP : zone pellucide, O : ovocyte (H&E, Gx10)

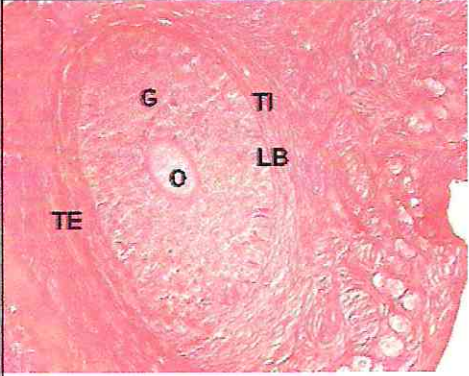
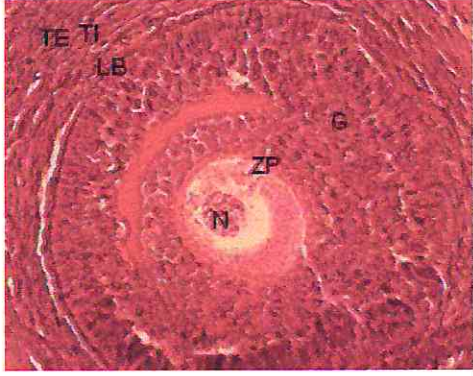
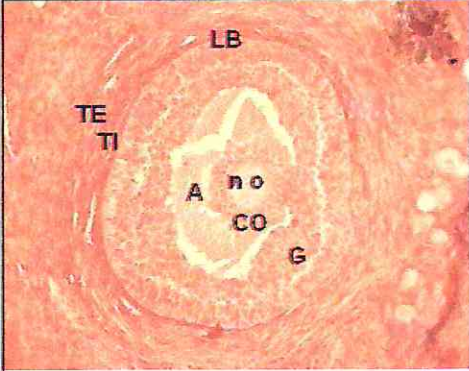
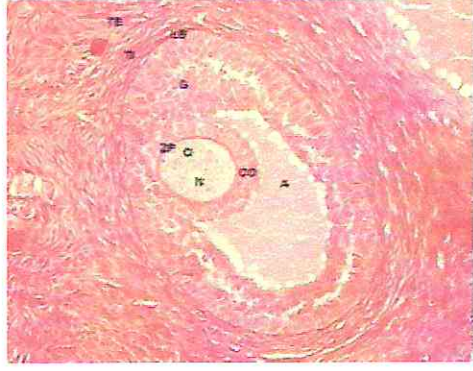


**Figure 11** : aspect d'un follicule plein  
**Légende** : TE : thèque externe, TI : thèque interne, LB : lame basal, G : granulosa, ZP : zone pellucide, O : ovocyte, N : noyau (H&E, Gx10)



**Figure 12** : aspect d'un follicule plein  
**Légende** : T : thèque, TE : thèque externe, TI : thèque interne, LB : lame basal G : granulosa, ZP : zone pellucide, O : ovocyte (H&E, Gx10)

## Planche V

	
<p><b>Figure13 :</b> aspect d'un follicule plein  <b>Légende :</b> T : thèque, TE : thèque externe, TI : thèque interne, LB : lame basal G : granulosa, ZP : zone pellucide, O : ovocyte (H&amp;E, Gx10)</p>	<p><b>Figure14 :</b> aspect d'un follicule cavitaire  <b>Légende :</b> TE : thèque externe, TI : thèque thèque interne, LB : lame basal, G : granulosa, ZP : zone pellucide, O : ovocyte, N : noyau (H&amp;E, Gx10)</p>
	
<p><b>Figure 15 :</b> aspect d'un follicule cavitaire  <b>Légende :</b> TE : thèque externe, TI : thèque interne, LB : lame basal, A : antrum, CO : cumulus oophorus, G : granulosa ; O : ovocyte, n : noyau. (H&amp;E, Gx10)</p>	<p><b>Figure16 :</b> aspect d'un follicule cavitaire  <b>Légende :</b> TE : thèque externe, TI : thèque interne, LB : lame basal, A : antrum, CO : cumulus oophorus, G : granulosa ; O : ovocyte, n : noyau, ZP : zone pellucide (H&amp;E, Gx10)</p>

Ce liquide devient de plus en plus abondant et refoule les cellules de la granulosa à la périphérie.

L'ovocyte porté par un massif de cellules qui est le cumulus oophorus la plus profonde couche du cumulus est la corona radiata (Planche V figure 18,19)

Les follicules atresies :


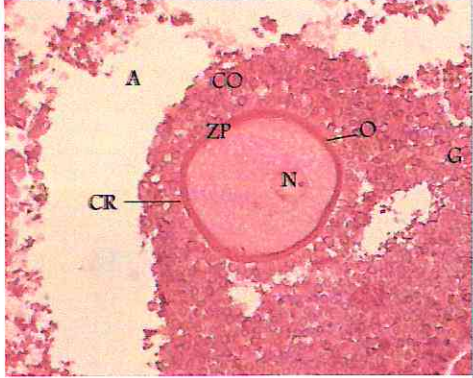
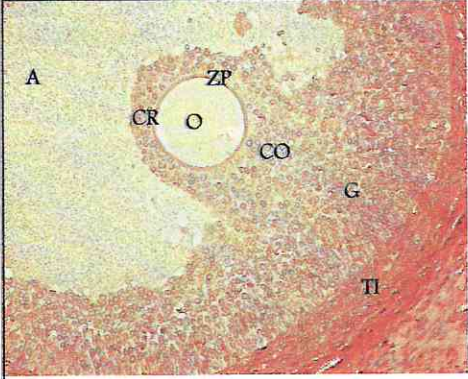

Les cellules la granulosa dans un follicule atresie ont perdues leur apparences granuleuse et la limite de la granulosa est irrégulière, l'antrum contiens des fragments cellulaires, l'ovocyte s'est dégénérée (Planche VII figure 20)

Ainsi que les deux thèques s'épaississent par rapport au granulosa (Planche VII figure 21, 22)

Dans un stade plus avancé on remarque l'absence de la lame basale et les cellules de la granulosa se retrouvent dans le liquide folliculaire dans des couches désordonnés (Planche VII figure 23)

Et dans un stade encore plus avancé la granulosa est presque complètement absente réduite à un cordon de cellule (Planche VII figure 24)

## Planche VI

	
<p><b>Figure17</b> : aspect d'un follicule cavitaire  <b>Légende</b> : TE : thèque externe, TI : thèque interne, LB : lame basal, A : antrum, CO : cumulus oophorus, G : granulosa ; O : ovocyte, n : noyau, ZP : zone pellucide (H&amp;E, Gx25)</p>	<p><b>Figure18</b> : aspect d'un follicule cavitaire  <b>Légende</b> : A : antrum, G : granulosa, CO : cumulus oophorus, CR : corona radiata, ZP : zone pellucide, O : ovocyte, N : noyau (Trichrome, Gx25)</p>
	
<p><b>Figure19</b> : aspect détaillé de l'ovocyte dans un follicule cavitaire  <b>Légende</b> : TI : thèque interne, G : granulosa, A : antum, CO : cumulus oophorus, CR : corona radiata, ZP : zone pellucide (Trichrome, Gx25)</p>	<p><b>Figure 20</b> : aspect d'un follicule au début de l'atrésie  <b>Légende</b> : G : granulosa, O : ovocyte (H&amp;E, Gx10)</p>

## **I.1 DISCUSSION**

Les follicules primordiaux représentent la réserve non-renouvelable de follicule pour la vie reproductive des mammifères (DRIANCOURT et al ; 1991), ils sont caractérisés par un ovocyte entouré par une seule couche de cellules épithéliales aplaties : les cellules de la granulosa (BYSCOV et LINTERN-MOORE, 1973).

Ces follicules se situent dans le cortex périphérique de l'ovaire (ZAMBONI, 1974) ces derniers commencent à prendre du volume ils se déplacent profondément à l'intérieur du cortex pour se développer en follicule primaire sous un mécanisme demeure inconnu (FORTUNE, 1994)

Les ovocytes des follicules primaires ont gagné plus de volume entourés d'un nombre suffisant de cellules de la granulosa (BRAW-TAL et YOSSEFI, 1997) et devenues cuboidales (HYTTEL et al ; 1997 ; RUSSE, 1983 ; VAN WEZEL et RODGERS, 1996)

Les follicules primaires à leur tour se développent en follicules secondaires qui se manifestent par plusieurs couches de cellules de granulosa de forme cubique, et la formation de la zone pellucide qui entoure l'ovocyte (BRAW-TAL et YOSSEFI, 1997)

De plus les cellules de thèques deviennent clairement identifiables à la face externe du follicule.

Le processus de développement se poursuit vers le stade de follicule tertiaire ou de De Graaf qui est composé par plusieurs couches de cellules de thèque, la formation d'un complexe ovocyte-cumulus et la corona radiata qui est constituée par la couche de cellules la plus profonde du cumulus oophorus qui s'invaginent à la surface de l'ovocyte pour traverser la zone pellucide et former des jonctions communicantes (HYTTEL et al ; 1989 ; LARSE et WERT, 1988)

La majorité des follicules sont voués à l'involution ou l'atrésie folliculaire (GORDON, 1994) elle est définie comme la régression du follicule jusqu'à sa disparition dans le stroma ovarien (THIBAUT et LEVASSEUR 2001)

Le premier signe observable d'atrésie se manifeste tout d'abord dans les cellules de la granulosa qui dégèrent pour entrer en apoptose et perdent leur activité sécrétoire (GARETT et GUTHRIE, 1997). La perte s'étend ensuite aux cellules de la thèque (DRIANCOURT et al. 1991 ; MAXON et al ; 1985)

Quant à l'ovocyte, il n'est affecté que pendant les dernières étapes de l'atrésie folliculaire (DRIANCOURT et al ; 1991)



## II. ULTRASTRUCTURE

Le follicule primordial :

L'ovocyte dans le follicule primordial est sphérique ou ovale est représenté par la cellule la plus grande du follicule, le nucléole est dense et occupe le centre de l'ovocyte entouré par quelque cellules folliculaires le tout nageant dans du cytoplasme (Planche I figure 1,2).

La cellule folliculaire dans ce stade est squamée ou squamo-cuboidale qui est la cellule de la granulosa (Planche I figure 3)

Le follicule primaire :

Le follicule primordial poursuit son développement pour devenir un follicule primaire ce développement constituer dans les organelles : Mitochondrie, réticulum endoplasmique granuleux et aussi les vacuoles lipidiques, l'ovocyte est entouré d'une membrane nucléaire (Planche I figure 4)

Et aussi dans le nombre des cellules de la granulosa et leurs formes qui est cuboidales et disposées dans une seule couche (Planche II figure 5).

Le follicule secondaire :

L'ovocyte est constitué d'organelles, qui sont de plus en plus nombreux comme l'appareil de Golgi qui est une suspension de la membrane endoplasmique qui entoure le noyau et le nucléole qui est plus volumineux et plus dense et aussi des mitochondries (Planche II figure 6).

Le tout entouré par plusieurs cellules de la granulosa qui forment deux couches (Planche II figure 7) et même le début de la formation des cellules de la thèque qui entoure le follicule de l'extérieur (Planche II figure 8)

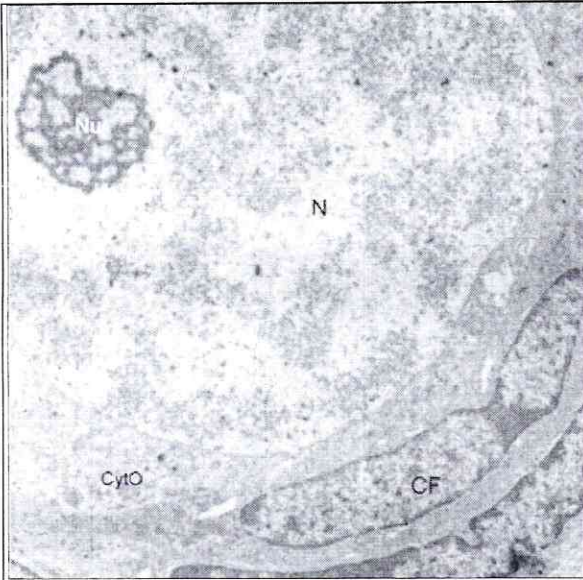
Les cellules de la granulosa continuent à se multiplier jusqu'à remplir le follicule qui est dit follicule plein (Planche III figure 9) les cellules de la thèque sont très distinct (Planche III figure 10)

Dans ce stade on remarque que les organelles sont situés à proximité de l'ovocyte (Planche III figure 11)

Que peut après ils se déplacent vers la périphérie ainsi que le nombre augmente, l'ovocyte est entouré par la zone pellucide (Planche III figure 12)

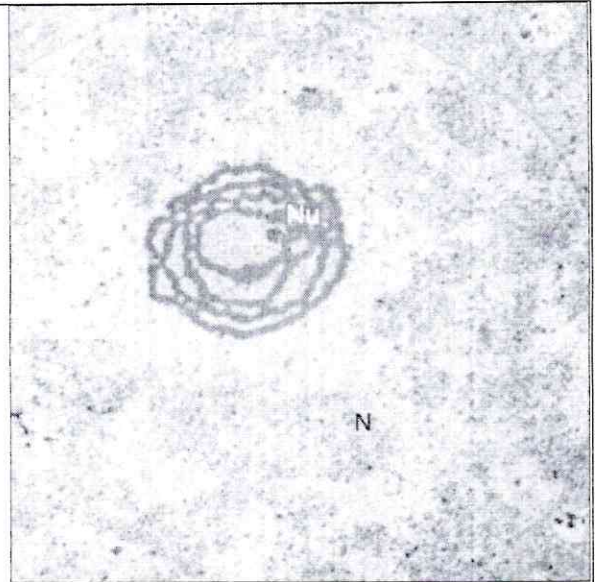
Les mitochondries sont de forme ovoïde qui peut indiquer le stade du follicule (Planche V figure 13).

# Planche I



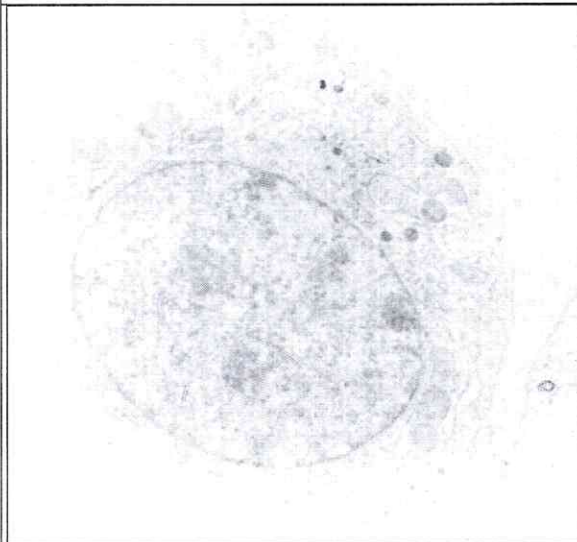
**Figure1 :** Aspect microscopique d'un follicule primordial

**Légende :** CF : cellule folliculeuse, cyto : cytoplasme, N : noyau, Nu : nucléole, (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 5000X



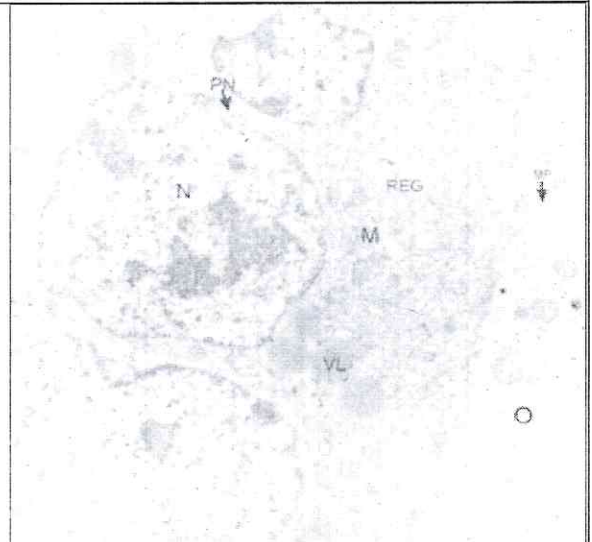
**Figure2 :** Aspect microscopique d'un ovocyte d'un follicule primordial

**Légende :** N : noyau, Nu : nucléole, (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 60000X



**Figure3 :** Aspect microscopique d'une cellule folliculaire dans un follicule primordial

**Légende :** O : ovocyte (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 12000X



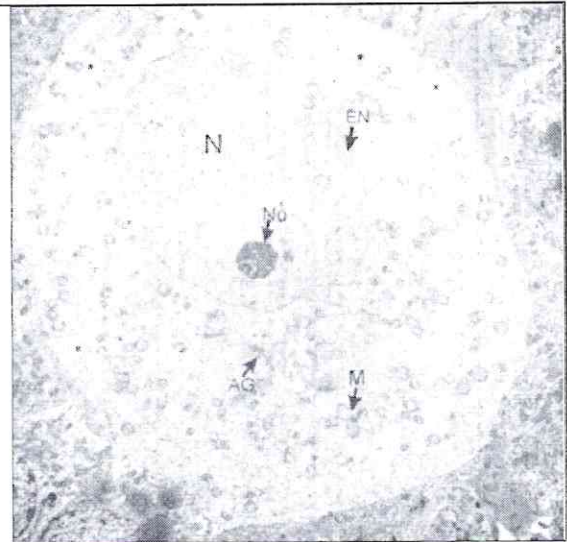
**Figure4 :** Aspect microscopique d'un follicule primaire

**Légende :** N : noyau, PN : poly nucléé, M : mitochondrie, VL : vésicule lipidique, REG : réticulum endoplasmique granuleux, MP : membrane plasmique, O : ovocyte, (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X

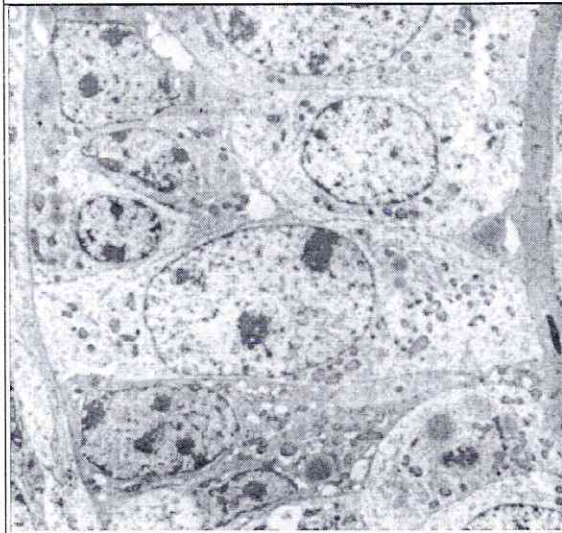
## Planche II



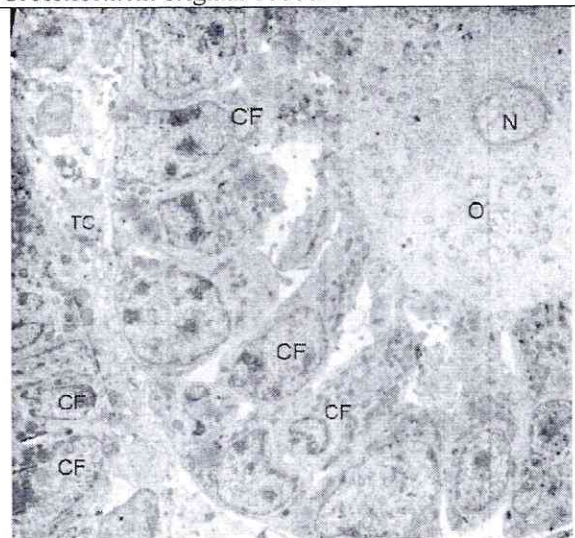
**Figure5 :** Aspect microscopique de cellules de la granulosa,  
(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X



**Figure6 :** Aspect microscopique d'un ovocyte d'un follicule primaire.  
**Légende :** M : mitochondrie, AG : appareil de Golgi, EN : enveloppe nucléaire, N : noyau, NU : nucléole, (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X

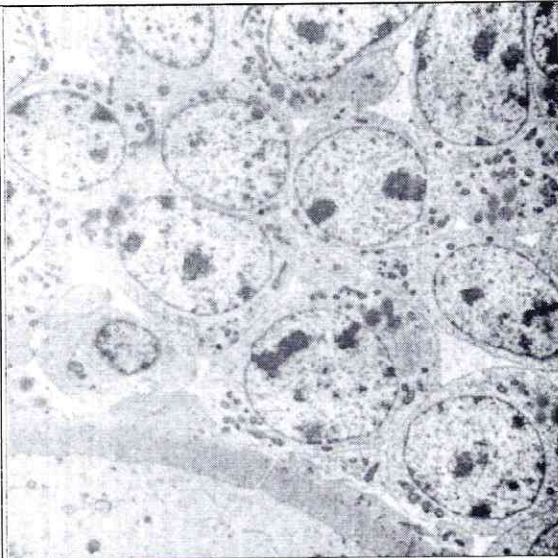


**Figure7 :** Aspect microscopique de cellules de la granulosa dans un follicule secondaire.  
(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X

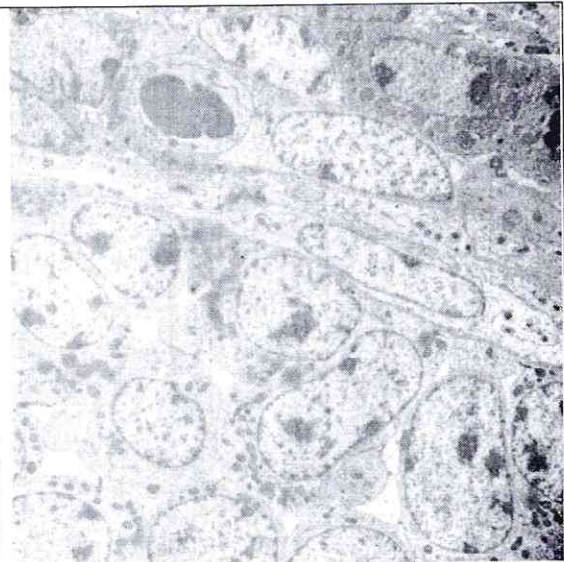


**Figure8 :** Aspect microscopique d'un follicule secondaire.  
**Légende :** TC : cellule de la thèque CF : cellule folliculaire, O : ovocyte, N : noyau,  
(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 4500X

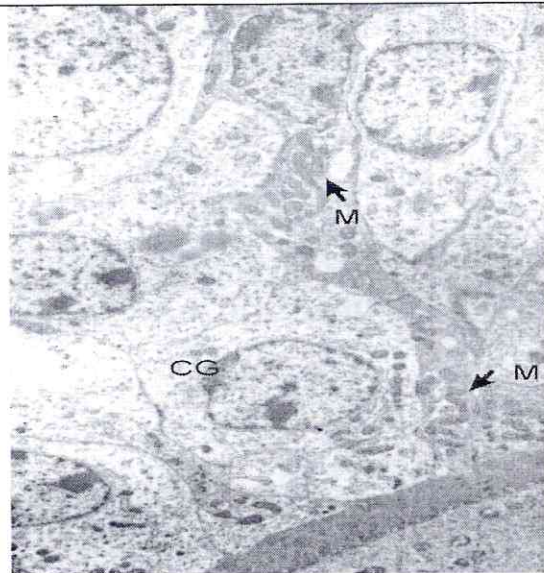
## Planche III



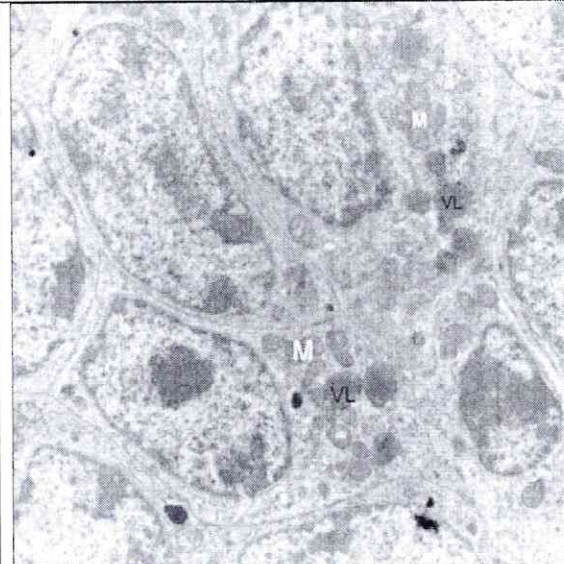
**Figure09** : aspect microscopique de cellules de la granulosa dans un follicule plein. (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 4000X



**Figure 10** : aspect microscopique de la thèque et de la granulosa dans un follicule plein. (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 4000X



**Figure 11** : aspect microscopique de cellules de la granulosa dans un follicule plein.  
**Légende** : M : Mitochondrie, CG : cellule de granulosa (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X



**Figure 12** : aspect microscopique d'un follicule plein  
**Légende** : M : Mitochondrie VL : vacuole lipidique (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 10000X

### Le follicule tertiaire

Ce follicule est de très grande taille et l'ovocyte est complètement entouré par la zone pellucide dans ce même follicule se creuse une cavité remplie par le liquide folliculaire « Antrum » qui s'est développé entre les cellules de la granulosa (Planche V figure 14)

Qui eux même se placent à la périphérie qui alignent sur le mur l'intérieur du follicule et les thèques alignent sur le mur extérieur sont très bien distinct (Planche V figure 15)

### Le follicule atresie

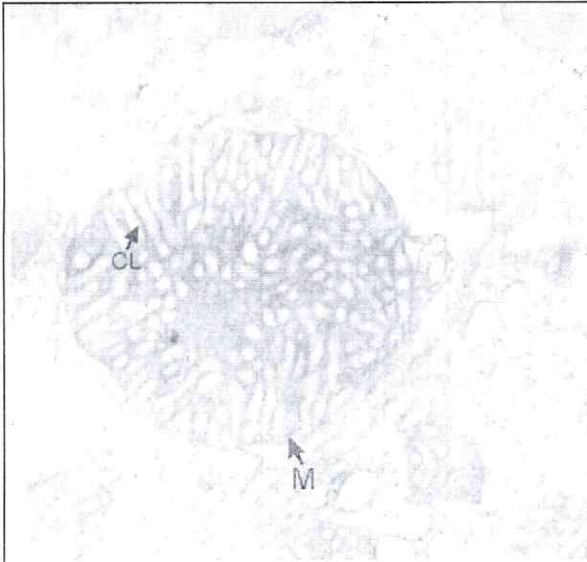
Le premier signe de l'atresie, est l'irrégularité de la forme des cellules de la granulosa qui deviennent pycnotique nageant dans du liquide folliculaire (Planche V figure 16)

Puis on l'augmentation de vacuoles lipidiques et les cellules de la granulosa sont maintenant des cellules atresies mais l'ovocyte a ce niveau reste intacte entouré de la zone pellucide (Planche VI figure 17)

Mais commence a dégénéré dans une étape plus avancée (Planche VI figure 18)  
Et les cellules atresies sont plus pycnotique et la thèque est devenue plus épaisse que les ces dernières (Planche IV figure 19)

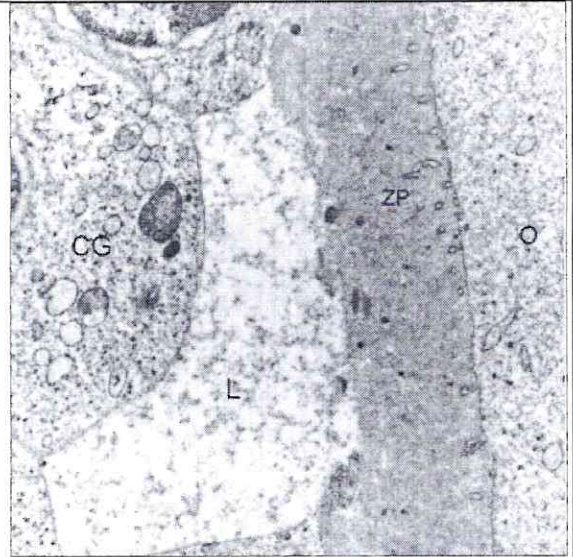
L'étape finale de l'atresie constitue a un codon de cellules (Planche VI figure 20)

## Planche V



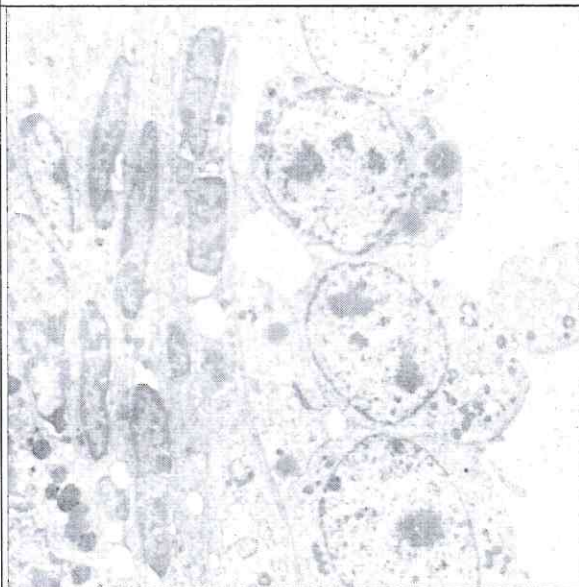
**Figure13 :** aspect microscopique de mitochondrie à crêtes lamellaires.

**Légende :** M : mitochondrie ; CL : crête lamellaire  
(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 55000X

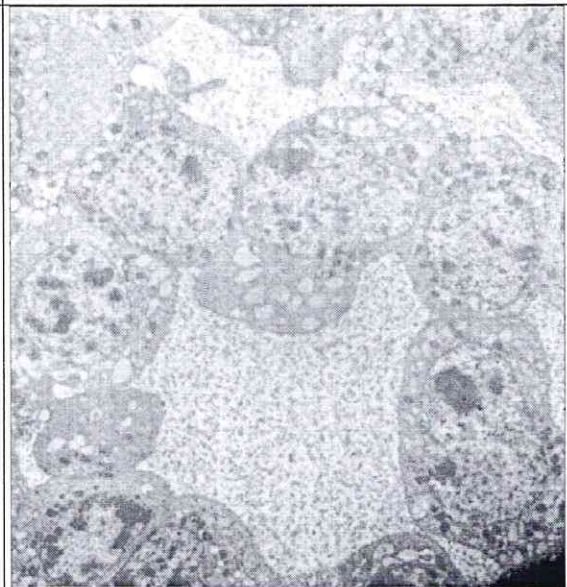


**Figure14 :** aspect microscopique d'un follicule tertiaire

**Légende :** CG : cellule de la granulosa, L : liquide folliculaire, ZP : zone pellucide, O : ovocyte  
(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 15000X



**Figure 15 :** aspects microscopiques d'un follicule tertiaire. (Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 3000X



**Figure16 :** aspect microscopique de cellules de la granulosa d'un follicule tertiaire  
(Glutaraldehyde/ tétroxyde d'osmium)  
Grossissement original 5000X