



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Étude des effets de l'immunisation active contre l'androstènedione sur l'activité ovarienne de la brebis Texel

Titeca, Eric

Award date:
1987

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

1987



FACULTÉS UNIVERSITAIRES N.D. DE LA PAIX
NAMUR
FACULTÉ DES SCIENCES

ETUDE DES EFFETS DE L'IMMUNISATION
ACTIVE CONTRE L'ANDROSTENEDIONE
SUR L'ACTIVITE OVARIENNE DE LA
BREBIS *TEXEL*

Mémoire présenté pour l'obtention du grade
de Licencié en Sciences
biologiques
par

TITECA Eric

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
Faculté des Sciences

rue de Bruxelles 61, B-5000 NAMUR

Tél. 081-22.90.61

Télex 59222 facnam-b

Téléfax 081-23.03.91

Etude de l'effet de l'androstènedione sur l'activité ovarienne de la brebis *Texel*.

TITECA Eric

Résumé.

L'utilisation d'un produit immunogène anti-androstènedione (*Fecundin* ®) permet d'augmenter le taux d'ovulation de 1,41 à 2,03 chez la brebis *Texel*.

Pour mieux cerner les mécanismes d'action d'une telle immunisation, nous avons, par endoscopies, suivi, pendant la durée d'un cycle oestral, l'évolution des processus ovariens chez sept brebis ayant reçu au préalable deux injections de *Fecundin* ® pour l'immunisation et deux injections d'*Estrumate* ® pour leur synchronisation. Ces brebis ont été comparées à des brebis n'ayant pas été immunisées.

Nous en tirons les conclusions suivantes;

l'immunisation active contre l'androstènedione augmente le taux d'ovulation par :

- un recrutement intensifié des follicules suite à une élévation du taux de FSH,
- l'installation durable et forte, sous l'effet d'une sécrétion intense d'oestradiol-17 β , de la dominance des follicules sains, associée à des phénomènes de codominance locaux,
- une sélection accrue au cours de la seconde vague de croissance,
- une protection des follicules contre l'atrésie.

Abstract.

The use of an immunogenic product against androstenedione (*Fecundin* ®) can increase the ovulation rate from 1,41 to 2,03 in the *Texel* ewe.

For a better understanding about the mechanism of the action of such an immunisation, we have, by endoscopies, followed, during the time of an oestral cycle, the evolution of the ovarian processes in seven ewes which have received two injections of *Fecundin* ® for the immunisation and two injections of *Estrumate* ® for the synchronisation. This ewes were compared to ewes not immunised.

We draw the next conclusions;

the active immunisation against androstenedione increase the ovulation rate by :

- an intensified recruitment of the follicles, effect of a rise of the FSH rate,
- strong and of longduration installation, caused by an important secretion of oestradiol-17 β , of the domination of healthy follicles, associated with local codomination phenomenon,
- an increased selection during the second growth wave,
- a protection of the follicles against atresia.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Septembre 1987

Laboratoire de Physiologie Animale

Promoteur : Prof. R. PAQUAY

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à présenter mes remerciements au professeur R. PAQUAY, mon promoteur, qui m'a permis de travailler dans son laboratoire. Ses nombreuses remarques judicieuses lors de la rédaction me furent d'un grand secours.

Je voudrais également adresser mes remerciements au Dr. J.-L. BISTER : il fut mon guide et mon aide scientifique indispensable.

Je suis reconnaissant aux autres membres du laboratoire de m'avoir accueilli dans les meilleures conditions et d'avoir su être disponible quand il le fallait.

Merci aussi à Mr. E. SCHIFFLERS pour ses renseignements mathématiques utiles et au personnel du laboratoire de Biologie quantitative.

Je m'en voudrais d'oublier mes parents et mon frère, mon amie, Mlle Nathalie LEBEC, et ses parents, ainsi que mes compagnons de kot. Ce sont ces personnes qui m'ont apporté l'aide affective et les conseils indispensables dont j'avais besoin.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
<u>A. Description générale de la reproduction de la brebis</u>	3
<u>B. Le cycle oestral de la brebis</u>	4
<u>1. Description globale</u>	4
<u>2. Les hormones contrôlant le cycle</u>	7
a. Hormone(s) hypothalamique(s).....	7
b. Hormones hypophysaires.....	8
FSH	8
LH	9
PRL	10
c. Hormones ovariennes.....	11
OESTROGENES	11
PROGESTAGENES	12
ANDROGENES	13
INHIBINE	16
d. Hormones utérines.....	17
<u>C. La croissance folliculaire</u>	18
<u>1. Brève description des étapes de la dynamique follicu-</u> <u> laire</u>	18
<u>2. La phase de multiplication</u>	18
a. Initiation de la croissance folliculaire.....	19
b. Contrôle de l'initiation de la croissance.....	20
<u>3. La phase de croissance primaire: <i>folliculogenèse</i></u>	20
a. Changements morphologiques.....	20
b. Régulation hormonale.....	21
<u>4. La phase de croissance terminale: <i>maturation</i></u>	22
a. Le recrutement.....	23
b. L'atrésie.....	24
c. La sélection.....	25

d. Le contrôle précis de la sélection.....	26
e. L'aromatisation.....	26
f. La dominance.....	29
g. Conclusions.....	30
D. <u>Le résultat de la croissance folliculaire terminale: le</u>	
<u>taux d'ovulation et ses variations</u>	31
1: <u>Les variations naturelles du taux d'ovulation</u>	31
a. Variations hormonales.....	31
LH	31
FSH	31
OESTROGENES	32
ANDROGENES	33
INHIBINE	33
CONCLUSIONS	34
b. Variations liées à la race.....	34
DIFFERENCES FOLLICULAIRES	34
DIFFERENCES HORMONALES ET CYBERNETIQUES	35
DIFFERENCES DE GENOTYPE	36
CONCLUSIONS	36
c. Le poids et la nutrition de la brebis.....	36
d. Age.....	37
e. La saison.....	37
f. Facteurs sociaux.....	38
g. Le stress.....	38
h. Les pâturages oestrogéniques.....	39
2. <u>Les variations de la prolificité</u>	39
3. <u>Les variations artificielles (<i>méthodes d'amélioration</i>)</u>	
<u>du taux d'ovulation</u>	41
a. Croisements génétiques.....	41
b. Améliorations nutritives.....	41
c. Conditionnements saisonniers.....	42
d. Emploi des gonadotropines exogènes.....	42

e. Inactivation de certaines productions hormonales.	43
CLOMIPHENE	43
OVARIECTOMIE UNILATERALE	43
IMMUNISATION CONTRE LES HORMONES	43
<u>D. Les techniques prometteuses d'amélioration du taux d'ovulation: <i>immunisations et vaccinations</i></u>	44
1. <u>Historique de l'immunisation anti-hormonale</u>	44
2. <u>Les types d'immunisations</u>	45
a. Passive.....	45
b. Active.....	46
3. <u>Techniques employées</u>	46
a. Fabrication de conjugués stéroïdes-protéines.....	46
b. Modes d'injection des antisérums.....	47
4. <u>Les hormones impliquées dans les immunisations</u>	48
a. Progesterone.....	48
b. Oestrogènes.....	49
OESTRADIOL-17B	49
OESTRONE	52
PHYTO-OESTROGENES	52
c. L'inhibine.....	52
d. Les androgènes.....	54
5. <u>Conclusions</u>	55
<u>F. L'immunisation active ou la vaccination contre l'androstènedione</u>	56
1. <u>Historique</u>	57
2. <u>Le produit immunogène</u>	57
3. <u>Résultats et conclusions de l'immunisation anti-androstènedione</u>	57
MATERIEL ET METHODES	59
A. <u>Objectifs poursuivis</u>	59
B. <u>Conditions expérimentales</u>	59
C. <u>Animaux expérimentaux</u>	60
D. <u>Protocole expérimental suivi</u>	60

<u>E. Techniques et traitements utilisés <i>in vivo</i></u>	61
<u>1. Immunisation</u>	61
<u>2. Synchronisation des chaleurs</u>	61
<u>3. Endoscopies</u>	62
<u>4. Prises de sang</u>	63
<u>5. Diagnostic de gestation <i>in vivo</i>: échographie</u>	63
<u>F. Techniques utilisées <i>in vitro</i> : dosages hormonaux</u>	64
<u>1. Principe du dosage RIA</u>	64
<u>2. Caractéristique des dosages</u>	64
<u>3. Dosage des gonadotropines</u>	65
<u>4. Dosage de la progestérone</u>	67
<u>5. Dosage de l'oestradiol</u>	68
<u>6. Dosage du titre d'anticorps</u>	69
<u>G. Méthodes de calculs statistiques</u>	71

RESULTATS

<u>I. Intensité de la réponse à l'immunisation</u>	72
<u>II. Evolution du poids vif des brebis</u>	72
<u>III. Variation de la longueur du cycle</u>	73
<u>IV. Variation du taux d'ovulation</u>	74
<u>V. Variations morphologiques ovariennes et folliculaires</u>	74
<u>1. Nombre de follicules antraux (taille ≥ 1)</u>	74
<u>2. Nombre de follicules ≥ 4 mm</u>	75
<u>3. Diamètre maximum des follicules ≥ 4 mm</u>	75
<u>4. Variation de taille des follicules ovulatoires</u>	76
<u>V. Dynamique folliculaire</u>	76
<u>1. Nombre de croissances folliculaires</u>	76
<u>2. Durée des croissances folliculaires</u>	77
<u>3. Dynamique de chaque croissance</u>	77

<u>VI. Modifications hormonales</u>	78
<u>1. Pulsatilité de LH</u>	78
<u>2. Evolution de la FSH, de l'oestradiol et de la progestérone au cours du cycle</u>	79

DISCUSSIONS

<u>I. Relation entre les sécrétions hormonales et les croissances folliculaires</u>	81
<u>II. Effets de l'immunisation contre l'androstènedione</u>	82
<u>III. Variations hormonales et immunisations</u>	85

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

Graphes de la pulsatilité de LH pendant 6 heures en fin de phase
lutéale

Graphes de l'évolution des taux plasmatiques de FSH, oestradiol et
progestérone au cours du cycle pour chaque brebis

Graphes des tailles folliculaires en fonction du temps, pendant les
endoscopies

INTRODUCTION

Pour comprendre les différents mécanismes de la reproduction et, le cas échéant, les modifier, le mouton constitue un matériel expérimental intéressant : sa docilité, sa proximité taxonomique avec l'homme et son état sexuel annuel sont autant d'avantages dont peut profiter le chercheur.

De gros progrès ont été accomplis depuis quelques décennies dans l'amélioration des productions animales, que ce soit en génétique, en alimentation, en pathologie ou en reproduction. Dans ce dernier domaine, les traitements hormonaux, l'insémination artificielle ou la transplantation embryonnaire sont largement utilisés.

Une des techniques qui présente aujourd'hui un intérêt évident est l'immunisation de la brebis contre ses hormones. Cette technique qui a vu le jour à la fin des années septante a permis d'en savoir plus sur les mécanismes endocriniens régissant l'activité ovarienne. Toutefois, de nombreux contrôles restent obscurs.

Afin d'éclaircir les phénomènes de recrutement et de sélection qui maîtrisent la croissance folliculaire terminale au sein de l'ovaire, l'équipe de SCARAMUZZI (1977), se basant sur des travaux de MARTENSZ et al. (1976) et de BAIRD et al. (1976) s'est attaché à l'étude de l'androstènedione. L'immunisation de brebis de race *Welsh Mountain* contre cette hormone a permis à ces chercheurs d'observer une augmentation notable du taux d'ovulation.

Suite à ces résultats, une firme pharmaceutique australienne GLAXO, a mis au point et commercialisé un produit immunogène, le *FECUNDIN*®, que plusieurs laboratoires, en France principalement, utilisent actuellement afin d'en étudier les effets stimulants sur le taux d'ovulation chez différentes races comme l'*Ile-de-France*, la *Préalpes du sud* ou la *Mérinos d'Arles*.

Nous avons entrepris les mêmes études sur la race de mouton la plus répandue en Belgique, la *Texel*, dans le but de cerner les évolutions hormonales, structurelles (au niveau de l'ovaire) et pondérales qu'entraîne l'immunisation contre l'androstènedione.

La phase de croissance folliculaire terminale a plus particulièrement retenu notre attention. Sa dynamique a été suivie par endoscopies et des prises de sang ont permis le dosage des différentes hormones et la détermination du taux d'anticorps.

Notre travail se divise en divers chapitres successifs. En premier lieu, il a été nécessaire de faire une étude bibliographique qui mentionne les nombreuses recherches entreprises sur différents aspects de la reproduction de la brebis: généralités, mécanismes et contrôles de la croissance folliculaire, moyens artificiels de modification du taux d'ovulation et immunisations de la brebis contre ses hormones, en particulier, l'androstènedione.

La description du plan expérimental et des techniques utilisées est suivie de celle des résultats et de leur discussion.

Les conclusions précèdent une liste succincte des perspectives de recherches pour l'avenir.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

A. Description générale de la reproduction de la brebis

Le mouton domestique (*Ovis aries*) est une espèce qui présente une suite de cycles oestriques lors d'une saison déterminée. On appelle ce type d'activité sexuelle : polyoestrus saisonnier.

Les cycles sexuels de la brebis *Texel* débutent au moment de la photopériode décroissante (automne). Il se succède alors de 7 à 13 cycles ovulatoires, tous les 16 jours environ. L'arrêt des cycles est contrôlé par la photopériode croissante de fin décembre. La brebis *Texel* n'est donc capable de se reproduire que pendant 3 à 4 mois sur toute l'année. Tout autre état porte le nom d'anoestrus.

La brebis est pubère vers l'âge de 7 à 9 mois si elle est née suffisamment tôt dans la saison et si son développement n'a pas été entravé. Sinon, la puberté est retardée d'un an.

Après la puberté, l'apparition des cycles est sous contrôle de la mélatonine, dont la libération dépend de la photopériode et qui agit sur la sécrétion de GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) par l'hypothalamus (BIJMAN et al., 1985, cité par ROBINSON et al., 1985). La GnRH augmente la fréquence de décharge des gonadotropines par l'hypophyse et ces dernières, par la voie sanguine, agissent sur la libération des stéroïdes par l'ovaire. On a pensé expliquer l'entrée en reproduction par une trop forte concentration en PRL (Prolactine) (BISTER, 1980), mais cette solution semble abandonnée.

Le premier cycle sexuel de chaque saison de reproduction est le plus souvent silencieux : il n'entraîne aucune ovulation.

Après un accouplement fécond, la brebis entre en état d'anoestrus de gestation, état maintenu par l'envoi, par l'embryon, d'un message chimique au rôle lutéolytique ou lutéotrophique.

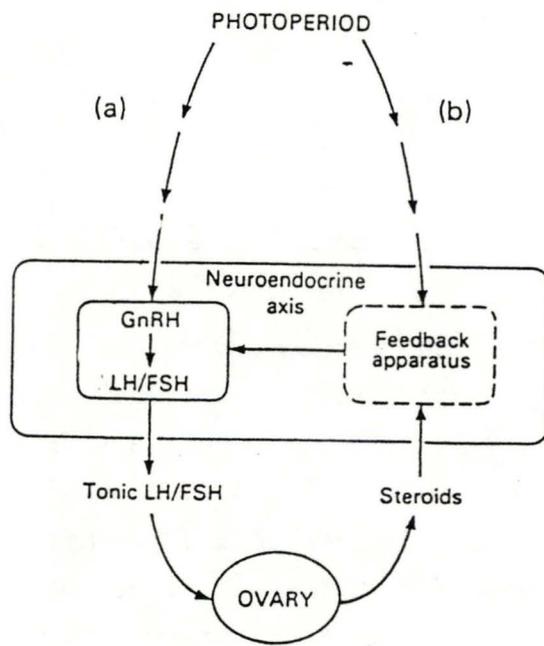
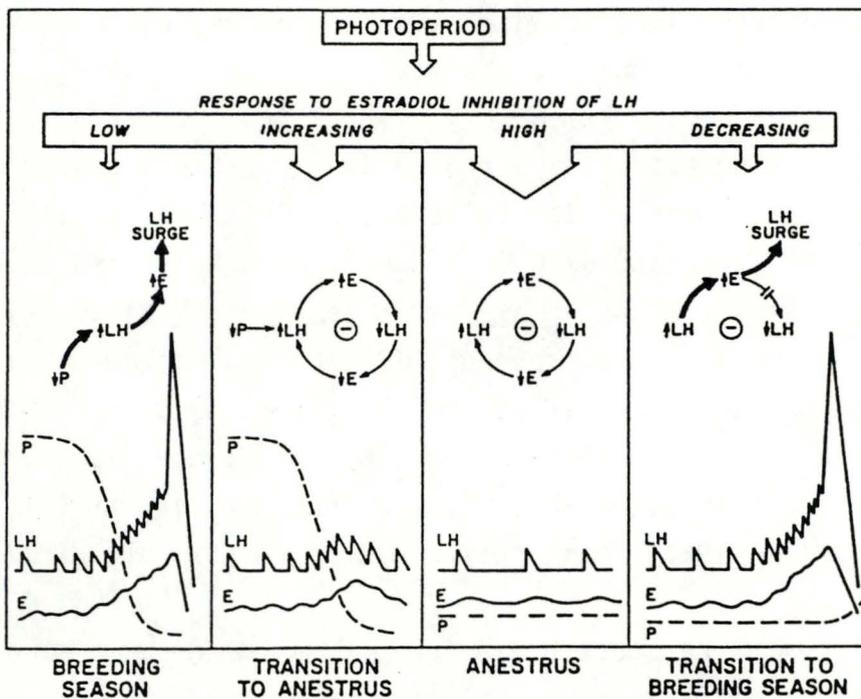
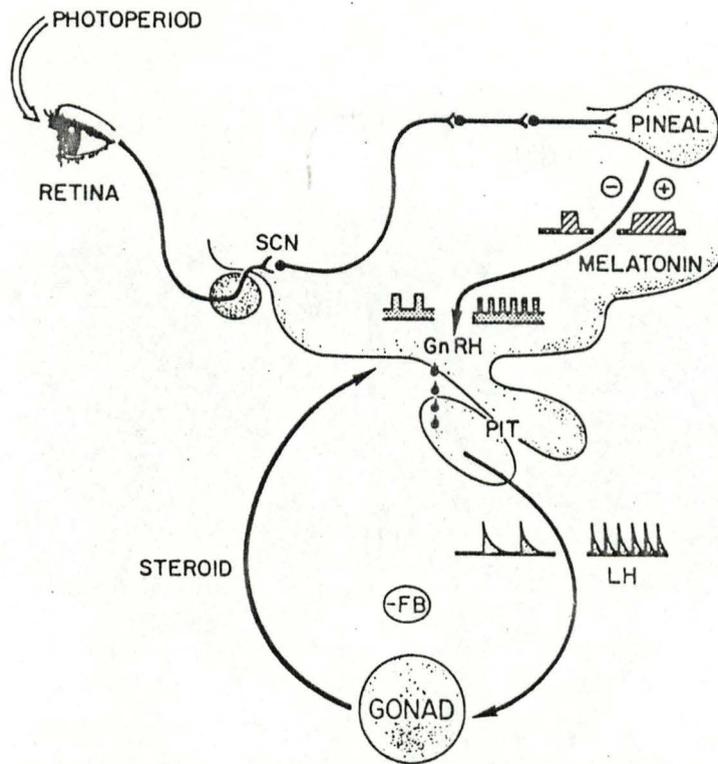


FIGURE 1 : Contrôle photoneuroendocrinien du cycle reproducteur saisonnier de la brebis



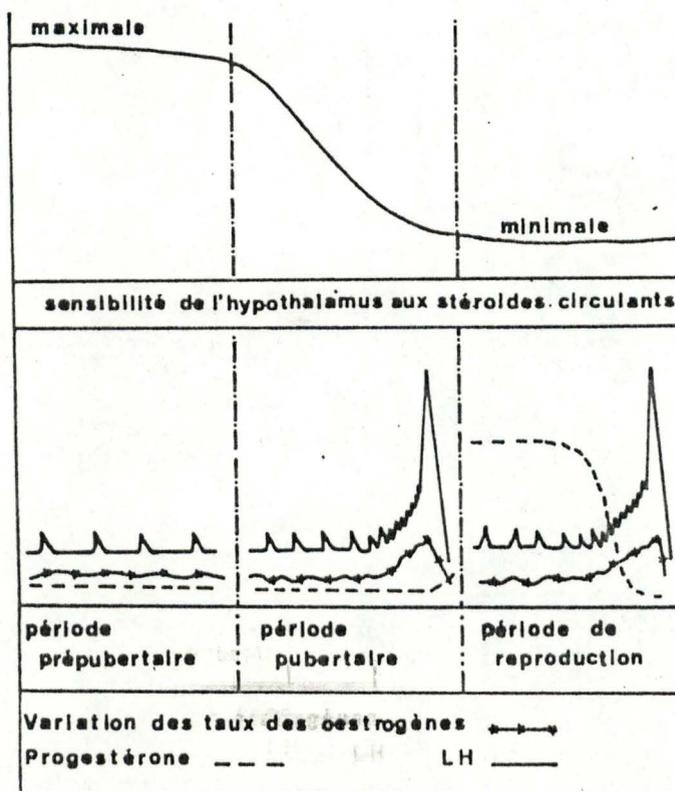
a model: photoneuroendocrine control of the oestrous and the seasonal reproductive cycle of the ewe. The essence of this model is that the periods of breeding activity and anoestrus, and the transitions between these periods, are determined by changes in the ability of oestradiol to inhibit frequency of the LH pulse generator (from Karsch *et al.* 1980).



Postulated photoneuroendocrine pathway to the LH pulse generator of the ewe. It is through this pathway that an external signal (light) serves to modulate the capacity of the pulse generating mechanism to respond to an internal signal (steroid negative feedback). This interaction then determines the reproductive state (from Karsch *et al.* 1984a).

FIGURE 2 : Contrôle photoneuroendocrinien du cycle reproducteur de la brebis

FIGURE 3 : représentation schématique des modifications hormonales survenant lors de l'établissement de la puberté.
(D'après Foster mais modifié).



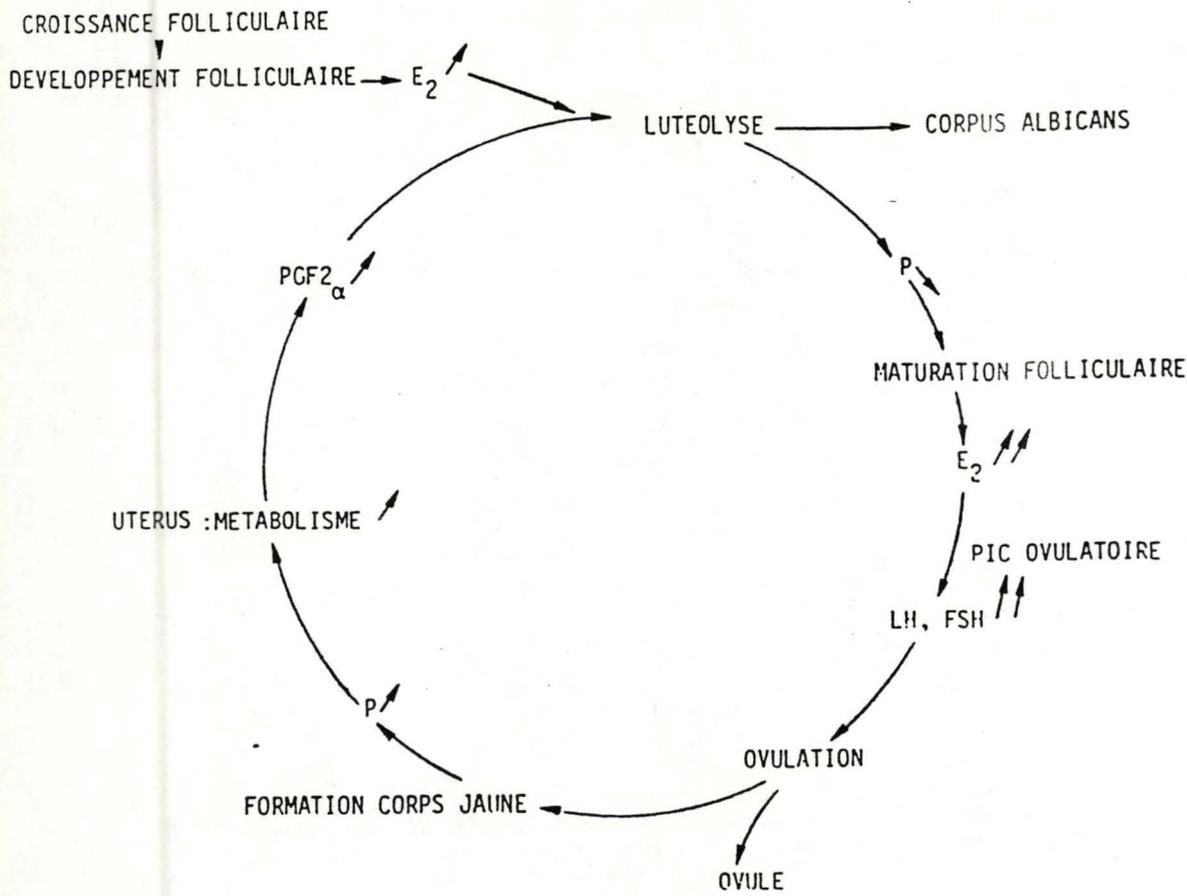
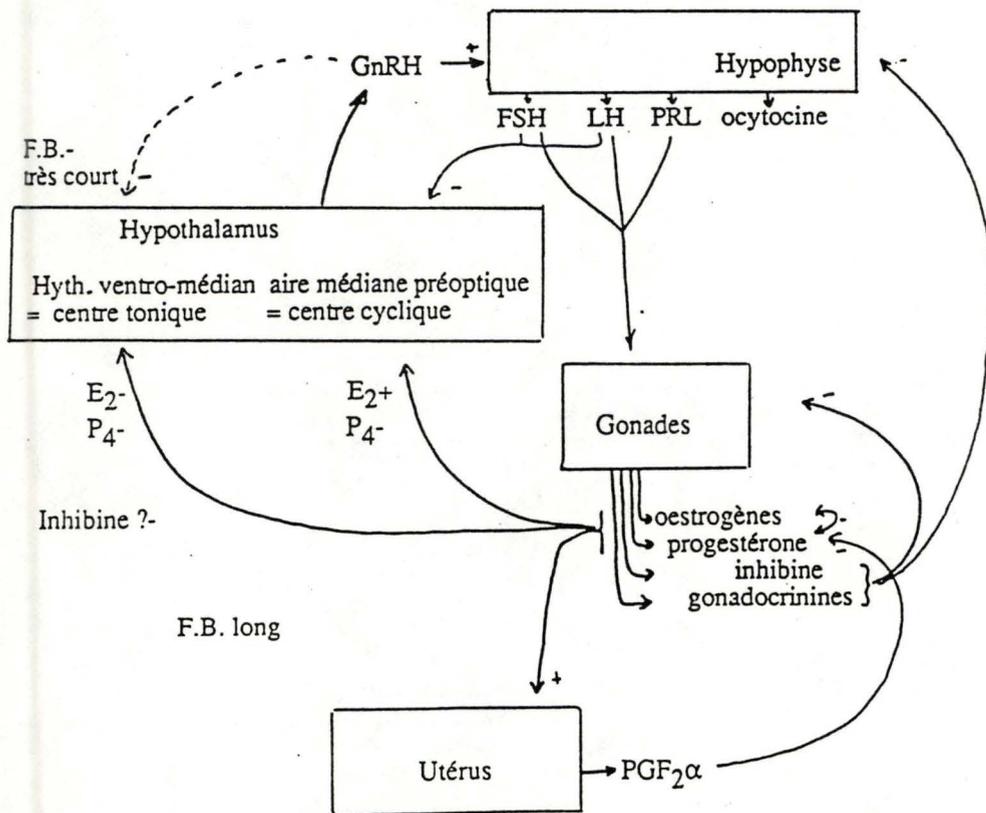


FIGURE 4 : le cycle oestral de la brebis et son contrôle



Suite à la mise-bas ou parturition, la brebis allaite ses agneaux jusqu'au sevrage, ce qui maintient ou renforce l'état d'anoestrus. Le facteur primordial de maintien de cet état est la stimulation mécanique et nerveuse des mamelles (Tétée) qui secrètent abondamment la PRL.

Ces différents états d'anoestrus n'interrompent pas l'activité ovarienne : elle est ralentie car l'ovaire secrète encore et peut porter de gros follicules (KAMMERLADE et al., 1952) pouvant ovuler.

L'origine du ralentissement sécrétoire et mitotique de l'ovaire en anoestrus semble être la perte du mécanisme de feed-back positif entre l'oestradiol et la LH (Luteinizing Hormon) (LEGAN et al., 1977).

B. Le cycle oestral de la brebis

1. Description globale

Pour la brebis, on prend soit le jour de la manifestation des chaleurs (oestrus), soit le jour de l'ovulation (24 à 48 heures après l'oestrus) comme jour "0" du cycle ovulatoire.

Le cycle peut être divisé en deux périodes : la phase lutéale ou progestagénique et la phase préovulatoire ou oestrogénique.

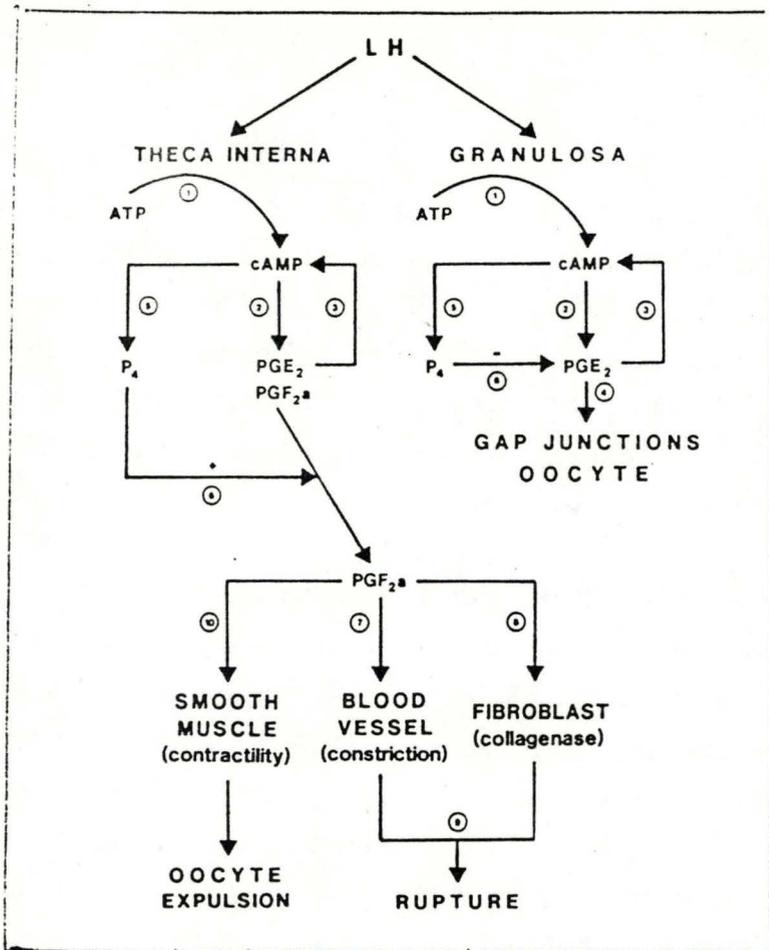
La première dure environ 12 à 13 jours. Suite à l'éjection de l'oocyte par le follicule (J"0"), le corps jaune glande endocrine richement vascularisée s'édifie à partir des cellules lutéales (Granulosa) et paraluteales (Thèque

interne), sous l'action de la LH, de la FSH (Follicle Stimulating Hormon) et des oestrogènes (MAC NATTY et THURLOOG, 1974, cité par FOSSION, 1985). La PRL active la synthèse du cholestérol et la LH stimule sa conversion en progestérone par les cellules lutéales. Cette hormone agit par feed-back négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire pour bloquer toute nouvelle ovulation.

Le début de maturation d'une nouvelle vague de follicules à la fin du cycle entraîne une sécrétion suffisante d'oestrogènes pour induire la libération de $\text{PGF}_{2\alpha}$ par l'endomètre utérin (BERTRAND et CHARTRE, 1976). Cette substance a un effet lytique sur le corps jaune qui perd ses capacités sécrétrices et se transforme en corpus albicans, trace ponctuelle blanchâtre à la surface de l'ovaire. Cette structure ne semble jouer aucun rôle physiologique.

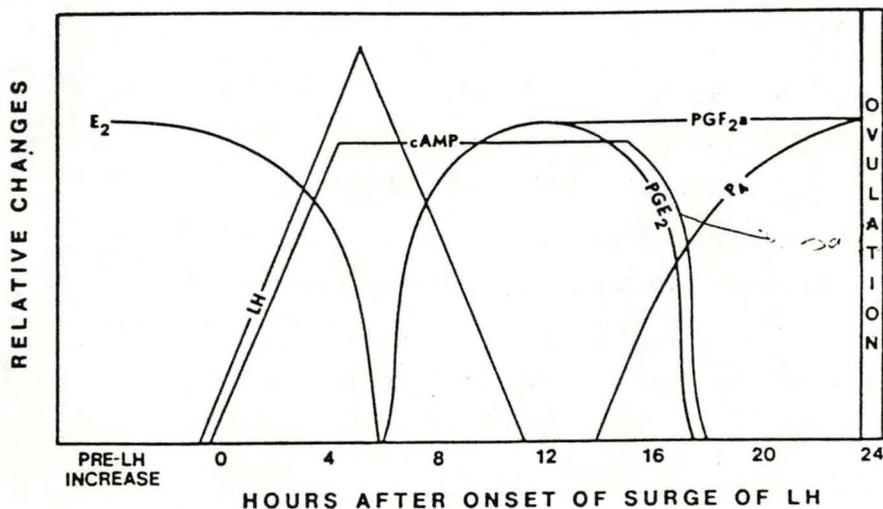
Au cours de la seconde période, certains follicules qui ont franchi plusieurs stades de développement jusqu'au stade de follicule à cavité (antral) sont recrutés. Le choix de ces follicules se fait dans la zone de l'ovaire où la chute de progestérone est la plus rapide. De plus, la FSH agit sur le follicule en initiant la formation de récepteur à la LH (ZELZNIK et al., 1974)

Les follicules recrutés (nous verrons au chapitre suivant le contrôle du recrutement) grandiront de 0,3 à plus de 5 mm, avec accroissement important de la cavité antrale contenant le fluide folliculaire. Ce liquide renferme des cybernines ou gonadocrinines émanant des cellules de la granulosa. Le rôle de ces substances est important : contrôle du développement folliculaire, de l'ovulation et de la lutéinisation (FRANCHIMONT et al., 1977; MORDER et al., 1977; SCHWARTZ et CHANNING, 1977).



A model for the mechanism of ovulation in sheep. (1) The LH receptor-adenyl cyclase unit of membranes of follicular cells is activated by LH and intracellular cAMP is synthesized from ATP. (2) Thecal synthesis of PGE₂ and PGF_{2α}. Granulosal synthesis of PGE₂. (3) Positive feedback of PGE₂ on cAMP. (4) Dispersion of gap junctions of granulosa cells. Maturation of the oocyte (resumption of meiosis). (5) Shift in the steroidogenic pathway from Δ³ to Δ⁴ -- synthesis of progesterone. (6) Shift in the PGE₂ to PGF_{2α} ratio toward PGF_{2α} in the thecal layer. Decrease in production of PGE₂ by granulosa cells. (7) Vasoconstriction. (8) Production of collagenase. (9) Ischemia and proteolysis weaken the follicular wall to the state of rupture. (10) Contractility and

FIGURE 5 : L'ovulation : mécanismes hormonaux et effets



Relative follicular changes with respect to the surge of LH in estradiol-17β (E₂), progesterone (P₄), cAMP, PGE₂ and PGF_{2α}.

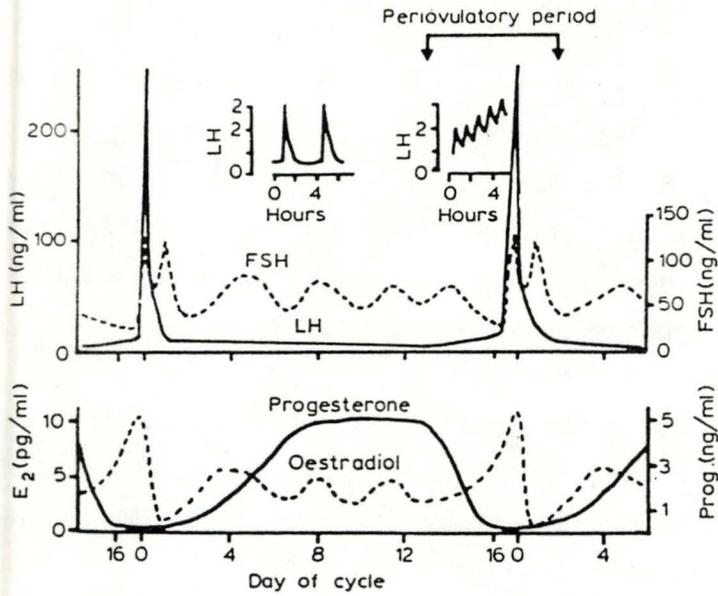
Les follicules synthétisent progressivement de plus en plus d'oestrogènes (HAY et MOOR, 1975; MOOR et al., 1975; cités par MURDOCH et DUNN, 1982), ce qui, chute de progestéronémie à J"0" aidant, permet une stimulation suffisante du centre cyclique hypothalamique. La GnRH libérée stimule à son tour la fréquence de libération de la LH.

Au cours de cette croissance folliculaire terminale, une hiérarchie s'opère au sein de l'ovaire entre les différents follicules, permettant à certains de grossir plus rapidement et de mieux résister à la dégénérescence (Atrésie) qui peut survenir à tout moment. L'oestradiol favorise la formation de l'antrum et limite l'atrésie.

Les plus gros follicules (de plus de 6 mm) sont dit "sélectionnés" ou préovulatoires.

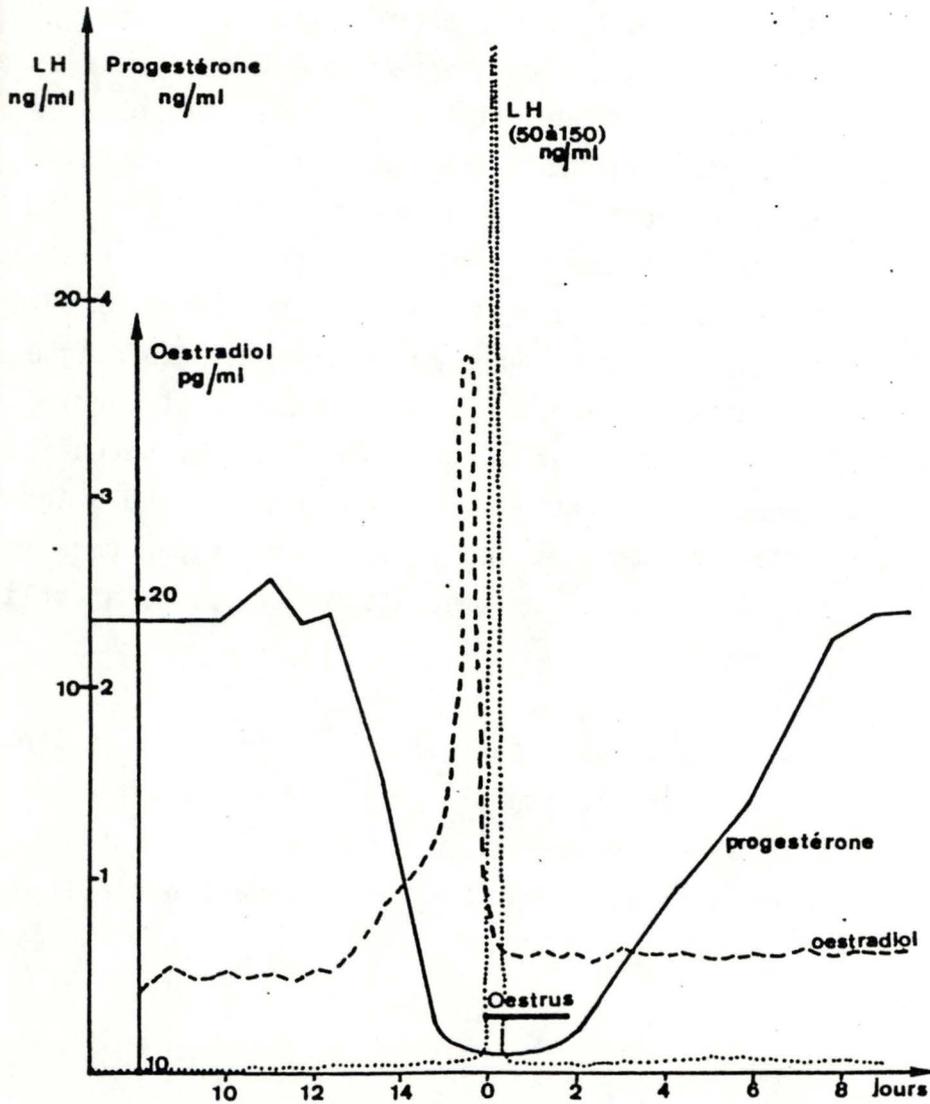
L'ovulation commence avec le feed-back positif du pic d'oestradiol qui provoque l'apparition des pics de LH et de FSH. Le pic de LH stoppe les mitoses. Les cellules de la thèque interne secrètent ensuite une enzyme protéolytique, la collagénase, qui attaque progressivement la paroi. La vascularisation se modifie et les membranes thécales et granulosaes du follicule s'affinent en surface de l'ovaire en un point appelé *stigma* ou *apex*. Finalement, le stigma se rompt, laissant échapper le fluide folliculaire qui entraîne avec lui l'ovocyte. Les muscles lisses de la thèque externe interviennent dans cette expulsion, sous contrôle du système nerveux adrénergique et cholinergique de type muscarinique (BISTER, 1982). Après la libération, la cavité s'emplit d'un caillot sanguin.

L'ovocyte est recueilli par le pavillon de l'oviducte et se déplace vers l'ampoule (au premier tiers de l'oviducte) où il sera éventuellement fécondé. Si c'est le cas, le zygote néoformé par fusion des noyaux de l'ovule et du sper-



Schematic diagram of the patterns of change in peripheral plasma hormone concentrations throughout the oestrous cycle in the ewe.

FIGURE 6 : Evolutions hormonales au cours du cycle oestral de la brebis



matozoïde descend dans l'utérus, se développe et finit par s'y implanter.

2. Les hormones contrôlant le cycle

a. Hormone(s) hypothalamique(s)

NOM ET STRUCTURE DE L'HORMONE : L'hypothalamus secrète la gonadostimuline ou GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon). A l'heure actuelle, il existe de nombreuses discussions quant à sa nature : est-ce une hormone unique contrôlant à la fois les décharges de LH et de FSH, ou sont-ce deux entités qui ont chacune leur cible hypophysaire ? De ce fait, d'autres noms sont donnés à cette hormone : LRF (Luteinizing hormon Releasing Factor), FSH.RF (FSH Releasing Factor) ou GnRF (Gonadotropin Releasing *Factor*). Ce facteur est de nature protéique.

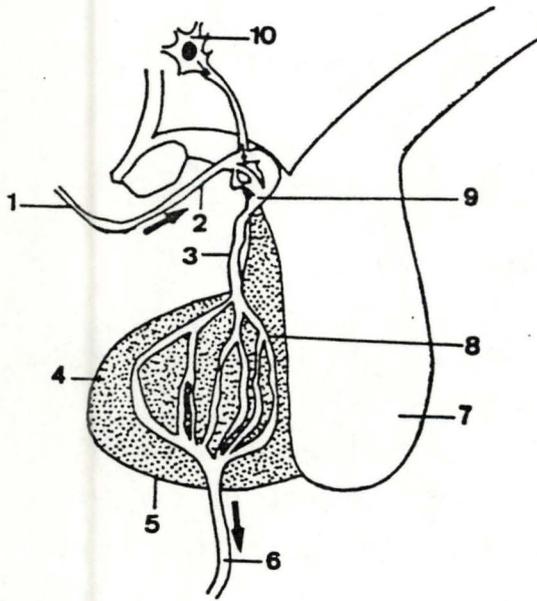
LIEUX DE SECRETION : Le noyau arqué de la région ventromédiane est un centre qui libère l'hormone sous forme de pulses dont la variation de fréquence peut perturber le déroulement du cycle, allant même jusqu'à son arrêt (BISTER, 1982). Cette région est sensible à l'inhibition des oestrogènes et des progestagènes, si ceux-ci agissent en grande concentration.

Un second centre, situé dans l'aire préoptique est une autre zone de libération de la GnRH et il répond au feed-back (rétro-contrôle) positif des oestrogènes. Par contre, il est inhibé par la progestérone.

ROLE DE L'HORMONE : La GnRH a un rôle activateur sur la sécrétion des hormones hypophysaires.

EVOLUTION AU COURS DU CYCLE : La concentration sanguine de la GnRH est constante pendant la majeure partie du cycle. Il

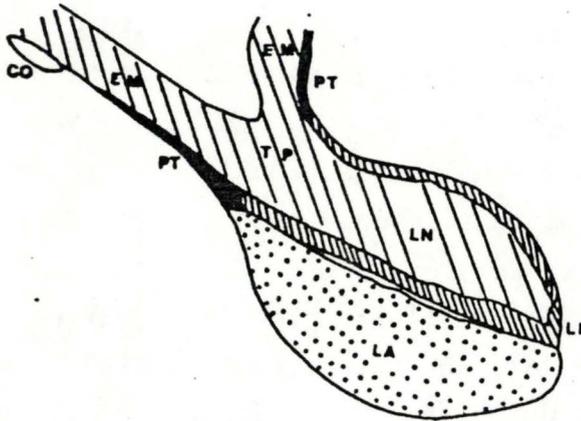
VASCULARISATION DE L'HYPOPHYSE.



- 1: artère carotide interne
- 2: artère hypophysaire supérieure
- 3: veine porte hypophysaire
- 4: cellule endocrinienne
- 5: lobe antérieur
- 6: veine jugulaire interne
- 7: lobe postérieur
- 8: 2^e réseau capillaire du système porte
- 9: 1^e réseau capillaire du système porte
- 10: neurone hypothalamique

FIGURE 7 : Structure et organisation de l'hypophyse

Représentation schématique de l'hypophyse d'un mammifère (chat) avec ses subdivisions en coupe longitudinale (M.HERLANT).



- CO = Chiasma optique
- EM = éminence médiane
- TP = tige pituitaire
- PT = pars tuberalis
- LN = lobe postérieur
- LA = lobe antérieur
- LI = lobe intermédiaire

s'agit du taux basal. Suite au pic des oestrogènes et précédant ceux de la LH et de la FSH, le taux de GnRH sanguin subit une élévation progressive suivie d'une chute lente. C'est le pic préovulatoire de GnRH.

b. Hormones Hypophysaires

FSH NOM ET STRUCTURE : La FSH (Follicle Stimulating Hormon) est une hormone glycoprotéique de poids moléculaire de 32.000 daltons. Elle doit son nom à un de ses rôles : la stimulation de la croissance folliculaire.

LIEU ET MODE DE SECRETION : La région de l'hypophyse qui libère la FSH est l'adénohypophyse. Elle secrète de façon continue.

EVOLUTION AU COURS DU CYCLE : Le profil de sécrétion de la FSH au cours du cycle est rythmique, sous forme d'une évolution sinusoïdale mise en évidence par BISTER (1980) et MILLER et al. (1981). On peut diviser le cycle en trois vagues d'intensités identiques, de 5 à 6 jours chacune. Une importante sécrétion de FSH, dont le taux atteint trois fois le taux basal, se produit avant l'oestrus; Elle est suivie 36 heures plus tard par une nouvelle élévation, moins marquée, s'étalant sur 24 à 36 heures (BISTER et PAQUAY, 1983; BAIRD et al., 1981; MILLER et al., 1982; chez le lapin : MILLS et al., 1981). Le premier pic représente la réponse hypophysaire au feed-back positif des oestrogènes et au pic de GnRH. Le second, décharge post-ovulatoire mise en évidence par HOAK et SHWARTZ (1980) sur le hamster, serait un accroissement de la sécrétion tonique de FSH, en réponse à une levée d'inhibition du follicule préovulatoire, suivi d'un déclin graduel dû à un rétro-contrôle négatif de la progestérone en concentration de plus en plus élevée.

ROLE DE LA FSH : L'action de la FSH se fait sentir au niveau de l'ovaire, et plus précisément sur le follicule pré-antral initiant chez celui-ci la formation de récepteurs à la LH (ZELZNIK et al., 1974). En outre, de plus en plus d'évidences montrent une corrélation entre la sécrétion de FSH et les vagues successives de maturation folliculaire (CAHILL, 1979). Il est également intéressant de noter les corrélations encore inexpliquées qui ont été mesurées entre la décharge post-ovulatoire (J"2") et le nombre de follicules arrivant à maturation au jour "17" du cycle (BISTER, 1982, référence n°2). La FSH exerce son action stimulante à tous les niveaux du développement des follicules. Elle induit la croissance des follicules primordiaux, elle provoque la formation de l'antrum et inhibe l'atrésie des follicules à antrum (BISTER, 1982, référence 5). De plus, elle stimule la production d'oestradiol en stimulant l'aromatase des androgènes (BISTER, 1982, référence 28) et la maturation ovocytaire (BISTER, 1982, référence 29).

LH

NOM ET STRUCTURE DE L'HORMONE : La LH (luteinizing hormon), encore appelée *lutéotropine*, est une glycoprotéine de poids moléculaire de 30.000 daltons. Tout comme la FSH, la manifestation biologique de cette hormone dépend grandement de la teneur en acide sialique.

LIEU ET MODE DE SECRETION : L'hypophyse secrète la LH au niveau de l'adénohypophyse qui la libère dans les capillaires de l'éminence médiane. La libération se fait sous forme de pulses de courte durée dont l'intensité peut atteindre 10 fois le taux de base. La fréquence de décharge est d'environ deux heures (BISTER, 1980).

EVOLUTION AU COURS DU CYCLE : Les pulses de LH entretiennent un taux basal sanguin tout au long du cycle. Les modifica-

$H_2N(Ass-Ser)-Cys-Glu-Leu-Thr-Asn-Ile-Thr-Ile-Ala-Ile-Glu-Lys-Glu-Glu-Cys-Arg-Phe-Cys-Ile-Ser-Ile-Asn-$
10 20
CHO CHO

30 40
 -Thr-Thr (Thr, Asx, Trp)-Glu-Thr-Cys-Ala-Gly-Tyr-Cys-Tyr-Thr-Arg-Asp-Leu-Val-Tyr-Lys-Asp-Pro-

50 60
 -Ala-Lys-Pro-Arg-Ile-Gln-Lys-Thr-Cys-Thr-Phe-Lys-Glu-Leu-Val-Tyr-Glu-Thr-Val-Arg-Val-Pro-

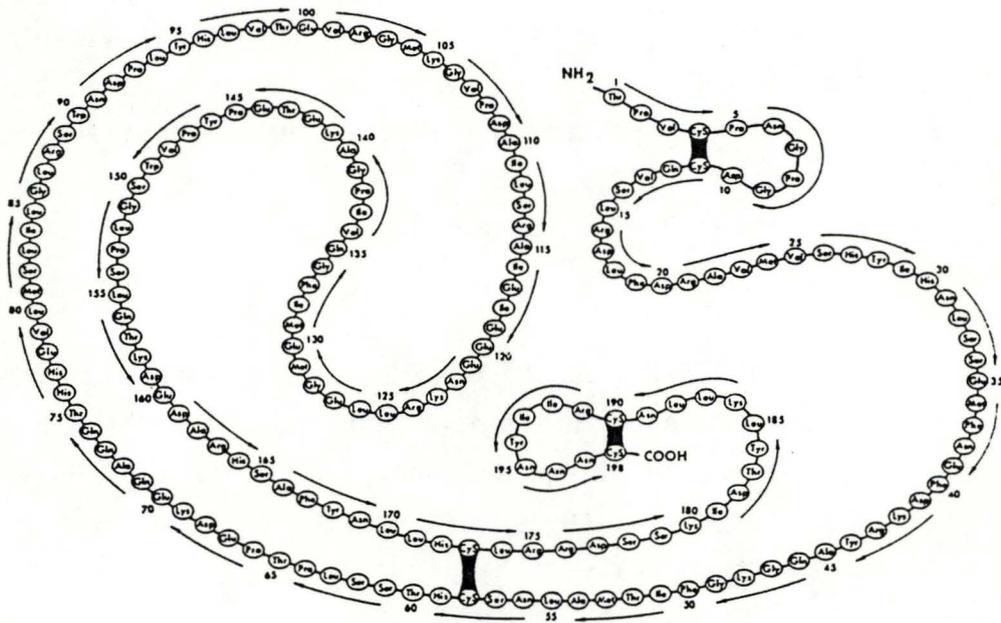
70 80 90
 -Gly-Cys-Ala-His-His-Ala-Asp-Ser-Leu-Tyr-Thr-Tyr-Pro-Val-Ala-Thr-Gln-Cys-His-Cys-Gly-Lys-

100 110
 -Cys-Asp-Ser-Asp-Ser-Thr-Asp-Cys-Thr-Val-Arg-Gly-Leu-Gly-Pro-Ser-Tyr-Cys-Ser-Phe-Gly-Glu-

110
 -Met-(Glx, Lys) OH

Amino acid sequence of h-FSH- β . Heterogeneity was observed at both the amino and carboxyl termini. Shome and Parlow (1974b).

FIGURE 9 : Structure de la FSH



Amino acid sequence of ovine prolactin. Reproduced, with permission, from Li et al. (1970).

FIGURE 10 : Structure de la Prolactine

tions de fréquence sont représentatives du jour du cycle observé. Tous les 16 à 17 jours, en période de reproduction, on observe un pic préovulatoire de la LH constitué, croit-on, par la sommation des pulses se produisant à intervalles de plus en plus réduits. Cette décharge est éphémère (8 à 20 heures) et suit le pic de GnRH. Son intensité atteint 100 fois le taux basal.

ROLE DE L'HORMONE : Le rôle de la LH est de promouvoir la maturation folliculaire, l'expulsion de l'ovocyte et la formation du corps jaune fonctionnel (MAC NATTY et al., 1981) Au niveau de la croissance folliculaire, la LH entraîne un blocage de l'activité mitotique et une inhibition de la production d'oestradiol, deux causes de l'atrésie et de la formation du corps jaune (BISTER, 1982, références 28,5,37).

RAPPORT SECRETION-ACTIVITE : La sécrétion de la LH est sous contrôle stéroïdien. L'oestradiol et la progestérone seraient, semble-t-il, les deux stéroïdes les plus importants, mais de récentes évidences tendent à démontrer une action non négligeable de l'androstènedione. En effet, TERRANOVA et al. (1981) ont constaté que l'injection d'antisérum LH à un cobaye en cycle diminue le taux d'androgènes circulants, et réduit l'atrésie en fin de cycle (nombre d'ovulations augmenté de 2 à 6). De même, SCARANUZZI et BAIRD (1977) ont noté, suite à une expérience d'immunisation contre l'androstènedione, une hausse significative du taux de LH, avec augmentation du nombre d'ovulation.

PRL

NOM ET STRUCTURE DE L'HORMONE : La prolactine est une autre hormone hypophysaire à structure protéique. C'est une chaîne polypeptidique unique avec trois ponts disulfures. Le poids moléculaire est de 23.300 daltons. Son nom provient de son action favorable à la sécrétion du lait maternel.

LIEU ET MODE DE SECRETION : Comme les deux autres hormones hypophysaires, la PRL est élaborée dans l'adénohypophyse.

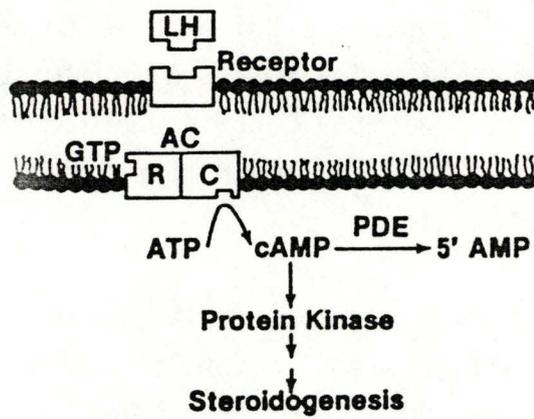
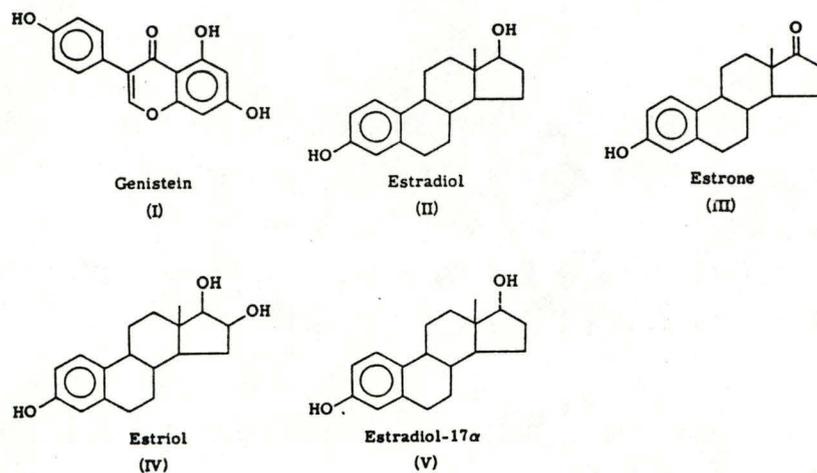


FIGURE 11 : Mode d'action des gonadotropines sur la stéroidogénèse

FIGURE 12 : Structures des principaux oestrogènes



Son mode de sécrétion dépend des conditions de luminosité (THIMONNIER et al., 1978; cité par COLLIGNON, 1984). Le contrôle de la libération de PRL est réalisé par l'hypothalamus vraisemblablement à l'intervention de deux facteurs stimulateurs et de deux facteurs inhibiteurs. De plus, la PRL peut exercer un rétro-contrôle sur l'hypothalamus.

EVOLUTION AU COURS DU CYCLE : L'évolution plasmatique de la PRL est parallèle à celle de la LH : taux basal et pic pré-ovulatoire.

ROLE DE L'HORMONE : LEGAN et KARSH (1979) tiennent cette hormone pour responsable de l'établissement et de l'arrêt du cycle, puisque l'évolution annuelle des taux plasmatiques est semblable à celle de la longueur du jour : 200 à 300 ng/ml en juillet, 20 ng/ml en décembre. Bien que la PRL soit lutéotrophique ou anovulatoire (par inhibition du pic de LH) selon sa concentration (MARTIN, 1984), ses rôles possibles lors des phénomènes morphologiques de la croissance folliculaire sont encore inconnus.

c. Hormones ovariennes

OESTROGENES

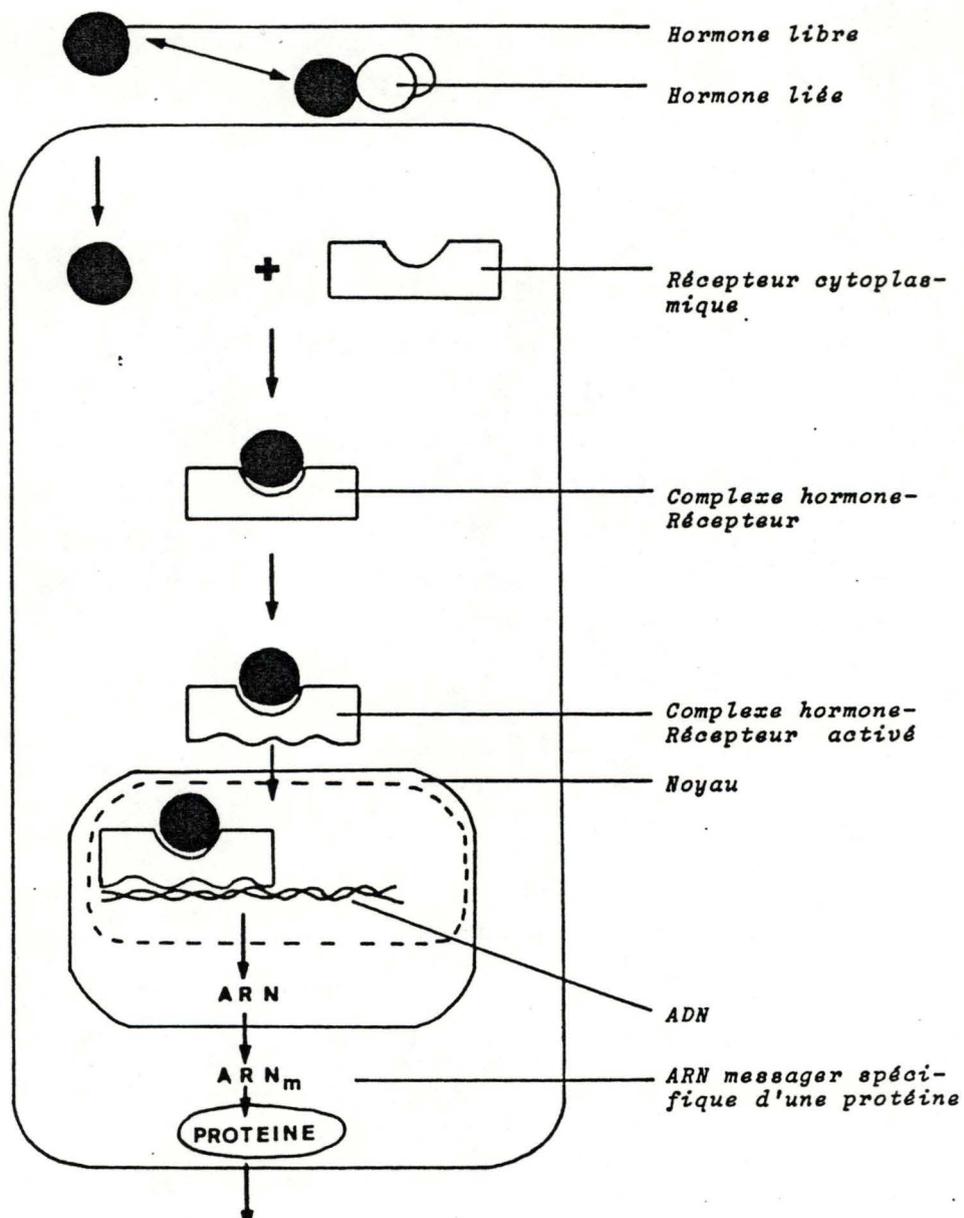
NOMS ET STRUCTURES DES HORMONES : Divers oestrogènes sont connus. Les principaux sont : *L'oestrone*, premier stéroïde hormonal isolé. Il a un rôle peu connu et apparemment peu important.

L'oestriol, qui aurait une origine plus placentaire qu'ovarienne.

L'oestradiol-17-β, appelée également *folliculine*. On a longtemps cru que c'était la véritable hormone folliculaire. BAIRD et al., ont montré que l'androstènedione était en fait sécrétée plus abondamment par le follicule que l'oestradiol.

Les oestrogènes sont tous des stéroïdes aromatisés (cycle A benzénique).

FIGURE 13 : MECANISME D'ACTION DES HORMONES STEROIDIENNES



LIEU ET MODE DE SECRETION : La synthèse des oestrogènes est assurée par les cellules de la granulosa, à partir des androgènes, par cyclisation du noyau A en phénol. La thèque interne a une faible capacité d'aromatisation. De ce fait, la majeure partie des stéroïdes qu'elle secrète sont des androgènes qui peuvent être repris par les cellules de la granulosa. Le placenta et le cortex surrénalien sont également aptes à réaliser cette synthèse oestrogénique.

Les oestrogènes sont déversés dans le sang où ils voyagent sous trois formes : libres, liés à une protéine vectrice non spécifique (SA) ou spécifique (protéine porteuse des stéroïdes hydroxylés : oestrogènes et androgènes) ou conjugués. Les oestrogènes ne sont actifs que sous forme libre. Leur demi-vie plasmatique est d'environ 20 minutes, ce qui permet une action rapide.

EVOLUTION AU COURS DU CYCLE : Les variations du taux plasmatique des oestrogènes ont été décrites par LEGAN et KARSH (1979) et HAUGER et al. (1977). Lors d'un cycle oestral, trois vagues sont observées à J"4", J"8 à 11" et J"-3 à 0". Ces vagues varient entre 1 et 10 pg/ml. L'oestradiol-17- β présente, en période préovulatoire, un pic qui peut atteindre 25 pg/ml. Ce pic débute à J"15" et précède les autres pics hormonaux préovulatoires.

ROLE DE L'HORMONE : L'E_{17 β} est responsable du comportement d'oestrus qui débute quelques heures avant le pic de LH et qui dure de 24 à 48 heures, selon la race et l'individu. En outre, l'E_{17 β} renforce le feed-back négatif de la progestérone en période lutéale et agit par feed-back positif en période de pro-oestrus. L'E_{17 β} est nécessaire au déclenchement de l'ovulation.

PROGESTAGENES

NOM ET STRUCTURE DE L'HORMONE : La progestérone est la prin-

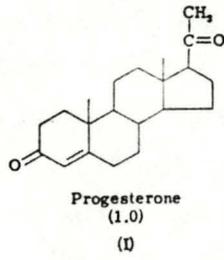
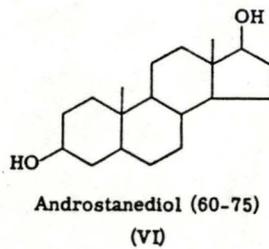
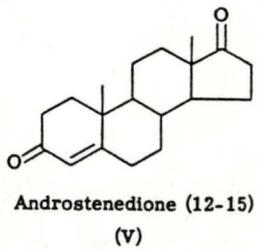
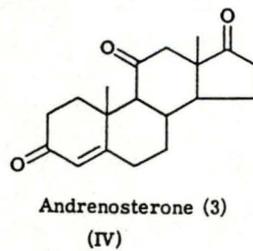
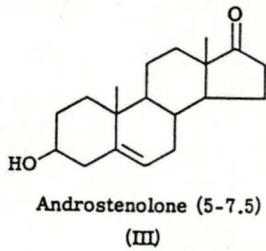
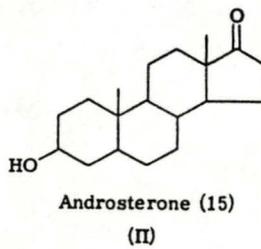
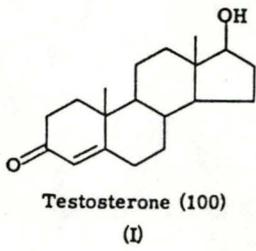


FIGURE 14 : Structure de la progestérone

FIGURE 15 : Structures des principaux androgènes



cipale hormone progestagénique. C'est également un stéroïde donc une substance lipidique de faible poids moléculaire.

LIEU ET MODE DE SECRETION : La progestérone est sécrétée au niveau de l'ovaire par les cellules thécales (thèque interne) et granulosaes des follicules et par le corps jaune. Le placenta assure la sécrétion de progestérone pendant la gestation. La demi-vie plasmatique de la progestérone est de 30 minutes. La sécrétion de progestérone est stimulée par les hormones à activité lutéinisante et spécifiquement par la LH.

EVOLUTION AU COURS DU CYCLE : Les follicules entretiennent un faible taux basal en période préovulatoire, qui oscille entre 0,2 et 0,4 ng/ml. Le corps jaune assure la sécrétion élevée de l'hormone en période lutéale maintenant le taux de progestérone à une valeur de 1,5 à 5 ng/ml selon les auteurs. En fin de di-oestrus, la lutéolyse provoque la chute de progestéronémie. Le cycle est divisé en deux périodes dont la plus longue est à dominance progestéronémique (phase lutéale de 12 à 13 jours), et la plus courte à dominance oestrogénique (phase préovulatoire de 3 à 4 jours).

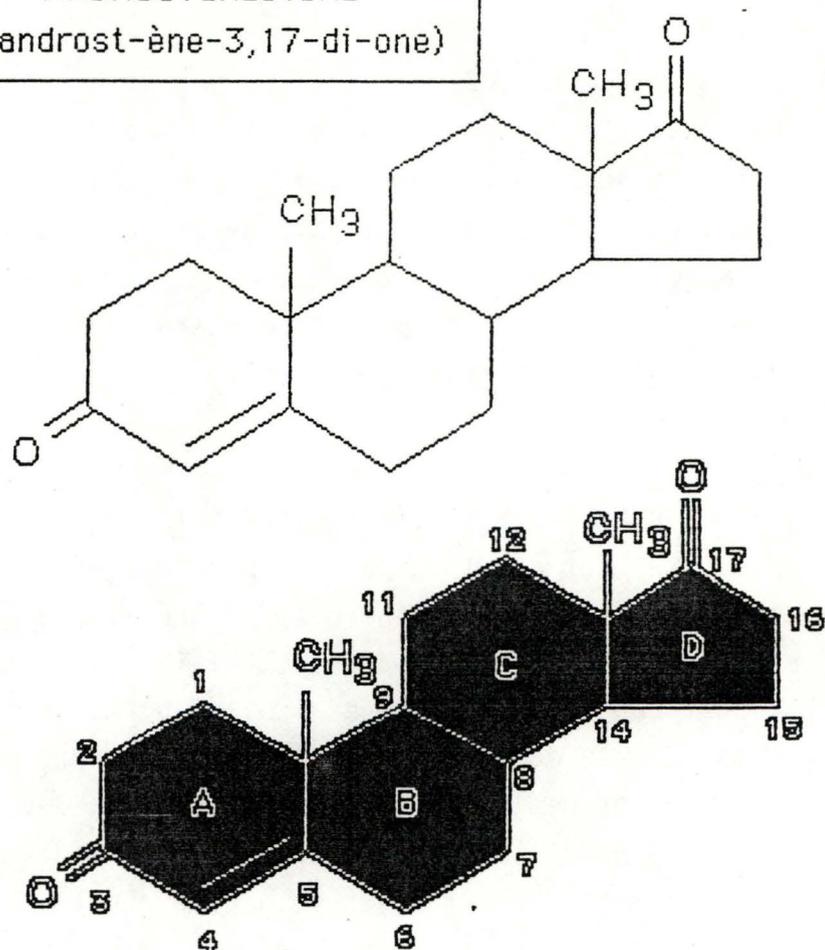
ROLE DE L'HORMONE : La progestérone, malgré sa courte demi-vie, peut amener une réponse biologique grâce à sa production importante et continue en phase lutéale. CAHILL *et al.*, (1980) ont décrit le taux de progestérone circulant comme le reflet direct du taux d'ovulation.

ANDROGENES

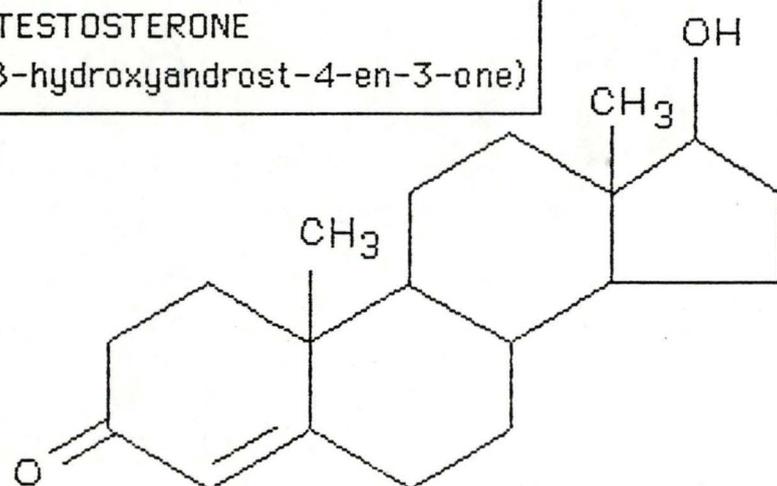
NOMS ET STRUCTURES DES HORMONES : Les androgènes doivent leur nom à la découverte de leur action. Ce sont les hormones qui permettent le développement de type mâle. La testostérone est la première hormone mâle découverte. Depuis, de nombreux autres stéroïdes androgéniques ont été isolés. Chez la brebis, les deux hormones principales sont la *testostéro-*

Tableau 2

ANDROSTENEDIONE
(Δ^4 -androst-ène-3,17-di-one)



TESTOSTERONE
(17 β -hydroxyandrost-4-en-3-one)



Δ^4 -ANDROST-ENE-3,17,DI-ONE

- . ANDROST : pour androgène
- . Δ^4 -ENE : pour la double liaison à partir du 4^{ème} carbone (cycle A)
- . 3,17-DI-ONE : pour les deux cétones sur le carbone 3 et le carbone 17
- . Présence de deux méthyls en 10 et 13 comme la progestérone

ne et l'*androstènedione* (voir fig. 15). Ces deux stéroïdes ne diffèrent qu'au niveau de la fonction sur le carbone 17 du cycle D. La testostérone y est hydroxylée, alors qu'une cétone à cet endroit détermine l'*androstènedione*. Les noms scientifiques exacts de ces hormones sont respectivement :

- 17 β -HYDROXY-ANDROST-4-ENE-3-ONE et,
- Δ_4 ANDROST-ENE-3,17-DI-ONE. (Tableau 2)

LIEU ET MODE DE SECRETION : Ces deux hormones sont secrétées par les ovaires et le cortex surrénalien de la brebis (BAIRD et al., 1973; cités par MARTENSZ et al., 1976). La sécrétion ovarienne est liée, pendant le cycle oestral, à celle de l'E_{17 β} (BAIRD et al., 1976). La synthèse des androgènes est assurée par les cellules de la thèque interne des follicules de taille supérieure à 4,5 mm (MOOR, 1973; BAIRD et al., 1974; ARMSTRONG et al., 1981) à partir de la progestérone. La granulosa possède un système enzymatique capable d'aromatiser le cycle A pour former l'E_{17 β} (BAIRD et SCARAMUZZI, 1974; RICHARDS, 1980; HSUEH et al., 1984; cité par MELNER et al., 1986). Ces aromatasés sont actives suite à la stimulation de la LH et de la FSH (LEUNG et ARMSTRONG, 1980). Une grande quantité d'androgènes provient de l'activité des follicules non-ovulatoires (WEBB et ENGLAND, 1982; ENGLAND et al., 1981)

LA SECRETION OVARIENNE DE L'ANDROSTENEDIONE : Trois compartiments peuvent produire l'*androstènedione* au niveau de l'ovaire : le follicule, le corps jaune et le stroma (BAIRD et al., 1974). En effet, la faible quantité d'*androstènedione* secrétée par l'ovaire contralatéral à celui qui contient les gros follicules ou les corps jaunes provient du stroma et/ou des follicules atrétiques. Mais en période d'anoestrus, seuls les follicules de taille supérieure à 4mm secrètent cet androgène (MAC KENZIE et al., 1937; THIMONNIER et MAULEON, 1969; cités par MARTENSZ et al., 1976). L'*androstènedione* non reprise par les cellules de la granulosa peut

subir la conversion extraglandulaire en oestrone (BAIRD et al., 1968; cité par MARTENSZ et al., 1976)

EVOLUTION AU COURS DU CYCLE : Les concentrations sanguines des androgènes sont identiques en anoestrus et en phase lutéale du cycle. En début de pro-oestrus, la concentration des androgènes croît puis se maintient jusqu'au pic d'oestrogènes. En fin de pic préovulatoire des gonadotropines, il y a inhibition de la production des androgènes (ENGLAND et al., 1981; MAC NATTY et al., 1981; cités par WEBB et GAULD, 1984).

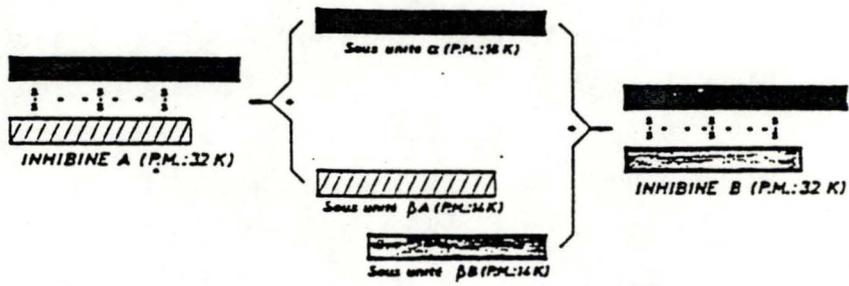
ROLE DES ANDROGENES : Chez la femelle, les androgènes inhibent l'action des oestrogènes, et à fortes doses, ils arrêtent la croissance folliculaire. De là, SCARAMUZZI et MARTENSZ (1975; MARTENSZ et al., 1976; SCARAMUZZI et al., 1977) suggèrent que les androgènes ont un rôle modulateur possible du feed-back des oestrogènes.

DECOUVERTE DE LA PRODUCTION D'ANDROGENES PAR L'OVAIRE :

La découverte de la production d'androgènes par l'ovaire a été très surprenante (PARKER, 1950). Le concept d'androgènes ovariens est apparu dans les années '30, suite à des études de l'effet à long terme de l'hormone choriogonadotropique (HCG) qui provoquait une hypertrophie frappante de la thèque interne (ERICKSON et al., 1985). La première découverte, effectuée en 1934 par PAPANICOLAOU et FALK, résultait de l'observation de la même hypertrophie anormale liée à la masculinisation de la femelle (ERICKSON et al., 1985). Il fallut attendre 1937 et les expériences microchirurgicales de HILL pour avoir les premières preuves de la sécrétion d'hormones androgéniques par l'ovaire. HILL greffa des ovaires sur les oreilles de souris mâles castrées, provoquant le retour à l'état différencié normal de la vésicule séminale et de la prostate atrophiées. DEANESLY (cité par ERICKSON et al., 1985) confirma cette découverte et montra que cet effet se produisait même en absence de glande surrénale. Vingt ans

FIGURE 16

LES INHIBINES GONADIQUES



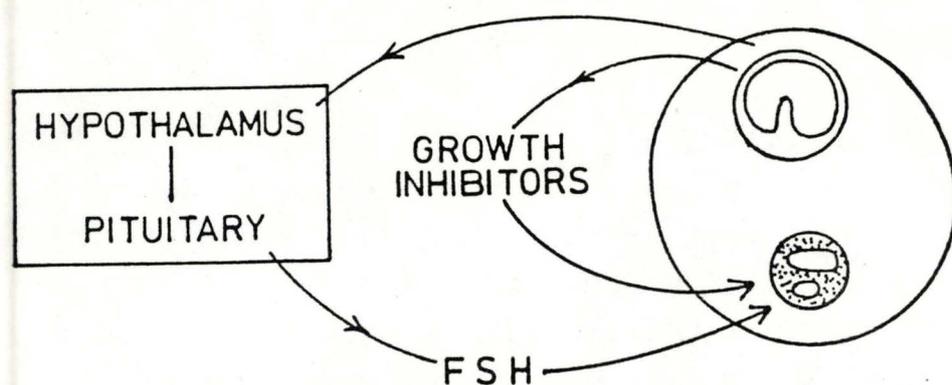
plus tard, FALK et al. (1962), ont localisé la production d'androgènes aux seules cellules de la thèque interne et du tissu interstitiel secondaire. Les preuves finales ont été données par RYAN et PETRO (19) et RICE et SAVARD (19) : par méthodes biochimiques, ils ont montré l'existence d'une synthèse *de novo* des androgènes par ces cellules.

INHIBINE

NOM ET STRUCTURE DE L'HORMONE : L'inhibine est une substance protidique qui doit son nom à son action principale d'inhibition de la croissance folliculaire. YING et al. (1985) ont déterminé sa structure : c'est une hormone constituée de deux sous-unités "alpha" et "bêta". La première a un poids moléculaire de 18.000 daltons et la seconde, présente sous deux formes possibles A et B, a un poids moléculaire de 14.000 daltons.

LIEU ET MODE DE SECRETION : L'inhibine est produite à la fois par les testicules (SETCHELL et al., 1972) et par les ovaires (BLANC, 1980) où elle porte le nom d' *inhibin-like*. Au niveau ovarien, elle est sécrétée dans le liquide folliculaire de la plupart des espèces étudiées. Les cellules de la granulosa seraient responsables de cette élaboration (ERICKSON et HSUEH, 1978)

CIBLE D'ACTION : L'inhibine agit à trois niveaux. Dans les gonades, les gros follicules synthétisent moins d'inhibine que les petits et il semble que le pic post-ovulatoire de FSH soit favorisé par la diminution de la sécrétion d'inhibine (SCHWARTZ et CHANNING, 1977; BLANC, 1980). Mais tous les auteurs n'observent pas cette relation inverse (MILLER et al., 1979). L'inhibine agirait aussi au niveau hypophysaire (FRANCHIMONT et al., 1980) et au niveau hypothalamique (DE PAOLO et al., 1976), mais l'action de l'inhibine sur cette dernière cible est encore sujette à controverse (DEMOULIN et al., 1980).



Diagrammatic representation of the dual action of follicular fluid components.

FIGURE 17 : Relations existant entre les protéines du fluide folliculaire et les autres hormones

Tableau des taux sanguins des hormones

<u>HORMONE</u>	<u>TAUX BASAL</u>	<u>PIC PREOVULATOIRE</u>	<u>REFERENCES</u>
<i>LH</i>			
Luteinizing Hormon	1 à 5 ng/ml	50 à 200 ng/ml	BISTER, 1980 PELLETIER, 1968
<i>FSH</i>			
Follicle Stimulating Hormon	4 à 17 5 à 6 ng/ml	30 à 200 10 à 15 ng/ml	BISTER, 1980 BINDON <i>et al.</i> , 1976 et CAHILL, 1979
<i>PRL</i> Prolactine		200 à 300 ng/ml en Juillet jusqu'à 20 ng/ml en Décembre	
<i>DESTRAADIOL</i> Principal Oestrogène	100 à 200 pg/ml	700 à 800 pg/ml	
	Fluide antral : 10 à 1000 ng/ml selon la taille		
<i>PROGESTERONE</i> Principal Progestagène	0,4 à 0,5 100 ng/ml	3 2000 ng/ml	BISTER, 1980 MAC NATTY <i>et al.</i> , 1981

Remarque : Les taux renseignés sont très variables selon les auteurs. Cela est dû à la grande variabilité entre les races et entre les individus.
De plus, cela dépend de la pureté des standards hormonaux utilisés dans les dosages.

ROLE DE L'INHIBINE : L'inhibine contrôle la sécrétion de FSH au niveau de l'adénohypophyse, de façon spécifique, en la limitant (BLANC, 1980). Par cette diminution de la sécrétion de FSH, l'inhibine réduit l'aromatisation et, dès lors, favorise l'involution des follicules. Les travaux de YING et al. (1986) ont également montré que l'inhibine réduit directement l'aromatisation induite au niveau des cellules de la granulosa de rat.

d. Hormones utérines

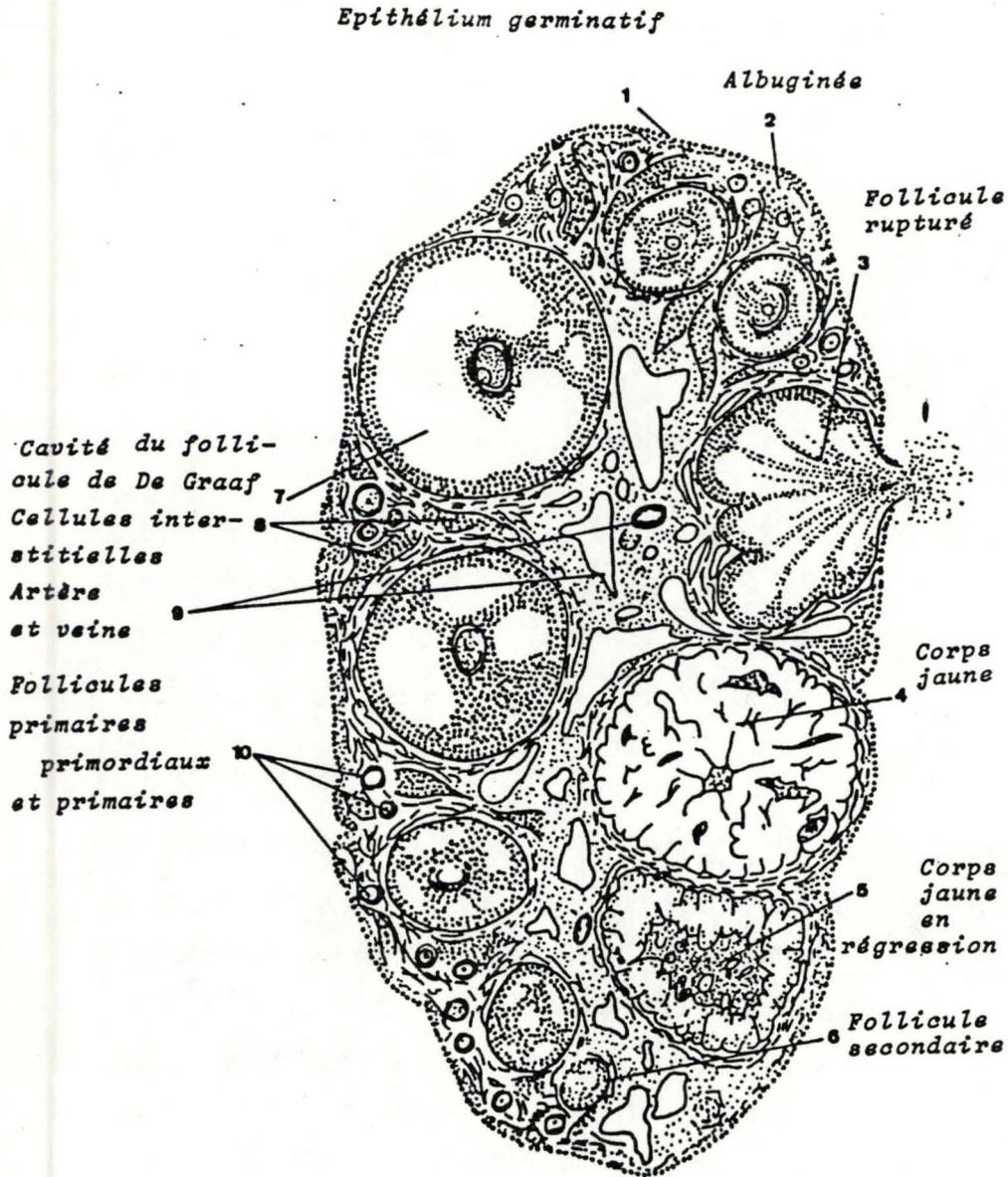
PGF_{2a}

NOM ET STRUCTURE DE L'HORMONE : La PGF_{2a} est une prostaglandine, donc une hormone dérivée de l'acide arachidonique.

LIEU DE SECRETION : L'utérus est une glande endocrine importante dans le contrôle du cycle oestral. Il sécrète au niveau de l'endomètre la PGF_{2a} qui, par voie sanguine, agit sur les follicules. Cette synthèse est favorisée par l'ocytocine.

ROLE DE LA PGF_{2a} : La PGF_{2a} est une hormone lutéolytique. Chez la brebis, de même que chez le rat, le cobaye et le hamster, chaque corne utérine contrôle la lutéolyse de l'ovaire ipsilatéral (situé du même côté). La PGF_{2a} dissocie les complexes hormones lutéinisantes-récepteurs membranaires (LH principalement) et amène de cette façon la destruction du corps jaune. La lutéolyse est renforcée par un effet de constriction vasculaire, dû à la PGF_{2a}, ce qui produit une diminution de l'irrigation du corps jaune.

FIGURE 18 : ORGANISATION ET STRUCTURE DE L'OVAIRE



C. La croissance folliculaire

1. Brève description des étapes de la dynamique folliculaire

De sa formation à l'ovulation ou à sa disparition par atresie, tout follicule subit dans le même ordre les étapes de croissance. L'ensemble de ces étapes constitue la dynamique folliculaire.

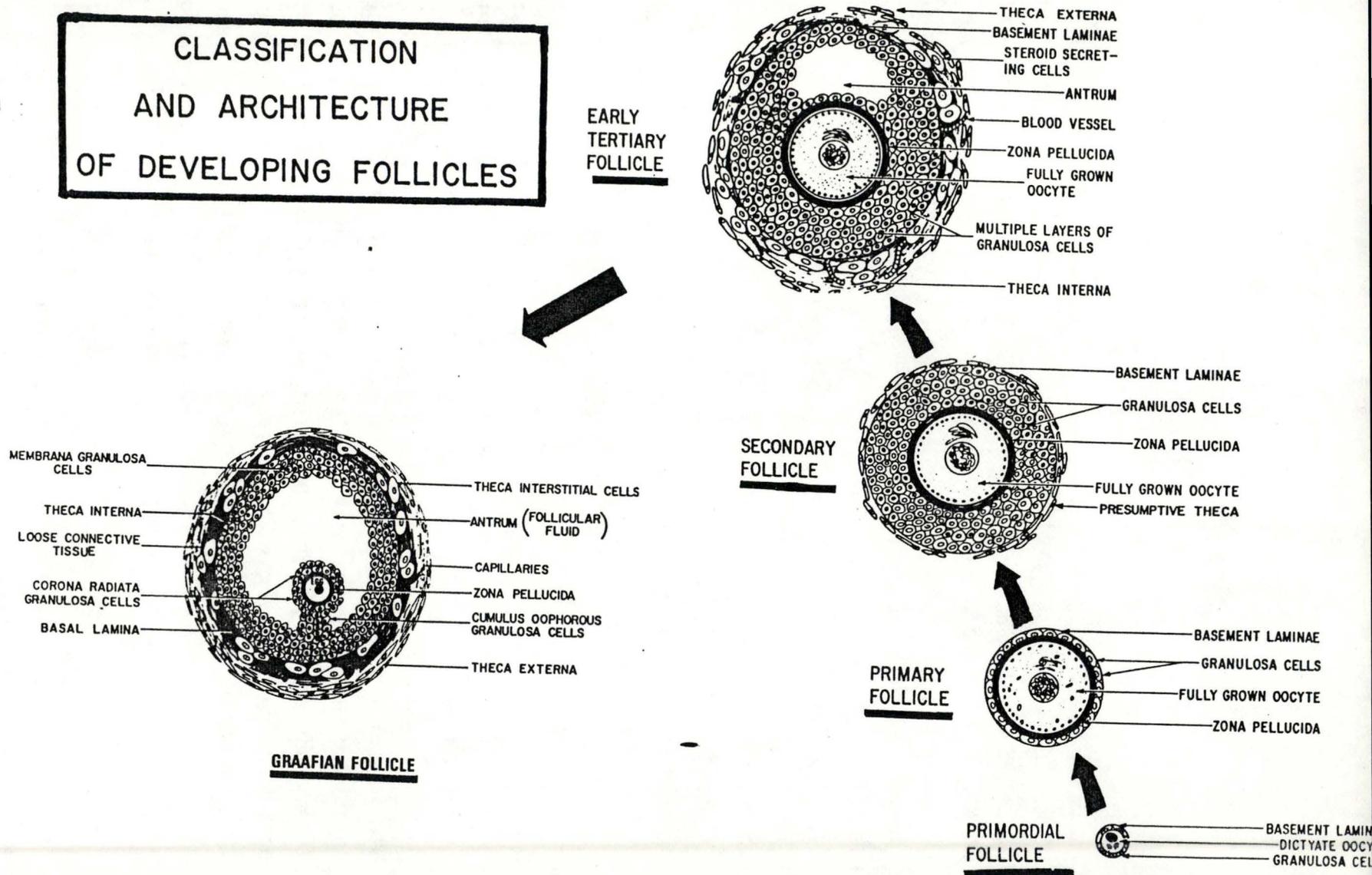
Dès avant la naissance, les cellules ovariennes se différencient en cellules reproductrices, en cellules protectrices des premières et en cellules de soutien (stroma). Cette phase de *multiplication* constitue un stock de follicules primordiaux. Ensuite débute la croissance folliculaire primaire ou *folliculogenèse* qui amène certains de ces follicules à leur différenciation complète. Enfin, après une attente plus ou moins longue, le follicule peut être *recruté* pour entamer sa *maturation*. Pendant cette croissance terminale le follicule subira le jeu de la *sélection* qui lui présente deux destinées : la dégénérescence (*atresie*) ou la dominance lui permettant d'ovuler.

2. La phase de MULTIPLICATION

Au cours de la vie foetale, un stock de follicules primordiaux se constitue à partir de l'épithélium germinatif de la zone corticale. Les follicules sont des structures sphériques de quelques cellules de surface entourées par la membrane basale et contenant en leur centre un ovocyte de 1er ordre, dérivé par division réductionnelle méiotique de l'ovogonie. Cet ovocyte reste au stade diplotène jusqu'à la puberté. Pendant cette phase, les composants cytoplasmiques de l'ovocyte sont concentrés autour du noyau (GURAYA, 1964; ZAMBOWI, 1974). Toutefois, l'ovocyte est déjà capable de synthèses protéiques (OAKBERG, 1968; BAKER *et al.*, 1969; RVERSI et SILBERSTRINI, 1969). Le follicule primordial peut parfois contenir plus d'un ovocyte (BRAMBELL, 1956).

FIGURE 19

**CLASSIFICATION
AND ARCHITECTURE
OF DEVELOPING FOLLICLES**



Photomicrographs showing the architecture and classification of ovarian follicles during their growth and development. At the secondary stage, the follicle becomes surrounded by the prospective TI cells. At the early tertiary stage some precursor theca cells transform into large polygonal cells and express their differentiated state as TI cells. In the Graafian follicle the number of differentiated TI cells increases as a result of mitosis in a stem cell population.

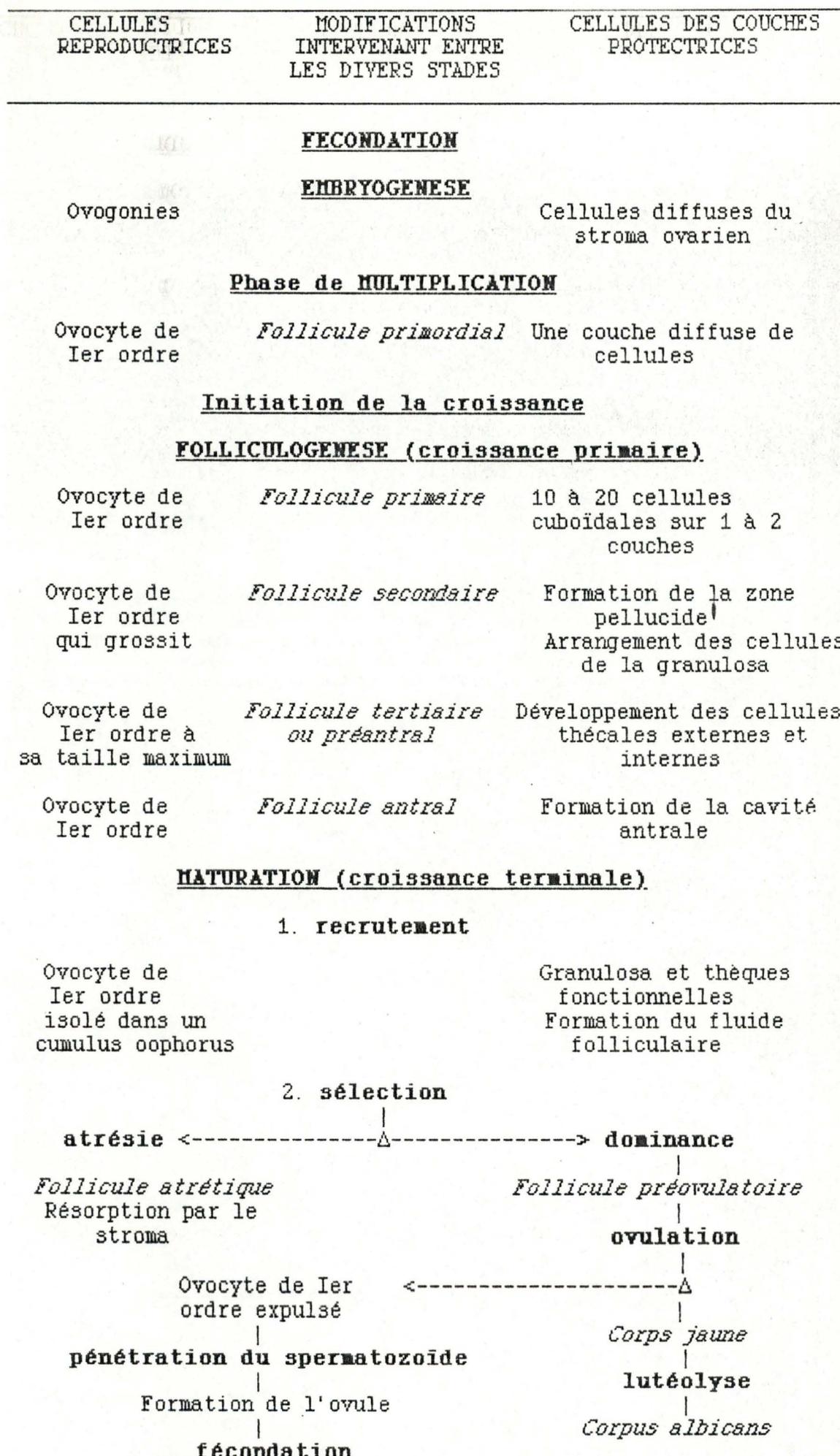


FIGURE 20 : Les différentes étapes de la vie folliculaire

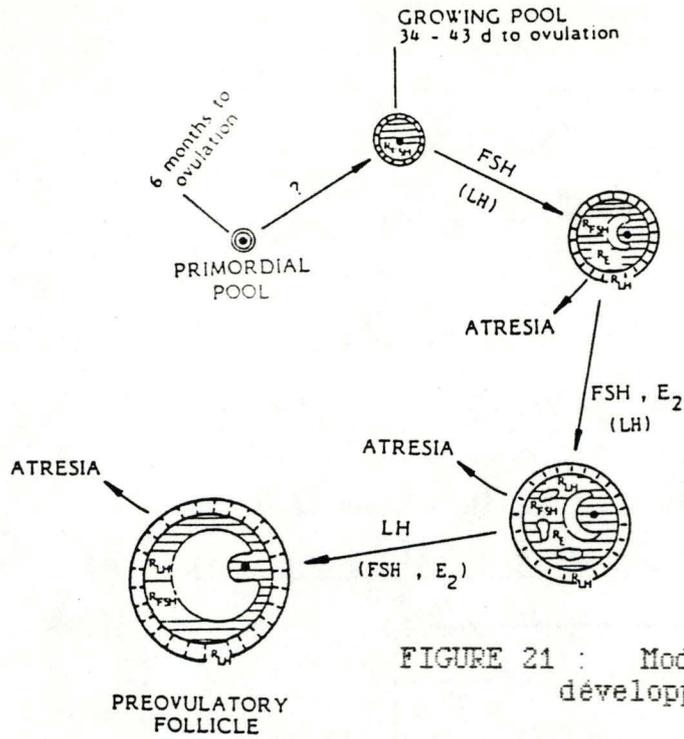
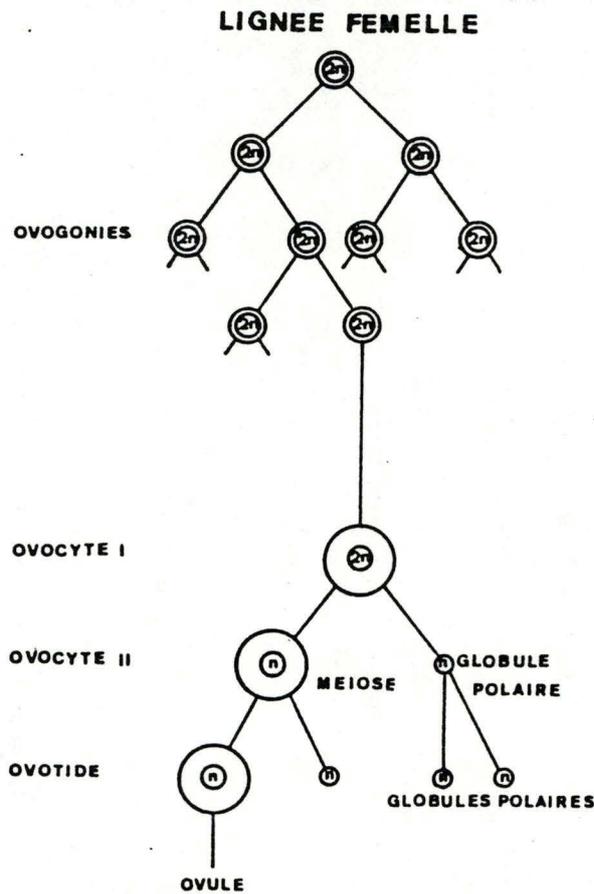


FIGURE 21 : Modèle de croissance et de développement du follicule ovarien

Schematic model of the growth and development of the ovarian follicle in the ewe. R indicates the presence of receptors for LH, FSH or oestradiol (E), as specified, in the inner granulosa or outer thecal layers of the follicle. The hormones listed by the arrows between successive stages of development are the major hormones required for different stages of growth, while those in parentheses may be required in a more facilitatory capacity.

FIGURE 22 : Ovogenèse



La population folliculaire, quoique très hétérogène, peut être classée selon la forme et le nombre de cellules (MANDL et ZUCKERMAN, 1950; PETERS et LEVY, 1964).

En fin de vie foetale, le nombre de follicules primordiaux est maximum. Il dépend de la quantité des cellules germinales ayant subi la méiose, plus aucun ovocyte n'étant formé après la naissance (MAULEON et MARIANNA, 1977). De plus, la dégénérescence des ovocytes commence dès l'apparition des premiers follicules primordiaux (MAULEON et MARIANNA, 1977). On estime de 12 à 86.000 le nombre maximum de follicules primordiaux à la naissance (CAHILL *et al.*, 1979; MACNATTY *et al.*, 1982). Ensuite, il diminue rapidement.

a. Initiation de la croissance folliculaire

Il est difficile de déterminer le moment exact de l'entrée en croissance du follicule. Selon CAHILL (1979), les critères les plus employés sont morphologiques : forme, nombre ou arrangement des cellules. Mais le critère le plus objectif reste l'évolution fonctionnelle (divisions mitotiques).

MAULEON (1978) note que l'entrée en croissance des follicules est possible dès la fin de la phase de dégénérescence des ovocytes. De fait, les femelles à longue période de gestation mettent au monde des jeunes à grands follicules préantraux (LAND, 1970; KENNEDY *et al.*, 1974).

FADDY *et al.* (1976), sur base de travaux d'induction de l'ovulation à la PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) ou à la HCG (Hormone Choriogonadotrope) en période prépubertaire, suggèrent que l'initiation de la croissance folliculaire permet la constitution d'un stock de follicules primaires de 10 à 20 cellules cuboïdales. Mais ce stock n'est pas définitif ; les follicules primordiaux entrent continuellement en croissance pendant toute la vie, jusqu'à épuisement de la réserve.

MARIANNA (1978, sur la ratte) et CAHILL et MAULEON (1980, sur la brebis), distinguent les follicules primordi-

Criteria used to determine the onset of initiation of follicular growth

CRITERIA	Species	REPORT
Follicle size - 100 u diam.	Human	Strassman (1923 ; cited by Block, 1951)
Follicular cells		
(a) arrangement - 2 layers of cells	Rat	Mandl & Zuckerman (1950)
- 1 layer - cuboid cells	Mouse	Pedersen & Peters (1968)
(b) number - 20 cells	Mouse	Peters (1973)
- 14 cells	Human	Lintern-Moore, Peters, Moor & Faber (1974)
- 10 cells	Mouse	Lintern-Moore & Moore (1979)
(c) shape - cuboid cells	Human	Schroeder (1930 ; cited by Block, 1951)
	Human	Block (1951)
Division of follicular cells		
(a) mitosis observed	Human	Hisaw (1947)
(b) incorporation of labelled thymidine	Rat	Mariana (1979)
Oocyte characteristics		
- distribution of organelles in cytoplasm	-	Guraya (1964, 1965)
	Rat	Zamboni (1974)
- RNA synthesis	Mouse	Lintern-Moore & Moore (1979)

FIGURE 23 : Critères communément employés
pour la détermination du moment de
l'initiation de la croissance folliculaire
(CAHILL, 1979)

aux *dormants* (de 25 à 40.000 selon l'espèce et en relation négative avec la prolificité), de petite taille et n'évoluant pas, et les follicules primordiaux *transitoires* (de 5 à 15.000), plus gros et aptes à commencer la folliculogénèse. La réserve de follicules transitoires suffit cependant à toute la vie sexuelle de la brebis. Il est improbable, en conditions normales, que les follicules dormants entrent en phase de croissance.

b. Contrôle de l'initiation de la croissance

CAHILL (1979) cite de nombreuses expériences montrant une indépendance relative des follicules primordiaux vis-à-vis des gonadotropines. Toutefois, il tente d'expliquer le contrôle de l'entrée en croissance par l'effet indirect des gonadotropines sur la stimulation de la production du fluide folliculaire des gros follicules, fluide qui permettrait l'entrée en croissance des autres follicules. Il évoque aussi le manque de connaissance sur le temps de réponse aux gonadotropines. Quant à INGRAM (1953) et JONES et KROHN (1961) ils suggèrent que les gonadotropines réduisent le taux d'initiation de la croissance.

PETERS (1973) cherche la raison du taux élevé de l'initiation de la croissance, chez l'animal nouveau-né, dans la corrélation positive entre ce taux et le nombre de follicules préantraux existant déjà. Mais la plupart des autres chercheurs n'ont pas observé cette corrélation positive (CAHILL, 1979).

3. La phase de croissance primaire ou folliculogénèse

a. Changements morphologiques

Selon PETERS (1976), une fois l'initiation franchie, le follicule n'a comme seule possibilité que de croître jusqu'au stade de follicule *antral*. Le passage du stade primaire au stade antral entraîne le follicule vers l'intérieur de

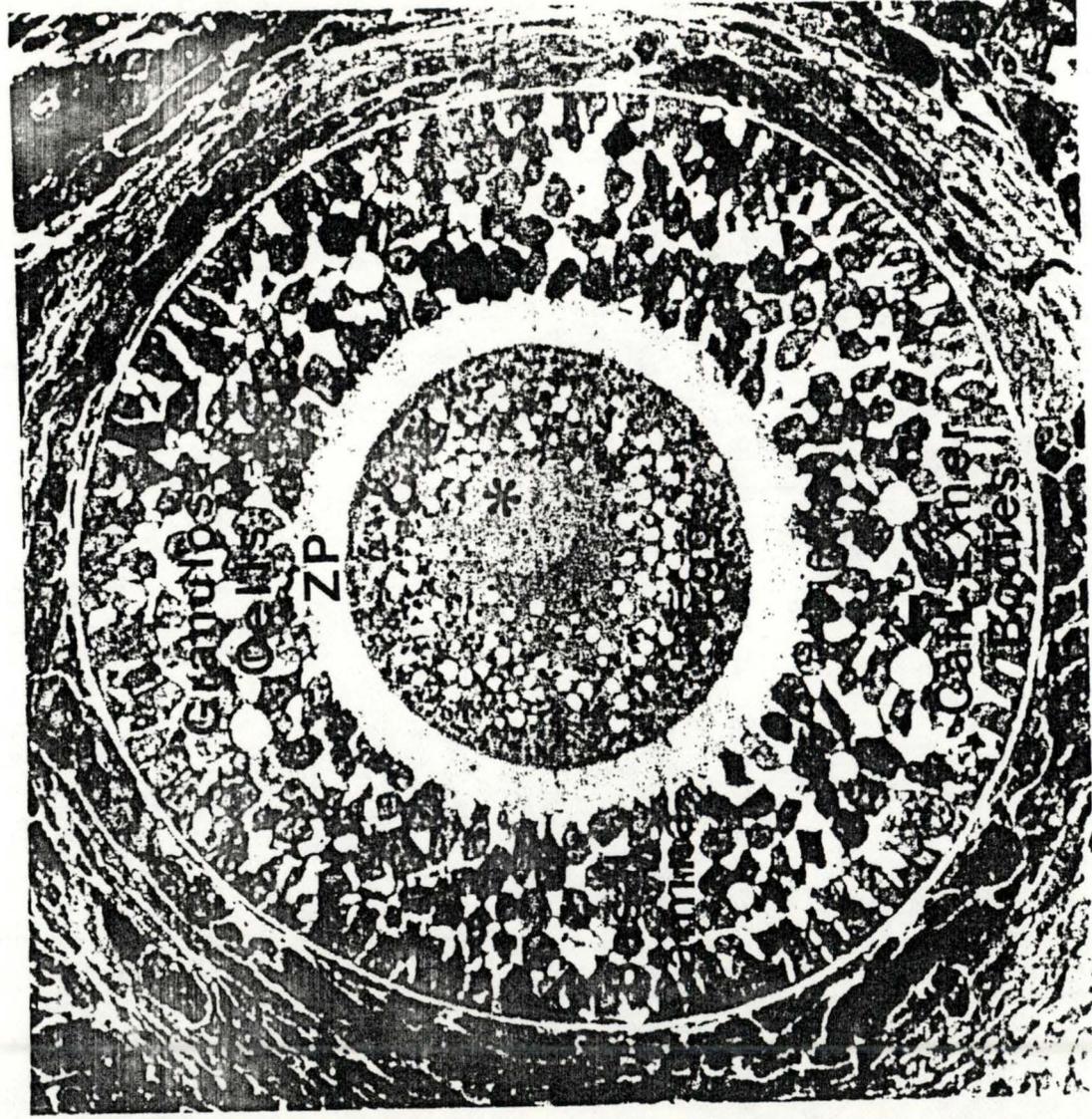


FIGURE 24 : Structure morphologique du follicule préantral

l'ovaire. La folliculogénèse dure environ 6 mois, dont les 3 premiers sont nécessaires pour passer du follicule primaire à trois couches de cellules au follicule *préantral* (CAHILL, 1981). La dégénérescence, à ce stade, est rare, voire inexistante (PETERS, 1976; CAHILL, 1981). Voici les différentes étapes que le follicule suit dans l'ordre :

- **CROISSANCE DE L'OVOCYTE** (BRAMBELL, 1928):

L'ovocyte grandit rapidement jusqu'à sa taille maximum. Cette phase (A) est métaboliquement très active: synthèse importante de RNA (MOORE et LINTERN-MOORE, 1974). Ensuite, la croissance du follicule prend le dessus (phase B).

- **FORMATION DE LA ZONE PELLUCIDE**, constituée de fibres mucopolysaccharidiques (BAKER, 1970). Cette zone apparaît dès que le follicule *primaire* est formé. Le follicule passe alors au stade de follicule *secondaire*.

- **ARRANGEMENT DES CELLULES DE LA GRANULOSA**, en colonnes (tamis), en cellules cuboïdes entourant l'ovocyte et en cellules dispersées formant la *corona radiata*. Le tout est maintenu par des *gap-junctions* avec l'ovocyte.

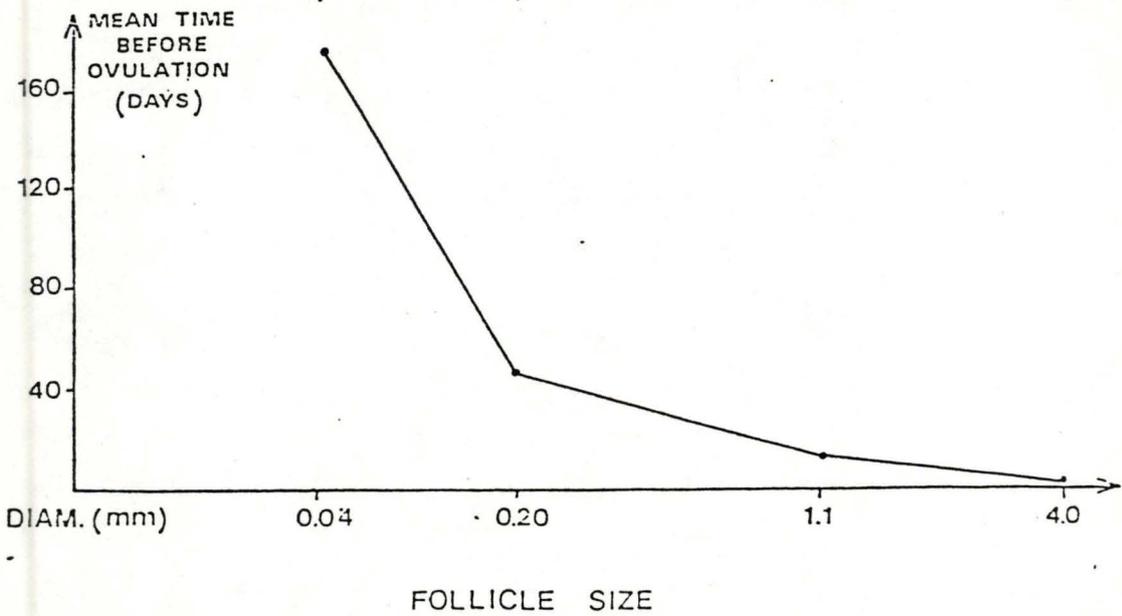
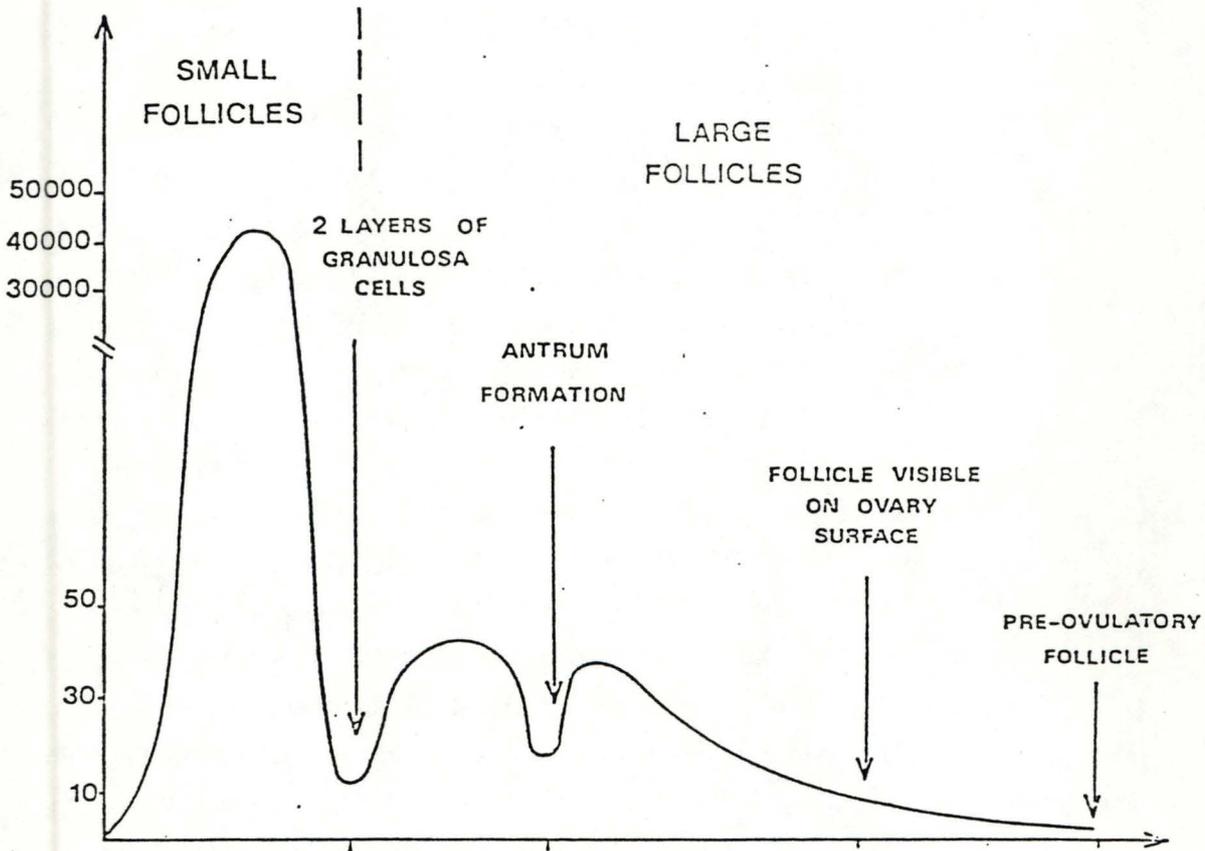
- **DEVELOPPEMENT DES CELLULES THECALES** (HARRISON, 1962). La thèque se forme à partir des cellules du stroma et se structure en thèque interne, glandulaire et bien vascularisée, et en thèque externe, conjonctive et musculaire lisse.

- **FORMATION DE L'ANTRUM**. Dès la formation des couches thécales, le follicule *tertiaire* se creuse dans la granulosa. Les cavités s'emplissent de fluide folliculaire (20 % du volume du futur follicule *antral*), sécrétion des cellules de la granulosa, et dans une moindre mesure, des cellules de la thèque interne. Le follicule devient antral par formation d'une cavité unique résultant de la jonction des différentes cavités.

b. Régulation hormonale

Les gonadotropines ont une influence à toutes les étapes de la folliculogénèse :

NUMBER OF FOLLICLES



Schematic diagram of the follicular populations (taken from Chapter 3) and the overall mean time taken for a follicle to grow from three layers of granulosa cells until the pre-ovulatory stage. Follicle sizes refer to fixed ovaries.

FIGURE 25 : La population folliculaire et les temps de croissance (CARILL 1979)

INFLUENCE SUR LE FOLLICULE PREANTRAL : La FSH agit directement sur les récepteurs des cellules de la granulosa et augmente le nombre de follicules préantraux. RYLE (1971) estime que les follicules acquièrent des récepteurs à la FSH pendant la phase d'initiation, ce qui leur permet d'entrer dans la catégorie préantrale.

Les stades précédant la formation de l'antrum sont indépendants de toute stimulation par la LH. Seules les cellules thécales ont des récepteurs membranaires à la LH, encore peu développées à cette période (CAHILL, 1979).

La PRL augmente, selon DE REVIERS et MAULEON (1973), le nombre de petits follicules préantraux.

INFLUENCE SUR LA NAISSANCE DU FOLLICULE ANTRAL : La FSH a une action spécifique, probablement associée avec le pic oestral de FSH, sur la formation de l'antrum, menant le follicule à maturation pendant le cycle suivant.

La LH ne semble pas jouer de rôle à ce stade.

3. La phase de croissance terminale ou *maturation*

La *maturation* du follicule n'est qu'une simple croissance en taille, les différenciation cellulaires étant terminées. Le follicule antral est fonctionnel.

Le temps nécessaire pour passer du follicule antral au follicule *préovulatoire* est de 34 à 43 jours (TURNBULL et al., 1977; CAHILL et MAULEON, 1980). Le minimum de temps a été estimé à 48 heures, selon les expériences de SMEATON et ROBERTSON (1971) et MAC NATTY et al. (1981). Pendant cette phase, le diamètre folliculaire passe de 0.3 à plus de 6 mm (TURNBULL et al., 1977; CAHILL, 1981), par accroissement de la cavité antrale contenant le fluide folliculaire. L'activité sécrétoire est intense, en rapport avec une plus grande sensibilité du follicule aux régulations hormonales.

Au cours de la croissance terminale, le follicule passe par deux stades déterminés par le principal stéroïde sécrété (WEBB et GAULD, 1984) :

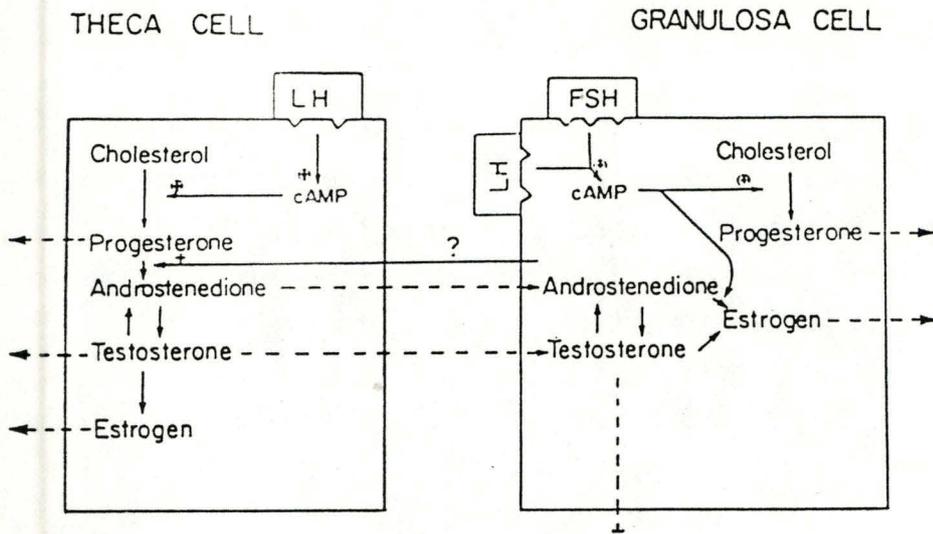
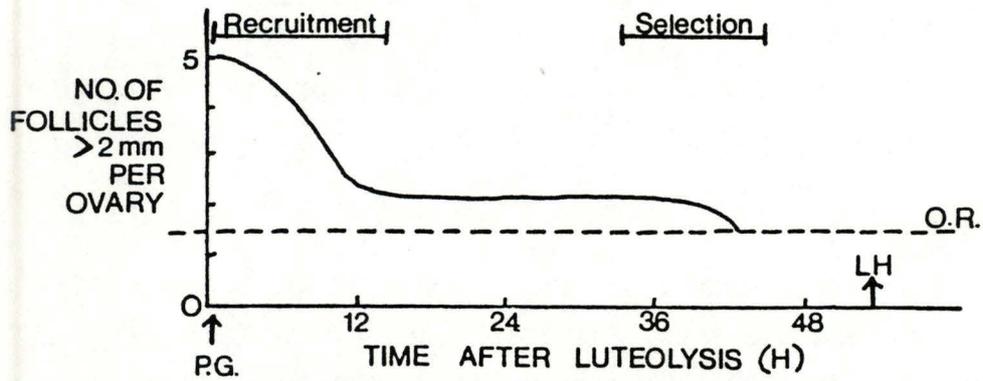


FIGURE 26 : Stéroidogénèse au sein des cellules folliculaires



Diagramatic representation of the decrease in the number of healthy follicles in the recruitment pool (> 2mm diam.) between luteolysis and the LH release in ewes with a low ovulation rate (adapted from Driancourt and Cahill 1984).

FIGURE 27 : Décroissance du nombre de follicules antraux après la lutéolyse

Le **STADE ANDROGENIQUE** : Le follicule possède des récepteurs à la FSH (granulosa) et à la LH (thèque). La production d'oestrogènes est restreinte.

Le **STADE OESTROGENIQUE** : Le follicule a une taille supérieure à 3 mm et acquiert des récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa. Cette acquisition est induite par la FSH, l'E_{17β} et l'HCG.

a. Le recrutement

Le recrutement est le choix d'un groupe de follicules capables d'entamer leur maturation (DI ZEREGA et HODGEN, 1981)

Les follicules recrutés le seraient parmi les follicules antraux dont la taille oscille entre 1 et 3 mm (MAC NATTY et al., 1982). Cependant, DRIANCOURT et CAHILL (1984) citent des tailles plus petites (0.5 à 1 mm), peut-être dues à un effet de la race. TSONIS et al. (1984), en détruisant tous les follicules supérieurs à 2 mm, ont retardé l'ovulation. On estime donc à 2 mm la taille nécessaire au follicule pour être recruté.

Le recrutement se fait dans les heures qui suivent l'apparition de la PGF_{2a} et serait en rapport avec la prolificité de la brebis. Il y a, selon GOODMAN et HODGEN (1979, a,b, cité par DRIANCOURT, 1985), coïncidence entre le recrutement et la lutéolyse. Il apparaît toutefois que le recrutement n'est pas un événement réservé à la phase folliculaire (pro-oestrus et oestrus), mais peut aussi se produire en période lutéale (SMEATON et ROBERTSON, 1971; BRAND ET JONG, 1973; cités par JEGO, 1984).

Les hormones gonadotropes sont essentielles pour la maturation, puisque 4 jours après hypophysectomie, tous les follicules supérieurs à 2 mm sont atrétiques (CAHILL, 1979). Pour la FSH, il n'y a pas de modification majeure du

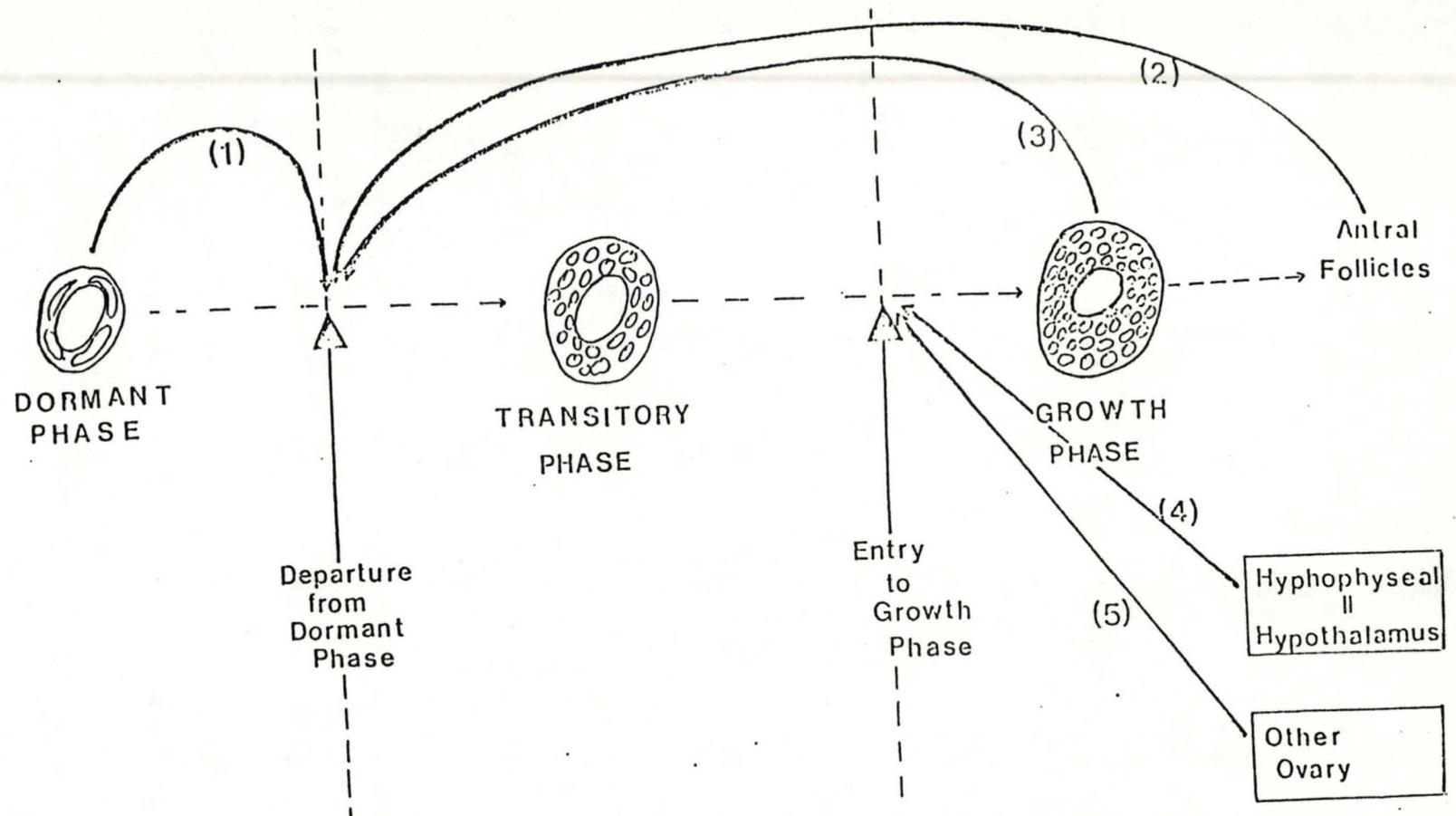


FIGURE 28 : (CAHILL, 1979) REGULATION OF INITIATION OF FOLLICLE GROWTH.

Regulating mechanisms controlling the two step process of initiation of follicle growth

- (1) Number of primordial follicles present (Krarup, Pedersen & Faber, 1969)
- (2) Presence of follicular fluid (Peters, Byskov & Faber, 1973)
- (3) Presence of follicles in growth phase (Ingram, 1953 ; Jones & Krohn, 1961)
- (4) Presence of gonadotrophins (Ingram, 1953 ; Jones & Krohn, 1961 ; present study, Chapter 4)

taux sanguin après la lutéolyse (CAHILL et al., 1981), alors que les pulses de LH s'accélèrent, ce qui laisse penser que la LH est l'hormone du recrutement. En effet, l'ovulation et la maturation peuvent être induites pendant l'anoestrus par injection de LH ou de HCG (GOODMAN et KARSH 1980; MAC NATTY et al., 1981; MAC NEILLY et al., 1985). Cependant, la LH n'est pas toujours suffisante et l'injection simultanée de LH et de FSH induit l'ovulation chez 100 % de brebis en anoestrus. La FSH est requise, vraisemblablement pour sensibiliser les follicules à la LH (DRIANCOURT et al., 1984). D'ailleurs, OUSSAID et al. (1982) et MAC NATTY et al., (1984) ont prouvé que la FSH agit sur les follicules avant que ceux-ci ne soient capables de répondre à la LH.

Le recrutement serait limité par une protéine du fluide folliculaire appelée *FGI* (Follicular Growth Inhibitor), qui réduit la prolifération des cellules de la granulosa et limite de cette façon la réponse folliculaire aux gonadotropines. Cette protéine est sécrétée par les gros follicules en bonne santé et réduit la sensibilité ovarienne à la PMSG (DRIANCOURT, 1985; CAHILL et al., 1984).

b. L'atrésie

L'*atrésie* est l'arrêt de croissance suivi de la dégénérescence cellulaire jusqu'à résorption du follicule par le stroma ovarien. Ce phénomène atteint la plupart des follicules : 1% des 3 à 400 follicules recrutés sont capables d'ovuler. Certains auteurs comme DRIANCOURT (1986) pensent que l'*atrésie* est le devenir naturel des follicules.

Les caractéristiques de l'*atrésie* sont *histologiques* (vascularisation de la thèque interne, pycnose des noyaux), *cytométriques* (nombre des cellules de la granulosa en rapport avec le diamètre folliculaire), *biochimiques* (accumulation d'androgènes et faibles concentrations en oestrogènes) et *fonctionnelles* (pouvoir réduit d'aromatisa-

MORPHOLOGICAL CRITERIA USED TO DEFINE ATRESIA OF GROWING FOLLICLES :

<u>Symptom</u>	Stage of atresia that symptom is seen		
	<u>Early</u>	<u>Mid</u>	<u>Late</u>
(1) Changes among granulosa cells			
- loosening of cells lining antrum	E		
- distortion of cells adjoining basal membrane	E		
- destruction of cells and expulsion of free chromatin from cells (pyknosis)	E		
- loosening of layers of cells from theca		M	
- increase in proportion of cells dividing	E		
- formation of lipid droplets among cells		M	
- destruction of cells around oocyte			L
- luteinization of cells			L
(2) Changes of thecal cells			
- thickening and shortening of cells		M	
- thickening of thecal layer		M	
- disappearance of thecal cells		M	- L
- formation of lipid droplets		M	- L
(3) Changes within oocyte			
- pyknosis of the nucleus		M	
- distortion or fragmentation of the nucleus	E -	M	
- shrinkage of zona pellucida	E		
- presence of crystalloid bodies in cytoplasm		M	
- aggregation of mitochondria		M	
- beginning of maturation - polar body formation		M	
- oocyte floats "free" in the antrum			L
- oocyte disappears			L
(4) Changes within the basal membrane			
- disappearance or breakage of membrane propria	E		
- ingrowth of connective tissue		M	
(5) Follicular changes			
- follicle collapses		M	
- follicle contracts		M	
- follicle luteinises			L
- follicle forms a cyst			L
- opacity of follicle		M -	L
- decrease in vascularity		M -	L

tion).

L'atrésie est donc consécutive à l'action de différents mécanismes inhibant l'aromatisation et entraînant l'arrêt de la multiplication des cellules granulosales.

L'atrésie entraîne le follicule à produire des androgènes (WEBB et GAULD, 1984), suite à la dégénérescence rapide de la granulosa qui ne sait plus les transformer en oestrogènes. La dégénérescence de la thèque suit plus tard. L'accumulation d'androgènes au sein du follicule

- inhibe la division des cellules de la granulosa,
- réduit la sensibilité du follicule aux hormones gonadotropes,
- limite encore la capacité d'aromatisation du follicule.

L'atrésie se produit à raison de 70 % au niveau des follicules primordiaux et primaires, et de 30 % au niveau des follicules antraux (14^{ième} journées sur la fertilité et l'orthogénie, 1986). Le temps maximum de dégénérescence complète est de 8 jours pour la brebis.

b. La sélection

La *sélection* qui s'opère est l'ensemble des mécanismes détournant le follicule de l'atrésie, lui permettant de *dominer* les autres.

Elle se produit à des moments très variables selon les individus (DRIANCOURT, 1985) et relativement tardifs, ce qui limite l'emploi de brebis différentes pour l'analyse de ce mécanisme. Toutefois, deux critères sont communément employés pour déterminer si la sélection a eu lieu :

- * *Présence d'un gros follicule sécrétant assez d'E_{17 β}* pour induire une asymétrie dans la concentration de ce stéroïde dans le sang ovarien (MAC NATTY et al., 1982) et capable de permettre à la LH de se fixer sur les cellules folliculai-

HORMONE CONTROL OF OVARIAN INTERSTITIAL CELL

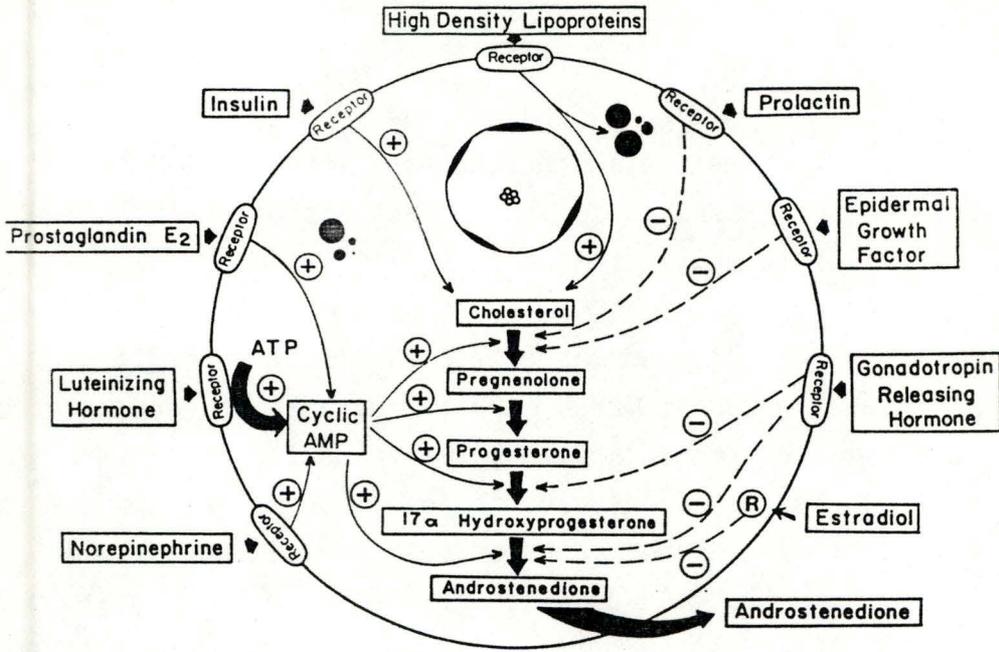


FIGURE 30 : Les mécanismes d'aromatization au sein des cellules thécales et granulosales

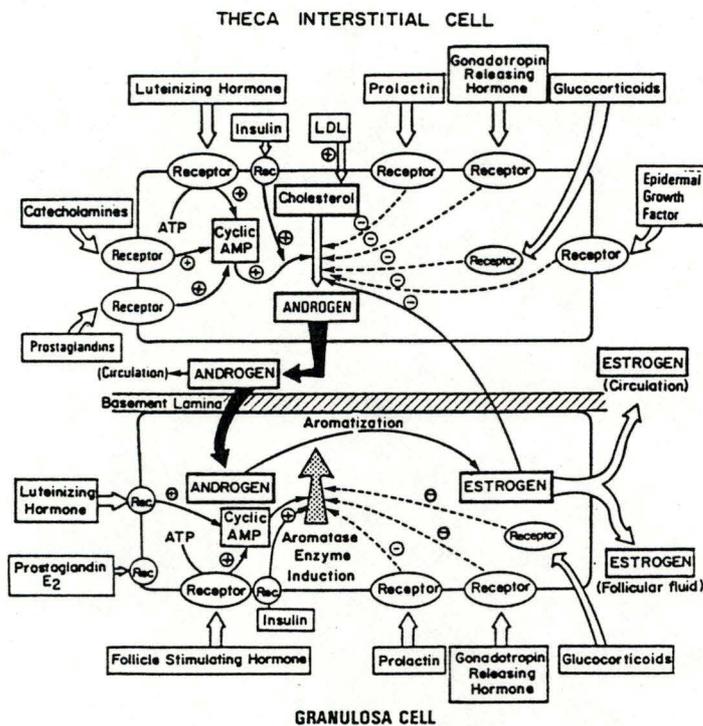


Diagram of our current concept of the underlying controlling potentials of follicle estrogen biosynthesis as it relates to the two cell two gonadotropin concept. [Revised from Erickson (9) by permission of Elsevier Scientific Publishers].

res (WEBB et ENGLAND, 1982).

* *Présence d'un follicule "tueur" qui, si on le retire, allonge le temps d'ovulation (DRIANCOURT et PALMER, 1984) en poussant les autres follicules à l'atrésie par blocage des récepteurs gonadotropiques (DI ZEREGA et HODGEN, 1980).*

c. Le contrôle précis de la sélection.

A la lumière des nouvelles découvertes de protéines du fluide folliculaire, le mécanisme de protection des follicules de l'atrésie ne s'explique plus uniquement par la diminution de la sécrétion de FSH due au feed-back négatif des oestrogènes.

DI ZEREGA et al. (1983) ont identifié dans le liquide folliculaire une protéine semblable à la *FSH binding inhibitor* de FLETCHER et al. (1982) au rôle anti-aromatisant. La sélection consisterait donc en l'inhibition active de la croissance des autres follicules recrutés, par le plus gros follicule atteignant un stade donné de maturation lui permettant de libérer un facteur inducteur (peut-être une protéine anti-aromatisante).

Cependant, en présence d'un excès de gonadotropines, le processus de sélection est évité. On ne peut donc exclure la différence intrafolliculaire de sensibilité aux gonadotropines comme facteur *sélectif*. Mais ce n'est certainement pas la décroissance très limitée du taux de FSH en fin de phase folliculaire (MAC NEILLY et al., 1976; CAHILL et al., 1981) qui en est responsable, ni celle de la LH (MAC NATTY et al., 1981).

d. L'aromatisation

La transformation des androgènes de la thèque interne et du stroma par les aromatasés de la granulosa permet la production d'oestrogènes (FRANCHIMONT et al., 1985).

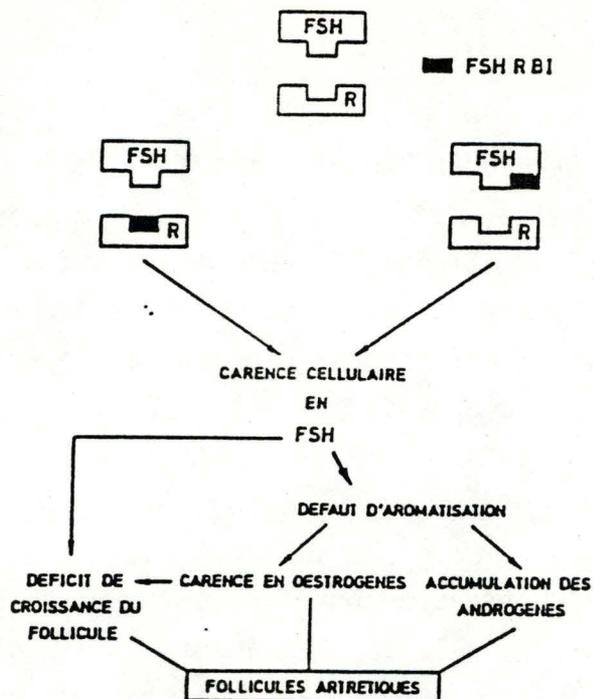
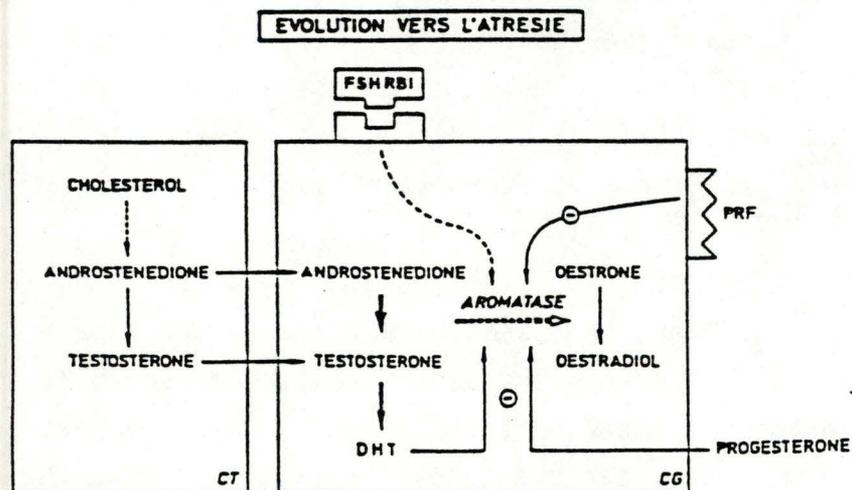


FIGURE 31 : Contrôle de l'aromatisation par une protéine (FSH R BI) empêchant la fixation de la FSH sur son récepteur



Toute inhibition de cette transformation enzymatique entraîne une évolution vers l'atrésie ou la formation d'un corps jaune hypofonctionnel.

La *FSH* est l'hormone stimulatrice de l'aromatization nécessaire à la maturation folliculaire. La fixation de la FSH à son récepteur peut être empêchée par la *FSH-RBI* (FSH Receptor binding inhibitor) mise en évidence par DARGA et REICHERT (1979). La concentration de ce facteur diminue, selon SLUSS et al. (1983), avec la taille du follicule. Seuls les follicules antraux sont aptes à la sécréter, limitant de ce fait l'aromatization.

La protéine anti-aromatisante de DI ZEREGA et al. (1985) supprime la réponse folliculaire aux gonadotropines circulantes. Ils l'ont appelée *FRP* (Follicular Regulator Protein). Son comportement est différent sur l'aromatization et sur la production de progestérone par les cellules de la granulosa. La FRP inhibe, à toutes doses, les aromatasases, mais stimule à faible dose et inhibe à forte dose la production de progestérone. On peut donc envisager que la FRP produite par le follicule dominant, d'autant plus que sa maturation évolue, pourrait induire l'atrésie des autres follicules en y bloquant l'activité aromatasique. D'autre part, l'absence de réversibilité de cette inhibition peut expliquer que lorsque le follicule dominant est détruit, aucun autre follicule dans son voisinage ne peut prendre rapidement son relais ; il faut attendre 12 à 14 jours pour qu'un nouveau follicule arrive à maturation et le plus souvent dans l'ovaire contralatéral (NILSON et al., 1982; cités par FRANCHIMONT et al., 1986).

La *GnRH* est également inhibiteur des fonctions de reproduction en diminuant les récepteurs à la FSH, en réduisant l'aromatization, en diminuant la production de progestérone et en inhibant la formation de récepteurs à la LH et à la PRL (HSUEH et al., 1984). Son action est irréversible (KNECHT et al., 1982) mais est sujette à controverse

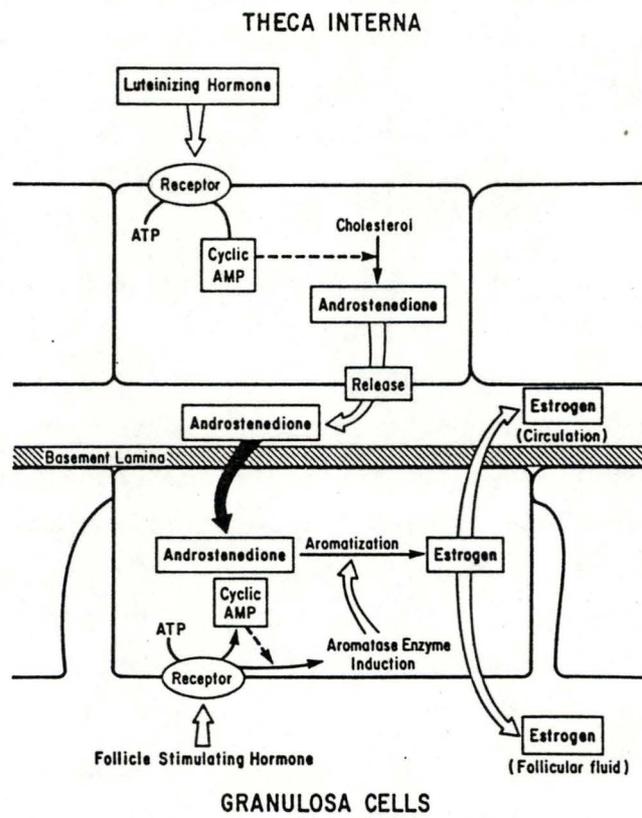


Diagram of the two-cell, two gonadotropin concept of follicle estrogen biosynthesis. [From Erickson (215) by permission of Harper and Row Publishers, Inc].

FIGURE 32 : Contrôle de l'aromatisation

chez la brebis (BROWN et REEVES, 1983, cité par FRANCHIMONT et al., 1986). Il semble que la source de GnRH gonadique soit la granulosa qui sécrète dans le liquide folliculaire (YING et al., 1981; cités par FRANCHIMONT et al., 1986).

L' *inhibine* possède la propriété de freiner la libération de FSH et par là, de réduire l'aromatisation. YING et al. (1986) ont montré que l'inhibine peut inhiber directement l'aromatisation induite au niveau des cellules de la granulosa de rat. La teneur en inhibine augmente avec le diamètre du follicule puisque ce sont les cellules de la granulosa qui la sécrètent. Chez la femme, il doit exister un mécanisme de compétition entre l'inhibine et les oestrogènes puisque CHANNING et al. (1981) notent que la concentration en inhibine diminue, chez l'homme, avec le rapport oestrogènes-androgènes.

Bien que de structure biochimique semblable à l'inhibine, le *TGF α* (Transforming Growth Factor) stimule la synthèse et la libération de FSH par l'hypophyse et accroît de façon importante l'aromatisation des androgènes (YING et al., 1986)

Un autre facteur du fluide folliculaire, l' *EGF* (Epidermal Growth Factor), connu pour son action mitogénique, provoque une dépression directe de l'aromatisation (HSUEH et al., 1981) en réduisant la production de progestérone et d'inhibine (FRANCHIMONT et al., 1985) et l'apparition des récepteurs à LH sous l'effet de la FSH (KNECHT et CATT, 1983; cités par FRANCHIMONT et al., 1986).

Outre ces *cybernines*, les hormones classiques régulent également les mécanismes de sélection en modifiant les équilibres enzymatiques de l'aromatisation :

La *LH*, par réduction de l'activité de la lyase 17-20 et de la 17-hydroxylase, diminue la production d'androstènedione, précurseur indispensable de l'aromatisation

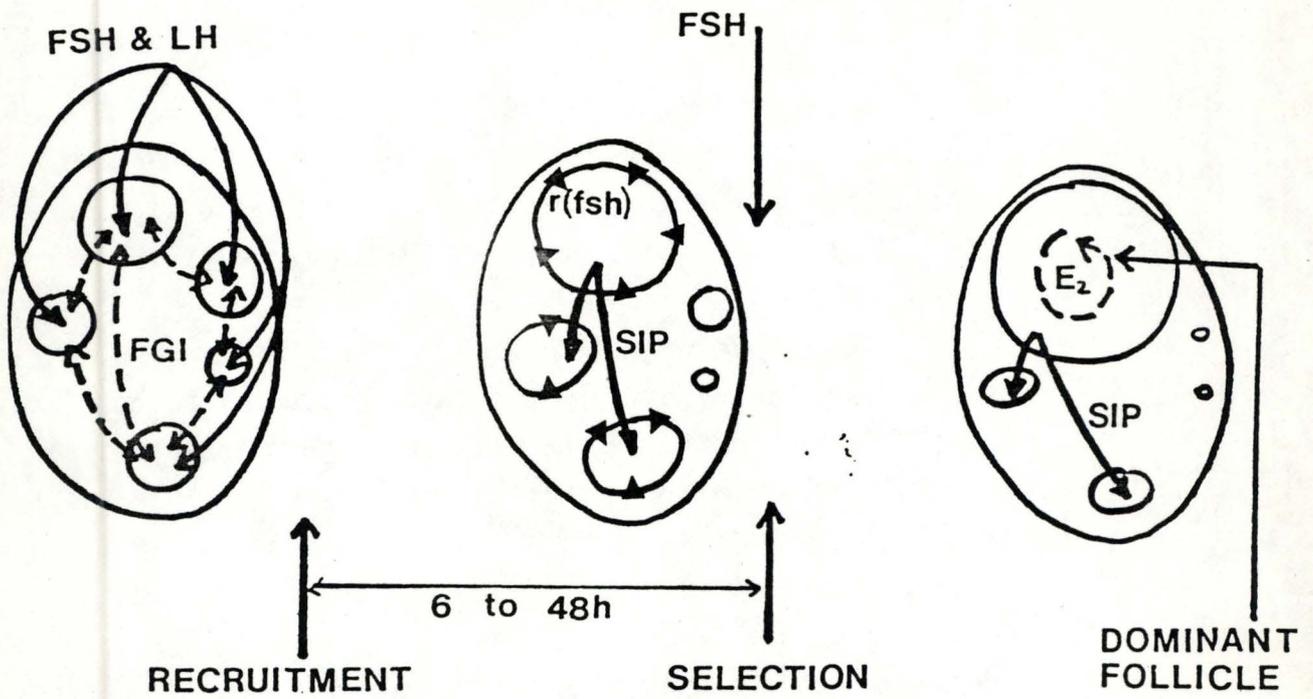


FIGURE 33 : Possible mechanisms contributing to the differentiation of a single preovulatory follicle.

(SUZUKI et TAMAOKI, 1980, cités par FRANCHIMONT et al., 1986). Son action est donc plutôt négative pendant la sélection.

La *progestérone*, dont la synthèse et la libération sont induites par la LH, exerce un puissant contrôle inhibiteur sur l'aromatisation (FORTUNE et VINCENT, 1983).

Alors que les *oestrogènes* induisent la croissance folliculaire, les *androgènes* amènent le follicule à l'atrésie (ROSS et HILLIER, 1979). Outre les aromatasés, les cellules de la granulosa disposent de l'équipement enzymatique (5 α -réductase) susceptible de transformer l'androstènedione et la testostérone en androgènes non aromatisables (BOGOVICH et RICHARDS, 1984). L'activation de ce facteur peut conduire à l'atrésie (HILLIER et al., 1980).

Enfin la *prolactine* réprime l'activité des aromatasés inhibant ainsi la production des oestrogènes.

f. La dominance

Les études de GOUGEON et al. (1984) chez la femme ont montré que l'évolution de la taille et de l'activité mitotique de la granulosa indique que le follicule dominant est sélectionné dès le début du cycle, son diamètre variant de 5 à 8 mm. Il est recruté parmi les follicules de diamètre compris entre 2 et 5 mm présentant une forte activité mitotique de la granulosa et observés quelques jours plus tôt en fin de phase lutéale du cycle précédent.

La sélection du follicule dominant semble avoir lieu plus tôt dans l'espèce humaine que chez le singe (DI ZEREGA et HODGEN, 1980). DRIANCOURT et CAHILL (1984) ont établi chez la brebis que l'accroissement de taille du follicule, en période de dominance, est de 0.38 ± 0.41 mm par jour. Dans le même temps, les follicules non sélectionnés deviennent atrétiques et régressent à une vitesse de

1,6 mm par jour (DRIANCOURT et CAHILL, 1984).

Alors que le follicule, par ses sécrétions biochimiques, maintient l'immaturité et entraîne l'atrésie de ses voisins, il entretient sa dominance par une synthèse importante d'E_{17β} qui s'accumule dans le fluide antral, augmentant la sensibilité du follicule à l'action des gonadotropines (ZELEZNIK, 1981; cité par JEGO, 1986).

g. Conclusions

La dynamique de la croissance folliculaire terminale commence après la lutéolyse due à la PGF_{2α} : les petits follicules de 2 mm et plus, sensibilisés par la FSH acquièrent quelques récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa. La LH les recrute pour leur permettre une croissance en taille jusqu'à 3mm. A ce moment, les aromatasés des cellules de la granulosa sont fonctionnelles et synthétisent des oestrogènes, sous l'effet de la LH dont le nombre des récepteurs membranaires augmente par stimulation de la FSH. Les follicules recrutés très tôt produisent rapidement les oestrogènes assurant l'augmentation des divisions cellulaires de la granulosa et favorisant les sécrétions dans le fluide folliculaire. Ces follicules assurent leur dominance par sécrétion de protéines inhibitrices de l'aromatisation (FSH-RBI, FRP, TGF, inhibine, GnRH, EGF, ...). Les follicules au voisinage d'un follicule dominant stoppent leur croissance et, comme c'est souvent le cas, régressent par atrésie. La sélection du follicule dominant est accentuée par la production de plus en plus élevée d'E_{17β}, ce qui crée une assymétrie de la concentration de ce stéroïde dans le sang ovarien. L'atrésie des petits follicules, déclenchée par les protéines anti-aromatisantes du follicule dominant, est entretenue par la synthèse des androgènes, qui inhibent la division des cellules de la granulosa, réduisent la sensibilité aux gonadotropines et limitent encore la capacité d'aromatisation. Le ou les follicules sélectionnés, donc non atrétiques, en fin de phase folliculaire vont ovuler.

D. Le résultat de la croissance folliculaire terminale :
le taux d'ovulation et ses variations

1. Les variations naturelles du taux d'ovulation

La croissance folliculaire terminale détermine l'ovulation. Recrutement, sélection et dominance amènent un certain nombre de follicules à la rupture et à l'émission de l'ovocyte. Ce nombre est le taux d'ovulation (SCARAMUZZI et RADFORD, 1983). Au-delà des caractéristiques endocrines, paracrines et autocrines, ce taux est variable suivant l'âge, la race, le poids, la nutrition, l'état psychologique et d'autres facteurs indépendants de la brebis. Il est donc intéressant de les connaître pour pouvoir agir sur ces variations naturelles en vue d'améliorer la prolificité du troupeau.

A. Variations hormonales

LH L'ovulation fait suite au pic préovulatoire de LH (DUFOUR et al., 1979; cités par CAHILL et al., 1981). Différents auteurs ont noté la corrélation existant entre le taux d'ovulation et l'intervalle séparant le début de l'oestrus de la décharge de LH (THIMOMNIER et PELLETIER, 1971; LAND et al., 1973; BINDER et al., 1976, cités par CAHILL et al., 1981), mais cet intervalle ne détermine pas le taux d'ovulation, puisqu'au début de l'oestrus, les follicules préovulatoires sont déjà différenciés (CAHILL et al., 1979). De plus, la stimulation de brebis en anoestrus par la LH et par la LHRH amène des taux d'ovulation normaux, malgré une hausse (jusqu'à quatre fois) des niveaux de LH en phase folliculaire (MAC NATTY et al., 1981). Il est admis par la plupart des auteurs que la LH n'est pas déterminante du taux d'ovulation, malgré des valeurs significativement plus élevées chez les brebis prolifiques que l'on explique par une différence de sensibilité au feed-back des oestrogènes (LAND, 1976).

FSH La FSH agit, nous l'avons vu, dans le recrutement et la sensibilisation des follicules à la LH (OUSSAID et al., 1982; cités par DRIANCOURT, 1985), principalement pendant la lutéolyse (DRIANCOURT et CAHILL, 1984). CAHILL et

al., ont confirmé cette action, en signalant toutefois une corrélation entre l'amplitude du second pic de FSH en oestrus et le nombre de gros follicules à antrum présents sur l'ovaire 16 jours plus tard. A l'inverse, la FSH n'a pas de rôle dans la sélection des follicules ovulatoires (MAC NATTY et al., 1976; CAHILL et al., 1981).

Cependant, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre le taux de FSH plasmatique au cours de la phase folliculaire et le taux d'ovulation entre brebis de même race (CAHILL et al., 1979; BINDON et al., 1983; TERQUI et al., 1983; cités par PHILIPON, 1983). Ce n'est pas le cas entre races différentes ; le pic préovulatoire de FSH est, en effet, plus élevé chez les brebis *D'man* que chez les *Timahdite* (LAHLOU-KASSI et al., 1984), et chez les *Booroola* que chez les *Mérinos* (BINDON et al., 1983). Par contre, cela n'a pas été observé lors de la comparaison entre *Romanov* et *Ile-de-France* (BINDON et al., 1979).

OESTROGENES

CAHILL et al., (1981) ont établi une corrélation positive entre le niveau plasmatique d'E_{17β}, plus élevé chez certaines races prolifiques comme la *Romanov*, et le nombre de follicules préovulatoires. Mais le taux élevé d'E_{17β} semble être la conséquence, plus que la cause, du nombre élevé de follicules préovulatoires, puisque ces derniers sont les principaux responsables de la production ovarienne d'E_{17β}.

WHEELER et al. (1977), cité CAHILL et al. (1981) ont montré une augmentation de la concentration en oestrogènes chez des races prolifiques, par emploi d'autotransplants ovariens. BINDON et al. (1976) et SCARAMUZZI et al. (1976) n'ont pas observé cette différence pendant le prooestrus.

Les oestrogènes agissent en synergie avec la FSH pour favoriser le recrutement et protéger les follicules de l'atrésie. De plus, nouvelle preuve de l'effet positif des oestrogènes sur le taux d'ovulation, LAND (1976) signale la relation entre ce taux d'ovulation et la sensibilité folliculaire à l'effet feed-back des oestrogènes sur la sécré-

tion de LH.

ANDROGENES

Les androgènes inhibent l'apparition des récepteurs à LH sur les cellules de la granulosa (FAROOKHI, 1980 cité par PHILIPON, 1983) et par là, diminuent la sensibilité folliculaire à cette gonadotropine, entraînant le follicule à l'atrésie (RAYNE et RUNSEN, 1958; LOUVET et al., 1975; cités par PHILIPON, 1983; SILAVIN et GREENWALD, 1984, chez le hamster).

En outre, les androgènes aident la FSH à accroître la production de progestérone par les cellules de la granulosa (NIMROD, 1981; cité par SILAVIN et GREENWALD, 1984) entraînant une chute du taux d'oestrogènes par changement de voie métabolique. L'androstènedione a, de plus, une action positive *directe* sur la production de progestérone, en entrant en compétition avec les enzymes concernés dans le catabolisme de la progestérone (FAROOKHI, 1980). Ce contrôle direct est mis en doute par SILAVIN et GREENWALD (1984).

Le contrôle négatif des androgènes sur la croissance folliculaire, et donc sur le taux d'ovulation est renforcé par une action positive sur la sécrétion d'inhibine (voir ci-dessous) (HENDERSON et FRANCHIMONT, 1981, 1983; cités par HENDERSON et al., 1984). TERQUI et al. (1983) notent une concentration plasmatique en protéine liant les androgènes plus faible chez les races peu prolifiques (*Ile-de-France* par rapport aux *Romanov*).

INHIBINE

Nous avons déjà dit que la sécrétion d'inhibine est influencée par les androgènes et la FSH, de même que par la taille folliculaire. L'état de santé général de la brebis a également une influence sur la sécrétion d'inhibine (HENDERSON et al., 1981, 1983; HENDERSON et al., 1984). Nous savons également que l'inhibine empêche sélectivement la production de FSH par l'hypophyse (FRANCHIMONT et al., 1981; CHANNING et al., 1982; cités par HENDERSON et al., 1984).

En outre, l'injection de fluide folliculaire puri-

fié (riche en inhibine) limite l'ovulation (CUMMINS et al., 1980). De plus, par immunisation de la brebis contre cette cybernine, différents chercheurs ont constaté une augmentation du taux d'ovulation (O'SHEA et al., 1982; HENDERSON et al., 1984; CUMMINS et al., 1986).

BINDON et al. (1983), étudiant les différences de sécrétion d'inhibine entre races de prolificités différentes (*Booroola-Mérinos*), ont noté une moindre production par les follicules des races prolifiques (*Booroola*).

Si l'on compare les caractéristiques ovariennes des brebis à haut taux d'ovulation, c'est-à-dire les brebis prolifiques et les brebis immunisées contre l'inhibine, on s'aperçoit que les brebis prolifiques ont des follicules préovulatoires plus petits et moins de cellules de la granulosa (BAIRD et al., 1982; cité par CUMMINS et al., 1986).

L'inhibine a donc un rôle certain de facteur limitant du taux d'ovulation, mais le mode d'action (direct ou par l'intermédiaire de la FSH) n'est pas sûrement connu (CUMMINS et al., 1986; HENDERSON et al., 1984).

Conclusions

Puisque ni la LH, ni la FSH ne semblent contrôler le taux d'ovulation, et que les stéroïdes ne paraissent agir que par l'intermédiaire de protéines du fluide folliculaire, beaucoup de chercheurs se sont orientés vers l'étude ou la découverte de ces dernières. Protéines anti-aromatisantes et cybernines sont les moteurs profonds de la régulation du taux d'ovulation et entraînent les hormones classiques dans leur sillage puis leurs laissent le contrôle final de l'ovulation.

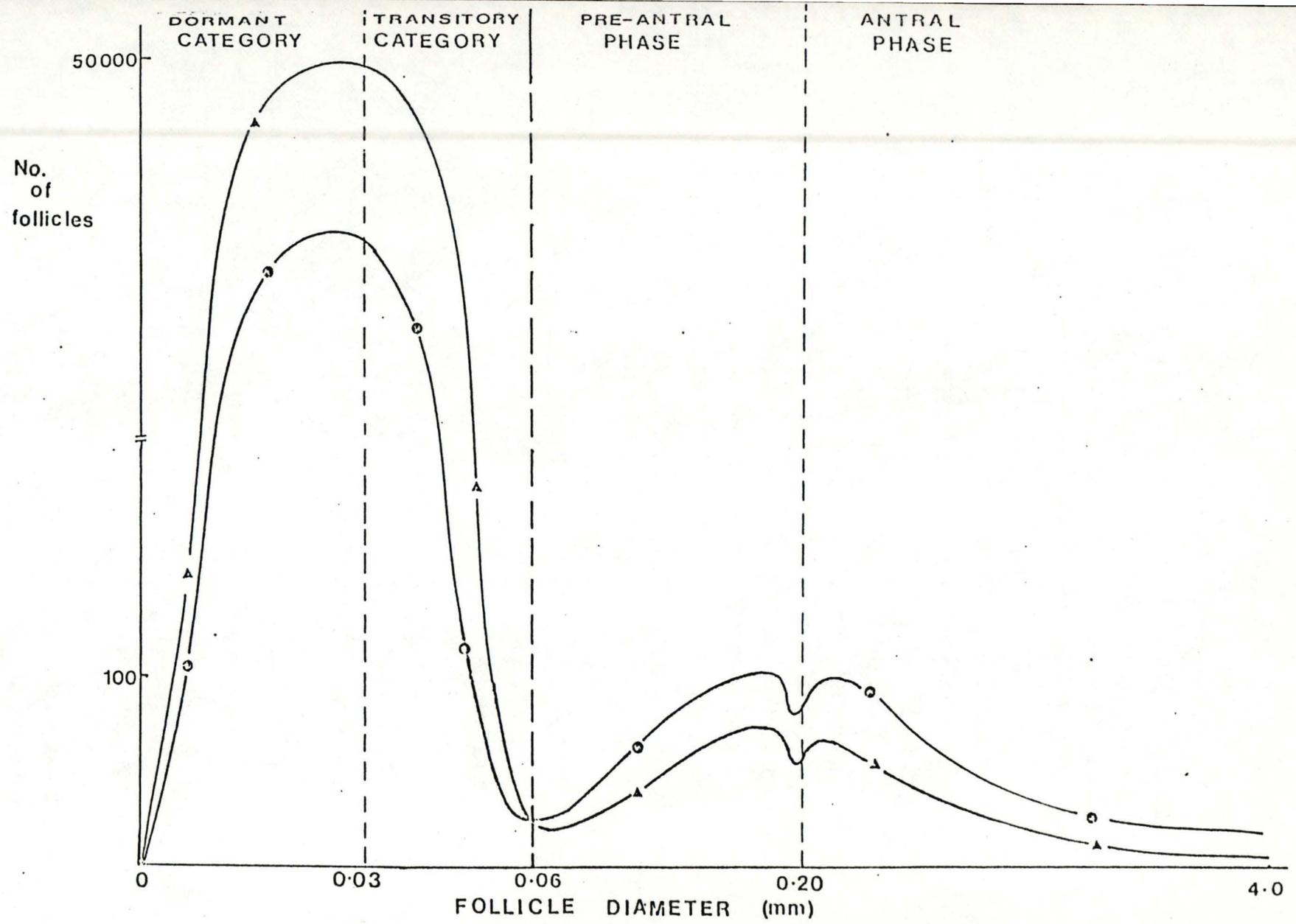
Les facteurs envisagés par la suite ne sont que des conditions de niveau supérieur déterminant l'environnement ovarien.

B. Variations liées à la race

DIFFERENCES FOLLICULAIRES

SCARAMUZZI et RADFORD (1983) et BINDON et al. (1983) ont effectué des observations sur *Booroola*, *Romanov*

FIGURE 34 : Differences dans les populations antrales entre deux espèces de prolificité différente



Schematic representation of the total follicular population in ewes of high (-○-) and low (-▲-) ovulation rates. Follicle diameters refer to measurements from fixed ovaries.

et *Finnoises*, et ont constaté que ces races diffèrent dans le mécanisme physiologique aboutissant à un taux d'ovulation élevé.

Selon DRIANCOURT (1985), les *Booroola* s'identifient par un recrutement prolongé pendant toute la phase folliculaire, de faibles pertes par atresie pendant la sélection et une capacité d'attente accrue jusqu'à l'ovulation.

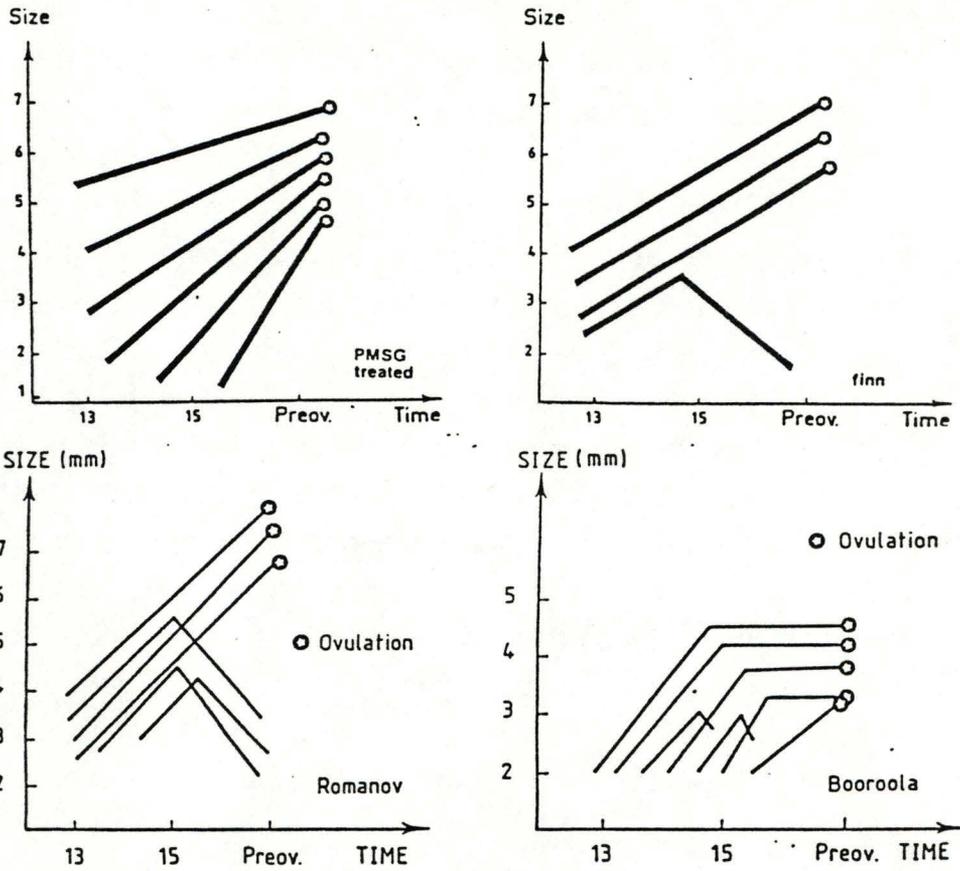
Les *Romanov* se caractérisent par un grand nombre de follicules recrutés (DRIANCOURT et al., 1985; cités par DRIANCOURT, 1985). Le *croisement de ces deux races* donne naissance à une lignée possédant les qualités des deux parents : augmentation du nombre de follicules recrutés (*Romanov*) et un recrutement prolongé (*Booroola*). De plus, les petits follicules préovulatoires répondent très tôt aux gonadotropines (HCG) (SCARAMUZZI et RADFORD, 1983).

Chez les *Finnoises*, DRIANCOURT (1985) remarque une sélection réduite des follicules, avec un recrutement comparable à celui des races peu prolifiques.

Il est intéressant de noter que ces races hautement prolifiques ont une grande variabilité individuelle du nombre d'ovulation.

DIFFERENCES HORMONALES ET CYBERNETIQUES : CAHILL et al. (1981) et BINDON et al. (1983), observent chez les races prolifiques un second pic de FSH plus important. De plus, BINDON et al. (1983) ajoutent que, chez les *Booroola* le niveau de FSH est aussi supérieur pendant les 24 heures précédant le pic préovulatoire. Cette différence est due à une sécrétion hypophysaire supérieure par rapport au lot témoin (*Mérinos*) (BINDON et al., 1984; cité par DRIANCOURT, 1985). Bien que la FSH n'ait pas de rôle bien établi dans la détermination directe du taux d'ovulation, son rôle positif sur le recrutement explique peut-être le recrutement prolongé observé.

On est en mesure de penser, suite aux travaux de DRIANCOURT (1985), que la haute prolificité des brebis *Booroola* provient d'une déficience en FGI (Follicular Growth



Ovarian strategies used to generate high ovulation rate in three prolific genotypes and PMSG treated ewes.

FIGURE 35 : Différentes stratégies employées pour assurer un taux d'ovulation élevé (DRIANCOURT et CAHILL, 1984)

Inhibitor), cybernine qui réduit la prolifération des cellules de la granulosa (CAHILL et al., 1984; cités par DRIANCOURT, 1985).

Les *Romanov* ont un taux supérieur de protéines plasmatiques liant les androgènes (TERQUI et al., 1983). Or on sait que les androgènes libres renforcent la sécrétion d'inhibine. Les *Romanov* produisent donc plus de FSH par l'hypophyse. CAHILL et MAULEON (1980; cités par DRIANCOURT 1985) n'ont pourtant pas enregistré d'augmentation de la sécrétion de FSH, sauf pendant la lutéolyse, ce qui améliore le phénomène de recrutement.

Enfin, les *Finnoises* secrètent une protéine induisant la sélection (*SIF*, Selection inducer protein) (DRIANCOURT, 1985).

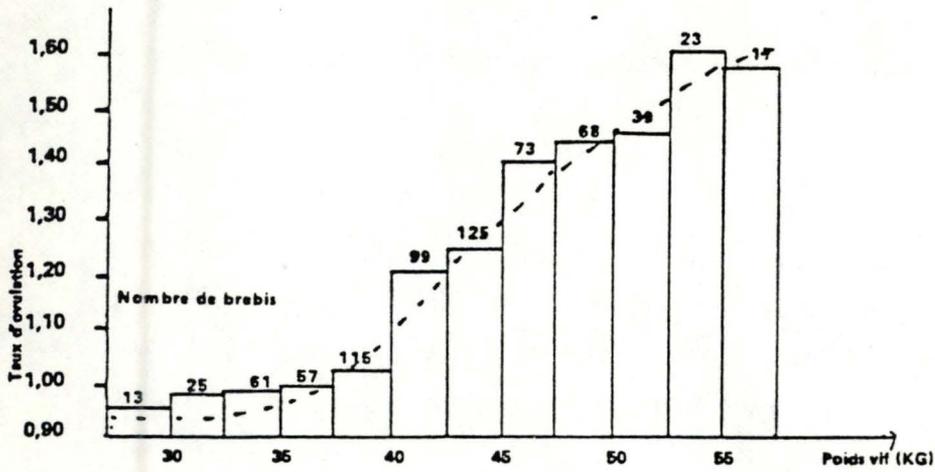
DIFFERENCES DE GENOTYPE : HANRAHAN (1980; cité par PIPER et BINDON, 1984) localise l'héritabilité du caractère (taux d'ovulation) de la brebis *Booroola* sur un seul gène majeur (au groupe de gènes liés). Des études réalisées par DAVIS et al. (1982-1983) ont prouvé que l'existence chez cette souche de *Mérinos*, d'un gène F (fertilité) responsable d'un effet majeur sur la prolificité. Ce gène s'exprimerait par une action au niveau de l'ovaire où un plus grand nombre de follicules subissent la maturation et sont libérés à l'ovulation. D'ailleurs CUMMINS et al. (1983) ont suggéré que le gène F entraîne un déficit en inhibine limitant l'expression du feed-back négatif sur la sécrétion du FSH.

CONCLUSIONS : Les variations génétiques naturelles du taux d'ovulation semblent venir des variations de la sensibilité de l'hypothalamus et de l'hypophyse à l'effet feed-back des stéroïdes gonadaux (LAND, 1976, 1979).

C. Le poids et la nutrition de la brebis

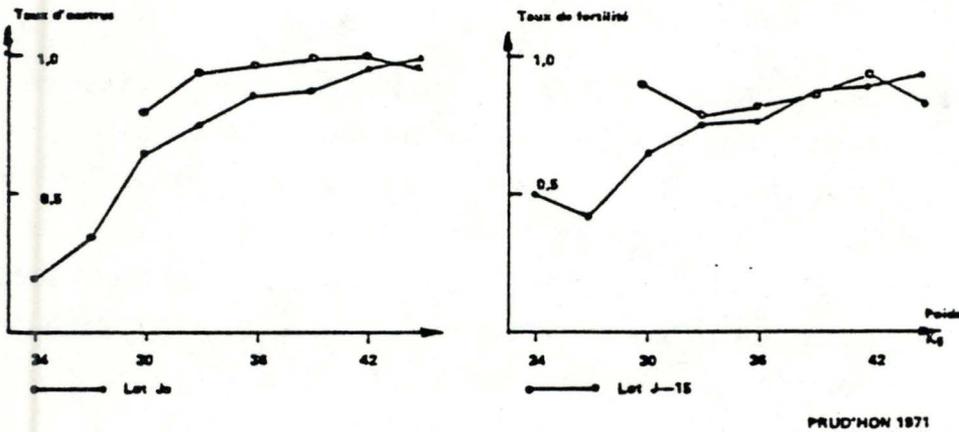
Selon MORLEY et al. (1978), cité par SCARAMUZZI et RADFORD, (1983), les relations existant entre le poids des brebis et leur taux d'ovulation seraient linéaires et

FIGURE 36



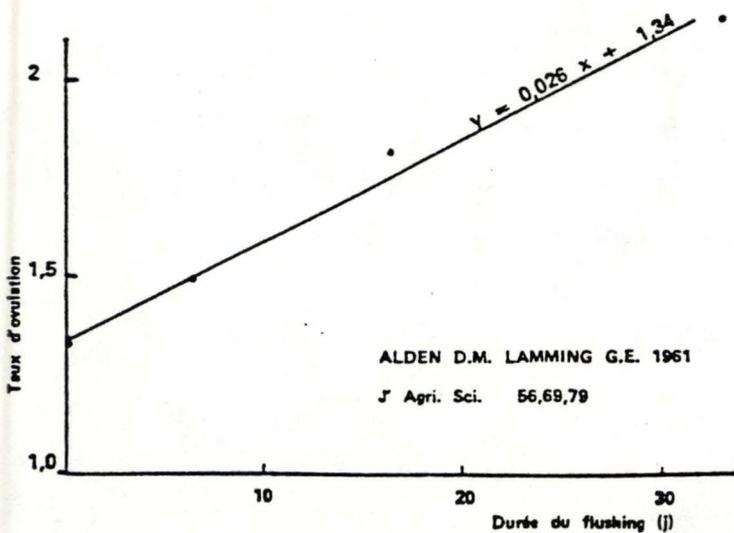
RELATIONS ENTRE LE POIDS DES ANTEAISES EN DEBUT DE LUTTE DE PRINTEMPS, LEUR TAUX D'OESTRUS ET LEUR TAUX DE FERTILITE

FIGURE 37



INFLUENCE DE LA DUREE DU FLUSHING SUR LE TAUX D'OVULATION

FIGURE 38



positives, au sein d'une même race. PRUD'HON (1971) cité par PHILLIPON (1983) chiffre le gain de portées gemellaires de 2 à 3 % chez les brebis *Mérinos d'Arles* par augmentation de poids de 1 kg.

On sait que les gains en poids avant la lutte sont sans effet sur des brebis déjà suffisamment lourdes. COOP (1966), cité par SCARAMUZZI et RADFORD (1983), écrit que seul le poids absolu corporel des brebis à la lutte et le taux de variation relatif du poids juste avant la lutte (modifié par *flushing*) sont associés à une augmentation des ovulations multiples (COOP, 1966 ; cité par SCARAMUZZI et RADFORD, 1983).

FRY et CAHILL (résultats non publiés, cités par CAHILL, 1984) notent une relation entre le poids et la sensibilité de l'ovaire au fluide folliculaire ovin (inhibine), mais rien n'est encore connu sur le mécanisme intime de ces relations.

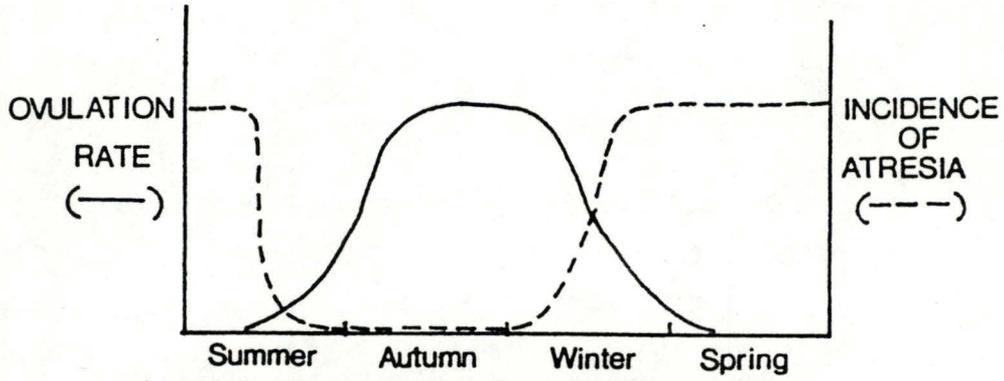
D. Age

Les jeunes brebis en première saison de reproduction ont un taux d'ovulation plus faible que les adultes (MACKENZIE et TERRIL, 1937; cité par PHILLIPON, 1983). PRUD'HON (1971) associe ce fait au faible poids des jeunes agnelles, de même qu'à leur type différent de nutrition. Le taux d'ovulation est maximum à un âge déterminé pour chaque race (de 3 - 5 ans à 10 ans, selon BINDON et al., 1980). PRUD'HON cite 4 ans pour les *Finnoises*, 5 ans pour les *Lacaunes*, 6 à 8 ans pour les *Mérinos*. L'explication du mécanisme est faiblement éclairé par les travaux de AL-O-BAIDI et al. (1983, cité par CAHILL, 1984) : les *antennaises* de n'importe quelle race ont des follicules plus sensibles au fluide folliculaire que les brebis âgées.

E. La saison

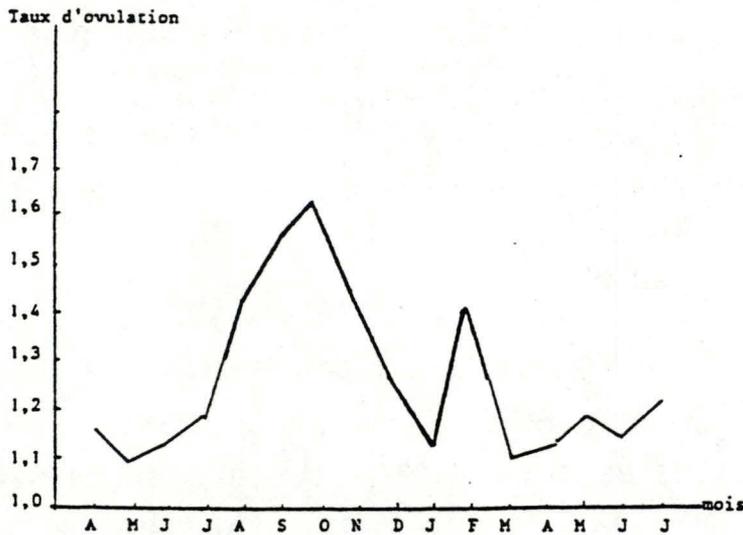
En 1973, déjà MAC KENZIE et TERRIL supposaient que le taux d'ovulation varie avec la saison. Il a fallu attendre les travaux de FLETCHER (et al., 1970; cités par

FIGURE 39 :



A model of seasonal interaction of follicular atresia and ovulation rate.

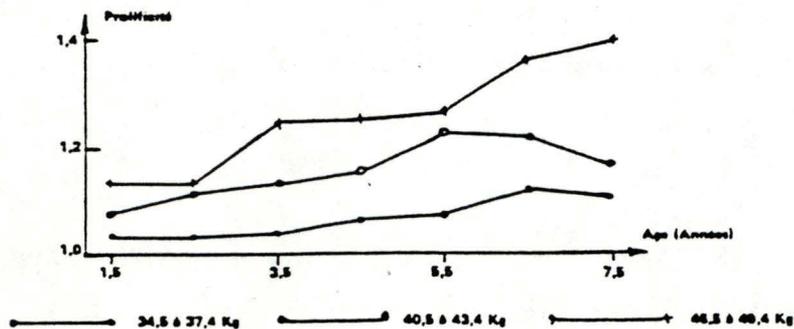
FIGURE 40 : EFFET DE LA SAISON SUR LE TAUX D'OVULATION DE LA BREBIS BARBARINE (KHALDI, 1984)



(trait épais= saison sexuelle)

RELATIONS ENTRE L'AGE, LE POIDS ET LE TAUX DE PROLIFICITE DES BREBIS (LUTTE DE PRINTEMPS)

FIGURE 41 :



SCARAMUZZI et RADFORD, 1984) pour constater que la réponse à la saison n'est pas observée chez les *antennaises* ni chez les adultes à poids corporel très bon.

La baisse du taux d'ovulation est nette au milieu de la période de lutte : à la fin de l'été, le taux d'ovulation est élevé et diminue ensuite progressivement jusqu'au retour en anoestrus (SCARAMUZZI et RADFORD, 1984)

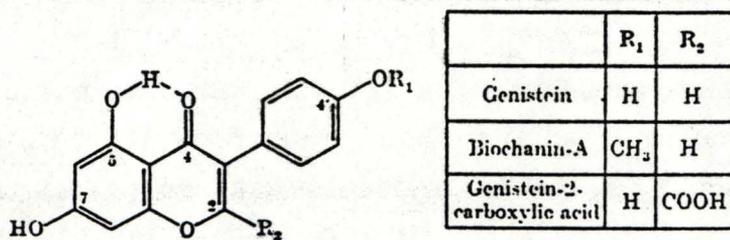
Selon CAHILL et al., les variations saisonnières peuvent être expliquées par l'influence qu'a la photopériode sur l'incidence de l'atrésie. Certains auteurs comme CAHILL et MAULEON (1980) et CAHILL (1981) observent plus de follicules préantraux et moins de follicules antraux en contre-saison. Mais, de toute façon, DRIANCOURT et YEGO (1985) ne constatent aucune corrélation entre le pourcentage de follicules à antrum et le taux d'ovulation. On ne sait pas encore si cette incidence d'atrésie qui change avec la saison peut modifier le taux d'ovulation pendant la saison de reproduction.

F. Facteurs sociaux

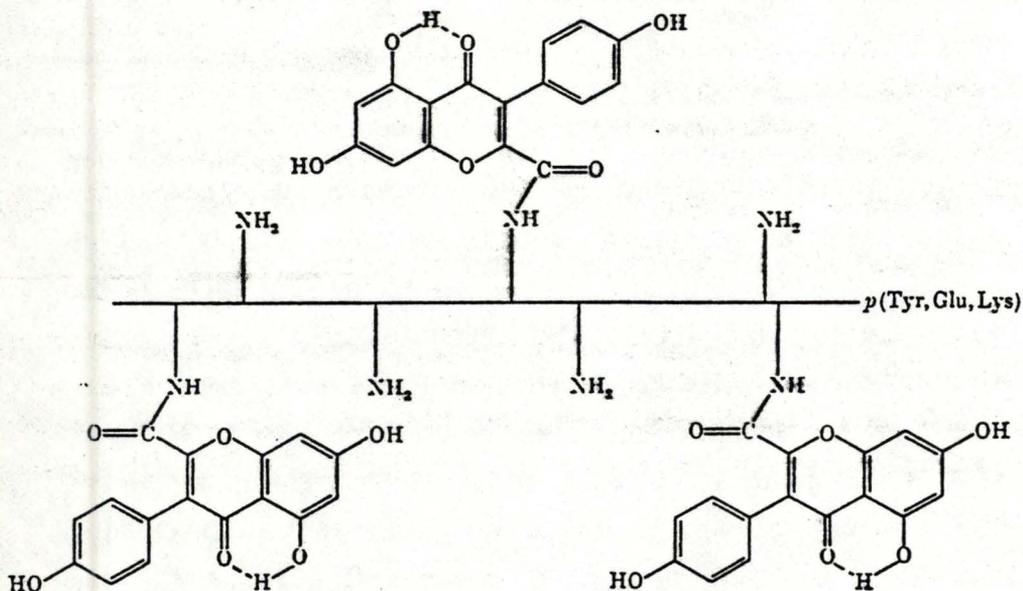
L'introduction en période d'anoestrus saisonnier de béliers dans un groupe de brebis *Mérinos* déclenche l'ovulation à conditions que ces brebis aient été préalablement isolées de ces béliers (UNDERWOOD et al., 1944; cités par SCARAMUZZI et RADFORD, 1984). Ce phénomène, appelé *effet bélier* se produit chez beaucoup de races (MARTIN et al., 1981). Il peut avancer le début de la saison de reproduction par une élévation de la pulsativité de LH (PEARSE et OLDHAM, 1984) qui pourrait empêcher l'atrésie normale des follicules. OLDHAM (1980) constate que l'ovulation induite s'accompagne d'un taux d'ovulation plus élevé. Ce mécanisme est exploité en induisant l'oestrus juste à la fin d'une période progestagénique (MARTIN et SCARAMUZZI, 1983; cités par SCARAMUZZI et RADFORD, 1984).

G. Le stress

Le *stress*, qui englobe toutes les formes possi-



(a)



(b)

(a) Structural formulas of the isoflavones used; (b) schematic representation of the genistein-*p*(Tyr, Glu, Lys) conjugate.

FIGURE 42 : Structures des isoflavones
(phyto-œstrogènes)
(BAUMINGER *et al.*, 1969)

bles de contraintes, est assez difficile à étudier et peu de choses sont connues à son sujet. Toutefois, une relation négative entre l'importance du stress et le taux d'ovulation semble évidente, bien que personne n'ait pu la quantifier. Un stress important peut empêcher toute ovulation et peut amener la brebis en état d'anoestrus.

Les facteurs stressants n'agissent pas que sur le taux d'ovulation : mortalité embryonnaire précoce accrue mortalité néonatale importantes sont d'autres conséquences (MAC KENZIE et al., 1975; ARNOLD et MALLER, 1974; cités par HEINS et al., 1983).

H. Les pâturages oestrogéniques (COX, 1984)

Certains composés végétaux peuvent montrer une activité oestrogénique si on les administre à des souris ou à des brebis (MOULE et al., 1963; BRADEN et al., 1967; cités par BAUMINGER et al., 1969). Ces composés, *isoflavoniques* pour la plupart, proviennent de différents types de plantes (Trèfle : *Trifolium subterraneum* L., *Trifolium pratense* L. qui ont des isoflavones; Luzerne : *Medicago sativa* L., *Medicago truncatula* Gaertn. qui contient le *coumestan*).

L'ingestion excessive de ces phyto-oestrogènes a été tenue pour responsable de sérieuses infertilités chez la brebis et la vache. Même une exposition brève aux plantes oestrogéniques pendant la saison de reproduction peut affecter la fécondité des brebis (MORLAY et al., 1964; cité par BAUMINGER et al., 1969). Selon KATZNELSOR (1974), cité par COX (1984), ce problème a surtout été observé en Australie et n'est pas encore quantifié. La seule observation est que l'ingestion de ces phyto-oestrogènes amènerait les mêmes mécanismes que l'ingestion de pilules contraceptives oestrogéniques.

2. Les variations de la prolificité

La prolificité est la résultante de trois facteurs : le taux d'ovulation, la taux de fécondation de l'ovule et le taux de

mortalité embryonnaire. Le premier de ces facteurs vient d'être étudié. Le second dépend essentiellement de la qualité de la semence mâle et du moment de l'accouplement ou de l'insémination : il sort du cadre de ce travail. Nous examinerons maintenant ce que l'on sait de la mortalité embryonnaire précoce.

Le taux basal de mortalité embryonnaire oscille entre 20 et 30 % (EDEY, 1969; cité par HARESIGN, 1985). Les résultats de plusieurs expériences suggèrent que des facteurs environnementaux (nutrition, température...) peuvent induire une augmentation des pertes au-delà de ce taux de base (EDEY, 1969).

BISHOP (1964) et BRADFORD (1979) s'opposent quant à l'origine de ces pertes embryonnaires : le premier croit que le génotype de l'embryon est responsable de ces pertes, le second opte pour le génotype maternel. HANRAHAN (1982) et HANRAHAN et PIPER (1982) arrivent à la même conclusion que BISHOP, bien que RICORDEAU et ses collaborateurs (1976) aient trouvé des preuves de relation positive entre le taux de survivance embryonnaire et la prolificité de la race *Romanov*, tout comme LINDSAY sur la brebis *D'man* (HARESIGN, 1985). Le taux basal de mortalité embryonnaire tend à être plus élevé dans les races prolifiques de brebis (BINDON et PIPER, 1982), ce qui est une conséquence du meilleur taux d'ovulation. HANRAHAN propose un modèle de décroissance linéaire de la survivance embryonnaire en fonction du taux d'ovulation.

Actuellement, les pertes embryonnaires ne peuvent plus être expliquées uniquement par des anomalies génétiques embryonnaires. En effet, WILMUT et al. (1985), se basant sur des travaux de transfert embryonnaire, émettent comme hypothèse que la mortalité embryonnaire serait le résultat d'une asynchronicité entre le temps d'ovulation et le début de la sécrétion de progestérone qui s'ensuit. Selon lui, un taux d'ovulation élevé, responsable d'une longue durée totale des ovulations, augmente les chances d'une asynchronicité entre la sécrétion de progestérone en début de parturition et le stade de développement des embryons individuels. ABWORTH et al. (1984) suggèrent, d'autre part,

que le taux de survivance embryonnaire pourrait être lié au niveau basal de progestérone pendant la période péri-ovulatoire.

En conclusion, l'équilibre délicat existant entre l'état endocrinien de l'embryon et l'évolution des sécrétions rend difficile les manipulations de la taille de la portée. Le taux d'ovulation est, en cela, bien plus aisé à modifier. C'est, sans aucun doute, la voie d'avenir des améliorations de la prolificité des différentes races de brebis.

3. Les variations artificielles (méthodes d'amélioration) du taux d'ovulation

Le principal facteur limitant la fécondité reste le faible taux d'ovulation des espèces peu prolifiques (HANRAHAN, 1980).

A. Croisements génétiques

Le croisement de races prolifiques et de races viandeuses fournit des lignées stables présentant un haut taux d'ovulation (QUIRKE, 1978, 1979; RICORDEAU et al., 1982 : croisement entre *Romanov* et *Bérichou-du-Cher*). De même, des croisements entre souches différentes d'une même race donnent le même résultat (MAC QUIRK et al., 1980; PIPER et BINDON, 1980; RAMSON et al., 1980; cités par PHILIPON, 1983 : *Mérinos Booroola* et *Mérinos-d'Arles*).

B. Améliorations nutritives

L'augmentation des apports alimentaires pendant la période de reproduction est certainement la plus ancienne et la plus employée des méthodes d'amélioration de la fertilité des brebis.

Le *Flushing* (augmentation du poids des animaux avant la lutte) permet une faible augmentation de la prolificité (SCARAMUZZI et RADFORD, 1983). KNIGHT et al. (1975) et RADFORD et al. (1980), en expérimentant la supplémentation protéique à poids constant, obtiennent des gains im-

FIGURE 43 : Réponse ovarienne à différentes doses de PMSG (JEGO, 1984)

Race	Traitement	Taux d'ovulation moyen	Source
Merinos d'Arles en saison sexuelle	Eponges vaginales(40mg FGA) + 0 u.i. PMSG	1,35	COGNIE (Comm. pers.)
	ou + 200 u.i. PMSG	1,55	
	ou + 400 u.i. PMSG	2,05	
Merinos type T en saison sexuelle	0 u.i. PMSG	1,45	BINDON, CH'ANG et TURNER (1971)
	375 u.i. PMSG	2,47	
	750 u.i. PMSG	3,80	
	1500 u.i. PMSG	7,13	

portants (30 %) et rapides (dans les 6 jours) du taux d'ovulation, mais on ne connaît que peu les mécanismes de cette action à court terme. Des modifications du régime alimentaire à long terme (plusieurs mois) affecteraient la population des follicules primordiaux ou en début de folliculogénèse (CAHILL, 1981).

C. Conditionnements saisonniers

La manipulation de la photopériode, en bergerie, serait aussi un moyen artificiel d'augmenter le taux d'ovulation (CUMMINS et al., 1984).

D. Emploi de gonadotropines exogènes

L'apport de *FSH* sous forme d'extraits crus d'hypophyse (MOORE et SHELTON, 1964), l'injection de FSH porcine (WRIGHT et al., 1981; cités par BINDON et al., 1983) et des injections séquentielles de FSH et LH ovine (OUSSAID, 1983) augmentent le taux d'ovulation chez la brebis. On pourrait encore, pense-t-on, en regard de l'action rapide du traitement, réguler le taux d'ovulation en fin de folliculogénèse (PHILIPON, 1983).

En 1948, THIBAUT et al. ont injecté de la *PMSG* en fin de cycle (J¹²⁻¹³) et ont obtenu une *superovulation* lors du cycle suivant (GHERARDI et LINDSAY, 1980). L'effet de la PMSG se fait sentir en fin de folliculogénèse, mais vu la longue demi-vie de cette hormone (MAC INTOSH et al., 1975; cités par PHILIPON, 1983), il est difficile de savoir à quel moment elle agit. Cependant, MOORE et al. (1981) ont observé que la PMSG sauve les follicules en début d'atrésie et empêche les follicules antraux de dégénérer.

Malheureusement, ces méthodes pharmacologiques d'amélioration du taux d'ovulation, bien que largement utilisées, ne sont pas pleinement satisfaisantes : le manque de précision de la réponse et la faible fertilité des troupeaux en sont les principaux inconvénients (LAND et al., 1982). De plus, les variations dans les réponses individuelles sont telles qu'il est impossible de prédire la répon-

se moyenne d'un groupe. Si l'on augmente graduellement la dose de PMSG, le feed-back supplémentaire mènerait lentement à l'élimination du support gonadotrope exogène (BINDON et PIPER, 1977; LAND, 1979).

E. Inactivation de certaines productions hormonales

CLOMIPHENE

Le *clomiphène* est une substance faiblement anti-oestrogénique, largement employée pour induire l'ovulation chez les femmes anovultrices. Chez les brebis, SNOOK et HANSEL (1971) ont rapporté une augmentation du taux d'ovulation suite à un traitement avec cette substance. D'autres auteurs (LAND et SCARAMUZZI, 1978) ont confirmé ces résultats et précisé que le clomiphène peut jouer un rôle dans l'induction de l'ovulation pendant l'anoestrus.

OVARIECTOMIE UNILATERALE

L'ovariectomie unilatérale ou ablation d'un des deux ovaires, a permis, chez le cobaye, de doubler le nombre d'oeufs (FENTON et al., 1970; cités par LAND, 1979). Chez la brebis, 4 jours après l'opération, de multiples observations sont observées (LAND, 1973). FINDLAY et CUMMING (1977) supposent qu'un facteur intervient, modifiant les actions des gonadotropines.

IMMUNISATION CONTRE LES HORMONES

Le traitement des brebis par immunisation contre certaines hormones peut se faire par injection de sérum contenant l'anticorps produit par d'autres animaux (immunisation passive) ou par injection de l'hormone visée, couplée à une substance à propriétés immunogéniques (immunisation active). Ces méthodes d'inhibition de l'action d'une hormone particulière permettent d'obtenir des réponses à faibles variations individuelles.

Ces nouveaux procédés étant à la base de notre travail, ils sont plus particulièrement développés dans la partie suivante.

E. Les techniques prometteuses d'amélioration du taux d'ovulation : immunisations et vaccinations

L'utilisation et la manipulation du système immunitaire afin de conférer l'immunité contre des organismes infectueux a largement progressé. Dès les années '50, SPRUNT et al. (1951) prouvèrent que des applications zootechniques pouvaient être envisagées grâce à cette technique. La production d'anticorps, suite à une immunisation contre des oestrogènes, donnait des résultats satisfaisants pour réguler les fonctions endocriniennes, en particulier pour augmenter la productivité des animaux domestiques.

1. Historique de l'immunisation anti-hormonale

Dans les années '30, sont apparues les premières utilisations de l'immunisation, pour l'étude du rôle biologique des hormones. Elles concernaient les gonadotropines récemment découvertes (HILL et al., 1934 ; ROWLANDS, 1937 ; COLLIP et al., 1940). La manipulation de l'auto-immunité restait cependant limitée aux protéines immunogéniques préparées à partir d'espèces hétérologues (ZONDEK et SULMAN, 1942 ; LEATHEM, 1949).

Initialement, il y eut certaines controverses quant à la nature du facteur inhibiteur (COLLIP et al., 1940) mais, bien vite, les chercheurs dans leur ensemble acceptèrent l'idée d'une production d'anticorps en réponse à une stimulation antigénique par les gonadotropines (études biologiques : SCHWART, 1974 ; ESHKOL et LUNENFELD, 1975 ; MOUDUAL, 1975 ; dans les R.I.A. ; DICZFALUZY, 1969 ; tous cités par MARTENSZ, 1979).

Composés de faible poids moléculaire (PM 200 à 400) et de ce fait sans propriété immunogénique inhérente, les stéroïdes ne pouvaient être employés tels quels (D'ARMOUR et al., 1934 ; HARTMAN et al., 1940 ; cités par MARTENSZ, 1979) dans le mécanisme d'immunisation. Pour y arriver, il fallut attendre 1938, date à laquelle CLUTTON et son équipe produisirent des anticorps anti-thyroxine,

par application du principe de LANDSTEINER (1936) qui décrivait la conjugaison de petits composés non immunogénique en soi (haptène) à des protéines à haut poids moléculaire : ces conjugués favorisent la production d'anticorps contre ces haptènes.

Ces résultats ne furent exploités qu'en 1951 lorsque SPRUNT et al. décrivirent la capacité du sérum de lapin immunisé avec un conjugué protéine-oestrogène de lier l'haptène stéroïdien. Les premières descriptions précises de méthodes de couplage apparurent vers la fin des années '50 (ERLANGER er al. 1957, 1959 ; GOODFRIEND et SEHON, 1958 ; LIEBERMAN et al., 1959). En 1970, MISWENDER et MIDGLEY ont clairement démontré que le site de conjugaison d'un stéroïde à sa protéine porteuse a un effet important sur la spécificité de l'anti-sérum résultant.

MILLIER et CAMERON (1976), SCARAMUZZI (1976), NIESCHLAG et WICKINGS (1978) ainsi que MARTENSZ (1980) ont passé en revue toutes les études de ce type.

2. Les types d'immunisations

A. Passive

L'immunisation passive permet le contrôle du titre d'anticorps de l'animal receveur, permettant par là la suppression des problèmes d'anoestrus liés à de trop fortes concentrations en anticorps (LAND et al., 1982). De plus, l'antisérum peut être manipulé avant l'injection : pour le rendre plus efficace, on l'enrichit par un mélange d'anticorps dirigés contre différents stéroïdes (peu intéressant si l'étude ne concerne qu'un seul type de stéroïde), facile à préparer et nécessitant des doses moins fortes à l'injection.

L'effet de l'immunisation passive est immédiat car il ne fait pas appel au système immunitaire de l'animal, et de courte durée.

L'animal immunisé qui sert à produire l'anti-sérum réagit en produisant des stéroïdes plus abondamment. Dans certains cas, cela sature trop rapidement l'antisérum limitant la dose d'anticorps à injecter (SCARAMUZZI, 1977; MARTENSZ, 1980).

En ce qui concerne l'amélioration du taux d'ovulation, l'immunisation passive est valable, quelque soit le stéroïde visé (LAND et al., 1982).

B. Active

L'immunisation active, appelée vaccination, nécessite plusieurs injections. Par cette méthode, les titres obtenus sont bien supérieurs à ceux de l'immunisation passive, mais plus variables et non contrôlables (CALDWELL et al., 1970; cité par PHILIPON, 1983).

L'immunisation active contre les stéroïdes provoque toujours chez la brebis une stéroïdogénèse accrue (SCARAMUZZI, 1979; SCARAMUZZI et al., 1980), sous l'influence d'une sécrétion élevée de gonadotropines. L'augmentation de concentration sanguine la plus évidente est enregistrée dans le cas d'immunisations contre les androgènes, l'androstènedione en particulier, reflétée par l'hypertrophie des cellules de la thèque et par la dégénérescence des cellules de la granulosa (MOOR, 1977; MARTENSZ, 1980). L'effet se marque surtout sur la morphologie ovarienne et sur l'incidence des follicules hémorragiques (MARTENSZ, 1980).

3. Techniques employées

A. Fabrication de conjugués stéroïdes-protéines

Communément, un dérivé acide d'un groupe fonctionnel d'un stéroïde (*haptène*) est employé pour former une liaison covalente avec le groupe aminé de la protéine *porteuse* (ERLANGER et al., 1967; KELLIE et al., 1975; KOHEN et al., 1975; tous cités par SCARAMUZZI et HOSKINSON 1983).

ERLANGER a fabriqué des conjugués en liant des dérivés oximes des groupes cétoniques ou des dérivés hémisuccinates ou chlorocarbonates des groupes hydroxyles des stéroïdes avec le groupe aminé de radicaux lysines d'albumine bovine.

Mais bien souvent, il est indispensable d'insérer une chaîne moléculaire qui pontre les deux substances. Cela produit des antisérums bien plus spécifiques (MARTENSZ, 1980) qui peuvent différencier des stéroïdes de structure proche (LIEBERMAN et al., 1959).

Le maximum de spécificité de l'antisérum apparaît quand la réponse se fait pour le conjugué stéroïdien au site distal de l'élément structurel visé. De cette façon, le stéroïde expose une surface de reconnaissance immunitaire avec le plus de dissimilitudes vis-à-vis d'autres stéroïdes (GROVER et ODELL, 1977; cités par SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

Les conjugués ont un faible pouvoir immunogénique et la réaction immunitaire doit être facilitée à l'aide d'*immuno-adjuvants* appropriés (BOREK, 1977; cité par SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983). Les adjuvants possédant la plus grande capacité à favoriser la réaction sont le FCA (Freund's Complete Adjuvant, à base d'huile), le DEAE-dextran, polycation (COX et al., 1976) et le Dextran-sulfate, polyanion (KAPLAN et al., 1978).

B. Mode d'injection des antisérums

Le mode d'injection est variable, selon les préférences de chaque expérimentateur (voir MARTENSZ, 1980). On peut toutefois citer deux traitements que COX et al. (1982) ont étudiés : le traitement *complet* (2 injections intramusculaires multiples à deux semaines d'intervalle) et le traitement *simplifié* (2 injections sous-cutanées simples). Ces deux traitements sont maintenant retenus comme standard (PHILIPON, 1983).

C. Caractérisation des antisérums

La caractérisation de la réponse immunitaire passe par la détermination de sa magnitude (grandeur), de son profil d'extinction, du degré de neutralisation biologique de la cible stéroïdienne (titre d'anticorps), de la spécificité de l'anticorps *in vivo* et de la composition de l'immunoglobuline (capacité de liaison à l'anticorps).

Le titre d'anticorps est défini comme la dilution du plasma qui lie 50 % de radioactivité ajoutée (stéroïde tritié) après une nuit d'incubation à 4°C. Le *Dextran T70-charcoal* (charbon actif) permet la séparation, de la partie liée et de la partie libre, par adsorption de la cette dernière. Une centrifugation accélère cette séparation.

La capacité de liaison de l'anticorps se mesure par comptage après dialyse d'équilibre d'une dilution d'antisérum additionnée de stéroïde tritié dans une solution saline.

On définit la **spécificité d'un antisérum** comme étant le rapport, exprimé en %, entre la dose de stéroïdes conjugués qui déplace 50 % de stéroïde tritié fixé par l'antisérum et la dose de stéroïde *parasite* nécessaire au déplacement de la même fraction de stéroïde tritié. Une méthode travaillant avec des solutions faibles, consiste à mesurer le titre d'anti-sérum pour chaque stéroïde (SCARAMUZZI 1976 ; MARTENSZ, 1980).

4. Les hormones impliqués dans les immunisations

A. Progestérone

L'immunisation anti-progestérone provoque l'augmentation du taux plasmatique de cette hormone, mais sous forme liée (FAIRCLOUGH et al., 1976; FRENCH, 1977; cités par THOMAS et al., 1984). Elle est accompagnée de perturbations profondes dans la longueur du cycle et diminue l'incidence du comportement oestral (THOMAS et al., 1984): cela n'améliore pas la fertilité (HOSKINSON et al., 1982; cité par SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

MARTENSZ (1980), FAIRCLOUGH (1976, sur la brebis) et FERIN et al. (1970, sur la ratte) n'observent pas d'effet du traitement sur l'ovulation, et FAIRCLOUGH n'observe de plus aucune action de l'immunisation anti-progestérone sur la régression lutéale ou sur l'oestrus.

En revanche, THOMAS et al. (1984), par immunisation active, notent une diminution de l'incidence du comportement oestral, une réduction de la longueur du cycle, associée à une réduction de l'intervalle séparant les pics préovulatoires de LH, suite à une diminution de l'inhibition du feed-back positif des oestrogènes (THOMAS et al., 1984; FRENCH et SPENETTA, 1981; HOSKINSON et al., 1982). L'immunisation contre la progestérone augmente la fréquence des pulses de LH probablement par une diminution du feed-back négatif de la progestérone (THOMAS et al., 1984). Toujours en contradiction avec les auteurs précédents, THOMAS et al. observent l'apparition d'un haut nombre de nouvelles ovulations et l'absence de régression lutéale, les deux annonçant l'accumulation de *corpora lutea* sur l'ovaire : il y aurait inhibition de la synthèse de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (SCARAMUZZI et al., 1977).

En outre, l'immunisation contre la progestérone retarde l'implantation de l'embryon et provoque parfois des avortements (NIESCHLAG et WICKINGS, 1978; cités par PHILIPON, 1983; MARTENSZ, 1980) mais elle n'a plus d'effet après la première moitié de la gestation (MARTENSZ, 1980) puisque le placenta et le fœtus sont capables de sécréter leur propre progestérone.

B. Oestrogènes (MARTENSZ, 1980; NIESCHLAG et WICKINGS, 1978)

OESTRADIOL-17B

L'emploi de doses massives lors des premières expériences d'immunisation contre les oestrogènes ou l'utilisation de l'adjuvant de Freund (COX et al., 1982) ont provoqué un titre d'anticorps très élevé (SMITH et al., 1981; SCARAMUZZI et al., 1982) qui pouvait entraîner la

suppression de l'oestrus chez la brebis (SCARAMUZZI et al. 1970, 1977; COX et al., 1976, 1978-79; RAWLINGS et al., 1978) et chez la ratte (HILLIER et CAMERON, 1976).

Tout comme celui de la progestérone, le taux d'oestrogènes totaux s'élève suite à l'hyperstimulation de la stéroïdogénèse, mais les stéroïdes se trouvent principalement sous forme liée (SCARAMUZZI et al., 1980; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

C'est apparament l'E_{17 β} qui est le plus impliqué dans l'inhibition de l'ovulation et l'arrêt de l'oestrus (rat : HILLIER et al., 1975; brebis : SCARAMUZZI et al., 1977; RAWLINGS et al., 1978; vache : MARTIN et al., 1978; singe rhésus : FERIN et al., 1974). L'ovulation est inhibée suite à la suppression du pic préovulatoire de LH (brebis : FERIN et al., 1970; SCARAMUZZI et al., 1970; COX et al., 1976; FAIRCLOUGH et al., 1976; ratte : HILLIER et CAMERON, 1976; cobaye : PEDDIE, 1977). Le temps d'administration de l'antisérum est d'une importance critique pour l'immunisation passive : le blocage de l'ovulation le plus évident est obtenu quand l'antisérum est injecté pendant le dioestrus (FERIN et al., 1969). L'ovulation peut quand même se produire après l'accouplement, malgré l'absence de pic préovulatoire spontané de LH (KAUSHANSKY et al., 1977)

Le taux basal de la LH augmente, de la même façon que chez les brebis ovariectomisées et hystérectomisées (PANT et al., 1978; MARTENSZ et al., 1979). La FSH est aussi secrétée plus abondamment, mais l'augmentation est moindre (MARTENSZ, 1979).

Ce sont ces résultats qui ont permis de démontrer que l'E_{17 β} est le principal stéroïde concerné dans l'inhibition de la sécrétion des gonadotropines chez la brebis, surtout pendant l'anoestrus. cela a prouvé aussi que l'élévation de la concentration en E_{17 β} plasmatique pendant le dioestrus (GOSHINIGA et al., 1969) est le facteur qui déclenche le pic préovulatoire de LH (MARTENSZ, 1980). KARSHANSKY et al. (1977) ont même remarqué que l'ovulation

peut avoir lieu après l'accouplement chez des rats activement immunisés contre l'E_{17 β} et qui ne montrent pas de pic préovulatoire spontané de LH.

Les anticorps anti-oestrogènes sont capables d'inhiber toute action utérinaire des oestrogènes exogènes ou endogènes chez le rat, la souris et le hamster (GOODFRIEND et al., 1961; FERIN et al., 1968).

Au niveau morphologique, l'immunisation contre les oestrogènes cause une hyperstimulation ovarienne caractérisée par un nombre croissant de grands follicules cystiques ou hémorragiques avec hypertrophie de la couche thécale et dégénérescence de la membrane basale et de la granulosa.

Enfin, l'immunisation à haute dose contre l'E_{17 β} n'amène pas de dérèglement de la lutéolyse (SCARAMUZZI, 1976) ni de la parturition (COX et al., 1976; RAWLINGS et al., 1978) et élève la proportion de cycles oestriques longs. La fertilité des animaux immunisés sont plus faibles que ceux des témoins (MARTENSZ et al., 1978).

Par contre, en utilisant des *méthodes de stimulations immunitaires plus douces*, l'interruption des cycles n'est pas observée (SCARAMUZZI et al., 1977, 1980; MARTIN et al., 1979; SMITH et COX, 1981; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983). De plus, les pertes embryonnaires observées sont très variables : normales (COX et al., 1978-79, 1982; LAND et al., 1982), élevées (SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983), permettant le maintien de la fertilité (LAND et al., 1982; SMITH et COX, 1981) ou faibles (SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983), surtout en cas de titre d'antisérum élevé. Le nombre d'agneaux nés n'est, de ce fait, pas modifié (MARTIN et al., 1979). Si la réponse immunitaire est bien contrôlée, on peut quand même obtenir *un gain de 20 %* (LAND et al., 1982; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

Quant au *sex-ratio*, il ne subit aucun changement (SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

OESTRONE

Les effets de l'immunisation anti-oestrone sont moins marqués que ceux de l'immunisation anti-oestradiol (COX et al., 1976; COX et WILSON, 1976; MARTENSZ et al., 1979). La réponse immunitaire est en effet moins intense (COX et al., 1976). Une autre explication possible est le rôle moins important de l'oestrone sur le cycle ovarien de la brebis (MARTENSZ, 1980).

MARTENSZ et al. (1978) ont montré que l'immunisation anti-oestrone influence le feed-back négatif de l'E_{17 β} sur la sécrétion de LH et de FSH. De plus, elle augmente la concentration plasmatique en progestérone pendant la phase lutéale (RAWLINGS et al., 1979).

L'immunisation contre l'oestrone, à l'inverse de l'immunisation anti-oestradiol, permet d'augmenter le taux d'ovulation (SCARAMUZZI et al., 1977).

PHYTO-OESTROGENES

La méthode de couplage des phyto-oestrogènes est la même que celle des autres stéroïdes : liaison covalente avec un polypeptide synthétique ou avec de la BSA (Bovine Serum Albumin) pour former un complexe immunogène (BAUMINGER et al., 1969; COX et al., 1972; cités par COX, 1984).

COX et son équipe ont combattu les effets des phyto-oestrogènes comme le *coumestan* par l'immunisation active. Ils ont ainsi pu réduire les effets phyto-oestrogéniques négatifs sur l'utérus (COX et al., 1982). En outre, le taux d'ovulation a été rétabli, tout comme la fertilité (COX et al., 1982; SMITH et al., 1982).

Si l'injection est faite au moment de la lutte, il n'y a, tout au plus, que réduction des effets des phyto-oestrogènes (LITTLE et al., 1984). La cause est peut-être la trop grande quantité de dérivés oestrogéniques végétaux ingérés par la brebis.

C. L'inhibine

FRANCHIMONT et al. (1975, 1979) ont observé que

l'immunisation de lapin avec de l'inhibine partiellement purifiée permet une élévation du niveau d'émission de FSH sans changement de celui de LH. Par contre O'SHEA et al. (résultats non publiés, cités par BINDON observent que les animaux immunisés présentent des taux normaux en FSH, et pensent que l'inhibine agirait directement au niveau ovarien.

Du fait de l'impureté de l'immunogène (présence d'albumine), il y a une large variation de la réponse immunitaire (JANSEN et al., 1984; CUMMINS et al., 1986).

L'effet de l'immunisation passive, faible sur le saisonnement et sur la longueur du cycle oestral, résulte d'une courte vie de la réponse (O'SHEA 1984; CUMMINS et al. 1986).

L'immunisation contre l'inhibine augmente le taux d'ovulation (HENDERSON et al., 1984; CUMMINS et al., 1986; O'SHEA et al., 1984) dans une proportion comparable à un traitement à la PMSG (BINDON et al., 1971; WALLACE et MAC NEILLY, 1985; cités par MARESIGN, 1985). Elle semble agir sur la maturation des follicules qui sont plus nombreux et plus gros que chez les brebis témoins. Le nombre de portées est également plus élevé (O'SHEA et al., 1984). La réponse obtenue est durable pendant toute la période de reproduction et ne nécessite qu'une injection de rappel l'année suivante (CUMMINS et al., 1986; HENDERSON et al., 1984).

Bien que l'on ne sache pas si l'immunogène actif soit l'inhibine ou l'élévation de niveau de FSH, les brebis, immunisées contre l'inhibine, ensuite ovariectomisées, résistent à l'effet dépressif sur la FSH des fractions de fluide folliculaire enrichi en inhibine (AL OBAIDI et al., 1984; CHANNING et al., 1982 chez le singe). Il y a donc production d'anticorps anti-inhibine.

Pour l'instant, cette technique n'est pas encore applicable industriellement, mais de nombreux efforts sont faits pour purifier l'inhibine et les autres composés

du fluide folliculaire (RAMASHARMA et al., 1984; cités par O'SHEA et al., 1984)

D. Les androgènes

L'immunisation contre les androgènes, tout comme celles visant les autres stéroïdes provoque une augmentation de taux d'androgènes total, mais une diminution du taux d'androgènes libres (ratte : HILLIER et al., 1974, 1975; lapine : ARMSTRONG et al., 1978; brebis : SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983). C'est la forte augmentation du niveau basal de la LH qui est la cause d'une sécrétion accrue des androgènes (SCARAMUZZI et al., 1981; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

Si la réponse immunitaire est trop intense, suite à une immunisation active, l'anoestrus s'installe chez la ratte (HILLIER et al., 1974, 1975) et chez la brebis (SCARAMUZZI et al., 1977, 1981; VAN LOOK et al., 1978; MARTENSZ et SCARAMUZZI, 1979; MARTIN et al., 1979; GELDARD et SCARAMUZZI, 1983). La concentration en FSH se trouve réduite par l'immunisation contre l'androstènedione et en moindre mesure contre la testostérone (MARTENSZ et al., 1976; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983). Selon MARTENSZ et SCARAMUZZI (1979), les androgènes libres faciliteraient donc la libération de FSH par l'hypophyse.

L'immunisation contre la testostérone conduit parfois à l'apparition de follicules kystiques qui n'ont plus de cellules de la granulosa (HILLIER et al., 1974, 1975; ARMSTRONG et al., 1978; SCARAMUZZI, 1979). Selon ARMSTRONG et al. (1978) ces follicules seraient incapables d'ovuler mais continueraient à grossir, la chute du taux d'androgènes libres les protégeant contre l'atrésie.

En cas de réponse modérée, on observe, chez toutes les races de brebis, une augmentation du taux d'ovulation de 50 % (SCARAMUZZI et al., 1977, 1980, 1981, 1982, 1983; SCARAMUZZI, 1979; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983; SMITH et al., 1981, 1983; GELDARD, 1984; LAND et al., 1982, ...). On constate aussi que le taux d'ovulation est en relation avec une augmentation du nombre de gros

FIGURE 14 : REPONSE OVARIENNE A L'IMMUNISATION CONTRE LES STEROIDES (Yago, 1984)

Race	Traitement	T.O. contrôle	T.O. après immunisation	source
Welsh mountain	immunisation active contre l'androstènedione	1,36	2,40	VAN LOOK <i>et al</i> (1978)
Charmoise	id.	1,09	1,65	adapté de COGNIE, PHILIPON et TERQUI (1984)
Merino	immunisation active contre l'oestrone	1,2	2,3	MARTIN <i>et al</i> (1978)
Welsh Mountain	immunisation passive contre l'oestrone	1,3	1,8	LAND <i>et al</i> (1982)
Welsh Mountain	immunisation active contre la testostérone	1,5	2,8	SCARAMUZZI <i>et al</i> (1981)
Welsh Mountain	immunisation passive contre la testostérone	1,59	1,78	LAND <i>et al</i> (1982)
Welsh Mountain	immunisation active contre l'oestradiol	1,5	3,0	SCARAMUZZI, MARTENSZ et VAN LOOK (1980)
Welsh Mountain	immunisation passive contre l'oestradiol	1,69	1,83	LAND <i>et al</i> (1982)

follicules préovulatoires (COX et al., 1978-79, 1982; SCARAMUZZI et al., 1981; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983). Cet effet est dû à l'action antimitotique du haut niveau de LH sur les cellules de la granulosa, ce qui prolonge leur survie (SCARAMUZZI et al., 1980, 1981; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

Comme conséquence de l'augmentation du taux d'ovulation, on note plus de corps jaune en phase lutéale, ce qui accroît la sécrétion de progestérone (MARTENSZ et SCARAMUZZI, 1979). Cox et al. (1978-79, 1980), VAN LOOK et al. (1978), MARTIN et al. (1978) et SCARAMUZZI et HOSKINSON (1983) ont signalé une modification du *sex-ratio* en faveur des femelles, surtout dans le cas des portées multiples.

5. Conclusions

Les immunisations contre les hormones du système reproducteur, et plus particulièrement les hormones ovariennes, sont caractéristiques :

- Les immunisations contre les androgènes et les progestagènes, ainsi que contre l'oestrone, **augmentent le taux d'ovulation**, à l'inverse de l'immunisation anti-oestradiol qui provoque une baisse du taux d'ovulation, sauf si la réponse immunitaire est bien contrôlée.

- Des **performances d'agnelage** sont obtenues sous immunité contrôlée (titre d'anticorps faible, de 1/500 à 1/3000, au début de la lutte).

- **En cas de titres trop élevés**, les brebis peuvent entrer en état d'anoestrus ou de stérilité. Dans tous les cas d'hyperstimulation de l'immunité, les performances d'agnelage sont faibles.

- Pendant le milieu de la **phase lutéale**, les corps jaunes sont plus actifs et plus volumineux. Cette activité se traduit par une augmentation de la concentration en progestérone.

- L'immunisation est associée à des **changements des concentrations sanguines hormonales** : augmentation du niveau basal de la LH et de sa fréquence de décharge.

- L'**immunisation passive**, par sa possibilité de contrôle et sa souplesse d'emploi, permet l'obtention de très bons résultats.

- Les résultats de l'**immunisation contre les androgènes** ne sont pas influencés par les synchronisations de l'oestrus (MARTIN et al., 1984). De plus, ils sont additifs à d'autres méthodes d'amélioration du taux d'ovulation, comme le gain de poids (SMITH et al., 1981; GELDARD et SCARAMUZZI, 1983) et l'avantage génétique de certaines souches (SMITH et al., 1981).

- Le **taux de fertilisation**, à l'inverse du taux d'ovulation, semble être diminué (SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

- Les **pertes embryonnaires** sont plus élevées chez les brebis immunisées.

F. L'immunisation active ou la vaccination contre l'androstènedione

1. Historique

En 1974, L'équipe de SCARAMUZZI a engagé un programme de recherche, dont la technique principale était l'immunisation, afin d'étudier les fonctions des androgènes sur les phénomènes sexuels cycliques de la brebis (SCARAMUZZI et MARTENSZ, 1975). Au cours d'une laparotomie de routine incluse dans ce programme, ces chercheurs ont noté, dans un groupe de brebis *Weslh mountain* immunisées contre l'androstènedione, une surprenante proportion d'ovulations multiples (SCARAMUZZI et al., 1977). Ils comprirent dès lors la signification pratique d'une telle trouvaille : l'immunisation anti-androstènedione devait permettre l'augmentation de la prolificité chez la brebis, et probablement chez d'autres espèces.

VAN LOOK et al. (1978) et MARTIN et al. (1979) employèrent cette méthode avec un succès partiel, puisque lors des deux expériences, bien que le nombre d'agneaux nés par brebis agnelante fut plus élevé, le nombre de brebis anovulantes augmentait aussi, suite à des réactions immunitaires secondaires.

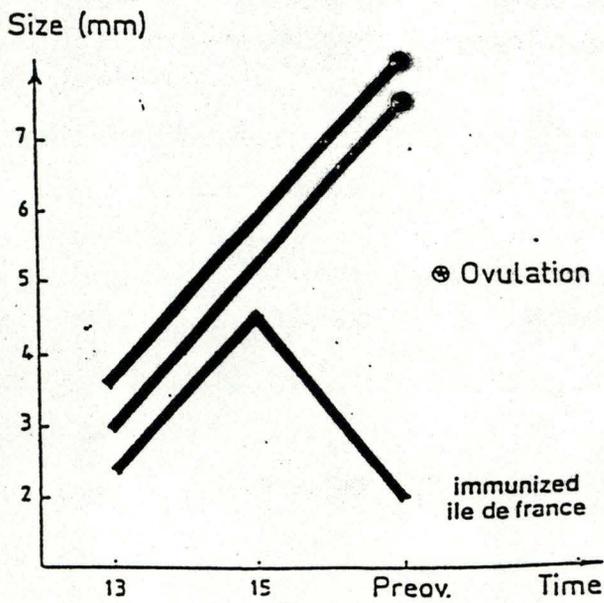
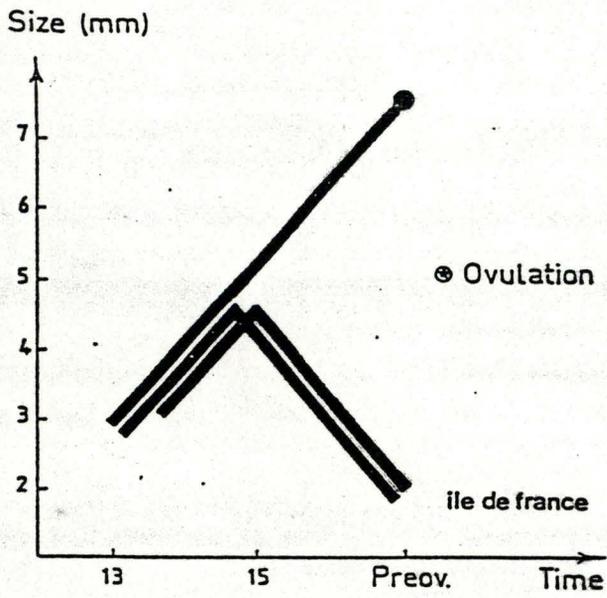


FIGURE 45 : CROISSANCE FOLLICULAIRE TERMINALE CHEZ LA BREBIS
 ILE-DE-FRANCE IMMUNISEE OU NON CONTRE L'ANDROSTENEDIONE
 (D'APRES JEGO 1984)

Le traitement immunitaire fut alors adouci (conditions contrôlées) (COX et al., 1976; SCARAMUZZI et al., 1982; COX et al., 1982; SMITH et al., 1981) et les tests confirmèrent l'obtention d'une augmentation de la prolificité.

En 1981, ces résultats positifs amenèrent la mise au point d'un produit immunogène, le *Fecundin*®, qui favorise l'élévation de la prolificité des brebis.

2. Le produit immunogène

Actuellement, la plupart des laboratoires qui étudient l'immunisation contre l'androstènedione utilisent le *Fecundin*®, commercialisé par la firme pharmaceutique australienne GLAXO, sous brevet C.S.I.R.O., permettant un contrôle précis de la stimulation du système immunitaire.

Tous les produits immunogènes à base d'androstènedione sont les mêmes : un adjuvant qui permet de stimuler le système immunitaire (Freund ou DEAE dextran) et un conjugué androstènedione-protéine albumine sérique (HSA ou BSA). Deux types de conjugués sont habituellement employés : l'androstènedione-7-carboxyéthylthioéther - HSA (utilisé pour *Fecundin*®), avec comme adjuvant usuel le DEAE Dextran (GELDARD et al., 1984; MARTIN et al., 1981; LAND et al., 1982) et l'androstènedione-11- α -hémisuccinyl-BSA qui emploie l'adjuvant de Freund (MARTENSZ et al., 1976; MARTIN et al., 1979).

3. Résultats et conclusions de l'immunisation anti-androstènedione

L'immunisation contre l'androstènedione donne divers résultats qui peuvent être résumés comme suit :

- Le **taux d'ovulation** augmente significativement, se traduisant la plupart du temps par 2 ovulations chez les brebis à faible prolificité. Les meilleurs résultats ont été enregistrés chez les brebis *Charmoises* (70%

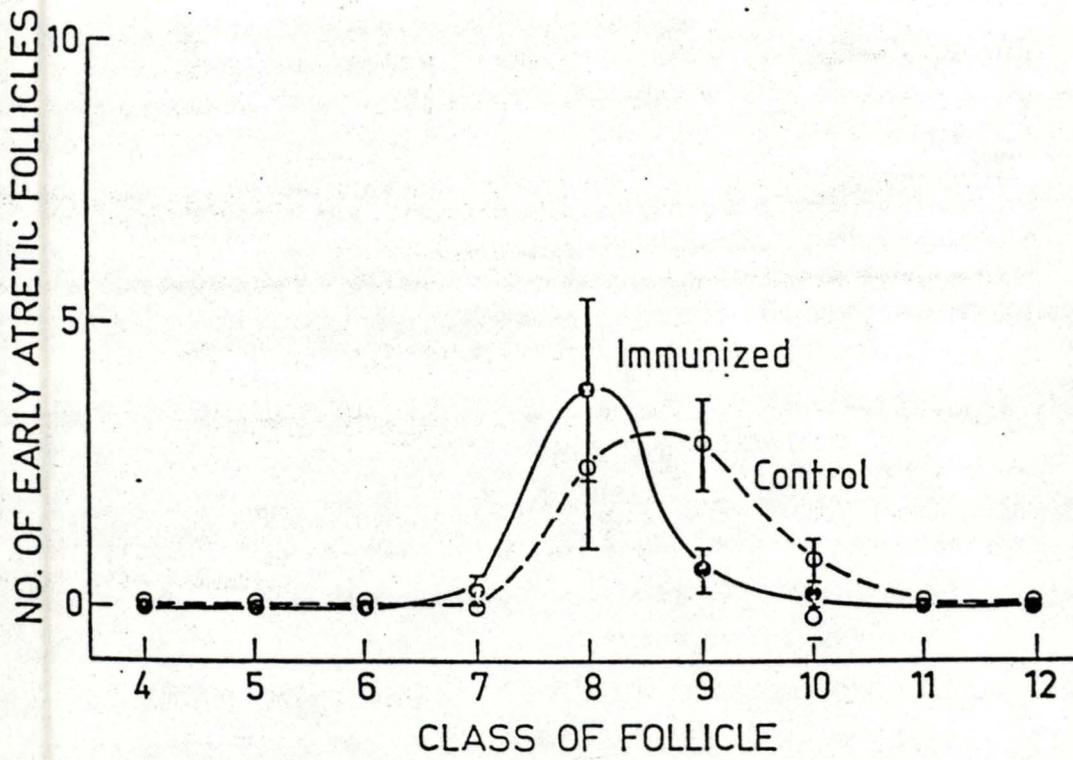


FIGURE 46 : The class distribution (mean \pm SE) of follicles in early atresia in eyes immunized against A_1 -11-BSA. Early atresia and follicle class are defined according to Turnbull *et al.* (1977).

d'augmentation) et les *Welsh mountain* (50% d'augmentation).

- La **prolificité** augmente significativement, malgré des pertes embryonnaires plus importantes (jusqu'à 20% en plus), parfois dues à des déficiences des techniques d'élevage : nutrition non adéquate pendant le dernier tiers de gestation. L'augmentation des performances d'agnelage est obtenue sous conditions contrôllées de l'immunité.

- On n'observe peu ou pas de naissances de triplés.

- La **mortalité embryonnaire** élevée pourrait être due au fait que l'utérus de la brebis ne supporte difficilement le foetus supplémentaire.

- Les données ne sont pas suffisantes pour déterminer un éventuel effet de l'immunisation sur le **sex-ratio**.

- Les brebis immunisées ont un **nombre plus élevé de gros follicules non atrétiques** en fin de croissance (4 à 8 mm).

- La raison du nombre croissant de follicules de classe 12 (4 à 8 mm) semble être la **survivance plus grande de ces follicules** plutôt que les changements dans le mode de croissance et d'atrésie des petits follicules.

- La **taille folliculaire à la maturité** (définie comme la capacité du follicule à répondre à l'*HCG*) n'est pas affectée.

- Le niveau basal de la **LH** augmente, celui de la **FSH** diminue.

- L'androstènedione ne semble pas avoir d'action en feed-back négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

- Les brebis immunisées ont un **intervalle lutéolyse-oestrus raccourci**.

- Le taux de **progestérone** augmente pendant la phase lutéale.

- Les brebis à poids corporel élevé montrent une augmentation plus significative des performances d'agnelage.

PROGESTERONE (ng / ml)

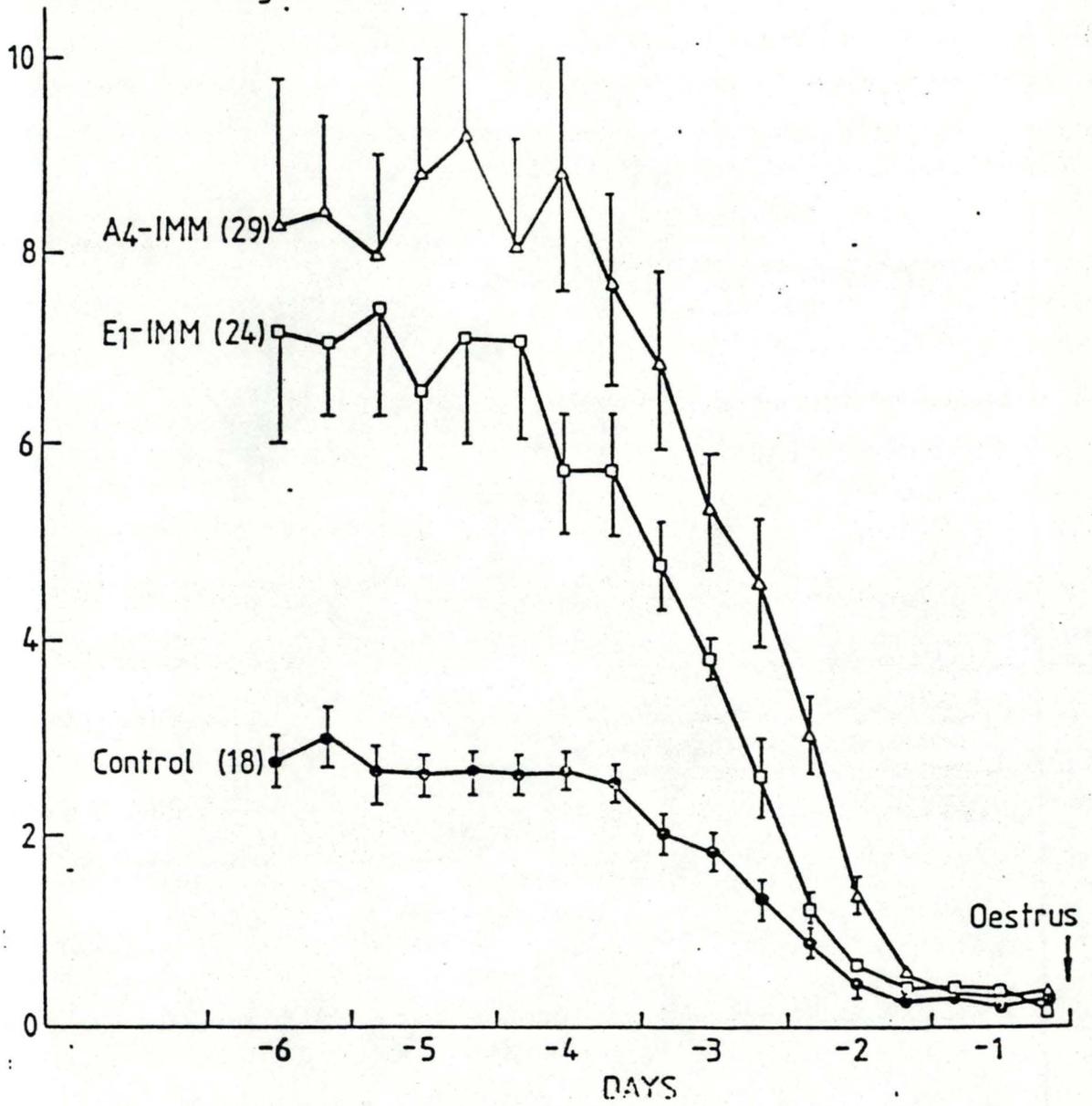


FIGURE 47 : Décroissance du taux de progesté-
rone en fin de cycle chez des brebis
immunisées ou non

MATERIEL ET METHODES

A. Objectifs poursuivis

La revue bibliographique laisse apparaître que l'immunisation contre l'androstènedione pourrait être intéressante pour augmenter la productivité de la brebis, mais que les mécanismes d'action sont encore mal connus.

Le premier but que nous avons assigné à notre travail est de déterminer les effets de l'immunisation active contre l'androstènedione chez une race ovine viandeuse lourde : la *Texel*. Nous avons pour cela, eu recours à un produit immunogène commercialisé par la firme GLAXO, dont la phase d'essai est entamée en France et terminée en Australie, et qui pourrait être introduite en Belgique prochainement.

Notre second objectif, est l'étude théorique des effets de cette vaccination sur les processus déterminant la prolificité de la brebis : dynamique folliculaire, devenir des follicules recrutés, nombre de jeunes.

B. Conditions expérimentales

Les expériences sur animaux ont été effectuées au Centre de Recherche Ovine de Faulx-les-Tombes. Les dosages hormonaux et les analyses des résultats ont été exécutées au laboratoire de Physiologie Animale des Facultés.

Les brebis, en prairies jusqu'à fin octobre, ont ensuite été rassemblées dans un enclos de 15 mètres sur 5, tout en continuant à être soumise à la photopériode naturelle. Les températures variaient de 5 à 10 degrés centigrades. Une salle annexe servait de salle d'opération. Pendant la durée de l'expérience, les brebis ont reçu une ration permettant de couvrir leurs besoins : foin, concentrés, suppléments minéralo-vitaminiques.

C. Animaux expérimentaux

Vingt brebis *Fexel* âgées de 2 et 3 ans, ayant agnelé en mars-avril 1986 et tarées début juillet, sont divisées en deux groupes de dix qui ont dû, dès le départ de l'expérience, être ramenés à neuf, en raison d'une mort accidentelle.

Le premier lot (I) a été immunisé contre l'androstènedione l'autre (NI, témoin) non.

De chaque lot, sept brebis ont été synchronisées par deux injections à une semaine d'intervalle d'un agoniste de la $PGF_{2\alpha}$, l'*Estrumate* ®. Le groupe des 18 brebis se répartit dès lors comme suit :

- 7 brebis immunisées et synchronisées (IS),
- 2 brebis immunisées et non synchronisées (INS),
- 7 brebis non immunisées mais synchronisées (NIS),
- 2 brebis non immunisées et non synchronisées (NINS).

D. Protocole expérimental suivi (voir tableau)

Les brebis, rassemblées en bergerie le 27 octobre 1986, ont reçu deux injections de *Fecundin* ® de 2 ml chacune, la première le jour même, la seconde deux semaines après, le 15 novembre. La synchronisation a été réalisée par deux injections d'*Estrumate* ® de 0,5 ml, le 14 et le 22 novembre. Les chaleurs ont été détectées par la présence d'un bélier vasectomisé porteur d'un harnais marqueur. L'oestrus s'est produit le 26 novembre.

Les expériences par endoscopies ont débuté le lendemain, 27, pendant deux semaines tous les deux jours, jusqu'au 16 décembre. Pour les lots non synchronisés, nous avons procédé à deux endoscopies espacées de 16 jours, le premier décembre et le 17, afin de noter le nombre de corps jaunes reflétant le taux d'ovulation.

Depuis le 7 mai 1986, les brebis ont été pesées toutes les deux semaines, jusqu'au 2 février 1987. De plus, des prises de sang ont été effectuées deux fois par semaine, le mardi et le samedi, du 28 octobre au 25 novembre. Ensuite, elles étaient faites trois fois par jour, à 7, 15 et 23 heures, du 26 novembre au 16 décembre. Des prises de sang sériées, étalées sur 6 heures, toutes les dix

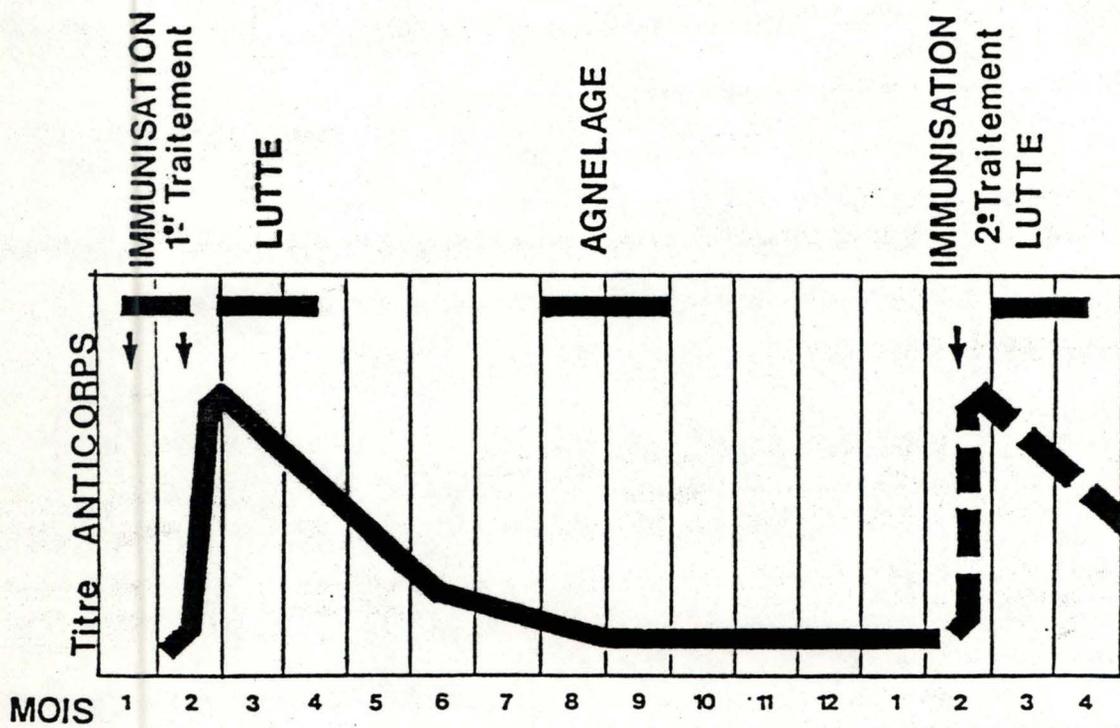


FIGURE 48 : EVOLUTION DU TITRE EN ANTICORPS APRES IMMUNISATION ACTIVE CONTRE L'ANDROSTENEDIONE. NOTER QUE 2 INJECTIONS (↓) D'IMMUOGENE A 4 SEMAINES D'INTERVALLE SONT NECESSAIRES LORS DU 1er TRAITEMENT POUR OBTENIR UNE REPONSE ET UNE SEULE LORS DU 2eme TRAITEMENT (SOURCE C.S.I.R.O. AUSTRALIE)

minutes, ont été réalisées le 3 décembre, afin de mesurer la pulsativité de la LH.

Les brebis, à la fin des endoscopies, ont été immédiatement mises à la reproduction, en présence d'un bélier.

Le nombre des naissances par brebis et leurs dates ont été enregistrées au cours des mois d'avril, mai et juin.

E. Techniques et traitements utilisés *in vivo*

1. Immunisation

L'immunogène injecté, le *Fecundin*®, préparé par la firme pharmaceutique GLAXO, sous brevet C.S.I.R.O., nous a aimablement été procuré par la station I.N.R.A. de Reproduction de Nouzilly (TOURS).

Fecundin® est un produit à base de Δ_4 -androstènedione-7-carboxyéthylthioéther-HSA en solution aqueuse dans un adjuvant faible, le DEAE-dextran, qui permet de provoquer une réponse immunitaire rapide et suffisante à l'androstènedione et à la HSA (lot 2890 17D).

Fecundin® doit être injecté à raison de 2 ml deux fois lors de la première année d'immunisation, 5 et 3 semaines avant la lutte. La seconde année, et les suivantes, un seul rappel suffit, deux semaines avant la lutte.

La réponse à la vaccination est estimée par le titre de l'antisérum, déterminé par dosage radio-immunologique. Le titre est défini comme la dilution à laquelle l'antisérum fixe 50 % d'androstènedione radioactive (voir dosage du taux d'anticorps anti-androstènedione).

2. Synchronisation des chaleurs

Nous avons procédé à deux injections d'*Estrumate*® (Cloprosténol, lot 86B13) de 0,5 ml chacune, en intramusculaire, espacées d'une semaine. Les chaleurs sont apparues

trois jours après la seconde injection, la veille du début endoscopies.

3. Endoscopies

L'endoscopie est l'observation d'un organe interne l'aide d'une sonde optique. L'ovaire est un organe aisé à observé par cette technique, si le manipulateur a derrière lui une pratique fréquente, afin de pouvoir donner une interprétation correcte des différentes observations. La difficulté majeure provient du changement d'aspect de la surface de l'ovaire pour une même brebis. Cette difficulté était, dans notre cas, accentuée par le fait que nous n'observions que tous les deux jours.

L'endoscopie est pratiquée sur la brebis immobilisée en décubitus dorsal grâce à un châssis de contention, le corps incliné légèrement, la tête vers le bas. Cette position permet le tassement des viscères contre le diaphragme. Après rasage et désinfection à l'aide d'une solution de teinture d'iode (seule nécessaire par la suite), trois anesthésies locales à la *Xylocaine*® (adrénaline en solution, 2ml) sont pratiquées aux endroits d'introduction des instruments, c'est-à-dire à 10 cm de part et d'autre de la ligne médiane et à une quinzaine de cm de la naissance du pis, en évitant soigneusement la veine mammaire. Les instruments, introduits après incision au scalpel et perforation au trocart, sont un endoscope *Wolf*® muni d'une fibre souple qui le relie à une source lumineuse de 150 W, un palpeur gradué permettant la manipulation des ovaires et la mesure de la taille des follicules, et une pince pour la préhension et le maintien des tendons ovariens. De l'air insufflé au moyen d'un compresseur permet le soulèvement de la paroi abdominale et du péritoine.

Une observation rapide permet de situer la position (externe ou interne, vers l'utérus) et le type d'ovaire (gauche ou droit). Une photographie est prise pour la vérification ultérieure des données. Ensuite, le nombre, la position et la taille des follicules sont annotés sur une carte ovarienne.

A la fin de l'observation des ovaires d'une brebis, les instruments sont retirés et désinfectés à l'alcool les incisions refermées par des crochets de chirurgie (qui seront enlevés pour l'observation ultérieure) et désinfectées avec une poudre chirurgicale, le *Spitalen*®. La brebis reçoit une injection intramusculaire de pénicilline (*Péni-DHS. 20*).

4. Prises de sang

Les prises de sang sont effectuées dans la veine jugulaire, par introduction d'une aiguille stérile et d'un garrot. Le sang est recueilli dans des tubes héparinés, et immédiatement centrifugé. Le plasma est transvasé et congelé à -20°C jusqu'au moment de l'analyse, puis aussitôt recongelé.

5. Diagnostic de gestation *in vivo* : échographie

L'échographe employé est un appareil composé d'une sonde émettrice-réceptrice, d'un ordinateur et d'un moniteur vidéo. Il est vendu par la firme PIE MEDICAL, Netherlands (*Echographe 400*).

Le principe de fonctionnement est le suivant : La sonde émet des ondes ultrasonores qui sont réfléchies différemment selon la densité des structures qu'elles rencontrent. Les ondes réfléchies (*échos*) sont analysées en données numériques par l'ordinateur puis reproduites sur le moniteur vidéo. L'interprétation de l'image échographique demande une certaine expérience.

Pour l'examen, la brebis est présentée debout et côté queue vers l'opérateur, qui place la sonde dans la région de l'aîne. Suivant le stade de gestation et le diagnostic demandé (uniquement gestante-non gestante ou également taille de la portée), l'examen prend de quelques secondes à 2-3 minutes par animal.

F. Techniques utilisées *in vitro* : dosages hormonaux

1. Principe du dosage par R. I. A.

Le dosage radio-immunologique (Radio-Immuno-Assay RIA) est basé sur la compétition entre une quantité déterminée d'hormone marquée radioactivement (I^{131} , I^{125} , H^3 , ...) et la quantité variable et inconnue d'hormones se trouvant dans l'échantillon à analyser, vis-à-vis d'un antisérum (A_S) qui lui est spécifique.

La quantité d'hormone marquée (H^*) liée à l' A_S est inversement proportionnelle à celle d'hormone froide de l'échantillon.

En séparant H^* liée à l' A_S de H^* libre, on peut calculer, par l'analyse de la radio-activité de l'une de ces fractions, la quantité de H^* . Ce calcul a comme référence une courbe standard réalisée dans les mêmes conditions avec des quantités connues et croissantes d'hormones froides. Il est effectué sur ordinateur APPLE *Mc Intosh*® à l'aide de programmes élaborés par le laboratoire de Biologie Quantitative et le notre.

2. Caractéristiques des dosages

La **spécificité** des dosages par RIA, ou capacité de détecter la seule hormone que l'on veut doser, dépend principalement de la qualité de l'antisérum.

La **reproductibilité** est la mesure de dispersion des résultats obtenus en répétant plusieurs fois le dosage d'un même échantillon.

La **sensibilité** est la plus faible quantité d'hormone que l'on puisse mesurer. Elle dépend grandement de la fraîcheur des pipetages, spécialement ceux de l'antisérum.

MODE OPERATOIRE DU DOSAGE DE LA FSH

Tubes en plastique de 3 ml

50 μ l des plasmas ou de la courbe standard
+ 50 μ l d'antisérum (sauf pour la mesure du BG)

Laisser incuber (fixation) pendant 5 heures, à T° ambiante

+ 50 μ l d'hormone marquée

Laisser incuber (compétition) pendant une nuit, à T° ambiante

+ 250 μ l d'immunosorbant

Laisser incuber (séparation) pendant 4 heures, à T° ambiante

Centrifuger : 15 minutes, + 3000 rpm, T° ambiante

Elimination du surnageant par la trompe à vide

Comptage du culot au compteur de rayons γ

COURBE STANDARD : 0-0,5-1-2-4-8-10-20-40-50 ng/ml

TOTAL COUNT : uniquement 50 μ l d'hormone marquée directement au compteur

BG : pas d'antisérum

L'**exactitude** est la qualité d'un dosage dont les résultats correspondent effectivement aux taux réels d'hormones présents dans l'échantillon. Cette caractéristique dépend donc de l'absence d'interaction entre les composants plasmatiques du dosage. Elle est approchée par les tests de dilution.

3. Dosages des gonadotropines (FSH et LH)

METHODE

Le dosage se réalise dans des tubes *siquot* en plastique de 3 ml. 50 µl de plasma puis 50 µl d'antisérum γ sont introduits. Une première incubation de 5 heures, à température ambiante, permet une bonne fixation de l'hormone froide sur l'antisérum. 50 µl d'hormone marquée γ sont ajoutés pour réaliser la compétition jusqu'à équilibre. Cette compétition demande une nuit, toujours à température ambiante. Finalement, 250 µl d'immunoabsorbant sont additionnés et le tout incube pendant 4 heures. La séparation de la fraction liée et de la fraction libre est possible par centrifugation pendant 15 minutes à \pm 3000 rpm. Le surnageant est éliminé au moyen d'une trompe à vide, et le culot est passé au compteur de radiations γ .

ECHANTILLON

L'échantillon est formé soit d'une solution hormonale de concentration connue destinée à l'établissement de la courbe standard, soit d'un plasma de référence (quality control) fabriqué à l'aide de différents plasmas et destiné à comparer les valeurs obtenues d'un dosage à l'autre, soit du plasma à analyser.

BG et TC

Chaque dosage est accompagné d'une estimation de l'activité résiduelle (BG, Back Ground). Cette analyse est réalisée comme celles des échantillons, mais l'échantillon et l'antisérum sont remplacés par du tampon. De plus, au début du dosage, nous mesurons l'activité totale ajoutée lors de l'analyse de l'échantillon (TC, Total count).

COURBE STANDARD

La courbe standard est réalisée en remplaçant les 50 µl de plasma par 50 µl d'hormone froide à des concentrations croissantes et connues : 0;0,5;1;2;4;8;10;20;40 et 50 ng/ml.

MODE OPERATOIRE DU DOSAGE DE LA LH

Tubes en plastique de 3 ml

100 μ l des plasmas ou 50 μ l de la courbe standard + 50 μ l
de tampon Egg-White
+ 50 μ l d'antisérum (sauf pour la mesure du BG)

Laisser incuber (fixation) pendant 5 heures, à T° ambiante

+ 50 μ l d'hormone marquée

Laisser incuber (compétition) pendant une nuit, à T°
ambiante

+ 250 μ l d'immunosorbant

Laisser incuber (séparation) pendant 4 heures, à T°
ambiante

Centrifuger : 15 minutes, \pm 3000 rpm, T° ambiante

Elimination du surnageant par la trompe à vide

Comptage du culot au compteur de rayons γ

COURBE STANDARD : 0-0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,75-1-2-3-4-5-10-20
ng/ml

TOTAL COUNT : uniquement 50 μ l d'hormone marquée directe-
ment au compteur

BG : pas d'antisérum

IMMUNOSORBANT La séparation de la phase liée et de la phase libre est réalisée par la méthode du double anticorps. Il s'agit de la précipitation du complexe hormone-anticorps par liaison sur immunosorbant. C'est une solution d'ARGG (anti-Rabbit Gamma Globuline) fournie par le laboratoire d'hormonologie de Marloie.

COMPTAGE Le comptage des échantillons est effectué sur un analyseur de rayons gamma, à passeur d'échantillons LKB Wallac 1280 Ultragamma II. Le temps de comptage est fixé à 1 minute.

CALCULS Le modèle mathématique appliqué au dosage RIA est celui de FINNEY (1976) :

$$A = A_0 \frac{C_m}{C_m + C_f} + a$$

où A = radioactivité de la fraction pour une certaine concentration d'hormone froide,

A_0 = radioactivité maximale de la fraction,

a = radioactivité non spécifique,

C_m = concentration de l'hormone marquée,

C_f = concentration de l'hormone froide.

Cette équation, permettant de transformer en nanogrammes/ml les données obtenues en cpm, est ajustée aux données expérimentales de la courbe standard par la méthode des moindres carrés "Steepest descent", avec pondération (FINNEY, 1976; FEYTMANS, 1979).

Remarque : Le dosage de la LH est identique à celui de la FSH. Toutefois, nous avons utilisé 100 μ l de plasma pour mesures. Les différentes concentrations de la courbe standard sont 0;0,1;0,2;0,3;0,4;0,5;0,75;1;2;3;4;5;10 et 20 ng/ml. Pour les mesures, nous avons pris 50 μ l de ces concentrations ajoutés à 50 μ l d'une solution tampon (Egg-white).

Mode opératoire RIA progestérone H³

EXTRACTION	1. extraction de la progestérone contenue dans 300 μ l de plasma par 3 ml d'hexane, secoué pendant 2 minutes au vortex
	2. centrifugation pendant 5 minutes à -10°C à 2000 g.
	3. prélèvement de deux fois 1 ml de surnageant dans des tubes en verre
	4. évaporation à sec dans l'étuve sous vide à 40°C pendant 1 heure.
FIXATION AG X AC	1. addition de - 200 μ l de solution tampon "wide" - 100 μ l de P* - 100 μ l d'AS
	2. incubation 1/2 heure à 37°C et une nuit à 3°C
SEPARATION	1. addition de 500 μ l de dextran coated charcoal à 3°C
	2. agitation et incubation pendant 10 min à 3°C
	3. centrifugation pendant 10 min à 0°C et à 2000 g
COMPTAGE	1. prélèvement de 400 μ l de surnageant dans 4 ml de lumagel (liquide scintillant) contenu dans des mini-fioles.
	2. comptage pendant 5 min à l'analyseur β

La courbe standard est réalisée à partir de 100 μ l de solution contenant 0.00, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00 et 8.00 ng de P/ml respectivement

Le traceur est de la progestérone tritiée (1-2-6-7- H^3 progestérone) de PM 320 pour une activité spécifique de 80 Ci/mmole. A partir de cette solution, nous avons préparé un stock (50 μ l dans 5 ml de solution benzène-éthanol 9/1) qui nous sert pour préparer la solution de progestérone radioactive pour le dosage.

L'antigène utilisé pour l'immunisation des lapins est la progestérone-3-CMO-BSA. L'antisérum est fourni par le laboratoire d'hormonologie de Marloie.

La séparation de la phase libre et de la phase liée à l'anticorps se fait par adsorption de la phase libre sur Dextran-charcoal. La solution est préparée à partir de 650 mg de Charcoal *Norit A Serva*® et de 65 mg de dextran *T 70 Pharmacia*®. La poudre est solubilisée dans 300 ml de tampon-wide.

COMPTAGE Le liquide scintillant qui accentue les rayons β est du lumagel® produit par la firme LUMAC B.V.. Le compteur est un appareil BECKMAN à passeur d'échantillons. La lecture, fiable à 90 à 95 %, est faite pendant 5 minutes.

CALCULS La méthode de transformation des données en concentration est identique à celle des gonadotropines, mais cette fois, les données utilisées sont les désintégrations par minute et non pas les coups par minute.

5. Dosage de l'oestradiol

CARACTERISTIQUE

Tout comme le dosage de la progestérone, le dosage de l'oestradiol nécessite une extraction préliminaire, vu la faible concentration de l'hormone dans les plasmas (de l'ordre du picogramme).

METHODE

Extraction : L'extraction est réalisée à l'éther, dans des tubes en verre de 12 mm. On y met 250 μ l de plasma puis 2,5 ml d'éther. Les tubes sont immédiatement bouchés, afin d'éviter l'évaporation de l'éther. Le tout est mélangé au

MODE OPERATOIRE DU DOSAGE DE L'OESTRADIOL

Tubes en verre de 8 ml

250 μ l de plasma ou de la courbe standard
+ 2,5 ml d'éther

Boucher immédiatement les tubes
Vortexer 3 fois pendant 10 secondes
Centrifuger : 4°C, 10 min, \pm 3000 rpm
Congélation pendant 1 heure
Laisser dans de la glace pilée et salée
Transvasement du surnageant dans d'autres tubes

+ 50 μ l de sérum free ovin
+ 250 μ l d'hormone marquée à l'iode¹²⁵
+ 250 μ l d'antisérum (pas pour le BG)

Incubation à 37°C pendant 1 heure 30
Incubation à T° ambiante pendant 10 minutes

+ 250 μ l d'immunosorbant (A.R.G.G.)

Incubation à T° ambiante pendant 10 minutes
Centrifuger : \pm 3000 rpm, 15 min, T° ambiante
Aspiration du surnageant
Comptage au compteur γ

vortex pendant quelques secondes, trois fois de suite. On centrifuge à 4°C pendant 10 minutes à \pm 3000 rpm. Pour solidifier le culot, les tubes sont mis au congélateur pendant 1 heure. Puis les tubes, maintenus dans la glace pilée et salée, sont transvasés dans d'autres tubes, en évitant d'y verser le culot. Les surnageants récupérés sont évaporés dans l'étuve sous vide à 30°C.

Fixation Ag-Ac : 50 μ l de sérum free ovin permettent la récupération de l'hormone. On y ajoute 250 μ l d'hormone marquée et 250 μ l d'antisérum de Marloie. On laisse incuber 1 heure 30 à 37°C puis 10 minutes à température ambiante.

Séparation des phases et comptage : la séparation et le comptage sont identiques à ceux des gonadotropines : 250 μ l d'immunosorbant, mélange à 3000 rpm pendant 15 minutes, aspiration du surnageant et mesure de la radioactivité γ au compteur LKB Wallac, pendant 1 minute.

6. Dosage du titre d'anticorps anti-androstènedione

PRINCIPE Le dosage du titre d'anticorps anti-androstènedione est basé sur le principe suivant : du plasma dilué de façon croissante et connue, contenant ou non l'antisérum est mis en présence d'une quantité fixe d'androstènedione marquée, de quantité connue. La phase libre et la phase liée sont ensuite séparée et seule la phase liée (complexe Ac-hormone radioactive) est conservée.

Une mesure au compteur de radiation permet de connaître le nombre de cpm ou de dpm que l'échantillon contient. Ce nombre est inversement proportionnel à la quantité d'anticorps contenu dans la dilution.

METHODE

Dilutions : L'androstènedione marquée est diluée, pour avoir un total count d'environ 6000 cpm/100 μ l. Les plasmas sont à leur tour dilués : 10, 100, 1000, 10000 et 100000 fois, à l'aide de 900 μ l d'egg-white (tampon wide albuminé à 5 % d'albumine d'oeuf).

MODE OPERATOIRE DU DOSAGE DU TITRE D'ANTICORPS

Tubes en verre de 8 ml

Dilution des plasmas par 100 μ l dans 900 μ l d'Egg-white pour obtenir des dilutions de 10, 100, 1000, 10 000, 100 000 fois

100 μ l de chaque dilution
+ 100 μ l d'hormone marquée

Incubation (fixation) pendant 30 minutes à 37°C
Centrifugation : 0°C, 10 minutes, \pm 2000 rpm

Fioles de polyéthylène de 5 ml

350 μ l des surnageants
+ 3,5 ml de lumagel (liquide scintillant)

Mélange au vortex (quelques secondes)
Comptage au compteur β , comme la progestérone.

Fixation Ag-Ac : 100 μ l d'androstènedione marquée sont ajoutés à 100 μ l de chaque dilution des plasmas, dans des tubes en verre. Après incubation pendant 30 minutes à 37°C, on laisse reposer pendant 2 heures au frigo (3-4°C).

Séparation : Une centrifugation à 0°C pendant 10 minutes, à \pm 2000 rpm permet d'isoler les deux phases. On prélève 350 μ l de surnageant que l'on met dans 3,5 ml de Lumagel ® contenu dans des fioles de polyéthylène.

Comptage : Après mélange manuel puis au vortex des mini-fioles, la lecture s'effectue au compteur de radiations β . Le comptage est identique à celui de la progestérone.

PRODUIT L'androstènedione marquée est de la Δ_4 -androstènedione 1-2-6-7 tritiée.

CALCUL Le titre d'anticorps, considéré comme la dilution à laquelle 50 % de l'hormone marquée est fixée, est déterminé par la formule suivante :

$$d_{50} = \frac{2}{C_m} * \frac{\sum(Y_i - BG)}{\sum(d_i)}$$

où C_m = le nombre de coups maximum (Total Count TC)

BG = Back ground (Nombres de coups minimums)

Y_i = nombre de cpm des échantillons

d_i = dilution des plasmas

Les meilleurs résultats semblent être obtenus avec un C_m de 4500 cpm et un BG de 90 cpm. Toutes les valeurs doivent être utilisées, même si elles excèdent 4500 cpm : la variabilité des premiers points de la courbe est en effet très forte.

G. Méthodes de calculs statistiques

Le faible nombre de brebis utilisées ne nous a pas permis d'employer des méthodes statistiques élaborées. Seules des comparaisons de moyenne par le test T de Student, et des calculs de corrélation entre deux variables, par r et par l'établissement de droites de régression ont été employées.

RESULTS

I. Intensité de la réponse à l'immunisation.

Les valeurs individuelles et moyennes des titres d'anticorps des brebis immunisées (5 valeurs par brebis) et des brebis non immunisées (2 valeurs par brebis, avant et après les injections), depuis les injections de *Fecundin*®, le 27-10 jusqu'à la fin des endoscopies, le 16-12 sont reprises dans le tableau 1 et ont permis de tracer le graphique de l'évolution du titre en fonction du temps (graphique n°1) pour les brebis immunisées.

Suite à la première injection de *Fecundin*®, le taux basal d'anticorps subit une brusque montée de son taux basal (0 à 0,5 en dilution 50) et se stabilise à un niveau variable selon les brebis, mais encore faible. Au rappel, ce taux atteint un nouveau plateau d'une intensité au moins 5 fois supérieure à l'intensité de la réponse à la première injection.

Le lot de brebis immunisées (I) a un taux d'anticorps moyen de $26,93 \pm 9,03$ au moment des endoscopies, alors que la moyenne pour le lot des brebis non immunisées (NI) est de $0,53 \pm 0,75$. Il est donc évident que l'immunisation provoque la formation d'anticorps spécifiques à l'androstènedione puisque la probabilité de l'existence d'une différence ($P < 0,95$) est significative.

Les brebis synchronisées (IS) ont un titre de $23,67 \pm 10,11$ alors que ce titre est de $31,20 \pm 2,43$ pour les brebis non synchronisées (INS), mais ces valeurs ne sont pas significativement différentes ($P > 0,95$).

Le titre est toujours très élevé au moment des endoscopies. Cependant, on ne sait pas quel est le titre lors du cycle suivant celui observé. Il devrait, selon différents auteurs, baisser jusqu'à un niveau basal faible.

II. Evolutions de poids vif des brebis

Le tableau 2 reprend les valeurs des baisses de poids vif individuelles et moyennes des brebis de chaque lot (I, NI, S, NS) entre le 13-11 et le 27-11, période des injections de *Fecundin*® et d'*Estrumate*®. Le graphique des variations de poids vif en fonction du temps (graphique 2) indique clairement une baisse du poids au moment des injections pour l'immunisation et la synchro-

REPONSE A L'IMMUNISATION
TITRE D'ANTICORPS AU MOMENT DES ENDOSCOPIES

IMMUNISEES	NON IMMUNISEES	
12,8	0,32	
25,9	2,6	
29,6	0,39	
17,3	0,33	
34,6	0,28	
30,4	-0,08	
29,7	0,2	
15,4	0,11	
44,2	0,59	
29,3		
26,93	0,53	MOYENNE
9,03	0,75	ECART-TYPE

Tableau 1 : Titre d'anticorps observé chez les brebis (moyennes des valeurs comprises entre le 16-11 et le 16-12-86)

Tableau 1b : Titre d'anticorps des brebis immunisées (prises de sang faites entre le 28-10 et le 13-12-86)

TITRE D'ANTICORPS ANTI-ANDROSTENEDIONE : BREBIS IMMUNISEES									
DATES	94	97	101	105	106	110	112	113	114
28-10	-	0,59	2,58	-	-	0,25	4,98	9,92	2,12
4-11	-	0,63	1,48	-	-	5,1	15,96	4,1	1,26
18-11	-	14,96	17,71	-	-	-	-	-	-
22-11	-	-	-	-	-	38,63	33,77	26,55	44,15
27-11	14,3	-	-	19,4	37,96	-	-	-	-
30-11	11,14	-	-	18,14	34,9	-	-	-	-
3-12	13,55	27,07	30,16	15,74	39,23	31,21	33,2	14,76	46,37
6-12	10,29	-	-	18,84	35,64	-	-	-	-
10-12	14,57	24,81	29,09	14,37	25,38	29,68	26,27	16,03	42,03

Tableau 1c : Titres d'anticorps des brebis non immunisées avant et après injection de *fecundin*®.

TITRE D'ANTICORPS ANTI-ANDROSTENEDIONE : BREBIS NON IMMUNISEES		
BREBIS	AVANT INJECTION	APRES INJECTION (12-12)
93	0,23	0,32
103	0,4	2,6
108	0,26	0,39
109	0,34	0,33
116	-0,32	0,28
118	-0,16	-0,08
121	0,51	0,2
135	0	0,11
138	0,15	0,59

VARIATIONS DE POIDS EN PERIODE D'INJECTIONS				
	LOT IMMUNISE	LOT NON IMM	LOT SYNCHRO	LOT NON SYNC
	-9	-2,2	1	-2,2
	-3,2	1	-3,5	-3,2
	-6	-3,5	-4,2	-7
	-5,7	-4,2	-5,5	-5,3
	-7	-5,5	-0,5	-3,2
	-1,7	-3,2	-2,5	
	-5,3	-0,5	-9	
	-2,5	-2,5	-3,2	
	-2,8		-6	
	-3,2		-5,7	
			-1,7	
			-2,5	
			-2,8	
MOYENNE	-4,64	-2,58	-3,55	-4,18
ECART-TYPE	2,21	1,93	2,5	1,75

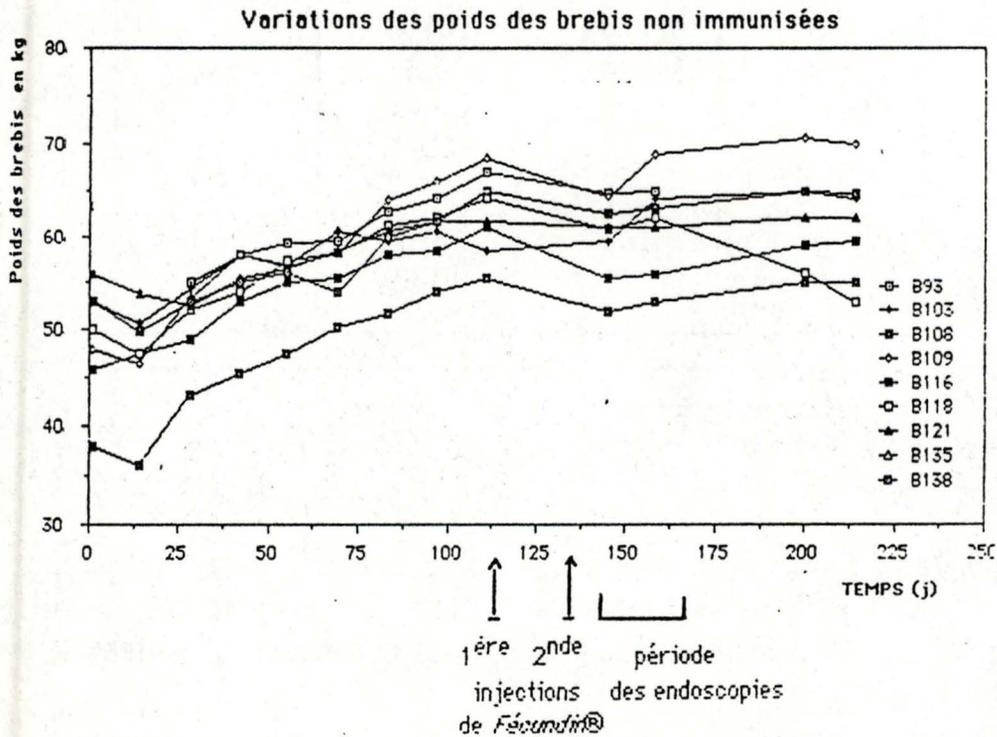
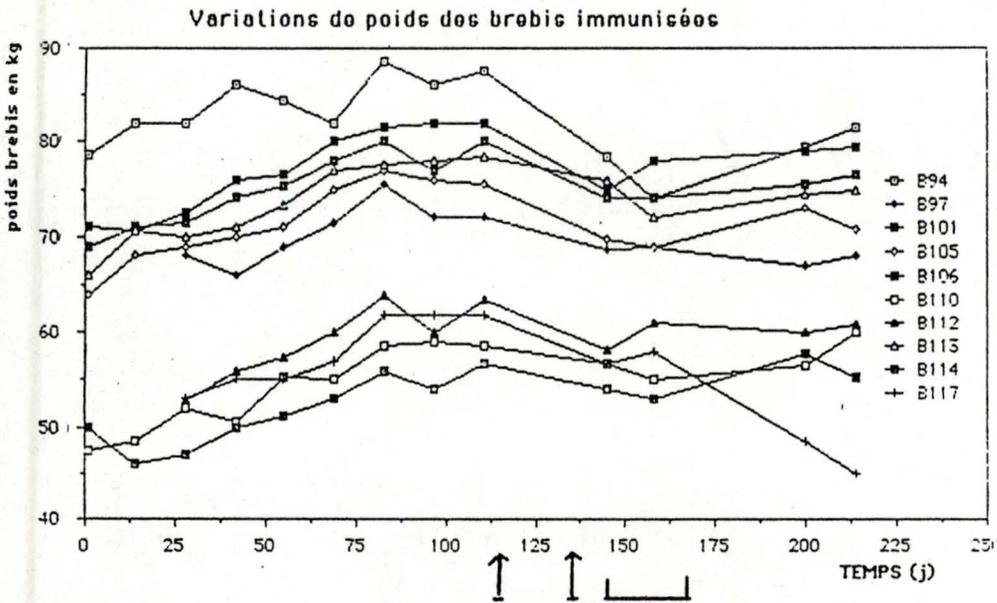
Tableau 2 : Variations de poids en période d'injections (entre le 27-10 et le 15-11). (les numéros des brebis ne sont pas connues pour les brebis non immunisées.

CORRELATION ENTRE LE POIDS AU MOMENT DES ENDOSCOPIES ET LE TITRE D'ANDROSTENEDION			
BREBIS IMMUNISEES		BREBIS NON IMMUNISEES	
TITRE	POIDS	TITRE	POIDS
12,8	74	0,32	65
25,94	69	2,6	64
29,63	74	0,39	53
17,3	69	0,33	69
34,62	78	0,28	59
30,45	55	-0,08	56,2
29,74	61	0,2	64
15,4	72	0,11	?
44,2	53	0,59	65
29,24	58		

R	-0,522	R	0,16
Y = 79,36 - 0,48.X		Y = 61,21 + X	

Tableau 3 : Correlation entre le poids au moment des endoscopies (poids vif moyen entre le 15-11 et le 16-12) et le titre d'anticorps au moment des endoscopies (tableau 1).

Graphe 2 : Variations de poids vif des brebis au cours du temps, de 5 mois avant les endoscopies à 2 mois après la fin des endoscopies.



nisation. Nous avons cherché à savoir si cette baisse de poids est le résultat des injections ou non : elle est plus marquée chez les brebis immunisées que chez les brebis non immunisées (-4,64 kg \pm 2,21 contre -2,58kg \pm 1,93), ce qui est fortement significatif ($P > 0,97$). Cette différence est peut-être due au cumul du stress suite aux injections et du changement du type de nourriture (entrée en bergerie). La baisse du poids des brebis synchronisées ou non n'est pas significativement différente de celle des brebis non synchronisées (-3,55 kg \pm 2,50 (S) pour -4,12 kg \pm 1,75 (NS)).

En ce qui concerne la corrélation du poids vif des brebis, au moment des endoscopies et du titre d'androstènedione, dont les valeurs sont reprises dans le tableau 3, le coefficient calculé est de -0,522 pour les brebis immunisées. L'analyse de la signification de ce coefficient nous donne une probabilité comprise entre 0,97 et 0,95: il est significatif. La droite de régression est $y = 79,36 - 0,48.x$ où y est le poids au moment des endoscopies et x , le titre d'anticorps des brebis ayant reçu deux injections de *Fecundin*®.

III. Variation de la longueur du cycle.

Les longueurs du cycle de chaque brebis immunisées, ainsi que la moyenne sont reprises en fin de tableau 4. Les valeurs des longueurs de cycle pour les brebis non immunisées sont consignées dans le mémoire de TRINTELER (1987).

La longueur moyenne du cycle oestral des brebis immunisées n'est pas significativement différente de celle des brebis non immunisées (17,14 jours \pm 1,46 contre 17,86 jours \pm 0,83). La probabilité obtenue est inférieure à 0,80.

Le coefficient de corrélation existant entre cette longueur et le titre d'anticorps des brebis immunisées est peu élevé ($r = -0,31$) et non significatif ($P < 0,80$). La réponse à l'immunisation n'a pas, dans cette expérience, d'effet sur la longueur du cycle.

BREBIS	OYAIRE	NOMBRE DE CROIS.FOLL.	NBRE DE FOLL. >4mm PAR CROISSANCE FOLL.			NBRE DE FOLL. TOT. >4mm	Ø MAXIMUM DES FOLLICULES >4mm			NBRE DE FO. ≥ 1mm	LONGUEUR DU CYCLE
			CF1	CF2	CF3						
98	GAUCHE	3	3	4	2	9	6-6-8,5	5,5-6-6-6	10,5	12	16
	DROIT	1	0	1	2	3	-	-	5-10	11	
97	GAUCHE	1	0	3	0	3	-	5,5-6-7	-	7	16
	DROIT	3	2	2	1	5	6-8	6-6	7	16	
101	GAUCHE	3	1	1	1	3	8	10	4	14	19
	DROIT	3	2	3	3	6	4-6	8,5-4-4	6,5-10-10	24	
105	GAUCHE	3	1	2	3	6	8,5	5,5-7	6,5-6-10	17	17
	DROIT	3	1	2	4	7	7	5,5-6,5	4-4-4-9	24	
110	GAUCHE	1	2	0	0	2	5,5-7	-	-	17	18
	DROIT	3	1	2	2	5	5,5	6-6	9,5-14,5	16	
113	GAUCHE	3	1	2	0	3	8,5	7,5-8	-	12	19
	DROIT	3	1	2	1	5	5	7,5-9	12	22	
114	GAUCHE	3	1	2	1	3	10	4-4	7	19	15
	DROIT	3	1	3	1	5	5	4-4,5-5	4	24	

MOYENNE ± EC :		1,21	2,07	1,29	4,64	6,98	7,29	8,83	OG:14,0±3,8	17,14
GAUCHE	2,43±0,9	±0,77	±0,96	±1,26	±1,88	±1,37	±1,52	±2,93	OD:19,6±4,9	±1,46
DROIT	2,72±0,7								20:33,6±7,4	
MOYENNE	2,57±,49									
		MOYENNE DES TROIS CFs: 7,54±2,18								

Tableau 4 : Résultats des endoscopies : nombre de croissances folliculaires, nombre de follicules ≥ 1 et ≥ 4 mm, diamètre maximum des follicules.

IV. Variation du taux d'ovulation.

Les nombres d'ovulations par brebis, observés pendant les endoscopies dans les lots de brebis immunisées ou non, sont annotés dans le tableau 5.

Le nombre moyen d'ovulations par brebis est de $1,41 \pm 0,49$ pour le lot témoin, ce qui correspond à un taux d'ovulation normal pour la race Texel. Ce nombre s'élève à $2,06 \pm 0,64$ chez les brebis immunisées. Il y a donc un effet positif très net de la vaccination sur le taux d'ovulation (35 ovulations contre 24 chez le lot témoin). Un quart environ des brebis immunisées a présenté 3 ovulations simultanées et des ovulations simples ne sont observées qu'au cours du premier oestrus suivant le rappel. Aucune des brebis non immunisées n'a présenté de triple ovulation.

Il ne semble cependant pas y avoir de corrélation entre le titre d'anticorps et le nombre d'ovulations ($r = -0,17$ ou $-0,22$ selon le cycle envisagé).

Le faible nombre de brebis non synchronisées, et le nombre limité d'observations du taux d'ovulation, ne permettent pas d'affirmer que les taux d'ovulation des brebis synchronisées et non synchronisées sont différents.

V. Variations morphologiques ovariennes et folliculaires.

Le tableau 4 résume les résultats des endoscopies : mesures des diamètres folliculaires, enregistrement du nombre de croissance, du nombre de follicules totaux ou par croissance folliculaire.

1. Nombre de follicules antraux (dont la taille est ≥ 1)

Les populations des follicules antraux ≥ 1 mm de diamètre (tableau 1) sont nettement différentes entre les brebis immunisées et celles qui ne le sont pas. Toutefois, cette conclusion doit être considérée avec circonspection car les deux lots ont eu des observateurs différents qui ont considéré chacun d'une façon différente l'importance des follicules de taille avoisinant le mm.

	DIAMETRES MOYENS BASALS DES FOLLICULES	
	MOYENNE	ECART-TYPE
CROISSANCE FOLLICULAIRE 1	2,175	1,31
CROISSANCE FOLLICULAIRE 2	2,067	1,68
CROISSANCE FOLLICULAIRE 3	2,58	1,61
FOLLICULES OVULATOIRES	2,5	1,52

Tableau 7 : Diamètre moyen basal des follicles lors de chaque croissance

TAUX D'OVULATION DES BREBIS			
IMMUNISEES		NON IMMUNISEES	
1er CYCLE	2ième CYCLE	1er CYCLE	2ième CYCLE
2	2	2	-
2	2	1	2
2	3	2	2
2	2	2	1
3	-	1	1
1	2	1	1
3	-	1	1
2	3	1	1
1	2	1	2
1	-		
MOYENNE	2,06	MOYENNE	1,41
ECART-TYPE	0,64	ECART-TYPE	0,49

Tableau 5 : Nombre d'ovulations par cycle et par brebis après l'injection de *fecundin*® et taux d'ovulations calculés.

Tableau 8 : Paramètres de la dynamique folliculaire étudiés par endoscopies : variation du diamètre folliculaire, moments des changements de croissance, durées et vitesses des changements de croissance.

VARIATION DU DIAMETRE FOLLICULAIRE										
CROISSANCE FOLLICULAIRE 1			CROISSANCE FOLLICULAIRE 2			CROISSANCE FOLLICULAIRE 3				
	MONTEE	PLATEAU	DESCENTE	MONTEE	PLATEAU	DESCENTE	MONTEE	PLATEAU	DESCENTE	
MOYENNE	3,5	0	-3,02	3,68	0	-3,32	4,24	0	-1,02	
ECART-TYPE	1,45	0	2,05	1,75	0	2,21	2,94	0	1,93	
MOYENNE ± EC DE LA CF1			MOYENNE ± EC DE LA CF2			MOYENNE ± EC DE LA CF3				
0,16 ± 2,66			0,12 ± 2,86			1,07 ± 2,28				
MOYENNE ± EC DE TOUTES LES CROISSANCES FOLLICULAIRES										
0,45 ± 0,44										
JOURS DES CHANGEMENTS DE CROISSANCE										
MOYENNE	0,55-4,5	4,5-5,55	5,55-8,55	5,45-9,17	9,17-9,65	9,65-13,10	10,54-13,95	13,95-14,73	14,73-16,78	
ECART-TYPE	0,60-2,33	2,33-2,17	2,17-2,63	1,52-2,10	2,10-2,04	2,04-2,11	1,89-2,01	2,01-1,60	1,60-1,59	
DUREES DES CROISSANCES FOLLICULAIRES										
MOYENNE	3,65	1,45	2,6	4	0,9	2,9	3,82	0,82	1,57	
ECART-TYPE	1,87	1,5	1,68	2,33	1,44	2	2,26	1,1	1,29	
MOYENNE ± EC DE LA CF1			MOYENNE ± EC DE LA CF2			MOYENNE ± EC DE LA CF3				
7,65 ± 2,35			7,69 ± 2,04			6,21 ± 1,87				
MOYENNE ± EC DE TOUTES LES CROISSANCES FOLLICULAIRES										
7,16 ± 2,21										
VITESSES DE CROISSANCE FOLLICULAIRE										
MOYENNE	1,19	0	-1,08	1,16	0	-1,06	1,09	0	-0,49	
ECART-TYPE	0,46	0	0,66	0,61	0	0,83	0,5	0	1,14	
MOYENNE ± EC DE LA CF1			MOYENNE ± EC DE LA CF2			MOYENNE ± EC DE LA CF3				
-0,031 ± 1,09			0,022 ± 1,10			0,23 ± 0,66				
MOYENNE ± EC DE TOUTES LES CROISSANCES FOLLICULAIRES										
0,064 ± 0,091										
JOURS DES CHANGEMENTS			FOLLICULES OVULATOIRES				VARIATIONS DE TAILLE			
MOYENNE	9,5-13,25	13,25-15,11	15,11-17,28					4,5	0	2,67
ECART-TYPE	1,76-2,16	2,16-1,19	1,19-1,38					2,28	0	1,95

2. Nombre de follicules de taille supérieure à 4 mm

Chez les brebis non immunisées, le nombre de follicules d'une taille supérieure à 4 mm (tailles des follicules sains dominants) est, au cours des 3 vagues de croissance folliculaire : $1,11 \pm 0,86$; $1,24 \pm 0,83$ et $0,861 \pm 0,88$ pour les brebis non immunisées. Les valeurs s'élèvent à $1,21 \pm 0,77$; $2,07 \pm 0,96$ et $1,29 \pm 1,26$ pour les brebis immunisées. La première vague de croissance ne semble pas modifiée par l'immunisation ($P < 0,65$) alors que les deux autres sont significativement différentes entre les deux groupes de brebis ($P > 0,99$ pour la CF2 et $P > 0,9$ pour la CF3). Le nombre de follicules plus grands que 4 mm (taille des follicules sains dominants) est augmenté pour l'ensemble des trois vagues et principalement lors de la seconde, chez les brebis immunisées ($P > 0,99$). Toutefois, la corrélation entre le taux d'anticorps et ce nombre n'est significative qu'au cours de la CF3 ($r = -0,48$; $P > 0,95$; $y = 2,57 - 0,052 \cdot x$).

3. Diamètre maximum des follicules ≥ 4 mm.

D'une vague de croissance à l'autre, les diamètres des follicules sains semblent augmenter principalement chez les brebis immunisées ($6,14 \pm 1,82$; $6,98 \pm 1,37$; $7,29 \pm 1,52$ et $8,83 \pm 2,93$ pour les brebis immunisées). Cela amène des différences croissantes des tailles au cours du temps entre les deux lots, significatives ($P = 0,87$; $0,92$ et $0,99$). Les follicules sains sont plus grands au cours de la CF2 et bien plus grands au cours de la CF3 chez les brebis immunisées.

La corrélation entre le titre d'anticorps et les tailles maximums des follicules au cours du cycle est forte, négative ($r = -0,69$) et significative ($P > 0,975$). La droite de régression établie est $y = 7,95 - 0,05 \cdot x$ où y est le diamètre folliculaire maximum et x le titre d'anticorps). Plus la brebis répond à l'immunisation, moins les follicules dominants et sélectionnés sont grands.

TAILLE DES FOLL. OVULATOIRES	% DE CROIS. FOLL. > QUE LA MOYENNE	DUREE DES CROISSANCES FOLLICULAIRES		
		CF1	CF2	CF3
10,5	5	-2,2/-2,6/-1,4	4,6/4,10/5,8	9,16
10		-	4,6	6,12/6,16
7	6	-	3,10/4,6/4,12	-
7		-2,6/-2,7	3,16/4,12	11,16
10	10	0,7	6,13	10,16
10		0,3/0,8	5,11/5,19/5,15	11,17
10	5	-2,5	3,10/8,17	11,13/12,15/13,15
9		0,5	4,11/6,17/8,13	11,13/12,15/13,15
-	2	1,5/2,7	-	-
9,5-14,5		0,7	4,17/7,11	12,18/13,17
-	6	-1,5	4,17/4,11	-
9-12		1,3	2,11/6,19	9,17
7	5	-1,1	5,15/8,10	8,15
4		-1,4	4,8/4,10/4,14	8,15
DUREES MOYENNES :				
9,25 ±2,41	5,57 ±2,19	6 ±2,03	5,68 ±2,24	4,91 ±2,11
DUREE MOYENNE DE L'ENSEMBLE DES CROISSANCES				
6,48±2,87				

Tableau 6 : Résultats des endoscopies (suite) : Taille des follicules ovulatoires; Croissances folliculaires durées et proportion de CF allongées.

4. Variations de taille des follicules ovulatoires.

Les endoscopies ont permis la mesure des tailles des follicules : les follicules ovulatoires ont toujours plus de 4 mm de diamètre et peuvent atteindre 14,5 mm chez les brebis immunisées. Plusieurs follicules supérieurs à 10 mm ont été notés chez les brebis témoins (4 sur 19) et chez les brebis immunisées (7 sur 14). Le nombre de gros follicules est plus élevé chez les brebis immunisées.

Les tailles moyennes des follicules ovulatoires sont respectivement de 9,25 mm \pm 2,41 et 7,08 mm \pm 2,28 pour les brebis immunisées et les témoins. La probabilité obtenue de rejeter l'hypothèse de deux moyennes semblables est supérieure à 0,975: il y a donc un effet de la vaccination sur la taille des follicules qui ovulent. Après calcul de la corrélation ($r = -0,51$) la probabilité que ce coefficient est significatif est comprise entre 0,95 et 0,975. Il semble donc y avoir une corrélation très nette entre le titre d'anticorps des brebis immunisées et les tailles des follicules ovulatoires. La droite de régression est: $y = 12,08 - 0,11 \cdot x$ où y est la taille du follicule qui ovule et x , le titre d'anticorps anti-androstènedione.

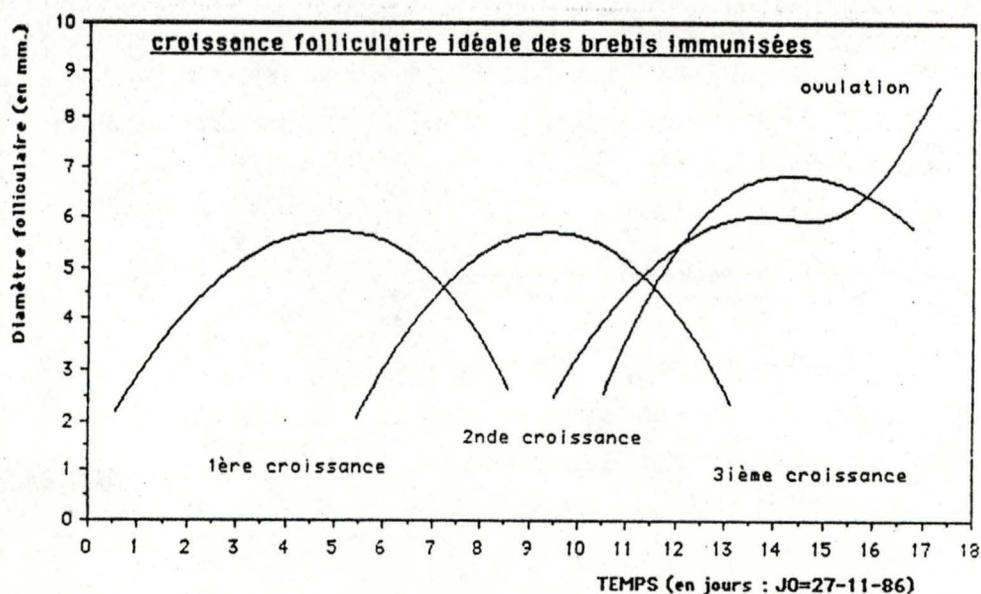
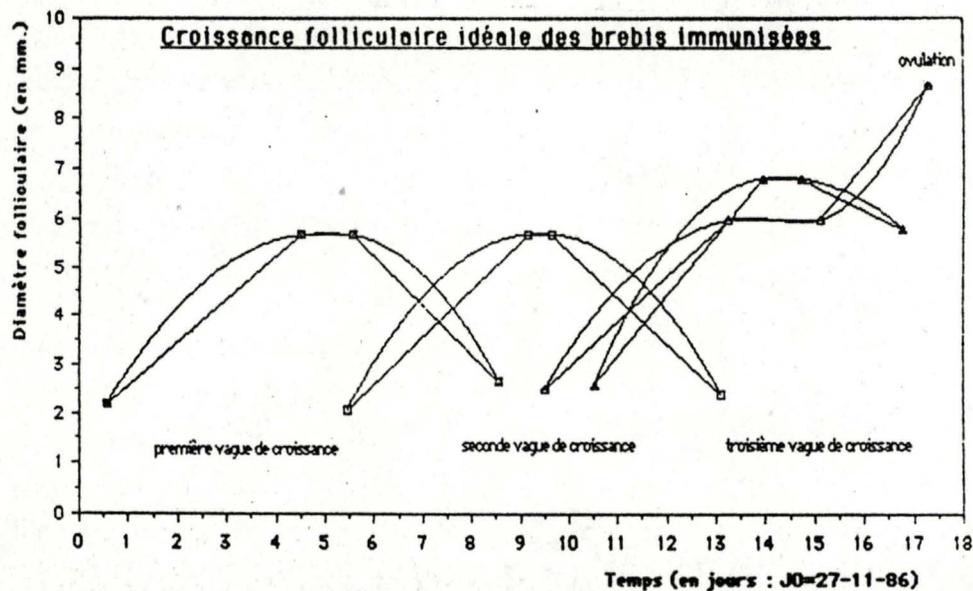
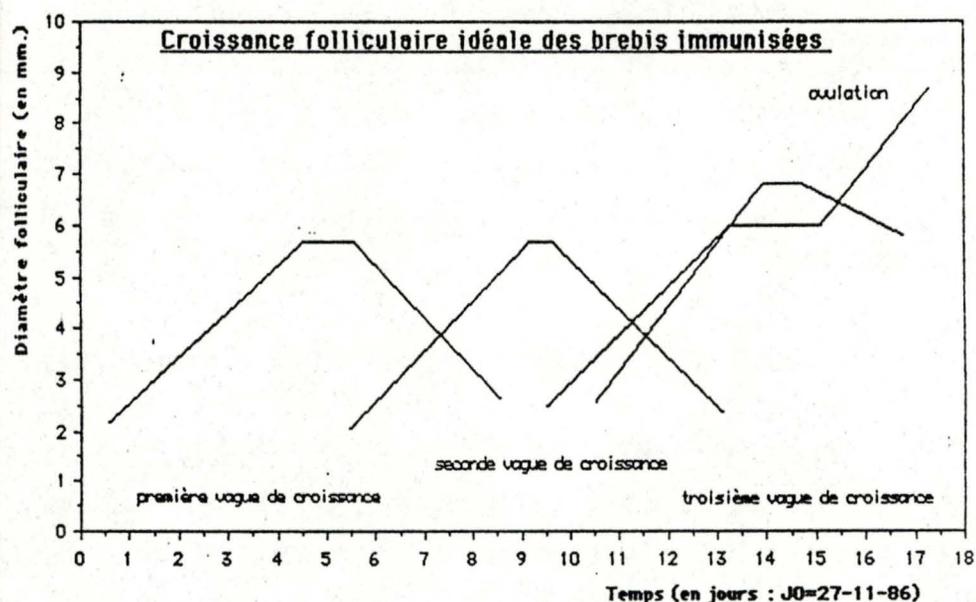
V. Dynamique folliculaire.

Le tableau 6 reprend les observations par endoscopies sur la croissance folliculaire : nombre, durées, nombre de croissances folliculaires supérieures à la normale. En outre, le modèle d'une croissance folliculaire idéale pour les brebis immunisées, basé sur le calcul des moyennes, a pu être élaboré : il est représenté par le graphique 3.

1. Nombre de croissances folliculaires.

Pour chaque ovaire, nous avons relevé le nombre de croissances folliculaires et nous en avons fait la moyenne pour chaque brebis. Les résultats sont les suivants: brebis du lot NI, ovaire gauche: 1,78 \pm 0,77; ovaire droit: 2,57 \pm 0,62; moyenne des deux ovaires: 2,17 \pm 0,36; brebis du lot I, ovaire gauche: 2,43 \pm 0,90;

Graphe 3 : Schéma de la croissance folliculaire moyenne (idéale) des brebis immunisées, au cours du cycle. Ce schéma est basé sur les paramètres de la dynamique folliculaire (tableau 8) et a été extrapolé par ordinateur (évolution du haut, brut, vers le bas, interpolé).



ovaire droit: $2,71 \pm 0,70$ et moyenne des deux ovaires: $2,57 \pm 0,49$. Nous constatons une différence d'activité entre les deux ovaires chez les brebis non immunisées, non chez les brebis immunisées. De plus, le nombre de croissances folliculaires est nettement différent entre les brebis immunisées et celles qui ne le sont pas ($P > 0,975$), ce qui semble indiquer un meilleur fonctionnement des mécanismes régulant le recrutement des follicules au cours des différentes vagues de CF chez les brebis immunisées.

2. Durée des croissances folliculaires

L'analyse de la dynamique folliculaire limitée aux croissances normales (5 à 6 jours) montre que les phases de CF sont plus courtes lorsque l'ovulation approche. Elles sont respectivement de 6, 5,68 et 4,91 jours pour les brebis immunisées, et de 5,87, 5,29 et 5,13 jours pour les brebis non immunisées. Ce raccourcissement des vagues de croissance est nettement marqué pour le lot I et moins pour le lot NI. Toutefois, aucune différence n'est à noter entre les durées respectives des croissances de chaque lot ($P < 0,60; 0,75; 0,7$).

Le temps de croissance global, tenant compte des vagues de croissances anormalement allongées, est significativement plus élevé pour le lot I ($6,42$ jours $\pm 2,87$ contre $5,89 \pm 2,09$): $P > 0,99$. La vaccination allonge donc la durée de vie des follicules. Cette conclusion est confirmée par le nombre de croissances folliculaires qui excèdent 6 jours et nous voyons que le nombre de croissances folliculaires allongées est plus important pour les brebis immunisées ($5,57 \pm 2,19$ contre $3,28 \pm 1,75$: $P > 97,5 \%$).

3 Dynamique de chaque croissance folliculaire

Nous avons mesuré les vitesses de croissance des follicules atteignant 4 mm au cours des 3 phases folliculaires du cycle des brebis immunisées. Les résultats sont respectivement de $1,19 \pm 0,46$, $1,16 \pm 0,61$ et $1,09 \pm 0,50$ mm/jour. Chez les brebis témoins. Les valeurs rapportées (TRINTELER, 1987) sont de $1,05 \pm 0,43$, $1,04 \pm 0,37$ et $1,08 \pm 0,52$ mm/jour. Les vitesses de développement des follicules sont donc tout-à-fait semblables avant et après immunisation.

BREBIS	IMMU- NISATION	Nbres de PICS DE LH / 36 h	VALEURS MAXIMUMS DES PICS DE LH							TAUX BASAL DE LH
			max1	max2	max3	max4	max5	max6	max7	
94	oui	2	0,8	0,7	-	-	-	-	-	0,2
103	non	1	0,45	-	-	-	-	-	-	0,15
105	oui	2	0,7	0,4	-	-	-	-	-	0,15
108	non	1	1,8	-	-	-	-	-	-	0,1
109	non	1	0,6	-	-	-	-	-	-	0,1
110	oui	6	0,95	0,9	0,65	0,6	0,55	0,5	-	0,3
113	oui	1	0,3	-	-	-	-	-	-	0,05
114	oui	7	0,35	0,45	0,25	0,25	0,25	0,2	0,2	0,12
116	non	1	0,35	-	-	-	-	-	-	0,12
121	non	1	1,7	-	-	-	-	-	-	0,4
135	non	3	1	0,8	0,6	-	-	-	-	0,15
138	non	1	0,4	-	-	-	-	-	-	0,1

	MOYENNE $\pm \Sigma$	TAUX MOYEN DES PICS MAXIMUMS	TAUX MOYEN BASAL
IMMUNISEE	3,60 \pm 2,42	0,61 \pm 0,24	0,16 \pm 0,08
NON IMMUNIS	1,28 \pm 0,70	0,84 \pm 0,33	0,16 \pm 0,10

Tableau 9 : Résultats des dosages de la LH au cours d'une prise de sang sériée pendant 6 heures toutes les 10 minutes : pulsatilité, taux basal et taux maximums.

La **stagnation** ou persistance des follicules à leur diamètre maximum lors des 3 phases est de $1,45 \pm 1,5$, $0,9 \pm 1,44$ et $0,82 \pm 1,1$ jours pour les brebis immunisées et de $3,2 \pm 1,9$, $2,75 \pm 1,6$ et $1,3 \pm 0,5$ jours pour les brebis témoins. Il y a une nette diminution du temps de stagnation des follicules à leur diamètre maximum chez les brebis immunisées.

La **régression** des follicules se passe à une vitesse de $1,08 \pm 0,66$, $1,06 \pm 0,83$ et $0,49 \pm 1,14$ mm/jours lors des 3 vagues chez les brebis immunisées. Pour les brebis non immunisées, la régression observée a été de $1,14 \pm 0,46$ et $1,20 \pm 0,95$ mm/jours lors des deux premières croissances folliculaires ; la majorité des follicules ≥ 4 mm au cours de la troisième croissance folliculaire ayant atteint l'ovulation, il n'a pas été possible de mesurer leurs vitesses de régression. Les vitesses de régression globales des follicules paraissent donc plus faibles chez les brebis immunisées.

VI. Modifications hormonales

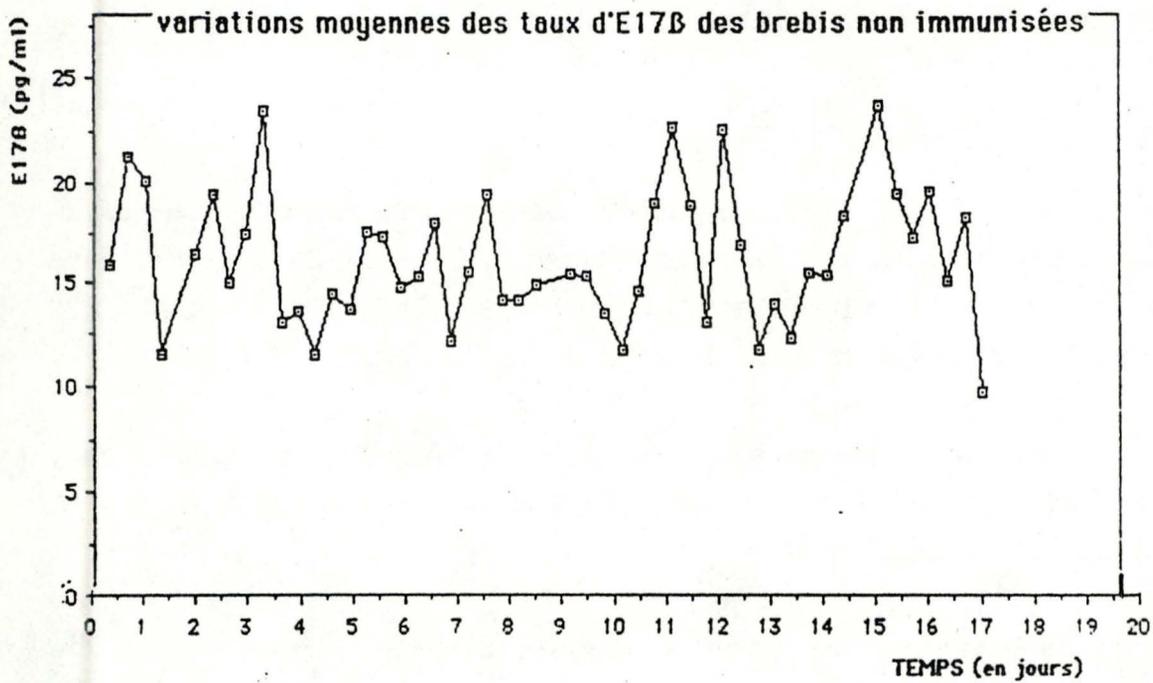
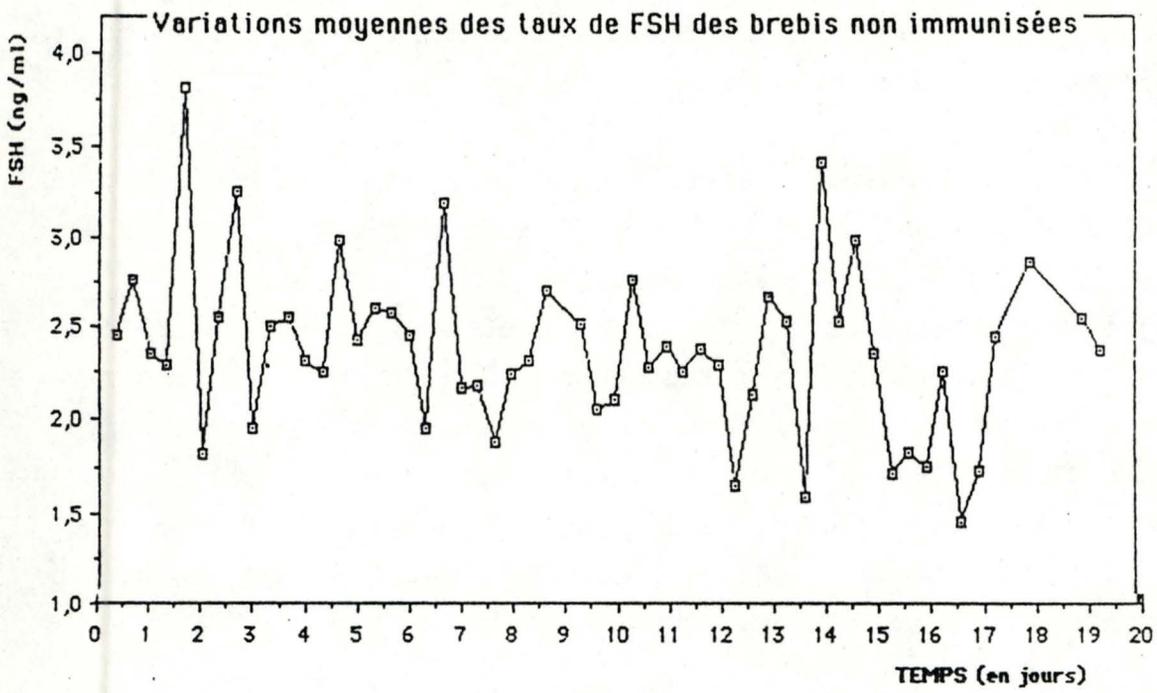
1. Pulsatilité de la LH

Les premiers graphiques en annexe représentent la variation du taux de LH plasmatique pendant 6 heures, le 6-12-86, donc en fin de période lutéale du cycle (J"9"). De plus, le tableau 9 reprend toutes les valeurs du taux de LH observées.

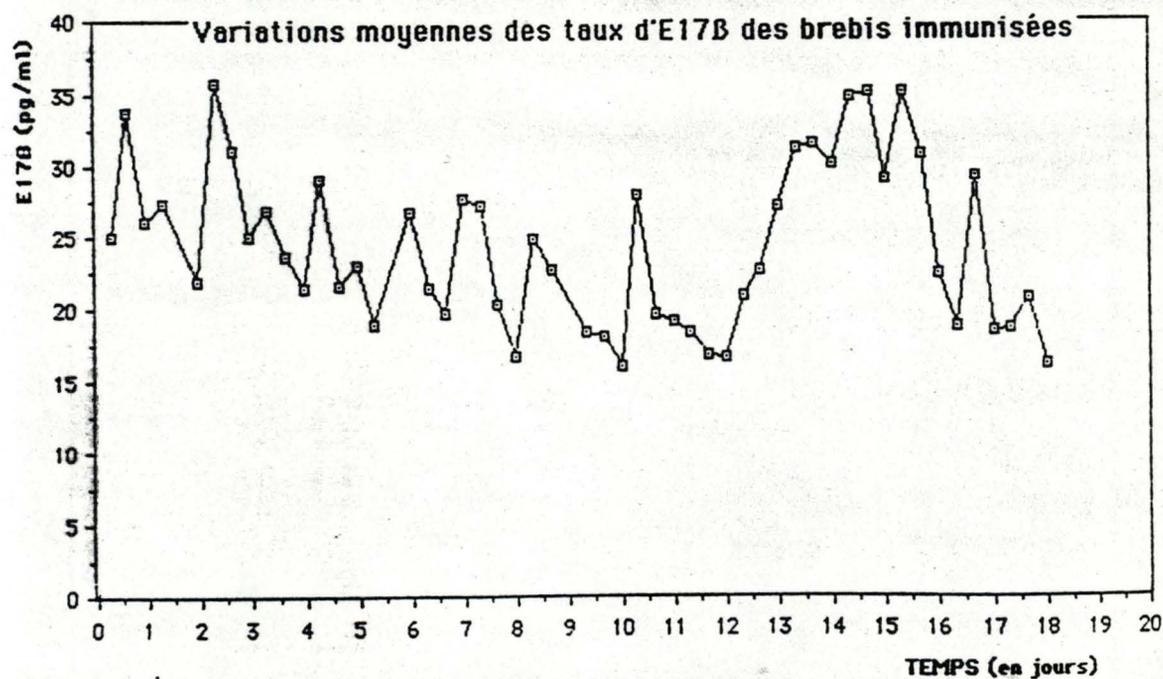
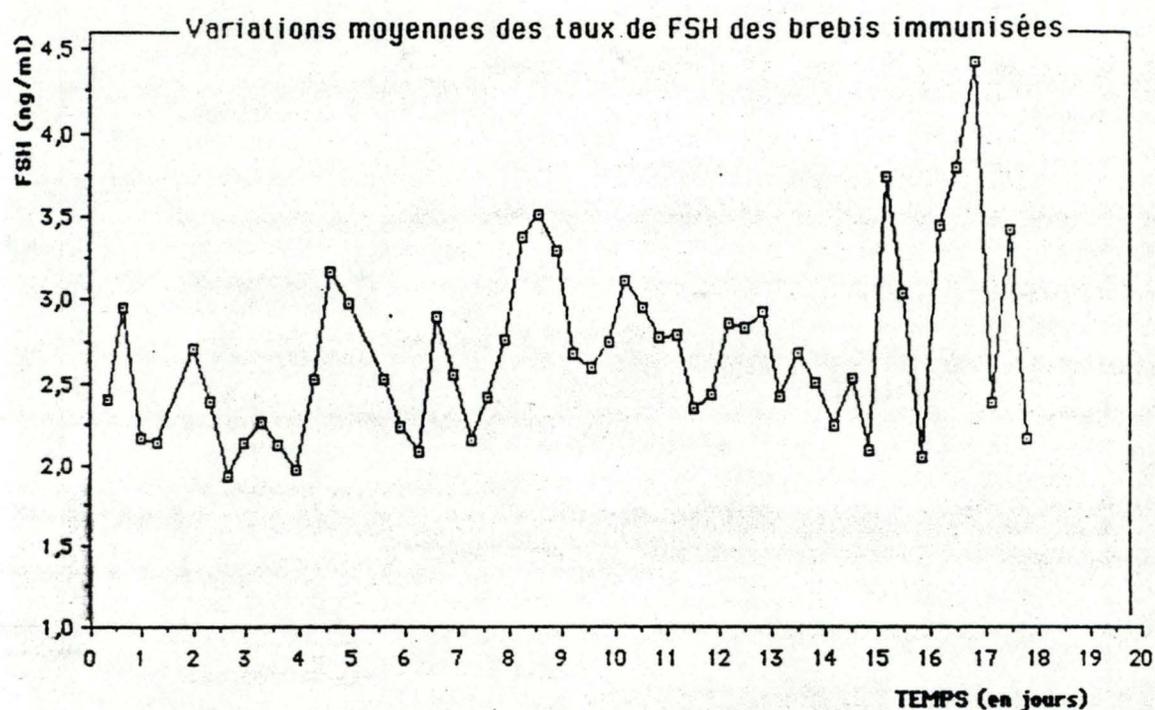
Les **taux moyens de base** de la LH sont semblables pour les deux lots ($0,16 \pm 0,08$ pour les immunisées et $0,16 \pm 0,10$ pour les non immunisées).

Le **nombre de pics** a été déterminé : il est de $3,60 \pm 2,42$ pour les brebis immunisées et de $1,28 \pm 0,70$ pour les brebis non immunisées. Nous observons donc une augmentation de la pulsatilité de LH suite à la vaccination, qui est très significative ($P > 0,975$). De plus, il est intéressant de noter la très forte corrélation positive entre ce nombre de pic et le titre d'anticorps ($r = 0,95$: droite de régression: $y = -1,08 + 0,2.x$).

Les **taux maximums** relevés pendant les pics de LH sont légèrement plus faibles chez les brebis immunisées ($0,61 \pm 0,24$)



Graphe 4 : Variations moyennes au cours du cycle des taux de FSH et d'oestradiol , chez les brebis non immunisées.



Graph 4b : Variations moyennes au cours du cycle des taux de FSH et d'oestradiol , chez les brebis immunisées.

que chez les brebis qui ne le sont pas ($0,84 \pm 0,33$). Cette différence est peut-être due à l'élévation du nombre de pics, les réserves n'ayant pas le temps de se reformer. Quant au coefficient de corrélation reliant le taux maximums des pics de LH et le taux d'anticorps anti-androstènedione, il est négatif ($r = -0,22$).

2. Evolution de la FSH, de l'oestradiol et de la progestérone au cours du cycle

Les graphiques mis en annexe, à la suite des graphiques de LH, regroupent par brebis l'évolution des taux plasmatiques de FSH, oestradiol et progestérone au cours du cycle. Ces évolutions semblent trop complexes en première approche pour les décrire. Nous avons donc tenté d'établir les taux moyens d'oestradiol et de FSH secrétés par l'ensemble des brebis à tel jour. Les graphiques 4 et 4b illustrent ces évolutions idéales pour l'ensemble des brebis de chaque lot. Tenant compte des variations de la longueur individuelle du cycle, nous nous sommes servis des valeurs comprises entre le jour "0" et le jour "9" et entre le jour "-8" et le jour "0" du cycle suivant.

FSH : Les calculs du taux moyen de FSH secrétée au cours d'un cycle donnent les résultats suivants : $2,64 \pm 0,49$ ng/ml pour les brebis immunisées et $2,39 \pm 0,45$ ng/ml pour les brebis non immunisées. Il y a accroissement significatif ($p > 0,975$) de la production de FSH par l'hypophyse des brebis immunisées.

L'évolution de la FSH au cours du cycle peut être décrite comme la succession de trois vagues successives suivies d'un pic ovulatoire et d'un *rebound*. Ces vagues de libération de la FSH sont parfaitement marquée dans le cas des brebis immunisées. Par contre, cela semble plus flou chez les brebis non immunisées. Le taux moyen du pic de FSH est plus élevé chez les brebis immunisées ($4,5$ ng/ml \pm) que chez les brebis non immunisées ($3,6$ ng/ml \pm).

Oestradiol : Le calcul de la moyenne du taux d'oestradiol secrétée sur l'ensemble du cycle montre que les brebis immunisées en secrètent plus ($24,10 \pm 5,59$ pg/ml) que les brebis du lot témoin ($15,98 \pm 3,45$ ng/ml). Cette élévation est significative à 99,99 %.

L'évolution du taux d'oestradiol au cours du cycle est assez complexe à décrire, mais nous pouvons toutefois observé une faible sécrétion relative de l'oestradiol au cours de la phase lutéale. A l'opposé, en phase folliculaire, le taux d'oestradiol subit une montée intense en forme de vague où il rejoint le taux maximum observé lors du jour suivant le pic préovulatoire.

Progestérone : Le dosage de la progestérone nous a posé quelques problèmes : nous avons observé une très grande variabilité des valeurs obtenues en phase lutéale, alors que les taux observés en phase folliculaire semblent bien plus réguliers et dans les normes. Nous avons de ce fait rajusté toutes les valeurs supérieures à 10 ng/ml à cette concentration. Toutefois, en regard des graphiques, la distinction phase lutéale-phase folliculaire ou phase progestagénique-phase oestrogénique est nette et peut être mise en relation avec les vagues d'oestradiol et de FSH.

DISCUSSIONS

I. Relation entre les sécrétions hormonales et les croissances folliculaires.

L'analyse détaillée des figures 3 montre une similitude frappante entre le début de la régression d'une vague de croissance folliculaire et le début de la croissance de la vague suivante, si on considère le recrutement de follicules passant le seuil de 2 mm de diamètre. Ainsi, le recrutement se ferait au moment où la dominance des gros follicules s'estompe.

De plus, les valeurs les plus élevées du taux de FSH correspondent à chaque début de croissance des follicules recrutés (≥ 2 mm). La FSH est, semble-t-il, l'hormone qui permet de recruter les follicules et de stimuler leurs croissances. En outre, il n'y a que les follicules qui sont en phase de stagnation ou dont la vitesse de régression n'excède pas 0,1 mm/jour qui sont encore capables d'entamer une nouvelle croissance. L'action de la FSH passe par de ce fait par l'entretien des croissances. Cette hormone n'agit pas sur les follicules en régression puisque rien n'empêche ceux-ci de subir les effets de l'atrésie. L'action de la FSH n'est possible que si les cellules de la granulosa sont en bonne santé, ayant suffisamment de récepteur pour cette hormone.

Nous n'avons pas mis en évidence de relation apparente entre les évolutions des taux plasmatiques d'oestradiol et de FSH, ni simultanément, ni à quelques jours de distance.

Aucune corrélation n'a pu être établie entre le diamètre folliculaire et les vagues de sécrétion des oestrogènes, excepté lors de la phase de croissance folliculaire 3. Il semble que le taux élevé de progestérone inhibe, directement ou indirectement, l'action stimulatrice des oestrogènes sur la croissance folliculaire et que la chute du taux de progestérone en fin de phase lutéale permet une meilleure relation entre le taux d'oestradiol, qui se traduit par une vague bien nette, et la phase de croissance 3.

II. Effets de l'immunisation contre l'androstènedione

D'après nos résultats, l'immunisation contre l'androstènedione a provoqué l'apparition d'un taux d'anticorps suffisant. L'emploi de DEAE-dextran, faible adjuvant immunogénique, a permis d'éviter des effets néfastes d'un titre d'anticorps élevé, tels que anœstrus ou anovulations observées par SMITH et al. (1981) et GELDARD et SCARAMUZZI (1983).

La baisse de poids enregistrée lors des injections semble provenir surtout des effets stressants dûs à l'entrée en bergerie (tassement et changement du mode de nutrition). Toutefois, l'effet de l'immunisation, plus important que celui de la synchronisation, peut se cumuler au stress accru. Quoiqu'il en soit, la perte en poids vif est rapidement récupérée au bout de deux semaines.

GELDARD et SCARAMUZZI (1983) ont observé un effet cumulatif du poids vif élevé et de l'immunisation contre l'androstènedione sur le taux d'ovulation. Cela serait la conséquence de l'état très variable des brebis lors de leur expérience effectuée dans différentes fermes australiennes : le faible gain de productivité des brebis les plus légères peut être attribué soit à un moindre taux d'ovulation, soit à une mortalité embryonnaire ou à un taux d'avortements supérieurs dû au mauvais état général de ces brebis. Le bon état général de nos brebis (se traduisant par un poids élevé) ne nous a pas permis de constituer deux lots de poids vif significativement différent. De plus, les brebis témoins utilisées lors de notre expérience d'immunisation faisaient partie d'un lot d'expérience préliminaire visant à étudier l'effet du poids et de l'état corporel sur le taux d'ovulation (TRINTELER, 1987). Aucune différence n'a été mise en évidence entre les brebis *maigres* et *grasses*. Nous avons donc considéré l'ensemble du lot pour nos calculs. L'état général satisfaisant des brebis de Faulx-les-Tombes à la fin des endoscopies laissait présager une faible influence de leur poids sur l'effet de la vaccination.

L'immunisation active contre l'androstènedione augmente notablement le taux d'ovulation qui passe de 1,41 (brebis témoins) à 2,03 (brebis immunisées). Il nous est impossible de comparer ces

résultats avec d'autres pour la race *Texel* car nous n'avons pas connaissance d'autres expériences similaires sur cette race. Par rapport à d'autres races, l'augmentation est comparable à celle obtenue par PHILIPON (1983) en *Mérinos d'Arles*, alors qu'elle est plus élevée que la moyenne de celle d'autres études effectuées sur d'autres races (0,4 en moyenne : COX et al., 1978-79; SMITH et COX, 1981, SMITH et al., 1981; SCARAMUZZI et al., 1982). L'état général satisfaisant de nos brebis en est certainement la raison. Cependant, cette augmentation du taux d'ovulation pourrait être meilleure, si l'on s'en réfère aux travaux de SCARAMUZZI sur les *Welsh mountain* (SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

Nous n'avons pas constaté d'influence de la synchronisation sur les effets de la vaccination. Ces résultats sont concordants avec ceux obtenus par PHILIPON (1983).

Les effets de l'immunisation sur la dynamique folliculaire sont nombreux : les diamètres maximums atteints par les follicules pendant toutes les croissances folliculaires, ainsi qu'à l'ovulation sont plus élevés que ceux des brebis témoins. Pour les brebis immunisées, les vitesses de croissance sont identiques et les vitesses de régression plus faibles, mais malgré des durées réduites de stagnation, la croissance folliculaire dure nettement plus longtemps.

Nous avons observé que l'immunisation anti-androstènedione régularise les vagues de croissance folliculaire et il est rare de voir des ovaires présentant moins de trois vagues successives au cours du cycle. Ces résultats, montrant une durée moyenne de 7 jours pour ces vagues, sont les seuls, à notre connaissance, à être observés par endoscopies pendant une immunisation de ce type. Il est clair que les croissances folliculaires sont allongées par rapport à celles des brebis non immunisées (SHEATON et ROBERTSON, 1971; HAUGER et al., 1977 et TRINTELER, 1987).

De plus, l'analyse de nos graphes indique clairement que les trois vagues sont dépendantes : les follicules dominants régressent, et c'est à ce moment que le recrutement des follicules a lieu. La disparition d'une vague semble être la cause de la

naissance de la suivante. Il peut être possible que la longueur du cycle soit le résultat de la sommation des durées de croissances successives, en synergie avec la régulation en feed-back des stéroïdes sur les hormones hypophysaires lors de l'ovulation.

Nous n'avons pas vu de follicules atrétiques être récupéré pour recroître lors de la croissance folliculaire suivante : tous les follicules qui perdurent pendant plus d'une croissance sont des follicules qui n'ont pas encore entamé leur dégénérescence. L'atrésie semble donc un mécanisme irréversible, tout au moins à un certain stade caractérisé par la vitesse de régression du follicule. Pourtant, DRIANCOURT (1987) observe que des follicules peuvent être sauvés de l'atrésie par des injections de PMSG. Il faut cependant remarquer que cette constatation est basée sur des conditions non physiologiques. Nous acceptons donc l'hypothèse de LEFEVRE (1982, cité par TRINTELER, 1987) selon laquelle une nouvelle poussée folliculaire s'amorce suite à la levée de l'inhibition résultant de l'atrésie des gros follicules (qui exerçaient leur dominance via des cybernines secrétées par les cellules de leur granulosa).

L'immunisation anti-androstènedione raccourcit les durées de stagnation des follicules sélectionnés. Cela semble être la conséquence du taux d'ovulation. En effet, le même phénomène est noté chez une race de brebis à haut taux d'ovulation naturel non immunisée (TRINTELER, 1987 : *Romanov*).

L'immunisation ne diminue pas le nombre de follicules atrétiques ≥ 4 mm. Au contraire, nous observons un pourcentage plus important de follicules atrétiques lors de la dernière croissance folliculaire, par rapport au lot témoin.

Les tailles des follicules sont plus importantes après immunisation, et cela est marqué pour les follicules ovulatoires. L'immunisation, bien que n'ayant pas d'effet sur la vitesse de croissance folliculaire, amène les follicules à un diamètre plus important. La dominance est de ce fait mieux installée (taux d'oestrogènes du fluide folliculaire plus élevé), malgré le nombre croissant de follicules ≥ 4 mm. Il serait intéressant de poser

comme hypothèse que la dominance n'est qu'un phénomène bien localisé sur l'ovaire, ce qui serait en accord avec les phénomènes de diffusion des protéines folliculaires anti-aromatisantes vers les follicules environnants (DI ZEREGA, 1983). Cependant, il est également possible que la dominance ne s'exercerait qu'à un stade folliculaire avancé, et que les gros follicules ainsi structurés ne pourraient plus être sensibles à l'inhibition par un gros follicule sain très proche. La croissance côte-à-côte et simultanée de deux follicules peut les amener à codominer, à coexister dans une même zone de l'ovaire sans se détruire mutuellement. Cette taille de maturité est d'ailleurs en relation avec la teneur en oestradiol-17 β dans le fluide folliculaire, hormone qui sensibilise le follicule à la stimulation de la FSH mais bloque la maturation des autres follicules.

L'immunisation active contre l'androstènedione augmente, au cours de notre expérience, le pourcentage de follicules qui persistent pendant plus d'une phase de croissance. Cette observation est en accord avec celle de nombre d'auteurs (SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983) qui écrivent que l'immunisation anti-androstènedion protège le follicule de l'atrésie, probablement par une stimulation de l'aromatation, ou du moins un rapport stéroïdogénique favorable aux oestrogènes, les androgènes et principalement l'androstènedione étant sous forme liée partout dans l'ovaire.

La sélection, chez la brebis, est effective à une taille de 4 mm, puisque d'après les résultats de TRINTELER (1987) et les nôtres, les plus petits follicules ovulatoires ont cette taille. Cette taille minimum est atteinte chez les brebis témoins et chez les brebis immunisées : l'immunisation contre l'androstènedione agit sur le taux d'ovulation par une dominance marquée, entretenue par une résistance accentuée des follicules à l'atrésie, mais ne recourt pas à une stimulation des phénomènes de sélection, moins nécessaires. Le nombre de follicules sélectionnés est déjà suffisant semble-t-il chez les brebis témoins. Cependant, on constate un accroissement certain des follicules sélectionnés chez les brebis immunisées, au cours de la seconde phase de

croissance folliculaire. Mais peut-être est-ce la conséquence de la persistance pendant plusieurs croissances de certains follicules de taille supérieure à 4 mm.

En outre, il existe une relation négative entre le nombre de follicules sélectionnés et le titre d'anticorps. Il semble que l'immunisation obtenue soit suffisante pour augmenter le nombre de ces follicules, mais que, une fois un certain niveau du titre d'anticorps atteint, la sélection s'efface, laissant place à une meilleure utilisation des follicules déjà sélectionnés : la plupart des gros follicules sains ovulent. L'importance de la sélection semble plus évidente dans le cas d'animaux faiblement prolifiques. Il est pensable que la plupart des follicules ovulatoires sont sélectionnés au cours de la vague de croissance 2, arrivant tous à l'ovulation par une résistance intense à l'atrésie accentuée par le faible accroissement de taille au cours de la dernière vague de croissance.

Une relation négative entre le taux d'anticorps et les diamètres maximums des follicules ≥ 4 mm a été mise en évidence lors de notre expérience. Une fois de plus, voici une preuve de la protection des follicules de brebis immunisées à l'atrésie dont le rôle est capital pour l'amélioration du taux d'ovulation.

III. Variations hormonales et immunisation.

L'immunisation contre l'androstènedione accélère la fréquence de libération de la LH qui se traduit par une augmentation du nombre de pics ($3,60/6$ h \pm 2,42). Cette fréquence est très clairement différente de celles existant chez les brebis témoins ($1,28/6$ h \pm 0,70), avec une certitude de 97,5 %. De plus, une très forte corrélation positive entre ce nombre de pic et le titre d'anticorps anti-androstènedione est à noter. Connaissant l'activité anti-mitotique des hauts niveaux de LH sur les cellules de la granulosa (SCARANUZZI et al., 1980, 1981; SCARANUZZI et HOSKINSON, 1983), il est concevable que l'immunisation contre l'androstènedione entretienne la survie des gros follicules : la

diminution de l'activité mitotique des cellules est une forme de protection contre la dégénérescence naturelle.

Mais, alors que la corrélation entre le nombre de pics de LH et le titre d'androstènedione est positive, la corrélation entre ce titre et le nombre de follicules de taille $\geq 4\text{mm}$ est négative. Il est possible que l'activité mitotique de la LH agissant sur un follicule en début de croissance empêche celui-ci de franchir de nouvelles étapes et de parvenir au stade de follicule dominant.

Nous n'avons pas noté d'augmentation ou de diminution du niveau basal de la LH, alors qu'il semble que l'immunisation contre l'androstènedione, étudiée chez d'autres races, augmente très fortement ce niveau (SCARAMUZZI et MARTENSZ, 1975; SCARAMUZZI et al., 1977, 1980, 1981; MARTENSZ et SCARAMUZZI, 1979; MARTENSZ et al., 1979; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983).

La LH agit en stimulant la stéroïdogénèse : il est normal de trouver des taux élevés de stéroïdes (SCARAMUZZI et al., 1981; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983). Cependant, cela n'explique très certainement pas les taux énormes de progestérone observés en phase lutéale, même si le taux d'ovulation élevé augmente le nombre de corps jaunes, structures sécrétant cette hormone.

La littérature mentionne des faibles taux d'oestrogènes plasmatiques dans le cas d'immunisations active contre l'androstènedione (GELDARD et SCARAMUZZI, 1983; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983), ainsi qu'une diminution des niveaux périphériques de FSH (ARMSTRONG et al., 1978 -lapine-; MARTENSZ et SCARAMUZZI, 1979; SCARAMUZZI et HOSKINSON, 1983). Nos résultats sont en désaccord total avec ces données puisque ces hormones sont plus abondamment sécrétées chez les brebis immunisées, que ce soit l'oestradiol (la probabilité que la différence soit significative est pratiquement de 1 (0,9999)) ou la FSH (probabilité de 0,975).

Il apparaît dès lors que l'immunisation des brebis *Texel* contre l'androstènedione stimulerait l'aromatisation, amenant la production intense d'oestradiol-17 β . Il se peut que les molécules d'androstènedione libres circulant dans le follicule entre la thèque et la granulosa ne soient pas inactivées par leur anticorps spécifiques, ou alors que les réserves d'androstènedione élaborées par les cellules granulosales en phase androgénique et stockées soit dans le fluide folliculaire soit à l'intérieur de la cellule, soient suffisantes à l'entretien de cette sécrétion.

CONCLUSIONS

L'immunisation active contre l'androstènedione est une technique d'amélioration des performances de reproduction des brebis largement expérimentée en Australie et en France. Notre travail présente un essai de cette technique dans les conditions de l'élevage ovin belge.

Chez la brebis *Texel*, l'immunisation par la Fecundin ®, en respectant les modalités "standard" préconisées, a les conséquences suivantes (par rapport à des brebis témoins non immunisées) :

- Elle entraîne une faible perte de poids, vraisemblablement due au caractère stressant des opérations,

- Elle ne modifie pas la longueur du cycle des brebis,

- Elle **augmente le taux d'ovulation** de 1,41 à 2,03 par brebis. Cette amélioration est sûrement due en bonne partie au bon état général des animaux et elle montre qu'une immunisation bien programmée contre l'androstènedione permet d'augmenter les performances des brebis et ne conduit pas à des problèmes d'anoestrus ou d'anovulation généralement observés avec des taux élevés d'anticorps. Le taux d'ovulation élevé est principalement dû à une proportion accrue d'ovulations doubles et triples. L'immunisation active contre l'androstènedione constitue donc bien une **méthode de superovulation**.

- Elle augmente le nombre de pics de LH et les concentrations sanguines maximales lors de ces pics, mais ne semble avoir aucun effet sur le taux basal de cette hormone.

- Elle stimule très nettement la sécrétion de FSH et d'oestradiol et en phase lutéale celle de progestérone. Pour cette dernière, la production accrue serait la conséquence de la stimulation de la stéroïdogénèse par la LH et la FSH, ainsi que l'augmentation du nombre de corps jaunes suite aux multiples ovulations. Pour la FSH, le niveau élevé serait principalement dû au feed-back positif nettement marqué de l'oestradiol en fin de cycle, au moment de la phase folliculaire.

- Elle stabilise et rend plus nette les trois vagues de maturation folliculaire observées lors de chaque cycle. Elle les allonge en augmentant la durée de croissance folliculaire sans en modifier la vitesse.

- Elle raccourcit la durée de stagnation des follicules antraux et diminue leur vitesse de régression (atrésie).

- Elle augmente, surtout lors des deuxième et troisième vagues de maturation, le nombre et la taille maximale des follicules de taille supérieure à 4 mm, la taille d'ovulation des follicules et le nombre de follicules qui persistent pendant plus d'une vague.

- Par contre, elle ne peut empêcher l'atrésie des follicules avancés dans la régression (traduit par une vitesse seuil).

Ces effets observés lors de l'immunisation anti-androstènedione nous amènent à penser que le mode d'action de cette méthode passe par :

- Un recrutement plus intense des follicules de 1 mm en début de chaque vague de croissance folliculaire.

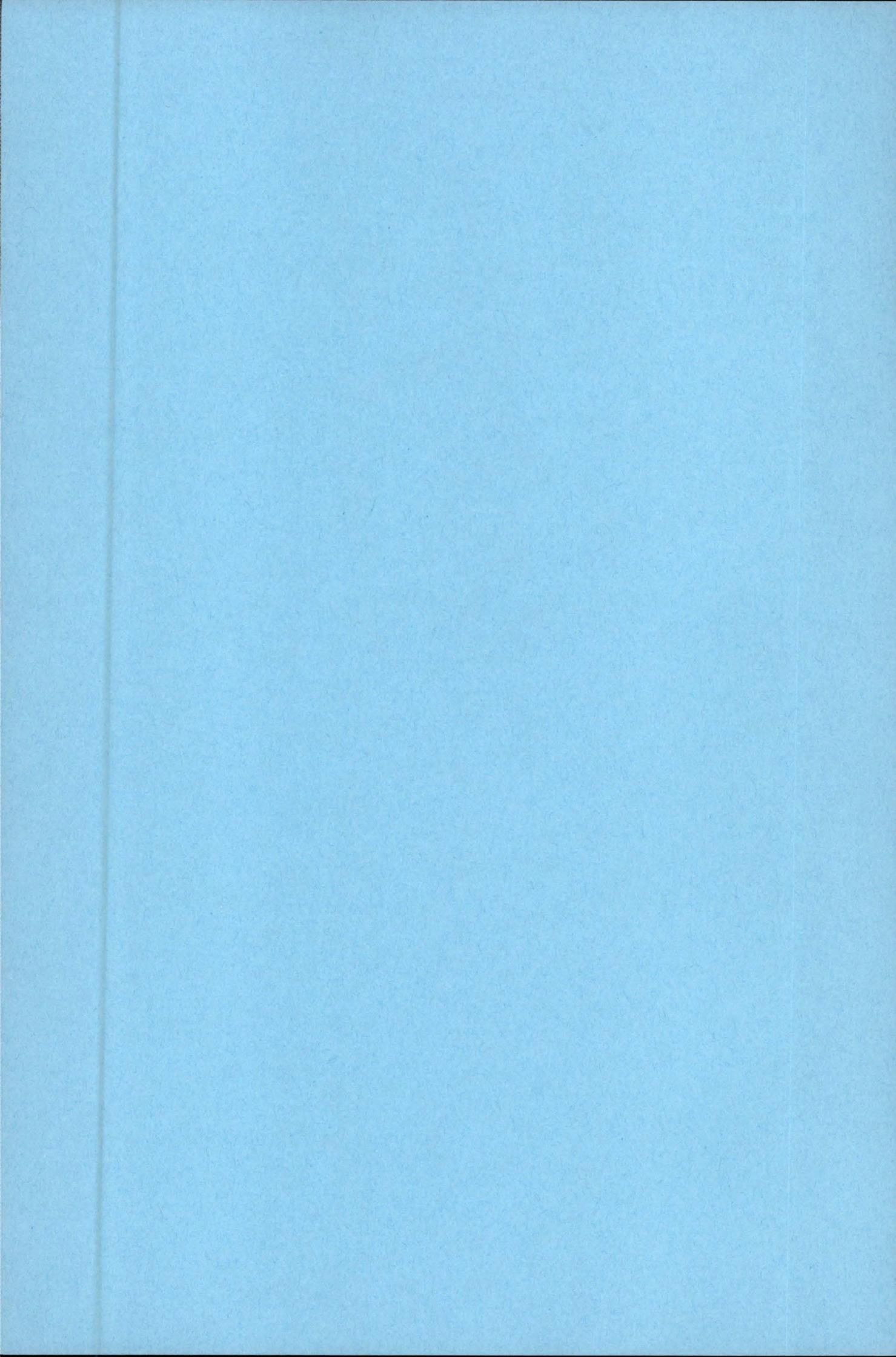
- Une sélection moins active car moins nécessaire, mais plus efficace.

- Une dominance plus marquée, mieux installée et entraînant des phénomènes de codominance au sein d'une même région de l'ovaire.

- Une meilleure résistance des follicules dominants à l'atrésie.

Il semble donc que l'androstènedione circulante limite le recrutement folliculaire, ne modifie pas l'action favorable des oestrogènes sur la croissance des follicules, mais s'oppose à l'action protectrice des oestrogènes contre l'atrésie.

BIBLIOGRAPHIE



- AL-OBAIDI S.A.R., BINDON B.M., HILLARTD M.H., O'SHEA T. et PIPER L.R.
(1984). *Prpc. Aust. Cos. Reprod. Biol.*, 16, 17 (Abstr.).
- ARMSTRONG D.T., WEISS T.J., SELSTAN G. et SEAMARK R.F. (1981).
J. Reprod. Fert., 30, 143-154.
- ARMSTRONG R.W., MAC CALLION D.J. et YOUNLAI E.V. (1978).
Cell. Tiss. Res., 193, 533-542.
- ASHWORTH C.J., SALES D.I. et WILMUT I. (1984).
Proc. 10th int. Congr. Anim. Reprod. and AI, Illinois, 1, 74
(Abstr.).
- BAIRD D.T., BURGER P.E., HEAVON-JONES G.D. et SCARAMUZZI R.J. (1974).
J. Endocr., 63, 201-212.
- BAIRD D.T. et SCARAMUZZI R.J. (1976).
Acta Endocrinologica, 83, 402-409.
- BAIRD D.T., SWANTSON I. et SCARAMUZZI R.J. (1976).
Endocrinology, 98, 1490-1496.
- BAIRD D.T. et MAC NEILLY A.S. (1981).
Reprod. Fertil. suppl., 30, 119-133.
- BAIRD D.T., RALPH M.M., SEAMARK R.F., AMATO F. et BINDON B.M. (1982).
Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., 14, 83 (Abstr.).
- BAKER T.G., BEAUMONT H.M. et FRANCHI L.L. (1969).
J. Coll. Sci., 4, 655-675.
- BAKER T.G. (1970).
Advanc. Biosci., 6, 7-22.
- BAUMINGER S., LINDNER H.R., PEREL E. et ARNON R. (1969).
J. Endocr., 44, 567-578.
- BINDON B.M., BLANC M.R. et PELLETIER J. (1976).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 16, 169
- BINDON B.M. et PIPER L.R. (1977).
Theriogenology, 8, 171 (Abstr.).
- BINDON B.M., BLANC M.R., PELLETIER J., TERQUI M. et THIMONIER J.
(1979). *J. Reprod. Fert.*, 55, 15-25.
- BINDON B.M., PIPER L.R. et EVANS R. (1980).
Proc. Booroola workshop, Armidale C.S.I.R.O. (Melb.), 21-33.
- BINDON B.M. et PIPER L.R. (1982).
Proc. 2nd wld Cong. Sheep and Beef Cattle Breeding,
Eds BARTON R.A. et SMITH W.C., 315-332.
- BINDON B.M., PIPER L.R., CUMMINS L.J., O'SHEA T., HILLARD M.A., FIND-
DLAY J.K. et ROBERTSON D.M. (1983).
Workshop on high fecundity sheep, Edinburgh.
- BINDON B.M. et FINDLAY J.K. (1985).
J. Reprod. Fert., 77, 365-372.
- BISHOP M.W.H. (1964).
J. Reprod. Fert., 7, 383-396.

- BISTER J.L. (1980).
Thèse de Doctorat, F.W.D.P. Namur.
- BISTER J.L. (1982).
Revue Probio, 5(2), 167-182
- BISTER J.L. et PAQUAY R. (1983).
Theriogenology, 19, 565-582.
- BLANC M.R. (1980).
Reprod. Nutrition Développ^t, 20, 573-586.
- BOGOVICH K. et RICHARDS J.S. (1984).
Biol. Reprod., 31, 122-131.
- BRADFORD G.E. (1979).
J. Anim. Sci., 49, suppl. II, 66-74.
- BRAMBELL F.W.R. (1928).
Proc. Roy. Soc. B, 103, 258-272.
- BRAMBELL F.W.R. (1956).
dans "MARSHALL's Physiology of Reproduction", Edited by PARKES
A.S., Longmans, Green and Co., London.
31th edit., 1(1), chap.5.
- CAHILL L.P. (1979).
Thèse de Doctorat *es* Sciences Naturelles,
Université de PARIS VI, 141 pages.
- CAHILL L.P. et DUFOUR J. (1979).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 19(5), 1475-1481.
- CAHILL L.P., MARIANA J.C. et MAULEON P. (1979).
J. Reprod. Fert., 55, 27-36.
- CAHILL L.P. et MAULEON P. (1980).
J. Reprod. Fert., 61, 201-206 et 58, 321-328.
- CAHILL L.P. (1981).
J. Reprod. Fert., suppl., 30, 135-142.
- CAHILL L.P., SAUMANDE J., RAVAUT J.P., BLANC M., THIMONNIER J.,
MARIANA J.C. et MAULEON P. (1981).
J. Reprod. Fert. 62, 141-150.
- CAHILL L.P. (1984).
dans "Reproduction in sheep", Cambridge University Press,
Australian Academy of Sciences, 92-93.
- CAHILL L.P., CLARKE I.J., CUMMINS J.F. et FINDLAY J.K. (1984).
Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., 16, 21.
- CAMERON E.H.D., HILLIER S.G. et GRIFFITHS K. (1975).
CARDIFF, Fifth Tenovus Workshop.
Alpha Omega publishing L.T.D., College buildings, University
plane, CARDIFF, WALES, (U.K.), 335 pages.
- CHANNING C.P., GAGLIANO P., HOOVER D.J., TANABE K., BATTI S.K.,
SULEWSKI J. et LEBECH P. (1981).
J. Clin. Endocr. Metab., 52, 1193-1198.

- CHANNING C.P., TANABE K., TURNER C.R. et HODGEN G.D. (1982).
J. Clin. Endocr. Metab., 55, 481-486.
- CLUTTON R.F., HARRINGTON C.R. et YUILL M.E. (1938).
J. Biochem., 32, 1119-1132.
- COGNIE Y., TERQUI M., PHILIPON P. et DRIANCOURT M.A. (1984).
Journées Rech. Ovine et Caprine (9^{ième}), 197-214.
- COLLIGNON J.L. (1984).
Mémoire pour l'obtention du grade de Licencié en Biologie,
F.N.D.P.
- COLLIP J.B., SELYE H. et THOMSON D.L. (1940).
Biol. Rev., 15, 1-34.
- COX R.I. et WILSON P.A. (1976).
J. Reprod. Fert., 46, 524 (Abstr.).
- COX R.I., WILSON P.A. et MATTNER P.E. (1976).
Theriogenology, 6, 607 (Abstr.).
- COX R.I., HOSKINSON R.M., SCARAMUZZI R.J., BINDON B.M., GEORGE J.M.,
WILSON P.A. et HINKS N.T. (1978-79).
C.S.I.R.O., Div. Anim. Prod. Res. Rep., 61-62.
- COX R.I., WILSON P.A., SCARAMUZZI R.J., HOSKINSON R.M., GEORGES J.M.
et BINDON B.M. (1982).
Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 14, 511-514.
- COX R.I. (1984).
Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 15, 182-185.
- COX R.I. (1984).
dans "Reproduction in sheep", Eds LINDSAY D.R. et PEARCE D.T.,
Australian Academy of Science, Camberra, 368-371.
- CUMMINS L.J., BINDON B.M., O'SHEA T. et PIPER L.R. (1980).
Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., 12, 50.
- CUMMINS L.J., O'SHEA T., BINDON B.M., LEE V.W.K. et FINDLAY J.K.
(1983).
J. Reprod. Fert., 67, 1-7.
- CUMMINS L.J., SPIKER S.A., COOK C. et COX R.J. (1984).
dans "Reproduction in sheep", Eds LINDSAY D.R. et PEARCE D.T.,
Australian Academy of Science, Camberra, 326-328.
- CUMMINS L.J., O'SHEA T., AL-OBAIDI S.A.R., BINDON B.M. et FINDLAY
J.K. (1986).
J. Reprod. Fert., 77, 365-372.
- DARGA N.C. et REICHERT L.E. jr (1979).
Ad. Exp. Med. Biol., 112, 383-388.
- DAVIS G.H., MONTGOMERY G.W., ALLISON A.J., KELLY R.W. et BRAY A.R.
(1982). Journal of Agric. Res., 25, 525-529.
- DEMOULIN et al. (1980).
Inhibine, origine et site d'action.

- DE REVIERS M.M. et MAULEON P. (1973).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 13, 177-193.
- DI ZEREGA G.S. et HODGEN G.D. (1981).
Endocr. Rev., 2, 27-49.
- DI ZEREGA G.S., MARRS R.P., ROCHE C.P., CAMPEAU J.D. et KLING O.R.
(1983). J. Clin. Endocr. Metab., 56, 35-41.
- DI ZEREGA G.S., CAMPEAU J.D., UJITA E.I., SCHREIBER J.R., BATTIN D.A.,
MONTZ F.J. et NAKAMURA R.N. (1985).
Proc. Satellite Symposium of Montebello.
- DRIANCOURT M.A. et CAHILL L.P. (1984).
J. Reprod. Fert., 71, 205-211.
- DRIANCOURT M.A., CAHILL L.P. et BINDON B.M. (1984).
J. Reprod. Fert., 73, 000-000.
- DRIANCOURT M.A. (1985).
Sources I.N.R.A., Reproductive Physiology, 37 380 MONNAIE (F).
- DRIANCOURT M.A., GIBSON W.R. et CAHILL L.P. (1985).
Reprod. Nutr. Dévelpp^t, 25(1a), 1-15.
- DRIANCOURT M.A., JEGO Y., CAHILL L.P. et BINDON B.M. (1985).
Livest Prod. Sci., 13, 21-33.
- DRIANCOURT M.A. (1986).
dans "Control of Follicular Growth and Ovulation Rate in farm
animals", ROCHE J.F., ed. Martinus, Nijhoff, The Hague.
- ENGLAND B.G., WEBB R. et DAHMER M.K. (1981).
Endocrinology, 109, 881-887.
- ERICKSON G.F. et HSUEH A.J. (1978).
Endocrinology, 103, 1960-1963.
- ERICKSON G.F., MAGOFFIN A., DYER C.A. et HOFEDITZ C. (1985).
Endocrine reviews, 6(3), 371-399.
- ERLANGER B.F., BOREK F., BEISER S.M. et LIEBERMAN S. (1957).
J. Biol. Chem., 228, 713-727.
- FADDY M.J., JONES E.C. et EDWARDS B.G. (1976).
J. Exp. Zool., 197, 173-186.
- FAIRCLOUGH R.J., SMITH J.F., PETERSON A.J. et MAC GOWAN L. (1976).
J. Reprod. Fert., 46, 523-524.
- FALCK B., MENANDER K. et NORDANSTEDT O. (1962).
Nature, 193, 593.
- FERIN M., ZIMMERING P.E., LIEBERMAN S. et VANDEWIELE R.L. (1968).
Endocrinology, 83, 565-571.
- FERIN M., RAZIANO J. et TEMPONE A. (1970).
dans "Immunological Methods in Steroids Determination", Eds
PERON F.G. et CALDWELL B.V., Appleton, New-york, 199-223.
- FERIN M., DYRENFURTH I., COWCHOK S., WARREN M. et VANDEWIELE R.L.
(1974). Endocrinology, 94, 765-776.

- HANRAHAN J.P. (1982).
Proc. 2nd world Congr. Genet. Applied to Livestock Prod., 5, 294
- HANRAHAN J.P. et PIPER L.R. (1982).
Proc. 32nd European Ass. Animal Production, Leningrad.
- HARESIGN L. (1985).
Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam,
Livestock Production Science, 13, 3-20.
- HARESIGN W. et McLEOD B.J. (1985).
dans "Genetic of Reproduction", EDS. LAND R.B. et ROBINSON D.W.
Butterworths, London, 291-300.
- HARRISON R.J., (1962).
dans "The Ovary, Vol. 2.", Eds. by ZUCKERMAN S., MANDLE A. et
ECKSTEIN P..
- HAUGER R.L., KARSH F.J. et FOSTER D.L. (1977).
Endocrinology, 101, 807-818.
- HENDERSON K.M., FRANCHIMONT P., CHARLET-RENARD Ch. et MAC NATTY K.P.
(1984). J. Reprod. Fert., 72, 1-8.
- HENDERSON K.M., FRANCHIMONT P., LECOMTE-YERNA M.I., HUDSON N. et
BALL K. (1984). J. Endocr., 102, 304-309.
- HEINS Th., ARTOISENET P. et PAQUAY R. (1983).
Elevage ovin, 20-22.
- HILLIER S.G., GROOM G.V., BOYNS A.R. et CAMERON E.H.D. (1974).
Nature, 250, 433-434.
- HILLIER S.G., GROOM G.V., BOYNS A.R. et CAMERON E.H.D. (1975).
J. Ster. Biochem., 6, 529-535.
- HILLIER S.G. et CAMERON E.H.D. (1976).
dans "Physiological Effects of Immunity against Reproductive
Hormons", Eds EDWARDS R.G. et JOHNSON, Cambridge University
London 3, 91-120.
- HILLIER S.G. et ROSS G.T. (1979).
Biolo. Reprod., 20, 261.
- HILLIER S.G., AGNES M.J., BOOGAARD L.E., VAN DEN REICHERT D. et HALL
E.V. (1980). J. Endocr., 84, 409-419.
- HILL R.T., PARKES a.S. et WHITE W.E. (1934).
Journal of Physiology, 81, 335-360.
- HOAK D.C. et SCHWARTZ N.B. (1980).
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 8, 4953-4956.
- HSUEH A.J.W., WELSH Th. Jr. et JONES P.B.C. (1981).
Endocrinology, 108, 2002.
- HSUEH A.J.W., ADASHI E.Y., JONES P.B.C. et WELSH Th. Jr. (1984).
Endocrine Rev., 1, 76-127.
- INGRAM D.L., (1953).
J. Endocr., 9, 307-311.

- FINDLAY J.K et CUMMING I.A. (1977).
Biol. Reprod., 17, 178-183.
- FLETCHER P.W., DIAS J.A., SANZO M.A. et REICHERT L.E., (1982).
Endocr., 25, 303-315.
- FORTUNE J.E. et VINCENT S.E. (1983).
Biol. Reprod., 28, 1078-1089.
- FOSSION M. (1985).
Mémoire pour l'obtention du grade de Licencié en Biologie.
F.N.D.P., p1 à 13.
- FRANCHIMONT P., CHARI S., HAGELSTEIN M.T. et DURAISWAMI S. (1975).
Nature, 257, 402-404.
- FRANCHIMONT P., CHARI S., HAGELSTEIN M.T., DEBRUCHE M.L. et DURAISWAMI S. (1977).
Evidence for the existence of inhibin, 253-270.
- FRANCHIMONT P., PROYARD J.V., HAGELSTEIN M.T., RENARD Ch., DEMOULIN A., BOURGUIGON J.P. et HUSTIN J. (1979).
Vitamins and Hormons, 37, 243-302.
- FRANCHIMONT P., CROZE F. et VERHOEVEN G. (1980).
C.R. Seanc. Soc. Biol., 174, 893-897.
- FRANCHIMONT P. (1985).
Clinics in Endocrinology and Metabolism, 15, 21 pages.
- FRANCHIMONT P., DEMOULIN A. et VALCKE J.C. (1986).
Mécanismes endocrines, autocrines et paracrines du développement folliculaire (Communications personnelles).
- GELDARD H. et SCARAMUZZI R. (1983).
Sheep Wheat Review (SV press), 19 pages.
- GELDARD H., DOW G.J., SCARAMUZZI R.J., HOSKINSON R.M., COX R.I. et BEELS C.M. (1984).
Australian Veterinary Journal, 61(4), 131-131.
- GHERARDI P. et LINDSAY D.R. (1980).
J. Reprod. Fert., 60, 425-429.
- GOODFRIEND L. et SEHON A.H. (1961).
Can. J. Biochem. Physiol., 39, 961-965.
- GOODMAN R.J. et KARSH f.j. (1981).
J. Reprod. Fert., suppl. 30, 1-13.
- GOODMAN R.J. et KARSH T.J., (1980).
Endocrinology, 107, 1286-1290.
- GOUGEON A. (1984).
Contraception, Fertilité, Sexualité, 12(12), 1397-1405.
- GURAYA S.S. (1964).
Am. J. Anat., 114, 283-292.
- HANRAHAN J.P. (1980).
Proc. Aus. Soc. Anim. Prod., 13, 405-408.

- JANSEN E.M., STEENBERGEN J.M., DEJONG F.M. et VANDERMOLEN H.J. (1981).
Molec. Cell. Endocrinol., 21, 109-117.
- JEGO Y. (1984).
Memoire de fin d'études, Institut National Agronomique, Paris-Grignon.
- JONES E.C. et KROHN P.L. (1961).
J. Endocr., 21, 469-495.
- KAMMERLADE L., WELCH J.A., NALBANDOW A.V. et NORTON H.W. (1952).
J. Anim. Sci., 11, 646-655.
- KAPLAN A.M., OTTENBRUTE R.M., REGELSON, CARCHMAN R., MORAHAN P. et MUNSON A. (1978).
dans "Handbook of Cancer Immunology", HUNTER ed., 5, 135-161.
- KAUSHANSKY A., BAUMINGER S., KOCH Y. et LINDNER H.R. (1977).
Acta Endocrinologica, Copenh., 84, 795-803.
- KENNEDY J.P. et WESTHINGTON C.A. (1974).
J. Reprod. Fert., 36, 275-282
- KNECHT M., AMSTERDAM A. et CATT K.J. (1982).
Endocrinology, 110, 865-872.
- KNIGHT T.W., OLD'HAM C.M. et LINDSAY D.R. (1975).
Aust. J. Agric. Res., 26, 567-575.
- LAHLOU-KASSI A., SCHAMS D. et GLATZEL P. (1984).
J. Reprod. Fert., 70, 165-173.
- LAND R.B. (1970).
J. Reprod. Fert., 21, 517-521.
- LAND R.B. (1973).
J. Reprod. Fert., 33, 99-105.
- LAND R.B. (1976).
J. Reprod. Fert., 48, 217-218.
- LAND R.B. et SCARAMUZZI R.J. (1978).
Anim. Prod., 28, 131-134.
- LAND R.B. (1979).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 19(5), 1569-1574.
- LAND R.B., MORRIS B.A., BAXTER G., FORDYCE M. et FORSTER J. (1982).
J. Reprod. Fert., 66, 625-634.
- LANDSTEINER K. (1936).
THOMAS C.C., Springfield, Illinois.
- LEATHEM J.H. (1949).
Recent Prog. Horm. Res., 4, 115-152.
- LEGAN S.J., KARSH F.J. et FOSTER D.L. (1977).
Endocrinology, 101, 818-824.
- LEGAN S.J. et KARSH F.J. (1979).
Biol. Reprod., 20, 74-85.
- LIEBERMAN S., ERLANGER B.F., BEISER S.M. et AGATE F.J. Jr. (1959)
Recent Prog. Horm. Res., 15, 165-196.

- LITTLE D.L., COX R.I., WALKER S.K., FLAVEL P.F., (1984).
dans "Reproduction in Sheep", Cambridge University Press,
Australian Academy of Sciences, 365-367.
- MAC NATTY K.P., DOBSON L., GIBB M. (1981).
J. Endocr., 91, 99-109.
- MAC NATTY K.P., GIBB M., DOBSON C. et THURLEY R. (1981).
J. Endocr., 90, 375-389.
- MAC NATTY K.P., GIBB M., DOBSON C., BALL K., COSTER J., HEATH D. et
TURLEY D.C., (1982).
J. Reprod. Fert., 65, 111-123.
- MAC NATTY K.P., HEATH D.A., HENDERSON K.M., LUN S., HURST P.R.,
ELLIS L.M., MONTGOMERY G.W., MORRISON L. et THURLEY D.C. (1984).
J. Reprod. Fert., 72, 39-53.
- MAC NEILLY J.R., MAC NEILLY A.S., WALTON J.S. et GUNHIINGAM F.J.,
(1976). J. of Endocrinology, 70, 69-79.
- MAC NEILLY A.S., (1985).
J. Reprod. Fert., 74, 661-668.
- MANDL A.M. et ZUCKERMAN S. (1950).
J. Endocr., 6, 426-435.
- MARTENSZ N.D. et SCARAMUZZI R.J. (1978).
J. Endocr., 81, 249-259.
- MARTENSZ N.D., SCARAMUZZI R.J. et VAN LOOK P.F.A. (1978).
J. Endocr., 81, 261-269.
- MARTENSZ N.D., BAIRD D.T., SCARAMUZZI R.J. et VAN LOOK P.F.A. (1976).
J. Endocr., 69, 227-237.
- MARTENSZ N.D., SCARAMUZZI R.J. et VAN LOOK P.F.A. (1978-79).
J. Endocr., 81, 261-269.
- MARIAMA J.C., (1978).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 18 (6), 1333-1342.
- MARTIN G.B., RAWLINGS N.C., HILL J.R. et HENRICKS D.M. (1978).
J. Reprod. Fert., 53, 173-178.
- MARTIN G.B., SCARAMUZZI R.J., COX R.I. et GHERARDI P.B. (1979).
Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb., 19, 673-678.
- MARTENSZ N.D. (1980).
Oxford Rev. Reprod. Biol., 2, 232-262.
- MARTIN G.B., SCARAMUZZI R.J. et LINDSAY D.R. (1981).
Aust. J. Biol. Sci., 34, 569-575.
- MARTIN G.B. et SCARAMUZZI R.J. (1983).
Journal of Endocrinology, 96, 181-193.
- MAULEON P. et MARIANA J.C. (1977).
dans "Reproduction in Domestic Animals", Academic Press, New-York
Eds COLE H.H. et CUPPS E.T., 175-198.

- MAULEON P. (1978).
dans "Control of Ovulation", Edited by CRIGHTON R.B., HAYNES
N.B., FOXCROFT G.R. et LAMMING G.E., Butterworths, London,
141-158 .
- MELNER M.H., YOUNG S.L., CZERWIEC F.S., LYN D., PUETT D.,
ROBERTS J.L et KOOS R.D. (1986).
Endocrinology, 119(5), 2082-2088.
- MILLER K.F. et WEASON J.A. (1979).
Biology of Reproduction, 21, 867-872.
- MILLER K.F., NORDHEIM E.V. et GINTHER O.J. (1981).
Theriogenology, 16, 669-679.
- MILLS T., COPLAND a. et OSTEEEN K. (1981).
Biology of Reproduction, 25, 530-535.
- MORDER M.L., CHANNING C.P. et SCHWARTZ N.B. (1977).
Endocrinology, 101, 1639-1642.
- MOOR R.M. (1973).
J. Reprod. Fert., 32, 545-548.
- MOOR R.M. (1977).
J. Endocr., 73, 143-150.
- MOOR R.M., CAHILL L.P. et STEWART F. (1981).
9th. int. Congr. on Anim. Reprod. and A.I., Madrid, 1, 45-
- MOORE N.W. et SHELTON J.N. (1964).
J. Reprod. Fert., 7, 79-87.
- MOORE G.P.M. et LINTERN-MOORE S. (1974).
J. Reprod. Fert., 39, 163-166.
- MURDOCH W.J. et DUNN T.G. (1982).
Biology of Reproduction, 27, 300-307.
- NIESCHLAG E. et WICKINGS J. (1978).
Vitamins and Hormons, 36, 165-202.
- NILSSON Z., WICKLAND M. et HAMBURGER L. (1982).
Fertil. Steril., 37, 30-34.
- NISWENDER G.D. et MIDGLEY A.R. (1970).
dans "Immunologic Methods in Steroid Determination", Eds. PERON
F.G. et CALDWELL B.W., Appelton New York, 146-166.
- OAKBERG E.F. (1968).
Mutation Research, R6R, 155-165.
- OLD'HAM C.M. (1980).
Ph. D. Thesis, University of Western Australian.
- O'SHEA T., AL-OBAIDI SAR, BINDON B.M., LUMHINS L.J., FINDLAY J.K. et
HILLAR M.H. (1984).
dans "Reproduction in sheep", Eds LINDSAY D.R. et PEARSE D.T.,
Australian Academy of Sciences, Canberra.
- O'SHEA T., CUMMINS L.J., BINDON A.M. et FINDLAY J.K. (1982)
Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., 14, 85.

- OUSSAID B., COGNIE Y. et POULIN N. (1982).
Proc. S.S.F., Nottingham.
- OUSSAID B. (1983).
Thèses de doctorat, Académie de Montpellier.
- PANTS H.C., DOBSON H. et WARD W.R. (1978).
J. Reprod. Fert., 53, 241-248.
- PAPANICOLAOU G.N. et FALK E.A. (1934).
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 31-750.
- PARKES A.S. (1950).
Recent Prog. Horm. Res., 5, 101.
- PEARCE D.T. et OLD'HAM C.M. (1984).
dans "Reproduction in sheep", Cambridge University Press,
Australian Academy of Sciences, 26-34.
- PEDDIE M.J. (1977).
J. Endocr., 75, 48-49.
- PETERS H. et LEVY E. (1964).
J. Reprod. Fert., 7, 37-45.
- PETERS H. (1973).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 13, 167-176.
- PETERS H. (1976).
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 16, 271-278.
- PIPER L.R. et BINDON B.M. (1984).
dans "Reproduction in Sheep", Cambridge University Press,
Australian Academy of Sciences, 237-239.
- PHILIPON P. (1983)
Diplôme d'études approfondies de Sciences Agronomiques (option
zootchnie), Académie de Montpellier, Université des Sciences
et Techniques du Languedoc, 42 p.
- PRUD'HON M. (1971).
Thèse de doctorat, Académie de Montpellier, 92-93.
- QUIRKE J.F. (1978).
Irish J. Agric. Res., 17, 25-37.
- QUIRKE J.F. (1979).
Animal Production, 28, 297-307.
- RADFORD H.M., DONEGAN S. et SCARAMUZZI R.J. (1980).
Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 13, 457.
- RAWLINGS N.C., KENNEDY S.W. et HENRICKS D.M. (1978).
J. Endocr., 76, 11-19.
- RAWLINGS N.C., KENNEDY S.W. et HENRICKS D.M. (1979).
Theriogeneology, 12(3), 139-146 et 12(6), 313-317.
- RICHARDS J.S. (1980).
Physiological Reviews, 60(1), 51-89.
- RICORDEAU G., RAZUNGLES J., EYCHENNE F. et TCHAMITCHIAN L. (1976).
Ann. Genet. Sel. Anim., 8, 25-35.

- RICORDEAU G., RAZUNGLES J., LAJOUS D. et EYCHENNE F. (1982).
2nd Wld. Congr. Genet. Liv. Prod., Madrid, 7, 591-595.
- RILE B.F. et SAVARD K. (1966).
J. Clin. Endocrinol. Metab., 26, 593.
- RIVERSI G.D. et SILBERSTRINI R. (1969).
Exp. Coll. Res., 31, 484-489.
- ROBINSON T.J. (1959).
dans "Reproduction in Domestic Animals", Eds COLE H.H. et CUPPS P.T., Academic Press, New York, 1, 291-333.
- ROWLANDS I.W. (1937).
Proceedings of the Royal Society, series B, 121, 517-532.
- RYAN K.J. et PETRO Z. (1966).
J. Clin. Endoc. Metab., 26, 46.
- SCARAMUZZI R.J., CALDWELL B.V., TILLSON S.A. et THORNEYCROFT I.H. (1970).
Dans "Research on steroids". Eds. FINKELSTEIN M., KLOPPFLER A., CONTI C. et CASSANO C., Pergamon Press, Oxford, 4, 187-196.
- SCARAMUZZI R.J. et MARTENSZ N.D. (1975).
dans "Immunisation with Hormons in Reproduction Research", Ed. NIESCHLAG E., Noth-Holland Publishing Company, 141-149
- SCARAMUZZI R.J. (1976).
dans "Physiological Effects of Immunity against Reproductive Hormons", Eds. EDWARDS R.G. et JOHNSON, Cambridge University London 3, 91-120.
- SCARAMUZZI R.J. et LAND R.B. (1976).
Theriogenology, 6, 606 (Abstr.).
- SCARAMUZZI R.J. et BAIRD D.T. (1977).
Endocrinology, 101, 1801-1806.
- SCARAMUZZI R.J., BAIRD D.T., CLARKE I.J., DAVIDSON W.G., MARTENSZ N.D. et VAN LOOK P.F.A. (1977).
Acta Endocrinologica, suppl., 212, 41.
- SCARAMUZZI R.J., DAVIDSON W.G. et VAN LOOK P.F.A. (1977).
Nature, 269, 817-818.
- SCARAMUZZI R.J. (1979).
J. Steroid Biochem., 11, 957-961.
- SCARAMUZZI R.J., BAIRD D.T., CLARKE I.J., MARTENSZ N.D. et VAN LOOK P.F.A. (1980).
J. Reprod. Fert., 58, 27-35.
- SCARAMUZZI R.J., BAIRD D.T., MARETENSZ N.D., TURNBULL K.E. et VAN LOOK P.F.A. (1981).
J. Reprod. Fert., 61, 1-9.
- SCARAMUZZI R.J., COX R.I. et HOSKINSON R.M. (1982).
Congr. Sheep and Beef Cattle Breeding, 1, 359-363.

- SCARAMUZZI R.J. et HOSKINSON R.M. (1983).
Article présenté à Easter School in Agricultural Science,
University of Nottingham, 58 pages.
- SCARAMUZZI R.J. et RADFORD H.M. (1983).
J. Reprod. Fert., 69, 353-367.
- SCHWARTZ N.B. et CHANNING C.P. (1977).
Evidence for ovarian inhibin, Décembre 1977.
- SETCHELL B.P. et SIRINATHSINGHJI D.J. (1982).
J. Endocr., 53, LX (Abstr.).
- SILAVIN S.L. et GREENWALD G.S. (1984).
J. Reprod. Fert., 71, 387-392.
- SLUSS P.M., FLETCHER P.W. et REICHERT L.E. (1983).
Biol. Reprod., 29, 1105-1113.
- SMEATON T.C. et ROBERTSON H.A. (1971).
J. Reprod. Fert., 25, 243-252.
- SMITH J.F. et COX R.I. (1981).
Proc. 33rd Ruakura farmer's conf., 19-21.
- SMITH J.F., COX R.I., MCGOWAN L.T., WILSON P.A. et HOSKINSON R.M.
(1981). Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod., 41, 193-197.
- SMITH J.F., COX R.I., MCGOWAN L.T. et WILSON P.A. (1982).
Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., 14, 95.
- SNOOK R.B. et HANSEL W. (1971).
J. Anim. Sci., 33, 607-611.
- SPRUMT D.M., DULANEY A.D. et CONGER R. (1951).
Endocrinology, 93, 843-847.
- TERQUI M., DRIANCOURT M.A., MONNIAUX D. et MARIANA J.C. (1983).
Genetic variations in the hormonal control of sheep fecundity,
cités par PHILIPON P. (1983).
- TERRANOVA P.F. et GREENWALD G.S. (1981).
J. Reprod. Fert., 61, 37-42.
- THOMAS G.B., OLDHAM C.M. et MARTIN G.B. (1984).
dans "Reproduction in Sheep", Cambridge University Press,
Australian Academy of Science, 6-9, 102-104.
- TRINTELER M.F. (1987).
Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en Sciences,
F.N.D.P. Namur, 132 pages.
- TURNBULL K.E., BRADEN A.W.H. et MATTNER P.E. (1977).
Aust. J. Biol. Sciences, 30, 229-241.
- WEBB R. et ENGLAND B.G. (1982).
Endocrinology, 110, 873-881.
- WEBB R. et GAULD I.K. (1984).
dans "Période péri-ovulatoire", Eds. MASSON, 21-32.

WILMUT I., SALES D.I. et ASHWORTH C.J. (1985).

dans "Genetic of Reproduction in Sheep" Eds LAND R.B. et
ROBINSON D.W., 275-289.

YEGO (1986).

Mémoire de fin d'études, Institut National Agronomique, Paris-
Grignon.

YING S.Y., BECKER A., BAIRD A., LING N., VENO N., ESCH F. et

GUILLEMIN R. (1986). Bioch. Biophys. Res. Comm., 135, 950-956.

ZAMBOWI L. (1974).

Biol. Reprod., 10, 125-149.

ZELEZNIK A.J., MIDGLEY A.R. et REICHERT L.E. (1974).

Endocrinology, 95, 818-825.

ZONDEK B. et SULMAN F. (1942).

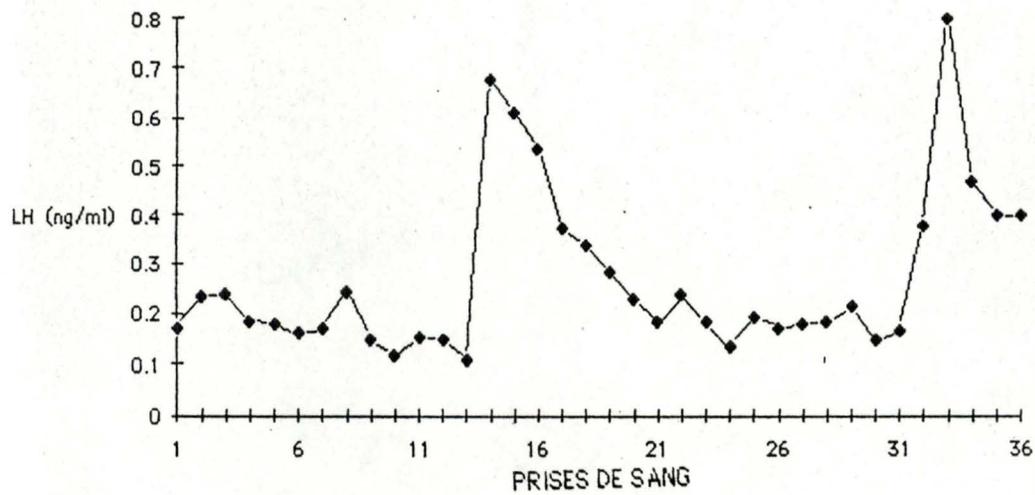
The gonadotropic factor, Eds WILLIAMS ET WIKINGS, Baltimore.

ANNEXES

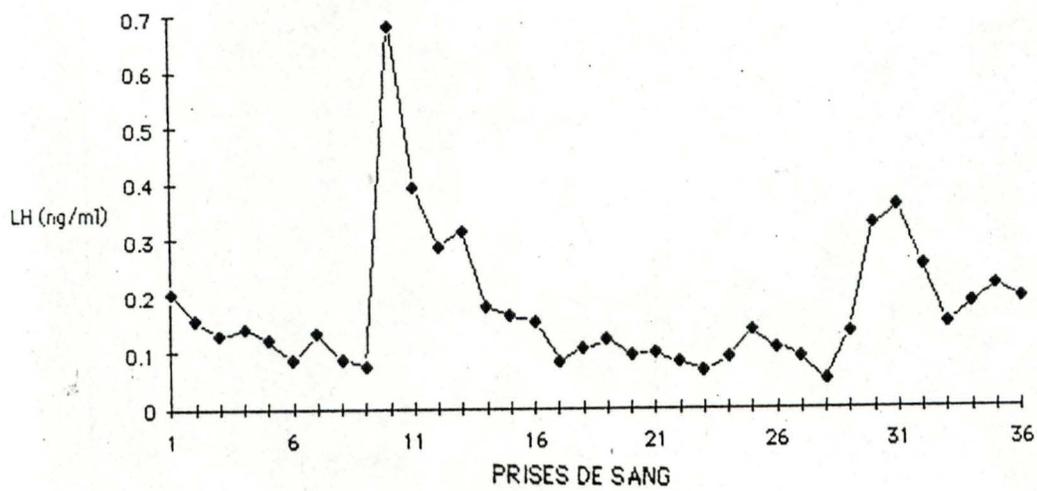
Variations du taux plasmatique de LH pendant 6 h, le 6-12-87

Les prises de sang ont été effectuées toutes les 10 minutes

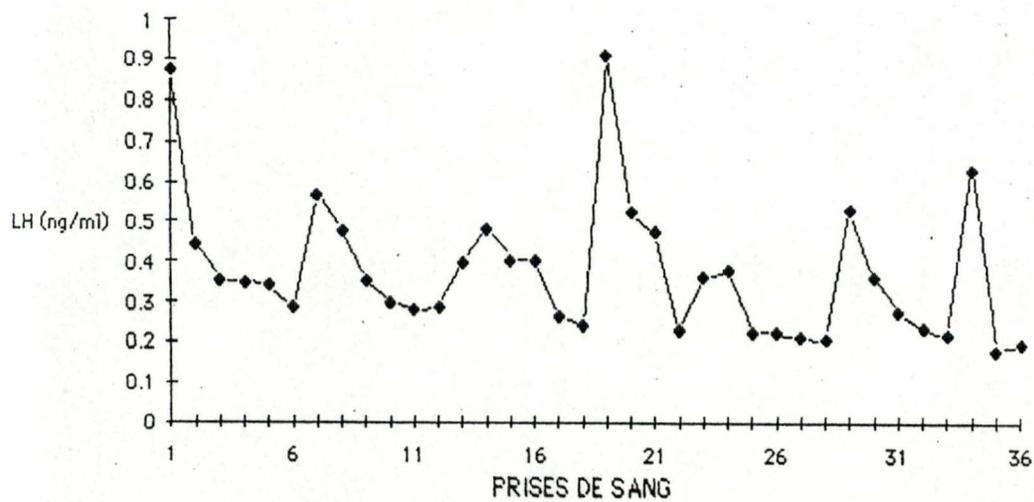
B94 LH



B105 LH



B110 LH

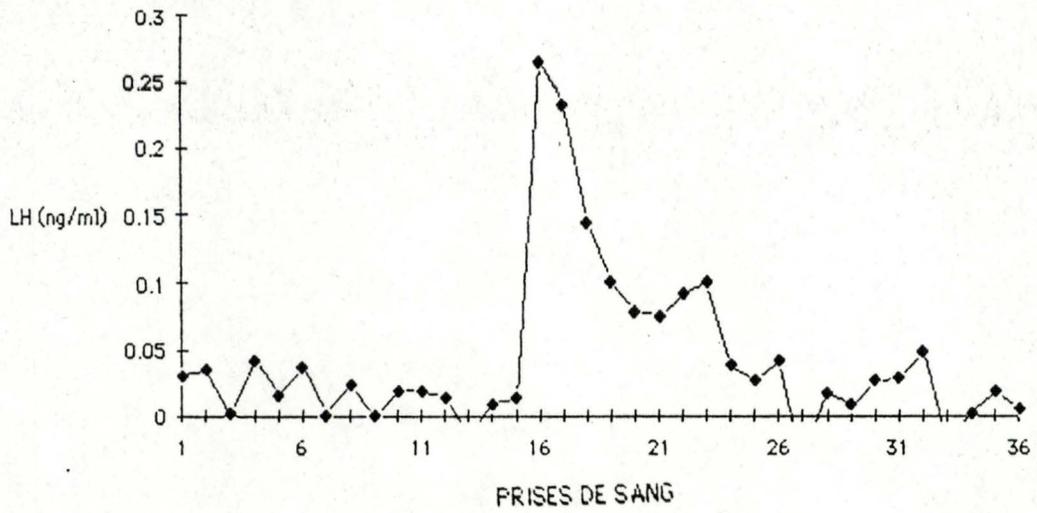


Variations du taux plasmatique de LH pendant 6 h, le 6-12-87

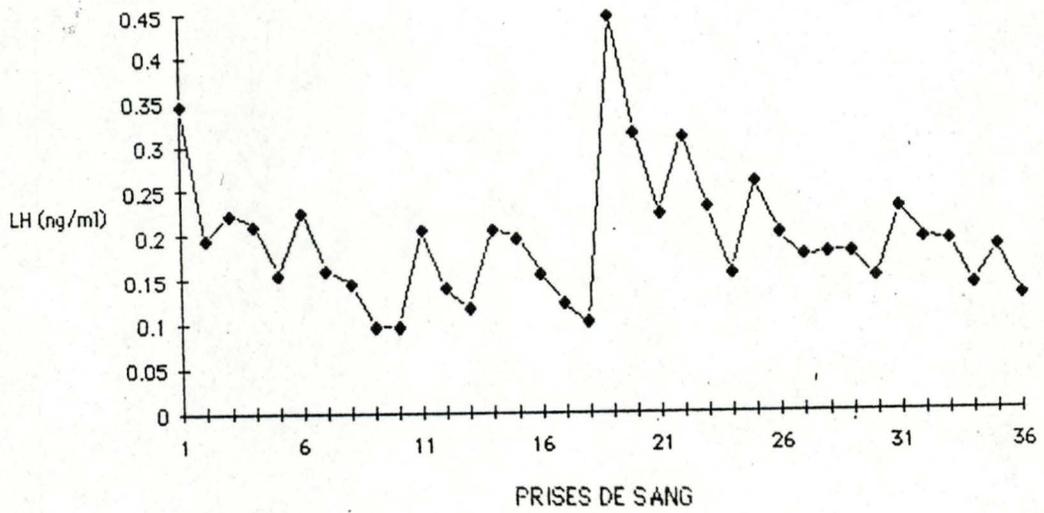
BREBIS IMMUNISEES

Les prises de sang ont été effectuées toutes les 10 minutes

B113 LH



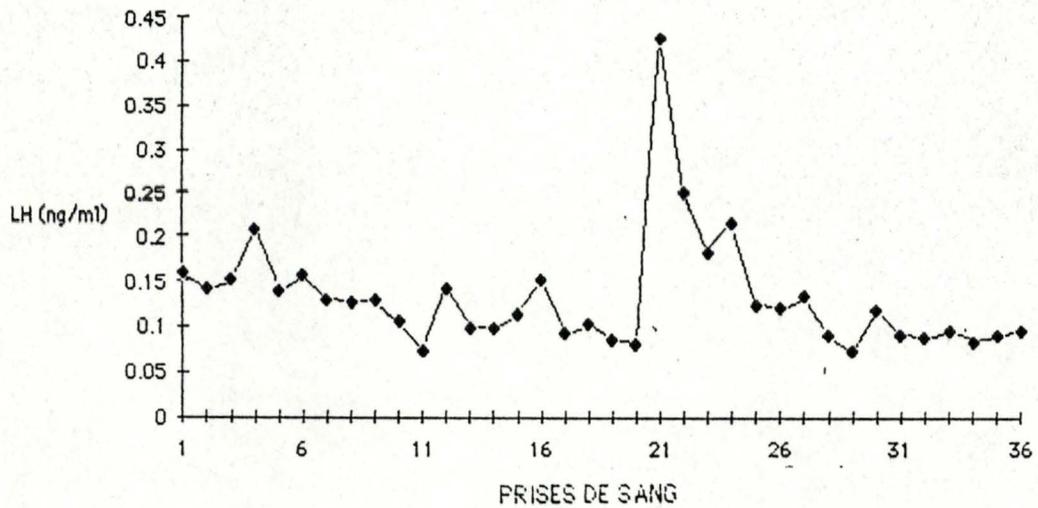
B114 LH



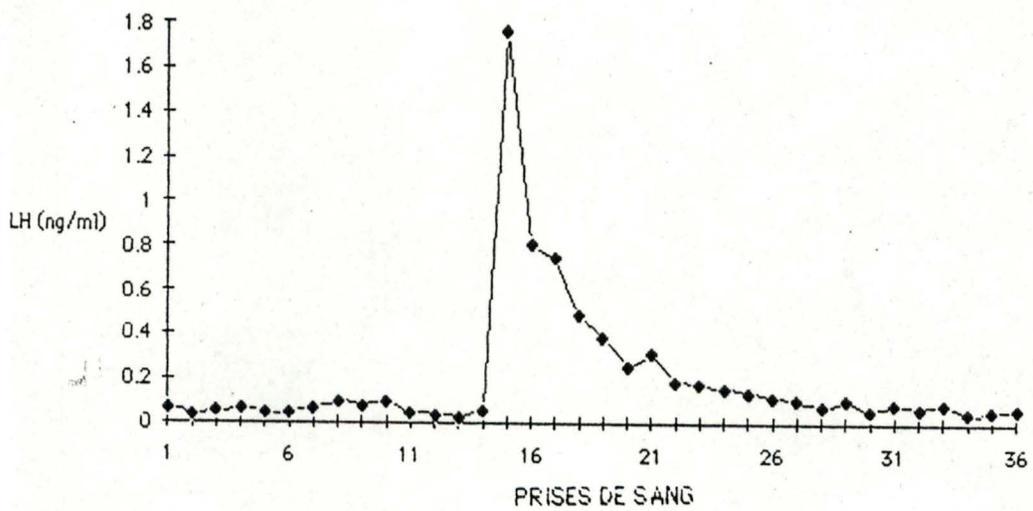
BREBIS NON IMMUNISEES

Les prises de sang ont été effectuées toutes les 10 minutes

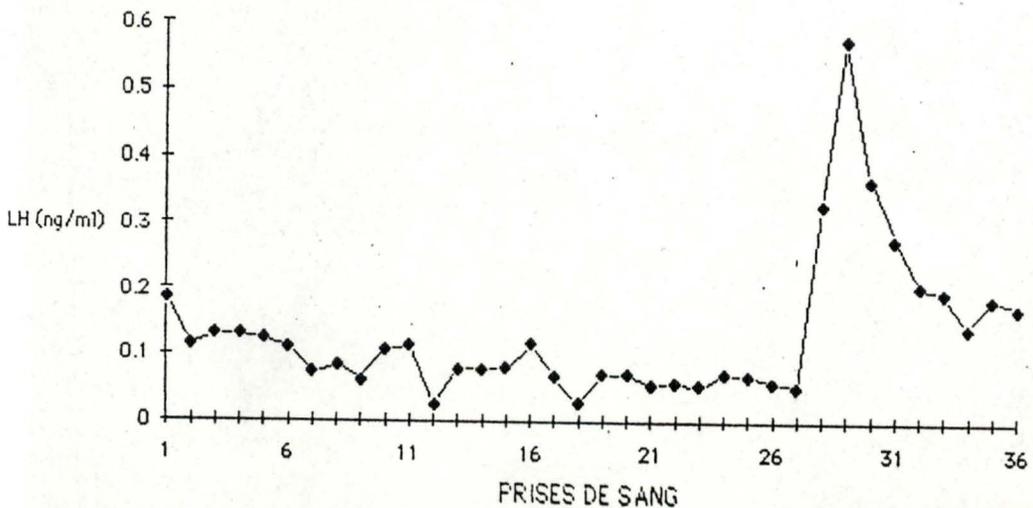
B103 LH



B108 LH



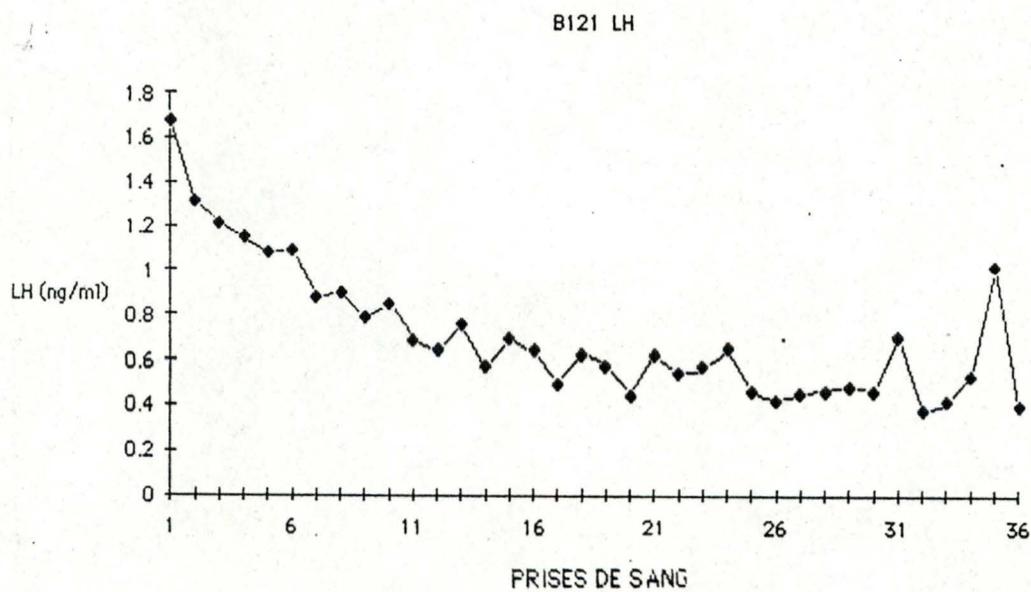
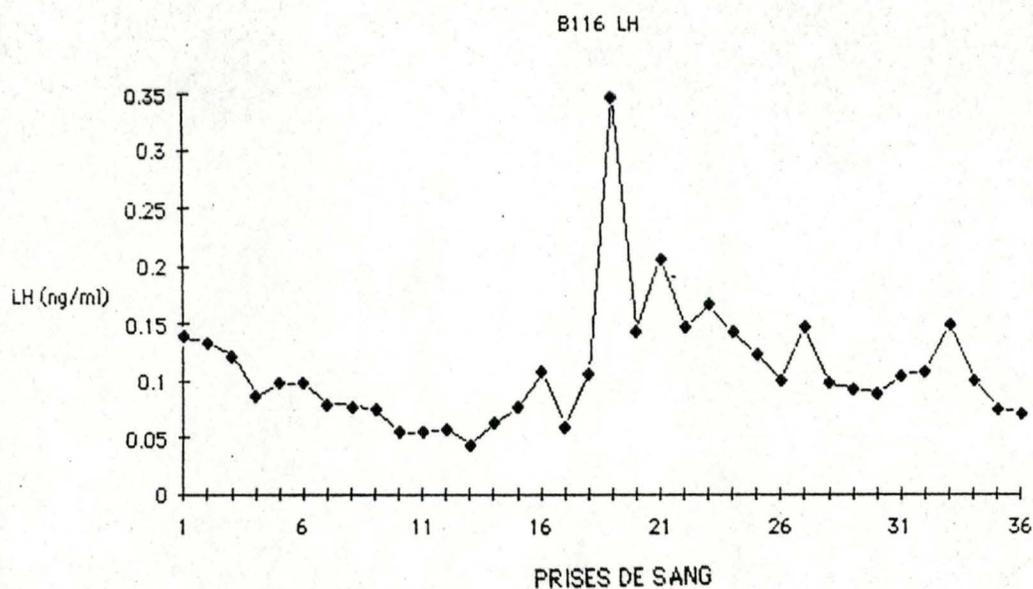
B109 LH



Variations du taux plasmatique de LH pendant 6 h, le 6-12-87

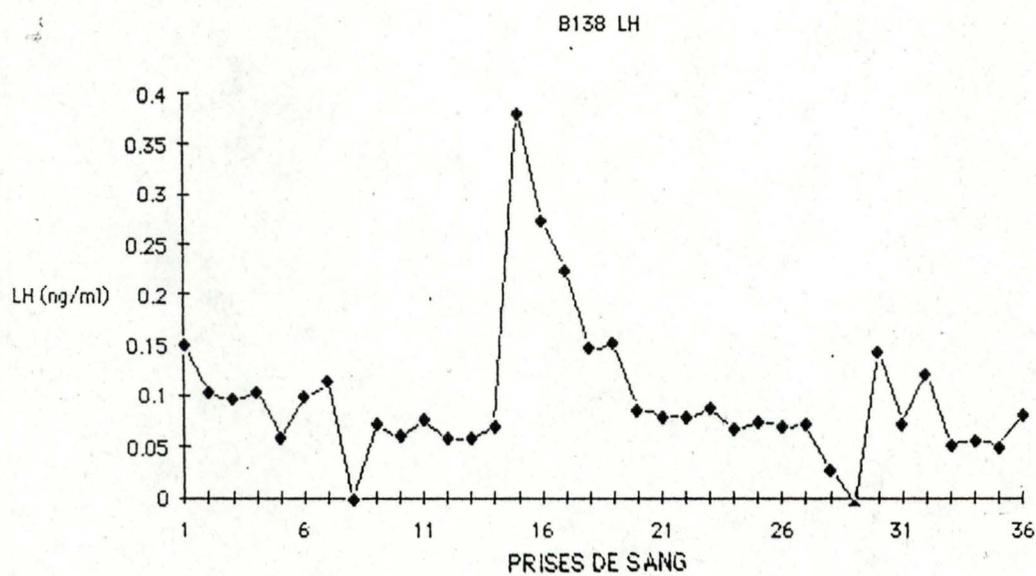
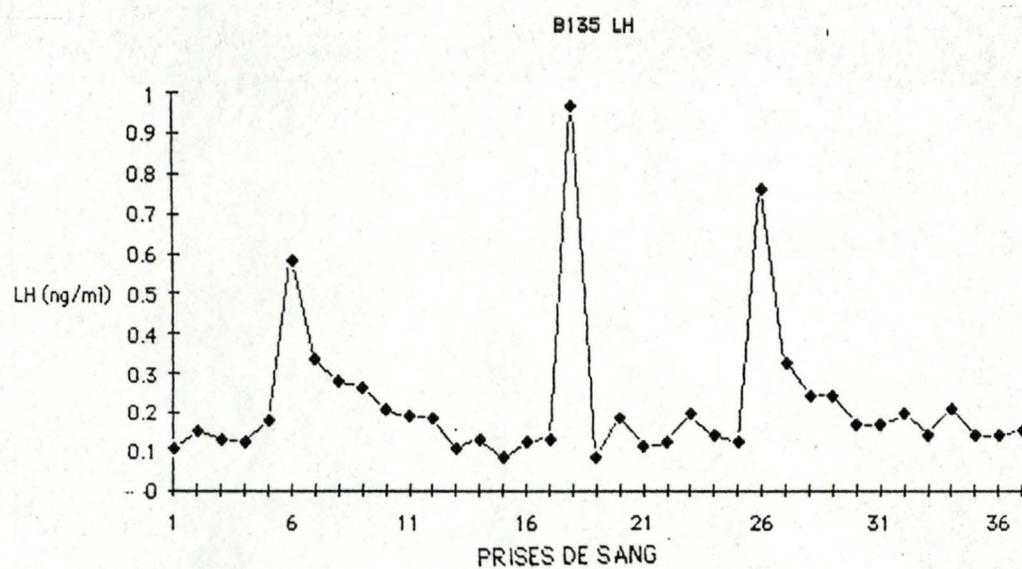
BREBIS NON IMMUNISEES

Les prises de sang ont été effectuées toutes les 10 minutes

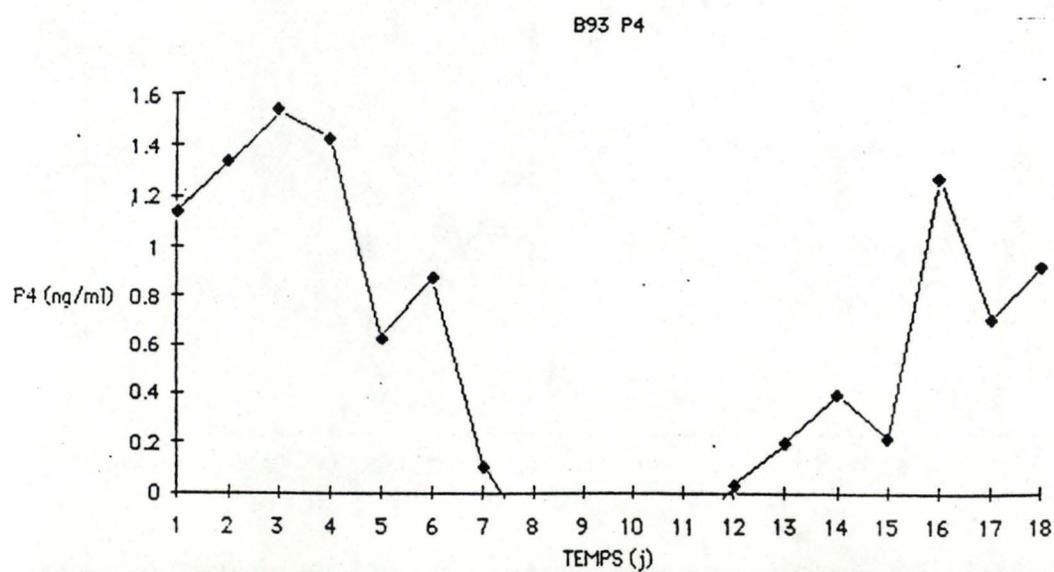
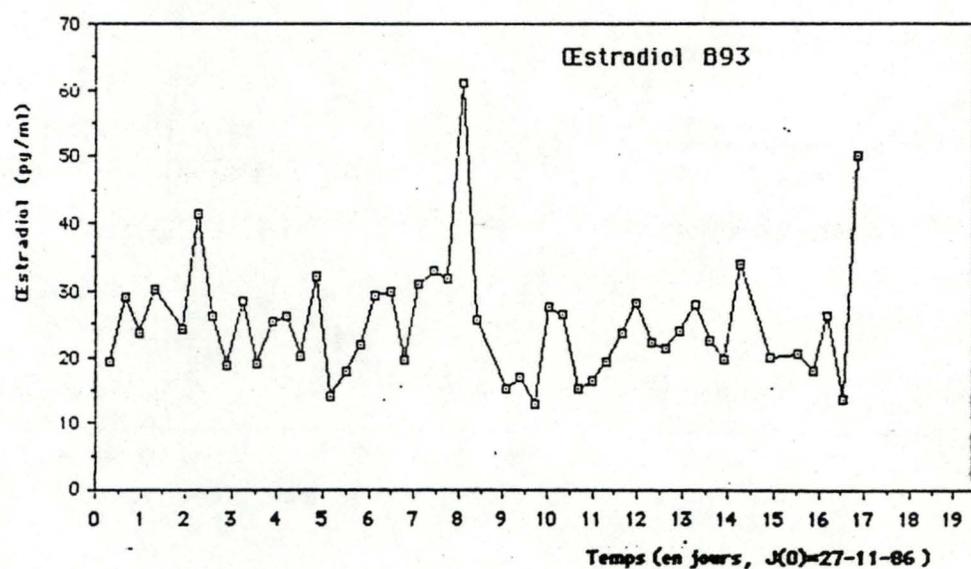
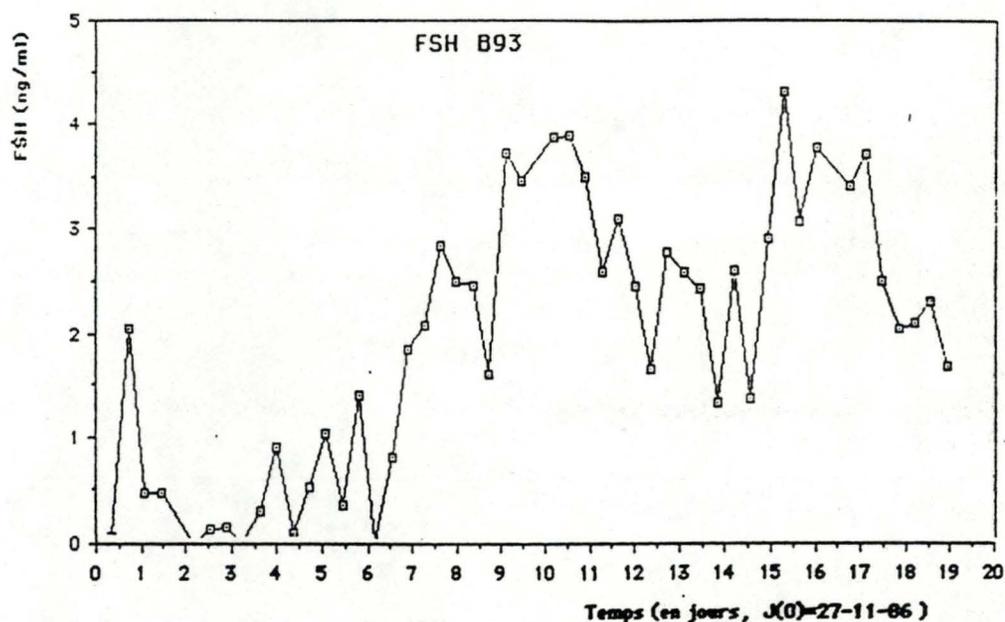


BREBIS NON IMMUNISEES

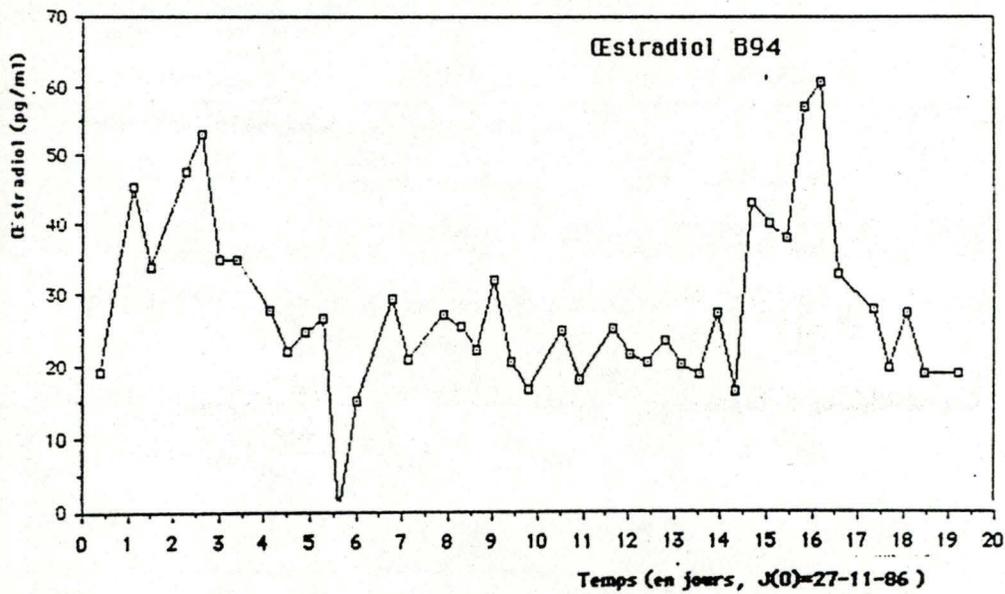
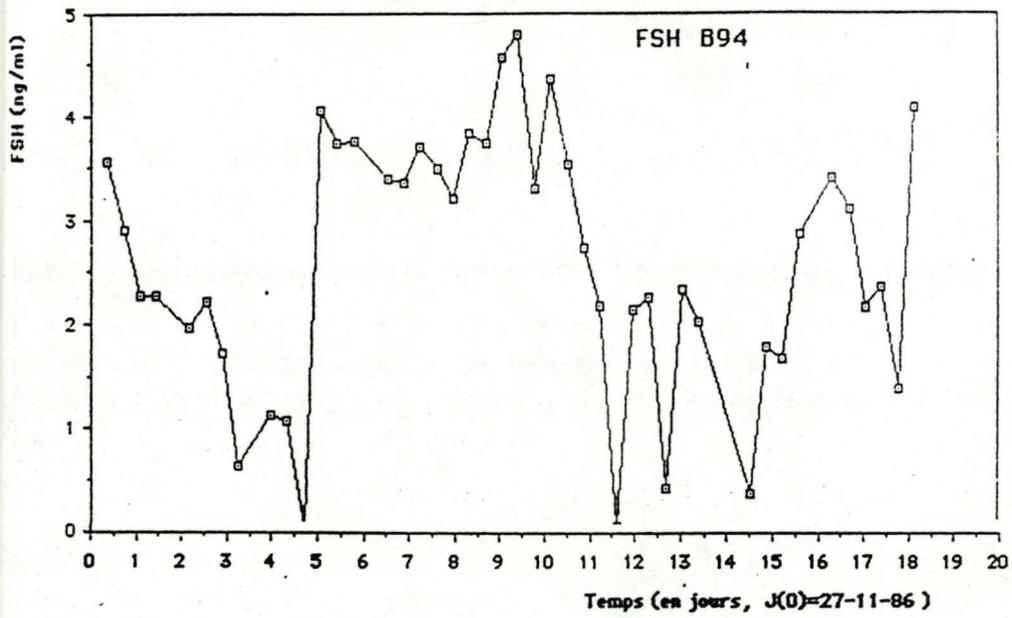
Les prises de sang ont été effectuées toutes les 10 minutes



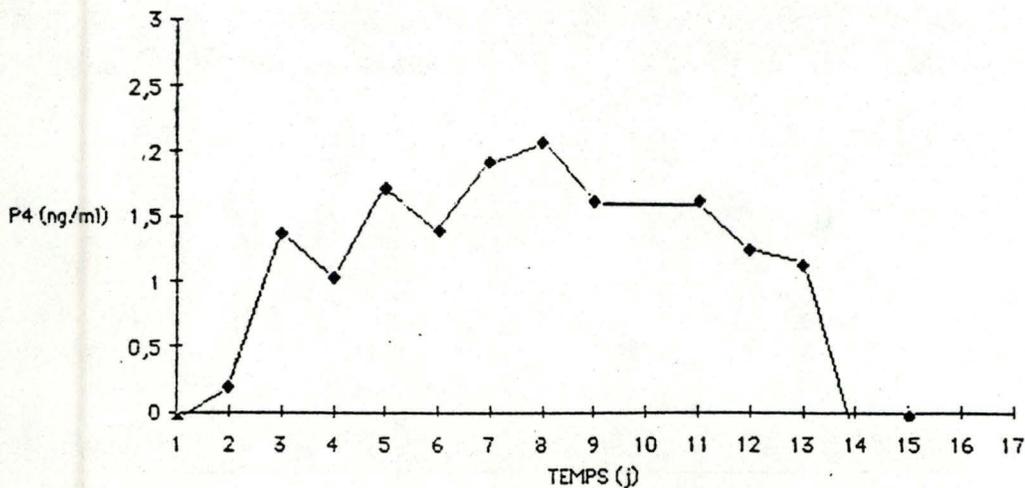
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH, Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 93



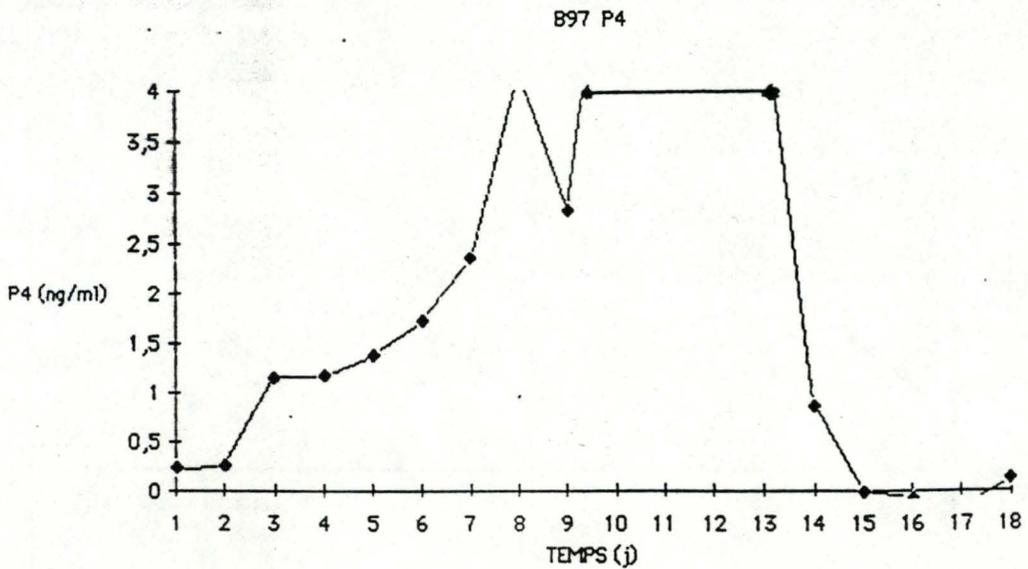
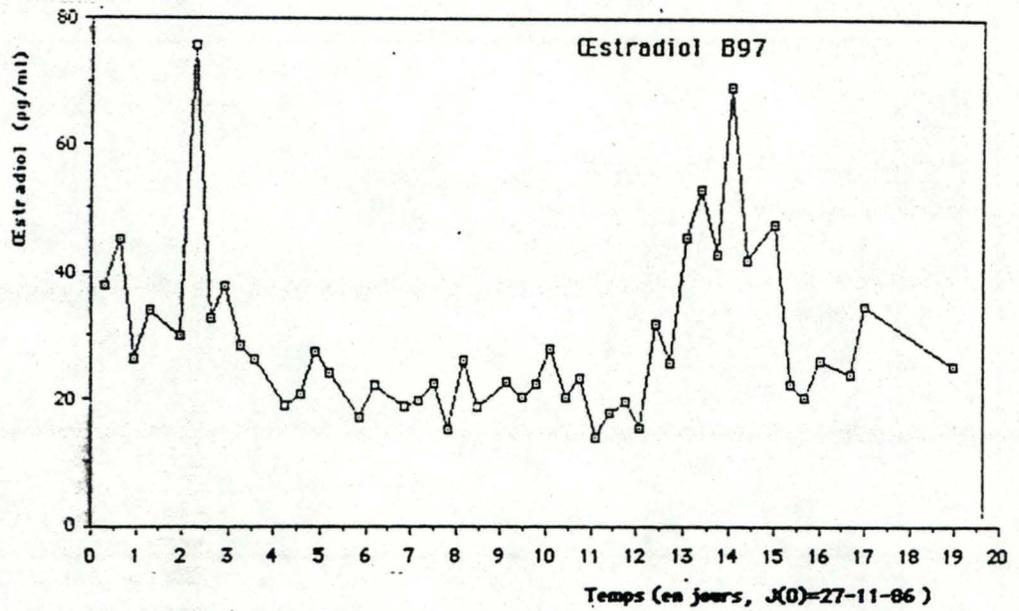
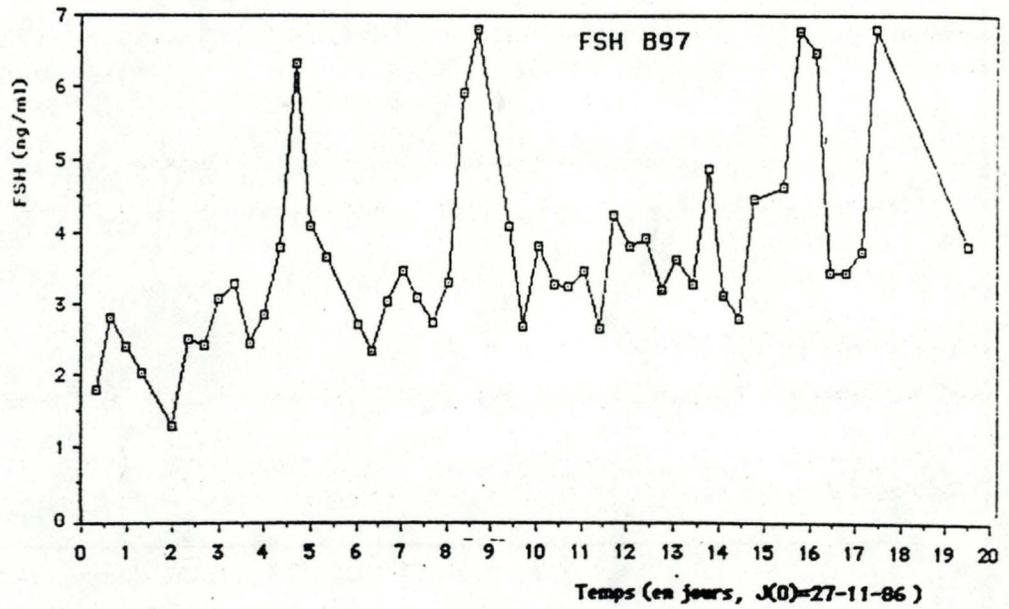
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Estradiol et Progestérone pour la brebis n° 94



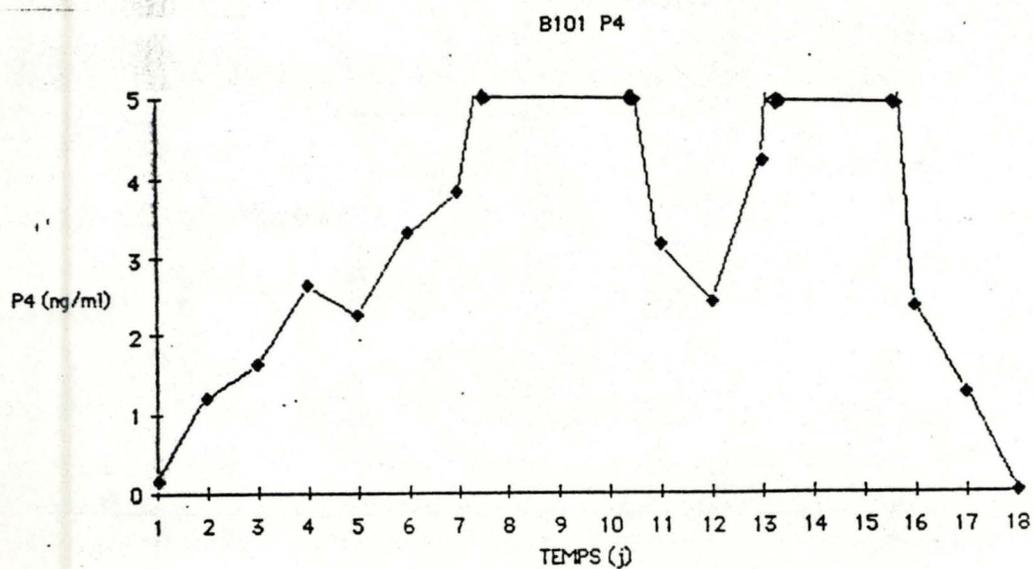
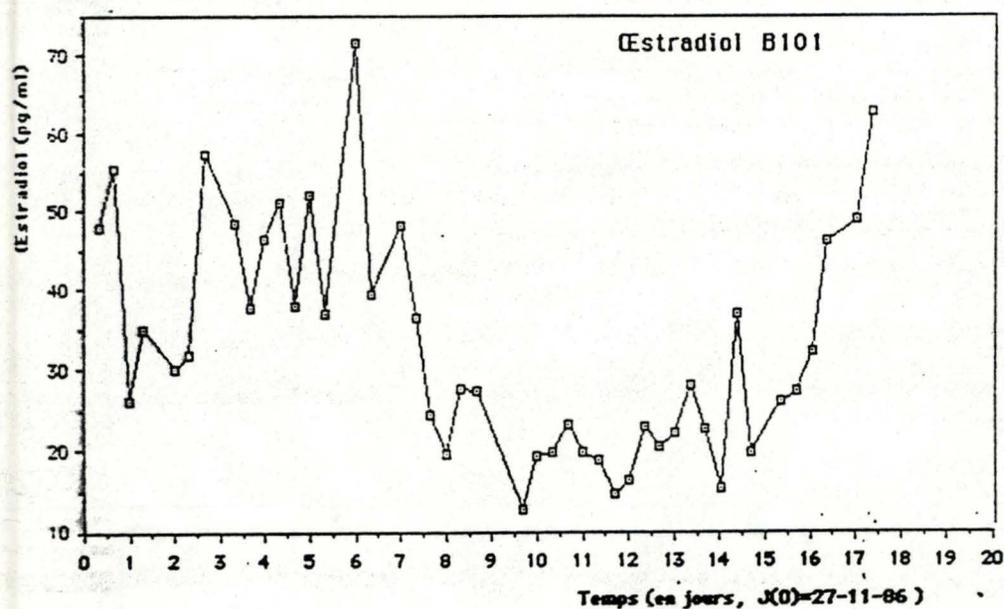
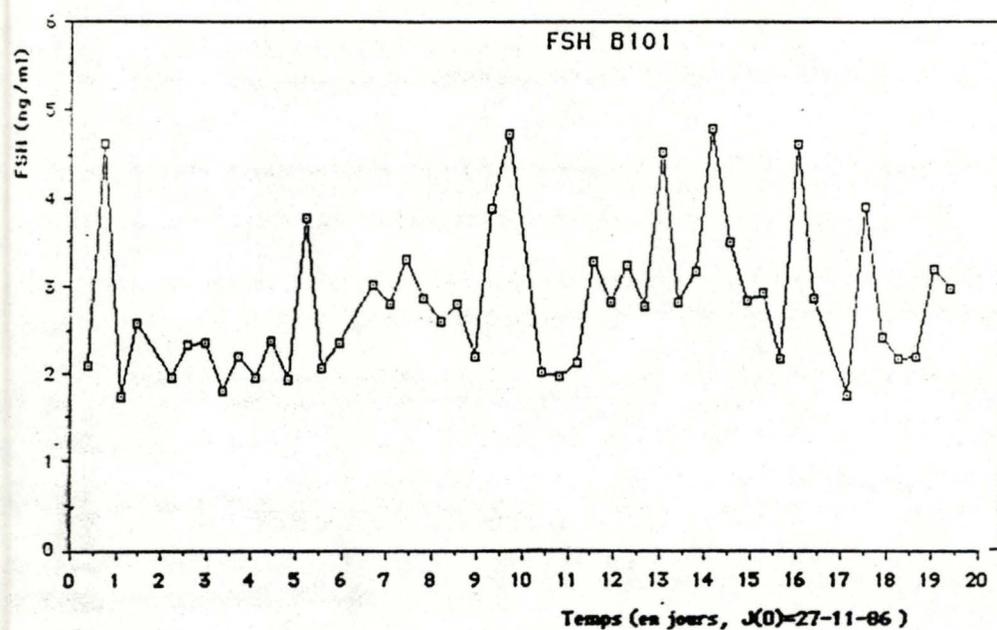
B94 P4



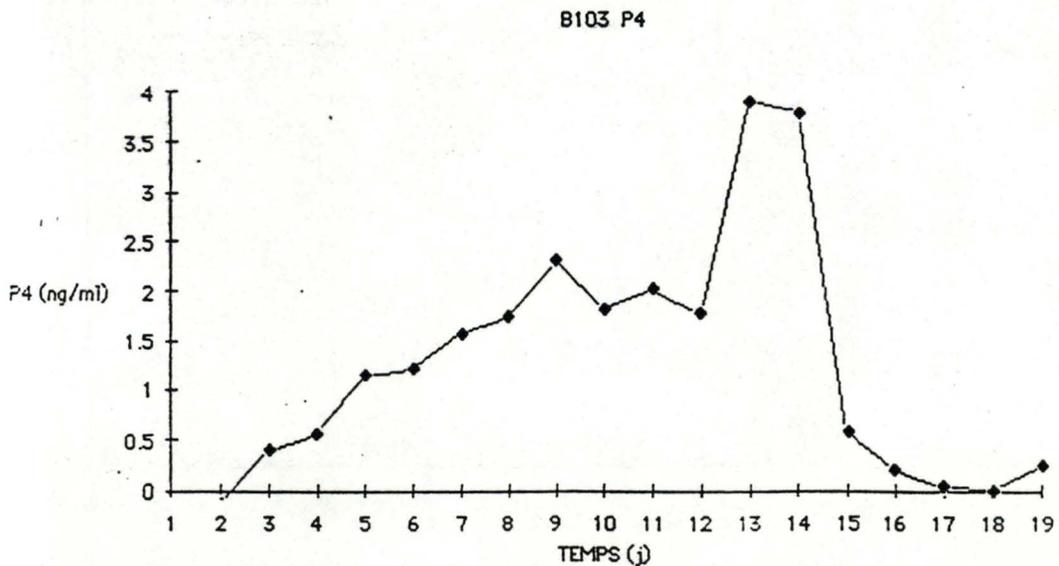
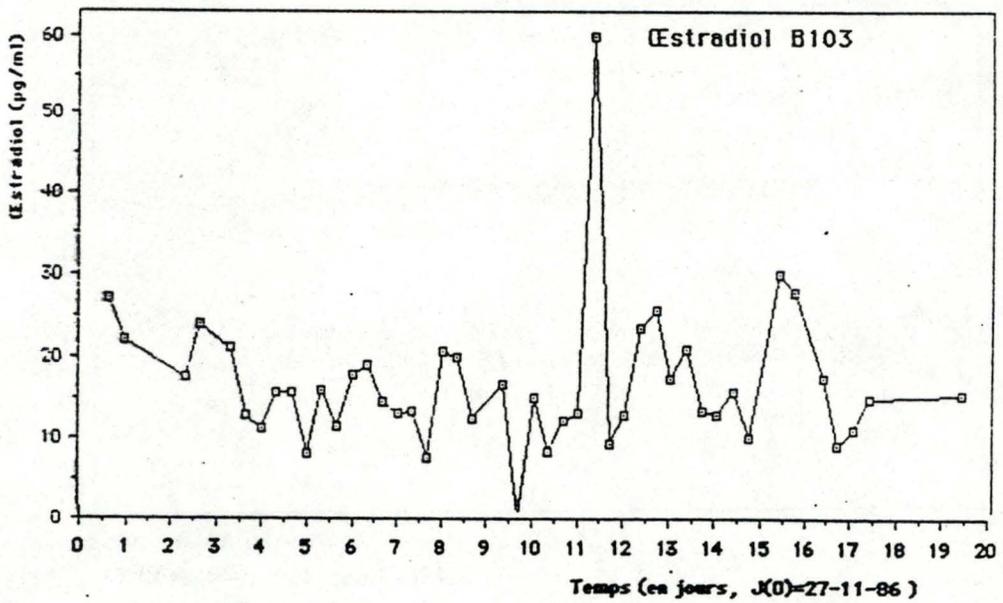
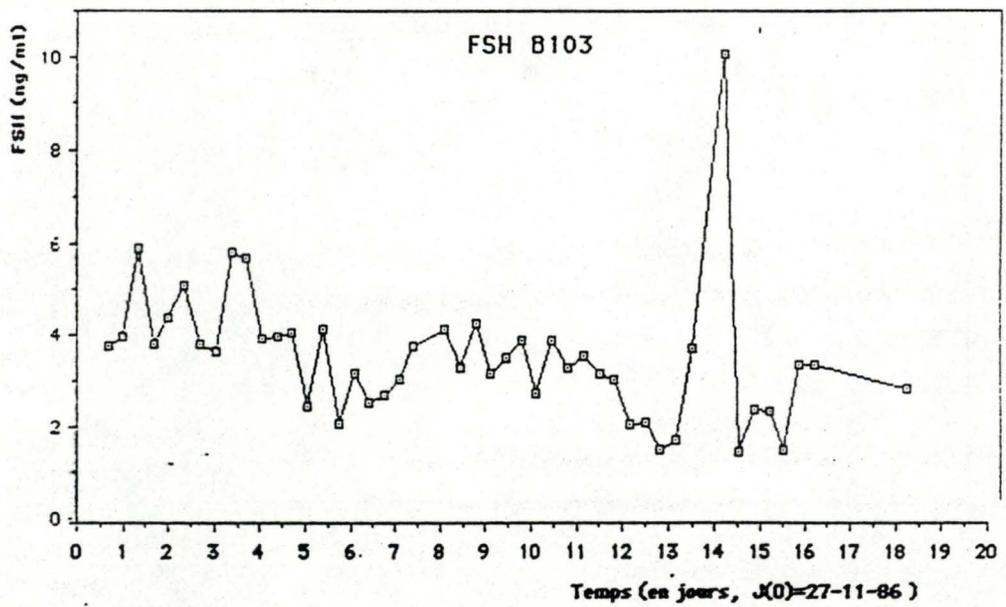
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH, Oestradiol et Progestérone pour la brebis n° 97



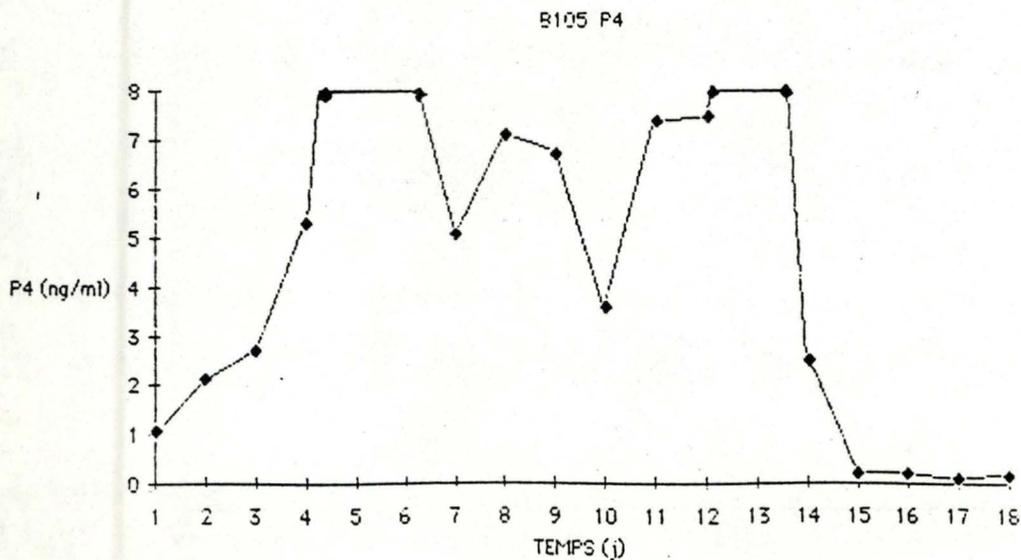
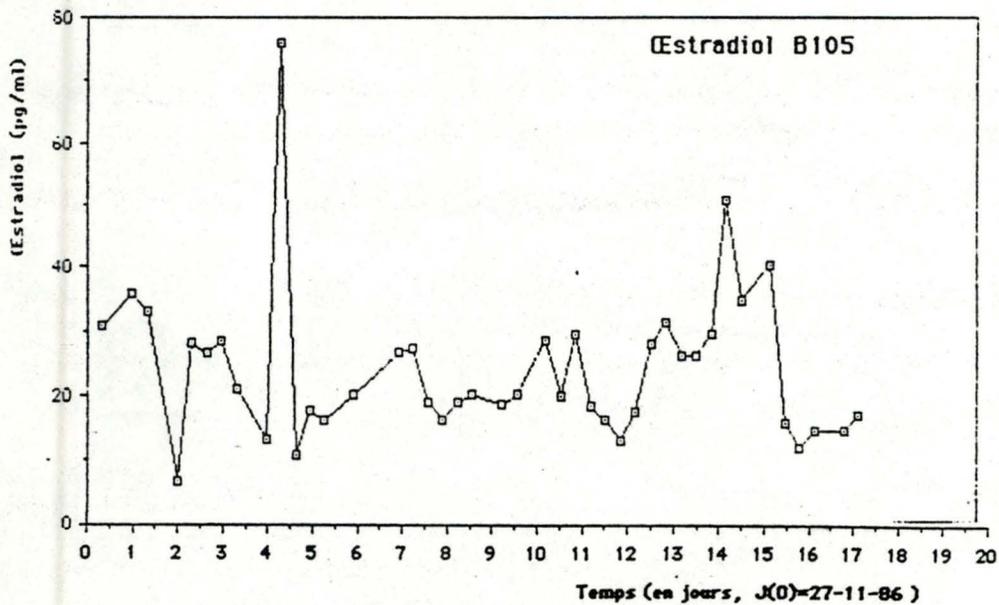
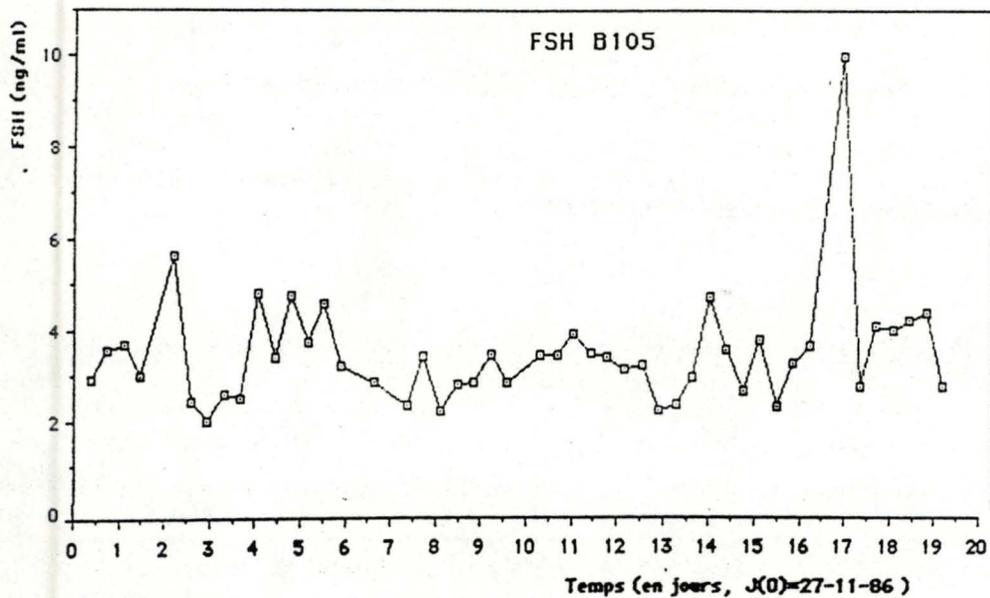
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Œstradiol et Progesterone pour la brebis n° 101



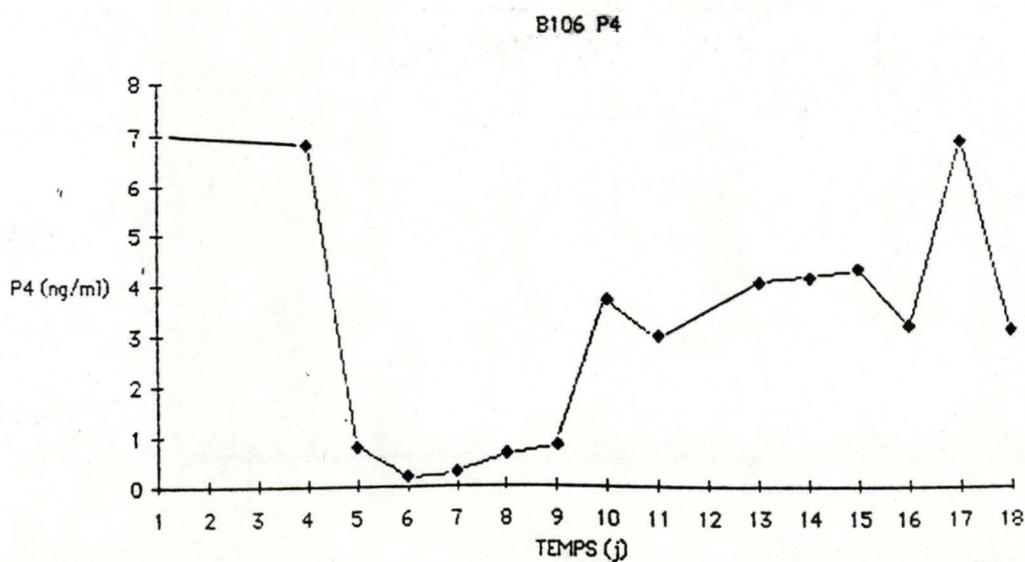
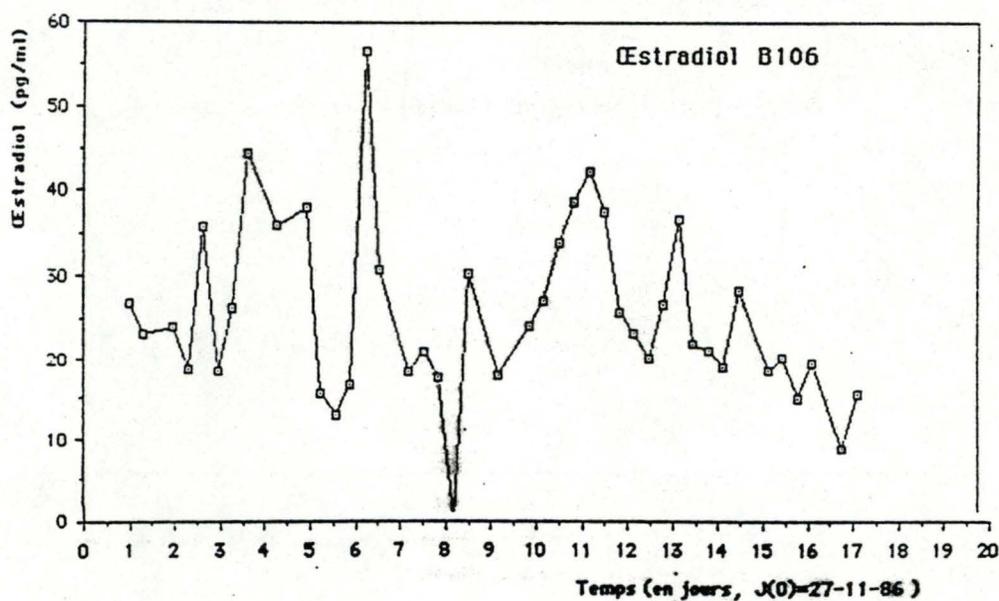
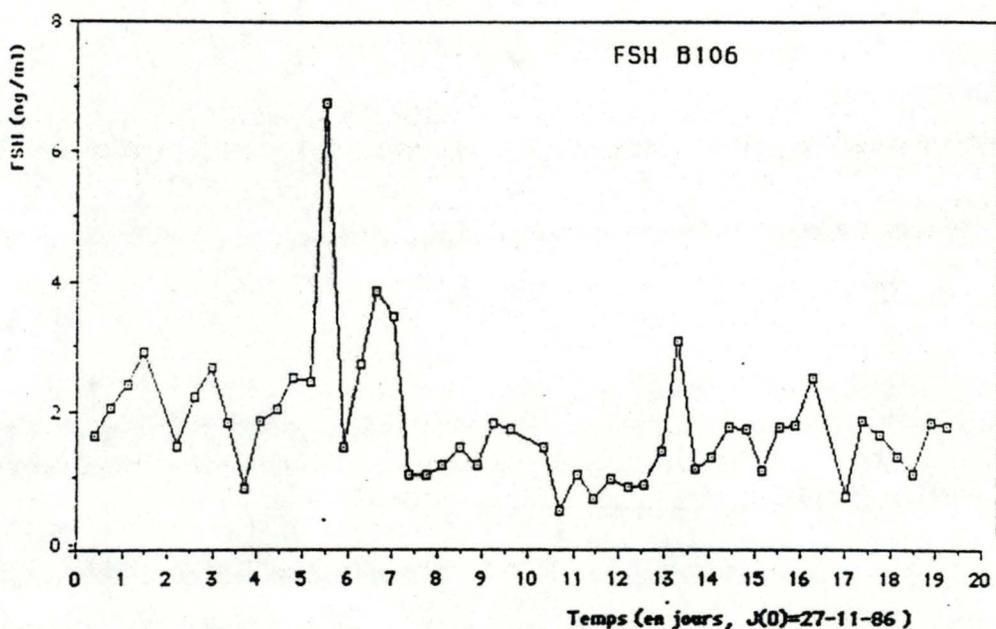
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progestérone pour la brebis n° 103



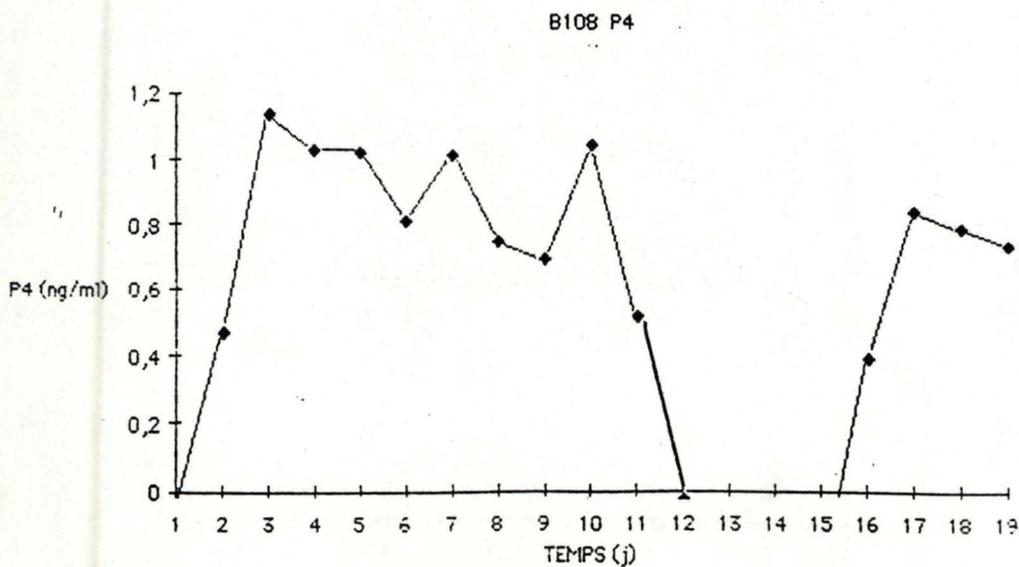
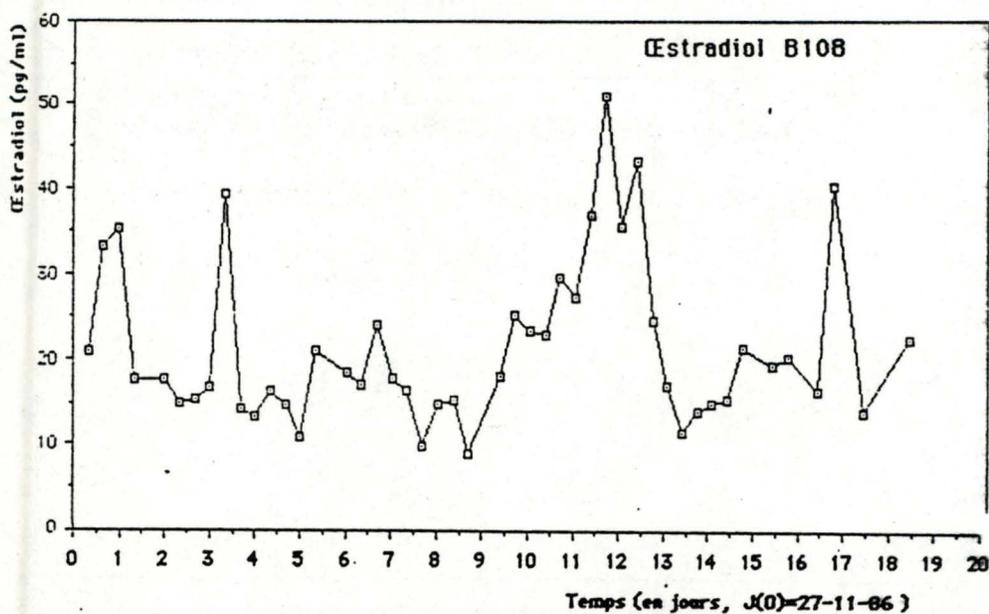
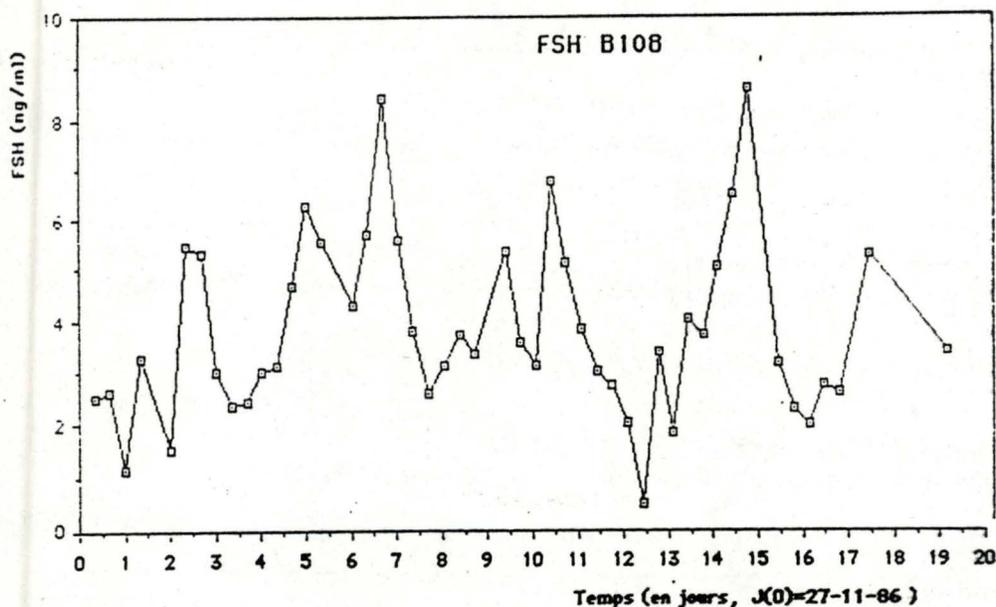
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 105



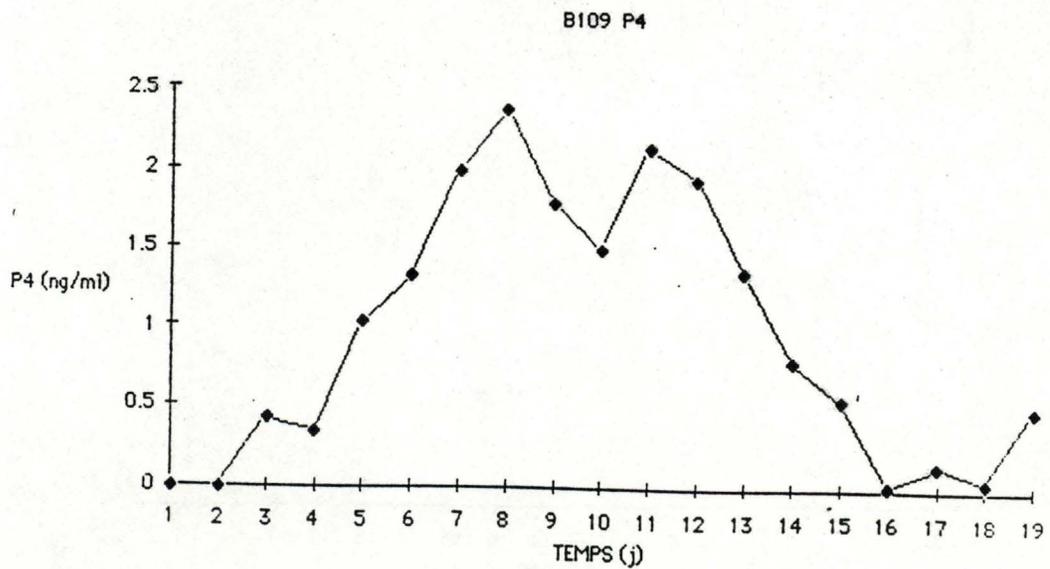
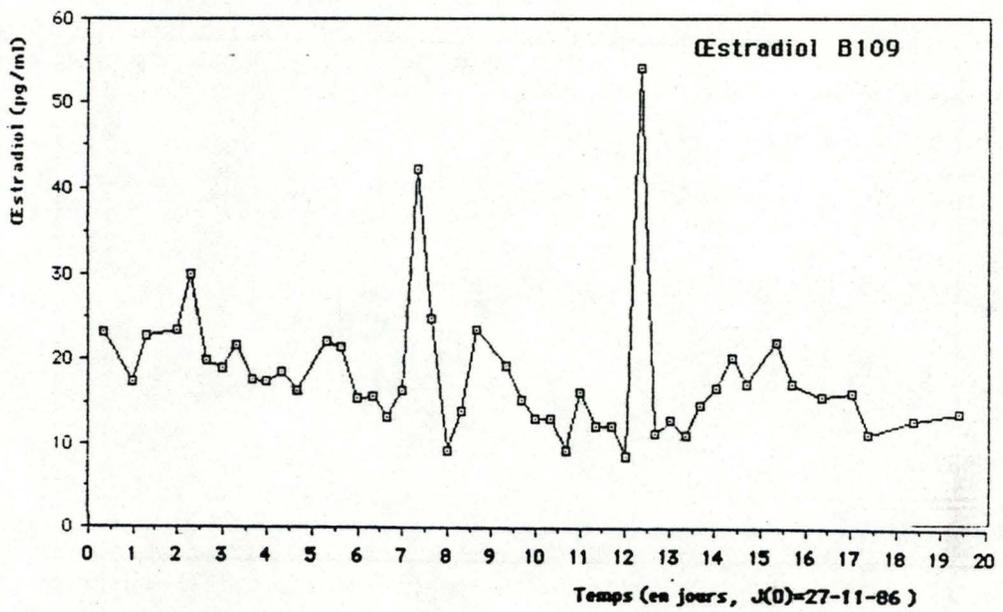
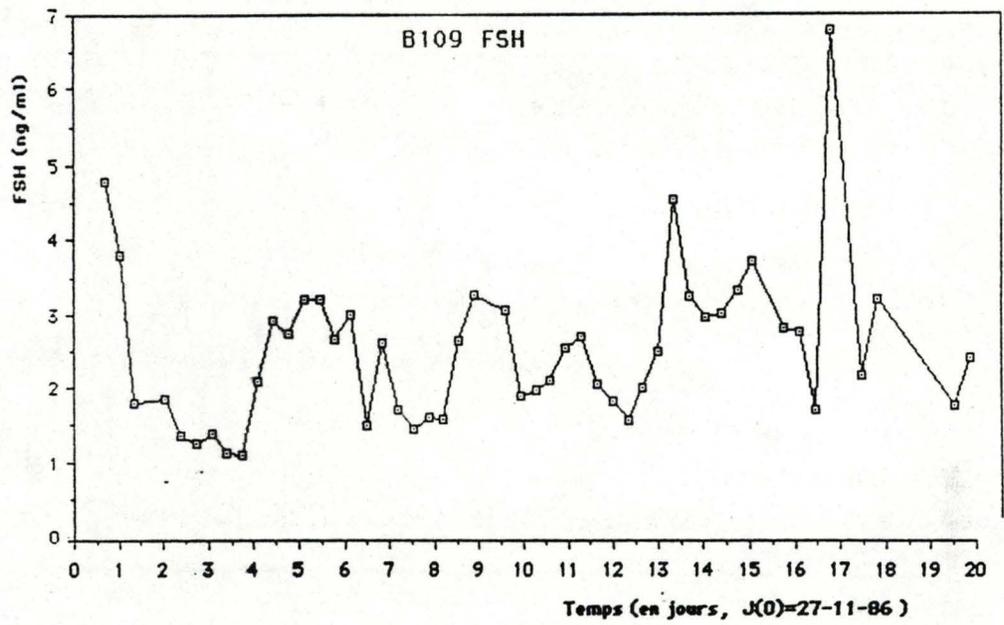
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH.
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 106



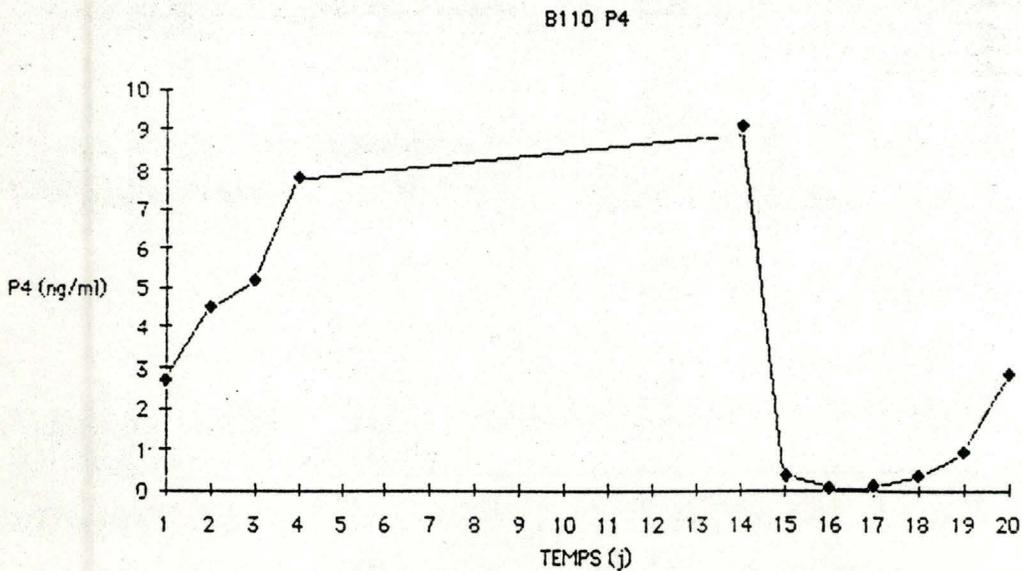
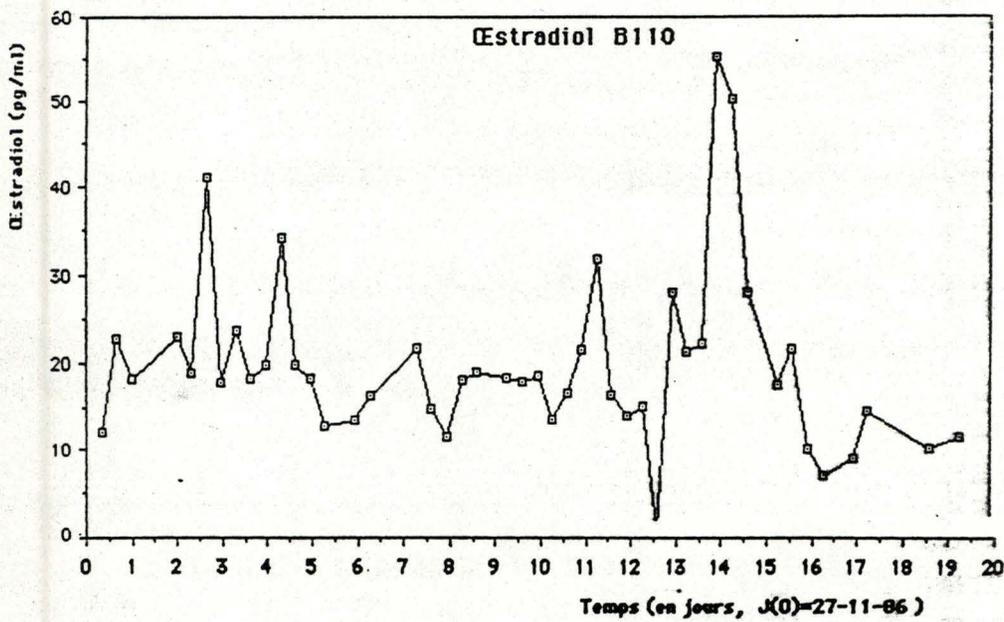
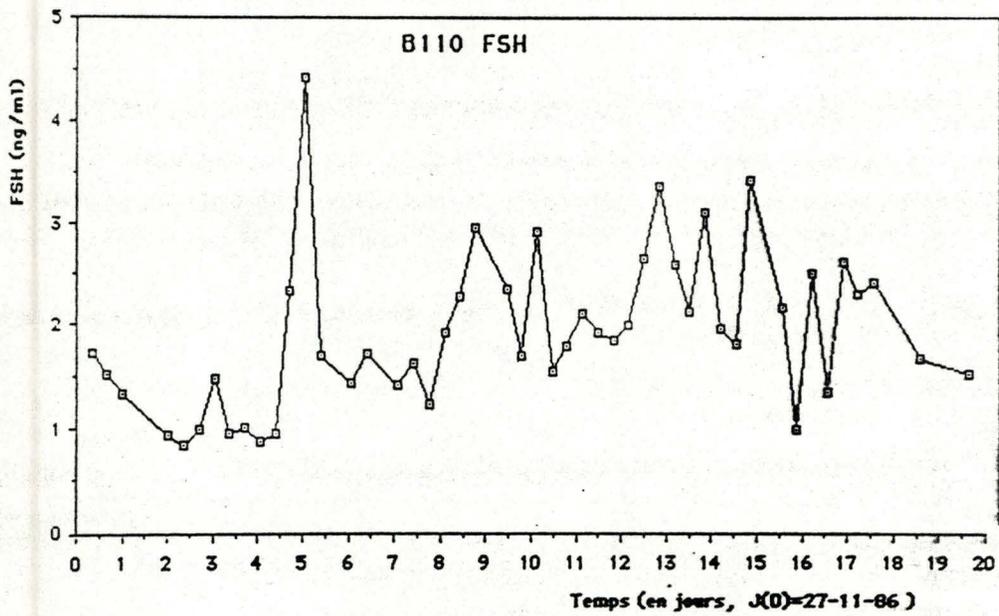
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 108



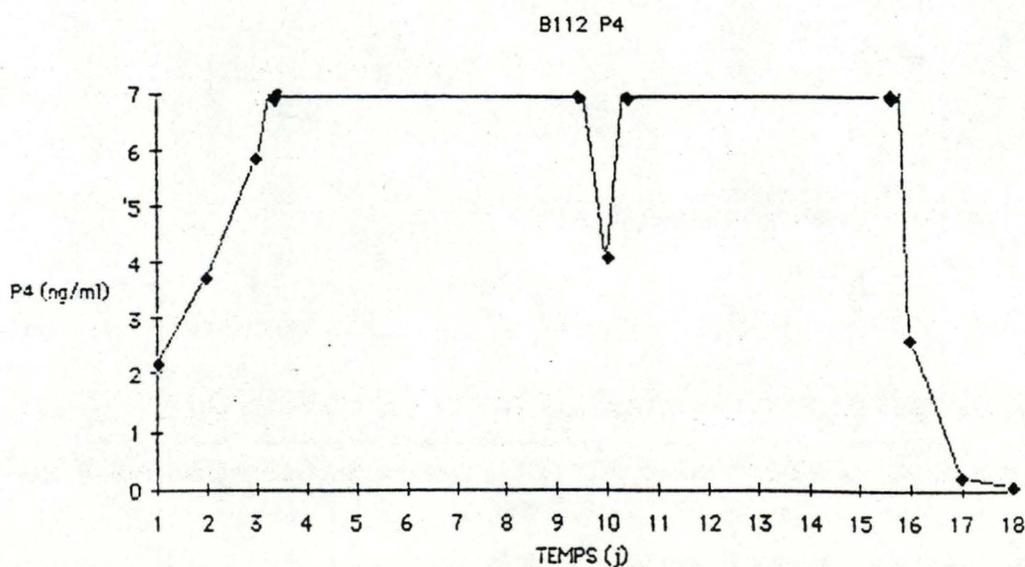
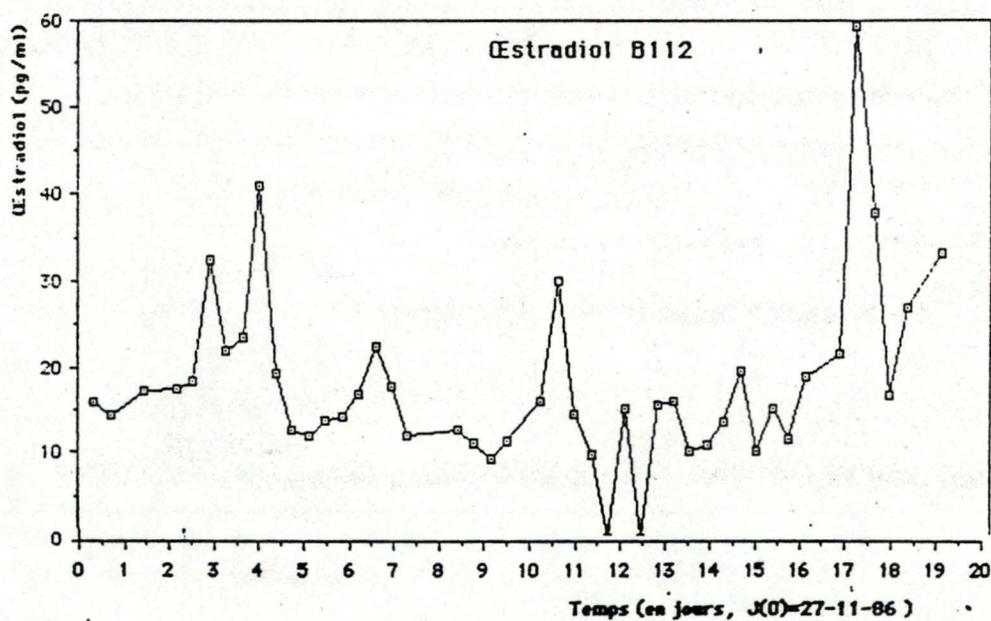
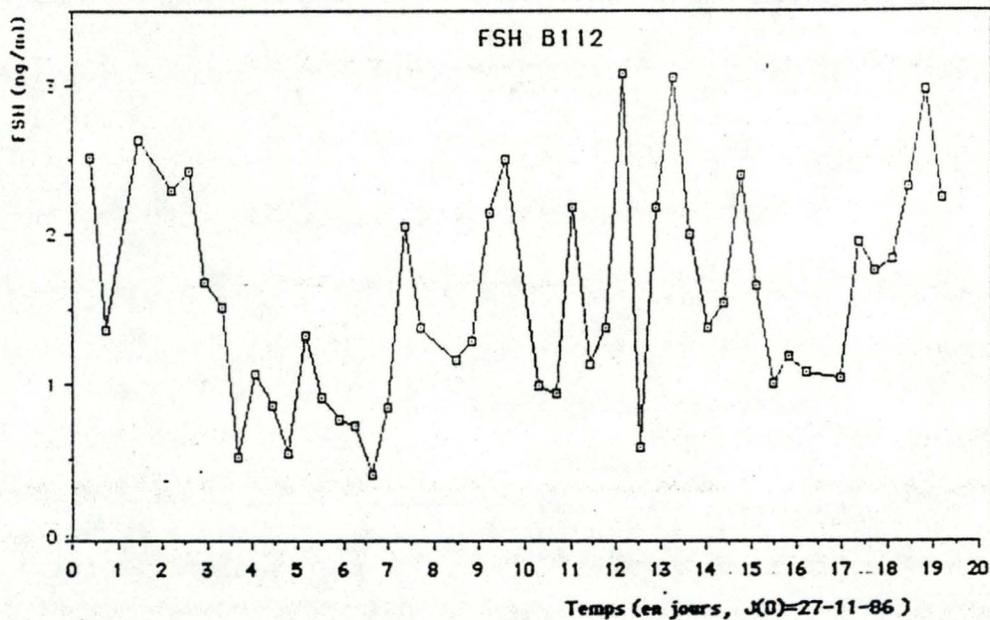
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Estradiol et Progesterone pour la brebis n° 109



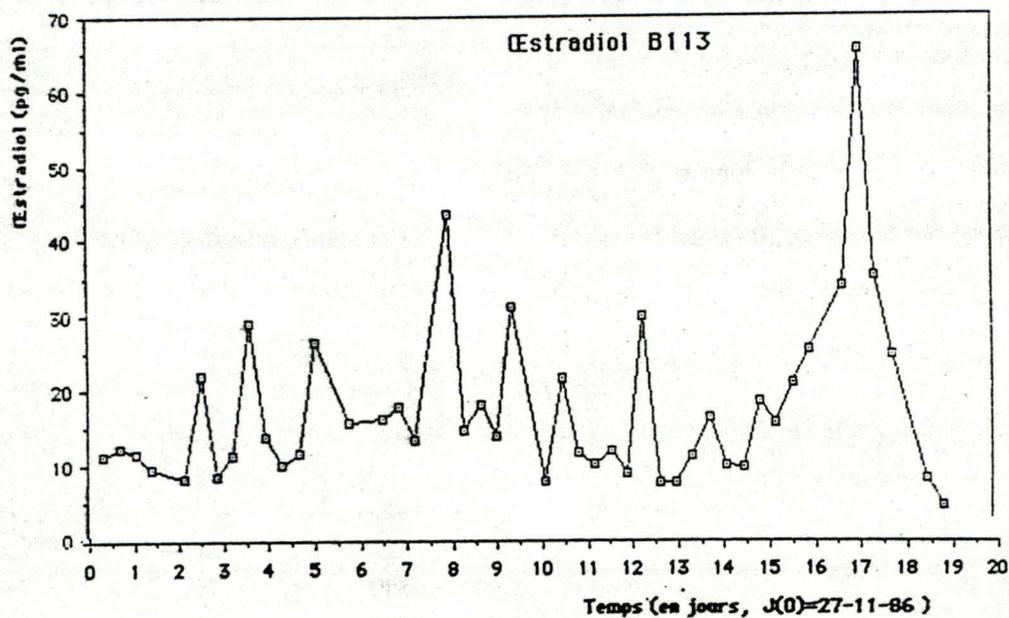
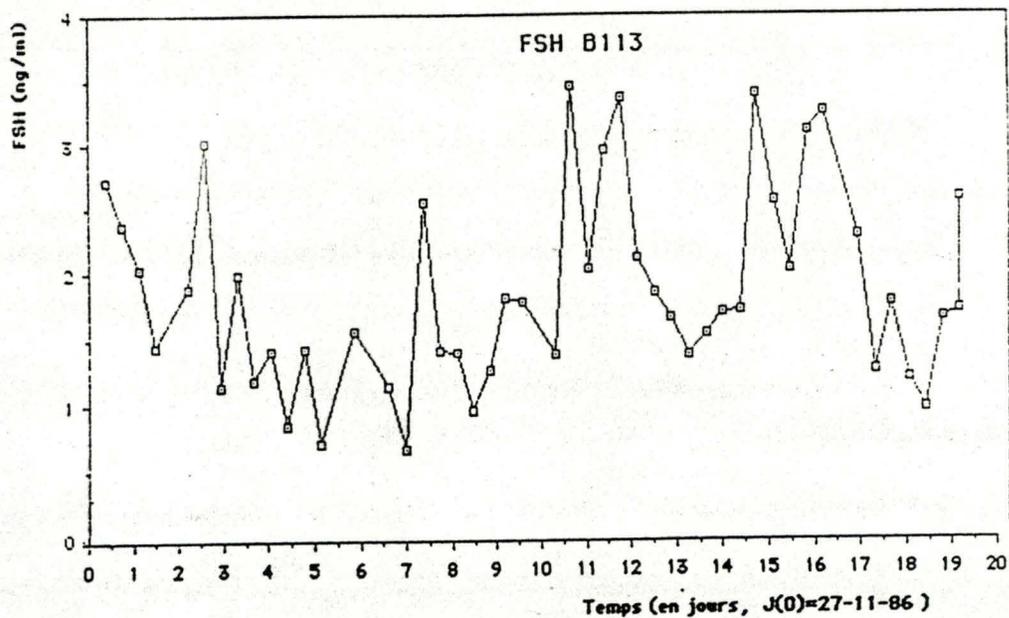
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 110



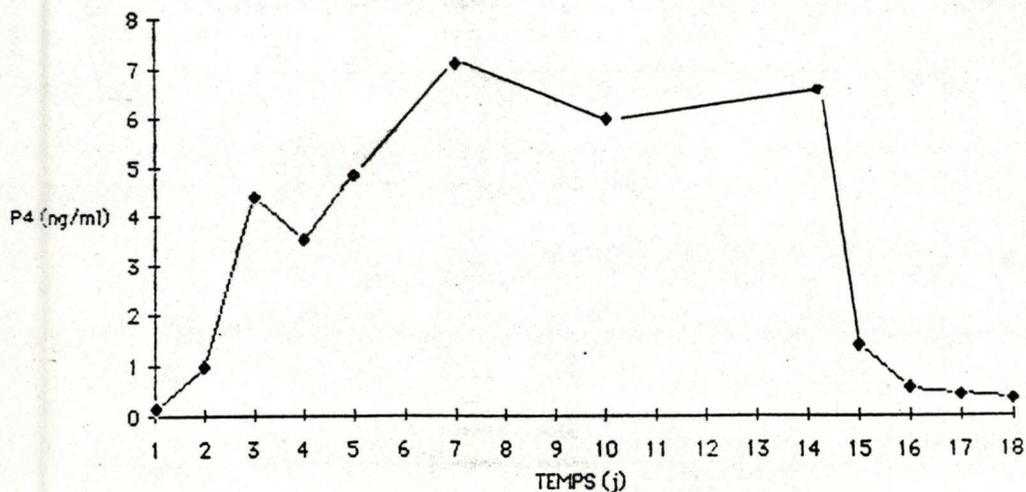
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 112



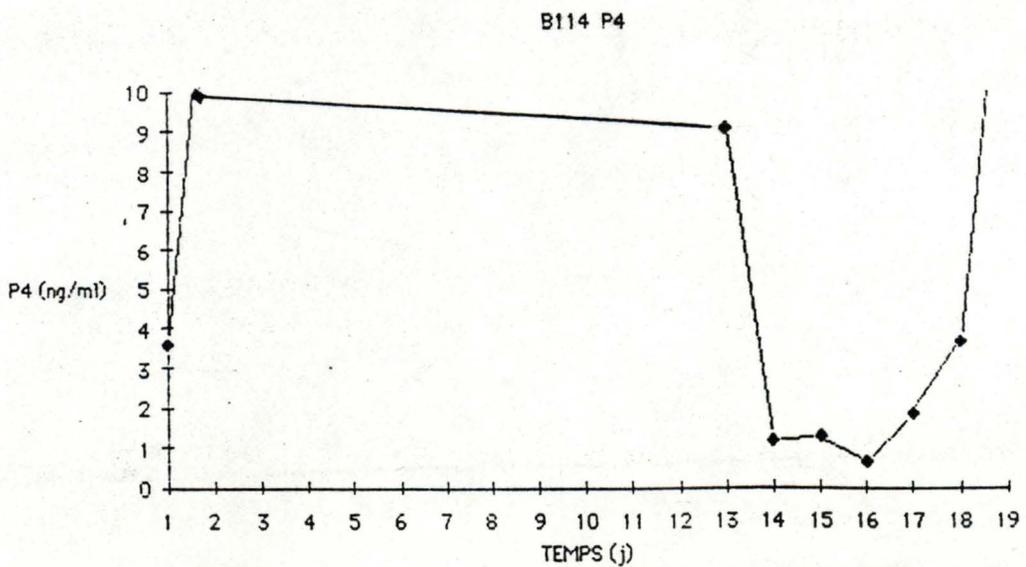
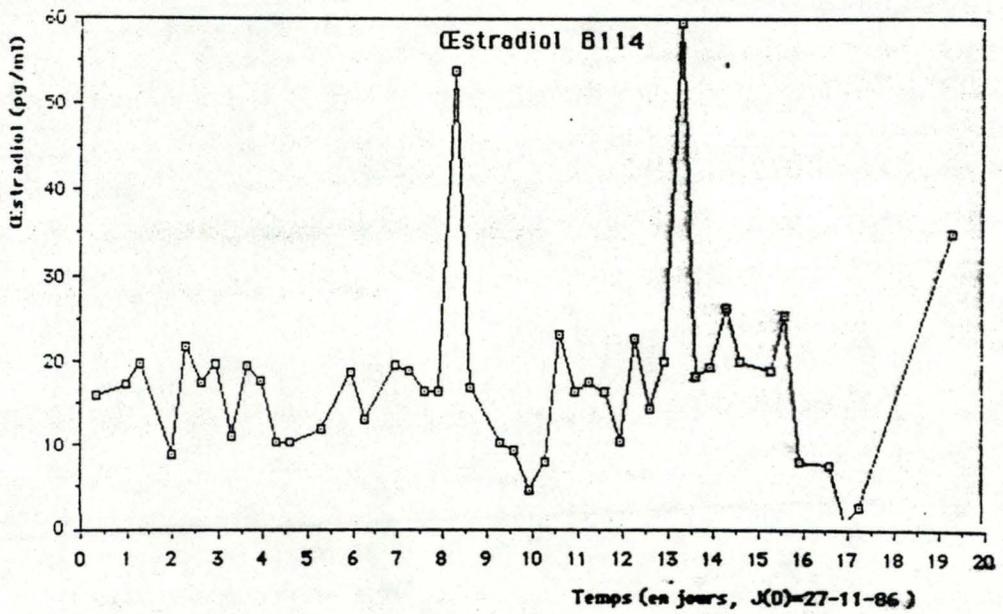
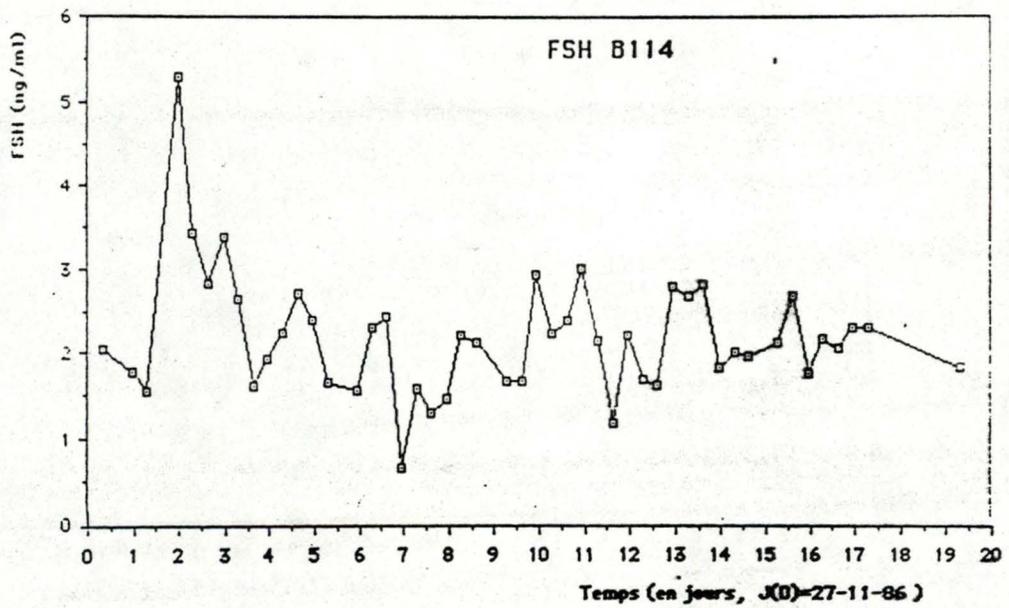
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Œstradiol et Progesterone pour la brebis n° 113



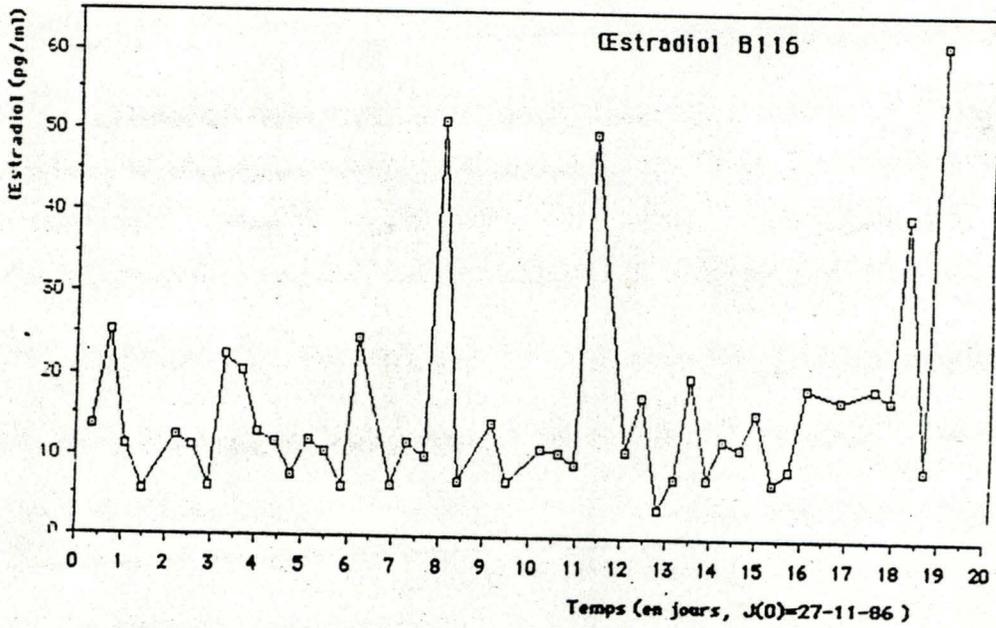
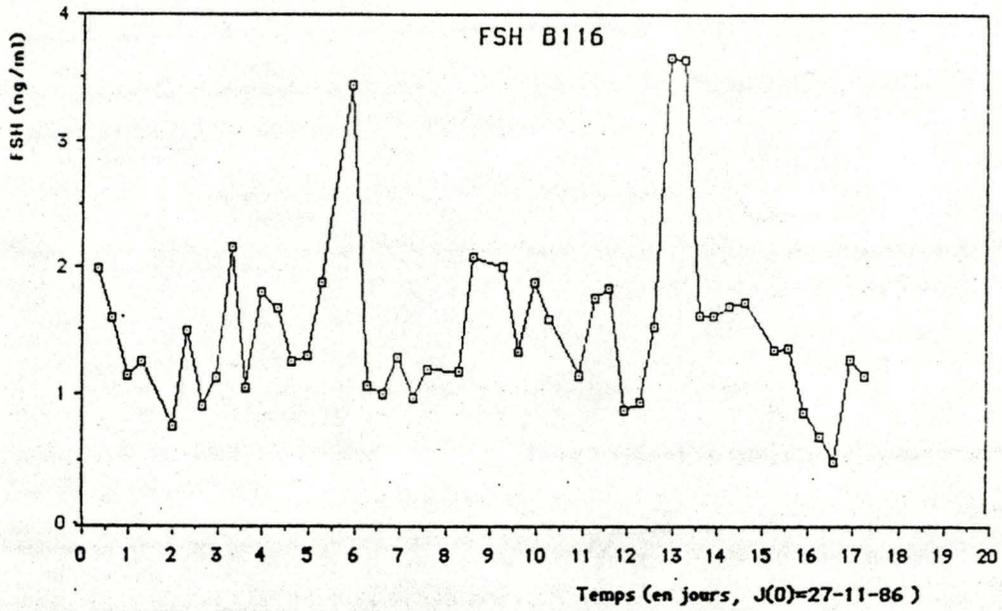
B113 P4



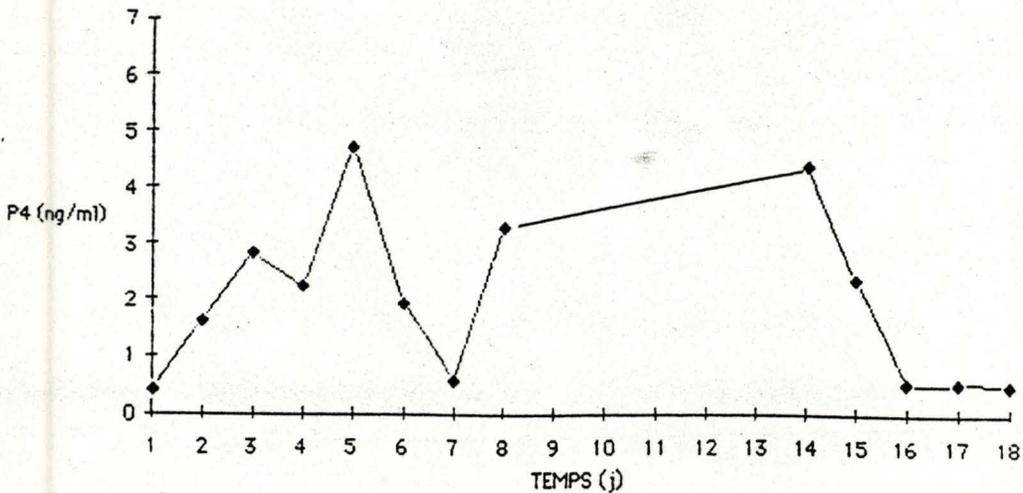
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Estradiol et Progesterone pour la brebis n° 114



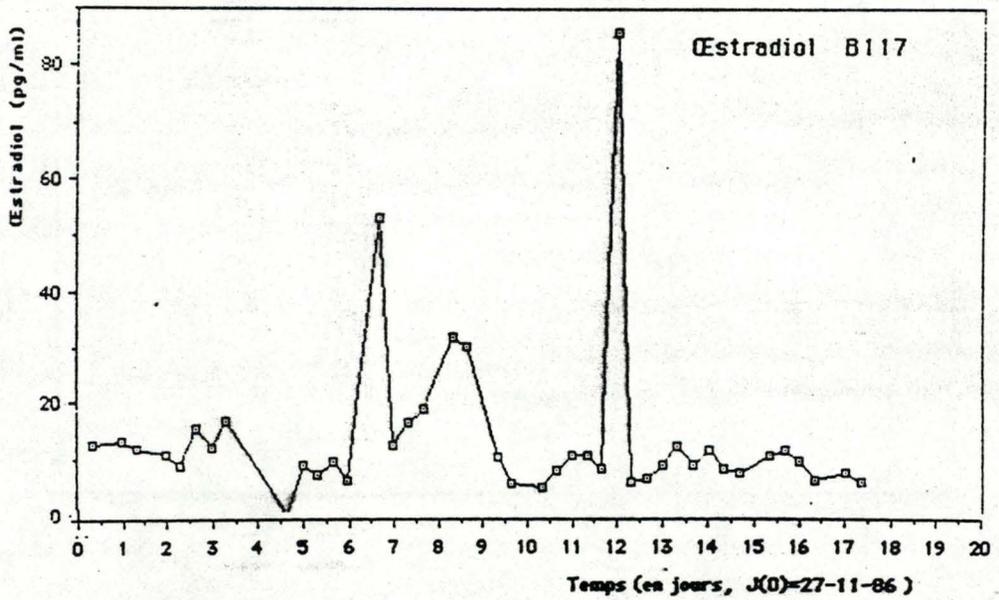
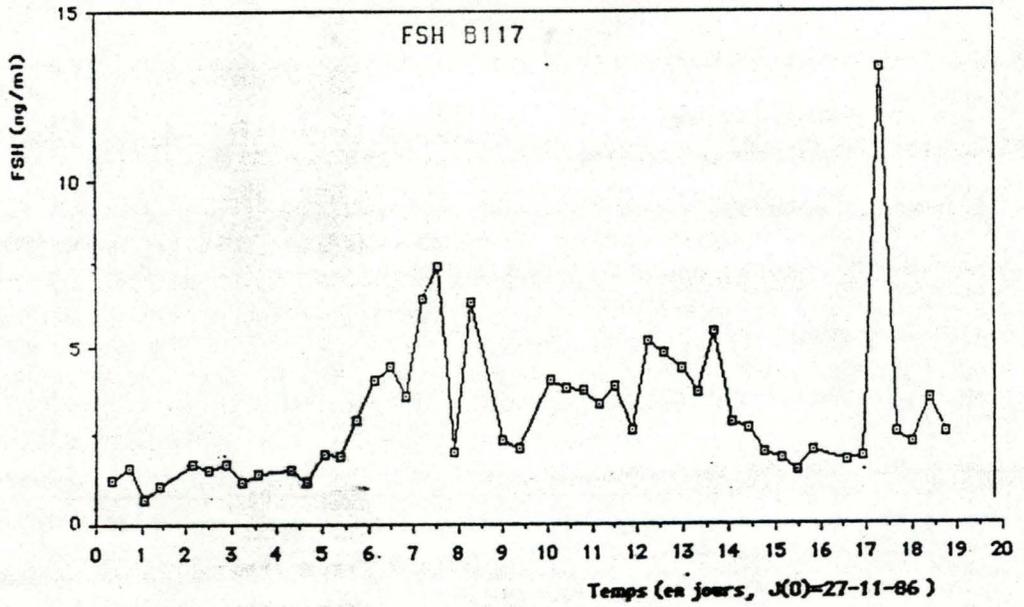
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH.
Estradiol et Progesterone pour la brebis n° 116



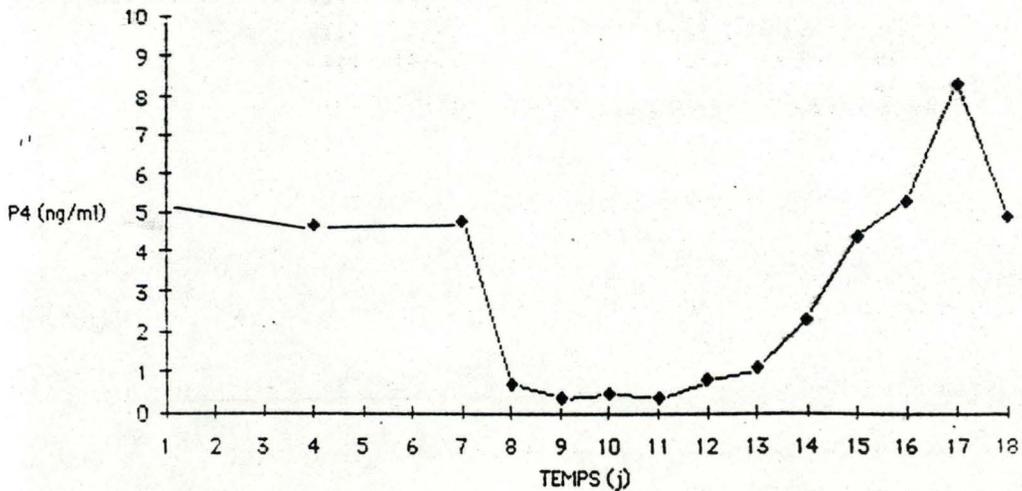
B116 P4



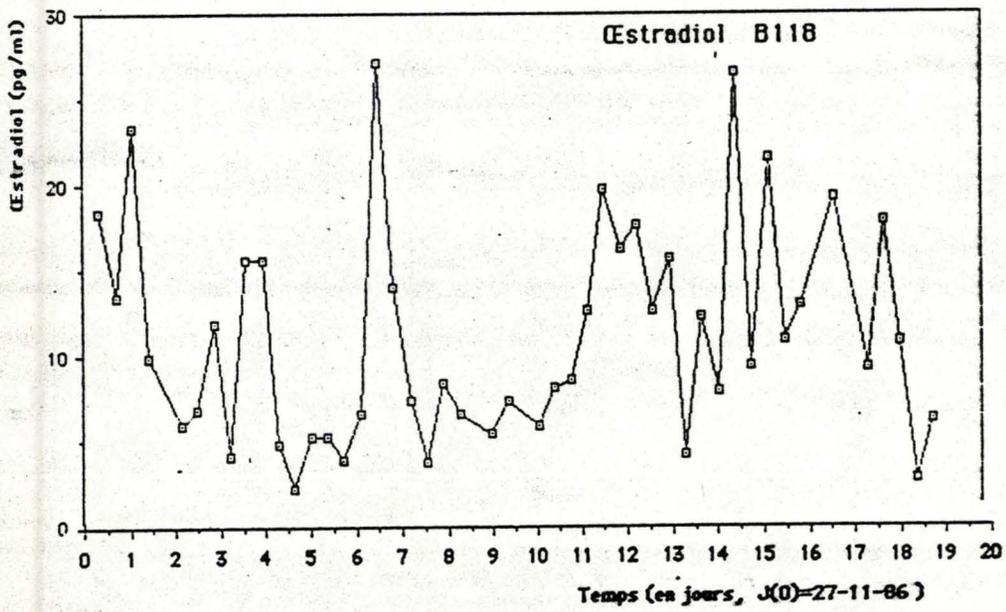
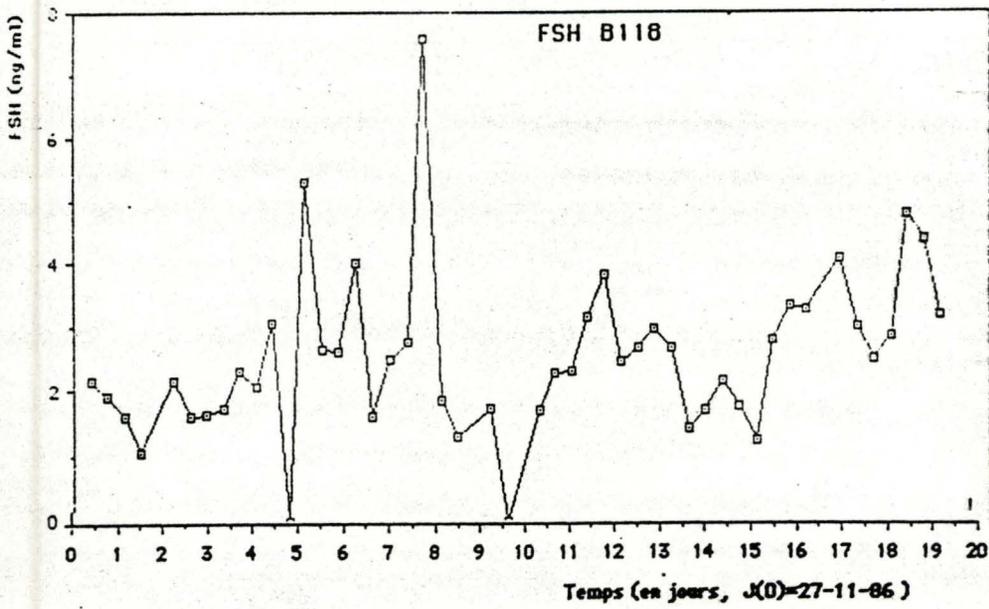
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Estradiol et Progesterone pour la brebis n° 117



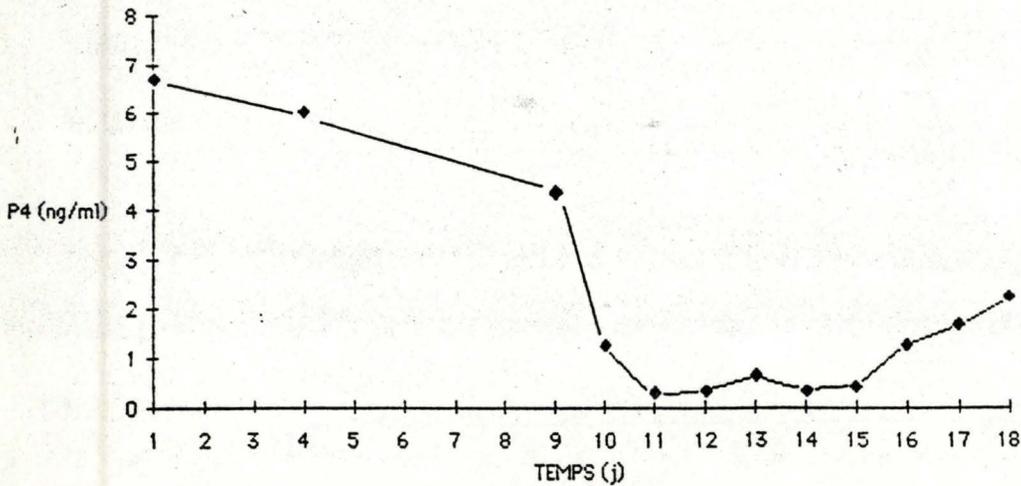
B117 P4



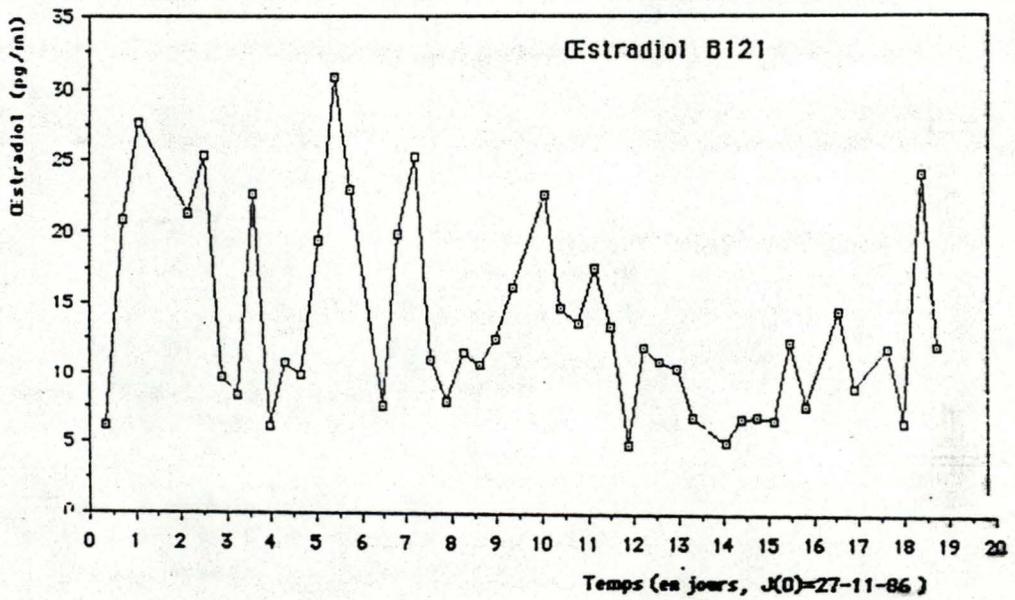
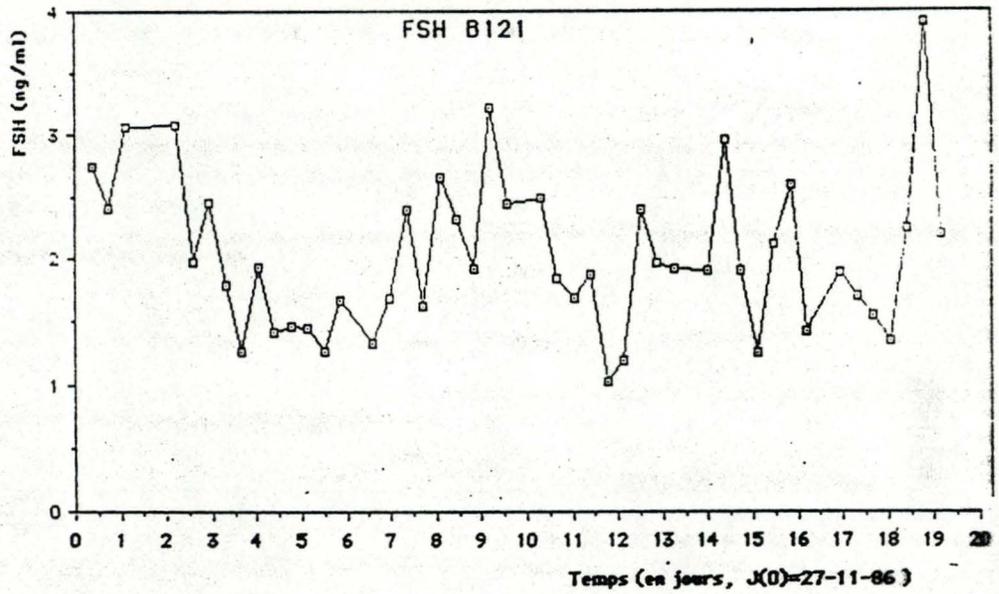
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 118



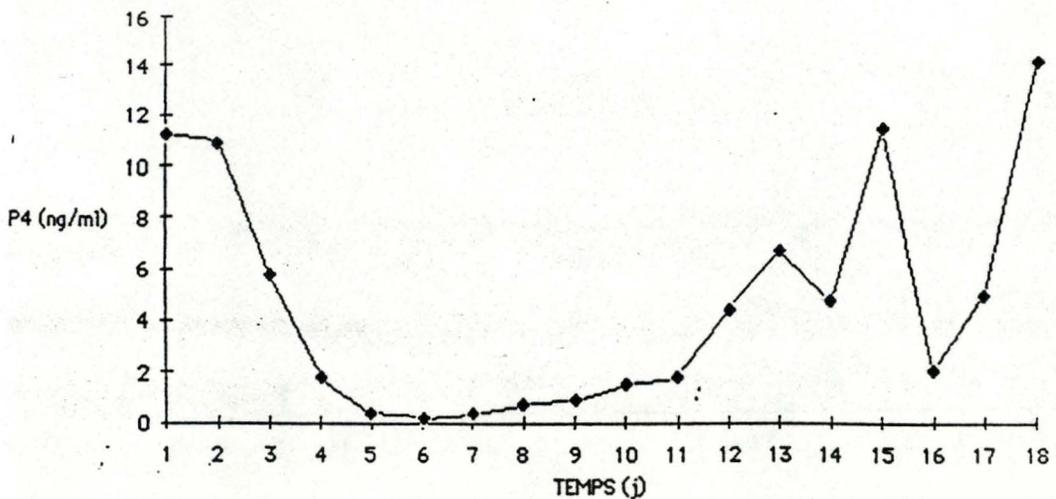
B118 P4



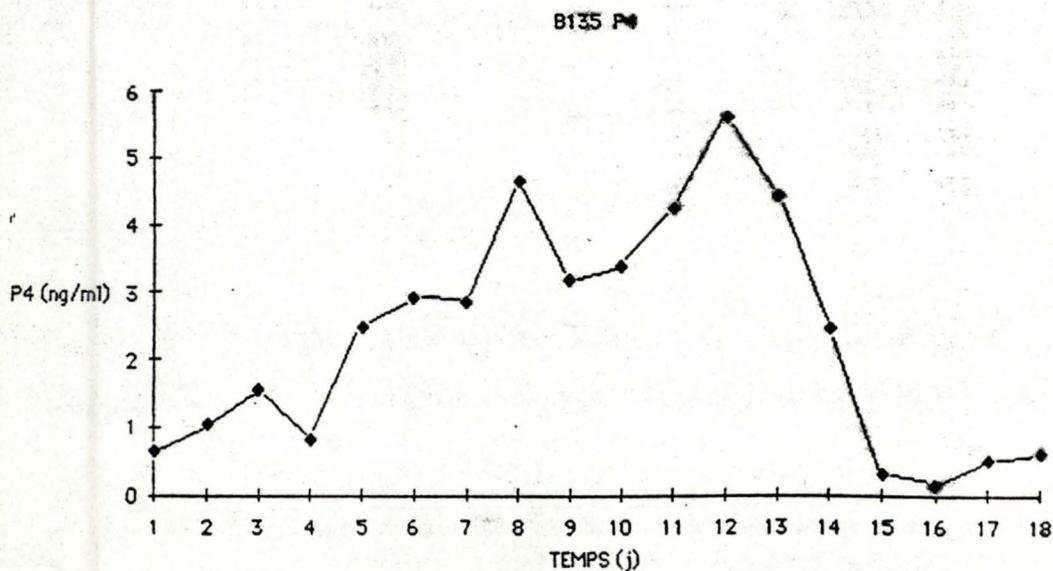
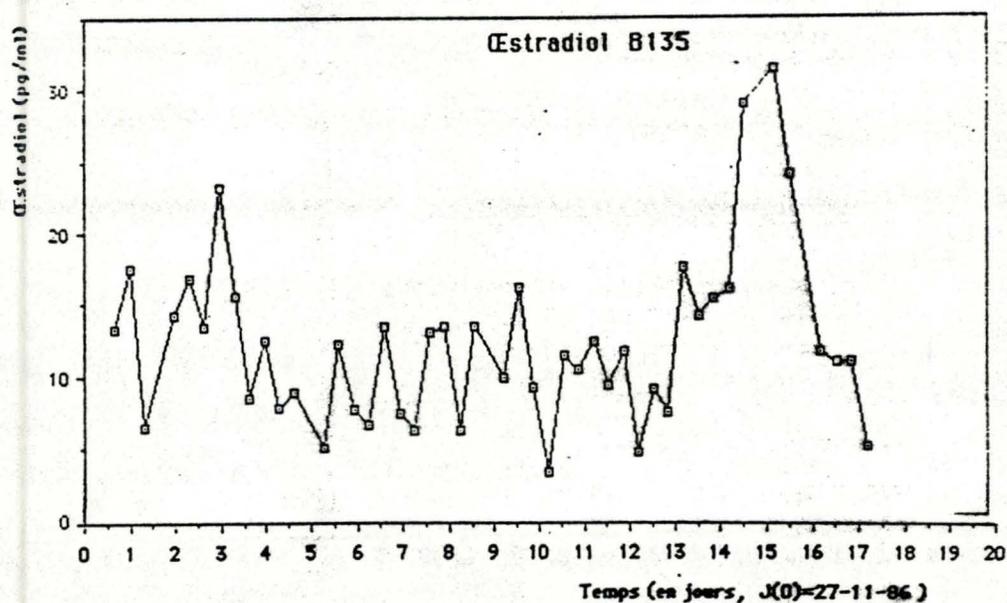
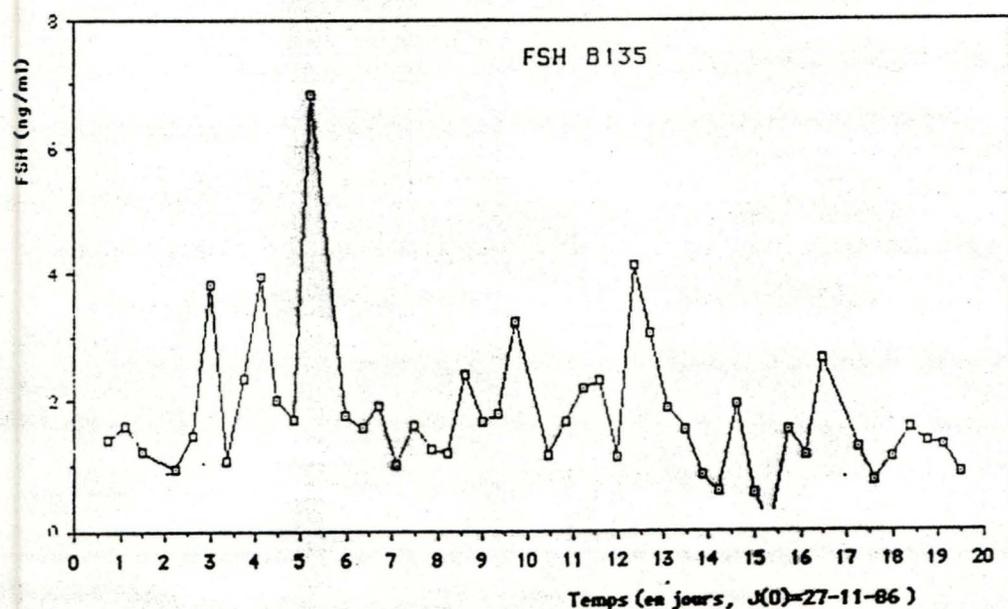
Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progestérone pour la brebis n° 121



B121 P4



Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH.
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 135



Variations au cours du cycle des taux plasmatiques de FSH,
Oestradiol et Progesterone pour la brebis n° 138

