



L'ovocyte : avancées fondamentales et thérapeutiques

Rôle des gonadotrophines du follicule préantral au préovulatoire

D'après la communication de D. Baird

Center of Reproductive Biology. Edimburg, Royaume-Uni.

RÉSUMÉ

La plupart des recherches concernant la physiologie ovarienne se sont focalisées sur les stades ultimes du développement folliculaire, et actuellement, nos connaissances concernant le follicule antral et les mécanismes de régulation de son développement sont très importantes, en particulier en ce qui concerne les systèmes paracrine, endocrine et autocrine. À l'opposé, nos connaissances concernant les stades précoces du développement folliculaire sont plus limitées, tout particulièrement en ce qui concerne les espèces mono-ovulantes comme les grands ruminants et l'homme chez qui la maturation folliculaire complète dure plusieurs mois depuis l'initiation jusqu'au stade antral. Cette communication résume les données récentes concernant les facteurs de régulation du recrutement initial et du développement des follicules depuis les follicules primordiaux jusqu'au stade de follicule préovulatoire.

Mots-clés : FTH • Follicule • LH.

SUMMARY: Role of FSH and LH in follicle development

Much of the research into the physiology of the ovary has concentrated on the terminal stages of follicle development, and as a result, our knowledge of the endocrine, paracrine, and autocrine mechanisms regulating antral follicle development is extensive. In contrast, our knowledge of the factors controlling the initiation and development of earlier follicles is limited, particularly in monovular species such as large domestic ruminants and humans in whom it takes several months for follicles to progress from initiation to the antral stage.

This study summarizes recent data concerning the factors controlling the initiation and development of follicles from the primordial through the preovulatory stage of development.

Key words: FSH • Follicle • LH.

■ INTRODUCTION

Cette communication se focalisera sur les mécanismes permettant une mono-ovulation dans notre espèce. En effet, dans notre espèce, il est particulièrement important, voire même crucial, d'avoir un seul enfant à porter à la fois, même si les grossesses gémellaires ne se terminent pas toutes prématurément. Ainsi, toute la folliculogénèse est organisée pour qu'il y ait le moins de naissances multiples possibles.

■ STOCK OVOCYTAIRE : NOTIONS CLASSIQUES ET NOUVELLES THÉORIES

Traditionnellement, on pense que tous les ovocytes sont produits au cours de la vie fœtale et leur nombre ne fait que diminuer au cours de la vie fœtale (dès le troisième trimestre) et adulte. Les groupes d'ovocytes

primordiaux vont ainsi rester dans l'ovaire pendant au maximum 50 années, date à laquelle survient la ménopause quand il n'y a plus de follicules primordiaux.

L'année dernière, l'équipe de Jonathan Tilly a publié un article dans la revue *Nature*, dans lequel ils disaient qu'il y avait des cellules souches dans l'ovaire postnatal de la souris [1].

Cette publication est actuellement très controversée, même si plusieurs experts s'accordent à penser que l'ovaire, comme de nombreux organes, pourrait contenir des cellules souches qui, sous certaines conditions, donneraient des ovocytes primordiaux.

■ FOLLICULOGENÈSE

Le processus de recrutement ovocytaire se produit chaque jour de la naissance à la ménopause. Une fois

qu'un follicule primaire a débuté son développement, il ne peut plus s'arrêter : soit le follicule mature complètement jusqu'à l'ovulation, soit il s'atrophie. Le processus complet peut être divisé en 2 étapes : les 3 premiers mois, ce développement est sous contrôle paracrine, et se produit en l'absence de gonadotrophines, et les 90 derniers jours, les follicules deviennent sensibles, puis dépendants de l'action des gonadotrophines.

La plupart des données actuelles concernant la folliculogénèse sont issues de modèles murins. Il convient d'être prudent lors de l'extrapolation de ces résultats à l'espèce humaine, car on sait très bien qu'il peut exister des différences importantes sur le plan physiologique entre les différents mammifères. Par exemple, la durée de la folliculogénèse est beaucoup plus courte chez la souris.

Ce phénomène de recrutement primaire est continu, et son activité est inversement proportionnelle à la densité des follicules primordiaux : moins il y a de follicules primordiaux, plus le recrutement primaire est important [2]. C'est pour cette raison que ce phénomène de recrutement primaire est probablement sous la dépendance d'un facteur inhibiteur, plutôt que sous la dépendance d'un facteur stimulant [3, 4].

Le facteur d'inhibition le plus probable qui a émergé ces 30 dernières années est l'AMH (famille du TGF- β).

L'AMH (hormone anti-Müllérienne) est principalement produite par les cellules de Sertoli du testicule fœtal, et les cellules de la granulosa des petits follicules.

On a observé dans un modèle de souris « knock-out » (KO), que les souris dont le gène de l'AMH avait été invalidé avaient un recrutement accéléré des follicules primordiaux. L'AMH est aussi capable

d'inhiber le recrutement des follicules primordiaux chez la souris [5-7].

Ainsi, cela expliquerait qu'au fur et à mesure que les follicules disparaissent, la production d'AMH décline, ce qui lève petit à petit l'inhibition du recrutement primaire.

■ DÉVELOPPEMENT DES FOLLICULES PRÉANTRAUX

Les follicules préantraux sont indépendants des gonadotrophines, mais leur développement peut être régulé par diverses hormones et facteurs paracrines (AMH et activine en particulier).

L'activine, produite par les cellules de la granulosa, est un autre membre de la famille du TGF- β qui inhibe la croissance FSH dépendante des petits follicules (100-150 μ m).

Elle inhibe aussi la production d'AMH et d'œstrogène qui sont elles aussi sous la dépendance de la FSH.

Une coculture avec de gros follicules préantraux montre qu'il existe une inhibition de la croissance FSH dépendante de ces follicules en présence d'activine. Ce processus est réversible par l'administration de follistatine [8].

Mizunuma *et al.* ont montré dans des cultures de petits follicules de souris que leur croissance était stimulée par la FSH et la GH, et que cette croissance en présence de FSH était inhibée en présence d'activine [8].

On peut tenter de synthétiser les mécanismes auto-critiques et paracrines impliqués dans le développement des petits follicules : la croissance des follicules primaires et préantraux est contrôlée par l'un des produits des follicules en développement (l'activine), de la même manière que l'AMH inhibe le recrutement des follicules primordiaux (*fig. 1*).

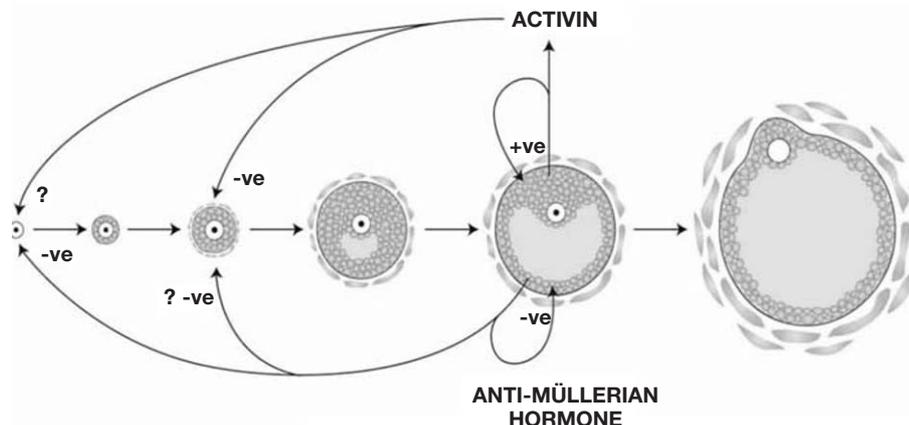


Figure 1 Facteurs paracrines et autocrines impliqués dans la folliculogénèse.

Classiquement, on a toujours pensé que le développement préantral des follicules était indépendant des gonadotrophines, car une hypophysectomie ne semble pas gêner ce recrutement primaire. Toutefois, des données récentes montrent que certains follicules préantraux sont sensibles à l'action des gonadotrophines.

Par exemple, le groupe de Hsueh a montré que si l'on pratique une hypophysectomie ou si l'on donne un traitement antagoniste de la GnRH, on réduit le nombre de follicules en développement et on accroît le pourcentage de follicules en atresie [9].

De plus, on sait qu'il existe des récepteurs à la LH et à la FSH sur les petits follicules préantraux (follicules primaires).

Enfin, Oktay a montré que l'apport de FSH accélère le développement des follicules préantraux humains greffés sur des souris SCID [10].

FORMATION ET DÉVELOPPEMENT DES FOLLICULES ANTRAUX

Il est indiscutable que la formation et la croissance des follicules antraux nécessite de la FSH. Les follicules deviennent de plus en plus sensibles et finissent par devenir dépendants de la FSH. À cette étape du développement, l'atresie est très fréquente, car il existe des fluctuations importantes dans la sécrétion de la FSH.

RECRUTEMENT SECONDAIRE ET SÉLECTION DU FOLLICULE OVULATOIRE

C'est lors de cette phase que le nombre de follicules qui parviendront à maturité sera décidé.

La plupart des auteurs pensent que les follicules qui vont devenir un follicule ovulatoire sont recrutés à un moment situé entre la régression lutéale et le 3^e jour du cycle ; cette période est définie comme étant la « fenêtre de recrutement » (fig. 2).

Le recrutement du follicule ovulatoire a lieu à ce moment précis, car il peut alors bénéficier de l'élévation intercyclique de FSH. Ensuite, ce follicule dominant croît et rend son environnement hormonal hostile au développement d'autres follicules.

La plupart des interventions que l'on tente de faire avec les antagonistes du GnRH ont lieu en fin de processus de sélection, quand celui-ci a déjà eu lieu, et les follicules qui arrivent ultérieurement sont déjà compromis quand on essaye de les « sauver » [11].

Il est peu probable qu'il existe une cohorte de follicules parfaitement synchronisés. Ils sortent du pool primaire au hasard et ils arrivent à différentes étapes du développement. Ceux qui viennent trop tôt ou trop tard ne pourront pas profiter de cette croissance intercyclique en FSH et sont voués à l'atresie.

Le follicule qui sera le follicule dominant survit à la décroissance de FSH, car il développe un grand nombre de récepteurs à la LH sur ses cellules de la granulosa durant la phase intermédiaire du cycle.

Pour obtenir une ovulation multiple, il existe deux modèles : soit augmenter la durée de la fenêtre de recrutement, soit augmenter le nombre de follicules arrivant au bon moment dans la fenêtre de recrutement (fig. 3).

RÔLE DE LA LH DANS LA SÉLECTION FOLLICULAIRE

La présence de LH est nécessaire pour la synthèse d'estradiol, alors que la sécrétion d'inhibine est simplement dépendante de FSH. Lors de la phase folliculaire tardive, la LH peut agir à la place de la FSH pour le maintien du follicule ovulatoire lors d'un cycle spontané.

Par ailleurs, la LH peut limiter le nombre de follicules en cours de développement.

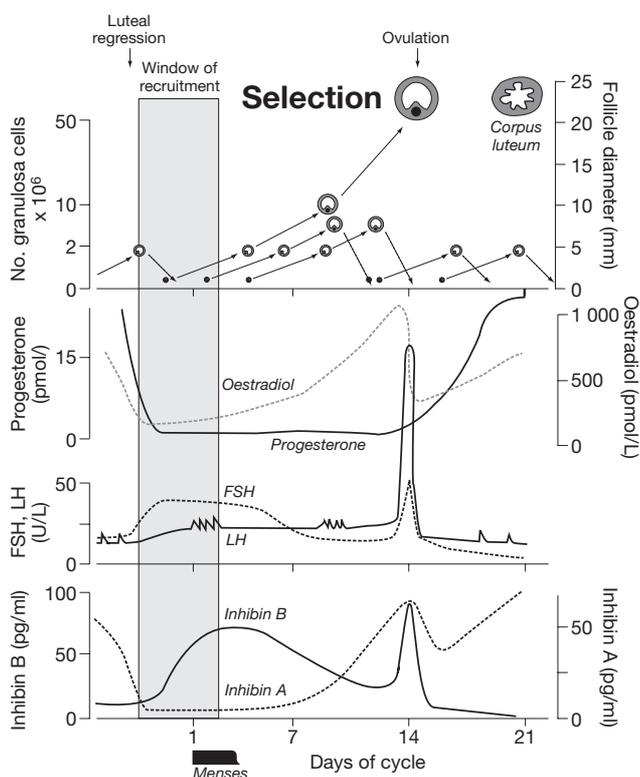


Figure 2 Fenêtre de recrutement du follicule ovulatoire.

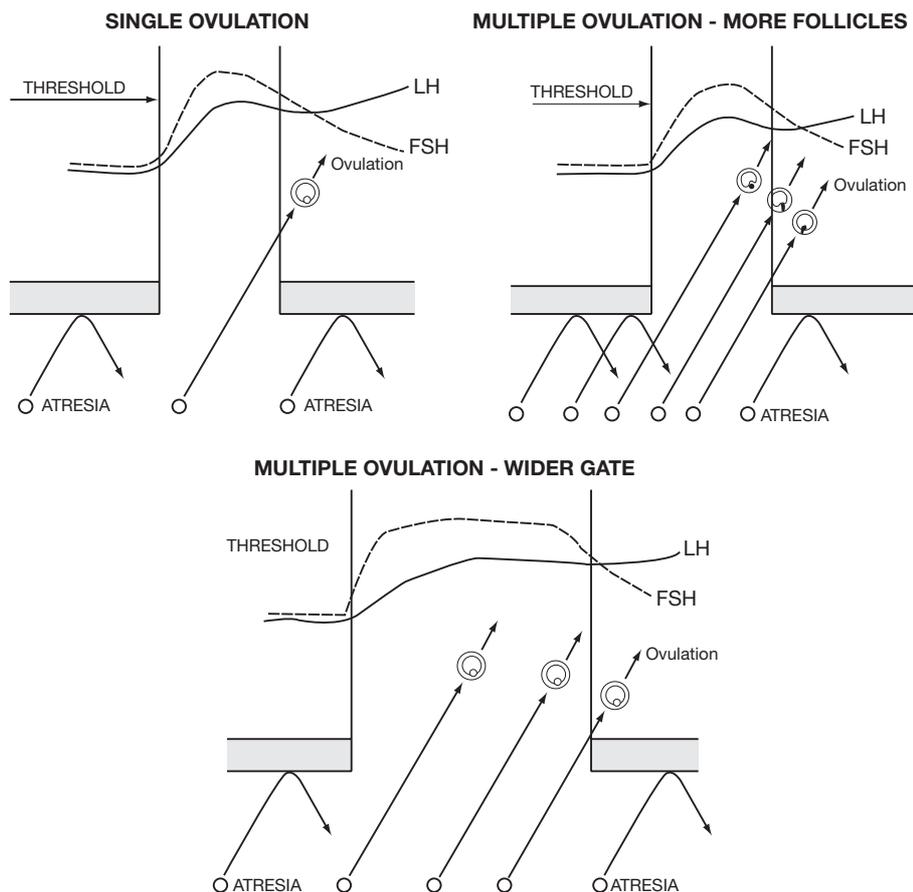


Figure 3 Ovulation unique et multiple : impact de la fenêtre d'ovulation et du nombre de follicules arrivant à maturité pendant cette période.

Notre équipe a beaucoup travaillé sur un modèle de mouton écossais qui a des portées de un ou deux agneaux. Nous avons rendu la brebis hypogonadotrophique, en donnant un antagoniste de la GnRH pendant 3 semaines, c'est-à-dire suffisamment longtemps pour inhiber le développement de follicules antraux petits, moyens ou grands. Ensuite, nous avons apporté des doses physiologiques de FSH et de LH. D'ailleurs, les taux plasmatiques de FSH et de LH sont identiques au groupe témoin [12]. Nous nous sommes aperçus qu'en donnant de la FSH et de la LH, on doublait le taux d'ovulation. Si on donne de la FSH seule pendant 3 jours, les résultats sont comparables. Si on donne de la FSH pendant 4 jours, puis si on diminue la dose de FSH, on n'observe pas d'ovulation. Dans le dernier groupe, qui recevait de la FSH pendant 4 jours, puis de la LH, le taux d'ovulation était similaire au groupe témoin. Ceci montre bien que la LH joue un rôle physiologique important,

c'est-à-dire qu'elle soutient les follicules, mais aussi limite le nombre de ces follicules parvenant à l'ovulation [12].

■ MUTATION BOORoola

Cette mutation a été identifiée chez le mouton Merino en Australie au sein d'une ferme d'élevage. C'est une mutation dominante entraînant une ovulation multiple et des portées importantes en nombre. Il n'existe pas de phénotype chez le mâle.

Quand on regarde la surface ovarienne macroscopiquement, on voit que les ovaires des animaux homozygotes pour Booroola portent de multiples follicules contrairement aux ovaires des animaux sauvages (fig. 4).

C'est donc sur la base du taux d'ovulation que le génotype a pu être attribué au départ : le type sauvage

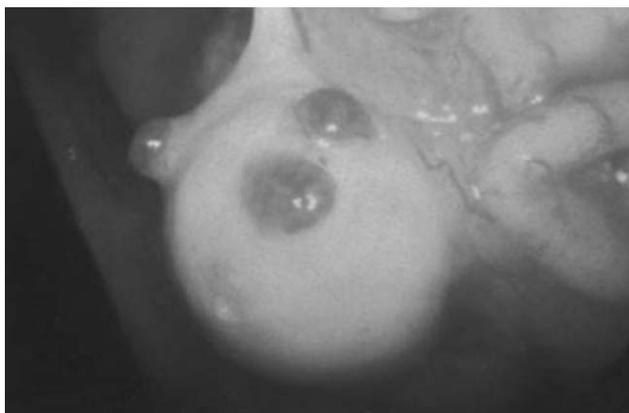
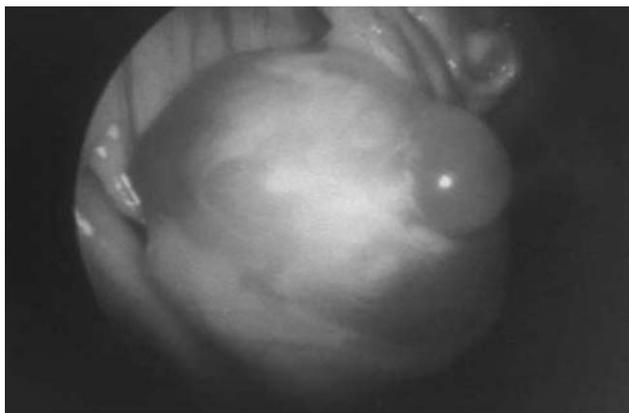


Figure 4 Comparaison macroscopique des ovaires de brebis sauvages mono-ovulantes (en haut) et de brebis homozygotes pour Booroola (multi-ovulante).

a un taux d'ovulation de 1 à 2, le type hétérozygote a un taux d'ovulation de 3 à 4 et le type homozygote a un taux d'ovulation supérieur à 5.

Le phénotype Booroola est caractérisé par :

- une absence de différence au niveau des taux d'hormones hypophysaires et ovariennes ;
- il existe un développement précoce de plusieurs follicules préovulatoires qui sont de taille plus réduite que les follicules préovulatoires uniques des animaux sauvages ;
- un taux moins important d'atrésie folliculaire ;
- les cellules de la granulosa des petits follicules produisent moins d'estradiol et d'inhibine par rapport au type sauvage, et elles sont plus sensibles à la FSH, l'IGF et aux BMP ;
- les cellules de la granulosa acquièrent des marqueurs de différenciation précoces (récepteurs de la LH sur les cellules de la granulosa) plus précocement, c'est-à-dire après 17 et non pas 19 divisions cellulaires.

La mutation Booroola est située sur le chromosome 6 [13]. Ce gène code pour une protéine (BMPR-1b). Cette mutation est caractérisée par le remplacement d'un adénosine par un guanosine sur le nucléotide 830 et un remplacement de l'arginine par une glutamine en position 269 sur la protéine [14-16].

Nous avons observé que les cellules de la granulosa des animaux porteurs de la mutation Booroola (homozygote FF) étaient plus résistantes à l'action inhibitrice de l'AMH.

Nous avons placé des cellules de la granulosa dans un milieu de culture avec des taux croissants d'AMH, et nous avons observé que la sécrétion d'estradiol était moins inhibée pour les cellules homozygotes FF (fig. 5).

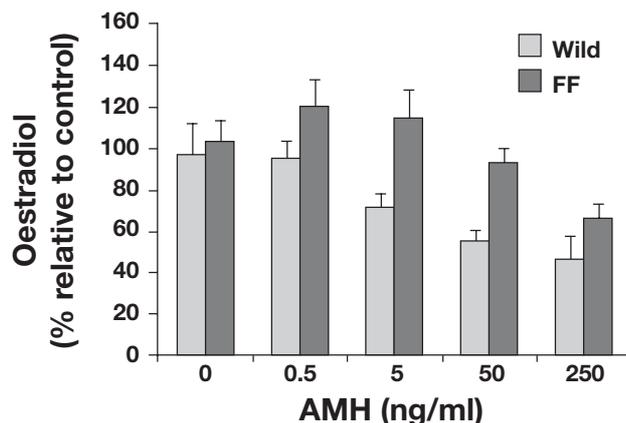


Figure 5 Culture de cellules de la granulosa d'animaux sauvages (wild) et d'animaux porteurs de la mutation Booroola (FF) avec des quantités croissantes d'AMH.

■ CONCLUSION

Le recrutement primaire des follicules primordiaux est indépendant des gonadotrophines.

Les follicules préantraux sont sensibles à l'action de la FSH et probablement à celle de la LH. Le développement des follicules antraux est dépendant de la FSH.

En revanche, le follicule ovulatoire peut se développer soit en présence de FSH, soit en présence de LH. Le nombre de follicules ovulatoires est déterminé par le nombre de grands follicules antraux synchrones qui peuvent répondre au pic de LH. Ce phénomène est lui-même régulé par un système de rétrocontrôle hypothalamo-hypophysaire.

■ RÉFÉRENCES

1. Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428: 145-50.
2. Krarup T, Pedersen T, Faber M. Regulation of oocyte growth in the mouse ovary. *Nature* 1969; 224: 187-8.
3. Peters H, Byskov AG, Lintern-Moore S, Faber M, Andersen M. The effect of gonadotrophin on follicle growth initiation in the neonatal mouse ovary. *J Reprod Fertil* 1973; 35: 139-41 (no abstract available).
4. Peters H, Braathen B. The effect of unilateral ovariectomy in the neonatal mouse on follicular development. *J Endocrinol* 1973; 56: 85-9.
5. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999; 140: 5789-96.
6. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, et al. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001; 142: 4891-9.
7. Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Graem N, Muller J, Cate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3836-44.
8. Mizunuma H, Liu X, Andoh K, Abe Y, Kobayashi J, Yamada K, et al. Activin from secondary follicles causes small preantral follicles to remain dormant at the resting stage. *Endocrinology* 1999; 140: 37-42.
9. McGee EA, Perlas E, LaPolt PS, Tsafiri A, Hsueh AJ. Follicle-stimulating hormone enhances the development of preantral follicles in juvenile rats. *Biol Reprod* 1997; 57: 990-8.
10. Oktay K, Newton H, Mullan J, Gosden RG. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998; 13: 1133-8.
11. Baird DT. A model for follicular selection and ovulation: lessons from superovulation. *J Steroid Biochem* 1987; 27: 15-23.
12. Campbell BK, Dobson H, Baird DT, Scaramuzzi RJ. Examination of the relative role of FSH and LH in the mechanism of ovulatory follicle selection in sheep. *J Reprod Fertil* 1999; 117: 355-67.
13. Montgomery GW, Lord EA, Penty JM, Dodds KG, Broad TE, Cambridge L, Sunden SL, Stone RT, Crawford AM. The Booroola fecundity (FecB) gene maps to sheep chromosome 6. *Genomics* 1994; 22: 148-53.
14. Souza CJ, MacDougall C, MacDougall C, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRI1B) gene. *J Endocrinol* 2001; 169: R1-6.
15. Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lanneluc I, et al. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 5104-9.
16. Wilson T, Wu XY, Juengel JL, Ross IK, Lumsden JM, Lord EA, et al. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein 1B receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biol Reprod* 2001; 64: 1225-35.