

Les réserves ovariennes

Ovarian reserve

Philippe Monget
Danielle Monniaux

UMR Inra-université de Tours-CNRS-IFCE,
Nouzilly, France
<philippe.monget@inra.fr>

Résumé. Chez la femme, comme chez tous les mammifères, il existe deux réserves de follicules dans les ovaires : la réserve « statique » de follicules primordiaux, et la réserve « dynamique » de follicules antraux en croissance. On connaît maintenant de nombreux gènes impliqués dans la formation de la réserve statique et dans le recrutement des follicules primordiaux, et dont des mutations sont susceptibles d'altérer ces deux populations de follicules. La réserve dynamique, visible par échographie, peut être estimée par les teneurs sanguines en hormone antimüllérienne (AMH), étant donné la forte corrélation qui existe entre ces dernières et le nombre de follicules antraux en croissance qui la sécrètent. Il existe également deux relations entre ces deux réserves. D'une part l'AMH est susceptible de bloquer le recrutement des follicules primordiaux, ce qui permet une gestion du pool de follicules primordiaux par les follicules en croissance. D'autre part, il y a aussi une corrélation positive entre le nombre de follicules primordiaux et le nombre de follicules en croissance chez la femme - mais aussi chez la vache et la souris.

Mots clés : follicules primordiaux, follicules antraux en croissance, hormone antimüllérienne, dialogue

Abstract. In women and mammals, there are two reserves of follicles in the ovaries, the "static" reserve of primordial follicles, and the "dynamic" reserve of growing antral follicles. One knows numerous genes involved in the formation of the static reserve and in the recruitment of primordial follicles, mutations of which altering these two reserves. The dynamic reserve, visible by ultrasound, can be estimated by AMH blood levels, given the strong correlation that exists between them and the number of growing antral follicles that secrete it. There are also two relationships between these two reserves. On the one hand AMH is likely to block the recruitment of primordial follicles, which allows a management of the primordial follicle pool by growing follicles. On the other hand, there is also a positive correlation between the number of primordial follicles and the number of growing follicles in the female but also the cow and the mouse.

Key words: primordial follicles, growing antral follicles, AMH, dialogue

La numération des follicules à antrum (NFA) a récemment fait l'objet de nombreux travaux, chez la femme et les grands mammifères, car elle permet d'évaluer l'activité ovarienne, ce qui est important dans les protocoles de procréation médicalement assistée (PMA). Grâce à une sophistication croissante des outils d'échographie ovarienne, ainsi qu'à la mise au point et à la validation de nouveaux marqueurs endocriniens, il est maintenant possible d'évaluer le nombre de follicules à antrum de plus de 1 mm de diamètre dans les ovaires de femme et des grands mammifères après une simple prise de sang suivie d'un dosage *ad hoc* [1, 2]. La NFA permet aux cliniciens d'établir un diagnostic pour les cas d'infertilité féminine, et, en permettant d'évaluer l'activité de la réserve « dynamique » des follicules en

croissance, elle participe à la prédiction de la réponse ovarienne à des traitements de stimulation à base de gonadotrophines [3, 4]. Il existe cependant une autre réserve ovarienne, « statique » celle-là, composée des petits follicules primordiaux, qui se constitue avant la naissance chez la femme et chez la plupart des grands mammifères. Nous ferons, dans cet article, le point sur ces deux réserves, et nous verrons comment l'une régule l'autre, et comment un follicule passe de la réserve de follicules primordiaux à la réserve dynamique des follicules en croissance.

La réserve « statique » des follicules primordiaux

La réserve de follicules primordiaux se constitue, chez la femme,

Médecine
de la **Reproduction**

Tirés à part : P. Monget

pendant la vie fœtale. La première étape de la formation de cette réserve de cellules germinales, appelée ovogenèse, est la migration des cellules germinales primordiales dans les crêtes gonadiques et la prolifération des ovogonies, qui vont former des clusters de cellules clonales physiquement connectées entre elles par des ponts cytoplasmiques, au sein de structures ressemblant à des nids ovariens (*nests* en anglais). Les ovogonies se développent ensuite en ovocytes primaires, qui initient une prophase méiotique. Chez le fœtus de sexe féminin âgé de treize à trente semaines, la rupture des jonctions entre ovocytes par fragmentation des nids conduit à l'arrêt de la prophase méiotique, à la formation des follicules primordiaux, ainsi qu'à une apoptose massive, responsable de la perte d'environ deux tiers des ovocytes [5]. Lors de la fragmentation des nids, les ovocytes qui dégénèrent jouent un rôle de cellules nourricières en déversant une partie de leur contenu cytoplasmique, qui est utilisée par les ovocytes survivants [6]. Au final, chaque follicule primordial, mesurant environ 30 µm de diamètre, est constitué d'un ovocyte bloqué au stade diplotène de la prophase I de la méiose, entouré d'une couche de cellules somatiques, qui formeront les cellules de granulosa. Si les premiers follicules formés démarrent leur croissance immédiatement après leur formation, la majorité des follicules primordiaux entrent en quiescence et ne reprendront leur croissance que plusieurs mois ou années plus tard, ou encore dégénéreront.

L'ovogenèse et la folliculogénèse sont responsables de l'évolution du nombre de cellules germinales observée dans les ovaires au cours de vie fœtale et postnatale [7]. Après un pic d'environ 6 millions de cellules germinales chez le fœtus féminin, la réserve diminue fortement avec le temps, tombant à 300 000 à la puberté (encore aucune ovulation...) et est presque épuisée à la ménopause, chez la femme (pour seulement 500 ovulations maximum au cours d'une vie) et certains primates [8]. Ces chiffres suggèrent que cette réserve est surdimensionnée, et plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour l'interpréter. En outre, l'hypothèse d'une reconstitution du pool des cellules germinales par néo-ovogenèse chez les mammifères adultes a été formulée en 2004 [9, 10], mais les résultats obtenus à ce propos restent très contestés [11-13].

La taille de la réserve de follicules primordiaux est variable entre individus d'une même espèce, dans des rapports pouvant aller de 1 à 20 chez la femme [14]. Ces grandes disparités peuvent avoir des conséquences lourdes, en particulier sur la durée de vie « fertile » de la femme [14, 15]. Cette durée n'est cependant pas uniquement déterminée par l'ensemble des mécanismes qui régulent la formation de la réserve de follicules primordiaux et sa dimension numérique, mais aussi par ceux qui contrôlent la vitesse à laquelle cette réserve s'épuise au cours de la vie. À titre d'exemple, malgré une réserve de follicules primordiaux numériquement réduite à

la naissance, les ovaires de brebis porteuses d'une mutation dans le gène codant le récepteur 1B des protéines morphogénétiques osseuses (BMPR1B) contiennent, à l'âge adulte, deux à trois fois plus de follicules primordiaux que les animaux non mutés, suggérant une gestion distincte de la réserve [16].

Mécanismes moléculaires sous-jacents à la formation de la réserve de follicules primordiaux

La formation de ce pool suit des processus comparables chez la femme et la souris. Ainsi les modèles murins transgéniques ont-ils permis de réaliser d'important progrès, ces dernières années, dans la connaissance des acteurs moléculaires qui régulent la constitution de cette réserve. Un des acteurs principaux de cette formation est Figla (pour *factor in the germ line alpha*), un facteur de transcription de structure hélice-boucle-hélice spécifique des cellules germinales. Les souris dépourvues de Figla sont notamment stériles, en raison de l'absence de follicules et d'ovocytes [17]. Le phénotype apparaît après la naissance car l'ovogenèse se met en place pendant la période périnatale. Les gènes qui codent les protéines de la zone pellucide Zp1, Zp2 et Zp3, mais également le gène maternel *Nlrp5* sont des cibles de Figla. Ceci suggère que Figla est important, non seulement pour la formation initiale des follicules, mais aussi à des stades ultérieurs de la folliculogénèse et du développement embryonnaire.

Il a été récemment montré, chez la souris, que la fragmentation des nids conduisant à la formation des follicules primordiaux est contrôlée par un dialogue moléculaire complexe, impliquant un ensemble de facteurs ovocytaires – Figla, mais aussi Nobox (pour *newborn ovary homeobox*), *Taf4b*, *Bmp15* (pour *bone marrow protein 15*) et *Gdf9* (pour *growth/differentiation factor 9*) – et somatiques (œstradiol, activine, follistatine et neurotrophines), et orchestrée par la voie de signalisation Jagged/Notch [18-20]. Cette étape du développement déterminerait en grande partie non seulement la taille de la réserve de follicules primordiaux, mais aussi leur capacité de développement. Ainsi, chez la brebis, la présence d'une mutation dans le récepteur BMPR1B conduit à la formation d'ovocytes de plus gros volume et contenant plus de mitochondries et de réticulum endoplasmique que chez l'animal non muté, et qui sont donc vraisemblablement mieux équipés pour leur survie et leur développement ultérieur [21]. La *figure 1* résume les principaux acteurs intervenant dans la formation de la réserve ovarienne des follicules primordiaux et dans le tout début de la croissance folliculaire basale [11].

La famille Bcl joue un rôle clé dans l'apoptose des cellules germinales ovariennes pendant l'ovogenèse. Ainsi l'inactivation du gène antiapoptotique Bcl2 entraîne-t-il

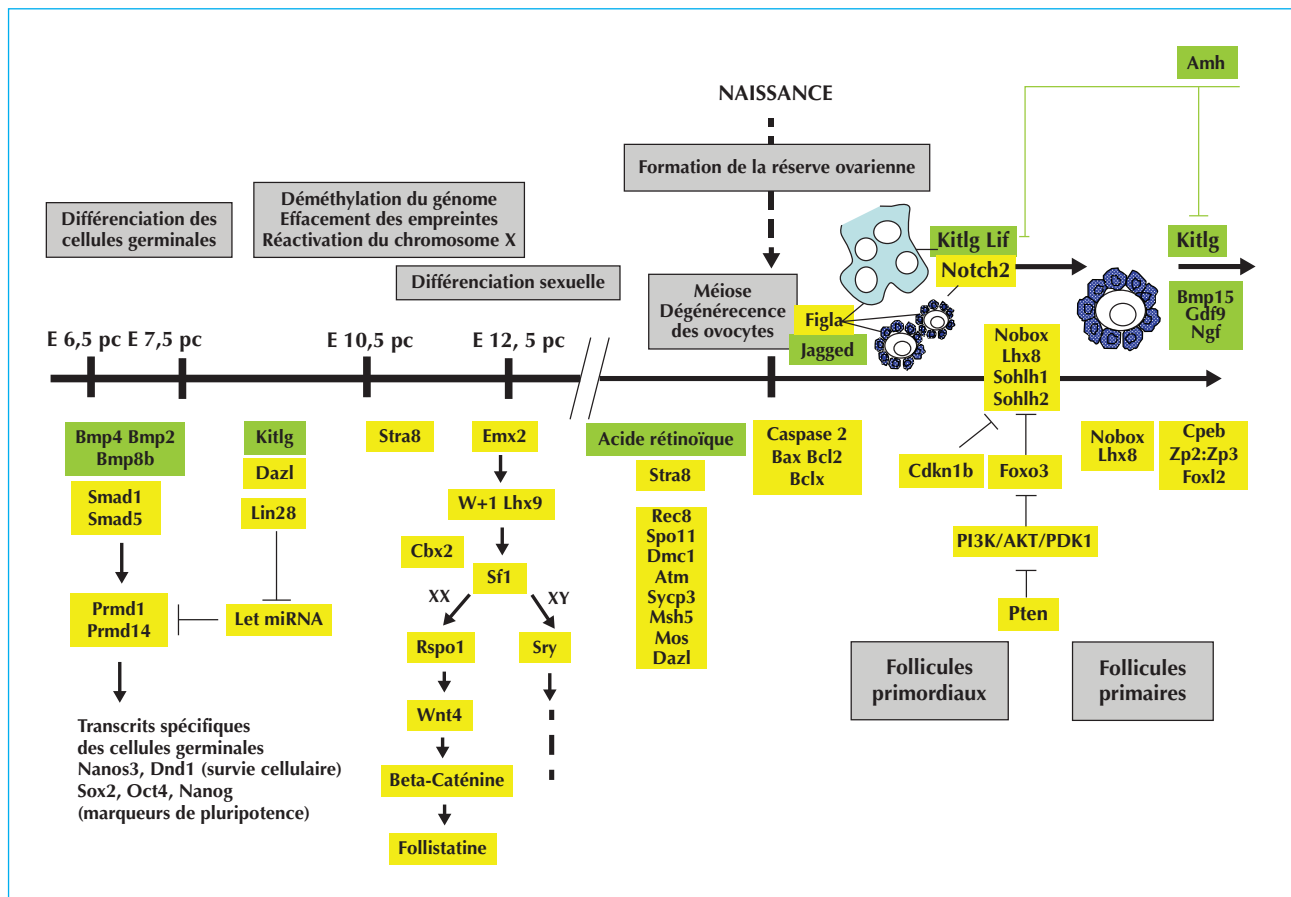


Figure 1. Mécanismes régulant la formation de la réserve de follicules primordiaux et leur activation chez la souris. La figure illustre le rôle des principaux gènes et voies de signalisation impliqués dans la différenciation des cellules germinales, la différenciation sexuelle et la formation et l'activation des follicules ovariens. Les facteurs solubles et les ligands sont représentés sur fond vert, les différents acteurs des voies de signalisation sur fond jaune. pc : post-conception (en jours).

une forte réduction du nombre de follicules primordiaux à six semaines d'âge chez la souris, sans différence dans le nombre de follicules primaires et préantraux [22]. En outre, la suppression de Bax, un facteur proapoptotique de la même famille, conduit, toujours chez la souris, à une augmentation du nombre des follicules primordiaux sains, par rapport aux témoins, et à un allongement de la durée de vie reproductive [23]. L'inactivation du gène codant la caspase 2 entraîne une augmentation du nombre des follicules primordiaux chez les souris femelles, ainsi que la résistance des ovocytes à la doxorubicine, agent utilisé en chimiothérapie [24]. Ceci suggère que les acteurs clés « classiques » de l'apoptose sont impliqués dans la survie des cellules qui composent les futurs follicules primordiaux.

L'inactivation du récepteur des hydrocarbures aromatiques (Ahr), dont les ligands sont présents dans le tabac, conduit aussi à une augmentation du nombre de follicules primordiaux juste après la naissance, chez la souris [25]. Enfin, l'inactivation de Zfx, un gène lié à l'X et qui code

une protéine à doigt de zinc, conduit à une réduction de près de 75 % des cellules germinales chez les souris femelles à la naissance, mimant une sorte d'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) [26].

Le recrutement des follicules primordiaux et le démarrage de la croissance

Plusieurs facteurs de transcription, identifiés chez la souris, participent au recrutement des follicules primordiaux : Nobox, Sohlh-1 et Sohlh-2 (pour *spermatogenesis and oogenesis helix-loop-helix 1 et 2*), et Lhx8 [27-29]. L'expression de ces gènes est principalement limitée aux cordons de cellules germinales et aux follicules primordiaux : elle diminue dans les follicules primaires et secondaires, sauf Nobox dont l'expression persiste jusqu'au stade de follicule préovulatoire (figure 1). L'inactivation de chacun de ces gènes entraîne la stérilité

des femelles, avec un blocage au stade primordial, à l'exception de quelques follicules chez les souris *Sohlh2*^{-/-}. Les gènes cibles de Nobox sont *Gdf9*, *Bmp15*, *Mos* et *Oct-4*, ainsi que plusieurs membres de la famille Nlrp – la plupart d'entre eux étant également la cible de Figla comme indiqué plus haut. Les phénotypes des quatre mutants *Nobox*, *Lhx8*, *Sohlh1* et *Sohlh2* sont d'ailleurs très similaires entre eux [28-30], suggérant que ces gènes ne fonctionnent pas de manière redondante au début de la folliculogénèse.

Lors du recrutement des follicules primordiaux, plusieurs voies de signalisation sont activées, plus ou moins en même temps :

- la voie mTOR (pour *mechanistic target of rapamycin*), dans les cellules de granulosa, serait activée la première [31],
- puis la voie de la phosphatidyl-inositol 3 (PI3) kinase dans les ovocytes, sous l'influence du Kit ligand sécrété par

cette même granulosa et qui agit sur son récepteur Kit ovocytaire,

- la voie SMAD dans les cellules de granulosa, après stimulation des récepteurs des facteurs ovocytaires *Gdf9* et *Bmp15*.

C'est donc un dialogue entre plusieurs acteurs qui entraîne le « réveil » des follicules primordiaux (*figure 2*). Dans l'ovocyte, la voie de la PI3 kinase phosphoryle et inactive le facteur *Foxo3a*, qui, à l'état déphosphorylé, est responsable du blocage en quiescence des follicules primordiaux. En effet, les souris *Foxo3a*^{-/-} sont stériles dès 15 jours du fait d'une activation massive de la réserve des follicules primordiaux, conduisant à son épuisement prématuré [32]. Une inactivation spécifiquement ovocytaire de *Pten* (pour *phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10*), une phosphatase inhibitrice de la voie PI3 kinase, se traduit par un même phénotype

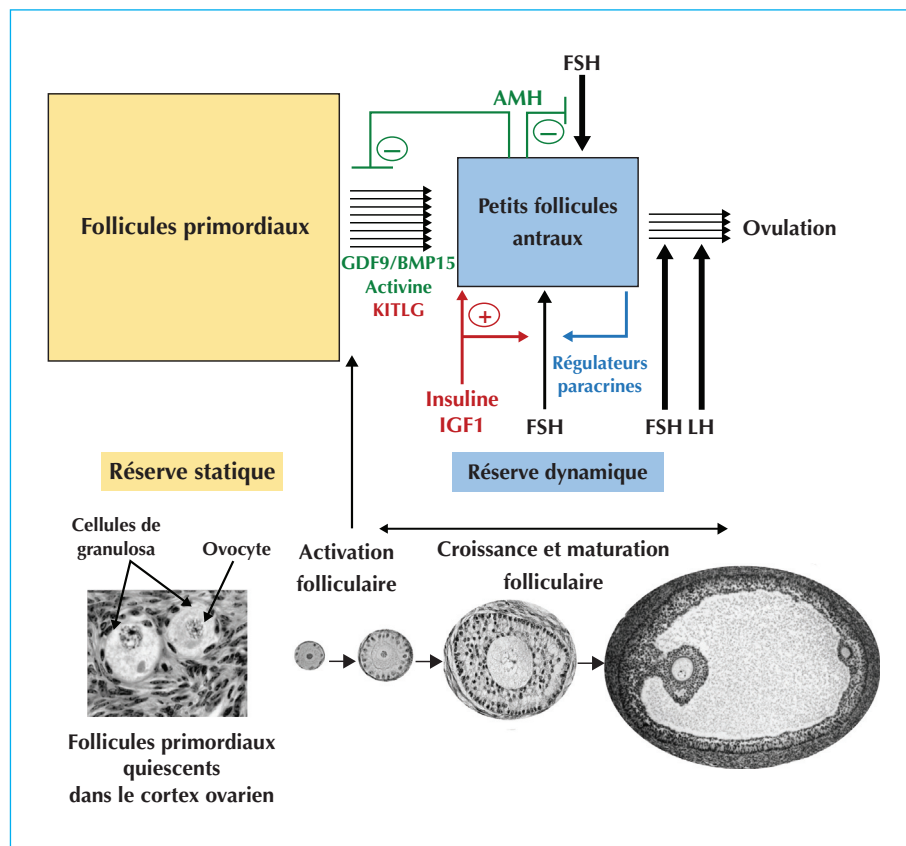


Figure 2. Principales régulations des transitions entre « réserve statique » et « réserve dynamique » de follicules. La « réserve dynamique » contient des petits follicules à antrum en croissance provenant de la « réserve statique » de follicules primordiaux. Cette dernière est progressivement vidée à la fois par l'activation de la croissance des follicules primordiaux et leur dégénérescence. Quelques facteurs de croissance clés régulent le passage entre les deux réserves, comme le couple de facteurs ovocytaires *GDF9/BMP15*, ainsi que le récepteur ovocytaire *KIT* et son ligand *KITLG* sécrété par la granulosa. L'*AMH*, sécrétée par les cellules de granulosa des follicules en croissance, vient bloquer le recrutement des follicules primordiaux par rétroaction négative. L'*IGF1* et l'insuline sensibilisent les follicules à antrum à l'action des gonadotrophines *FSH* et de *LH*. Quand les follicules entrent dans la phase de croissance terminale, vers 5 mm de diamètre, les teneurs sanguines de ces deux gonadotrophines sont extrêmement importantes pour les mener à l'ovulation. Si les teneurs sont sous un seuil critique, les follicules entrent en atresie folliculaire.

ovarien [33, 34]. Enfin, une surexpression ovocytaire de *Foxo3a* aboutit également à une stérilité des souris, du fait d'un blocage des follicules au stade primaire [35].

Le fait que la suppression de *Pten* et de *Foxo3* dans les ovocytes n'ait pas d'effet additif ni synergique sur le recrutement des follicules suggère une sorte de « verticalité » de la voie PTEN-PI3K-FOXO3 [33]. Comme pour *Pten* et *Foxo3*, la suppression de *Cdkn1b* (un inhibiteur de la kinase dépendant de la cycline 1B, également connu sous le nom de p27Kip1) provoque également une activation prématurée des follicules primordiaux [36]. Enfin, les souris dépourvues des deux gènes *Foxo3* et *Cdkn1b* présentent une accélération de l'activation des follicules primordiaux plus forte que si l'on invalide l'un des deux gènes seulement, suggérant que les deux facteurs mettent en œuvre des mécanismes d'action indépendants pour supprimer le recrutement folliculaire primordial [37]. Dans l'ensemble, tous ces facteurs, qui interviennent dans le « goulet d'étranglement » PTEN-PI3K-PDK1, jouent un rôle crucial dans le ralentissement du recrutement des follicules primordiaux. Cela ne semble en revanche pas être le cas pour les stades plus tardifs de la folliculogénèse, les jeunes femelles mutantes demeurant fertiles jusqu'à épuisement de leur réserve ovarienne.

La progression des follicules primordiaux en follicules primaires s'accompagne d'une transition de cellules squameuses en cellules cuboïdes, et nécessite la présence d'un autre facteur de transcription, le *Foxl2* (pour *forkhead box L2*). En effet, les ovaires de souris *Foxl2*^{-/-} ont des follicules primordiaux, mais la prolifération des cellules de la granulosa et leur différenciation en cellules cuboïdes sont bloquées, ce qui les rend incapables de supporter la croissance des ovocytes [38, 39]. À l'âge de 2 mois, l'ovaire ne contient plus de follicules primordiaux, en raison d'une atrésie massive. Chez la femme, des mutations faux-sens dans *FOXL2* conduisent à une perte de fonction totale, ce qui cause le syndrome blépharophimosis, ptosis et épicanthus inversus (BPES), associée à une IOP. Les mutations hypomorphes de *FOXL2* provoquent un BPES de type II, sans dysfonctionnement ovarien [40, 41]. Chez la chèvre, la suppression de plus de 11,7 kb en amont de *Foxl2* abolit son expression chez les animaux homozygotes et entraîne une inversion du sexe chez les XX homozygotes ainsi qu'une absence de cornes dans les deux sexes.

Dès le follicule primaire, la survie de l'ovocyte reste un processus clé du développement folliculaire. En particulier, l'inactivation du gène *Mdm2* (inhibiteur de l'action de p53) dans l'ovocyte de souris aboutit à un arrêt de croissance au stade secondaire et à une disparition des ovocytes puis des follicules ovariens [42].

L'hormone antimüllérienne (AMH) joue un rôle clé dans la régulation du recrutement et de la gestion des follicules primordiaux. L'AMH est sécrétée par les cellules de granulosa des follicules en croissance, avec un pic

d'expression dans les follicules de 3 à 5 mm de diamètre chez la femme ; elle bloque, à ce stade, le recrutement des follicules primordiaux. Son expression diminue fortement dans les follicules préovulatoires [43, 44]. L'inactivation du gène qui code l'AMH chez la souris conduit à une augmentation du recrutement des follicules primordiaux et du nombre de follicules en croissance, et à un épuisement rapide de la réserve ovarienne [45]. *In vitro*, l'AMH inhibe l'action du ligand Kit et l'expression des facteurs de la famille des protéines morphogénétiques osseuses (BMP) dans les ovaires de rat [46]. Cette régulation par l'AMH serait un moyen de gérer par feedback négatif la réserve ovarienne afin de la « préserver » pendant la durée de vie fertile des mammifères femelles.

La réserve « dynamique » des petits follicules à antrum

Le pool de follicules à partir duquel un ou plusieurs follicules ovulatoires se développent à chaque cycle sexuel forme une réserve ovarienne « dynamique » [47]. Chez la femme, cette réserve est constituée de l'ensemble des petits follicules à antrum de 2 à 5 mm de diamètre, détectables par échographie ovarienne lors des examens cliniques. Ces follicules ont un développement relativement lent, soutenu par les hormones gonadotropes, folliculostimulante (FSH) et lutéinisante (LH), agissant sur leurs tissus cibles respectifs, la granulosa et la thèque (pour revue, [48]). Ainsi, la FSH stimule la survie et la prolifération des cellules de la granulosa et participe à la croissance de l'antrum en stimulant la synthèse de molécules osmotiquement actives (versican, acide hyaluronique) [49]. La sensibilité à la FSH des follicules à antrum augmente progressivement durant leur développement, et ce sous l'action de différents facteurs (*insulin-like growth factor-1* [IGF1], insuline, androgènes, etc.) qui stimulent l'apparition de récepteurs à la FSH et/ou amplifient l'action de cette hormone sur les cellules de granulosa. D'autres facteurs, comme les protéines de liaison des IGF (IGFBP-2 et -4 chez toutes les espèces, IGFBP-5 chez les ruminants) sont des inhibiteurs de l'action des IGF et donc de la FSH, et participent à l'induction de l'atrésie (ou dégénérescence) folliculaire [50].

L'AMH, produite par les cellules de la granulosa, agirait de façon autocrine en diminuant la sensibilité à la FSH des follicules en croissance ; il a néanmoins été montré récemment que cette hormone peut aussi soutenir leur développement en les protégeant de l'atrésie [51]. Les cellules de la thèque participent à la régulation du développement des follicules à antrum, par l'apport d'androgènes et de facteurs de croissance – nerveux (NGF), fibroblastiques (FGF), épidermiques (EGF) ou transformant (TGFβ), etc. – capables de moduler les fonctions des cellules de la granulosa. En retour, les

cellules de granulosa contrôlent les fonctions des cellules de la thèque, par la production de facteurs de croissance et de cytokines (particulièrement le ligand de KIT) [52], et soutiennent le développement de la vascularisation thécale par la sécrétion de facteurs angiogéniques (VEGF) [53]. Par ailleurs, BMP15 et GDF9, d'origine ovocytaire, agissent sous forme de monomères ou d'hétérodimères, modulent les effets de la FSH sur la différenciation des cellules de la granulosa et du cumulus [54].

La taille de la réserve dynamique des petits follicules à antrum est très variable entre individus de même âge [55], ce qui constitue un facteur limitant pour la réussite des protocoles de PMA [56-58]. Comme dit ci-dessus, la NFA est réalisée par échographie ovarienne, mais elle peut aussi être estimée grâce au dosage sanguin de marqueurs endocriniens, comme la FSH et l'inhibine. Des teneurs faibles en FSH et élevées en inhibine reflètent ainsi un nombre élevé de follicules en croissance, donc une croissance folliculaire « foisonnante » – les données inverses reflétant une croissance folliculaire « pauvre » en follicules. Depuis quelques années, l'AMH a supplanté la FSH et l'inhibine, et est devenue le marqueur le plus fiable et universel de la population de petits follicules à antrum chez la femme [59, 60], mais aussi chez les ruminants [61-63]. La forte corrélation entre NFA et teneurs sanguines en AMH s'explique par le fait que l'expression de l'AMH est spécifique des cellules de la granulosa des follicules en croissance. Chez la femme, mais également chez la vache et la souris, il a été montré récemment une forte corrélation entre le nombre de follicules primordiaux et le nombre de follicules à antrum en croissance [64-66]. L'ensemble de ces données suggère que l'établissement de la réserve ovarienne de follicules primordiaux conditionne la « vigueur » de la réserve dynamique des follicules en croissance. La *figure 2* résume les liens qui existent entre les deux pools.

La corrélation numérique qui existe entre ces deux réserves s'observerait surtout chez les individus jeunes, pour s'estomper au cours du temps, avec l'épuisement de la réserve statique de follicules primordiaux. En effet, chez la femme en préménopause, l'activation des follicules primordiaux (et donc l'épuisement de la réserve statique) s'accélère, tandis que les teneurs élevées en FSH permettent le maintien de la taille de la réserve dynamique en protégeant les follicules à antrum de l'atrésie [67].

Mécanismes moléculaires affectant les réserves ovariennes

Chez la femme, plusieurs gènes sont impliqués dans l'hypogonadisme hypogonadotrope d'origine centrale tel que le syndrome de Kallmann (pour revue : [68]). Ces gènes agissent directement ou indirectement sur les grands

follicules à antrum dépendants des gonadotrophines et non sur la réserve des follicules primordiaux. À ce jour, plusieurs gènes ont déjà été identifiés comme responsables d'un hypogonadisme hypergonadotrope dans les IOP.

Les gènes responsables de l'IOP peuvent jouer des rôles très différents :

- certains sont impliqués dans le développement des gonades, comme le facteur de stéroïdogénèse NR5A1, ou FOXL2 comme dit plus haut dans le syndrome BPES,
- nombre d'entre eux interviennent dans la réplication de l'ADN et/ou la méiose, comme STAG3, SGO2, POF1B, SYCE1, HFM1 ou PSMC3IP,
- d'autres sont impliqués dans des syndromes plus généraux comme une augmentation de la susceptibilité à développer un cancer ou un vieillissement prématuré. C'est le cas du gène *WRN*, impliqué dans le syndrome de Werner, et des gènes *FANCA*, *FANCC*, et *FANCG* impliqués dans la maladie de Fanconi,
- d'autres candidats peuvent être impliqués dans les réparations de l'ADN (*MCM8* et *MCM9*), l'apoptose (*NANOS3*, le récepteur de la progestérone *PGRMC1*), ou la traduction des ARNm (*eIF2B2*, *eIF2B4* et *eIF2B5*, *eIF4EN1F1*),
- des facteurs de transcription comme NOBOX et SOHLH1, sont en cause dans certaines IOP,
- un catalogue de mutations affectant le récepteur de la FSH a également été établi. De manière très surprenante, alors que l'on pensait que cette gonadotrophine n'était indispensable qu'aux follicules ovariens au-delà de 5 mm de diamètre chez la femme, plusieurs mutations dans ce récepteur sont responsables d'une aménorrhée sévère accompagnée d'une absence de follicules à antrum.
- il est clair que des mécanismes très différents peuvent conduire à une IOP. Les nouvelles méthodes de séquençage du génome, appliquées aux femmes atteintes d'IOP, ont récemment permis d'identifier un grand nombre de gènes candidats et de nouvelles mutations associées à ce syndrome (pour une revue récente, voir [69]). À ce jour, le catalogue des gènes impliqués dans le syndrome d'IOP est encore loin d'être exhaustif,
- un ensemble de facteurs environnementaux, en particulier des facteurs infectieux et des polluants tels que les phtalates, le bisphénol A et les hydrocarbures aromatiques polycycliques, ont un fort impact sur la fertilité et seraient responsables de 10 % des IOP [70]. Les polluants environnementaux agissent en se liant aux récepteurs des œstrogènes ou des hydrocarbures [71]. Ils peuvent affecter sévèrement le développement folliculaire et être à l'origine de modifications épigénétiques de la lignée germinale, participant ainsi à une transmission des dérèglements de la fonction ovarienne aux générations suivantes [72],
- des maladies auto-immunes sont en cause dans 5 à 30 % des IOP [73], par exemple lorsque des autoanticorps

sont dirigés contre des enzymes de la stéroïdogénèse, ou dans des cas de syndrome auto-immun polyendocrinien.

Signification évolutive des réserves ovariennes

On a noté précédemment le « gaspillage » apparent du pool de follicules primordiaux chez la femme (et les autres mammifères), qui passe de six millions d'ovogonies/follicules primordiaux chez le fœtus, à 300 000 au moment de la puberté, avant même la première ovulation. Il est possible que la constitution d'un stock si disproportionné de cellules germinales au cours de la vie fœtale soit un vestige évolutif, issu d'une contrainte qui s'exerçait sur les ancêtres communs des Vertébrés. Chez les poissons, en particulier, la femelle « doit » libérer dans l'eau un maximum d'ovocytes qui seront ensuite fertilisés, car la plupart des alevins seront détruits ou mangés par les prédateurs [74]. Cette contrainte a disparu chez les tétrapodes, pour lesquels la fécondation a lieu dans les organes génitaux. La capacité de réaliser une néo-ovogénèse *in vivo* aurait donc été perdue au cours de l'évolution des mammifères, et vraisemblablement aussi celle des oiseaux, par relâchement des contraintes. La perte de fonctions au cours de l'évolution est fréquemment associée à la perte de gènes impliqués. Par exemple, les gènes qui codent les protéines de la zone pellucide ont été perdus au cours de l'évolution des vertébrés (de dix à douze gènes Zp dans le génome des poissons à trois ou quatre chez les mammifères [75]). Dans ce cas, l'hypothèse est que la reconnaissance spécifique des gamètes au moment de la fécondation est plus contraignante chez les poissons – qui pratiquent la fécondation externe, avec un risque de « mélange » des gamètes d'espèces différentes – que chez les tétrapodes, pour lesquels d'autres barrières d'espèces (comportementales en particulier) interdiront à un spermatozoïde de rencontrer un ovocyte de truie.

Conclusions

Nous avons mis ici en évidence les rôles de nombreux gènes dans la formation et la gestion des réserves ovariennes, à partir du modèle des souris invalidées. Plusieurs remarques doivent être faites.

– La première est que l'on ne trouve que ce que l'on cherche. En particulier, les premières souris invalidées au niveau du gène *bcl2* étaient considérées comme fertiles, ne présentant pas de troubles particuliers pour la constitution des familles d'animaux. Ce n'est que quelques années après qu'un autre groupe a récupéré ces souris et a compté les follicules primordiaux (ce qui demande une expertise certaine en histologie des ovaires), ce qui a permis de montrer que *bcl2* jouait effectivement un rôle de protection

des ovogonies pendant l'ovogénèse. Dans ce cas précis, les femelles étaient fertiles malgré une baisse de leur réserve en follicules primordiaux.

– Deuxièmement, on peut se demander si les conclusions tirées de la base d'invalidation du gène chez la souris peuvent être systématiquement extrapolées à d'autres espèces, notamment la femme. Liao et Zhang (2008) ont comparé les conséquences de l'invalidation de gènes chez la souris celles d'une mutation « perte de fonction » comparable chez l'homme, et ils ont observé des différences significatives [76]. Dans les ovaires, *Foxl2* joue un rôle dans la différenciation sexuelle chez la chèvre, pas chez la femme. Chez la brebis, BMP15 est capital pour la croissance folliculaire au-delà du follicule primaire, et pour la régulation du quota ovulatoire, pas chez la souris.

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Jaiswal RS, Singh J, Adams GP. Developmental pattern of small antral follicles in the bovine ovary. *Biol Reprod* 2004 ; 71 : 1244-51.
2. Deb S, Batcha M, Campbell BK, et al. The predictive value of the automated quantification of the number and size of small antral follicles in women undergoing ART. *Hum Reprod* 2009 ; 24 : 2124-32.
3. Broer SL, Dolleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJ. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2011 ; 17 : 46-54.
4. Baruselli PS, Sa Filho MF, Ferreira RM, et al. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. *Reprod Domest Anim* 2012 ; 47(Suppl 4) : 134-41.
5. Pepling ME, Spradling AC. Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles. *Dev Biol* 2001 ; 23 : 339-51.
6. Lei L, Spradling AC. Mouse oocytes differentiate through organelle enrichment from sister cyst germ cells. *Science* 2016 ; 352 : 95-9.
7. Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1963 ; 158 : 417-33.
8. Walker ML, Herndon JG. Menopause in nonhuman primates? *Biol Reprod* 2008 ; 79 : 398-406.
9. 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.
10. Tilly JL, Niikura Y, Rueda BR. The current status of evidence for and against postnatal oogenesis in mammals: a case of ovarian optimism versus pessimism? *Biol Reprod* 2009 ; 80 : 2-12.
11. Monget P, Bobe J, Gougeon A, Fabre S, Monniaux D, Dalbies-Tran R. The ovarian reserve in mammals: a functional and evolutionary perspective. *Mol Cell Endocrinol* 2012 ; 356 : 2-12.

12. Kerr JB, Myers M, Anderson RA. The dynamics of the primordial follicle reserve. *Reproduction* 2013 ; 146 : R205-215.
13. Kerr JB, Brogan L, Myers M, *et al.* The primordial follicle reserve is not renewed after chemical or gamma-irradiation mediated depletion. *Reproduction* 2012 ; 143 : 469-76.
14. Wallace WH, Kelsey TW. Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PLoS One* 2010 ; 5 : e8772.
15. Faddy MJ. Follicle dynamics during ovarian ageing. *Mol Cell Endocrinol* 2000 ; 163 : 43-8.
16. Ruoss C, Tadros A, O'Shea T, McFarlane J, Almahbobi G. Ovarian follicle development in Booroola sheep exhibiting impaired bone morphogenetic protein signalling pathway. *Reproduction* 2009 ; 138 : 689-96.
17. Soyak SM, Amleh A, Dean J. FIGla, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development* 2000 ; 127 : 4645-54.
18. Xu J, Gridley T. Notch2 is required in somatic cells for breakdown of ovarian germ-cell nests and formation of primordial follicles. *BMC Biol* 2013 ; 11 : 13.
19. Feng L, Wang Y, Cai H, *et al.* ADAM10-Notch signaling governs the recruitment of ovarian pregranulosa cells and controls folliculogenesis in mice. *J Cell Sci* 2016 ; 129 : 2202-12.
20. Zhao L, Du X, Huang K, *et al.* Rac1 modulates the formation of primordial follicles by facilitating STAT3-directed Jagged1, GDF9 and BMP15 transcription in mice. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 23972.
21. Reader KL, Haydon LJ, Littlejohn RP, Juengel JL, McNatty KP, Booroola BM. PR1B mutation alters early follicular development and oocyte ultrastructure in sheep. *Reprod Fertil Dev* 2012 ; 24 : 353-61.
22. Ratts VS, Flaws JA, Kolp R, *et al.* Ablation of bcl-2 gene expression decreases the numbers of oocytes and primordial follicles established in the postnatal female mouse gonad. *Endocrinology* 1995 ; 136 : 3665-8.
23. Greenfeld CR, Pepling ME, Babus JK, *et al.* BAX regulates follicular endowment in mice. *Reproduction* 2007 ; 133 : 865-76.
24. Bergeron L, Perez GI, Macdonald G, *et al.* Defects in regulation of apoptosis in caspase-2-deficient mice. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 1304-14.
25. Robles R, Morita Y, Mann KK, *et al.* The aryl hydrocarbon receptor, a basic helix-loop-helix transcription factor of the PAS gene family, is required for normal ovarian germ cell dynamics in the mouse. *Endocrinology* 2000 ; 141 : 450-3.
26. Luoh SW, Bain PA, Polakiewicz RD, *et al.* Zfx mutation results in small animal size and reduced germ cell number in male and female mice. *Development* 1997 ; 124 : 2275-84.
27. Rajkovic A, Pangas SA, Ballow D, *et al.* NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Science* 2004 ; 305 : 1157-9.
28. Pangas SA, Choi Y, Ballow DJ, *et al.* Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators Sohlh1 and Lhx8. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 8090-5.
29. Choi Y, Yuan D, Rajkovic A. Germ cell-specific transcriptional regulator sohlh2 is essential for early mouse folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Biol Reprod* 2008 ; 79 : 1176-82.
30. Choi Y, Ballow DJ, Xin Y, Rajkovic A. Lim homeobox gene, Lhx8, is essential for mouse oocyte differentiation and survival. *Biol Reprod* 2008 ; 79 : 442-9.
31. Zhang H, Risal S, Gorre N, *et al.* Somatic cells initiate primordial follicle activation and govern the development of dormant oocytes in mice. *Curr Biol* 2014 ; 24(21) : 2501-8.
32. Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, *et al.* Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. *Science* 2003 ; 301 : 215-8.
33. John GB, Gallardo TD, Shirley LJ, Castrillon DH. Foxo3 is a PI3K-dependent molecular switch controlling the initiation of oocyte growth. *Dev Biol* 2008 ; 321 : 197-204.
34. Reddy P, Liu L, Adhikari D, *et al.* Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science* 2008 ; 319 : 611-3.
35. Liu L, Rajareddy S, Reddy P, *et al.* Infertility caused by retardation of follicular development in mice with oocyte-specific expression of Foxo3a. *Development* 2007 ; 134 : 199-209.
36. Rajareddy S, Reddy P, Du C, *et al.* p27kip1 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) controls ovarian development by suppressing follicle endowment and activation and promoting follicle atresia in mice. *Mol Endocrinol* 2007 ; 21 : 2189-202.
37. Brenkman AB, Burgering BM. FoxO3a eggs on fertility and aging. *Trends Mol Med* 2003 ; 9 : 464-7.
38. Schmidt D, Ovitt CE, Anlag K, *et al.* The murine winged-helix transcription factor Foxl2 is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance. *Development* 2004 ; 131 : 933-942.
39. Uda M, Ottolenghi C, Crisponi L, *et al.* Foxl2 disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockade of follicle development. *Hum Mol Genet* 2004 ; 13 : 1171-81.
40. Crisponi L, Deiana M, Loi A, *et al.* The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 159-166.
41. Dipietromaria A, Benayoun BA, Todeschini AL, *et al.* Towards a functional classification of pathogenic FOXL2 mutations using transactivation reporter systems. *Hum Reprod Genet* 2009 ; 18 : 3324-33.
42. Livera G, Uzbekov R, Jarrier P, *et al.* Loss of oocytes due to conditional ablation of Murine double minute 2 (Mdm2) gene is p53-dependent and results in female sterility. *FEBS Lett* 2016 ; 590 : 2566-2574.
43. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, *et al.* Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during post-natal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle development. *Endocrinology* 1995 ; 136 : 4951-62.
44. Rico C, Fabre S, Médigue C, *et al.* Anti-müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod* 2009 ; 80 : 50-9.
45. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, *et al.* Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999 ; 140 : 5789-96.

46. Nilsson E, Rogers N, Skinner MK. Actions of Anti-Mullerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction* 2007 ; 134 : 209-21.
47. Monniaux D, Clément F, Dalbiès-Tran R, et al. The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of antral growing follicles: what is the link? *Biol Reprod* 2014 ; 90 : 85.
48. Monniaux D, Cadoret V, Clément F, et al. Folliculogenesis. In : Huhtaniemi I, Martini L, (eds). *Encyclopedia of Endocrine Diseases, Second Edition*. Oxford : Elsevier, Inc.
49. Russell DL, Ochsner SA, Hsieh M, Mulders S, Richards JS. Hormone-regulated expression and localization of versican in the rodent ovary. *Endocrinology* 2003 ; 144 : 1020-31.
50. Mazerbourg S, Bondy CA, Zhou J, Monget P. The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? A comparative species study. *Reprod Domest Anim* 2003 ; 38 : 1-12.
51. Hayes E, Kushnir V, Ma X, et al. Intra-cellular mechanism of Anti-Müllerian hormone (AMH) in regulation of follicular development. *Mol Cell Endocrinol* 2016 ; 433 : 56-65.
52. Hutt KJ, McLaughlin EA, Holland MK. Kit ligand and c-Kit have diverse roles during mammalian oogenesis and folliculogenesis. *Mol Hum Reprod* 2006 ; 12 : 61-9.
53. Fraser HM. Regulation of the ovarian follicular vasculature. *Reprod Biol Endocrinol* 2006 ; 4 : 18.
54. Richani D, Constance K, Lien S, et al. Cumulin and FSH cooperate to regulate inhibin B and activin B production by human granulosa-lutein cells *in vitro*. *Endocrinology* 2019 ; 160 : 853-62.
55. Broekmans FJ, Faddy MJ, Scheffer G, te Velde ER. Antral follicle counts are related to age at natural fertility loss and age at menopause. *Menopause* 2004 ; 11 : 607-14.
56. Fauser BC, Diedrich K, Devroey P. Predictors of ovarian response: progress towards individualized treatment in ovulation induction and ovarian stimulation. *Hum Reprod Update* 2008 ; 14 : 1-14.
57. Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after *in vitro* fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril* 2005 ; 83 : 291-301.
58. Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Johnson I, Raine-Fenning N. A prospective, comparative analysis of anti-Mullerian hormone, inhibin-B and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2010 ; 93 : 855-64.
59. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update* 2010 ; 16 : 113-30.
60. Loh JS, Maheshwari A. Anti-Mullerian hormone—is it a crystal ball for predicting ovarian ageing? *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 2925-32.
61. Rico C, Fabre S, Médigue C, et al. Anti-mullerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod* 2009 ; 80 : 50-9.
62. Lahoz B, Alabart JL, Cocero MJ, et al. Anti-Mullerian hormone concentration in sheep and its dependence of age and independence of BMP15 genotype: an endocrine predictor to select the best donors for embryo biotechnologies. *Theriogenology* 2013 ; 81(2) : 347-57.
63. Monniaux D, Baril G, Laine AL, et al. Anti-Mullerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat. *Reproduction* 2011 ; 142 : 845-54.
64. Ireland JL, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, et al. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biol Reprod* 2008 ; 79 : 1219-25.
65. Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, et al. Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology* 2006 ; 147 : 3228-34.
66. Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril* 2011 ; 95 : 170-5.
67. Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod* 1994 ; 50 : 653-63.
68. Edson MA, Nagaraja AK, Matzuk MM. The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev* 2009 ; 30 : 624-712.
69. Huhtaniemi I, Hovatta O, La Marca A, et al. Advances in the molecular pathophysiology, genetics and treatment of primary ovarian insufficiency. *Trends Endocrinol Metab* 2018 ; 29 : 400-19.
70. Vabre P, Gatimel N, Moreau J, et al. Environmental pollutants, a possible etiology for premature ovarian insufficiency: a narrative review of animal and human data. *Environ Health* 2017 ; 16 : 37.
71. Craig ZR, Wang W, Flaws JA. Endocrine-disrupting chemicals in ovarian function: effects on steroidogenesis, metabolism and nuclear receptor signaling. *Reproduction* 2011 ; 142 : 633-46.
72. Nilsson E, Larsen G, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C, Savenkova MI, Skinner MK. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of ovarian disease. *PLoS One* 2012 ; 7(5) : e36129.
73. Silva CA, Yamakami LY, Aikawa NE, Araujo DB, Carvalho JF, Bonfá E. Autoimmune primary ovarian insufficiency. *Autoimmun Rev* 2014 ; 13 : 427-30.
74. Jalabert B. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reprod Nut Dev* 2005 ; 45 : 261-79.
75. Goudet G, Mugnier S, Callebaut I, Monget P. Phylogenetic analysis and identification of pseudogenes reveal a progressive loss of zona pellucida genes during evolution of vertebrates. *Biol Reprod* 2008 ; 78 : 796-806.
76. Liao BY, Zhang J. Null mutations in human and mouse orthologs frequently result in different phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 6987-92.