

## S C I E N C E S

**OVAIRES ET FERTILITÉ FEMELLE  
CHEZ LES MAMMIFÈRES  
ET DANS L'ESPÈCE HUMAINE**

Danielle MONNIAUX\*

**RÉSUMÉ :**

La fertilité femelle repose sur la mise en place, chez le fœtus, d'une réserve de follicules quiescents dans les ovaires. Ces follicules s'activent, se développent et libèrent des ovocytes fécondables lors de l'ovulation, ou dégèrent. Notre connaissance actuelle des mécanismes régulant ces processus permet de diagnostiquer et traiter de façon appropriée les problèmes d'infertilité chez la femme, et de mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques.

**ABSTRACT:**

Female fertility is based on an ovarian reserve of quiescent primordial follicles formed in the fetus. From this reserve, the follicles can activate, develop and release fertilizable oocytes at ovulation, or degenerate during their development. Our present knowledge of the mechanisms regulating these processes allows the clinician to better diagnose and treat infertility in women and the zootechnician to control fertility and prolificacy in domestic species.

---

\* Directrice de Recherches à l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Centre INRA Val-de-Loire, 37380 Nouzilly.

## INTRODUCTION

La reproduction est une fonction essentielle au maintien des espèces et, au sein de chaque espèce, à la conservation des races et des populations. Plusieurs paramètres permettent d'évaluer le dynamisme de l'activité reproductrice au sein d'un groupe animal ou humain. Un premier paramètre est la fécondité, qui est le bilan de l'activité de reproduction d'une personne, d'un couple, d'un groupe ou d'une population. Ainsi, dans l'espèce humaine, le taux de fécondité, défini comme le nombre moyen d'enfants par femme en âge de procréer, varie de façon importante entre les différents continents du globe (Tabl. 1) et entre pays au sein de chaque continent. La France, avec un taux de fécondité de 1,93 en 2016, reste l'un des pays européens dont la fécondité est la plus élevée, même ce chiffre n'atteint pas la moyenne mondiale et reste loin derrière celui de nombreux états africains. Un second paramètre d'évaluation de l'activité reproductrice est la prolificité, définie comme la capacité pour une femelle à produire plusieurs descendants à chaque naissance. L'espèce humaine et plusieurs espèces animales, comme les bovins et les équins, sont limitées à 1 ou 2, rarement 3 petits par naissance, alors que d'autres espèces, comme les lapins, souris, chats et porcins ont de larges portées, certaines truies hyper-prolifiques de race Large White ou Meishan étant capables de donner naissance à plus de 15 petits dans une seule portée.

La fertilité, ou aptitude à se reproduire, repose sur l'adéquation d'un ensemble de processus physiologiques régulant la production de gamètes (ou cellules sexuelles, à savoir les spermatozoïdes chez le mâle et les ovocytes chez la femelle) par les gonades (testicules et ovaires) des parents, leur rencontre et leur fusion lors de la fécondation, l'implantation de l'embryon dans l'utérus maternel, puis son développement sous forme de fœtus pendant la gestation (appelée aussi « grossesse » chez la femme) jusqu'à la naissance du jeune. Ces processus sont soumis à un déterminisme temporel. En effet, pour de nombreuses espèces sauvages ou domestiquées, comme par exemple les ovins, les caprins et les équins, la production de gamètes mâles et femelles est saisonnée, permettant *in fine* la naissance des jeunes au moment où les conditions environnementales (nourriture, température) sont les plus favorables. Par ailleurs, l'ovulation, qui est la libération par l'ovaire d'un ou plusieurs ovocytes fécondables dans les voies génitales femelles, est un processus de nature cyclique. Ainsi chaque femelle présente de courtes

Région	Taux de fécondité (2006)	Taux de fécondité (2016)
Afrique	5,1	4,7
Amérique	2,3	2,0
Asie	2,4	2,1
Europe	1,4	1,6
Océanie	2,1	2,3
Moyenne mondiale	2,7	2,5

**Tabl. 1** : Taux de fécondité moyen des femmes dans différents continents en 2006 et 2016 (d'après : *Population Reference Bureau, World Population Data 2016*).

périodes fertiles encadrant le moment de l'ovulation, séparées par de longues périodes d'infertilité. Dans cet article, nous nous intéresserons seulement à la fertilité femelle et plus particulièrement au rôle de l'ovaire dans son déterminisme et celui de la prolificité.

## **PROBLÈMES RENCONTRÉS LIÉS À LA FONCTION OVARIENNE ET DÉFIS À RELEVER POUR AMÉLIORER LA FERTILITÉ FEMELLE**

Les questions posées diffèrent selon que l'on s'intéresse à l'espèce humaine ou aux espèces d'animaux domestiques.

En clinique humaine, il s'agit de diagnostiquer et de traiter l'infertilité d'un couple. S'il n'y a pas de problème d'infertilité masculine, et si l'appareil génital féminin est normalement constitué, le clinicien explorera la fonction ovarienne de la femme. Par différentes méthodologies que nous évoquerons plus loin, le clinicien étudiera la régularité des cycles hormonaux et la présence ou l'absence d'ovulations dans les ovaires et il recherchera les anomalies endocriniennes. Ces explorations lui permettront de poser un diagnostic, la principale causes ovarienne d'infertilité chez la femme étant le syndrome des ovaires poly-kystiques (ou syndrome OPK), qui associe très souvent une absence d'ovulation et des troubles métaboliques (obésité, diabète

de type 2) et touche environ 10 % des femmes en âge de se reproduire [1]. Il existe d'autres causes d'infertilité d'origine ovarienne se traduisant par une insuffisance ovarienne primaire (absence de puberté) ou des ménopauses précoces, touchant environ 1 % des femmes de moins de 40 ans, et parfois associées à des syndromes dont plus d'une quinzaine ont été répertoriés (syndromes de Turner, de Perrault, de Bloom, BPES...) [2]. L'identification de la pathologie ovarienne permettra de proposer un traitement pour les femmes dont l'ovaire présente encore des signes fonctionnels (présence de follicules ovariens sur les ovaires).

En élevage d'animaux de rente, il s'agit d'optimiser la reproduction des femelles d'un troupeau, afin de minimiser les coûts de production des animaux destinés à la production de viande ou de lait. Le souhait des éleveurs est de synchroniser au mieux les ovulations de son troupeau, ceci dans le but de limiter le nombre d'interventions du technicien en charge des inséminations artificielles et, au final, de grouper les mise-bas des femelles qui ont ainsi été fécondées. Pour certaines espèces, comme les petits ruminants (ovins, caprins), le nombre d'ovulations, qui conditionne le nombre de petits par portée, est également un paramètre important à maîtriser, l'optimum recherché étant de deux petits par portée. Par ailleurs, des problèmes de mauvaise fertilité, liés à une mauvaise qualité de l'ovulation, sont actuellement rencontrés dans les troupeaux de vaches à haute production laitière et il s'agit d'en analyser les causes et d'y remédier [3]. Enfin, pour des espèces comme les bovins, dont le nombre d'ovulations par cycle est faible et la durée de gestation longue, la production d'embryons multiples par stimulation hormonale des ovaires est une étape-clé pour accélérer le progrès génétique sur un ensemble de paramètres (vitesse de croissance, production de lait ou de viande, résistance aux maladies), or cette étape reste actuellement mal maîtrisée en raison de la forte variabilité entre femelles de la réponse à un même traitement de stimulation ovarienne [4].

Pour l'espèce équine et les animaux domestiques de compagnie (chiens, chats), les problèmes d'infertilité rejoignent ceux rencontrés pour l'espèce humaine. En effet, il s'agit d'obtenir des descendants de couples bien déterminés, ou parfois de femelles choisies. Pour les animaux d'élite (chevaux de courses, chiens et chats de races pures), les pathologies ovariennes doivent être correctement diagnostiquées avant l'administration de traitements de médecine vétérinaire adaptés.

## L'OVAIRE : CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET DYNAMIQUES

L'ovaire est le siège d'un processus de développement de follicules, appelé folliculogénèse, qui s'effectue à partir d'une réserve ovarienne de follicules primordiaux constituée pendant la vie fœtale [5]. Chaque follicule ovarien est constitué d'un ovocyte entouré de cellules folliculaires qui soutiennent son développement et prolifèrent au cours de la croissance du follicule. Quand le follicule atteint un diamètre de 0,2 à 0,3 mm, il se creuse d'une cavité liquidienne appelée antrum (fig. 1). C'est dans l'antrum que s'accumulent les produits de sécrétion des cellules folliculaires (granulosa et thèque), ainsi que les substances plasmatiques diffusant librement à partir des capillaires sanguins qui irriguent la thèque. Chez l'adulte, à chaque cycle sexuel, un ou plusieurs follicules à antrum terminent leur maturation et ovulent, chacun libérant un ovocyte fécondable dans les voies génitales de la femelle. L'ovulation est le résultat d'une sélection folliculaire sévère, plus de 99 % des follicules en croissance dégénérant par un mécanisme physiologique appelé atresie.

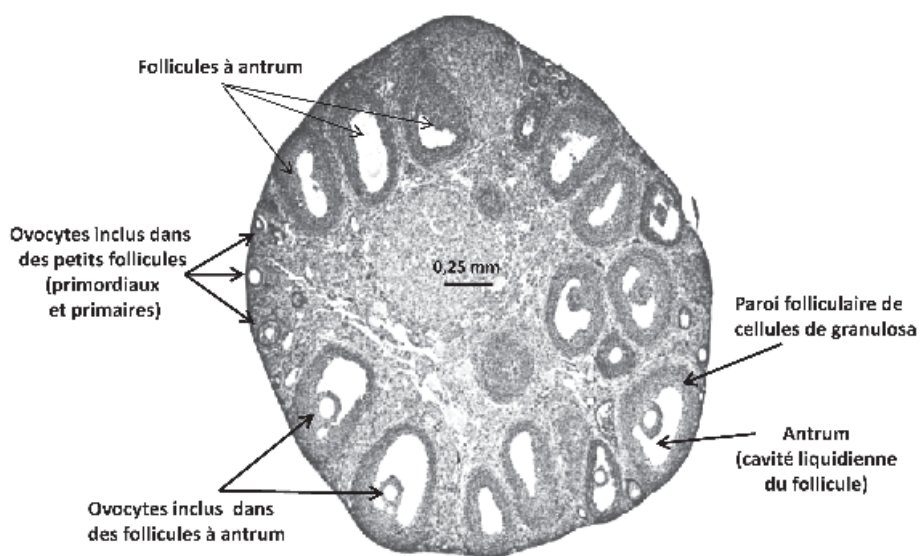


Fig. 1 : Coupe histologique d'un ovaire de souris adulte (photo D. Monniaux)

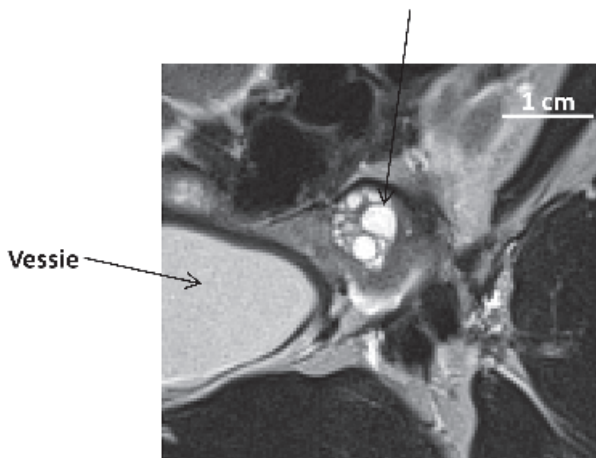
La durée totale du développement folliculaire (de la sortie de la réserve folliculaire jusqu'à l'ovulation) varie d'une vingtaine de jours chez les rongeurs à plusieurs mois chez les autres mammifères (97 jours chez la lapine, 180 jours chez la brebis, plus de 200 jours chez la femme). Dans chaque espèce, le développement des follicules jusqu'à l'apparition de l'antrum est très lent et représente au moins 75 % de la durée totale du développement folliculaire. Entre l'apparition de l'antrum et l'ovulation, le développement folliculaire est plus rapide mais sa durée est néanmoins supérieure à celle d'un cycle sexuel pour toutes les espèces (10 jours chez la lapine, 44 jours chez la brebis, 50 jours chez la femme), sauf chez les rongeurs où elle correspond exactement à la durée du cycle (4 à 5 jours).

## **MÉTHODES ACTUELLES D'ÉTUDE DE LA FONCTION OVARIENNE**

Autrefois limitées à des analyses histologiques de biopsies ovariennes ou d'ovaires entiers, les méthodes d'analyse de la fonction ovarienne se sont diversifiées et sont actuellement moins invasives, pour l'homme et l'animal. L'échographie ovarienne est aujourd'hui une méthode de routine pour détecter, compter et mesurer les follicules à antrum dont la cavité remplie de liquide folliculaire est facilement repérable sur les ovaires, ainsi que les corps jaunes, qui sont les résidus des parois du follicule après l'ovulation. Les progrès techniques permettent la détection de follicules de plus de 2 mm de diamètre et cette méthodologie est actuellement très utilisée en clinique humaine et vétérinaire [6]. Des méthodes d'imagerie plus récentes, comme l'IRM (Imagerie en Résonance Magnétique) sont également utilisables et donnent des images ovariennes de qualité, permettant la détection des petits follicules à antrum (entre 0,5 et 1 mm de diamètre) sur animaux anesthésiés (fig. 2).

D'autres méthodes sont utilisables en routine, comme les dosages dans le sang ou dans le liquide folliculaire d'hormones d'origine ovarienne (oestradiol, progestérone, inhibine et, plus récemment, AMH : hormone anti-Müllérienne) ou hypophysaire (FSH : hormone folliculo-stimulante et LH : hormone lutéinisante). Il est possible également de réaliser des tests de fonctionnalité ovarienne par l'administration d'hormones à activité folliculo-stimulante, ces

**Ovaire contenant des follicules à antrum de différentes tailles (cavités liquidiennes en blanc)**



**Fig. 2 :** Analyse ovarienne par IRM chez l'agnelle de 2 mois (plateforme CIRE, INRA, non publié)

protocoles ayant généralement pour but de récupérer par ponction des ovocytes destinés à des fécondations *in vitro*. En complément, on peut aussi caractériser l'état ovarien dans des tests *in vitro*, effectués sur cellules ovariennes prélevées lors des ponctions d'ovocytes. Ces analyses sont complétées par la recherche de mutations génétiques pouvant expliquer certaines pathologies et des études épidémiologiques pour analyser les facteurs environnementaux (nutrition, stress, exposition à des polluants) pouvant affecter la fertilité.

Dans le cadre des programmes de recherche, des protocoles expérimentaux sont réalisés sur animaux *in vivo* (étude des effets de la lumière, de la nutrition, des conditions d'élevage, des facteurs hormonaux, ou des polluants environnementaux), et sur tissus ou cellules *in vitro* (cultures d'ovaires fœtaux, de follicules ovariens isolés ou de cellules folliculaires) afin d'étudier les mécanismes qui contrôlent la fonction ovarienne. Les analyses de résultats mettent généralement en œuvre des méthodes de pointe en biologie cellulaire et moléculaire. Ces investigations expérimentales sont parfois soutenues par des approches de modélisation mathématique pour l'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires de régulation [7].

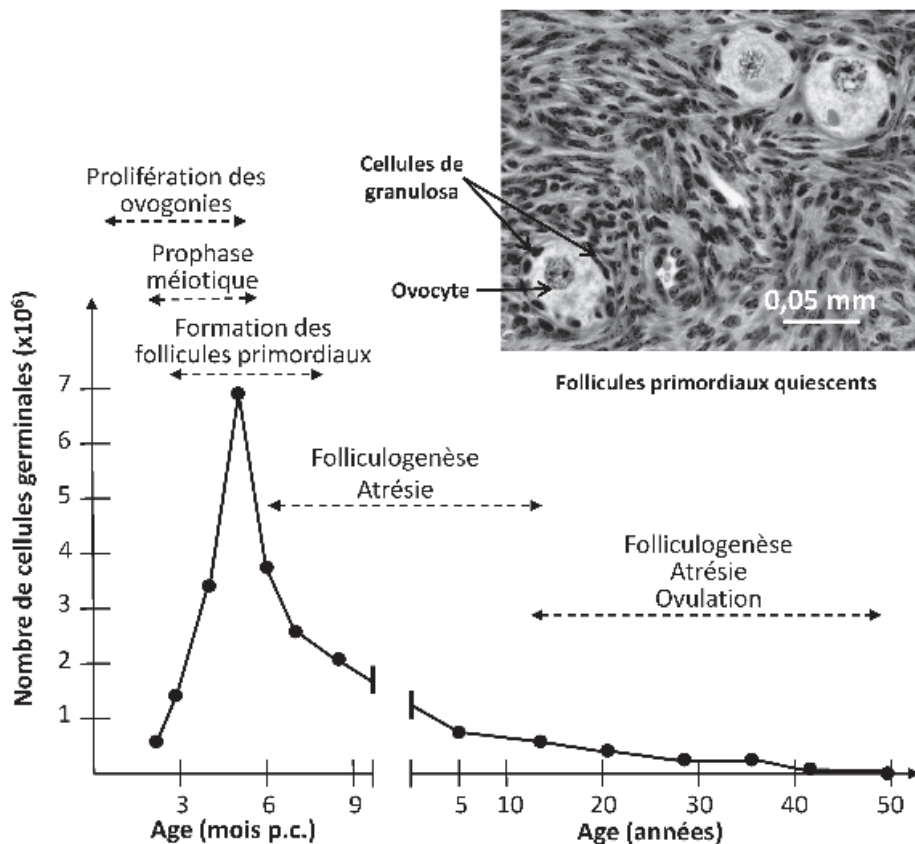
Toutes les expérimentations sur animaux sont réalisées après validation par un comité d'éthique, qui évalue leur pertinence et leur faisabilité dans un contexte de respect de l'animal et de son bien-être. Le modèle animal le plus utilisé actuellement est la souris de laboratoire, qui permet en particulier, dans le cadre des programmes de transgénèse, de comprendre la fonction des gènes *in vivo* et l'incidence de mutations spécifiques sur la fonction ovarienne et la fertilité femelle. Cependant, un certain nombre de programmes de recherche utilisent aussi des animaux de rente (ovins, bovins, porcins, caprins...) afin de répondre directement à des questions liées à leur élevage ou à la sélection génétique. On peut noter aussi que les bovins et les ovins ont des caractéristiques ovariennes qui les rapprochent de l'espèce humaine (cycles sexuels longs, faible nombre d'ovulations par cycle) et sont en cela de meilleurs modèles expérimentaux que la souris pour l'étude des mécanismes régulant la fertilité chez la femme.

## **DE LA RÉSERVE FOLLICULAIRE VERS L'OVULATION : PRINCIPALES RÉGULATIONS**

### ***La première réserve, ou « réserve pré-établie »***

C'est très tôt dans la vie de la femelle, généralement au stade fœtal pour la plupart des espèces, que se met en place la réserve ovarienne de follicules primordiaux. Cette phase de développement ovarien, dénommée aussi ovogenèse, est régulée par des interactions cellulaires complexes entre cellules germinales (les futurs ovocytes) et cellules somatiques de l'ovaire fœtal. Les cellules germinales (ou ovogonies à ce stade) prolifèrent au sein de l'ovaire jusqu'à leur entrée en prophase de première division méiotique, qui marque l'arrêt de leur prolifération. La prophase méiotique se bloque ensuite au stade diplotène (dit aussi vésicule germinale) tandis que chaque ovocyte s'entoure d'une couche de cellules somatiques, les cellules de granulosa, pour former un follicule primordial. Une fois constituée, cette réserve ovarienne de follicules primordiaux s'épuise au cours du temps. Dans l'espèce humaine, le nombre de cellules germinales atteint un maximum de 7 millions à 20 semaines de gestation, chute à 1-2 millions à





**Fig. 3 :** Évolution numérique de la réserve de cellules germinales au cours de la vie dans l'espèce humaine (d'après Baker, 1963, *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 158, 417). La photo illustre l'aspect des follicules primordiaux dans une coupe histologique d'ovaire de vache (photo D. Monniaux).

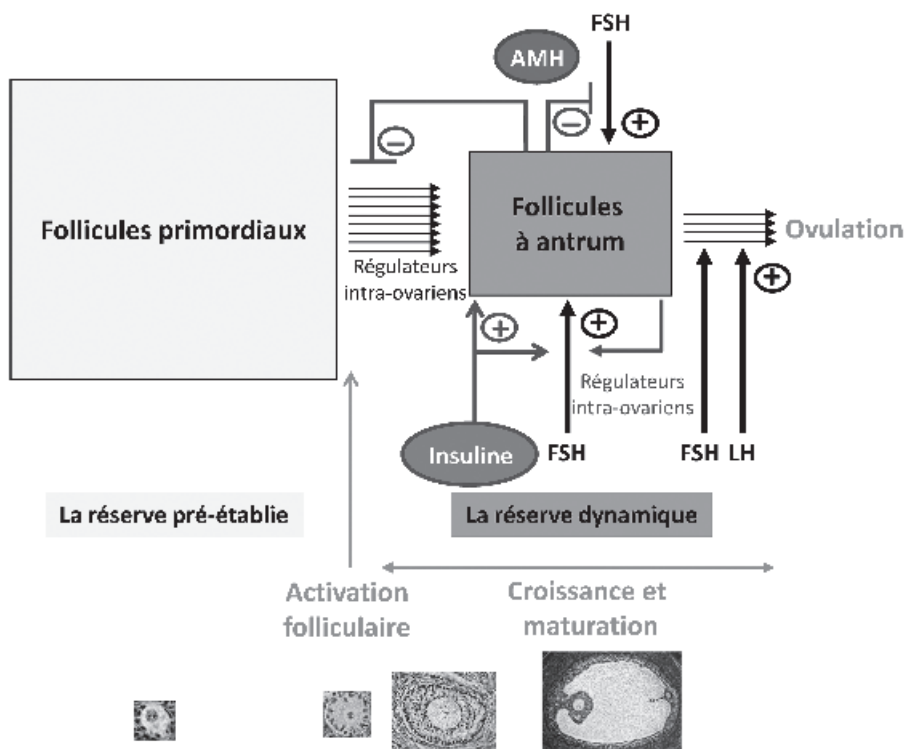
la naissance, puis à 400 000 à la puberté pour aboutir à 1 500 vers l'âge de 51 ans, âge moyen de la ménopause (fig. 3) [8]. De par sa longue durée de vie, l'espèce humaine est la seule pour laquelle l'épuisement complet de la réserve ovarienne est observable chez tous les individus en conditions physiologiques normales.

### ***La deuxième réserve, ou «réserve dynamique»***

Une fois les follicules primordiaux formés, certains vont démarrer leur croissance immédiatement, et d'autres vont attendre, pendant plusieurs mois ou plusieurs années, un signal de démarrage de nature encore très mal connue. Suite à ce processus d'activation, la croissance du follicule est régulée par un dialogue moléculaire étroit qui se met en place entre l'ovocyte et les cellules de granulosa qui l'entourent. À ce stade, le follicule est sensible à de nombreux facteurs apportés par le sang (métabolites, toxiques environnementaux...), ainsi qu'à certaines hormones comme l'insuline, et il devient progressivement de plus en plus sensible à l'hormone hypophysaire FSH au cours de son développement. La population des follicules à antrum, très sensibles aux fluctuations endocrines de la FSH, constitue la deuxième réserve folliculaire de l'ovaire (fig. 4) [9]. Appelée aussi réserve dynamique, elle intéresse particulièrement les cliniciens et les zootechniciens car elle est la cible directe des traitements à activité folliculo-stimulante administrés aux femelles dans le but d'obtenir le plus grand nombre possible d'ovocytes destinés à des productions d'embryons. La taille de cette réserve (nombre de follicules à antrum sensibles à FSH) conditionne le succès des traitements. Notons que les follicules de la réserve dynamique sécrètent de l'AMH, une hormone capable de moduler leur propre sensibilité à FSH, mais aussi de freiner l'activation des follicules primordiaux et le développement des très petits follicules en croissance [10]. L'AMH joue en cela un rôle important de «gardien» de la première réserve, en empêchant sa déplétion trop rapide et la survenue d'une ménopause précoce.

### ***La maturation finale du follicule et le déclenchement de l'ovulation***

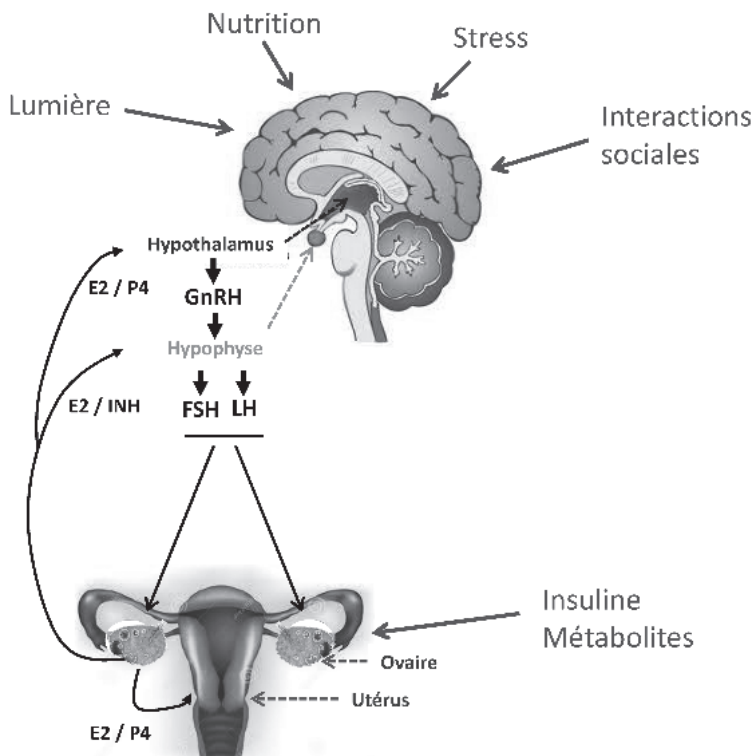
Le développement folliculaire terminal est strictement dépendant de la présence et des concentrations sanguines des hormones hypophysaires FSH et LH, qui agissent en synergie avec de nombreux autres facteurs d'origine ovarienne ou sanguine. Le recrutement du futur follicule ovulatoire est permis par la FSH, puis sa dominance est assurée par la LH, hormone à laquelle ce follicule devient progressivement hypersensible, et qui prend le relais de la FSH pour en assurer la croissance. Le follicule devenu



**Fig. 4** : Représentation schématique des deux réserves folliculaires et de leurs principales régulations. Chez la jeune femelle adulte, la réserve pré-établie renferme plusieurs centaines de milliers de follicules primordiaux, et la réserve dynamique seulement moins d'une centaine de follicules à antrum, ces chiffres étant très variables entre femelles de même âge pour chaque espèce animale ou humaine. Le développement des follicules vers l'ovulation est régulé par de nombreux facteurs intra-ovariens et hormonaux. AMH : Hormone anti-Müllérienne, FSH : Hormone folliculo-stimulante, LH : Hormone lutéinisante.

« dominant » sécrète de plus en plus d'oestradiol et d'inhibine, deux hormones qui génèrent par leur action sur les cellules hypophysaires une baisse des concentrations de FSH, provoquant l'atrésie des autres gros follicules de la cohorte. Les fortes concentrations d'oestradiol présentes dans le sang déclenchent alors au niveau cérébral une sécrétion massive de gonadolibérine GnRH par l'hypothalamus, induisant une décharge de LH par l'hypophyse et, en réponse, l'ovulation du follicule dominant. Notons que

le déclenchement de l'ovulation est sous le contrôle de nombreux facteurs de l'environnement capables de moduler la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus (fig. 5). Dans l'espèce humaine et de nombreuses espèces animales, les déséquilibres nutritionnels (souvent associés à des problèmes



**Fig. 5 :** Principales boucles de régulations hormonales entre l'hypothalamus, l'hypophyse, les ovaires et l'utérus. Le cerveau reçoit les informations environnementales et les intègre au niveau de l'hypothalamus, qui contrôle la sécrétion des deux hormones hypophysaires à activité gonadotrope, FSH et LH. Celles-ci agissent par voie sanguine sur l'ovaire, contrôlant le développement des follicules à antrum jusqu'à l'ovulation. En retour, les hormones ovariennes régulent l'activité de l'hypothalamus et de l'hypophyse. Elles agissent aussi au niveau utérin à chaque cycle, le préparant à recevoir un embryon fécondé. L'insuline d'origine pancréatique et des métabolites variés exercent aussi une action directe par voie sanguine sur les ovaires. GnRH : Gonadolibérine, FSH : Hormone folliculo-stimulante, LH : Hormone lutéinisante, E2 : Oestradiol, P4 : Progesterone, INH : Inhibine.

comportementaux tels que la boulimie ou l'anorexie) et le stress peuvent conduire à l'absence d'ovulation. Dans les espèces à reproduction saisonnée, la lumière et les interactions sociales (introduction d'un mâle dans un troupeau de femelles en contre-saison de reproduction) contrôlent le déclenchement des cycles sexuels et la survenue des ovulations.

## **QUELQUES AVANCÉES RÉCENTES DES TRAVAUX DE RECHERCHES SUR LA FONCTION OVARIENNE**

Parmi les nombreuses avancées apportées par les travaux de recherche sur la fonction ovarienne et la fertilité femelle, deux seulement seront évoquées ici, choisies pour leur intérêt chez la femme et les animaux domestiques. De plus, notre équipe de l'INRA de Nouzilly a participé concrètement à certains aspects de ces travaux, notamment sur les espèces domestiques de rente.

### ***Évaluation de la réserve folliculaire dynamique par la mesure des concentrations sanguines d'AMH***

L'hormone anti-Müllérienne, ou AMH, est connue depuis plusieurs dizaines d'années comme une hormone sécrétée spécifiquement par le testicule fœtal et jouant un rôle dans la masculinisation des voies génitales. En effet, chez le mâle, elle fait régresser très précocement les ébauches de voies génitales femelles, dénommées canaux de Müller [11]. Elle n'est pas produite par l'ovaire fœtal, permettant aux canaux de Müller de persister chez la femelle et de former ultérieurement l'utérus et les oviductes. La mise au point, dans les années 2000, de méthodes de dosage de l'AMH très sensibles dans le sang humain a permis de montrer que cette hormone était également produite par l'ovaire après la naissance et d'étudier son mode de production et ses variations endocrines.

Dans l'espèce humaine, les concentrations sanguines d'AMH, très faibles à la naissance, augmentent pendant l'enfance et la puberté pour atteindre un maximum vers l'âge de 25 ans, puis diminuent lentement jusqu'à

l'âge de 37 à 38 ans, chutant ensuite plus rapidement jusqu'à des valeurs indétectables à la ménopause [12]. Néanmoins, il existe de fortes variations des concentrations sanguines d'AMH entre femmes à tout âge de la vie. Il a été montré que l'AMH est produite par les cellules de granulosa des follicules à antrum et que ses concentrations sanguines permettent une évaluation fiable de la taille de la réserve dynamique de follicules [13]. Cette découverte a des retombées importantes en clinique humaine [14]. En effet, dans les protocoles de fécondation *in vitro*, la mesure des concentrations d'AMH permet, en évaluant la réserve avant l'administration d'un traitement de stimulation ovarienne, d'adapter ce traitement et d'éviter en particulier les hyper-stimulations potentiellement dangereuses pour les femmes. Cette mesure est aussi une aide au diagnostic de certaines pathologies, comme les insuffisances ovariennes prématurées et les ménopauses précoces, pour lesquelles les concentrations d'AMH sont anormalement basses, voire indétectables, et le syndrome des ovaires poly-kystiques, pour lequel les concentrations d'AMH sont, au contraire, anormalement élevées. Parmi les autres applications de cette méthode, on peut citer l'évaluation des effets de la chimiothérapie sur la réserve ovarienne et la prédiction mathématique, chez les femmes jeunes, de l'âge auquel elles seront ménopausées [15].

L'intérêt de la mesure de l'AMH a été plus récemment étendu à de nombreuses espèces de mammifères. Chez les bovins, les ovins et les caprins, nous avons pu montrer qu'elle permet également une évaluation fiable de la réserve dynamique de follicules ovariens [9]. Grâce à cette évaluation, il est possible aujourd'hui de trier, au sein d'un troupeau, les femelles susceptibles de répondre fortement à un traitement de stimulation ovarienne et qui sont donc de « bonnes donneuses potentielles » d'embryons, et d'en écarter les « mauvaises donneuses » [16]. Cette évaluation est faisable à partir d'une seule prise de sang et le diagnostic est valable plusieurs années, car les caractéristiques fonctionnelles d'un ovaire sont généralement stables pour chaque femelle [17]. Dans l'espèce ovine, une mesure des concentrations d'AMH chez des femelles avant la puberté permet aussi de prédire leur fertilité lors de la première insémination réalisée sur les jeunes adultes, ce qui permet aux éleveurs de choisir les femelles les plus précoces pour la mise à la reproduction [18]. Enfin, l'AMH est aussi un bon marqueur ovarien en éco-toxicologie, permettant d'évaluer les effets des toxiques environnementaux sur la fonction ovarienne et la fertilité des troupeaux [19].

***Des mutations génétiques affectant BMP15, un facteur produit par l'ovocyte, régulent la fertilité et le nombre d'ovulations chez la brebis et la femme***

En 2000, une équipe australienne publie la découverte, chez la brebis, de différentes mutations dans le gène codant la protéine BMP15 (Bone Morphogenetic Protein 15), responsables de stérilité ou, au contraire, d'ovulations multiples à chaque cycle [20]. L'année suivante, notre équipe, ainsi qu'une équipe néozélandaise et une équipe anglaise, publient simultanément la découverte d'une mutation ponctuelle qui affecte un récepteur de BMP15, dénommé BMPR1B, la présence de cette mutation générant des ovulations multiples chez les brebis mutées, de lignée dénommée «Booroola» [21]. L'intérêt pour BMP15 s'est encore accru quand il a été montré que ce facteur est produit très spécifiquement dans l'ovaire par les ovocytes et que ses récepteurs sont présents sur les cellules de granulosa et de thèque des follicules [22]. Ces découvertes marquent un tournant dans notre compréhension des mécanismes régulant la fonction ovarienne, les facteurs de la famille des BMP étant, jusqu'alors, connus uniquement pour leur rôle dans la croissance de l'os et du cartilage.

Nous avons continué à explorer le rôle de BMP15 et de son récepteur dans le contrôle de la fertilité et du nombre d'ovulations en étudiant les conséquences de la présence de différentes mutations, découvertes par les équipes de généticiens dans des races ovines provenant du sud de la France (races Mérinos d'Arles, Lacaune, Grivette) et d'Espagne (race aragonaise). Chez les animaux hétérozygotes, la présence du gène muté sur un seul chromosome est associée, quelle que soit la mutation, à une augmentation du nombre d'ovulations par cycle. En revanche, chez les animaux porteurs d'une mutation sur les deux chromosomes homologues (brebis homozygotes), deux phénotypes ovariens très différents sont observables, à savoir soit une augmentation supplémentaire du nombre d'ovulations, soit une absence d'ovulation conduisant à une stérilité (fig. 6).

L'exploration des mécanismes d'action de BMP15 et de son récepteur et des conséquences fonctionnelles des mutations a permis de conclure que [1] toutes ces mutations conduisent à des pertes de fonction, totales ou seulement partielles, des facteurs mutés et [2] il existe un «effet dose» de la voie de signalisation de BMP15 expliquant les phénotypes observés [23]. Les



Race	Lacaune	Aragonaïse	Grivette	Mérinos d'Arles
<b>Gène muté</b> <b>Mutation</b>	<b>BMP15</b> <b>FecX<sup>L</sup></b>	<b>BMP15</b> <b>FecX<sup>R</sup></b>	<b>BMP15</b> <b>FecX<sup>Gr</sup></b>	<b>BMPR1B</b> <b>FecB<sup>B</sup></b>
NO, brebis non mutées	1,9	1,3	2,5	1,7
NO, brebis hétérozygotes	3,9	2	2,9	3,2
NO, brebis homozygotes	stérile	stérile	4,6	5,9

**Fig. 6** : Conséquences de la présence de mutations dans le gène BMP15 ou son récepteur BMPR1B sur le nombre moyen d'ovulations (NO) par cycle sexuel des brebis adultes. Les mutations ont été identifiées par des équipes de généticiens français et espagnols dans des troupeaux d'animaux appartenant à différentes races ovines (Lacaune, Aragonaise, Grivette et Mérinos d'Arles). D'après A. Estienne, 2015, thèse de Doctorat, Université de Tours.

travaux de nombreuses équipes ont montré que BMP15 stimule la croissance des petits follicules mais diminue la sensibilité à FSH des follicules à antrum [24]. La perte totale de fonction de BMP15, chez les brebis porteuses de mutations délétères à l'état homozygote, bloque le développement folliculaire à des stades très précoces. En revanche, sa perte partielle autorise le développement de follicules plus sensibles à FSH et la survenue d'ovulations multiples. C'est ce qui se passe chez les brebis hétérozygotes et les brebis homozygotes porteuses d'une mutation occasionnant une perte partielle de fonction de BMP15. Nous avons montré très récemment que l'action de BMP15 peut être amplifiée et relayée par celle de l'AMH [25, 26]. Ce facteur étant connu pour inhiber à la fois la croissance des petits follicules et la sensibilité cellulaire à FSH [10], toute diminution de la production ou de



l'action de l'AMH (résultant d'une perte partielle de fonction de BMP15) peut participer aussi à la survenue d'ovulations multiples.

Chez la femme, la présence de mutations affectant BMP15 ou les facteurs impliqués dans sa voie de signalisation est recherchée aujourd'hui de façon systématique dans les cas d'insuffisance ovarienne prématurée. De nombreuses mutations de BMP15 ou de son cofacteur GDF9 ont été retrouvées associées à cette forme de stérilité [27]. De façon intéressante, d'autres mutations de GDF9, et des mutations affectant BMP1B et SMAD3 (un messenger intracellulaire de BMP15 et GDF9) ont été aussi trouvées chez des femmes mères de jumeaux [28, 29]. Ces observations suggèrent que des mécanismes similaires affecteraient la fertilité et la survenue d'ovulations multiples chez la brebis et chez la femme.

## CONCLUSIONS

Les progrès réalisés dans la connaissance de la fonction ovarienne permettent aujourd'hui de diagnostiquer et traiter de façon appropriée les problèmes d'infertilité chez la femme, et de mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques. Ils ont été permis par la diversification des méthodologies d'exploration et l'amélioration permanente de leurs performances.

Par ailleurs, l'utilisation de modèles expérimentaux animaux variés a permis de découvrir de nouveaux gènes impliqués dans le contrôle de la fertilité chez la femme. Les brebis porteuses de mutations de BMP15 en constituent un exemple. Grâce aux différents modèles de souris transgéniques étudiés au cours des 20 dernières années, on peut aujourd'hui proposer environ 200 autres «gènes candidats», impliqués dans la formation de l'ovaire, la mise en place de la réserve des follicules primordiaux, l'activation de ces follicules, leur croissance, ou leur maturation jusqu'à l'ovulation. Actuellement, le séquençage systématique du génome humain fait découvrir aussi chaque semaine de nouvelles mutations dans des gènes variés, associées à une infertilité.

L'étude de l'impact des facteurs nutritionnels, et des facteurs environnementaux d'une façon générale, reste aussi une priorité pour la recherche sur la fonction ovarienne. Le développement des follicules ovariens est un processus long, s'étalant sur plusieurs mois chez les mammifères de grande taille et la femme, ce qui doit être pris en compte dans les protocoles

expérimentaux visant à étudier les effets d'un facteur métabolique ou toxique. Par ailleurs, on découvre actuellement l'importance des expositions, hormonales ou autres, auxquelles les cellules germinales du fœtus sont soumises *in utero* sur la fonction ovarienne et la fertilité à l'état adulte. L'étude des mécanismes épi-génétiques expliquant cette empreinte fœtale constitue un front de recherche essentiel à ce jour.

## REMERCIEMENTS

Je remercie tous les participants à nos travaux de recherche sur la fonction ovarienne, notamment les équipes BINGO de l'INRA de Nouzilly, GenPhySE de l'INRA de Toulouse, MYCENAE de l'INRIA de Paris, INSERM U1133 de Paris et CITA de Saragosse (Espagne), ainsi que les plateformes CIRE et «Phénotypage et Endocrinologie» et l'Unité Expérimentale UEPAO de l'INRA de Nouzilly.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BACHELOT (A.) (2016). Polycystic ovarian syndrome: clinical and biological diagnosis. *Ann. Biol. Clin.* (Paris); 74 : 661-667.
2. TUCKER (E.J.), GROVER (S.R.), BACHELOT (A.), TOURAINE (P.), SINCLAIR (A.H.) (2016). Premature Ovarian Insufficiency: New Perspectives on Genetic Cause and Phenotypic Spectrum. *Endocr. Rev.*, 37 : 609-635.
3. BERRY (D.P.), FRIGGENS (N.C.), LUCY (M.), ROCHE (J.R.) (2016). Milk Production and Fertility in Cattle. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 4 : 269-290.
4. HUMBLLOT (P.), LE BOURHIS (D.), FRITZ (S.), COLLEAU (J.J.), GONZALEZ (C.), GUYADER JOLY (C.), MALAFOSSE (A.), HEYMAN (Y.), AMIGUES (Y.), TISSIER (M.), PONSART (C.) (2010). Reproductive technologies and genomic selection in cattle. *Vet. Med. Int.*, 2010 : 192787.
5. MONNIAUX (D.), HUET (C.), BESNARD (N.), CLÉMENT (F.), BOSCH (M.), PISSELET (C.), MONGET (P.), MARIANA (J.C.) (1997). Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl. 1997; 51 : 3-23.
6. BALEN (A.H.), LAVEN (J.S.), TAN (S.L.), DEWAILLY (D.) (2003). Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum. Reprod. Update*, 9 : 505-514.

7. MONNIAUX (D.), MICHEL (P.), POSTEL (M.), CLEMENT (F.) (2016). Multi-scale modelling of ovarian follicular development: From follicular morphogenesis to selection for ovulation. *Biol. Cell.*, 108 : 149-160.
8. BAKER (T.G.) (1963). A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 158 : 417-433.
9. MONNIAUX (D.), CLÉMENT (F.), DALBIES-TRAN (R.), ESTIENNE (A.), FABRE (S.), MANSANET (C.), MONGET (P.) (2014). The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of antral growing follicles: what is the link? *Biol. Reprod.*, 90 : 85.
10. VISSER (J.A.), THEMME (A.P.) (2005). Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 234 : 81-86.
11. JOSSO (N.), CATE (R.L.), PICARD (J.Y.), VIGIER (B.), DI CLEMENTE (N.), WILSON (C.), IMBEAUD (S.), PEPINSKY (R.B.), GUERRIER (D.), BOUSSIN (L.) *et al.* (1993). Anti-mullerian hormone: the Jost factor. *Recent Prog. Horm. Res.*, 48 : 1-59.
12. KELSEY (T.W.), ANDERSON (R.A.), WRIGHT (P.), NELSON (S.M.), WALLACE (W.H.) (2012). Data-driven assessment of the human ovarian reserve. *Mol. Hum. Reprod.*, 18 : 79-87.
13. VAN ROOIJ (I.A.), BROEKMANS (F.J.), TE VELDE (E.R.), FAUSER (B.C.), BANCISI (L.F.), DE JONG (F.H.), THEMME (A.P.) (2012). Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum. Reprod.*, 17 : 3065-3071.
14. DEWAILLY (D.), ANDERSEN (C.Y.), BALEN (A.), BROEKMANS (F.), DILAVER (N.), FANCHIN (R.), GRIESINGER (G.), KELSEY (T.W.), LA MARCA (A.), LAMBALK (C.), MASON (H.), NELSON (S.M.), VISSER (J.A.), WALLACE (W.H.), ANDERSON (R.A.) (2015). The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Hum. Reprod. Update*, 20 : 370-385.
15. TEHRANI (F.R.), SOLAYMANI-DODARAN (M.), TOHIDI (M.), GOHARI (M.R.), AZIZI (F.) (2013). Modeling age at menopause using serum concentration of anti-mullerian hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 98 : 729-735.
16. RICO (C.), DROUILHET (L.), SALVETTI (P.), DALBIES-TRAN (R.), JARRIER (P.), TOUZÉ (J.L.), PILLET (E.), PONSART (C.), FABRE (S.), MONNIAUX (D.) (2012). Determination of anti-Mullerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. *Reprod. Fertil. Dev.*, 24 : 932-944.
17. MONNIAUX (D.), RICO (C.), LARROQUE (H.), DALBIES-TRAN (R.), MEDIGUE (C.), CLEMENT (F.), FABRE (S.) (2010). Anti-Mullerian hormone, an endocrine predictor of the response to ovarian stimulation in the bovine species. *Gynecol. Obstet. Fertil.*, 38 : 465-470.

18. LAHOZ (B.), ALABART (J.L.), MONNIAUX (D.), MERMILLOD (P.), FOLCH (J.) (2012). Anti-Mullerian hormone plasma concentration in prepubertal ewe lambs as a predictor of their fertility at a young age. *BMC Vet. Res.*, 8 : 118.
19. FUSHIMI (Y.), TAKAGI (M.), MONNIAUX (D.), UNO (S.), KOKUSHI (E.), SHINYA (U.), KAWASHIMA (C.), OTOI (T.), DEGUCHI (E.), FINK-GREMMELS (J.) (2015). Effects of Dietary Contamination by Zearalenone and Its Metabolites on Serum Anti-Müllerian Hormone: Impact on the Reproductive Performance of Breeding Cows. *Reprod. Domest. Anim.*, 50 : 834-839.
20. GALLOWAY (S.M.), Mac NATTY (K.P.), CAMBRIDGE (L.M.), LAITINEN (M.P.), JUENGEL (J.L.), JOKIRANTA (T.S.), McLAREN (R.J.), LUIRO (K.), DODDS (K.G.), MONTGOMERY (G.W.), BEATTIE (A.E.), DAVIS (G.H.), RITVOS (O.) (2000). Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat. Genet.*, 25 : 279-283.
21. MULSANT (P.), LECERF (F.), FABRE (S.), SCHIBLER (L.), MONGET (P.), LANNELUC (I.), PISSELET (C.), RIQUET (J.), MONNIAUX (D.), CALLEBAUT (I.), CRIBIU (E.), THIMONIER (J.), TEYSSIER (J.), BODIN (L.), COGNIE (Y.), CHITOUR (N.), ELSEN (J.M.) (2001). Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 : 5104-5109.
22. OTSUKA (F.), YAO (Z.), LEE (T.), YAMAMOTO (S.), ERICKSON (G.F.), SHIMASAKI (S.) (2000). Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions. *J. Biol. Chem.*, 275 : 39523-39528.
23. FABRE (S.), PIERRE (A.), MULSANT (P.), BODIN (L.), DI PASQUALE (E.), PERSANI (L.), MONGET (P.), MONNIAUX (D.) (2006). Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 4 : 20.
24. Mac NATTY (K.P.), SMITH (P.), MOORE (L.G.), READER (K.), LUN (S.), HANRAHAN (J.P.), GROOME (N.P.), LAITINEN (M.), RITVOS (O.), JUENGEL (J.L.) (2000). Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 234 : 57-66.
25. ESTIENNE (A.), PIERRE (A.), DI CLEMENTE (N.), PICARD (J.Y.), JARRIER (P.), MANSANET (C.), MONNIAUX (D.), FABRE (S.) (2015). Anti-Mullerian hormone regulation by the bone morphogenetic proteins in the sheep ovary: deciphering a direct regulatory pathway. *Endocrinology*, 156 : 301-313.
26. PIERRE (A.), ESTIENNE (A.), RACINE (C.), PICARD (J.Y.), FANCHIN (R.), LAHOZ (B.), ALABART (J.L.), FOLCH (J.), JARRIER (P.), FABRE (S.), MONNIAUX (D.), DI CLEMENTE (N.) (2016). The Bone Morphogenetic Protein 15 Up-Regulates the Anti-Mullerian Hormone Receptor Expression in Granulosa Cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 101 : 2602-2611.

27. PERSANI (L.), ROSSETTI (R.), DI PASQUALE (E.), CACCIATORE (C.), FABRE (S.) (2014). The fundamental role of bone morphogenetic protein 15 in ovarian function and its involvement in female fertility disorders. *Hum. Reprod. Update*, 20 : 869-883.
28. LUONG (H.T.), CHAPLIN (J.), Mac RAE (A.F.), MEDLAND (S.E.), WILLEMSSEN (G.), NYHOLT (D.R.), HENDERS (A.K.), HOEKSTRA (C.), DUFFY (D.L.), MARTIN (N.G.), BOOMSMA (D.I.), MONTGOMERY (G.W.), PAINTER (J.N.) (2011). Variation in BMPR1B, TGFRB.1 and BMPR2 and control of dizygotic twinning. *Twin. Res. Hum. Genet.*, 14 : 408-416.
29. MBAREK (H.), STEINBERG (S.), NYHOLT (D.R.), GORDON (S.D.), MILLER (M.B.), McRAE (A.F.), HOTTENGA (J.J.), DAY (F.R.), WILLEMSSEN (G.), DE GEUS (E.J.), DAVIES (G.E.), MARTIN (H.C.), PENNIX (B.W.), JANSEN (R.), McALONEY (K.), VINK (J.M.), KAPRIO (J.), PLOMIN (R.), SPECTOR (T.D.), MAGNUSSON (P.K.), REVERSADE (B.), HARRIS (R.A.), AAGAARD (K.), KRISTJANSSON (R.P.), OLAFSSON (I.), EYJOLFSSON (G.I.), SIGURDARDOTTIR (O.), IACONO (W.G.), LAMBALK (C.B.), MONTGOMERY (G.W.), Mac GUE (M.), ONG (K.K.), PERRY (J.R.), MARTIN (N.G.), STEFANSSON (H.), STEFANSSON (K.), BOOMSMA (D.I.) (2016). Identification of Common Genetic Variants Influencing Spontaneous Dizygotic Twinning and Female Fertility. *Am. J. Hum. Genet.*, 98 : 898-908.

