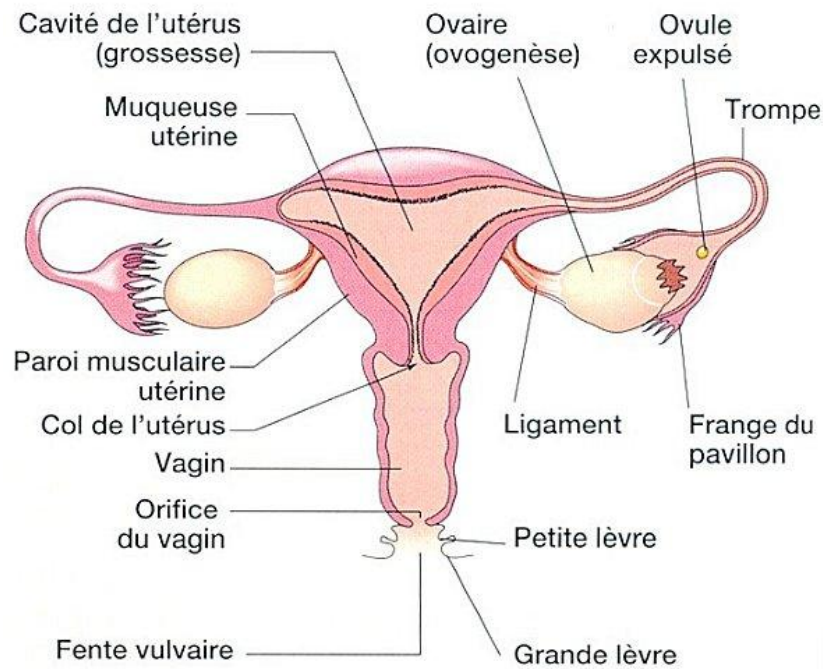


Ovogenèse – Folliculogenèse

Introduction

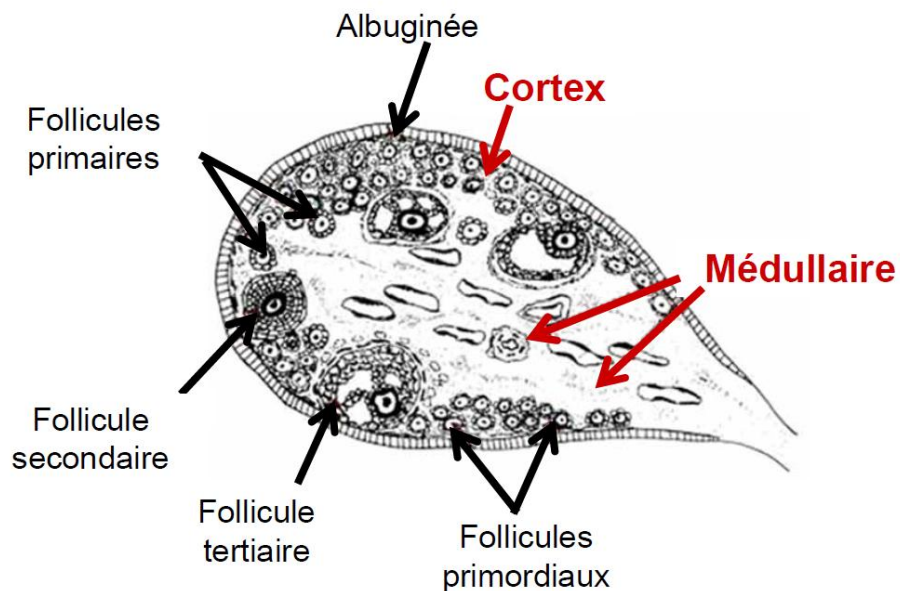
Rappel sur l'anatomie de l'appareil génital féminin



Organisation de l'ovaire

L'ovaire comprend 2 régions :

- **Le cortex** : région périphérique
- **La médulla** : région centrale, permet une irrigation du cortex et assurer le bon déroulement de la folliculogenèse



Evolution du nombre de follicules en fonction du temps

Pendant la vie intra-utérine : 7 millions de cellules souches

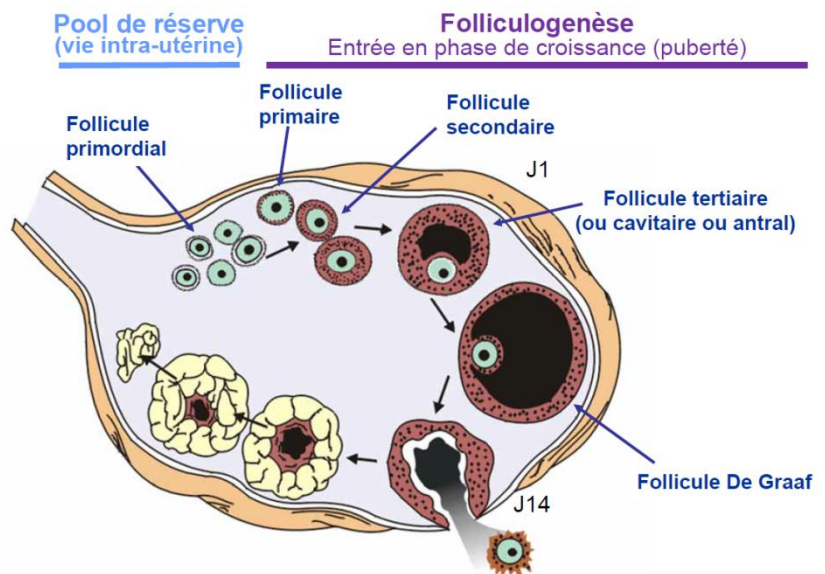
A la naissance : 1 million de follicules

Pendant la puberté : 300 000 follicules

A la ménopause : 1 000 follicules

Pendant la vie procréative d'une femme, seulement **300 à 400 ovulations** (expulsion d'un ovule potentiellement fécondable).

L'**atrésie folliculaire** (apoptose) se retrouve pendant la croissance folliculaire de base, pendant le recrutement et la sélection folliculaire.



Le cycle menstruel

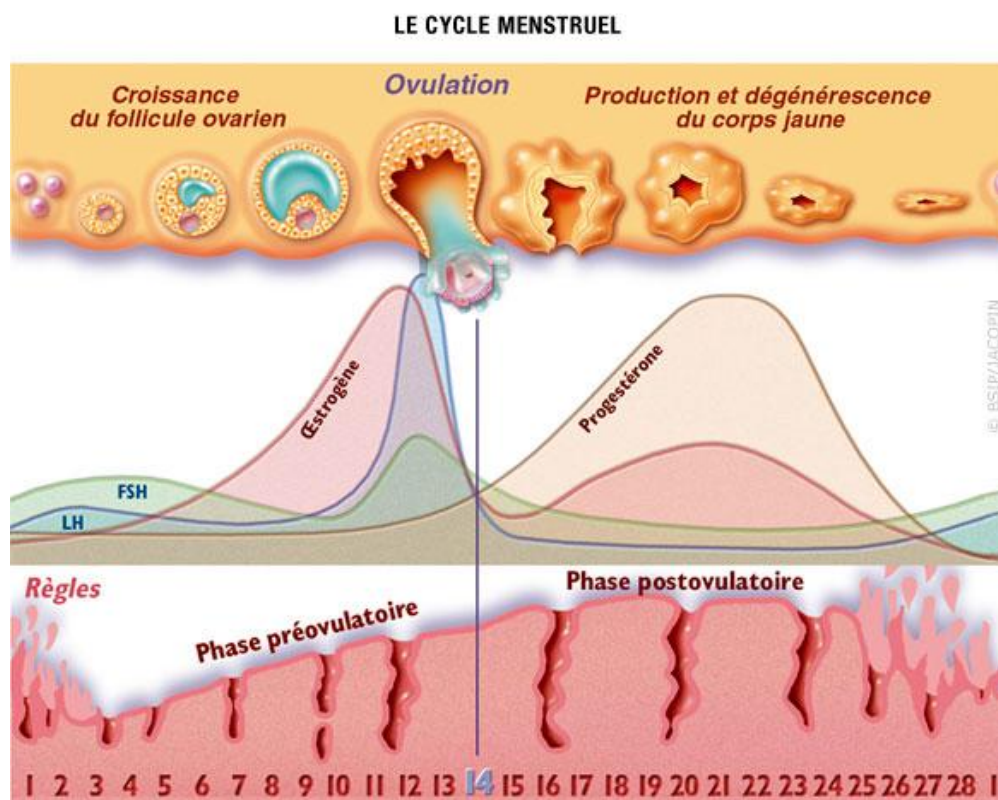
Il est **de 28 jours** dans l'espèce humaine

Il comprend 2 phases :

- **Phase folliculaire** (J0 → J14)
- **Phase lutéal** (J14 → J28)

Tous les follicules de taille inférieure à 2 mm ne sont **pas gonadotrophines sensibles** (insensibles à la LH et à la FSH).

Au-delà de 2 mm, ils deviennent **gonadotrophines sensibles**.

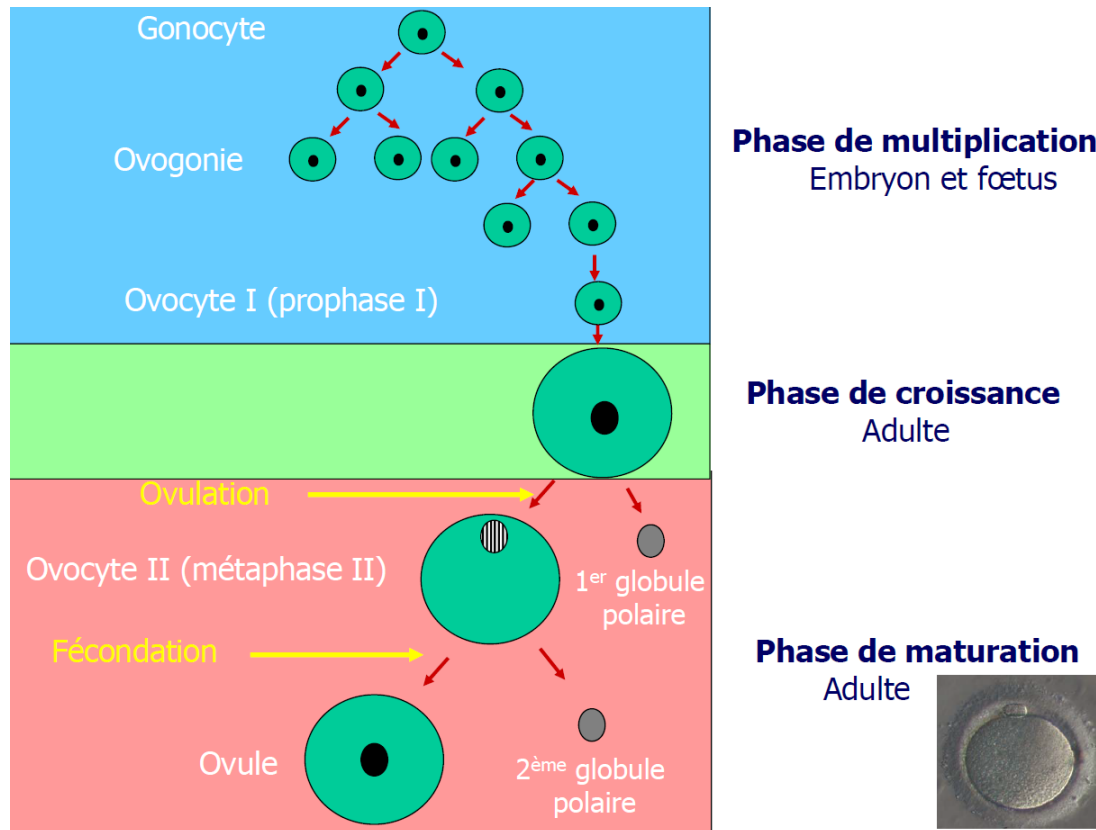


La LH (hormone lutéinisante) et la FSH (hormone folliculostimulante) sont sécrétées par l'hypophyse. Elles dirigent l'activité des ovaires tout au long du cycle menstruel.

L'ovogenèse

Finalité de l'ovogenèse

Obtenir un gamète féminin de qualité appelé **ovocyte II** ou ovocyte mature **bloqué en métaphase II**



Remarques sur l'ovogenèse

L'ovule n'existe que s'il est fécondé : sa durée de vie non-fécondée est très courte ($\approx 10h$)
(durée de vie du spermatozoïde post-éjaculation ≈ 5 jours)

Production très limitée : 1 ovocyte II / mois de la puberté à la ménopause

Rendement très faible $\approx 1/1000$ ovocytes I donnera 1 ovocyte II
Les autres meurent par **atrésie** (apoptose)

Stock limité et définitif d'environ 300 000 à 400 000 ovocytes I à la naissance
 \Rightarrow Vieillessement des ovocytes I

Croissance et maturation ovocytaire

- **Ovocyte I**

Il est situé **dans l'ovaire au niveau du follicule**.

C'est une **grosse cellule ronde** (120 μm en fin de croissance) **peu différenciée**.

Il est **bloqué en prophase I** (au stade diplotène) grâce à des substances telles que l'**AMPc** ou l'**OMI** (Oocyte Maturation Inhibitor)

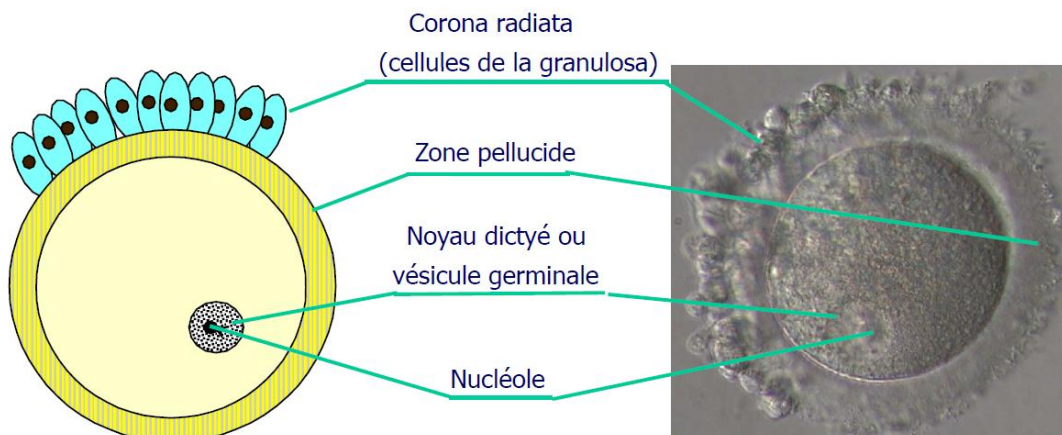
- ⇒ Plus le taux d'OMI est important, moins l'ovocyte a la capacité de reprendre sa méiose
- ⇒ Plus on se rapproche de l'ovulation, plus le taux d'OMI et d'AMPc diminue

Toutes les **cellules de la corona radiata** ont la même origine.

Les **granules corticaux** se situent en position périphérique.

Au moment de la fécondation, les granules corticaux subissent une réaction permettant une modification de la zone pellucide pour empêcher la polyspermie (= plusieurs spermatozoïdes entrent dans l'ovocyte)

Microscopie optique



- **Croissance ovocytaire**

Pendant la croissance ovocytaire, on a une acquisition des moyens nécessaires au développement embryonnaire.

Véritable **relation entre l'ovocyte et les cellules du cumulus** (= cellules de la corona radiata)

- ⇒ Les cellules du cumulus **élaborent les nutriments** pour l'ovocyte
- ⇒ L'ovocyte **protège le cumulus** contre le phénomène d'apoptose

La croissance ovocytaire est concomitante à la croissance folliculaire (l'ovocyte se trouve dans le follicule).

Sa durée est de **10 semaines**.

La taille de l'ovocyte passe de 30 μm à 120-130 μm .

Le noyau passe de 10 μm à 20 μm (diminution du rapport noyau / cytoplasme).

Au niveau du cytoplasme

- Augmentation du nombre de mitochondries
- Développement de l'appareil de Golgi
- Formation des granules corticaux
- Accumulation de ribosomes (1000 fois plus que dans une cellule somatique)
- Transcription intense
- Accumulation d'ARN (300 fois plus que dans une cellule somatique) dont la plupart ne sont pas traduits (état déadénylés)
- Synthèses spécifiques : **ZP1**, **ZP2** et **ZP3** constituent la zone pellucide de l'ovocyte

Au niveau de la zone pellucide

- Augmentation d'épaisseur (15 à 20 μm)

- **Fin de la phase de croissance**

Réorganisation de la chromatine (organisation pénucléolaire)

Arrêt de la transcription

Relocalisation de certaines protéines

Inhibition folliculaire de reprise de la méïose

Taux élevé d'OMI (Oocyte maturation Inhibitor)

Concentration intraovocytaire d'AMPC élevée empêche la reprise de la méïose

⇒ C'est au moment du pic de LH que le taux d'AMPC diminue

Phase finale de la maturation ovocytaire

In vivo : **décharge ovulante de LH**

- Rupture des jonctions perméables
- Blocage de la transmission du signal OMI
- Synthèse de stérols activateurs de méïose (MAS) par les cellules du cumulus
- Libération de calcium intracellulaire

AMPC :

- Diminution : permet la reprise de la méïose
- Cascade de phosphorylations / déphosphorylations

La folliculogenèse

Définition

Succession des différentes étapes du développement folliculaire de la sortie de la réserve jusqu'à l'ovulation ou involution (du follicule primaire au stade préovulatoire).

But

Développement puis ovulation d'un ovocyte apte à être fécondé et à permettre le développement embryonnaire.

Processus complexe

- **Interactions endocrines** (gonadotrophines)
- **Interactions paracrines** (production d'une molécule par un type cellulaire agissant sur un autre type cellulaire)
- **Interactions autocrines** (production d'une molécule agissant sur le même tissu)

L'**apoptose** est responsable de l'épuisement de la réserve ovarienne.

Un **taux élevé de FSH** sanguin (anomalie dans le rétrocontrôle négatif du follicule à l'hypophyse) est synonyme de faible réserve ovarienne.

- Gène Bax : facteur pro-apoptotique
- Gène Bcl-2 : facteur anti-apoptotique

Les différentes étapes de la folliculogenèse (5 phases)

- **Phase de quiescence** : initiation de la croissance folliculaire
- **Phase de croissance folliculaire de base**
- **Phase de recrutement**
- **Phase de sélection**
- **Phase de dominance**

Initiation de la croissance folliculaire

Le début de la croissance folliculaire est marqué par le **passage du follicule primordial au follicule primaire**

- ⇒ Augmentation de la taille de l'ovocyte
- ⇒ Changement de la forme des cellules de granulosa (aplaties → arrondies/cuboïdales)

Chez la femme, 15 à 20 follicules quittent la réserve chaque jour

Le nombre de follicule sortant de la réserve par jour diminue avec l'âge (réserve moins importante)

L'initiation peut avoir lieu :

- **Pendant la vie fœtale** : Femme, Vache
- Après la naissance: Souris, Lapine

Ces follicules sont **insensibles aux gonadotrophines** (FSH et LH)

Facteurs impliqués dans l'initiation de la croissance folliculaire :

- **Facteur KL** (Kit Ligand) : il est synthétisé par les cellules de la granulosa et possède un récepteur (C-kit) au niveau de l'ovocyte
Une augmentation de KL induit une augmentation de la sortie de follicule de la réserve
- **Facteur LIF** : une augmentation de LIF induit une augmentation de la production de follicules
- **Facteur basique FGF** : augmentation des follicules primaires
- **AMH** (Hormone Anti-Mullerienne) : produite par les cellules de la granulosa des follicules primaires et préantraux, inhibe l'initiation de la croissance des follicules primordiaux

Croissance folliculaire de base

Indépendante des gonadotrophines (follicule $< 2\text{ mm}$)

Le stade terminal de cette croissance dépend de l'espèce :

- Souris : début d'antrum
- Brebis : follicules à antrum jusqu'à un diamètre de 2 mm
- Femme : stade follicule à antrum, diamètre de $2\text{ à }5\text{ mm}$

Régulation du démarrage de la croissance

Facteurs impliqués (paracrine)

- **GDF 9** (Growth Differentiation Factor 9)
- **BMP 15** (Bone Morphogenetic Protein 15)

BMP 15 et GDF 9 sont nécessaires à la croissance des follicules primaires et à la formation des follicules secondaires.

Ils sont **sécrétés par l'ovocyte** et conditionnent le devenir de l'ovocyte et de ses relations avec les cellules de la granulosa (ou cellules du cumulus).

Ils font partis de la **superfamille des TGF β** et sont détectables chez la plupart des espèces **à partir du stade primaire**.

On ne sait pas si le signal vient du follicule ou de l'ovocyte.

Développement folliculaire terminal

Phase **dépendante des gonadotrophines**

Follicule de 2 mm de diamètre chez la femme jusqu'à l'ovulation

Correspond à la 1^{ère} phase du cycle menstruel : dure 2 semaines

Activé dès la régression du corps jaune

Il comprend 3 événements : **Recrutement**, **Sélection** et **Dominance**

• Formation de l'antrum

Au stade préantral (200 μm), formation progressive de petites cavités .

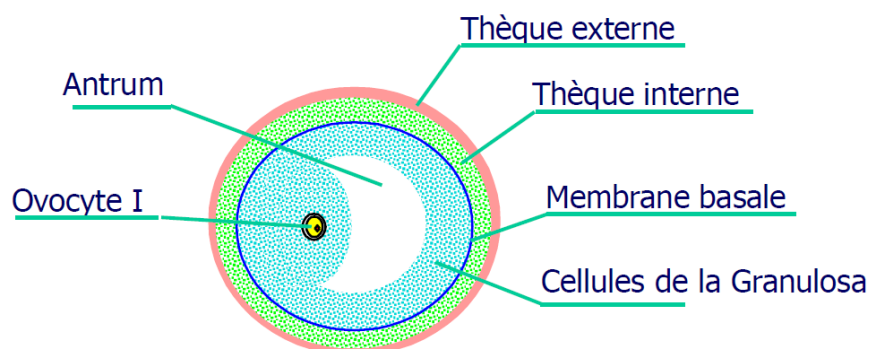
⇒ Ces cavités fusionnent et forment l'antrum, rempli de liquide folliculaire

Le volume de l'antrum augmente rapidement (multiplication des cellules de granulosa/thèque et accumulation de liquide folliculaire)

Le **liquide folliculaire** est un « transudat » du sérum, enrichi des protéines secrétées par le follicule (ovocytes et cellules de granulosa et de thèque).

La formation de l'antrum induit la différenciation des cellules de granulosa en 2 sous-populations:

- **Granulosa murales** (près de la lame basale)
- **Cellules du cumulus** (autour de l'ovocyte)



• Caractéristiques du développement folliculaire terminal

Multiplication très importante des cellules de la granulosa (50 millions de cellules dans un follicule de 20 mm).

Phases du développement folliculaire

Phase de recrutement

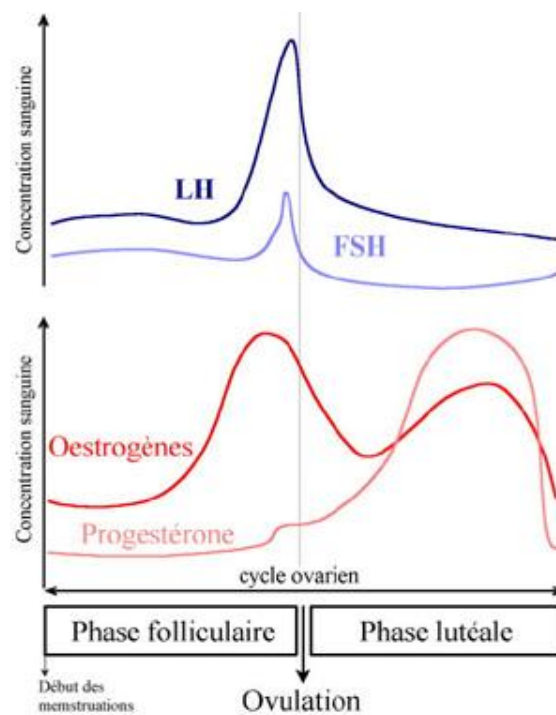
Les follicules gonado-dépendants présents dans les ovaires entrent en **croissance terminale** (follicule de diamètre supérieur à 2 mm)

On observe une **cohorte** de follicules recrutés

Cette phase de recrutement coïncide avec l'**apparition d'une activité aromatasase** (transformation des androgènes en œstrogène) dans la granulosa

Œstrogène : nécessaire pour assurer le développement terminal du follicule

Progestérone : sécrété par le corps jaune (dérive du follicule après expulsion de l'ovocyte)



Phase de sélection

Elle coïncide avec l'**apparition de récepteurs à la LH** sur les cellules de la granulosa.

Les cellules de la granulosa ont une forte production en **inhibine**.

Phase de dominance

Le follicule dominant est de grande taille.

Une fois sélectionné, **son seuil de réponse à la FSH devient très bas.**

Pendant la dominance :

- Croissance et maturation du follicule préovulatoire
- Régression par atresie des autres follicules de la cohorte
- Blocage du recrutement de nouveaux follicules

La **régulation des mécanismes de la folliculogenèse terminale** s'exerce à deux niveaux :

- ⇒ **Endocrine** : hormones LH et FSH et leurs rétrocontrôles (stéroïdes et peptides)
- ⇒ **Paracrine et Autocrine** : action local, affine les messages endocrines

Le système IGF (Insulin Growth Factor)

Principalement **IGF 2** chez la femme

- Il est sécrété par les cellules de la granulosa
- Sa sécrétion est stimulée par les gonadotrophines
- Il stimule l'activité de l'aromatase

Dans la **phase de recrutement** :

- IGF 1 permet une augmentation de la taille de la cohorte recrutée
- IGFBP-2 (IGF Binding Protein) est augmentée dans les follicules en involution

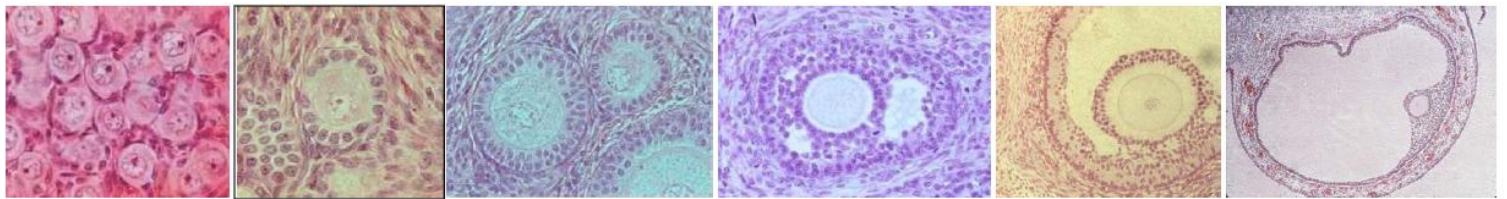
Dans la **phase de dominance** :

- IGF 1 : potentialise l'action de la LH et de la FSH

Croissance folliculaire et gonadodépendance

Stades folliculaires

primordial 0.03mm	primaire/secondaire 0.04 - 0.1mm	préantral 0.1 - 0.2mm	petit antral 0.2 - 2mm	antral 5mm	antral 6 - 8 mm	préovulatoire 17 - 20mm
----------------------	-------------------------------------	--------------------------	---------------------------	---------------	--------------------	----------------------------



PHASE
NON GONADODEPENDANTE

Facteurs de croissance locaux (ovaire)

PHASE
GONADODEPENDANTE

FSH puis FSH + LH

L'ovulation

Se produit théoriquement à J14

C'est un phénomène rare

Se caractérise par l'expulsion de l'ovocyte hors du follicule en réponse à une **forte élévation des gonadotrophines** (surtout la LH) : se produit 35 à 36 heures après la décharge ovulante de LH.

Cascades d'étapes biochimiques : **inflammation**

Follicule mature : quand concentration adéquate de récepteurs à la LH

Remaniements morphologiques du follicule mature

- Les cellules de la thèque externe deviennent **œdémateuses**.
- Les cellules de la granula arrêtent de se diviser.
- **Dissociation des cellules du cumulus oophorus** (sécrétion importante d'acide hyaluronique pilotée par l'ovocyte) sous l'effet du pic de LH (GDF9 et BMP15).
- Pénétration des vaisseaux dans la granulosa .
- Les cellules de l'épithélium ovarien s'étirent et s'aplatissent.
- Dissociation des cellules sous-jacentes, de la granulosa, des thèques et de l'albuginée.
- Le liquide folliculaire s'échappe (capturé par le pavillon de la trompe).
- Contraction du follicule sous la pression du liquide folliculaire.
- Rupture folliculaire (phénomène de nécrose).
- Remaniements vasculaires : augmentation du flux sanguin et de la perméabilité vasculaire.

⇒ Mise en place du **corps jaune**

La croissance ovocytaire

Elle se décompose en 2 périodes :

- **Croissance rapide** jusqu'à formation de l'antrum (80 à 90% de la taille finale de l'ovocyte)
- **Croissance lente** jusqu'à l'ovulation

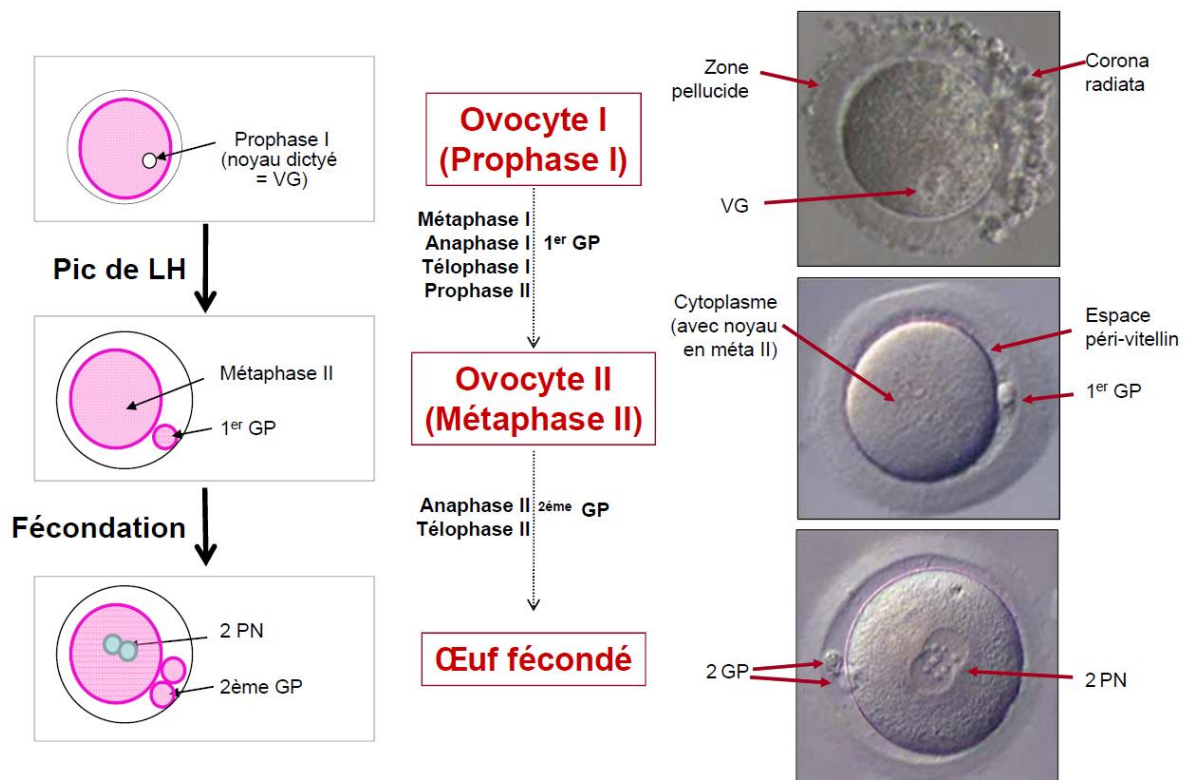
La méiose ovocytaire

L'ovocyte est bloqué au stade vésicule germinale (blocage pendant une très longue période)

Facteurs maintenant le blocage méiotique :

- **Adénosine MonoPhosphate cyclique** (AMPC)
- **Autres purines** (hypoxanthine, guanosine)
- **OMI** (Oocyte Meiosis Inhibitor)

Le maintien d'une concentration élevée en AMPC provoque un arrêt du cycle cellulaire par inhibition de la synthèse de MPF.



Maturation ovocytaire

Passage ovocyte I → ovocyte II

Durée : ≈ 36 heures

Acquisition des éléments nécessaires à fécondation normale

Maturation nucléaire

- Terminaison de la première mitose
- Blocage en métaphase II (grâce à c-mos)
- Expulsion du 1^{er} globule polaire

Maturation cytoplasmique

- Migration des granules corticaux en position périphérique
- Facteur de décondensation de la tête du spermatozoïde (Glutathion)
- Arrêt de la synthèse d'ARN
- Diminution de la synthèse protéique
- Récepteurs à l'inositol triphosphate (IP3)

Maturation des cellules péri-ovocytaires

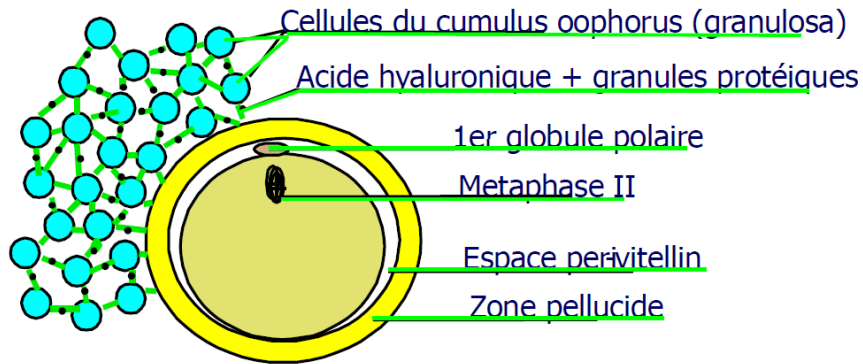
- Rupture des ponts inter-cytoplasmiques et des gap junctions
 - Liens entre l'acide hyaluronique et les granules protéiques
- ⇒ Indépendance métabolique de l'ovocyte II : durée de vie limitée (~10 h)

Facteurs déclenchants de l'ovulation

- Pic LH pré-ovulatoire
- Rupture des connections avec la corona radiata (suppression de l'OMI et de l'AMPc)
- Activation du MPF : reprise de la méiose

Ovocyte mature

Le 1^{er} globule polaire contient les 23 chromosomes excédentaires
Le fuseau nucléaire se trouve sur le même axe que le globule polaire



Conclusion

La folliculogenèse est un phénomène continu au niveau de l'ovaire.
Présente une activité propre et une régulation locale où l'axe hypothalamo-hypophysaire contrôle et module les étapes finales de la croissance folliculaire et l'ovulation.