

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE**

**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**

**Département des sciences Biologiques**



**Polycopié de cours**

**Reproduction et embryologie et  
approfondie**

**Adapté au Master de Biologie**

**Physiologie de la Reproduction (BPR)**

**Présenté par :**

**Mme AKDADER née OUDAHMANE S**

**Année 2022**

## **Résumé**

L'embryologie est la science qui se consacre à l'étude du développement de l'embryon, c'est-à-dire à la période de la vie comprise entre la fécondation de l'œuf et la naissance. Aussi, c'est l'étude du développement de l'être vivant (Ontogenèse). La reproduction est le processus par lequel les organismes se répliquent. C'est aussi l'un des concepts les plus importants en biologie : cela signifie faire une copie, une ressemblance, et ainsi assurer la survie des espèces.

Le présent cours est axé sur l'acquisition des notions de bases qui sont fondamentales et nécessaires pour la compréhension des grands mécanismes impliqués dans la formation des crêtes génitales et colonisation par les gonocytes primordiaux, jusqu'à la formation d'une gonade bien différenciée de l'embryon. Il a également pour objectif, les connaissances des processus fondamentaux mis en œuvre dans la gamétogenèse et la reconnaissance inter-gamétique, sur la régulation hormonale et paracrine des fonctions reproductrices.

**Mots clés :** Reproduction, embryologie, gamètes, différenciation, régulation hormonale

SOMMAIRE	PAGE
<b>I.Morphogenèses des gonades</b>	2
<b>I.1. Crête génitale et cellules germinales</b>	2
<b>I.2. Transformation de la gonade indifférenciée à la gonade sexuellement différenciée</b> .....	4
<b>I.2.1. Développement de la crête génitale</b> .....	4
<b>I.2.1.1. Formation d'une gonade mâle</b> .....	5
<b>I.2.1.2. Formation d'une gonade femelle</b> .....	5
<b>I.3. Différenciation des conduits génitaux</b> .....	6
<b>I.3.1. Canaux de Wolff ou canaux mésonéphrotiques</b> .....	6
<b>I.3.2. Canaux de Müller ou canaux paramésonéphrotiques</b> .....	6
<b>II. Sexe génétique et différenciation sexuelle</b> .....	9
<b>II.1. Détermination génétique du sexe : formule génétique et différenciation des gonades : Premières hypothèses</b> .....	9
<b>II.1.1. Anomalies hétérosomales</b> .....	10
<b>II.1.2. Inversions sexuelles</b> .....	10
<b>II.2. Détermination primaire du sexe par les chromosomes</b> .....	12
<b>II.2.1. Détermination du sexe gonadique mâle</b> .....	12
<b>II.2.2. Détermination du sexe gonadique femelle</b> .....	14
<b>II.2.2.1. Différenciation des gonades</b> .....	14
<b>II.2.2.1.1. La mise en place du sexe phénotypique mâle : la masculinisation des voies génitales</b> .....	15
<b>II.2.2.1.2. La mise ne place du sexe phénotypique femelle</b> .....	15
<b>II.3. Rôles de la cellule de Sertoli dans la différenciation du testicule</b> .....	19
<b>II.4. Hormones dans la différenciation sexuelles des mammifères et la différenciation sexuelles en male et en femelle</b> .....	20
<b>II.4.1. Rôles de la testostérone dans la mise en place du phénotype mâle</b> .....	20
<b>II.4.2. Rôles de l'hormone anti-müllérienne dans la mise en place du phénotype mâle</b> .....	20
<b>II.5. Mécanisme d'extinction d'un chromosome x chez la femelle des mammifères ..</b>	23
<b>II.5.1. Mise en place</b> .....	25

<b>II.5.2. Maintenance</b> .....	26
<b>III.Généralités sur la gamétogenèse</b> .....	26
<b>III.1. différentes phases de la méiose</b> .....	28
<b>III.1.1. Prophase I (de la méiose I)</b> .....	28
<b>III.1.1.1. Leptotène</b> .....	29
<b>III.1.1.2. Zygotène</b> .....	29
<b>III.1.1.3. Pachytène</b> .....	29
<b>III.1.1.4. Diplotène</b> .....	30
<b>III.1.1.5. Diacinèse</b> .....	30
<b>IV. Spermatogenèse</b> .....	31
<b>IV.1. Rappels anatomique du testicule</b> .....	31
<b>IV.1.1 Tubes séminifères</b> .....	32
<b>IV.1.2. Tissu interstitiel</b> .....	33
<b>IV.2. Cytologie et la cinétique de la spermatogenèse</b> .....	33
<b>IV.2.1. Cytologie de la spermatogenèse</b> .....	33
<b>IV.3. Cinétique de la spermatogenèse</b> .....	37
<b>IV.3.1. Cycle spermatogénétique</b> .....	37
<b>IV.3.2. Cycle de l'épithélium séminal</b> .....	37
<b>IV.4. Efficacité de la spermatogenèse</b> .....	39
<b>V.Ovogenèse et évolution folliculaire</b> .....	39
<b>V.1. Ovogenèse</b> .....	39
<b>V.1.1.Cinétique de la croissance folliculaire</b> .....	41
<b>V.1.1.1. Réserve ovarienne</b> .....	41
<b>V.1.1.2. Initiation</b> .....	42
<b>V.1.1.3. Croissance basale</b> .....	43
<b>V.1.1.4. Vagues folliculaires</b> .....	43
<b>V.1.1.5. Durée des différentes étapes de la folliculogenèse</b> .....	44
<b>V.2. Evolution folliculaire</b> .....	45
<b>V.2.1. Phase non gonadodépendante</b> .....	45
<b>V.2.2. Phase gonadodépendante</b> .....	45
<b>V.2.2.1. Recrutement</b> .....	46
<b>V.2.2.2. Sélection</b> .....	47

<b>V.2.2.3. Dominance .....</b>	<b>47</b>
<b>V.2.3. Ovulation.....</b>	<b>48</b>
<b>V.3. Fonction lutéale cyclique .....</b>	<b>49</b>
<b>V.3.1. caractéristiques morphologique du corps jaune .....</b>	<b>50</b>
<b>V.3.2. Sécrétion de progestérone et facteurs lutéotropes .....</b>	<b>51</b>
<b>V.3.3. Mécanismes de la lutéolyse .....</b>	<b>53</b>
<b>V.3.4. Mise en évidence du rôle de l'utérus dans le processus lutéolytique.....</b>	<b>53</b>
<b>V.3.4.1. Distribution de la prostaglandine F2<math>\alpha</math> (PGF2<math>\alpha</math>).....</b>	<b>54</b>
<b>V.3.4.2. Mécanisme d'action de la prostaglandine F2<math>\alpha</math> (PGF2<math>\alpha</math>).....</b>	<b>55</b>
<b>VI. Contrôle endocrinien de la gamétogenèse.....</b>	<b>57</b>
<b>VI.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires .....</b>	<b>57</b>
<b>VI.1.1. Action des gonadotrophines .....</b>	<b>57</b>
<b>VI.1.2. Régulation de la stéroïdogènese.....</b>	<b>58</b>
<b>VI.1.3 Régulation de la spermatogenèse .....</b>	<b>59</b>
<b>VI.1.4. Régulation intra-gonadique des fonctions testiculaires .....</b>	<b>59</b>
<b>VI.1.4.1. Interactions cellules germinales-cellules de Sertoli .....</b>	<b>59</b>
<b>VI.1.4.2. Contrôle de la fonction leydigienne .....</b>	<b>61</b>
<b>VI.2. Contrôle endocrinien des fonctions ovariennes.....</b>	<b>61</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>62</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma de la coupe longitudinale du testicule humain (Tortora et Gerard, 2007).....	2
<b>Figure 2</b> : Développement des cellules germinales (O'Donnell et al., 2017).....	4
<b>Figure 3</b> : Différentes étapes de la méiose gamétique masculine (Gunes, et al., 2015).....	5
<b>Figure 4</b> : Cycle de l'épithélium séminal chez l'homme (Dym et Clermont, 1970).....	7
<b>Figure 5</b> : Régulation de la fonction endocrine du testicule (Shah et al., 2021).....	11
<b>Figure 6</b> : Etapes de développement du follicule ovarien chez la femelle (Araújo et al., 2014).....	13
<b>Figure 7</b> : Taux de sortie de la réserve des follicules primordiaux ; taille et vitesse de croissance folliculaire (Monniaux et al., 2004).....	16
<b>Figure 8</b> : Recrutement, sélection et dominance des follicules (Driancourt, 2001).....	18
<b>Figure 9</b> : Récapitulatif des principales étapes du développement folliculaire de la maturation ovocytaire (Monniaux et al., 2004).....	20
<b>Figure 10</b> : Corps jaune cyclique montrant les cellules lutéales (Noreldin et al., 2021).....	25
<b>Figure 11</b> : Biosynthèse de la progestérone dans la cellule lutéale (Niswender et al., 2000).....	26
<b>Figure 12</b> : Action de la PGF2 $\alpha$ et de l'ET-1 sur la sécrétion de progestérone par les cellules lutéales (Milvae, 2000) .....	31
<b>Figure 13</b> : Représentation schématique d'une coupe transversale d'un embryon de Vertébré au début de l'organogenèse (Mäkelä et al., 2019).....	32
<b>Figure 14</b> : Migration et chronologie du développement des cellules germinales primordiales chez l'espèce humaine (De Felici, 2013).....	34
<b>Figure 15</b> : Formation des conduits génitaux interne chez le fœtus (Biason-Lauber, 2010) .....	38
<b>Figure 16</b> : Caryotype normal chez l'homme (Boloohan et al., 2016).....	39
<b>Figure 17</b> : Recombinaison génétique chez l'homme (Wilhelm et al., 2007).....	41
<b>Figure 18</b> : Comparaison de la structure de la protéine SRY chez deux mammifères : l'homme et la souris (Wilhelm et al., 2007).....	43
<b>Figure 19</b> : Gènes impliqués dans la différenciation des gonades (She et yang, 2017).....	44
<b>Figure 20</b> : Schéma récapitulatif de la différenciation des gonades chez la souris (DeFalco et Capel, 2009).....	45
<b>Figure 21</b> : Coupe de testicule de fœtus de rat de 15 jours observé au MET (Hess et França, 2005). 51	
<b>Figure 22</b> : Schéma représentant l'implication des hormones testiculaires dans la différenciation du tractus génital mâle (Feng et al., 2009).....	52
<b>Figure 23</b> : Corpuscule de Barr visible dans le noyau par immunofluorescence indirecte (indiqué par une flèche) (Hong et al.,2001).....	54
<b>Figure 24</b> : Schéma illustrant l'inactivation d'un chromosome X (Jones et Lopez, 2006).....	55

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Anomalies chromosomiques touchant les chromosomes sexuels ( <b>Mishra <i>et al.</i>, 2019</b> ).....	<b>40</b>
<b>Tableau II</b> : Chronologie de la différenciation des gonades: Ce tableau présente les étapes clés de la différenciation des gonades chez différentes espèces: la souris, le rat, le bovin et l'humain. ( <b>Magre et Vigier, 2006</b> ).....	<b>49</b>

## INTRODUCTION

L'embryon humain est issu de la fécondation du gamète maternel, l'ovocyte, par le gamète paternel, le spermatozoïde.

Lors de la formation de cet embryon s'établit ce qu'on nomme le sexe génétique. En effet, les gamètes parentaux contiennent le matériel génétique du futur embryon. Si l'œuf est constitué de deux chromosomes X, l'embryon sera de sexe génétique féminin, en revanche, s'il est constitué d'un chromosome X et d'un chromosome Y, ce sera un embryon de sexe génétique masculin. Le contenu chromosomique de l'œuf va déterminer la différenciation des gonades.

Habituellement, les embryons de sexe génétique féminin XX, ont un développement ovarien tandis que les embryons de sexe génétique masculin, ont un développement testiculaire. On parle alors de sexe gonadique.

Enfin, lorsque la gonade est fonctionnelle, celle-ci permet le développement des voies génitales et des organes génitaux externes féminin ou masculin, on parle de sexe phénotypique correspondant au sexe identifié cliniquement.

Le développement de la gonade est la première étape de la mise en place de l'appareil génital. Il commence très précocement, dès la 3ème semaine de développement chez l'humain, par la mise en place d'une structure indifférenciée identique chez les embryons XX et XY.

### I. Morphogenèses des gonades

L'appareil génital se met en place lors, du développement embryonnaire, sous le contrôle de plusieurs gènes et hormones, en relation avec les chromosomes sexuels présents. Le début de ce développement est commun chez l'homme et la femme et est étroitement lié à celui de l'appareil urinaire.

Ces appareils se développent à partir de proliférations mésoblastiques qui sont les crêtes urogénitales. Deux paires de canaux urogénitaux s'ouvrent initialement dans une même cavité cloacale, dont le développement sera dépendant du sexe de l'embryon. Bien que le sexe de l'embryon soit déterminé dès la fécondation, le développement de l'appareil génital est marqué par l'existence jusqu'à la fin de la sixième semaine d'un stade indifférencié.

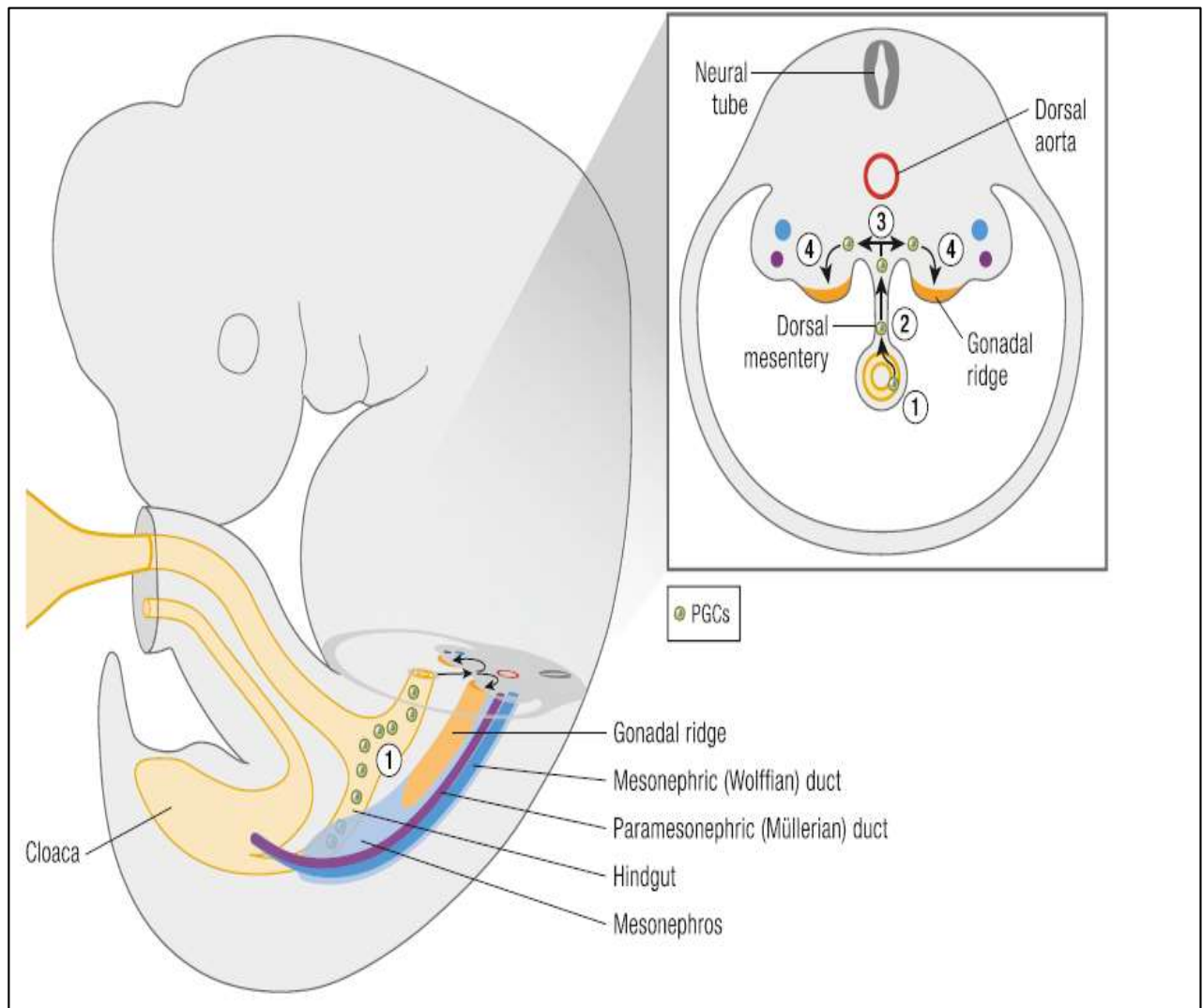
Il existe trois constituants d'origines différentes à savoir les crêtes génitales (d'origine épithélium cœlomique), le blastème gonadique (origine mésonéphritique) et les gonocytes primordiaux extragonadiques.

#### I.1. Crête génitale et cellules germinales

Au début de l'organogenèse, on observe la formation d'une crête génitale qui est colonisée par les cellules germinales. La crête génitale est issue (de même que les reins) du mésoderme intermédiaire, situé entre le mésoderme latéral et les somites. Le mésoderme intermédiaire comporte les crêtes génitales (futurs gonades) et les tissus néphrétiques (mésonéphros, au niveau de ces crêtes génitales, qui donnera les conduits génitaux), ou encore métanéphros plus postérieurement (qui donnera les reins chez les Mammifères). Les cellules germinales proviennent d'une région mésodermique extracellulaire chez les mammifères (Figure 1).

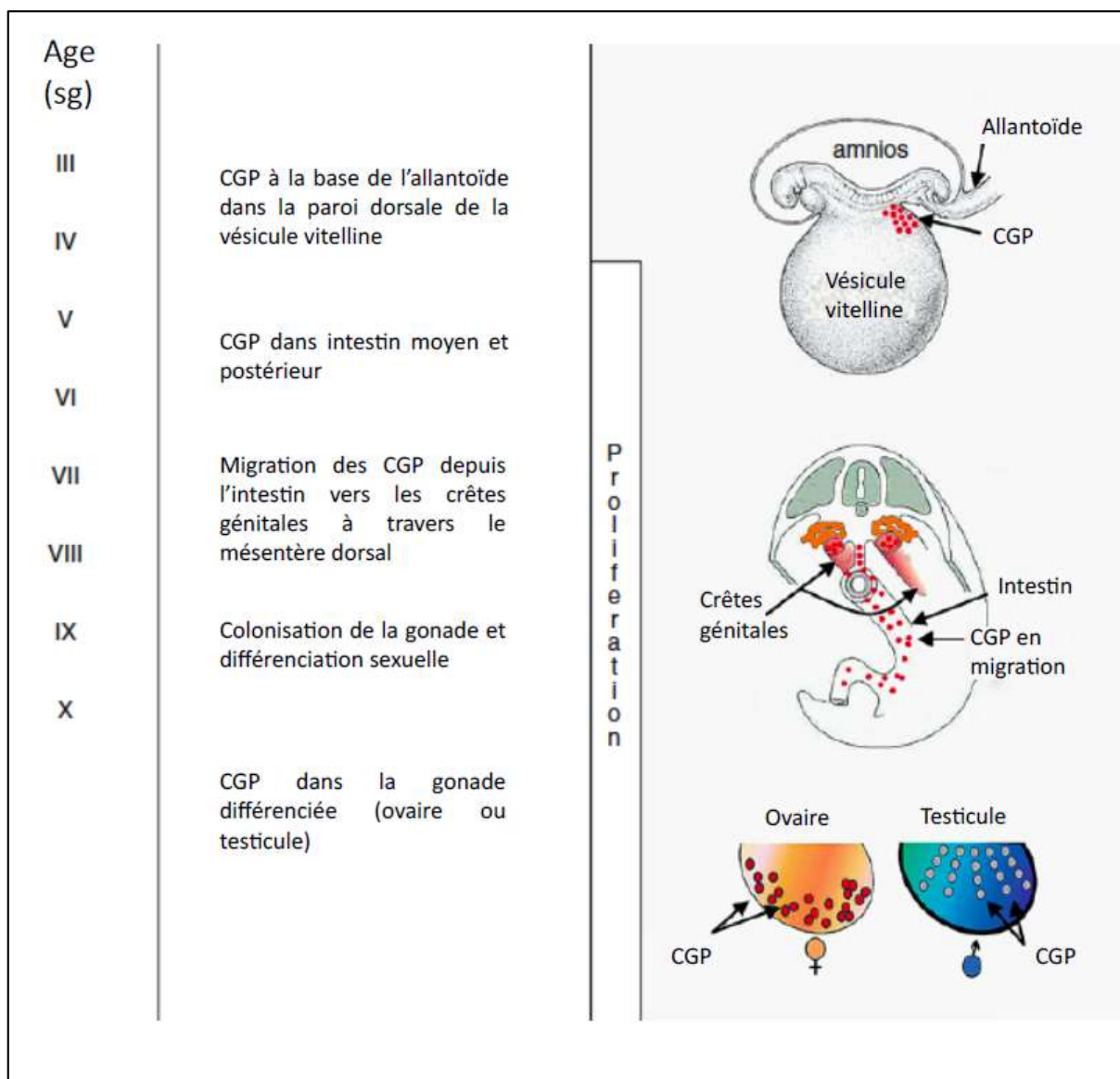
Les gonocytes primordiaux, apparaissent vers le 21<sup>ème</sup> jour de gestation dans une aire extra-embryonnaire de la paroi de la vésicule vitelline à proximité de l'allantoïde (Figure 2).

Il s'agit de cellules volumineuses (20 à 25 µm) qui vont se diviser et subir une double migration pour rejoindre leur localisation définitive (crêtes génitales) par des mouvements dits "amiboïdes" (elles sont attirées par les facteurs chimiotactiques des crêtes génitales):



**Figure 1 :** Représentation schématique d'une coupe transversale d'un embryon de Vertébré au début de l'organogenèse (Mäkelä et al., 2019)

Migration passive, liée à la délimitation longitudinale de l'embryon et une migration active réalisée par des mouvements amiboïdes le long du mésentère dorsal de l'intestin postérieur, pour aller ensuite coloniser chaque côté la crête génitale. Les gonocytes subissent des divisions mitotiques au cours de leur migration. Les cellules germinales migrent, chez tous les vertébrés, pour aller coloniser la crête génitale. Chez les Mammifères, ces cellules sont originaires du mésoderme extra-embryonnaire. Elles accomplissent leur migration en passant par l'allantoïde



**Figure 2 :** Migration et chronologie du développement des cellules germinales primordiales chez l'espèce humaine (De Felici, 2013)

## I.2. Transformation de la gonade indifférenciée à la gonade sexuellement différenciée

La première étape de la différenciation morphologique de l'appareil génital est la formation d'une ébauche de gonade indifférenciée.

### I.2.1. Développement de la crête génitale

L'ébauche de la gonade peut, au cours de son développement, se développer soit en ovaire soit en testicule, selon ses déterminants génétiques. Elle apparaît, chez l'espèce humaine, dans le

mésoderme intermédiaire pendant la quatrième semaine de développement et se développe d'abord de la même manière chez les deux sexes jusqu'à la septième semaine.

L'épithélium de la crête génitale se développe dans le tissu conjonctif ; il se forme alors des cordons sexuels primitifs qui s'entourent de cellules germinales. Ces cordons sexuels vont proliférer jusqu'à la huitième semaine dans le tissu conjonctif.

la deuxième étape de la différenciation sexuelle est la formation d'une gonade différenciée mâle et femelle.

### **I.2.1.1. Formation d'une gonade mâle**

Pour les fœtus XY, on observe dans la crête génitale la formation de deux types de cordons : les cordons testiculaires qui contiennent les cellules germinales qui produiront les futurs spermatozoïdes ; et les cordons du *rête testis* qui se trouvent à l'extrémité des cordons testiculaires. Le canal de Wolff est relié aux cordons du *rête testis* par des restes du tube mésonéphrétique et se différencie en canal déférent pour permettre la sortie des spermatozoïdes.

Au cours de ce développement, les cellules du mésenchyme interstitiel des testicules vont devenir les cellules de Leydig (production de la testostérone qui favorise le maintien du canal de Wolff) et les cellules des cordons testiculaires, autres que les cellules germinales, vont se différencier en cellules de Sertoli (nutrition des spermatozoïdes et sécrétion de l'hormone anti-Müllerienne qui favorise la dégénérescence du canal de Müller (Figure 3).

### **I.2.1.2. Formation d'une gonade femelle**

Chez les foetus de type femelle ou XX, les cordons sexuels primitifs dégénèrent et l'épithélium de surface produit. Néanmoins de nouveaux cordons qui ne pénètrent pas dans le tissu conjonctif mais qui restent en contact avec la surface corticale de la crête génitale.

Ces cordons forment les amas cellulaires différenciés de la granulosa (d'origine somatique) et entourent les cellules germinales.

Les cellules des thèques (cellules périphériques et protectrices) se forment ensuite autour de chaque ensemble (granulosa et cellule germinale), pour former les follicules.

Pour les individus XX, on observe une dégénérescence du canal de Wolff par l'absence de testostérone et le canal de Müller se développe pour former l'appareil génital femelle (l'oviducte, l'utérus, le canal cervical et le vagin supérieur (Figure 3).

### **I.3. Différenciation des conduits génitaux**

La troisième étape de développement est l'acquisition du sexe phénotypique. Les gonades en développement secrètent un certain nombre d'hormones. En particulier, le testicule secrète la testostérone et l'hormone anti-Müllerienne. Ces hormones permettent le développement de l'ensemble de l'appareil génital vers un phénotype mâle. Cette acquisition du sexe phénotypique est visible en particulier au niveau des canaux de Wolff et de Müller. Au stade indifférencié de l'appareil génital, les canaux de Wolff et de Müller sont présents. Les voies génitales ont un développement identique dans les deux sexes, de la quatrième à la fin de la septième semaine. Elles s'individualisent à partir de deux systèmes de canaux pairs.

#### **I.3.1. Canaux de Wolff ou canaux mésonéphrotiques**

Ils logent le bord antéro-externe du mésonéphros. Le mésonéphros constitue un organe ovoïde, pair, situé sur la paroi abdominale postérieure. Sur sa face médiane est située l'ébauche gonadique. L'ensemble prend le nom de *crête uro-génitale*, recouverte d'un épithélium appelé *méso uro-génital* et lui sont accolés jusqu'à son extrémité inférieure.

Ils rejoignent le cloaque au cours de la cinquième semaine à la partie moyenne de sa face postérieure. Par l'intermédiaire du rete, connexions entre le blastème somatique (ébauche gonadique) et les tubules mésonéphrotiques, les canaux de Wolff sont alors en relation avec l'ébauche gonadique. A la fin de la cinquième semaine, les canaux de Wolff émettent dans leur portion la plus caudale un bourgeon, le diverticule urétéral, qui se développe dans du mésoblaste intermédiaire: futur métanéphros. La sixième semaine du développement voit l'incorporation progressive de la partie distale des canaux de Wolff dans la paroi du cloaque; ainsi les canaux de Wolff participent à la constitution du sinus urogénital et on observe à la septième semaine une séparation de l'abouchement des canaux génitaux et des orifices urétéraux (métanéphros) dont l'insertion reste plus haute dans la paroi postérieure du sinus.

#### **I.3.2. Canaux de Müller ou canaux paramésonéphrotiques**

Ils apparaissent au cours de la sixième semaine sous forme d'une invagination longitudinale de l'épithélium cœlomique du bord antéro-externe du mésonéphros. Cette invagination s'enfonce

dans le mésenchyme (entre l'épithélium des crêtes génitales et l'ébauche du mésonéphros se met en place un *blastème mésenchymateux* à l'origine des cellules somatiques de la gonade. Bien que ces cellules jouent un rôle capital dans la gamétogénèse, leur provenance demeure inconnue et progresse vers l'arrière.

A la fin de la sixième semaine, l'épithélium superficiel s'est reconstitué et on observe deux canaux dont la partie céphalique s'ouvre dans la cavité coelomique.

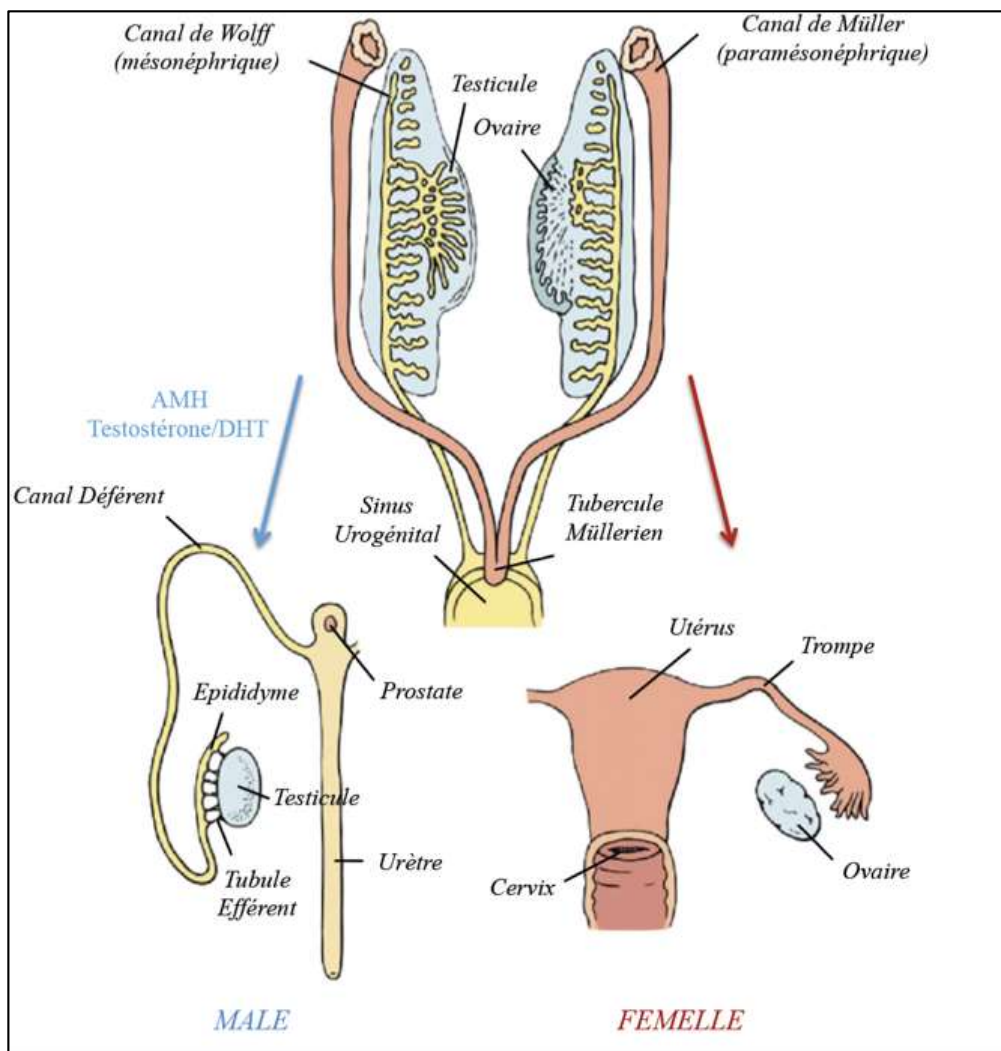
A la septième semaine, le développement caudal des canaux de Müller leur fait rejoindre la ligne médiane et croiser ventralement les canaux de Wolff. Leur extrémité distale rejoint la paroi postérieure du sinus urogénital à sa partie médiane et au niveau des canaux de Wolff.

L'extrémité distale des canaux de Müller est pleine et s'acole sans ouverture à la paroi du sinus urogénital qui s'épaissit en regard pour former le tubercule de Müller au cours de la huitième semaine. Sinus urogénital. Le cloaque est divisé en une partie antérieure, le sinus urogénital et une partie postérieure le canal ano-rectal. Le septum uro-rectal, ou éperon périnéal, cloisonne le cloaque, séparant en avant le sinus urogénital du rectum en arrière. La membrane cloacale devient la membrane anale.

Chez le foetus mâle, les canaux de Müller régressent totalement, ne laissant qu'un reliquat facultatif au niveau de l'épididyme (l'hydatide sessile) et un petit diverticule de l'urètre prostatique (l'utricule prostatique).

Dans leur partie supérieure les canaux de Wolff régressent en ne laissant qu'un reliquat (l'hydatide pédiculée). Dans leur partie moyenne, ils constituent les canaux épидидymaires, où s'abouchent les canaux efférents (anciens tubules mésonéphrétiques entrés en communication avec le rete testis). Dans leur portion inférieure ils deviennent les canaux éjaculateurs qui débouchent dans l'urètre prostatique. A l'union entre ces segments, deux bourgeonnements de la paroi forment les ébauches des vésicules séminales. La partie distale des conduits génitaux et urinaire dépend de l'évolution du sinus uro-génital, essentiellement à partir de la neuvième semaine. Les organes génitaux externes se forment de la neuvième à la quatorzième semaine à partir du tubercule génital. Les orifices génitaux et urinaires sont communs (Figure 3). Chez le foetus femelle, les canaux de Wolff régressent entièrement en laissant quelques reliquats embryonnaires sous la forme de petits kystes allongés (canaux de Gärtner) que l'on retrouve contre les parois latérales de l'utérus et du vagin et, dans leurs parties hautes, l'hydatide pédiculée et l'épiphore.

Les canaux de Müller forment, dans leurs segments supérieurs, les trompes de Fallope. Dans leurs segments inférieurs, ils fusionnent pour constituer le canal utéro-vaginal (présentant un renflement postérieur, le tubercule de Müller) alors que les segments moyens évoluent en deux cornes utérines. A partir du quatrième mois, les deux cornes utérines se soudent en un utérus unique, le tubercule de Müller devient le col de l'utérus et le vagin se cavité. La partie distale des conduits génital (partie basse du vagin) et urinaire dépend de l'évolution du sinus uro-génital, à partir du quatrième mois. Les organes génitaux externes se forment au cours du troisième mois à partir du tubercule génital. Les orifices urinaire et génital sont totalement distincts l'un de l'autre (Figure 3).

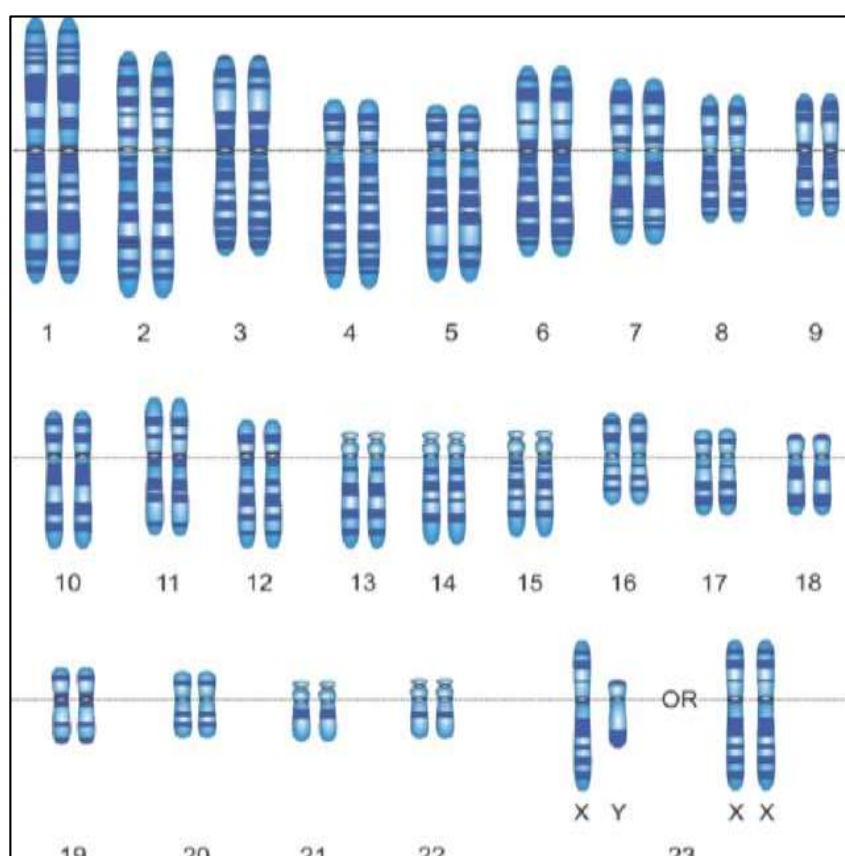


**Figure 3 :** Formation des conduits génitaux interne chez le fœtus (Biaison-Lauber, 2010)

## II. Sexe génétique et différenciation sexuelle

### II. 1. Détermination génétique du sexe : formule génétique et différenciation des gonades : Premières hypothèses

Tout corps humain contient 23 paires de chromosomes, portant les gènes, dans le noyau de chaque cellule. Ce bagage génétique provient en partie de la mère (23 chromosomes) et du père (23 chromosomes). La 23ème paire est différente selon le sexe : Les femmes héritent d'un chromosome X de chaque parent ; tandis que les hommes ont un chromosome Y provenant du père et un chromosome X de la mère. Les femmes sont donc XX et les hommes XY (Figure 4).



**Figure 4:** *Caryotype* normal chez l'homme (Boloan et al., 2016)

Or, on sait que chez certaines espèces animales (la drosophile, par exemple), le sexe est déterminé par le nombre de chromosomes X (plus précisément, par le rapport entre le nombre de chromosomes X et le nombre d'autosomes). Il est donc alors possible de supposer un tel mode de contrôle génétique du sexe : le nombre de chromosome de X déterminerait le sexe. Toutefois,

cette première hypothèse est contredite par l'observation d'anomalies chromosomiques touchant les chromosomes sexuels : les anomalies hétérosomales.

### II.1.1. Anomalies hétérosomales

On peut observer un certain nombre d'anomalies dans le nombre de chromosomes sexuels présentés par certains individus. Selon les cas, ces anomalies conduisent à des individus présentant un phénotype mâle, ou un phénotype femelle :

**Tableau 1** : Anomalies chromosomiques touchant les chromosomes sexuels (**Mishra et al., 2019**)

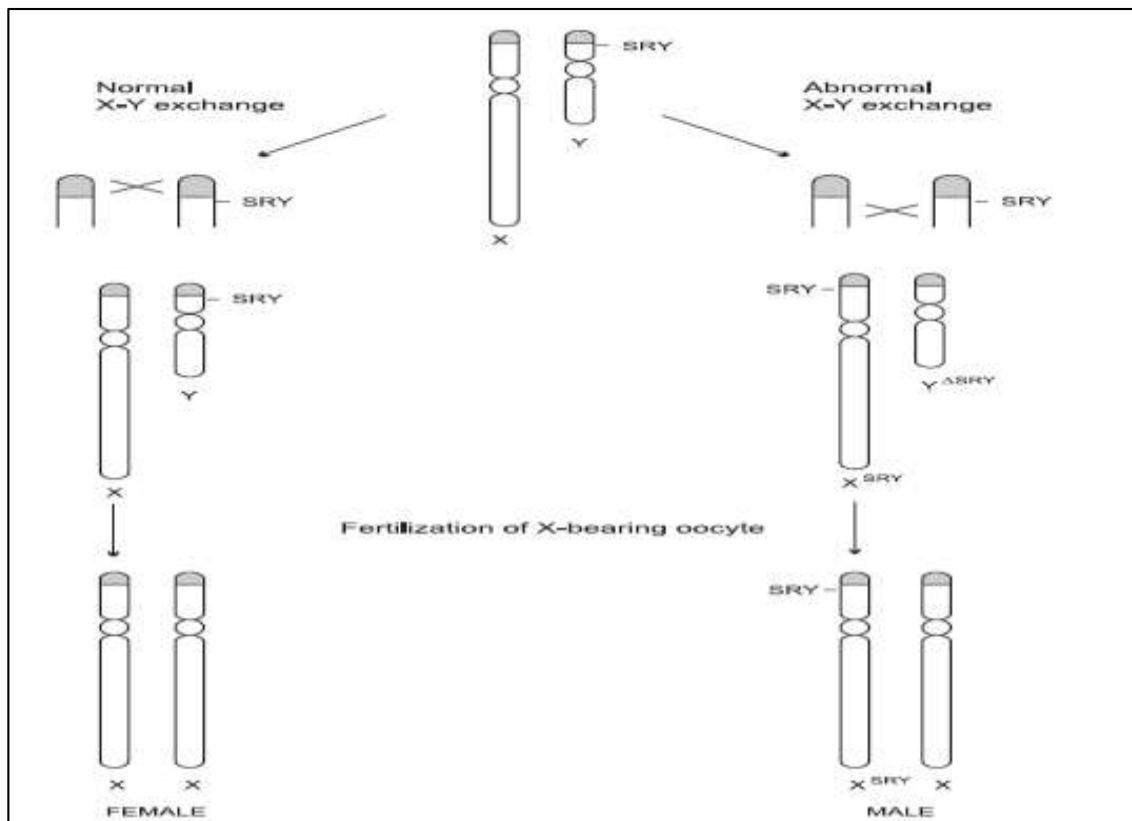
	Femelles	Mâles
Stériles	<b>XO</b> : Absence d'un chromosome X. Le syndrome de Turner avec immaturité des organes sexuels à l'adolescence.	<b>YO</b> : Absence du chromosome X. Cette anomalie est létale. <b>XXY</b> : Présence d'un chromosome X surnuméraire. Le syndrome de Klinefelter. <b>XXYY, XXXY, XXXXY ou XXX/XY</b> : Présence de chromosomes surnuméraires. Ce pseudo-Klinefelter est une anomalie très rare.
Fertiles	<b>XXX</b> : Présence d'un chromosome X surnuméraire. Sujet normal	<b>XYY</b> : Présence d'un chromosome Y surnuméraire. Sujet normal.

Ces observations montrent que le sexe phénotypique de l'individu ne semble pas être lié au nombre de X mais plutôt à la présence ou l'absence du Y de ce fait Le chromosome Y a donc un rôle fondamental dans la détermination du sexe: l'absence de Y révèle un phénotype féminin et la présence de Y révèle un phénotype masculin. On peut alors chercher à préciser les éléments génétiques portés par ce chromosome qui déterminent ce phénotype sexuel masculin.

### II.1.2. Inversions sexuelles

On observe quelques rares cas de naissances d'individus intersexués, c'est-à-dire présentant une inversion sexuelle. Leur phénotype sexuel ne correspond pas aux chromosomes sexuels observables dans leurs caryotypes qui peuvent être dues à des événements de mutation ou de

translocations. En effet, les chromosomes X et Y présentent, aux extrémités de leur bras, des régions homologues : régions pseudo-autosomiques PAR 1 sur le bras court et PAR 2 sur le bras long. Les inversions sexuelles proviendraient donc, en fait, d'une translocalisation d'un facteur au niveau de la région PAR 1, lors de la méiose, par crossing-over entre les chromosomes X et Y. Ce facteur a été nommé "facteur de détermination testiculaire" (TDF : Testis Determining Factor), localisé juste en-dessous de PAR1. Chaque gamète formé hérite d'une de ces chromatides fécondant un ovule (qui amène un chromosome X) aboutit à 4 zygotes diploïdes, de génotypes différents. La présence de SRY conduit à un phénotype masculin, quel que soit le caryotype "XX" ou "XY" (Figure 5).



**Figure 5 :** Recombinaison génétique chez l'homme (Wilhelm et al., 2007)

Par la suite, il a été possible de démontrer que le TDF était en réalité un seul gène, appelé SRY (Sex Determining Region) qui s'exprime lors du développement sexuel des gonades chez l'homme. Dans les cas de translocations, il serait délété sur le chromosome Y ou rajouté sur le chromosome X. De même, des mutations dans le gène SRY (le rendant non fonctionnel) conduisent à l'obtention d'individus XY mais de phénotype féminin.

## II.2. Détermination primaire du sexe par les chromosomes

Dès la 7<sup>ème</sup> semaine, les gonades évoluent en testicules chez l'homme, et à partir de la 8<sup>ème</sup> semaine en ovaires chez la femme.

### II.2.1. Détermination du sexe gonadique mâle

La différenciation en testicule se caractérise par le développement de cordons séminifères composés de cellules germinales et de cellules de Sertoli. Ces cordons sont pleins c'est à dire dépourvus de lumière. L'observation de la relation entre formule chromosomique et sexe phénotypique a permis de mettre en évidence un gène de la masculinité (détermination testiculaire) sur la région terminale du bras court du chromosome Y.

Ce gène SRY s'exprime dans les cellules des gonades indifférenciées et commande la synthèse d'une protéine SRY constituant le facteur de détermination testiculaire TDF : c'est le signal de développement et de différenciation des gonades en testicules : La protéine est composée de 204 acides aminés appelée TDF (en se fixant sur l'ADN) déclenche l'expression de plusieurs gènes architectes impliqués dans la différenciation de la gonade indifférenciée en testicule : c'est l'acquisition du sexe gonadique mâle. Sa fixation sur l'ADN bicaténaire induit une courbure de celui-ci de 70° à 80°.

Cette courbure de l'ADN, suite à la fixation de SRY, aurait pour conséquence de permettre le rapprochement et l'interaction des facteurs de transcription contrôlant la différenciation des gonades.

Ceci permettrait donc de déclencher l'expression de gènes menant à la formation du testicule, et des autres structures génitales masculines. Le gène SRY est retrouvé chez tous les Mammifères, où il semble toujours jouer ce rôle de déterminant masculin (Figure 6).

Malgré les nombreuses différences entre les trois séquences de l'homme, du gorille et de la souris, une partie présente le plus d'homologie entre les trois espèces. Elle correspond en fait à la séquence de la boîte HMG. Même s'il prend différentes formes en termes de longueur, tous les mammifères possèdent ce gène.

Le domaine du chromosome Y indispensable à la différenciation du testicule étant dans la partie terminale du bras court de Y, certains XY sont des femmes lorsque cette partie du chromosome a été déléetée ou est absente. Certains XX sont masculins (1/20000) lorsque il y a eu translocation de cette partie de Y sur un des 2X dans les générations précédentes.



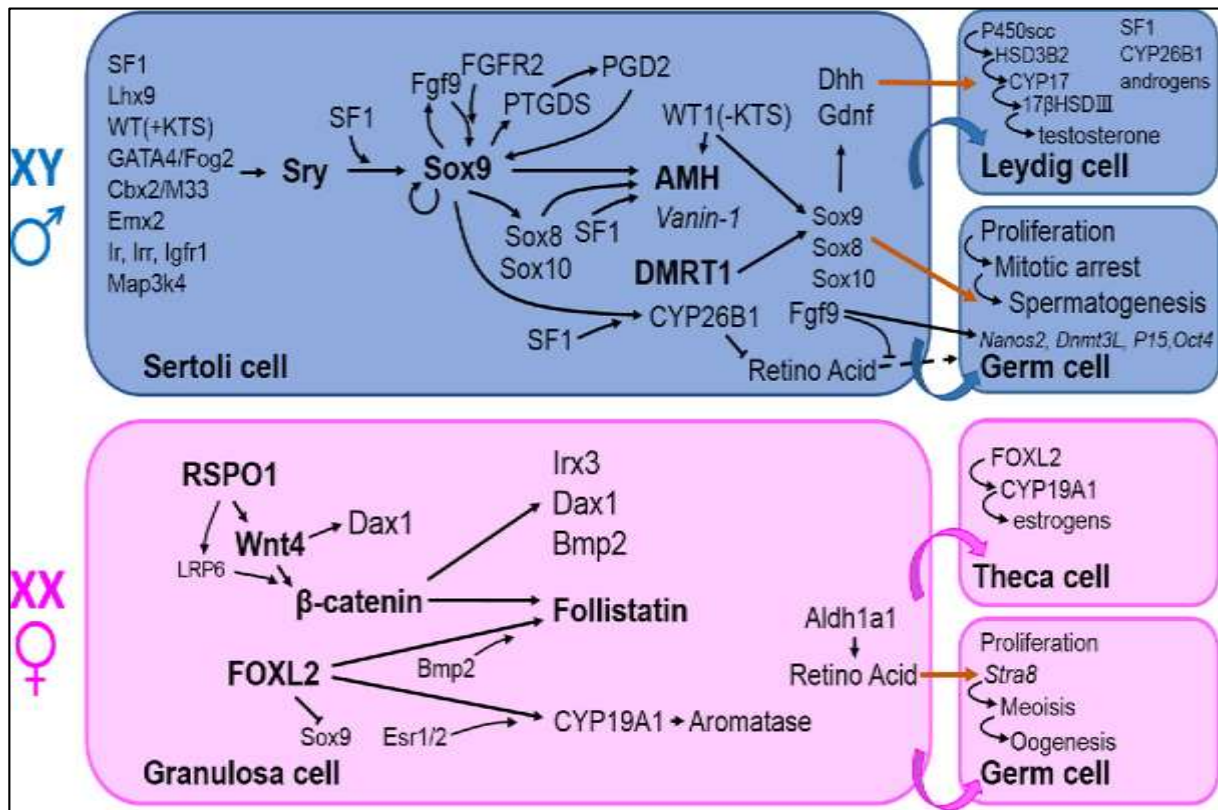


Figure 7 : Gènes impliqués dans la différenciation des gonades (She et yang, 2017)

### II.2.2. Détermination du sexe gonadique femelle

La différenciation en ovaire se caractérise par la multiplication d’ovogonies et la formation des follicules primordiaux avec ovocytes 1.

Sur le chromosome X, il n’y a pas de gène SRY. En l’absence de la protéine TDF, les gonades se différencient en ovaires : acquisition du sexe gonadique femelle. C’est donc lors de cette deuxième étape que la différence XX et XY intervient dans l’élaboration du phénotype sexuel.

#### II.2.2.1. Différenciation des gonades

Chez les mammifères, les gonades se forment pendant la vie intra-utérine au cours du premier tiers de la gestation selon les espèces (9,5-10 jours post-conception chez la souris; 24 jours chez la brebis et 30 jours chez l’homme).

Les gonades mâles et femelles n’ont pas la même dépendance vis-à-vis des cellules germinales. En effet, les cellules germinales mâles ne sont pas nécessaires à la différenciation et à la maintenance du testicule alors que les PGC femelles le sont pour l’ovaire.

### II.2.2.1.1. La mise en place du sexe phénotypique mâle : la masculinisation des voies génitales

Le testicule est organisé en cordons séminifères dans lesquels les cellules somatiques (cellules de Sertoli) entourent les cellules germinales (spermatogonies). Les cellules stéroïdogènes (cellules de Leydig), sources de testostérone, sont localisées à l'extérieur des tubes.

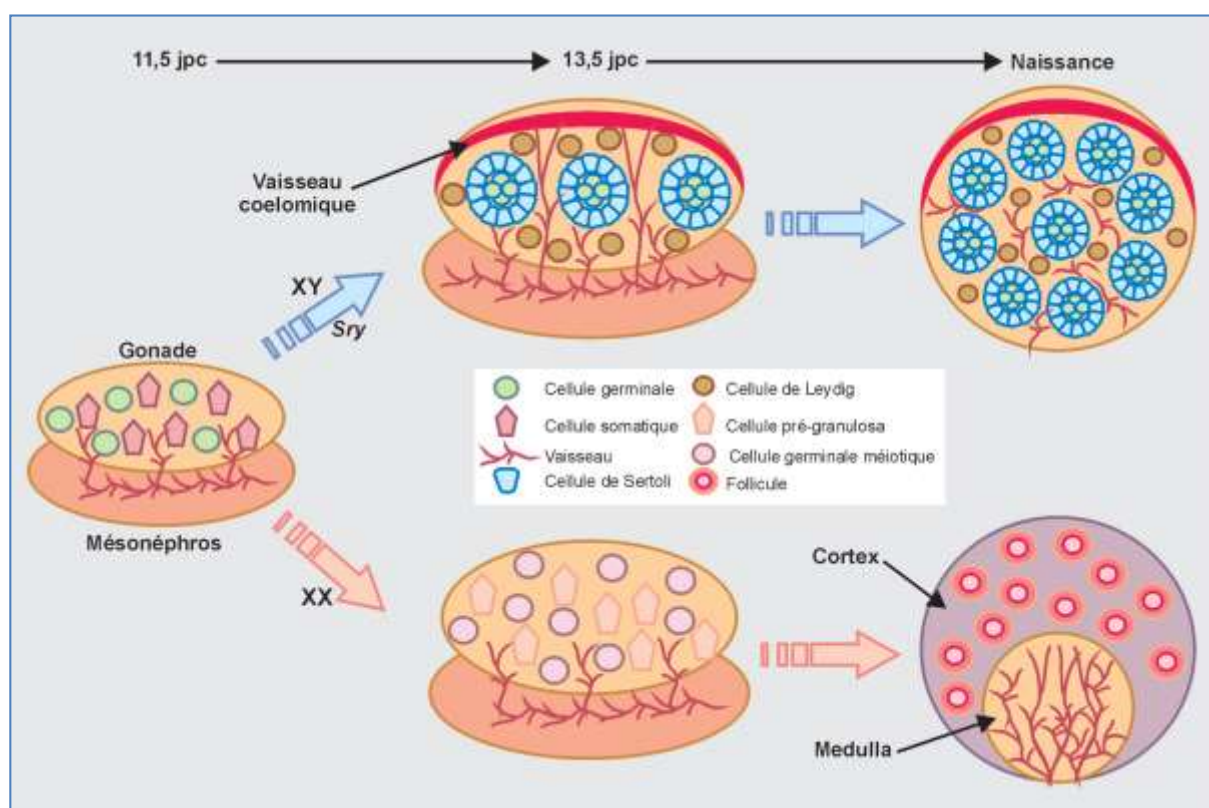
La mise en place du sexe phénotypique mâle se fait sous l'action d'hormones. Dans le testicule, la production de testostérone par les cellules interstitielles et de l'hormone anti-müllérienne (AMH) par les cellules de Sertoli entraîne la masculinisation de l'appareil génital. Le gène de l'AMH est activé par la protéine TDF. Les canaux de Müller régressent tandis que les canaux de Wolff se différencient en épididyme, en canal déférent, en vésicules séminales. Le tubercule urogénital se développe en pénis sous l'action d'une hormone dérivée de la testostérone (Figure 8).

### II.2.2.1.2. La mise en place du sexe phénotypique femelle

Chez la femelle, les ovaires ont une structure caractéristique en cortex-médulla. Les ovogonies se développent dans le cortex, entourées de cellules de granulosa et des cellules stéroïdogènes. L'absence d'hormones testiculaires est responsable de la persistance des canaux de Müller: ceux-ci se différencient en oviducte, utérus, canal cervical et vagin. Les canaux de Wolff régressent : c'est la féminisation de l'appareil génital (Figure 8).

Dès 13,5 jours post coïtum (jpc), sous l'action du facteur *Sox9*, les cellules de Sertoli se différencient et s'organisent en tubes séminifères, englobant les cellules germinales. Une vascularisation de type mâle se met en place. Dans la gonade femelle, les cellules germinales se localisent dans le cortex, tandis que le réseau vasculaire se développe dans la médulla.

La différenciation de l'ovaire est plus tardive que celle du testicule, elle débute au cours de la 8<sup>ème</sup> semaine. Chez la femme, en l'absence du chromosome Y, le gène SRY n'existe pas, sauf lors des cas exceptionnels de translocation du gène sur le chromosome X



**Figure 8:** Schéma récapitulatif de la différenciation des gonades chez la souris (DeFalco et Capel, 2009).

Sur le plan histologique deux régions peuvent être distinguées dans l'ovaire:

- le cortex qui va lui seul contenir les éléments du parenchyme
- la médullaire qui partage avec le cortex les éléments du stroma.

Les cellules germinales restent près de l'épithélium de surface. Les premiers cordons sexuels dégèrent, mais sont remplacés par d'autres produits par l'épithélium, mais qui restent en surface : cordons corticaux. Ils se fragmentent en amas (follicule) entourant chacun une cellule germinale. Les cellules germinales donneront les ovocytes, les cellules des cordons les cellules folliculaires de la granulosa et les cellules mésenchymateuses forment des thèques, limite externe de chaque follicule. Il n'y a pas sécrétion d'AMH pendant la période fœtale. La testostérone sécrétée par les cellules thécales lors de la période fœtale est immédiatement transformée en autres stéroïdes (œstradiol et progestérone) par les cellules folliculaires. Ces hormones interviennent dans la féminisation des voies génitales.

Les cellules sexuelles femelles issues de la maturation des cellules germinales primordiales sont des ovocytes I (stade prophasique de la 1ère division de méiose ; la méiose est donc commencée et bloquée dans toutes les cellules sexuelles féminines) depuis la 20e semaine (5e mois) jusqu'à la puberté. Entre la puberté et la ménopause de nombreux follicules (environ 600) commencent une maturation qui se termine pour un seul follicule à la fois par le stade follicule mûr (ou follicule de De Graaf) qui entoure un ovocyte qui a redémarré sa méiose pour se terminer au stade ovocyte II (avec émission d'un globule polaire) juste au moment de l'ovulation. Le follicule qui a ovulé termine sa vie par le stade corps jaune. L'ensemble d'un développement folliculaire mené à terme dure environ 4 mois avec une persistance plus longue du corps jaune, très longue s'il y a gestation. Il y a alternance des cycles entre chaque ovaire qui produit un ovule (ovocyte II) tous les deux cycles de ~28 jours (ce qui correspond au cycle utérin).

Le développement de l'ovaire comporte deux étapes clés : la méiose des ovogonies et la formation des follicules, le follicule étant l'unité fonctionnelle de l'ovaire. Il existe un décalage dans le temps entre la différenciation mâle et femelle. Chez tous les mammifères, la différenciation ovarienne est plus tardive que la différenciation testiculaire (Tableau II).

- **Formation des follicules**

Il existe deux grandes phases de formation des follicules, celle indépendante des hormones gonadotropes et celle qui survient après la puberté sous le contrôle hormonal. En dehors de l'ovocyte, le follicule est composé de cellules somatiques nourricières, les cellules de granulosa ou cellules folliculaires. Puis dans un deuxième temps, se différencient les cellules de la thèque qui fournissent aux cellules de granulosa productrices d'oestrogènes par l'enzyme aromatasase, le précurseur androstènedione.

Les différents stades de la folliculogénèse sont la formation des follicules primordiaux (pool ou réserve ovarienne), le recrutement des follicules à partir du pool des primordiaux pour former les follicules primaires, secondaires, tertiaires et enfin les follicules ovulatoires et le corps jaune.

- **Formation des follicules primordiaux**

Les ovocytes après avoir entamé leur prophase 1 de méiose vont interrompre celle-ci au stade diplotène et rester bloqués jusqu'à la reprise de méiose au moment de l'ovulation soit plus de 15 à 50 ans plus tard chez la femme. Chez la souris, la méiose est arrêtée à 14,5 jpc. Avant de former

les follicules, les ovocytes bloqués sont regroupés en nids ovigères aussi appelés cystes. Les follicules primordiaux se forment de la rupture de ces nids et de l'association d'un ovocyte avec quelques (3-4) cellules pre-granulosa. Cette association représente le premier stade de la folliculogénèse ; il a lieu pendant la dernière moitié de la gestation chez l'homme et quelques jours après la naissance chez la souris.

Chez les mammifères, la population de follicules primordiaux créée dans l'ovaire foetal ou néonatal constitue un pool fini d'ovocytes appelé la réserve, disponible pendant toute la durée de vie reproductive des femelles. Cela constitue une différence majeure entre mâles et femelles. Car chez les mâles, la méiose n'aura lieu qu'après la puberté, sans interruption et le renouvellement des spermatogonies aura lieu durant toute la vie adulte. Une exposition in utero pourra donc avoir des effets à très long terme sur la fertilité femelle, une altération de la réserve est irréversible alors que chez le mâle la spermatogénèse est continue.

- **Maintenance des follicules primordiaux et recrutement initial**

Le recrutement des follicules est généralement subdivisé en deux catégories : tout d'abord l'activation initiale des follicules primordiaux, qui se produit toute la vie jusqu'à la ménopause chez la femme, et ensuite, après la puberté, le recrutement cyclique d'un nombre limité de petits follicules à partir des follicules en croissance, à partir desquels une sous-fraction ou un seul sera sélectionné pour la dominance et l'ovulation. Bien que le recrutement initial des primordiaux vers le pool en croissance reste un processus peu compris, l'étude de souris mutantes (*knock out*) a permis l'identification de plusieurs facteurs clés régulateurs de cette étape précoce de la folliculogénèse parmi lesquels des facteurs de transcription (Nobox, FoxL2...) et des facteurs de croissance.

Cependant, il est important de noter que bien que les gonades adultes présentent des structures remarquablement similaires d'un point de vue morphologique chez différentes espèces de vertébrés, les mécanismes moléculaires et cellulaires utilisés pour créer ces organes similaires ne sont pas conservés au cours de l'évolution. Il faudra donc en tenir compte avant d'extrapoler d'une espèce à l'autre (voir Tableau II)

**Tableau II** : Chronologie de la différenciation des gonades: Ce tableau présente les étapes clés de la différenciation des gonades chez différentes espèces: la souris, le rat, le bovin et l’humain. (Magre et Vigier, 2006). \*(jpc = jour post coïtum, jpn = jour post-natal, sem = semaines post conception)

Principaux événements	Stade de développement (jpc, jpn, sem)*			
	souris	rat	bovin	humain
Mâles (M) et Femelles (F)				
Migration des cellules germinales dans la crête génitale (M et F)	10-11 jpc	11-12 jpc	30-35 jpc	4-5 sem
Différenciation des cordons séminifères (M)	12 jpc	14 jpc	40 jpc	7 sem
Différenciation des cellules de Leydig (M)	13 jpc	15 jpc	45 jpc	8 sem
Début de la prophase méiotique (F)	13-14 jpc	17 jpc	70 jpc	9 sem
Début de la folliculogénèse (F)	3 jpn	1-2 jpn	90 jpc	14 sem

### II.3. Rôles de la cellule de Sertoli dans la différenciation du testicule

Les cordons sexuels prolifèrent jusqu’à la 8ème semaine, s’étendant profondément dans le tissu conjonctif. La partie distale (médulla) est composée de cordons plus minces et forme le rete testis. Les cellules des cordons sécrètent une substance inhibitrice de la méiose qui bloque la différenciation des cellules germinales qui, en retour, sécrètent des prostaglandines qui induisent la différenciation des cellules des cordons en cellules de Sertoli.

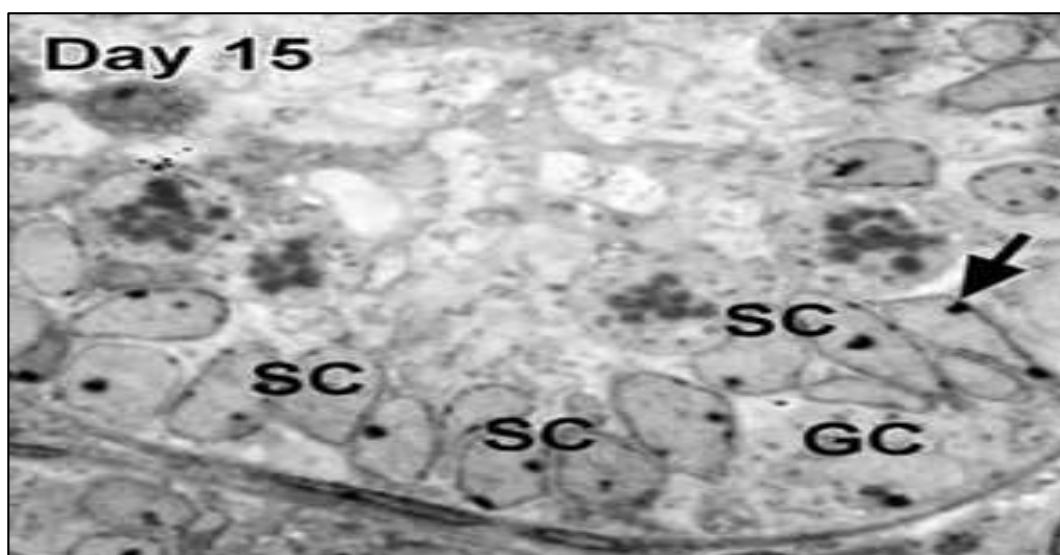
La cellule de Sertoli, sous la dépendance de la FSH, interagit avec environ 30–50 cellules germinatives, semblant les approvisionner en nutriments et facteurs biologiques et en contrôlant la spermatogénèse. Pendant la différenciation sexuelle, la cellule de Sertoli produit une quantité importante d’AMH: sa concentration est élevée pendant la vie foetale et pendant l’enfance. Elle diminue au cours de la puberté en relation inverse avec le taux de testostérone. Parmi les nombreuses protéines synthétisées par la cellule de Sertoli, deux autres protéines sont essentielles à la fonction testiculaire:

- **Inhibine**, une glycoprotéine appartenant aussi à la famille TGF- $\alpha$ , exerçant une rétro-inhibition au niveau hypothalamo-hypophysaire.

- **ABP** (androgen binding protein), ayant une affinité élevée pour la testostérone et la dihydrotestostérone. Sécrétée dans la lumière du tube séminifère, elle permet d'obtenir une concentration intra-testiculaire d'androgènes en dessus de leur limite de solubilité.

Les cellules de Sertoli produisent l'AMH, une glycoprotéine dont le rôle est d'induire l'involution des canaux de Müller (9-10<sup>ème</sup> semaine). Les vestiges de ces canaux peuvent persister sous la forme de l'hydatide de Morgagni à l'extrémité caudale du testicule et de l'utricule prostatique équivalent rudimentaire du vagin et du col. La prolifération et le nombre des cellules de Sertoli déterminent le nombre de cellules germinatives et la spermatogenèse (Figure 9).

Ce nombre augmente de façon exponentielle pendant le 2<sup>ème</sup> trimestre de gestation. A la même période, le testicule entame sa descente guidé dans sa migration par le gubernaculum. Le testicule est généralement en position scrotale vers la 32<sup>ème</sup> semaine. En l'absence d'expression du gène SRY, la gonade emprunte une voie moléculaire qui amène à la formation de l'ovaire. Toute autre anomalie dans cette cascade d'événements induit des troubles plus ou moins sévères de la différenciation sexuelle pouvant aller de la cryptorchidie simple à une ambiguïté sexuelle sévère en passant par une infertilité chez un sujet par ailleurs normal.



**Figure 9** : Coupe de testicule de fœtus de rat de 15 jours observé au MET (Hess et França, 2005). On reconnaît au centre, la section d'un cordon séminifère, futur tube séminifère (l'enveloppe du

*cordon est pointée d'une double flèche) renfermant des cellules de Sertoli (CS, à noyau clair) et des cellules germinales (CG, à noyau plus dense)*

#### **II.4. Hormones dans la différenciation sexuelle des mammifères et la différenciation sexuelle en male et en femelle**

Chez l'embryon, le premier organe de l'appareil génital qui se différencie est la gonade (ovaires pour le génotype femelle, testicules pour le génotype mâle). Le reste de l'appareil génital se développe alors en accord avec la gonade ainsi différenciée. Chez l'homme, le testicule joue un rôle primordial dans la mise en place du sexe phénotypique, indépendamment du caryotype. En effet, chaque type de cellules des testicules (cellules de Leydig et de Sertoli) va sécréter dès le début de la phase fœtale une hormone qui va avoir une action précise sur chacun des canaux indifférenciés.

##### **II.4.1. Rôles de la testostérone dans la mise en place du phénotype mâle**

La testostérone, sécrétée par les cellules de Leydig, stimule le développement et la différenciation des canaux de Wolff et masculinise les organes génitaux externes. Elle joue donc un rôle dans la différenciation des voies génitales (vésicules séminales, prostate, épидидyme...) et des organes génitaux externes mâles entre la 8ème et la 16ème semaine du développement embryonnaire.

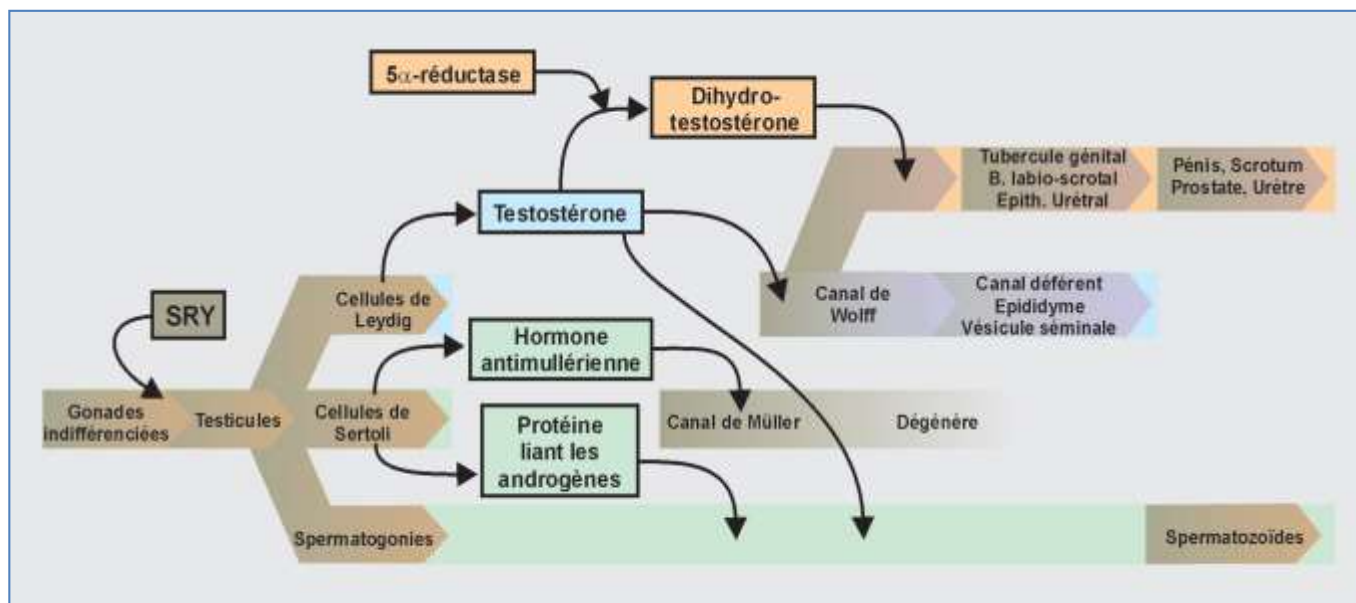
##### **II.4.2. Rôles de l'hormone anti-müllerienne dans la mise en place du phénotype mâle**

Un deuxième facteur testiculaire est nécessaire pour une complète différenciation de l'appareil reproducteur mâle au cours de la vie foetale: il s'agit de l'AMH (Hormone Anti-Müllerienne), qui est responsable de la régression des canaux de Müller chez le mâle. Cette hormone est sécrétée par les cellules de Sertoli.

Des dosages de cette hormone dans le sang depuis le stade embryonnaire permettent de mettre en évidence des différences de production de cette hormone entre les mâles et les femelles. En effet, les individus femelles ne produisent pas d'AMH contrairement aux mâles qui en produisent une quantité importante au début de leur développement, principalement avant la naissance.

Il est à noter qu'à la naissance, la sécrétion d'AMH par les testicules persiste (contrairement à la sécrétion de testostérone) avant de chuter fortement à la puberté. En périphérie, la testostérone

est transformée en dihydrotestostérone par la 5 $\alpha$ -réductase dont l'action est de développer le pénis, les bourses et la prostate (Figure 10).



**Figure 10:** Schéma représentant l'implication des hormones testiculaires dans la différenciation du tractus génital mâle (Feng et al., 2009).

À la naissance, les testicules contiennent des cellules de Leydig néonatales et des cordons séminifères (sans lumière centrale) dans lesquels vont être retrouvées les cellules de Sertoli immatures et les cellules germinales néonatales. La réactivation après la naissance du système hypothalamo-hypophysotesticulaire appelé mini puberté entraîne une augmentation des sécrétions de gonadotrophines qui atteint un maximum vers 2-3 mois. La sécrétion de testostérone est le résultat de la stimulation et de la multiplication des cellules de Leydig, sécrétion qui va ensuite diminuer après le 3e mois. L'AMH augmente au premier mois pour atteindre un maximum vers 6 mois, puis décroît durant l'enfance. L'inhibine va également augmenter pour atteindre un pic avec des valeurs supérieures à celles retrouvées chez l'adulte, pour décroître après 15 mois et avoir des valeurs basses jusqu'à la puberté.

Après la naissance, les cellules germinales se transforment en spermatogonies, dont le nombre pourrait être un des facteurs conditionnant la spermatogenèse à l'âge adulte. Des cellules germinales allant jusqu'au stade spermatocytes I ont pu être retrouvées chez le petit enfant témoignant d'une évolution occasionnelle des spermatogonies et montrant que le testicule de l'enfant n'était pas obligatoirement au repos. Les cellules de Sertoli immatures, n'exprimant pas le récepteur aux androgènes et exprimant l'AMH, vont se multiplier. À la puberté (environ 9-14

ans), les cellules de Sertoli deviennent matures et expriment le récepteur des androgènes et la sécrétion d'AMH diminue.

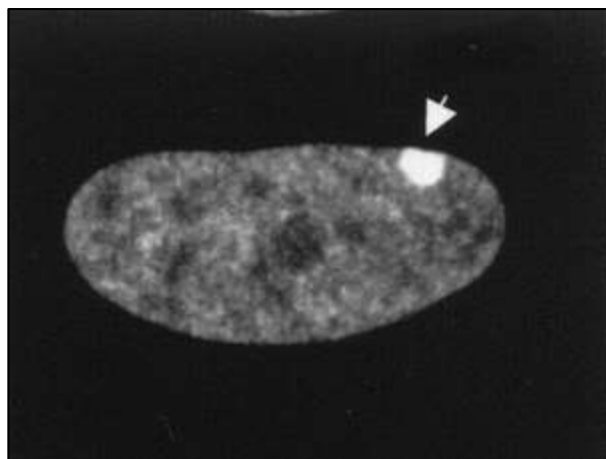
Dans le contexte d'exposition à des substances pouvant avoir un effet délétère sur la fonction de reproduction masculine, l'ensemble des processus physiologiques se déroulant durant l'enfance, et notamment en période postnatale, ne doit pas être ignoré, dans la mesure où ces étapes sont probablement importantes pour une spermatogenèse optimale chez l'adulte.

Chez la femelle, le rôle de l'AMH est important au cours de la folliculogénèse, l'AMH est exprimée dans les cellules de la granulosa des petits follicules en croissance du stade primaire au stade petit follicule à antrum. L'expression de l'AMH disparaît à des stades plus tardifs. Seule une faible expression dans les cellules du cumulus reste observable. L'AMH présente un rôle de régulation négative sur le recrutement initial des follicules, ainsi que sur la sélection du follicule dominant. L'AMH réduit également la réponse des follicules à la FSH pendant le recrutement cyclique.

## **II.5. Mécanisme d'extinction d'un chromosome X chez la femelle des mammifères**

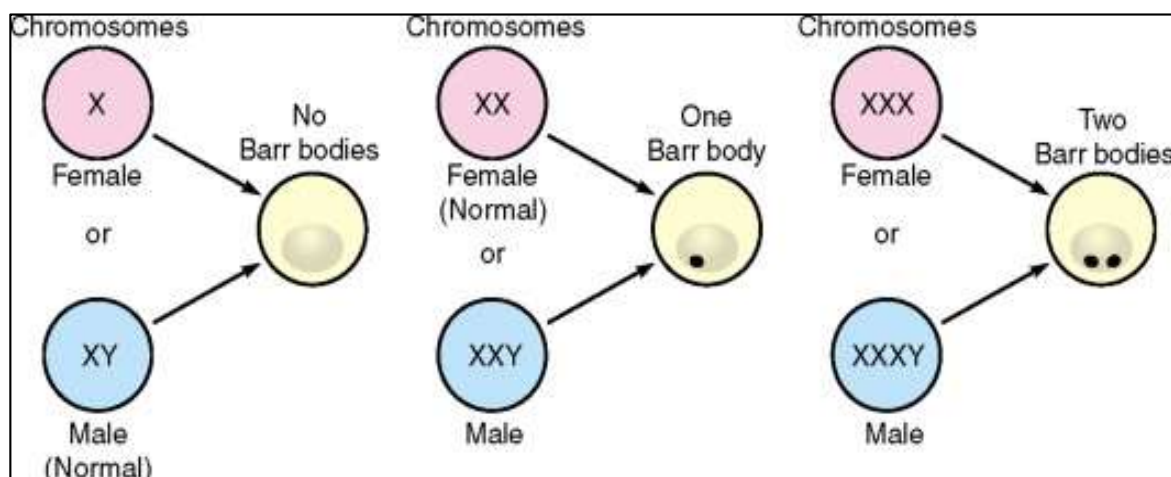
Chez les mammifères, deux chromosomes sexuels de type X et Y sont responsables des différences entre mâles et femelles. Alors que les femelles portent deux chromosomes X, les mâles n'en ont qu'un seul auquel est associé un chromosome Y, beaucoup plus petit et plus pauvre en gènes. Il en résulte donc un déséquilibre entre les deux sexes quant à la quantité de gènes, donc de produits géniques (ARN et protéines), que leurs cellules contiennent. Ce déséquilibre est compensé très tôt au cours de l'embryogenèse via l'inactivation d'un des deux chromosomes X chez la femelle. En d'autres termes, dans chaque cellule de l'embryon, la quasi-totalité des gènes portés par l'un des deux chromosomes X va être transcriptionnellement éteinte.

Le X à inactiver étant choisi aléatoirement et indépendamment dans chaque cellule de l'embryon, l'inactivation conduit à la formation d'individus femelles mosaïques dont toutes les cellules n'expriment pas le même chromosome X, donc un seul des deux chromosomes X est actif, l'autre est inactif, ne donnant lieu à pratiquement aucune transcription. Ce chromosome « éteint » forme un agrégat condensé dans le noyau, appelé « corpuscule de Barr ». Le corpuscule de Barr a été examiné au microscope électronique et les résultats indiquent la possibilité d'une région de fixation spéciale de l'enveloppe nucléaire pour le corps de Barr (Figure 11).



**Figure 11 :** Corpuscule de Barr visible dans le noyau par immunofluorescence indirecte (indiqué par une flèche) (Hong et al.,2001)

Ces corpuscules de Barr ne sont observés que dans des cellules prélevées chez les femmes, Cette inactivation ne concerne pas un seul gène mais la presque totalité des gènes de l'X. En effet, il a été montré qu'au début de la vie embryonnaire des femelles placentaires, un X sur deux (Xp ou Xm au hasard) est presque entièrement inactivé dans chacune des cellules de leur masse cellulaire interne (à l'origine de tous les tissus de l'individu. Cette inactivation au hasard de l'X concerne donc aussi bien les parties externes que les parties internes du corps tels que : cerveau, foie, cœur, poumons (Figure 12).



**Figure 12 :** Schéma illustrant l'inactivation d'un chromosome X (Jones et Lopez, 2006)

Les mécanismes moléculaires pour établir et maintenir ce système unique de régulation différentielle des gènes ne sont pas bien compris, et actuellement on sait peu de choses sur les composants moléculaires et la structure du corps de Barr lui-même, mais quelques aspects de sa mise en place et de sa maintenance peuvent être indiqués.

### II.5.1. Mise en place

L'intervention d'un centre d'inactivation de l'X (Xic), long d'un million de bases (1Mb), fut mise en évidence, d'abord chez la souris dans les années 70-80, puis chez d'autres placentaires. Des expériences supprimant ce centre (en quelque sorte supprimant ce suppresseur) rendaient l'X actif. D'autres expériences de translocation de ce centre, sur un autosome, avaient pour effet, à l'inverse, de rendre cet autosome partiellement inactif.

L'identification, en 91, de l'un des gènes dont ce centre est porteur, le gène Xist (effecteur majeur de l'inactivation), fit avancer de façon décisive la compréhension du mécanisme de l'inactivation. On a pu établir que le gène Xist s'exprime, soit sur l'Xp, soit sur l'Xm, de façon apparemment aléatoire, dans les premiers moments de la vie embryonnaire, au sein des cellules de la masse cellulaire interne de l'embryon. Il gouverne la synthèse d'un ARN-Xist de 19 kilobases (X inhibitory specific transcript). Ce transcrit est non codant, c'est à dire non traduit en protéine. Produit en grande quantité, il finit par tapisser entièrement, et uniquement, le chromosome Xp ou Xm incomparablement plus grand (160 millions de bases) dont il est lui-même issu, le rendant ainsi presque entièrement inactif, et produisant donc le corpuscule de Barr (voir Fig.). Cet ARN-Xist agit en interdisant l'accès de la machinerie transcriptionnelle au chromosome X qu'il recouvre. Il apparaît également impliqué dans le transfert du corpuscule de Barr au contact de la membrane nucléaire. Le chromosome compagnon, Xm ou Xp, n'exprime pas cet ARN-Xist inhibiteur et devient, par là-même, l'X actif de la cellule.

On a pu montrer qu'en amont de ce processus, c'est à dire de l'expression monoallélique de Xist, se trouve un facteur autosomal, présent en quantité limitante, qui, au hasard, soit sur le Xp soit sur le Xm, méthyle le promoteur du gène Xist et ce faisant l'éteint.

Chez les placentaires, l'inactivation de l'X ne se limite pas aux seules cellules de la masse cellulaire interne de l'embryon. Elle se produit aussi dans les cellules dérivées du trophoctoderme (voir Fig A) génératrices des annexes embryonnaires, soit qu'elle ait lieu au hasard sur l'Xm ou l'Xp, c'est le cas de l'espèce humaine, soit qu'elle se porte spécifiquement sur l'Xp comme chez les souris. L'inactivation de l'X emprunte donc des chemins différents chez les placentaires. Et

c'est encore plus vrai des marsupiaux dont l'X inactivé est toujours le Xp, dans la masse cellulaire interne comme dans le trophoctoderme, et chez lesquels l'homologue du gène Xist, appelé Ln 3, n'a rien à voir avec l'inactivation de l'X puisqu'il code en fait pour une protéine participant à des voies de signalisation intracellulaire. Ce sont donc un ou d'autres gènes qui gouvernent l'inactivation de l'X chez les femelles de Marsupiaux, gène(s) qu'il reste à identifier.

Quant aux Mammifères pondéurs d'œufs, sans corpuscules de Barr et aux chromosomes sexuels X et Y quintuplés et presque de même taille, l'inactivation de leurs X est restreinte aux portions de l'X qui n'ont pas leur équivalent sur l'Y.

### II.5.2. Maintenance

Le gène Xist n'intervient qu'un temps dans l'inactivation de l'X. Rapidement, son expression cesse sur le chromosome inactivé n'alimentant plus la production d'ARN recouvreur. Son action est alors relayée par les modifications épigénétiques qui se produisent sur l'X inactivé, c'est à dire par des modifications qui ne touchent pas à la séquence de l'ADN, mais qui ajoutent un groupement méthyle à certaines de ses bases (cytosines) ou des groupements méthyle/acétyl, aux histones auxquelles il est lié.

On a vu que c'est une telle méthylation, pour être plus précis de cytosine, déclenchée par un facteur autosomal qui inhibe le promoteur du gène Xist de l'X, levant l'inactivation de ce dernier. De même, ce sont de telles modifications d'histones réalisées spécifiquement sur le Xp du trophoctoderme de souris (on parle alors d'empreinte génétique paternelle) qui sont à l'origine de l'inactivation du Xp dans ce tissu murin.

Chez la souris, c'est le chromosome X qui vient du père (Xp) qui est systématiquement inactive au cours des premières divisions cellulaires. Au moment de l'implantation cependant, alors que se séparent les lignages embryonnaires et extra-embryonnaires, une transition importante se produit dans les cellules de la masse interne (CMI).

En effet, dans ces cellules considérées comme pluripotentes par leur capacité à générer tous les tissus de l'embryon, le Xp est réactivé et les deux chromosomes X sont maintenant actifs. Les cellules souches embryonnaires (ES) femelles, dérivées de l' CMI et pluripotentes elles aussi, maintiennent également leurs deux chromosomes X actifs. La différenciation de ces cellules pluripotentes *in vitro*, tout comme celle des cellules de l' CMI au cours du développement, s'accompagne d'une vague d'inactivation aléatoire, qui concerne cette fois soit le Xp, soit le X maternel (Xm). Les cellules ES représentent ainsi un modèle de choix pour l'étude de

l'inactivation aléatoire. Une fois mise en place, l'inactivation aléatoire est stable et héritée de manière clonale au cours des divisions cellulaires, à l'exception des cellules de la lignée germinale dont le X se réactive avant l'entrée en méiose.

Chez d'autres espèces telles que la souris également, le gène contrôlant l'inactivation, *Xist*. Contrairement à la majorité des gènes, *Xist* produit un ARN non-codant nucléaire qui recouvre le chromosome à partir duquel il est transcrit et l'éteint. *Xist* est essentiel à l'inactivation, et le processus ne peut avoir lieu que lorsque des niveaux élevés de *Xist* sont produits. De même, la réactivation du *Xp* qui précède l'inactivation aléatoire nécessite que la copie active de *Xist* sur le *Xp* soit réprimée. C'est également le cas pour les cellules ES, dans lesquelles la présence de deux chromosomes X actifs s'accompagne d'une répression importante de *Xist*.

### III. Généralités sur la gamétogenèse

La gamétogenèse se définit comme étant un mécanisme biologique par lequel les gamètes sont formés dans l'organisme. Elle permet d'obtenir à partir de cellules diploïdes des cellules haploïdes.

Dans le cas de l'humain, le processus est conçu pour produire du sperme et est appelé spermatogenèse, se produisant dans les testicules. Pour les femmes, le résultat est la production d'ovocytes (oocytes), le processus est appelé ovogenèse et a lieu dans les ovaires.

La gamétogenèse se déroule en deux divisions chromosomiques et cytoplasmiques, appelées première et deuxième division méiotique ou simplement méiose I et méiose II. Les deux comprennent prophase, prométaphase, métaphase, anaphase, télophase et cytokinèse.

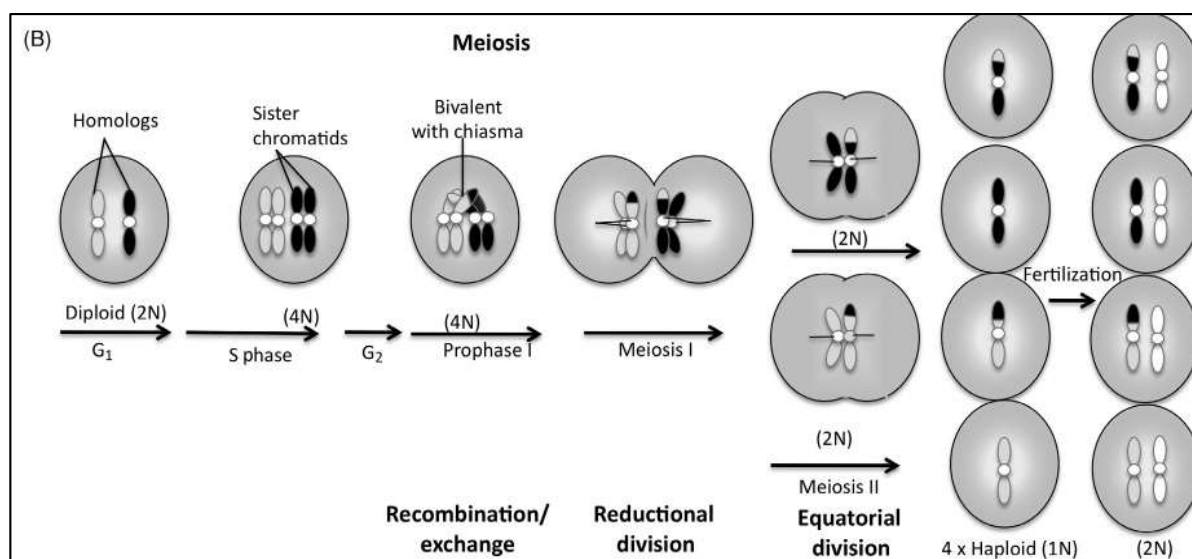
La méiose n'est pas un processus parfait, parfois les erreurs en mitose sont responsables de grandes anomalies chromosomiques (Figure 13 ). La méiose est capable de maintenir constant le nombre de chromosomes de cellules de l'espèce à maintenir l'information génétique. Elle concerne la lignée germinale par opposition à celle dite somatique

La méiose est une division cellulaire particulière, réductionnelle puis équationnelle, dans laquelle une cellule diploïde à  $2n$  chromosomes donne naissance à 4 cellules haploïdes à  $n$  chromosomes. Elle comprend deux divisions successives du noyau mais une seule duplication des chromosomes.

### III.1. différentes phases de la méiose

La méiose est en fait divisée en méiose 1 et méiose 2. En méiose 1, en plus d'une division cytoplasmique, une duplication de l'ADN est générée, de sorte que chacun des 46 chromosomes (dans le cas de l'homo sapiens) est constitué de deux chromatides sœurs (46 chromosomes de structure double). Ensuite, la division cytoplasmique se produit et les deux cellules filles, fruit de la méiose 1, entrent en méiose 2.

Au cours de la méiose I (phase mitotique), les membres de chaque paire de chromosomes homologues se réunissent d'abord, puis sont séparés par le fuseau mitotique et sont répartis dans les différents pôles de la cellule. Les chromatides sœurs de la méiose II forment chaque chromosome séparé et répartissent dans les noyaux de nouvelles cellules. Au cours de ces deux étapes successives, il n'y a pas de phase S (réplication de l'ADN).



**Figure 13 :** Différentes étapes de la méiose chez les mammifères A et B (**Eichenlaub-Ritter, 2014**)

Le processus est réalisé en deux divisions nucléaires et cytoplasmiques, appelée première et deuxième division méiotique ou simplement méiose I et méiose II. Les deux comprennent prophase, métaphase, anaphase et télophase.

#### III.1.1. Prophase I (de la méiose I)

La prophase I de première division méiotique (de la méiose I) est longue et est constituée de 5 stades : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacynèse. C'est à ce moment qu'ont lieu les recombinaisons génétiques au niveau des chiasmas. Au cours de la méiose I, les membres de

chaque paire homologue de chromosomes sont appariés au cours de la prophase, formant des bivalents. Pendant cette phase, une structure protéique appelée complexe synaptonémale, permet la recombinaison entre chromosomes homologues. Par la suite, une grande condensation des chromosomes bivalents se produit et vont à la plaque métaphasique pendant la première métaphase, ce qui entraîne la migration de  $n$  chromosomes à chacun des pôles lors de la première anaphase (Figure 14).

### III.1.1.1. Leptotène

La prophase I commence au stade leptotène, quand chaque chromosome apparaît s'être condensé pour passer de sa conformation interphasique à l'état de long filament possédant un axe protéinique central. Chaque chromosome est attaché par ses deux extrémités à l'enveloppe nucléaire via une structure particulière appelée plaque d'attachement. Bien que chaque chromosome se soit répliqué et soit constitué de deux chromatides-soeurs, ces chromatides sont étroitement accolées et chaque chromosome semble donc être unique (les chromatides ne deviendront visibles qu'en fin de prophase, soit au stade diplotène, soit lors de la diacinèse. Nucléole reste présent.

### III.1.1.2. Zygotène

On considère que le stade leptotène est terminé et que le stade zygotène de la prophase commence dès que la synapsis, ou appariement étroit entre les deux homologues, est initié. La synapsis commence souvent par un rapprochement des extrémités homologues des 2 chromosomes au niveau de l'enveloppe nucléaire, qui progresse, comme une fermeture éclair, à partir des deux extrémités, alignant les 2 chromosomes homologues l'un en face de l'autre. Chaque gène serait donc juxtaposé à son gène homologue situé sur le chromosome opposé. Au moment de l'appariement des homologues, leurs axes protéiniques à structure en cordage sont rassemblés pour former les deux éléments latéraux en forme d'échelle qu'est le complexe synaptonémal. Chaque paire de chromosomes qui en résulte en prophase méiotique I est généralement appelée bivalent, mais puisque chaque chromosome homologue de la paire est constitué de deux chromatides-soeurs étroitement accolées, il est plus exact de parler de tétrade, autre terme couramment employé.

### III.1.1.3. Pachytène

Dès que l'appariement est achevé sur toute la longueur du chromosome, on dit que les cellules sont entrées dans le stade pachytène de la prophase, où elles peuvent rester pendant des jours. A

ce stade, des nodules de recombinaison apparaissent par intervalles sur les complexes synaptonémaux, et l'on pense qu'ils interviennent dans les échanges chromosomiques. Ces échanges aboutissent à la formation d'enjambements entre les deux chromatides non-soeurs, c'est-à-dire l'une de chacun des deux chromosomes homologues appariés. Bien qu'invisibles au stade pachytène, chacun de ces enjambements apparaîtra plus tard sous la forme d'un chiasma.

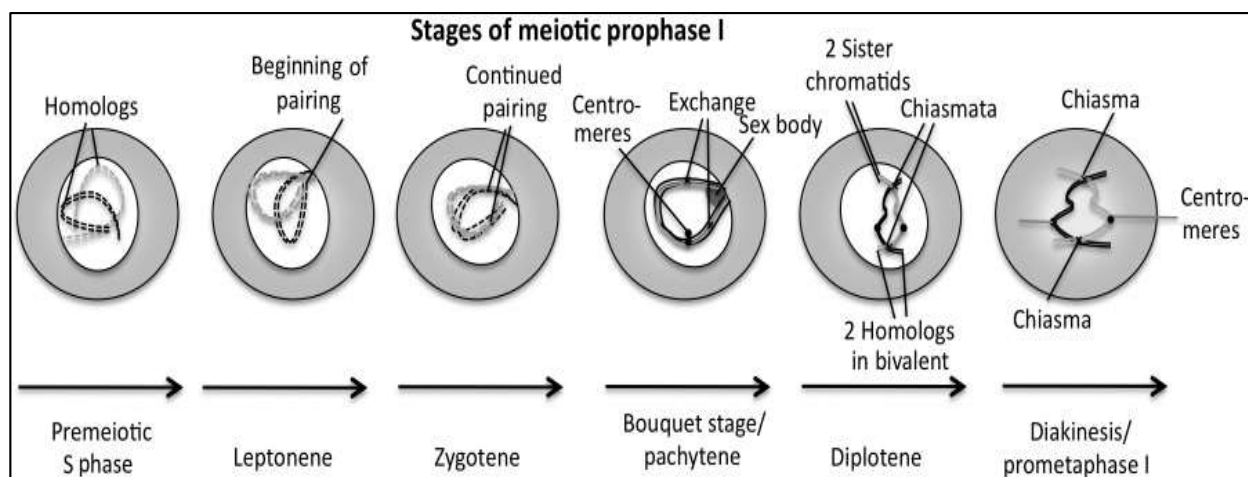
#### **III.1.1.4. Diplotène**

La dissociation des paires marque le début du stade diplotène de la prophase méiotique. Le complexe synaptonémal se dissout, permettant aux deux chromosomes homologues de chaque bivalent de s'éloigner à une certaine distance l'un de l'autre. Cependant, chaque bivalent reste relié au niveau d'un ou de plusieurs chiasmas, qui matérialisent les sites où a eu lieu un enjambement. Dans les ovocytes (ovules en développement), le diplotène peut durer des mois ou des années, puisque c'est à ce stade que les chromosomes se décondensent et amorcent la synthèse de l'ARN pour fournir à l'oeuf ses matériaux de réserve.

#### **III.1.1.5. Diacinèse**

Le nucléole et la membrane nucléaire se dissolvent. La cellule passe imperceptiblement du diplotène à la diacinèse, étape qui fait la transition avec la métaphase, au moment où la synthèse d'ARN cesse et les chromosomes se condensent, s'épaississent et se détachent de l'enveloppe nucléaire. Les quatre chromatides séparées de chaque bivalent sont nettement visibles, les chromatides-soeurs de chaque paire étant reliées par leurs centromères, alors que les chromatides non-soeurs ayant subi un enjambement sont reliées par les chiasmas.

Au cours de la méiose de l'ovule il s'ajoute encore un stade intermédiaire supplémentaire : le dictyotène, la phase de repos ; Le stade dictyotène ou phase de repos de l'ovule, s'étend de la naissance jusque vers 12 à 50 ans, selon le moment de l'ovulation. Les chromosomes sont décondensés durant cette période.



**Figure 14** : Différentes étapes de la prophase I de la première division méiotique I chez les mammifères (Eichenlaub-Ritter, 2014)

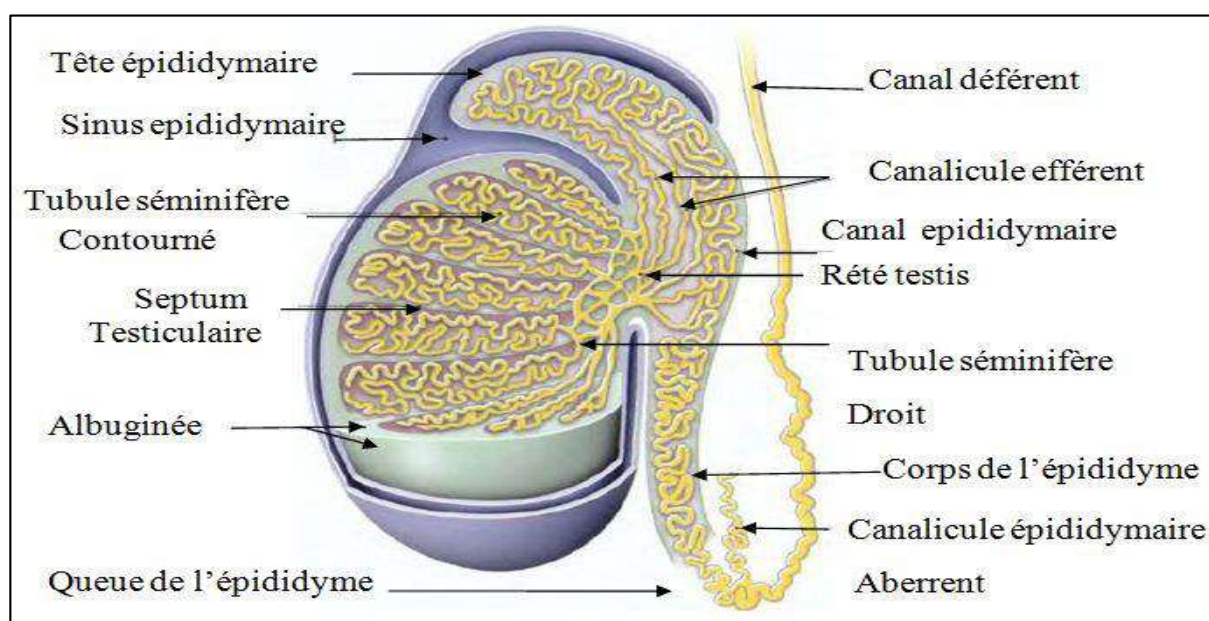
#### IV. Spermatogenèse

##### IV.1. Rappels anatomique du testicule

Les testicules sont de forme ovoïde, ces organes paires sont suspendus au cordon spermatique en dehors de la cavité abdominale, de part et d'autres du pénis, logés chacun dans une poche revêtue d'une peau comportant plusieurs couches musculaires : le scrotum. Le long de son bord postérieur, le testicule est lié à l'épididyme qui, à son pôle inférieur, donne naissance à un canal déférent.

Chaque testicule est constitué d'un assemblage de divers éléments encapsulés dans une couche épaisse de tissu conjonctif fibreux : la tunique albuginée, riche en tissu conjonctif, en fibres de collagène et en cellules musculaires lisses. Ces dernières sont étalées en une couche chez le rat, tandis qu'elles sont de l'ordre de deux couches et plus en partant des lapins jusqu'à l'échelle humaine.

A partir de la tunique albuginée environ 250 travées fibreuses radiaires sont émises de façon centripète (*septa testis*) délimitant, ainsi, 200 à 300 lobules testiculaires plus ou moins triangulaires, enferment chacun deux à trois tubes séminifères espacés par du tissu interstitiel (Figure 15).



**Figure 15** : Schéma de la coupe longitudinale du testicule humain (Tortora et Gerard, 2007)

#### IV.1.1 Tubes séminifères

Le tube séminifère est une anse fermée étroitement enroulée, non ramifiée dont les deux extrémités s'ouvrent dans le *rete testis*. Occupant environ 90 % du volume total des testicules, ce sont des tubes très longs limités en périphérie par la gaine pérítubulaire fibreuse. Celle-ci est entourée d'une couche concentrique de myofibrocytes, reliées entre elles par des jonctions dont la contraction sert au transport des spermatozoïdes et du fluide des tubes séminifères vers le *rete testis*.

Reposant sur la lame basale, l'épithélium séminifère est constitué de deux types cellulaires:

Les cellules de *Sertoli* (somatiques) représentent 17% à 19 % du volume testiculaire et environ 35% à 40% du volume de l'épithélium séminifère. Le deuxième type de cellules constituant l'épithélium séminifère est les cellules de la lignée germinale localisées entre les cellules de *Sertoli*. Les cellules germinales sont disposées en couches superposées (spermatogonies, spermatocytes I, spermatocytes II et spermatide), étendues sur toute l'épaisseur de l'épithélium, elles représentent les différentes étapes de la spermatogenèse

### IV.1.2. Tissu interstitiel

Remplissant l'espace compris entre les tubes, le tissu interstitiel regroupe plusieurs types cellulaires diffus :

Les cellules de *Leydig* adultes sont les cellules majoritaires de l'interstitium chez le rat. Elles sont retrouvées près des vaisseaux sanguins, et souvent groupées en amas ou isolées. Ces cellules polyédriques sont dotées de tous les éléments caractéristiques des cellules élaborant des hormones stéroïdes, constituant ainsi, la glande interstitielle du testicule.

Outre les cellules de *Leydig*, le compartiment interstitiel contient un nombre significatif de macrophages et de lymphocytes (pour 10 à 50 cellules de *Leydig* un macrophage est retrouvé).

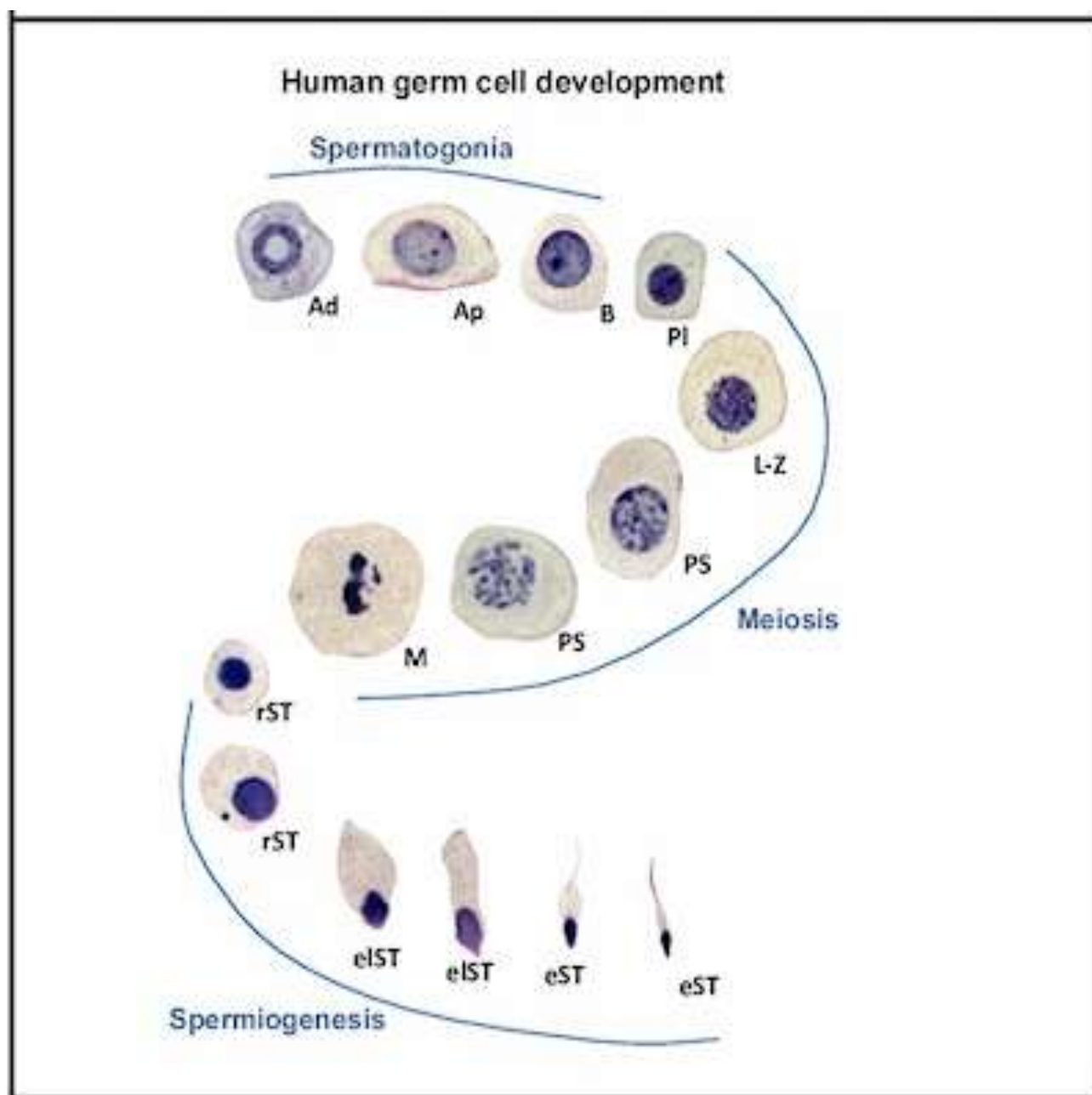
## IV.2. Cytologie et la cinétique de la spermatogenèse

### IV.2.1. Cytologie de la spermatogenèse

La méiose débute dans les cellules germinales mâles au moment de la puberté et se déroule sans latence afin de produire quatre spermatozoïdes à partir d'une cellule germinale.

Les cellules germinales mâles conservent une population de cellules qui peut se diviser par mitose et à partir desquelles des cellules méiotiques peuvent émerger tout au long de la vie. La cellule germinale souche reste alors, une véritable cellule indifférenciée, de même, le spermatozoïde contrairement à l'ovocyte qui vieillit avec la mère, est une cellule qui a toujours le même âge.

Ceci explique que l'on ne retrouve pas chez l'homme les anomalies de la méiose liées au vieillissement du gamète. Les cellules qui constituent les parois des tubes séminifères sont à différents stades de division cellulaire (Figure 16).



**Figure 16** : Développement des cellules germinales (O'Donnell et al., 2017)

Ap : A pale spermatogonia, B : type B spermatogonia, Pl : spermatocyte préleptotène, LZ : spermatocyte leptotène à zygotène, PS : spermatocyte pachytène, M : division méiotique, rST : spermatide ronde, e1ST : spermatide allongée, eST : spermatide allongée.

La séquence des évènements qui conduisent à la production des spermatozoïdes dans les tubes séminifères des testicules comprend :

- Multiplication des spermatogonies par mitose qui débute pendant la vie embryonnaire et ne s'arrête, avant la mort de l'individu, qu'avec le vieillissement ou l'atrophie du testicule. Chez la plupart des espèces, le rythme de multiplication des spermatogonies se ralentit. Elles ne reprendront un rythme de division mitotique soutenu qu'un peu avant la puberté. Chez les rongeurs, par contre, on observe un arrêt complet des divisions des spermatogonies qui entrent en quiescence jusqu'au moment de la puberté. Les spermatogonies fœtales sont aussi dénommées spermatogonies-souches (As), constituent la population de spermatogonies indifférenciées ou encore spermatogonies A0 du testicule adulte. Un dispositif permet de maintenir la population des spermatogonies A0, source permanente de gamètes chez le mâle : lorsqu'une spermatogonie A0 se divise, elle donne naissance à une spermatogonie A0 et une première spermatogonie différenciée A1. Chez le rat, au total, 6 générations de spermatogonies différenciées dénommées A1, A2, A3, A4, intermédiaire (In) et B se succèdent. Leur distinction est basée sur des détails de structure cytotologique et sur leur position au sein du tubule séminifère. Les spermatogonies B constituent la dernière génération de spermatogonies diploïdes. Elles se divisent en spermatocytes I qui entrent en méiose. Des ponts cytoplasmiques relient les cellules issues d'une même spermatogonie A1. La production de ces spermatogonies différenciées débute avant la puberté, mais la spermatogénèse ne dépasse pas le stade du spermatocyte I.

- Phase d'accroissement. A la puberté, sous l'influence des hormones hypophysaires (FSH et LH), les spermatocytes I poursuivent leur méiose qui aboutira à la production de spermatozoïdes. Contrairement à ce qui est observé chez la femelle, cette production de gamètes est continue et ininterrompue. L'accroissement du spermatocyte I est modéré. Les deux divisions de la méiose se réalisent coup sur coup. Chaque spermatocyte I donne naissance à deux spermatocytes II de taille comparable qui fournissent chacun deux spermatides identiques. Les spermatides entament immédiatement leur différenciation en spermatozoïde. Cette étape de différenciation porte le nom de spermiogénèse (Figure 17).

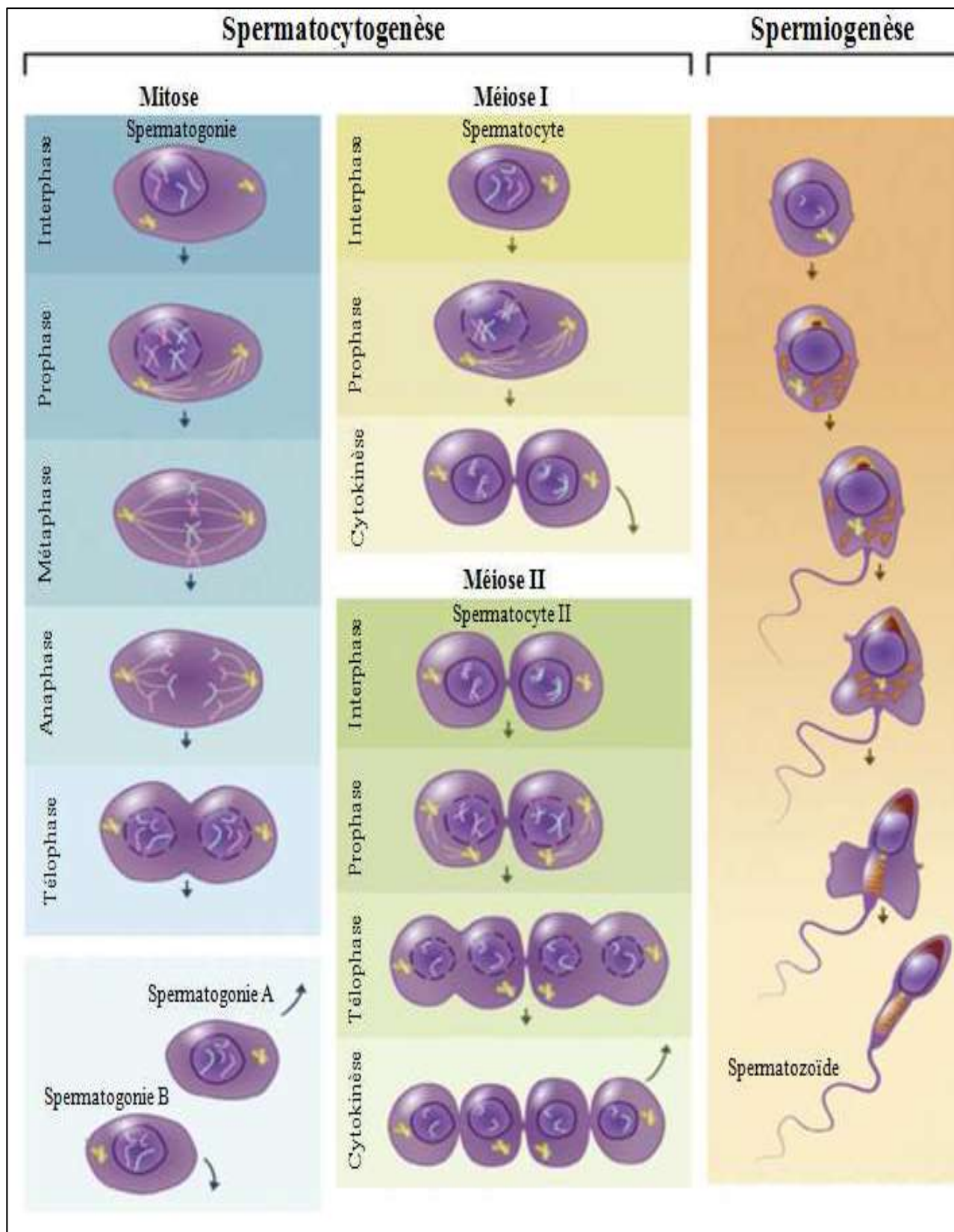


Figure 17 : Différentes étapes de la méiose gamétique masculine (Gunes , et al., 2015)

### **IV.3. Cinétique de la spermatogenèse**

#### **IV.3.1. Cycle spermatogénétique**

Le cycle spermatogénétique est défini comme la succession chronologique des différents stades de maturation d'une génération de cellules germinales, en un point fixe du tube séminifère. La durée de la spermatogenèse est constante pour une espèce donnée. La durée de ce cycle correspond à l'intervalle de temps qui rythme l'entrée des spermatogonies en spermatogenèse qui est de l'ordre de 53,2 jours chez le rat et de 74 jours chez l'homme.

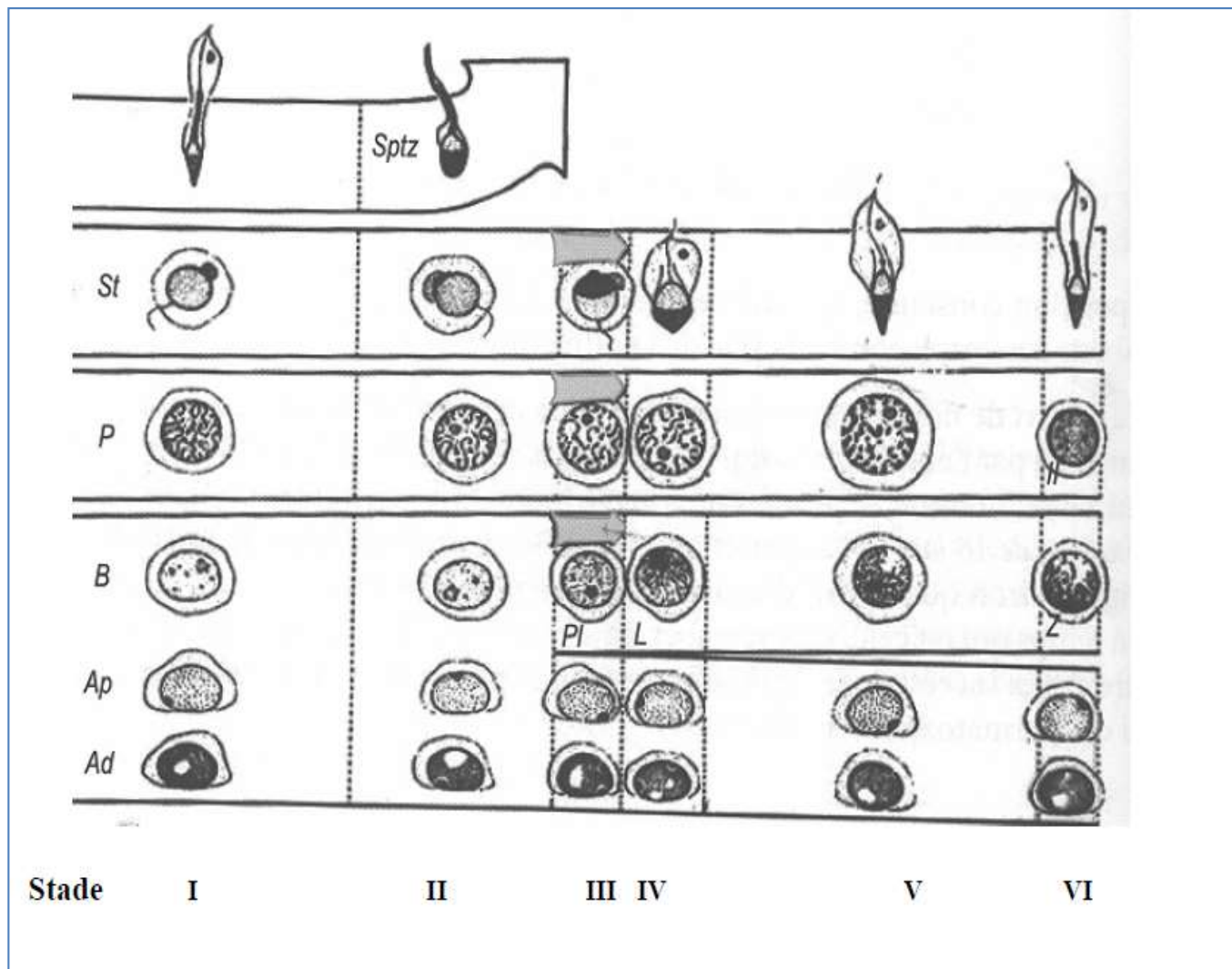
Chacune des étapes de la spermatogenèse a une durée fixe et constante. Ainsi, chez l'homme, la durée de vie moyenne des spermatogonies Ap est de 16 à 18 jours, de 7,5 à 9 jours pour les spermatogonies B, de 23 jours pour les spermatocytes I, de 1 jour pour les spermatocytes II et de 23 jours pour les spermatides.

#### **IV.3.2. Cycle de l'épithélium séminal**

Les cellules souches de renouvellement entrent en spermatogenèse périodiquement tous les 16 jours chez l'homme. Ces spermatogonies sont reliées par des ponts cytoplasmiques et entrent en spermatogenèse en groupes. Ces ponts persistent entre les spermatocytes de la même génération et leurs cellules filles jusqu'à la fin de la spermatogenèse.

Chez l'homme, l'examen histologique de la paroi des tubes séminifères montre la présence de 4 ou 5 générations de cellules germinales disposées en couches superposées. Les générations des cellules jeunes sont disposées le long de la membrane basale du tube séminifère, les générations des cellules les plus matures sont en bordure de la lumière. Cette stratification résulte d'une part de la longue durée de la spermatogenèse (évolution chronologique des cellules de la même génération) et d'autre part de la durée relativement courte de l'intervalle de temps entre les 2 entrées successives des spermatogonies en spermatogenèse.

Les différentes générations de cellules germinales constituent donc des associations cellulaires de composition constante. Chaque type d'association permet de définir un stade. Le nombre de stades (de 6 à 14) et leur durée relative varie en fonction des espèces. Cet arrangement spatial a été désigné sous le nom d'onde spermatogénétique (Figure 18).



Les stades sont numérotés de I à VI, la longueur de la colonne est proportionnelle à la durée du stade.

- Ad : spermatogonie de type Ad
- Ap : spermatogonie de type Ap
- B : spermatogonie de type B
- Pl, L, Z, P : spermatocytes I respectivement au stade préleptotène, leptotène, zygotène, pachytène
- II : spermatocyte II
- St : spermatide
- Sptz : spermatozoïde

Figure 18: Cycle de l'épithélium séminal chez l'homme (Dym et Clermont, 1970)

#### IV.4. Efficacité de la spermatogenèse

L'efficacité de la production de spermatozoïdes est exprimée par le nombre de spermatozoïdes produits par jour et par gramme de testicule. Cette production chez l'homme est inférieure à celle des autres espèces (5 millions/j/g, elle correspond à 20-40% de celle des autres mammifères). Elle diminue avec l'âge, la production totale varie de 250 millions entre 20 et 48 ans à 121 millions entre 50 et 90 ans. Cette décroissance serait liée à l'augmentation du taux de dégénérescence des cellules germinales au début de la méiose.

Chez la majorité des mammifères, l'efficacité de la production de spermatozoïdes est de 20 à 28 millions de spermatozoïdes par jour et par gramme de testicule, à l'exception du taureau (12 millions/j/g) et de l'étalon (16 millions/j/g).

### V. Ovogenèse et évolution folliculaire

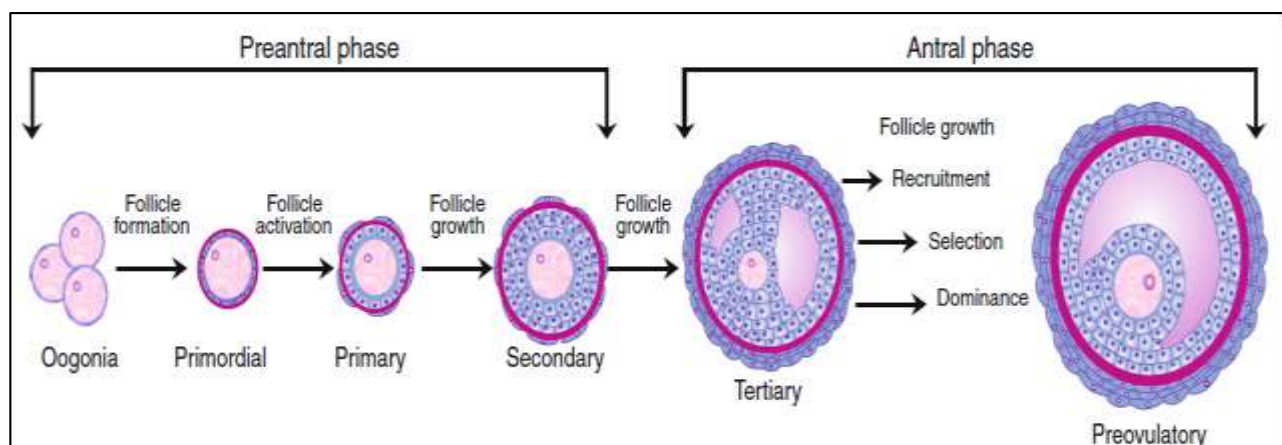
#### V.1. Ovogenèse

L'ovogenèse est le processus de la formation, de la croissance et de la maturation du gamète femelle. Ce processus ne peut être distingué de l'évolution du follicule ovarien au sein duquel il se déroule. L'évolution du follicule, à son tour, est indissociable de l'activité cyclique de l'ovaire (ou cycle ovarien) à laquelle elle contribue par sa participation à un contrôle endocrinien particulièrement perfectionné.

L'ovogenèse correspond aux étapes de divisions des cellules germinales primordiales et à la méiose qui va conduire à la formation de l'ovule (ovocyte I), qui débute pendant la vie fœtale et peut prendre des mois voire des années chez l'espèce humaine (50 ans).

Au cours de la vie fœtale, dès leur entrée dans les crêtes génitales, les cellules germinales prennent le nom de gonies (spermatogonies, ovogonies). L'ovogenèse comporte 3 phases : une phase de multiplication, une phase d'accroissement et une phase de maturation.

Au cours de la phase de multiplication qui débute pendant la vie embryonnaire et se termine avant ou peu après la naissance, les ovogonies se multiplient par mitose jusqu'à leur entrée en méiose



**Figure 19** : Etapes de développement du follicule ovarien chez la femelle (Araújo et al., 2014)

La prophase de la première division de la méiose est divisée en 4 stades consécutifs : Stade leptotène, zygotène, pachytène et le stade diplotène.

Durant le stade leptotène il y a synthèse d'ADN essentiellement durant le stade préleptotène, les chromatides restent associées et les chromosomes se rapprochent.

Le stade zygotène caractérisé par un axe protéique qui se forme contre chaque chromosome leurs donnant ainsi une forme plus grosse.

Durant le stade pachytène les axes protéiques des chromosomes bivalents se fixent sur une matrice protéique présentant une forme d'échelle, formant ainsi un complexe synaptomérial qui permet les échanges entre chromosomes d'une même paire.

Enfin, le stade diplotène, les chromosomes se séparent sauf aux endroits où se sont produits des échanges (chiasmata).

La première division de la méiose se déroule jusqu'au stade diplotène de la prophase (ovocyte I). L'ovocyte I reste à ce stade jusqu'à ce qu'il soit sélectionné pour l'ovulation après la puberté, qui dure longtemps chez les mammifères (50 ans chez l'espèce humaine).

La phase d'accroissement qui se déroule au sein du follicule. Une assise de cellules folliculeuses entourant l'ovocyte I, ébauche de la granulosa qui est séparée du stroma ovarien par une membrane basale pour constituer ensemble le follicule primordial. Les cellules folliculeuses prolifèrent pour former d'abord un épithélium cubique monostratifié puis une structure

pluristratifiée : la *granulosa*. L'assise cellulaire la plus interne conserve sa morphologie épithéliale cubique et prend le nom de *corona radiata*. Durant ce stade, l'ovocyte I entre en accroissement. Dans l'interstice qui le sépare de sa *corona radiata* se dépose une couche mucoprotéique formée conjointement par l'ovocyte et les cellules de la *corona radiata* : la zone pellucide. A ce stade, le follicule est qualifié de follicule primaire.

Les follicules primordiaux et primaires constituent le groupe des follicules préantraux (ou précavitaires).

Au cours de la phase de maturation, la prolifération des cellules de la *granulosa* se poursuit activement, augmentant le diamètre du follicule. Au sein de la *granulosa* apparaît une cavité ou antrum formée par la coalescence d'inclusions expulsées par les cellules folliculeuses, le follicule prend le nom de follicule secondaire ou antral qui exprime des récepteurs LH dans la thèque interne et à FSH dans la *granulosa* et devient capable de répondre à une stimulation gonadotrope qui se traduit par un accroissement et stéroïdogénèse.

La condensation des cellules du stroma ovarien autour du follicule se différencie en deux couches distinctes: la thèque interne de nature épithélioïde entourant la membrane basale et la thèque externe de nature conjunctivo-musculaire. Des vaisseaux sanguins colonisent les deux thèques, mais ne traversent pas la membrane basale, laissant la *granulosa* avascularisée.

Pendant ce temps, l'antrum se dilate par accumulation d'un liquide résultant des sécrétions de la *granulosa*, des deux thèques et d'une exsudation plasmatique. L'ovocyte est refoulé à un pôle de l'antrum, entouré de sa zone pellucide et de quelques assises de cellules folliculeuses, l'ensemble, qui fait saillie dans l'antrum, prend le nom de *cumulus oophorus*, l'ensemble forme le follicule tertiaire, antral ou cavitaire (gonadotrope-dépendant).

L'étape finale de la croissance folliculaire est le follicule préovulatoire dénommé follicule de de Graaf.

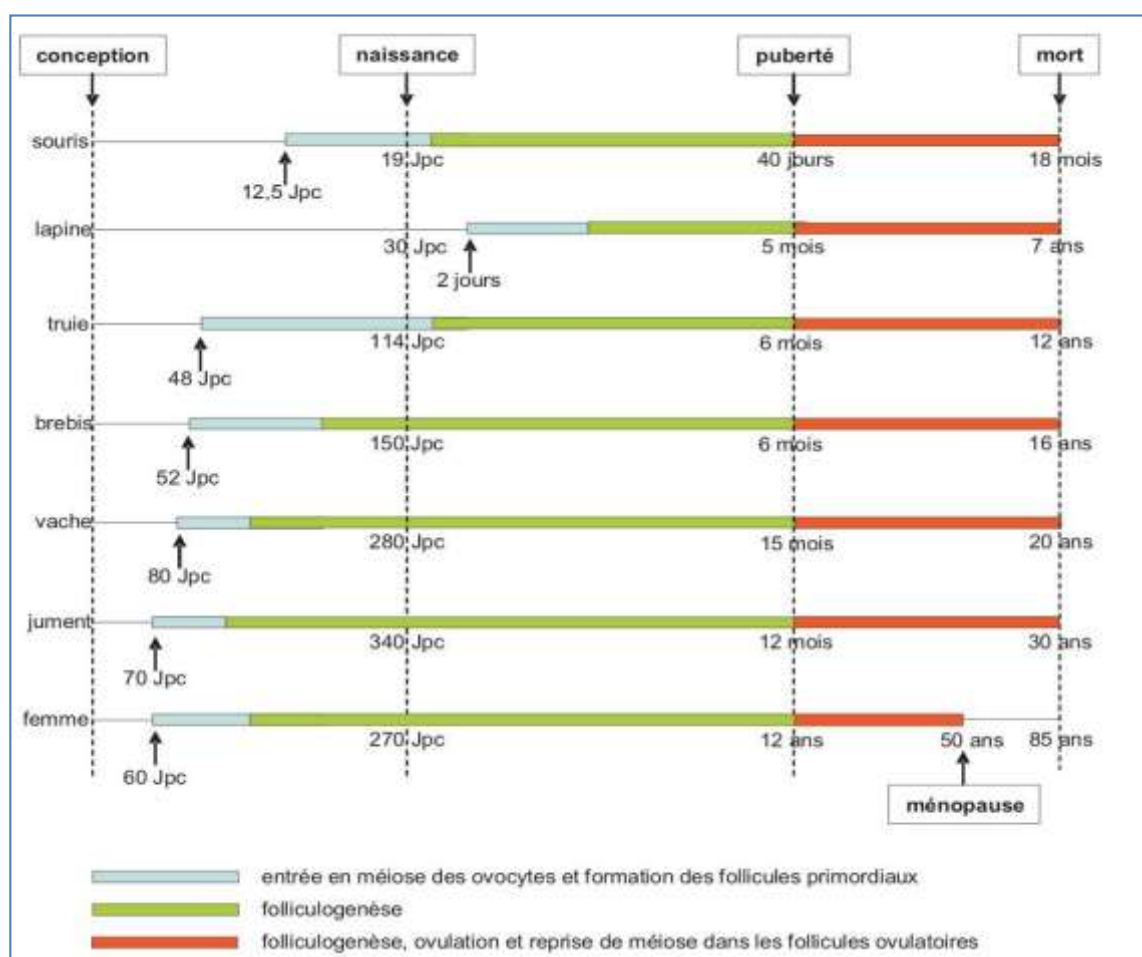
### **V.1.1. Cinétique de la croissance folliculaire**

#### **V.1.1.1. Réserve ovarienne**

La réserve ovarienne est le nombre d'ovocytes présents dans le cortex ovarien à un instant donné. Ce stock initial est formé avant ou après la naissance selon les espèces et va diminuer au cours du temps.

Certaines espèces, comme la femme ou la vache, ont une ovogenèse foetale (début de la prophase de méiose pour la vache : 70 jours post coïtum; et pour la femme : 9 semaines après

fécondation) et une folliculogénèse foetale (les premiers follicules antraux apparaissent avant la naissance) qui débute 90 jours post coïtum chez la vache et 14 semaines après la fécondation chez la femme. D'autres, comme la souris, ont une ovogénèse foetale qui débute 13-14 jours après le coït, mais une folliculogénèse post-natale (3 jours post natal). Enfin certaines espèces, comme le lapin, ont une ovogénèse et une folliculogénèse post-natales (Figure 20).



**Figure 20:** Taux de sortie de la réserve des follicules primordiaux ; taille et vitesse de croissance folliculaire (Monniaux et al., 2004)

### V.1.1.2. Initiation

Cette croissance folliculaire commence par l'initiation, qui correspond au passage du follicule primordial au stade follicule primaire. Elle peut avoir lieu pendant la vie foetale (femme, vache) ou après la naissance (lapin, souris, carnivores). Chaque jour, un nombre prédéfini de follicules (variable d'une espèce à l'autre) va quitter la réserve et entamer sa croissance. Chez le rat, on compte une dizaine de follicules, chez la brebis de 1 à 3 follicules, chez la femme de 15 à 20

follicules, chez la souris de 30 à 40 follicules. Ce nombre va toutefois diminuer avec l'âge puisqu'il dépend également de la taille de la réserve.

Ce phénomène d'initiation est continu et permanent, de nouveaux follicules primordiaux entamant tous les jours leur croissance.

#### **V.1.1.3. Croissance basale**

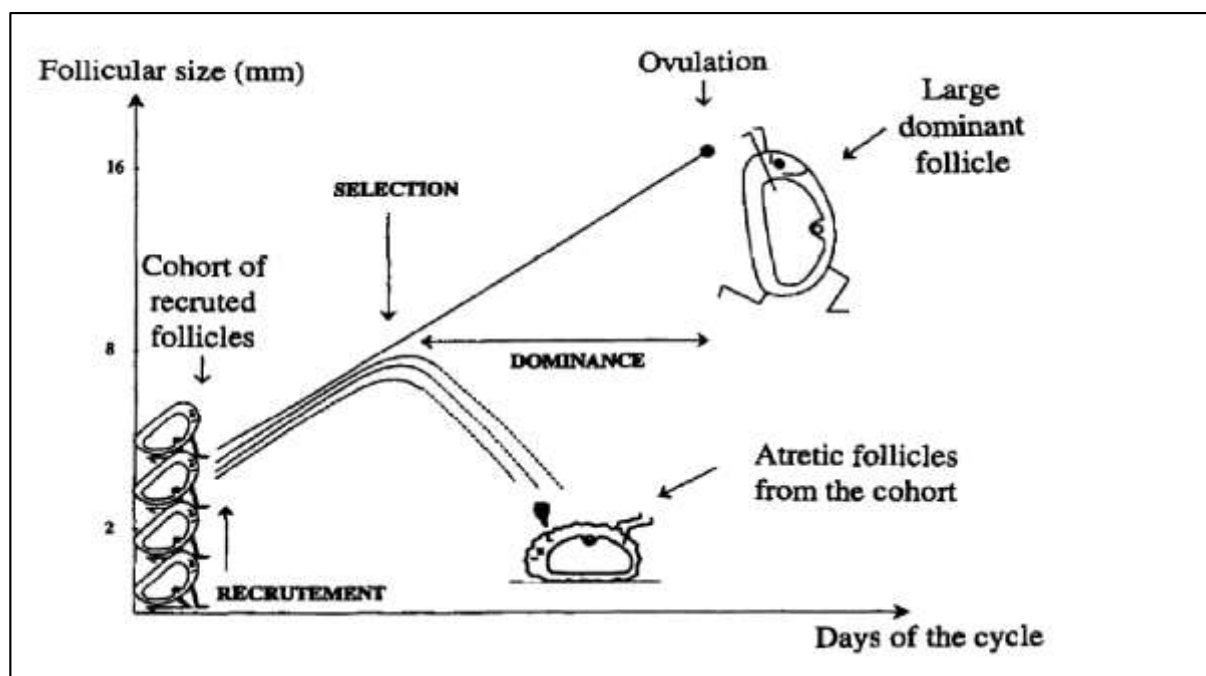
Après cette phase d'initiation, le follicule va entamer sa première phase de croissance se transforme en follicule secondaire, puis formation de l'antrum avec une cinétique propre à chaque espèce. Chez la femme par exemple, il faut plus de 150 jours pour passer du stade follicule primaire au stade follicule secondaire, environ 120 jours pour arriver au stade follicule pré-antral puis 65 jours pour acquérir les compétences nécessaires à sa sélection et donc pour entrer dans une deuxième phase de croissance donnant lieu aux vagues folliculaires.

#### **V.1.1.4. Vagues folliculaires**

Les vagues folliculaires correspondent à la succession des cohortes entrant en phase terminale de croissance pendant un cycle. Une faible proportion de ces vagues va s'achever par une ovulation. Certains follicules antraux (dits gonadodépendants) entrent dans la première phase de cette folliculogénèse terminale appelée recrutement. Ces follicules forment une cohorte et chacun possède une sensibilité différente aux hormones (ils n'ont pas tous la même taille ni le même nombre de récepteurs). La taille de la cohorte dépend de l'espèce : chez la truie on compte jusqu'à 50 follicules recrutés, 2-3 chez la jument et 10 à 20 chez la jeune femme. A mi-parcours, certains follicules vont stopper leur maturation pour dégénérer, alors que d'autres vont la poursuivre : c'est la sélection, qui aboutit à la formation des follicules dominants. De la même façon que pour la taille de la cohorte, le nombre de follicules dominants est fonction de l'espèce et correspond au quota ovulatoire (nombre de follicules ovulant à chaque cycle).

Pendant cette période de dominance, on observe la dégénérescence des autres follicules (non dominants, dits subordonnés) de la cohorte initiale (Figure 21).

Ce développement folliculaire terminal se fait sous forme de vagues folliculaires qui apparaissent précocement chez le jeune impubère (mais ne donneront pas lieu à une ovulation à ce stade) et ce n'est qu'à l'approche de la puberté que les diamètres folliculaires vont s'accroître jusqu'à la taille ovulatoire.



**Figure 21** : Recrutement, sélection et dominance des follicules (Driancourt, 2001)

La vache par exemple présente 2 à 4 vagues par cycle (exceptionnellement 6), seule la dernière vague va donner lieu à une ovulation au moment où le corps jaune du cycle précédent est lutéolysé et n'exerce plus son rétrocontrôle négatif sur l'ovulation. Un peu avant d'avoir atteint son diamètre ovulatoire, le follicule dominant des vagues précédentes n'évolue pas et entre en atresie. La présence du corps jaune inhibe en effet la possibilité d'un pic ovulatoire de LH. D'autres espèces, comme la femme, ne présentent qu'une vague par cycle.

#### V.1.1.5. Durée des différentes étapes de la folliculogénèse

La vitesse de croissance folliculaire est fonction du stade du cycle, qui est caractérisée par l'index mitotique des cellules de la granulosa. Cet index évolue en fonction du diamètre folliculaire selon une courbe en forme de cloche chez diverses espèces.

La durée de la croissance folliculaire depuis la sortie de la réserve jusqu'à l'ovulation varie selon l'espèce. On constate néanmoins que quelle que soit l'espèce, la croissance basale est plus longue que la croissance terminale. Chez la ratte on estime la durée totale de la folliculogénèse à 21 jours, chez la brebis à 6 mois (130 jours jusqu'à l'apparition de l'antrum puis 45 jours jusqu'à l'ovulation), chez la lapine à 97 jours, chez la chienne à 170 jours et chez la femme à plus de 200 jours. L'intervalle de temps nécessaire au déroulement de la folliculogénèse terminale (de l'acquisition des récepteurs à FSH et LH à l'ovulation pour les follicules dominants ou à l'atresie

pour les autres follicules de cette cohorte) est de 2-3 jours chez la brebis, 4-5 jours chez la truie, 8-12 jours chez la jument, 7-9 jours chez la vache et de 14 jours chez la femme.

## **V.2. Evolution folliculaire**

On distingue deux phases dans la folliculogénèse définies par les facteurs qui les régulent : Une phase non gonadodépendante et une phase gonadodépendante.

### **V.2.1. Phase non gonadodépendante**

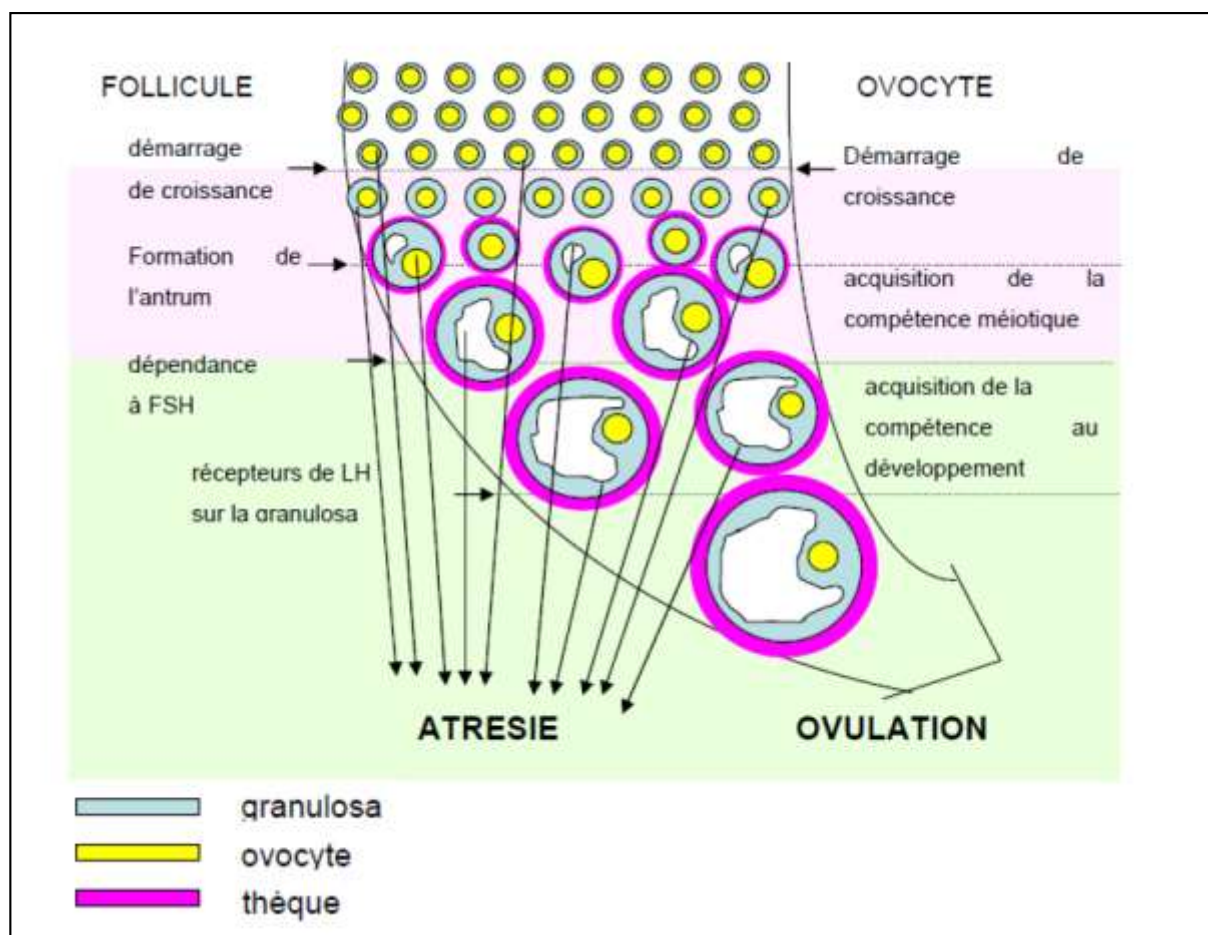
Cette phase conduit le follicule primordial au stade follicule pré-antral : cette phase constitue la folliculogénèse basale qui constitue la première phase de croissance folliculaire. C'est la phase la plus longue puisqu'elle représente 85% de la durée de la folliculogénèse chez la souris. Elle est régulée par des facteurs autocrines et paracrines dont les actions et interactions sont encore mal comprises. On distingue en premier lieu une régulation locale avec des facteurs tels que l'activine, l'inhibine, le Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Leurs actions combinées permettent une régulation fine encore mal comprise aujourd'hui. On définit cette croissance comme n'étant pas sous l'influence des hormones gonadotropes.

En effet, chez les femmes porteuses de mutations invalidant le récepteur à la FSH, les follicules se développent jusqu'au stade sélectionnable. Les gonadotrophines ne sont donc pas indispensables pendant la croissance basale, mais influencent la croissance des follicules.

### **V.2.2. Phase gonadodépendante**

Cette phase est sous la dépendance des hormones gonadotropes (FSH et LH) et débute par l'acquisition des récepteurs à FSH et LH, soit dès le stade follicule pré-antral pour une taille folliculaire propre à chaque espèce, durant laquelle la croissance folliculaire est sous la dépendance des gonadotrophines.

Ce développement subit une régulation endocrinienne (FSH et LH), mais également des régulations locales paracrines (messages circulants entre la thèque, la granulosa et l'ovocyte) et autocrines qui renforcent ou inhibent les effets des hormones gonadotropes (hormones notamment connues pour inhiber l'apoptose des follicules antraux) (Figure 22).



**Figure 22 :** Récapitulatif des principales étapes du développement folliculaire de la maturation ovocytaire (Monniaux et al., 2004)

### V.2.2.1. Recrutement

L'entrée dans la croissance folliculaire terminale se produit pour un petit nombre de follicules possédant des récepteurs aux hormones gonadotropes, il s'agit du recrutement. Cette cohorte est donc constituée de follicules n'ayant pas atteint exactement le même stade de développement, ils ont en revanche tous atteint une taille minimum qui dépend de l'espèce (0,2 mm chez la souris, 2 mm chez les primates, 4 mm chez la vache, 2 mm chez la brebis, 1 mm chez la truie, 10 mm chez la jument), et possèdent tous des récepteurs à FSH. Cette période correspond à l'apparition d'une activité aromatasase dans la granulosa (acquisition de la capacité à produire de l'oestradiol). Au cours du recrutement, alors que le taux de LH est faible, la sécrétion de FSH est élevée, ce qui fait de cette hormone, l'hormone du recrutement. Chaque individu possède un seuil de FSH en dessous duquel le recrutement n'est pas induit. De même tous les follicules gonadodépendants n'ont pas la même sensibilité à la FSH, ce qui va influencer leur chance de survie.

**V.2.2.2. Sélection**

La sélection se fait suite au recrutement et va réduire le nombre de follicules au nombre d'ovulations à venir. Chez les espèces mono-ovulantes, on constate que le follicule dominant est souvent le plus gros follicule de la cohorte. On observe, à ce stade, une baisse de la sécrétion de FSH et une augmentation de la sécrétion de LH. Deux hypothèses expliquent la sélection :

- L'hypothèse gonadotrope : l'oestradiol et l'inhibine synthétisées par les cellules de la cohorte exercent un rétrocontrôle négatif sur la production de FSH. Les follicules qui avaient des besoins élevés en FSH voient leur croissance s'arrêter. Seuls ceux ayant mis en place des solutions alternatives peuvent continuer à se développer.
- L'hypothèse alliant l'effet chute de FSH et un facteur local produit par les plus gros follicules de la cohorte inhibant la croissance des autres follicules. Chez la vache, des facteurs inhibant la différenciation de la granulosa (Epidermal Growth Factor et inhibine notamment) ont été mis en évidence dans le liquide folliculaire.

**V.2.2.3. Dominance**

La dominance correspond à la croissance des follicules sélectionnés qui ont acquis des récepteurs à LH au niveau de la granulosa.

A ce moment, les concentrations de LH augmentent alors que celles de la FSH deviennent plus faibles. Dans toutes les espèces, on constate que le (ou les) follicule(s) dominant(s) est (ou sont) celui (ou ceux) qui présente(nt) le(s) premier(s) des récepteurs à LH sur les cellules de la granulosa. A ce stade, les follicules dominants ont atteint un diamètre de 4, 5, 8 et 25 mm chez la brebis, la truie, la vache et la jument respectivement, 10 à 12 mm chez la femme.

Les follicules dominants poursuivent leur croissance malgré la forte baisse du taux de FSH circulant, car leurs besoins en FSH sont réduits. Cette dominance venant après la sélection reposerait sur 3 propriétés propres au follicule :

- La présence de récepteurs à LH sur les cellules de la granulosa qui chez la vache permet de maintenir le follicule dominant plus longtemps en raison du maintien iatrogène des pulses de LH en phase lutéale. De même, une administration de LH chez une vache sous-alimentée permet d'augmenter la taille du follicule dominant. Chez les primates, le rôle de la LH n'est pas aussi évident car la croissance d'un follicule dominant n'est pas perturbée par l'administration d'anticorps anti-LH.

- La production de régulateurs autocrines et paracrines amplifie la réponse du follicule à la stimulation par la FSH et LH. En effet, la biodisponibilité en IFG-I est élevée dans les follicules dominants, or cette protéine potentialise l'action de la LH sur la thèque et la granulosa et de FSH sur la granulosa, ce qui pourrait jouer un rôle important dans le maintien du follicule dominant.

- La mise en place de la néo-vascularisation préférentiellement autour du follicule dominant, en assurant la diffusion facilitée de LH et FSH. Ce phénomène est prouvé expérimentalement chez les primates mais pas chez les autres mammifères. Cette angiogenèse autour du follicule dominant serait régulée de manière paracrine par le VEGF (vascular endothelial growth factor) dont la production est stimulée par la FSH, LH et l'IGF-I. Ainsi, la néo-vascularisation ne serait pas impliquée dans le phénomène de sélection mais plutôt dans la dominance.

La présence de ce follicule dominant est directement corrélée à l'absence de recrutement d'une nouvelle cohorte. En effet, la destruction du follicule dominant induit immédiatement une nouvelle vague folliculaire.

### V.2.3. Ovulation

L'ovulation est une période de courte durée (en moyenne 48 heures) qui se caractérise par la libération de l'ovocyte mature fécondable dans les trompes de Fallope (Figure 23).

Dès que le taux d'oestrogène atteint un seuil (variable d'une femme à l'autre, mais généralement entre 300 et 350 pg/ml), il stimule la sécrétion de LH par l'hypophyse. Le taux de cette hormone augmente alors rapidement (c'est le pic de LH), et déclenche l'ovulation proprement dite, qui survient en moyenne 36 à 48h après le début de ce pic. La rupture du follicule et l'expulsion de l'ovocyte résultent de la séquence d'événements suivants :

- Augmentation du flux sanguin
- Augmentation du volume de l'antrum par suite d'un appel d'eau par l'acide hyaluronique sécrété par les cellules du cumulus sous l'action de FSH/LH.
- Dissociation des faisceaux de fibres de collagène de la thèque externe sous l'action d'une collagénase et d'une plasmine (résulte de la production d'activateur du plasminogène par les cellules de la granulosa). Cette activité est surtout importante au niveau de l'apex du follicule.
- Les cellules de la granulosa se détachent de la lame basale. Seules les cellules qui ont assuré la jonction entre la granulosa et l'ovocyte restent plus ou moins longtemps attachées à l'ovocyte et forment la *corona radiata*.

- Rupture de la lame basale.
- Mort des cellules de l'épithélium ovarien au niveau de l'apex.
- La décharge préovulatoire de gonadotropines induit un pic de sécrétion de stéroïdes (oestradiol, progestérone) et l'augmentation du rapport des concentrations de progestérone avec celles d'oestradiol (changement important pour la maturation de l'ovocyte).
- En raison de la désintégration de l'apex du follicule et en réponse à la chute de pression hydrostatique, la contraction du follicule permet l'expulsion de l'ovocyte et des cellules de la *corona radiata* provoquant ainsi sa rupture.
- L'augmentation des sécrétions des hormones gonadotropes stimule également la production de prostaglandines F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) par les cellules de la thèque et de la granulosa, qui facilitent la libération d'hydrolases lysosomiales par les cellules de l'épithélium ovarien.

L'ovulation fait intervenir des composés impliqués dans les réactions inflammatoires:

- La bradykinine (hormone peptidique, vasodilatateur) qui stimule la synthèse de PGF2 $\alpha$  en activant une phospholipase A2.
- Les leucotriènes (métabolites de l'acide arachidonique)
- L'histamine
- La décharge gonadotrope préovulatoire provoque la rupture du follicule par l'intermédiaire d'une forte augmentation d'AMPc capable d'induire une réaction inflammatoire localisée (augmentation des sécrétions des médiateurs cellulaires de la réaction inflammatoire). Tous les anti-inflammatoires non stéroïdiens empêchent la rupture du follicule. La progestérone dont la sécrétion est stimulée par la décharge gonadotrope limite l'importance de la réaction inflammatoire et permet la transformation du follicule en corps jaune.

### V.3. Fonction lutéale cyclique

La phase lutéale est la période d'activité du corps jaune, s'étendant des jours 14 à 28 ; Au cours de laquelle a lieu la formation puis la dégénérescence du corps jaune. Le follicule de De Graaf qui a libéré l'ovocyte mature se remplit de sang (follicule hémorragique) et ses cellules stéroïdogènes (caractérisées par un abondant réticulum endoplasmique, mitochondries à crêtes tubulaires) se modifient (Figure 23). Il va dès lors sécréter principalement de la progestérone, mais aussi de la relaxine et de l'ocytocine et des PGF2 $\alpha$  au cours de la lutéolyse (et aussi un peu d'œstrogènes) qui atteint un pic maximal vers le neuvième jour post-ovulatoire. En l'absence de

fécondation et nidation, le corps jaune commence à régresser dès le neuvième jour qui suit l'ovulation et le taux de progestérone et d'œstrogène diminuent.

### V.3.1. caractéristiques morphologique du corps jaune

Après l'ovulation, la formation du corps jaune est initiée par une série de transformations morphologiques et fonctionnelles des cellules de la thèque interne et des cellules de la granulosa du follicule qui a ovulé. En effet ; Le follicule rompu se remplit de sang qui se coagule et est remplacé progressivement par du tissu conjonctif (Figure 23).

La paroi folliculaire du corps jaune se plisse, les cellules de la granulosa (cellules épithéliales folliculaires du follicule tertiaire) se multiplient, sous l'influence de LH, et accumulent des lipides (lutéinisation). La paroi s'épaissit et le corps jaune, dont la taille atteint environ 2cm, prend une couleur jaune, alors que la lame basale (située entre le corps jaune et la thèque) est détruite. A partir de l'extrémité, le tissu conjonctif grandit avec des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et entretient la paroi du corps jaune ; les cellules (petites) de la thèque interne subissent aussi la lutéinisation (cellules lutéales de la thèque) et restent regroupées dans des zones distinctes.

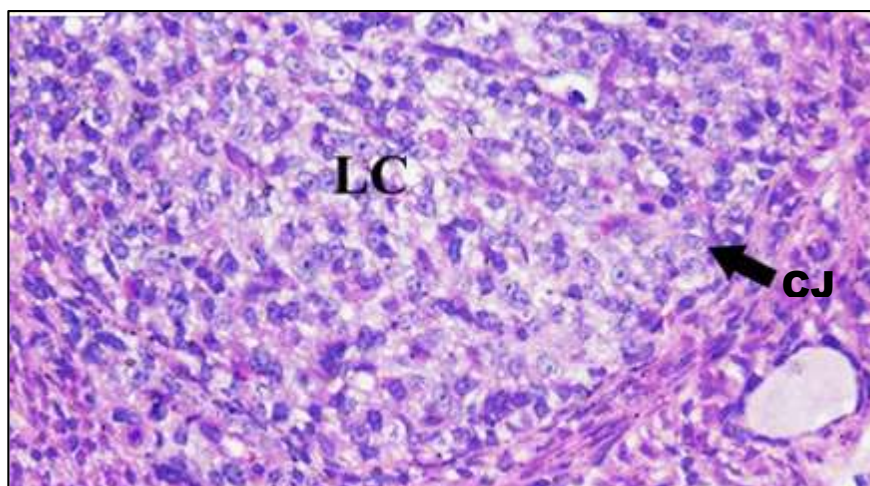
Deux formes de corps jaunes sont à distinguer : le corps jaune de la menstruation et le corps jaune de la grossesse.

Le corps jaune de la menstruation n'existe que pendant environ 14 jours, au cours de la deuxième moitié du cycle, puis dégénère lorsqu'il n'y a pas de fécondation.

Sans le stimulus continu de LH, il régresse pour former une structure non fonctionnelle puis transformer en une cicatrice blanchâtre, celle-ci peut même se calcifier plus rarement s'ossifier c'est le corpus albicans. La durée de vie du corps jaune cyclique est variable d'une espèce à l'autre, elle est généralement comprise entre 12 et 21 jours.

Les taux de progestérone et d'œstrogène commencent à diminuer à partir du 22<sup>ème</sup> jour du cycle et la stimulation de LH régresse. De ce fait, la GnRH augmente ce qui après les menstruations, amorce une nouvelle phase folliculaire.

Le corps jaune de la grossesse débute après la fécondation et s'accroît sous l'influence des gonadotrophines chorioniques humaines (GCh) jusqu'à atteindre une taille de 2,5cm et reste actif jusqu'au quatrième mois de gestation, puis régresse lentement et ses fonctions sont reprises par le placenta.



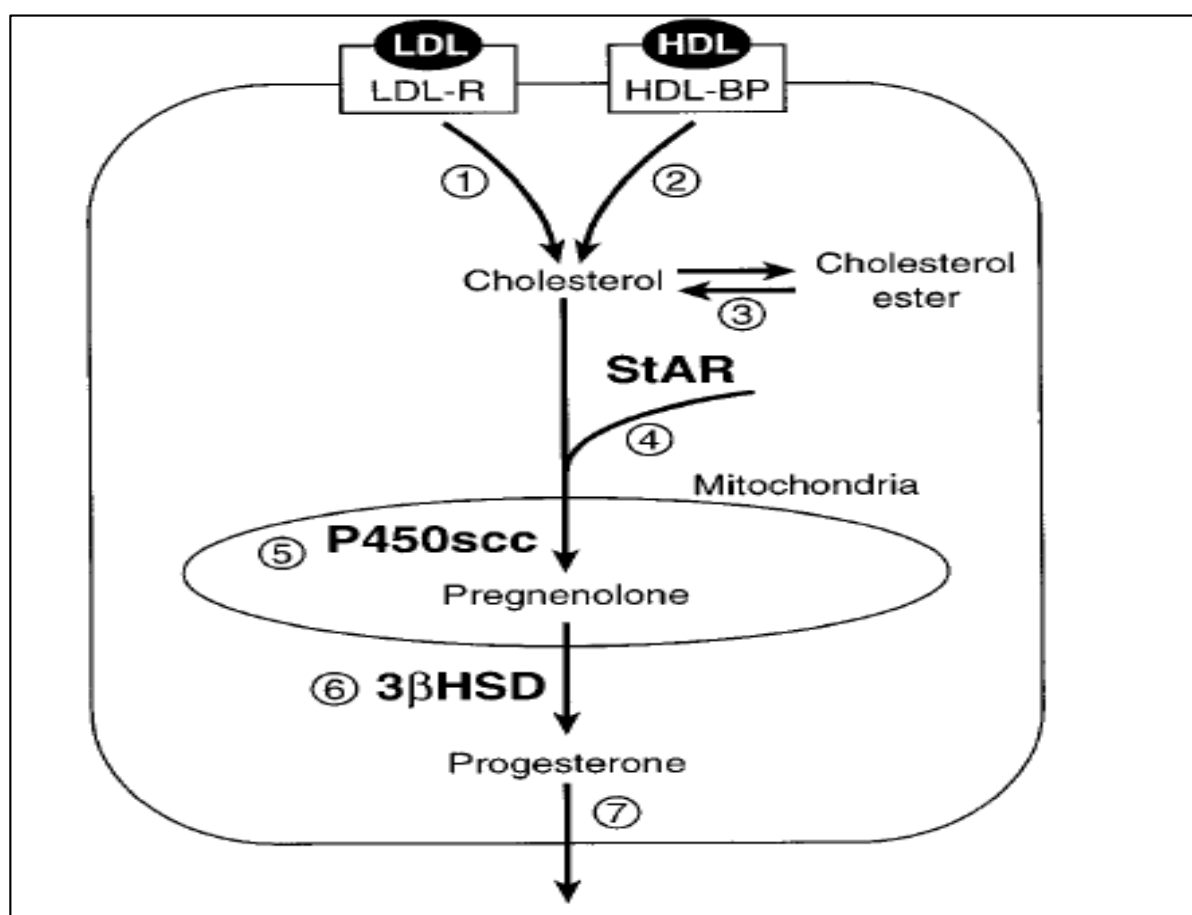
**Figure 23** : Corps jaune cyclique montrant les cellules lutéales (Noreldin et *al.*, 2021)  
 LC : Cellules lutéales ; CJ : Corps jaune

### V.3.2. Sécrétion de progestérone et facteurs lutéotropes

Les transformations morphologiques et fonctionnelles des cellules de la thèque interne et de la granulosa du follicule conduisant à la formation du corps jaune, sont initiées par l'augmentation brutale des concentrations plasmatiques en LH associée à la décharge préovulatoire de l'hormone gonadotrope. La fonction principale du corps jaune est la sécrétion de progestérone qui est une hormone stéroïdienne dont la structure de base dérive de celle du cholestérol plasmatique (Figure 24).

La nécessité de LH pour le maintien d'une sécrétion normale de progestérone par le corps jaune est bien établie pour la plupart des espèces. En effet ; La LH interagit avec son récepteur à 7 domaines transmembranaires ce qui va entraîner l'activation de l'adénylate cyclase. Il y a donc production d'AMPc puis activation de la PKA et la HSL (hormone sensitive lipase) par la suite, une série de phosphorylation permettant la production de progestérone intervenant dans la survie du corps jaune dont :

Internalisation du cholestérol ; stockage de ce dernier sous forme estérifiée ou desestérifiée ; activation de la protéine Star qui va permettre le passage du cholestérol à travers la membrane interne de la mitochondrie ; activation d'enzyme du début de la stéroïdogénèse



**Figure 24** : Biosynthèse de la progestérone dans la cellule lutéale (Niswender *et al.*, 2000)

L'effet majeur de la progestérone est le ralentissement de la fréquence des pulses de LH au cours de la phase lutéale du cycle, elle agit alors au niveau hypothalamique afin de diminuer la fréquence des pulses de GnRH. En effet, des récepteurs à la progestérone ont été mis en évidence dans la région du noyau arque, sans doute au niveau des neurones à GnRH.

L'évolution du taux plasmatique de progestérone circulant reflète les étapes de croissance, maintien et régression du corps jaune.

Plusieurs facteurs contrôlent la production de la progestérone (LH, GH, prolactine, IGF-I, PGE<sub>2</sub>, et PGI<sub>2</sub>). En effet, l'hormone hypophysaire lutéotrope (la prolactine) constitue l'un des maillons indispensables dans la stéroïdogénèse chez plusieurs espèces et est donc un facteur limitant en cas d'absence. Son rôle lutéotrope a surtout été démontré chez la ratte hypophysectomisée. En effet ; elle stimule le turnover du cholestérol en activant d'une part la cholestérol-ester-synthétase qui permet d'augmenter les stocks de cholestérol estérifié et, d'autre part, la cholestérol-estérase

qui transforme le cholestérol estérifié en cholestérol libre, accroissant ainsi la quantité de substrat disponible pour la synthèse de progestérogène. Elle dirige la stéroïdogénèse vers la synthèse quasi exclusive de progestérogènes en empêchant la transformation de celle-ci en sa forme inactive la 20 $\alpha$  dihydro-progestérogène. Elle protège également le corps jaune vis-à-vis de divers facteurs lutéolytiques pendant la gestation.

Des interactions dynamiques s'établissent vraisemblablement entre les deux hormones prolactine et LH apparaissent complémentaires. Ces deux hormones agissent en synergie afin d'assurer une survie et une fonction lutéale optimale. La prolactine favorise l'expression des récepteurs à LH en induisant et maintenant leur présence sur la cellule lutéale tandis que la LH semble stimuler la sécrétion de prolactine et l'expression de ses récepteurs d'une part. D'autre part, l'augmentation de la sécrétion de progestérogène provoquée par la LH est plus importante et surtout plus durable.

De plus, elles favorisent toutes deux l'approvisionnement en substrat (cholestérol) de la cellule, facteur limitant dans la synthèse de la progestérogène.

Le rôle indispensable de l'association prolactine-LH, évident chez la ratte, la souris, la chienne, est moins clair chez la brebis cyclique et il est contesté chez la femme et la femelle macaque.

### **V.3.3. Mécanismes de la lutéolyse**

La lutéolyse est défini comme étant la destruction du corps jaune par perte du tissu en absence d'un embryon viable dans l'utérus lors d'un cycle œstral normal. Généralement, la vie du corps jaune varie entre 10-14 jours dépendant des espèces.

La lutéolyse peut être divisée en deux étapes : d'abord la luteolyse fonctionnelle qui réduit brutalement la sécrétion de progestérogène (en deux jours chez la brebis) puis la luteolyse structurale, plus progressive, qui correspond à la régression morphologique du ou des corps jaunes et qui commence 4 à 20 heures après le début de la lutéolyse fonctionnelle.

La lutéolyse ne peut en aucun cas être attribuée à une diminution des taux sanguins d'hormones lutéotropes LH ou prolactine ; puisque des injections pulsatiles de GnRH ou de LH a un rythme constant ne l'empêchent pas,

### **V.3.4. Mise en évidence du rôle de l'utérus dans le processus lutéolytique**

L'importance de l'utérus dans la régression du corps jaune a été mise en évidence en 1923 par Leo en pratiquant des hystérectomies sur le cobaye. Il a constaté l'allongement de la phase

lutéale, supposant ainsi la production d'une substance par l'utérus qui supprime l'activité lutéale et donc contrôle la durée de vie du corps jaune.

De nombreuses expériences du même type ont été réalisées, dans les années 50, chez la vache, la truie et la brebis, et à chaque fois, les résultats étaient similaires. L'hystérectomie en phase lutéale permet le maintien du corps jaune durant plus de 100 jours chez la truie et 160 à 170 jours chez la brebis. Chez la vache, l'hystérectomie totale entraîne l'absence d'œstrus et la persistance lutéale durant plus de 270 jours. Les primates représentent toutefois une exception à cette règle puisque l'hystérectomie ne perturbe pas la cyclicité normale de l'individu. En conclusion, ces expériences montrent que, dans la plupart des espèces, l'utérus exerce bien une action luteolytique sur le corps jaune.

Depuis 1970, il est reconnu que la substance utérine responsable de la lutéolyse du corps jaune chez la vache, la chèvre, la jument, la brebis et la truie est la  $\text{PGF2}\alpha$ . Néanmoins, on ne lui connaît pas de rôle naturel chez la chienne, la chatte et les primates. C'est un acide gras insaturé à 20 atomes de carbone sécrété par les cellules de l'endomètre.

En effet, le tissu lutéal est capable de synthétiser la  $\text{PGF2}\alpha$  sous l'action de la  $\text{PGF2}\alpha$  elle-même. Ce phénomène implique l'induction de la cyclooxygénase-2 (COX2). Il est possible de bloquer la lutéolyse en bloquant la synthèse de la  $\text{PGF2}\alpha$ . Alors qu'une injection de  $\text{PGF2}\alpha$  ou d'un analogue provoquerait une lutéolyse immédiate.

#### **V.3.4.1. Distribution de la prostaglandine $\text{F2}\alpha$ ( $\text{PGF2}\alpha$ )**

La sécrétion de  $\text{PGF2}\alpha$  dans la veine utérine au cours de cette période du cycle est pulsatile à raison de 3 à 4 pulses environ par 24 heures et il faut au minimum 5 pulses successifs par 24 heures pour induire une lutéolyse complète chez la brebis avec une concentration maximale (dans la veine utérine, le tissu utérin et les sécrétions utérines).

Chez la femme, la lutéolyse ne s'explique pas par l'action luteolytique d'une prostaglandine d'origine utérine car l'hystérectomie pratiquée au milieu de la phase lutéale ne modifie pas la durée de la phase lutéale.

Chez la femme, l'explication la plus simple de la luteolyse semble être les modifications intrinsèques du corps jaune, avec diminution progressive des récepteurs à la LH. Il s'agirait d'un mécanisme d'autodestruction programmée du corps jaune mettant en jeu les actions paracrines de l'œstradiol, de la prostaglandine  $\text{F2}\alpha$ .

Chez divers ruminants, l'ocytocine a une action lutéolytique qui est sécrétée en grandes quantités par le corps jaune chez plusieurs espèces. L'administration d'ocytocine provoque une sécrétion de PGF2 $\alpha$  par l'endomètre utérin, de même, l'injection de PGF2 $\alpha$  induit une décharge d'ocytocine ovarienne. Chez la femme et le macaque, il existe également une synthèse d'ocytocine par le corps jaune, mais les quantités produites sont très faibles suggérant une action de type paracrine et autocrine.

Des observations expérimentales ont permis de démontrer l'implication des PGF2 $\alpha$  endogènes dans le mécanisme de lutéolyse chez les mammifères domestiques caractérisée par :

Une augmentation des concentrations de PGF2 $\alpha$  dans la veine utérine coïncide avec la période de lutéolyse ; l'inhibition de la synthèse des PGF2 $\alpha$  par l'indométhacine (un anti-inflammatoire non stéroïdien) bloque la régression du corps jaune ; la lutéolyse est bloquée par une immunisation passive contre les PGF2 $\alpha$ .

#### **V.3.4.2. Mécanisme d'action de la prostaglandine F2 $\alpha$ (PGF2 $\alpha$ )**

Le mécanisme d'action de la prostaglandine F2 $\alpha$  n'est pas bien élucidé. Toutefois, l'administration à la brebis ou à la vache d'un de ses analogues induit une diminution de la synthèse de progestérone résultant à la fois d'une diminution du taux intracellulaire de l'AMP cyclique et de son action sur la stéroïdogénèse.

Chez la brebis, les récepteurs à PGF2 $\alpha$  sont présents sur les grandes cellules lutéales alors que ceux de la LH se situent sur les petites cellules lutéales. La PGF2 $\alpha$  induit un arrêt de la production d'AMPc LH-dépendante dans les petites cellules lutéales, menant à une réduction de la stéroïdogénèse de celles-ci. Cette observation corrélée avec la localisation des récepteurs à PGF2 $\alpha$  suggère l'existence de communications entre les deux types de cellules.

La PGF2 $\alpha$  entraîne une élévation des ARNm des caspases 1 et 3 (vache, brebis), enzymes intervenant dans l'apoptose et stimule aussi la sécrétion d'endothéline 1(ET-1) par les cellules endothéliales dont les récepteurs sont présents sur les cellules lutéales (Figure 25).

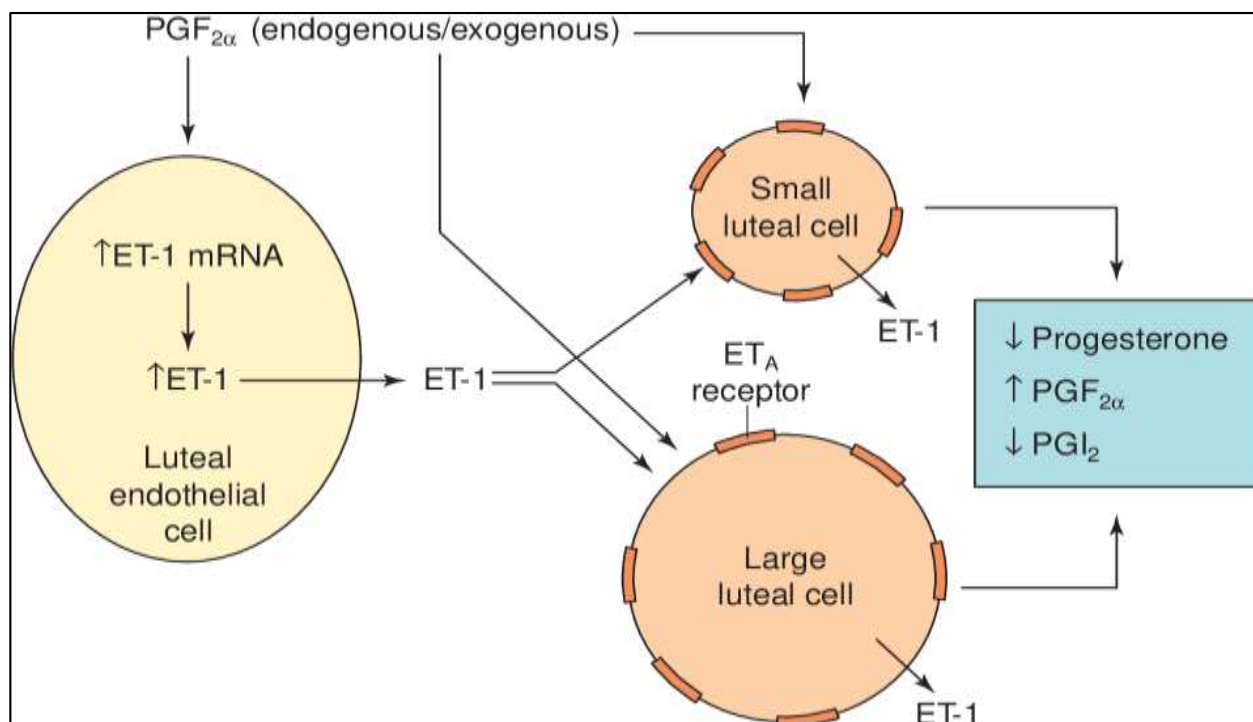
L'endothéline 1 induit une inhibition de la synthèse de la progestérone par les cellules lutéales *In vitro*. *In vivo*, son taux s'élève dans le tissu lutéal au moment des pics sanguins physiologiques de PGF2 $\alpha$ . L'action d'un antagoniste spécifique de l'ET-1 au niveau de ces récepteurs est capable d'inhiber la luteolyse provoquée par l'injection de PGF2 $\alpha$ .

L'endotheline, puissant vasoconstricteur, peut contribuer ainsi à la luteolyse, de même, l'angiotensine II (vasoconstricteur), produit par le corps jaune et dont la sécrétion est stimulée par  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , est aussi un inhibiteur de la biosynthèse de la progestérone.

Par leurs effets sur le débit sanguin les  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , ET-1 et Ang II pourraient entraîner la régression des cellules lutéales. Néanmoins, cette vasoconstriction ne semble pas à l'origine des étapes initiales de la chute de la progestérone.

Des études ont permis de constater qu'une diminution importante de la circulation sanguine dans l'ovaire ou le corps jaune empêche les cellules lutéales d'avoir les nutriments nécessaires à leur survie et à la sécrétion de la progestérone. Néanmoins, il est difficile de savoir si cette diminution de la circulation sanguine dans le corps jaune est la cause ou une des conséquences de la luteolyse.

De plus, injectée dans le corps jaune, l'endotheline induit une migration de macrophages vers le tissu lutéal qui alors secrète du  $\text{TNF-}\alpha$ , de l'interféron  $\gamma$  et de l'interleukine-1. Ces cytokines sont susceptibles d'agir en synergie pour induire l'apoptose des cellules lutéales.



**Figure 25:** Action de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  et de l'ET-1 sur la sécrétion de progestérone par les cellules lutéales (Milvae, 2000)

## VI. Contrôle endocrinien de la gamétogenèse

La régulation hormonale de la gamétogenèse, aussi bien chez la femme que chez l'homme, sont contrôlées par des hormones secrétées par le complexe hypothalamo-hypophysaire et les gonades.

### VI.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires

La fonction de reproduction est sous le contrôle d'un système hormonal complexe en mettant en jeu l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Figure 25).

#### VI.1.1. Action des gonadotrophines

L'hypothalamus contrôle l'hypophyse par le biais de la GnRH, sécrétée de manière pulsatile par les neurones sécréteurs et stimule les cellules endocrines de l'adénohypophyse qui répondent à cette stimulation en libérant les gonadotrophines hypophysaires, la FSH et la LH. Les gonadotrophines agissent au niveau de leurs cellules cibles par des récepteurs membranaires qui appartiennent à la grande famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. La liaison de l'hormone sur son récepteur active l'adénylate cyclase, conduisant à une augmentation de l'AMPc intracellulaire. L'AMPc se lie à la PKA, active cette dernière qui à son tour phosphoryle de nombreuses protéines comme les facteurs de transcription CREB (cAMP Responsive Element Binding Protein) et CREM (cAMP Responsive Element Modulator). L'activation de ces deux protéines permet leur liaison à l'élément de réponse CRE au niveau du promoteur des gènes cibles, ainsi que le recrutement du complexe de transcription, permettant la modulation de la transcription des gènes cibles.

Au niveau du testicule, la LH agit sur les cellules de Leydig pour induire la synthèse de testostérone, alors que la FSH a pour cible les cellules de Sertoli et les cellules germinales et stimule la spermatogenèse.

La sécrétion de LH et de FSH par l'adénohypophyse est régulée par des signaux hormonaux du système nerveux central (GnRH) et du système gonadique (testostérone et oestradiol), ainsi que par des facteurs gonadiques non stéroïdiens (inhibine, activine et follistatine).

La régulation de la FSH, fait intervenir des facteurs non stéroïdiens dont l'inhibine, l'activine et la follistatine. L'inhibine et l'activine appartenant à la superfamille des TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor- $\beta$ ). Ces facteurs contrôlent et régulent de nombreux processus biologiques dont la sécrétion d'hormones hypophysaires de la FSH.

Les hormones gonadiques (testostérone et œstradiol) peuvent moduler la sécrétion des gonadotrophines LH et FSH à la fois en diminuant la sécrétion de la GnRH par l'hypothalamus et en affectant la capacité de la GnRH à stimuler la sécrétion des gonadotrophines par l'adénohypophyse.

Ainsi la testostérone, sécrétée par les cellules de Leydig, est capable d'exercer un rétrocontrôle inhibiteur sur l'hypothalamus. Ce rétrocontrôle régule la baisse de la sécrétion hypothalamique de GnRH ce qui conduit à une réduction de la libération de FSH et LH. De plus, la testostérone est capable d'inhiber directement la libération de LH par l'adénohypophyse.

L'œstradiol, forme aromatisée de la testostérone produite par les cellules de Leydig, régule également la sécrétion et l'action de la GnRH. Elle agit au niveau de l'hypothalamus pour inhiber la sécrétion de GnRH et au niveau de l'adénohypophyse pour inhiber les réponses à la GnRH.

### **VI.1.2. Régulation de la stéroïdogénèse**

La LH est capable de contrôler la production et la sécrétion de testostérone via son récepteur situé à la surface des cellules de Leydig. La sécrétion de LH, suite à un pulse de GnRH, induit donc la stimulation des cellules de Leydig et plus spécifiquement induit la transcription des gènes codant pour de nombreuses enzymes impliquées dans la biosynthèse de la testostérone et indirectement à la régulation de l'expression de la protéine StAR, protéine clef, indispensable à la première étape de la stéroïdogénèse.

De plus, de nombreuses études suggèrent que le testicule et plus spécifiquement les cellules de Leydig sont la cible des oestrogènes. Il a été montré que le testicule est capable de synthétiser des oestrogènes et que leurs récepteurs (ER) seraient présents dans les cellules de Leydig.

L'inhibine et l'activine semblent être impliquées dans la régulation de la stéroïdogénèse. Des études ont montré que l'inhibine stimulerait la production de testostérone par les cellules de Leydig, alors que l'activine inhiberait la production de testostérone par les cellules de Leydig *in vitro*

La synthèse de testostérone peut également être régulée par de nombreux facteurs locaux comme les cytokines TNF $\alpha$  et IL-1 $\beta$ , sécrétées par les macrophages, ainsi que par d'autres facteurs de croissance tels que l'EGF, TGF- $\beta$ 1 l'IGF-1 et le FGF. Ces facteurs régleraient la synthèse de testostérone à différents niveaux en modulant : la disponibilité en cholestérol, l'expression d'enzymes clefs de la stéroïdogénèse et l'expression du récepteur à la LH.

### **VI.1.3 Régulation de la spermatogenèse**

La spermatogenèse est un processus complexe et son bon déroulement est sous le contrôle des gonadotrophines hypophysaires (LH et FSH) et de facteurs locaux (Figure 26).

La nécessité de la cytokine SCF (Stem cell factor) pour le bon déroulement de la spermatogenèse a été clairement établie. Des souris mutantes déficientes en SCF ou sans récepteur (c-kit) sont stériles et leurs gonades sont dépourvues de cellules germinales. Des études sur des rongeurs ont également montré que l'inhibine et l'activine modulent le nombre de spermatogonies et de cellules de Sertoli.

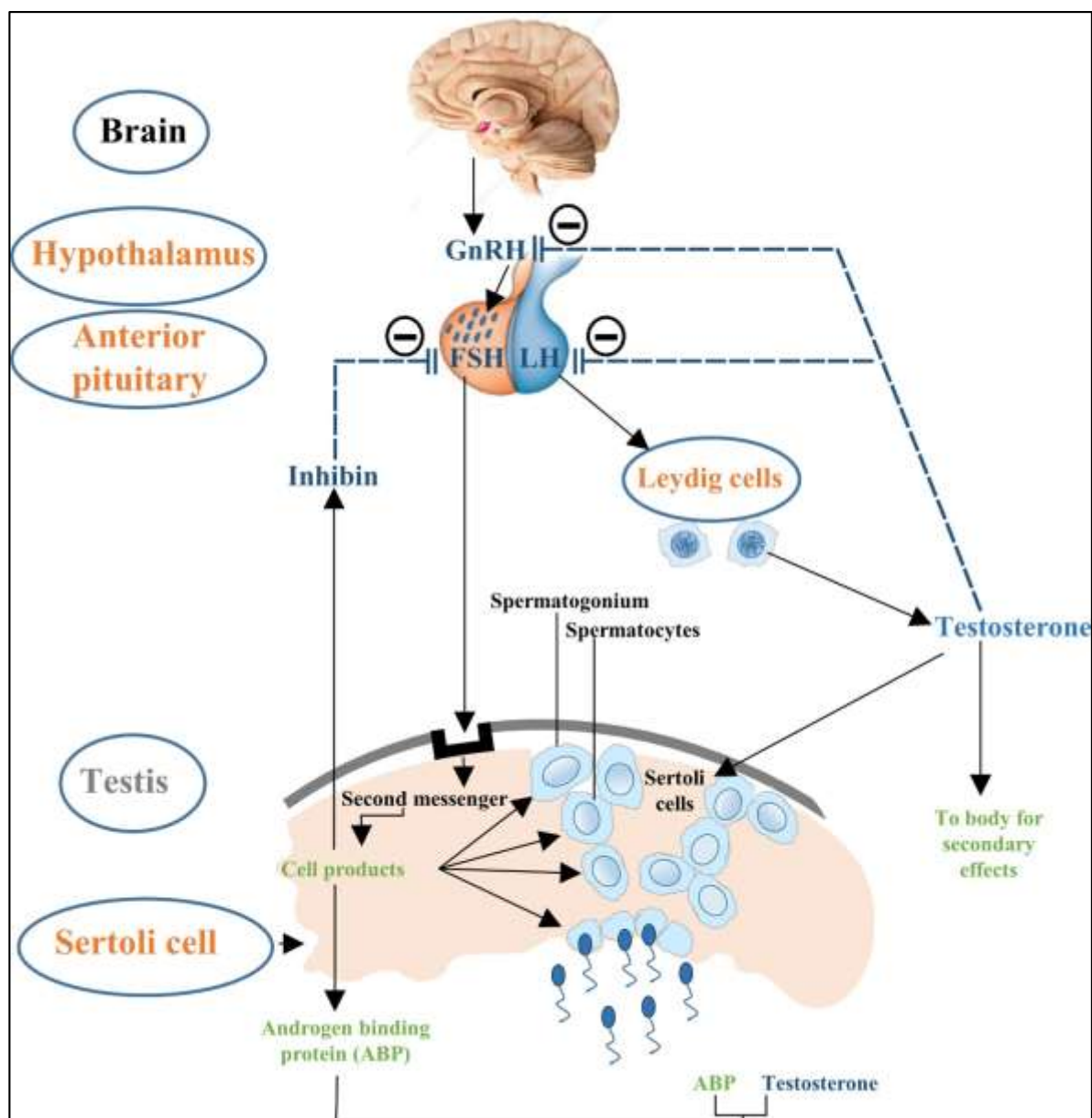
Les nombreux mécanismes moléculaires et cellulaires par lesquels les hormones et les divers facteurs locaux contrôlent la spermatogenèse sont encore mal compris et nécessitent d'être mieux caractérisés.

### **VI.1.4. Régulation intra-gonadique des fonctions testiculaires**

Bien que la régulation endocrine de la fonction testiculaire soit très importante, il devient évident que les régulations qui s'exercent localement au niveau du testicule jouent un rôle clé dans la fertilité du mâle. Ces régulations ont été mises en évidence par la culture de fragments de tubes séminifères et les co-cultures en combinant les différents types cellulaires.

#### **VI.1.4.1. Interactions cellules germinales-cellules de Sertoli**

La cellule de Sertoli exerce différentes fonctions et joue un rôle protecteur vis-à-vis des réactions immunitaires liées à la présence de cellules germinales présentant des sites antigéniques. Ces cellules contrôlent le développement et le déplacement des cellules germinales et contribuent à la production du liquide interstitiel impliqué dans les régulations paracrines et le liquide tubaire qui s'écoule dans la lumière des tubes séminifères.



**Figure 26 :** Régulation de la fonction endocrine du testicule (Shah et al., 2021)

Enfin, elles produisent des protéines spécifiques ou non spécifiques du testicule (activateur du plasminogène, transferrine, facteur de croissance de type insuline) :

La cellule de sertoli permet la sécrétion de l'inhibine qui est contrôlée par FSH. C'est une glycoprotéine qui inhibe la sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaires et essentiellement, FSH.

L'Androgen Binding Protein est une protéine de 41kD qui, en liant préférentiellement la testostérone et la dihydrotestostérone permet le maintien de concentrations testiculaires élevées en androgènes. Elle est libérée sous l'influence de la testostérone et de FSH. Les cellules de Sertoli jouent un rôle majeur dans ces régulations en interagissant avec les cellules germinales

Les cellules de *Sertoli* forment des jonctions serrées entre elles pour constituer une barrière sang-testicule qui produit un micro-environnement dans les tubes séminifères et jouent un rôle de cellule nourricière pour les cellules germinales et produisent également un grand nombre de facteurs qui seraient à la base de leur communication avec les cellules germinales et par l'intermédiaire desquels elles pourraient réguler leur développement.

#### **VI.1.4.2. Contrôle de la fonction leydigienne**

La coculture de cellules de Leydig et de cellules de Sertoli entraîne une augmentation du nombre de récepteurs à LH et la production amplifiée de stéroïdes en présence de FSH. Les peptides produits par les cellules de Sertoli régulent la stéroïdogénèse négativement (activine) ou positivement (inhibine). Les facteurs de croissance peuvent avoir un effet stimulant (IGF-I) ou inhibiteur (TGF- $\beta$ ).

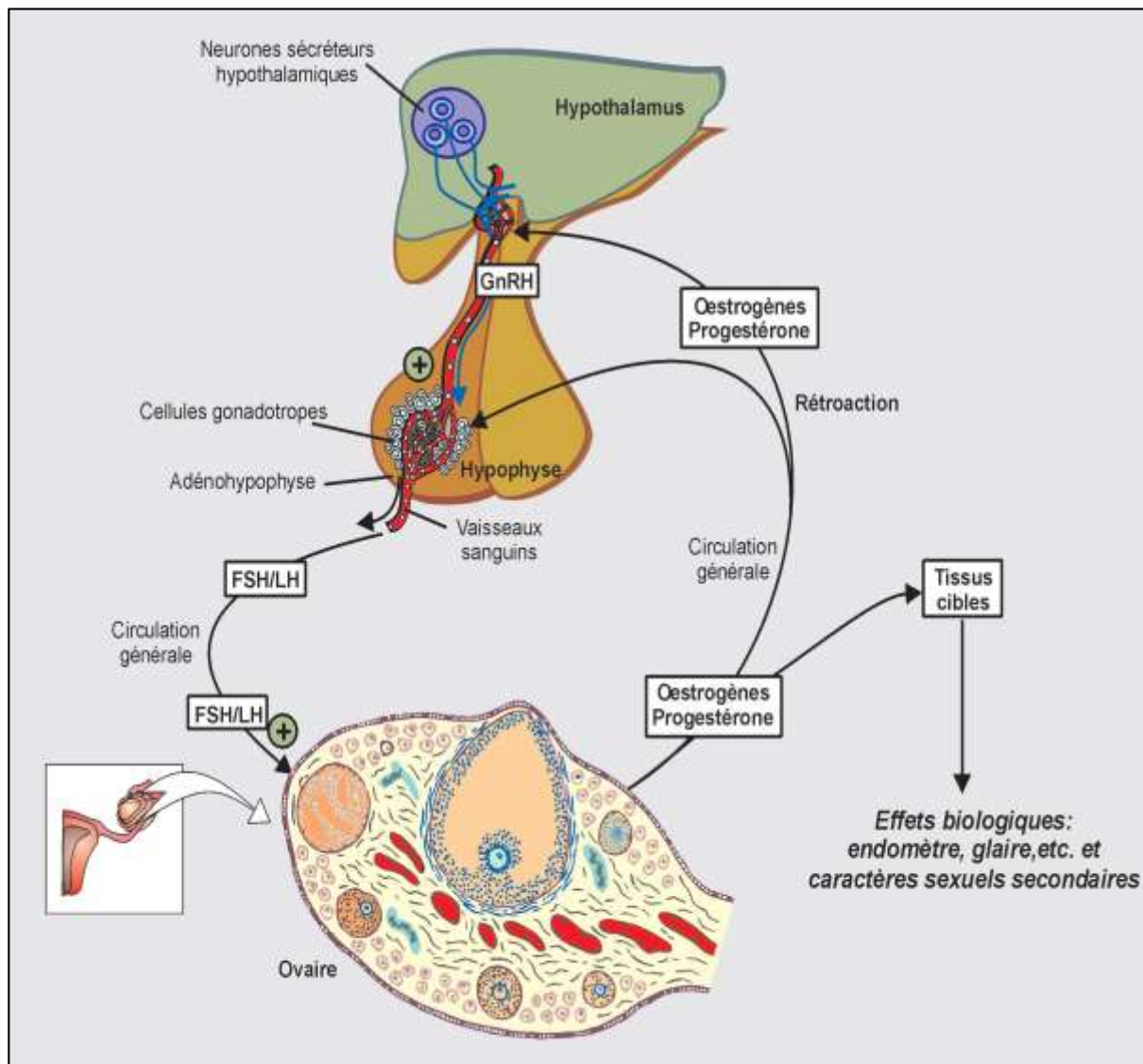
### **VI.2. Contrôle endocrinien des fonctions ovariennes**

Le fonctionnement des ovaires est contrôlé par deux formations situées à la base du cerveau : l'hypothalamus et l'hypophyse. L'hypothalamus sécrète une hormone, la GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone), qui va stimuler l'hypophyse (Figure 26). En réponse, l'hypophyse sécrète deux hormones (gonadotrophines), la FSH (Follicle Stimulating Hormone) et la LH (Luteinizing Hormone), qui vont à leur tour agir sur les ovaires. Par leurs sécrétions hormonales les ovaires vont réguler le fonctionnement de l'hypothalamus et de l'hypophyse (rétro-contrôle). Les modalités du contrôle varient en fonction du stade de développement des follicules. Le système de commande de la sécrétion des hormones sexuelles est le même chez la femme que chez l'homme mais les modalités sont différentes.

L'hypophyse sécrète de façon cyclique deux gonadostimulines : FSH, qui active le recrutement d'un follicule dominant ainsi que sa croissance et donc stimule indirectement la sécrétion d'œstradiol par les cellules folliculaires, et la LH, qui déclenche l'ovulation et assure la transformation des cellules folliculaires en corps jaunes (Figure 27).

C'est le premier niveau de contrôle. La sécrétion des gonadostimulines est sous contrôle hypothalamique. La GnRH (gonadolibérine) est sécrétée de façon pulsatile. Les pulses de GnRH stimulent les cellules cibles antéhypophysaires et déclenchent les pulses de FSH et LH. Le rythme de sécrétion des neurones à GnRH varie très nettement en cours de cycle et il est maximal en période pré ovulatoire. C'est le deuxième niveau de contrôle. Les taux d'œstrogène et de progestérone sont relativement définis pour chaque femme, mais ils varient au cours du cycle.

Le système de commande hypothalamo-hypophysaire doit être soumis à un ensemble de rétrocontrôles particuliers.



**Figure 27** : Complexe hypothalamo-hypophyse-gonade chez la femelle (Driancourt et al., 1991)

- Araújo V., Gastal M.O., Figueiredo J.R., Gastal E.L. (2014)** - In vitro culture of bovine preantral follicles: a review. *Reprod Biol Endocrinol*, 12:78
- Bolohan N., Ciorpac M., Mățău F., Gorgan D. L. (2016)** - Ancestral DNA — an incontestable source of data for Archaeology. *Stud Antiq Archaeol*, 21(2): 157–188
- Biason-Lauber, A. (2010).** Control of sex development. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*, 24(2), 163–186.
- Driancourt MA, Thatcher WW, Terqui M, Andrieu D.(1991)** - Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the oestrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. *Domest Anim Endocrinol*, 8 : 209-221
- De Felici, M. (2013)** - Origin, migration, and proliferation of human primordial germ cells. *In Oogenesis*, edited by Coticchio G., Albertini D.F., De Santis L, Springer eds, pp. 19-37.
- Defalco T, Capel B.(2009)** - Gonad morphogenesis in vertebrates: divergent means to a convergent end. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 25:457-482
- Driancourt M.A (2001)** - Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55(6):1211-1239.
- Dym M., Clermont Y. (1970)** - Role of spermatogonia in the repair of the seminiferous epithelium following x-irradiation of the rat testis. *Am J Anat*, 128:265–282.
- Eichenlaub-Ritter, U. (2014.)** Meiosis. *Textbook of Human Reproductive Genetics*, 33–51.
- Feng S., Ferlin A., Truong A., Bathgate R., Wade J.D., et coll.** INSL3/RXFP2 signaling in testicular descent. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1160:197-204
- Gunes S., Al-Sadaan M., Agarwal A.(2015).** "Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility. *Reprod Biomed Online*, 31(3):309-319
- Hess R.A., França L.R.(2005)** - Structure of the Sertoli cell *In* : Sertoli Cell Biology. Edition: 1 Publisher: Elsevier Academic Press Editors: Griswold M and Skinner M.pp 19-40

**Hong B., Reeves P., Panning B., Swanson M.S., Yang T.P.(2001)** - Identification of an autoimmune serum containing antibodies against the Barr body. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98(15):8703-8708.

**Jones R.E., Lopez K.H.(2006)** - Sexual Differentiation. *in* Human Reproductive Biology, Elsevier Academic Press Editors, edited by Jones R., Lopez K.H, Third

**Magre, S., B. Vigier (2006)** - Développement et différenciation sexuelle de l'appareil génital La reproduction chez les Mammifères et l'Homme. C. Thibault and M. C. Levasseur, Ellipses-INRA éditions: 235-255.

**Mäkelä J.A., Koskenniemi J.J., Virtanen H.E., Toppari J. (2019)-** Testis Development. *Endocr Rev*, 40(4):857–905

**Milvae R.A. (2000)** - Inter-relationships between endothelin and prostaglandin F<sub>2</sub> in corpus luteum function. *Rev Reprod*, 5(1):1–5

**Mishra V.V., Priya K.P., Roy P., Patel H.(2019)** - Role of Prenatal Diagnosis in Parents with Sex Chromosomal Abnormality, *JSAFOG*,11(3):198-202

**Monniaux D., Caraty A., Clément F., Dalbiès-tran R., Dupont J., Fabre S., Gérard N., Mermillod P., Monget P., Uzbekova S., (2009)** - Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères.. *Inra Prod. Anim*, 22 (2), 59-76

**Noreldin A.E., Gewaily M.S., Saadeldin I.M., Abomughaid M.M., Khafaga A. F., Elewa Yaser H. (2021)** - Osteoblast-activating peptide exhibits a specific distribution pattern in 5814

**Niswender G. D., Juengel J. L., Silva P. J., Rollyson M. K.,McIntush E. W. (2000)-** 29

**O'Donnell L., Stanton P., de Kretser D.M. (2017)** - Endocrinology of the Male Reproductive System and Spermatogenesis. *In: Endo*, edited by Feingold K.R., Anawalt B, Boyce A, et al., editors.

**Shah W., Khan R., Shah B., Khan A., Dil S., Liu W., Wen J., Jiang X.(2021)** - The Molecular Mechanism of Sex Hormones on Sertoli Cell Development and Proliferation *Front Endocrinol*, 12: 648141.

**She Z-Y., Yang W-X. (2017)** -SRY and SoxE genes: How they participate in mammalian sex determination and gonadal development?. *Semin. Cell Deve Biol* 63: 13-22

**Tortora A, Gerard J. (2007)** - Principe d'anatomie et de physiologie. Edition de boeck. Canada 11ème ed. 1341p.

**Wilhelm D., Palmer S., & Koopman P. (2007)** - Sex determination and gonadal development in mammals. *Physiol rev.* 87: 1–28.