

**LE SYSTÈME DE REPRODUCTION CHEZ LES MAMMIFÈRES
VU SOUS L'ANGLE DE LA COMMANDE :
Modélisation et commande de la fonction ovarienne**

Frédérique CLÉMENT

INRIA-Rocquencourt

Frederique.Clement@inria.fr

Jean-Christophe THALABARD

Université Paris V, Hôpital Necker, Paris

jean-christophe.thalabard@nck.ap.hop-paris.fr

Daniel CLAUDE

Université Paris XI, INRIA-Rocquencourt

Daniel.Claude@lss.supelec.fr

Sommaire

Introduction	p 32
1 L'axe gonadotrope	p 33
1.1 Les acteurs en présence	p 33
1.1.1 Système nerveux central	p 33
1.1.2 Gonades	p 33
1.1.3 Autres sous-systèmes interagissant	p 33
1.2 État actuel des connaissances dynamiques	p 34
1.2.1 Niveau hypothalamique	p 34
1.2.2 Niveau hypophysaire	p 34
1.2.3 Niveau gonadique	p 34
2 Modélisation du développement folliculaire ovarien	p 36
2.1 Modèle de Lacker	p 36
2.1.1 Modèle original	p 36
2.1.2 Modèle révisé	p 38
2.2 Modélisation de la cinétique cellulaire au sein de la granulosa	p 40
2.2.1 Intérêt physiologique du niveau cellulaire de description	p 40
2.2.2 Modélisation paramétrique	p 40
2.2.3 Contrôle optimal	p 43
2.3 Modélisation de la réponse des cellules de granulosa aux gonadotropines en terme de production d'AMP cyclique	p 46
2.3.1 Contexte biologique	p 46
2.3.2 Transduction du signal FSH	p 47
2.3.3 Induction des récepteurs à LH et Couplage des signaux FSH et LH	p 49
Conclusion	p 49
Références	p 50

Introduction

La modélisation mathématique de la fonction de reproduction chez les mammifères a pour but d'intégrer le corpus de connaissances accumulées sur l'axe reproducteur chez les mammifères, tant chez la femelle que chez le mâle, de manière à décrire sur un mode dynamique le système biologique étudié et à en comprendre l'évolution temporelle afin de déterminer les commandes adéquates permettant de restaurer un fonctionnement normal en cas de situation pathologique. Après une présentation simplifiée de l'axe gonadotrope, nous nous intéresserons plus particulièrement à la fonction de reproduction femelle, et plus précisément à la fonction ovarienne de folliculogenèse. Une première approche de modélisation, développée par HM Lacker, sera exposée, puis nous développerons plus amplement nos recherches récentes sur une approche de modélisation en cinétique cellulaire appliquée au follicule ovarien.

1 L'axe gonadotrope

Comme dans la plupart des systèmes de régulation biologique, les mécanismes de la reproduction chez les mammifères relèvent, schématiquement, de deux entités majeures placées en interaction : l'une se situe au niveau du système nerveux central (SNC), et comprend l'hypothalamus et l'hypophyse, la seconde correspond aux organes périphériques contrôlant la fonction proprement dite (gonades, organes génitaux, glandes mammaires).

1.1 Les acteurs en présence

La circulation de l'information entre ces principaux sous-systèmes est assurée par des substances ou hormones, dont les principales sont :

1.1.1 SNC et Antéhypophyse

GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) et les Gonadotropines principalement (LH : Luteinizing Hormone, FSH : Follicle Stimulating Hormone) mais aussi à un moindre niveau la Prolactine (PRL), les Prostaglandines (PG) et l'Ocytocine.

1.1.2 Gonades

Les stéroïdes gonadiques, principalement l'Oestradiol, la Testostérone et la Progestérone. Des peptides comme l'Inhibine, l'Activine, la Follistatine, ainsi que des facteurs de croissance.

1.1.3 Les autres sous-systèmes interagissant

Ils sont nombreux dans la mesure où la fonction de reproduction est une fonction "sociale" concernant moins l'individu que l'espèce :

- L'environnement se manifeste à travers les rythmes veille / sommeil et lumière / activités, mais aussi à travers les facteurs alimentaires, les agressions ou les stress vécus par l'individu ;
- L'axe thyroïdien est impliqué dans la régulation de la température centrale ;
- Les rythmes circadiens sont en relation avec l'activité des noyaux supra-chiasmatiques et de la glande pinéale qui sécrète la mélatonine, marqueur sanguin du photopériodisme ;
- Les différents stress se traduisent, entre autres réactions, par l'implication de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien ;
- Le système de régulation des dépenses énergétiques intègre des boucles de régulation entre, d'une part, les zones de stockage énergétique (adipocytes) et les zones contrôlant le comportement alimentaire (notamment l'hypothalamus ventro-médian), et, d'autre part, les mécanismes de satiété et de consommation énergétique (activité motrice).

Des connaissances se sont accumulées sur chacun de ces sous-systèmes ou de leurs composants respectifs. L'existence de comportements dynamiques oscillants pour certains d'entre eux est établie. Il serait intéressant de mieux appréhender les aspects dynamiques des couplages activateurs-inhibiteurs pouvant exister entre ces entités.

L'idée est, dans un premier temps, de modéliser chacun des sous-systèmes en jeu, en suivant la boucle des trois étages hypothalamus (HT) - hypophyse (H) - gonades (G), tout en intégrant les actions internes ou croisées entre étages, ainsi que les actions externes sur le système.

1.2 État actuel des connaissances dynamiques

1.2.1 Niveau hypothalamique

Les entrées peuvent être séparées en deux groupes : les commandes et les perturbations.

Les commandes sont surtout d'origine gonadique et sont représentées essentiellement par les stéroïdes sexuels : œstradiol, progestérone et testostérone. L'œstradiol ralentit la fréquence des pulsations de GnRH ; la testostérone, vraisemblablement par le biais d'une transformation en œstradiol localement, a le même effet. La progestérone ralentirait les pulsations de GnRH uniquement en présence d'œstradiol, par le biais d'une stimulation du tonus des opiacés endogènes (l'effet est nul ou minime après privation œstrogénique -castration, ménopause-).

Les perturbations sont très nombreuses. Il faut y distinguer les stress aigus ou chroniques et la nature du stress (menace, privation alimentaire, exercice physique, infection, ...). On peut leur rattacher des effets saisonniers liés à la luminosité ambiante et à l'alternance jour / nuit qui pourraient être médiés au moins dans certaines espèces par la mélatonine, l'effet de la température, des facteurs alimentaires, etc...

La sortie est le GnRH qui est potentiellement régulé à la fois en amplitude et en fréquence.

1.2.2 Niveau hypophysaire

Les entrées sont le GnRH et les stéroïdes et peptides gonadiques.

Le GnRH agit sur la sécrétion de LH, FSH (synthèse et libération). Les quantités de LH et de FSH produites et donc le rapport LH/FSH plasmatique dépend étroitement de la fréquence des pulsations du GnRH : une accélération de la fréquence entraîne une sécrétion préférentielle de LH, un ralentissement, une sécrétion privilégiée de FSH. Au delà d'une certaine fréquence, on assiste au phénomène de désensibilisation des récepteurs hypophysaires à GnRH avec "arrêt" de l'axe reproductif. La question de l'importance de l'amplitude du "pulse" de GnRH qui atteint l'hypophyse est encore controversée. Il semblerait cependant que seule la LH soit complètement dépendante du GnRH, tandis que la FSH aurait une possibilité de sécrétion basale autonome. Cette sécrétion hypophysaire des gonadotropines, stimulée par GnRH, est régulée par les stéroïdes gonadiques et, pour ce qui concerne FSH, les peptides gonadiques (inhibine, activine, follistatine).

Les sorties sont la LH et la FSH.

1.2.3 Niveau gonadique

Les différents groupes de cellules aux activités individualisées sont les cellules de la granulosa et des thèques chez la femelle, les cellules de Leydig et de Sertoli chez le mâle. Les entrées sont LH et FSH, qui stimulent préférentiellement certaines catégories de cellules, et la PRL :

- FSH stimule la division et la croissance des cellules granuleuses, la synthèse et la sécrétion d'œstradiol et aussi d'inhibine et des autres dérivés peptidiques (activine, follistatine) ;
- LH stimule la sécrétion d'androgènes au niveau des cellules thécales, la sécrétion d'inhibine au niveau des cellules lutéales (Corps jaune) et, sous certaines conditions, des cellules de Leydig, et la sécrétion de progestérone par les cellules lutéales ;
- L'ovulation est déclenchée par un pic de LH, accompagné d'un pic de FSH de moindre importance ;

- La valeur du rapport LH/FSH conditionne l'enchaînement harmonieux des phases du cycle menstruel ;
- LH et FSH participent à la différenciation des cellules thécales et granuleuses mais seule FSH stimule la division des cellules de la granulosa lors de la folliculogénèse terminale ;
- Le rôle de la PRL dépend de l'espèce considérée : il est très important chez les rongeurs mais moins bien établi chez les primates supérieurs dont l'homme. Cependant, il existe dans tous les cas des récepteurs à la PRL au niveau gonadique.

Les sorties sont les stéroïdes sexuels et les peptides gonadiques qui agissent localement (régulations autocrine et paracrine) et à distance immédiate (ovaire contro-latéral) et médiate (hypophyse, hypothalamus), mais aussi les autres organes cibles (organes génitaux, glandes mammaires, tissus osseux, peau, tissu conjonctif, cerveau). L'œstradiol et la progestérone ont selon les tissus et/ou le moment des actions synergiques ou antagonistes. L'œstradiol stimule sa propre sécrétion par le follicule en croissance.

Le système est sans doute "amorti" dans ses temps de réponse par le fait que les stéroïdes, liposolubles, sont transportés dans le plasma sous forme essentiellement liée à des macroprotéines (TeBG surtout mais aussi Albumine) qui "tamponnent" l'effet de l'hormone, puisque seule la partie libre est active.

Les mécanismes de la rétroaction positive de l'œstradiol sur le déclenchement du pic ovulatoire de LH restent mal compris. En dehors de cette circonstance, l'œstradiol exerce une rétroaction constamment négative sur la sécrétion de LH et FSH. Ce mécanisme se déclenche même en présence d'une pulsativité constante de GnRH (expérience chez le singe avec une lésion de l'hypothalamus et une infusion exogène intermittente du GnRH). Une origine exogène d'une libération de GnRH ou d'un autre peptide n'est pas forcément à exclure. Il existe en tout état de cause un phénomène d'amplification de la réponse au niveau hypophysaire.

Le schéma dressé ci-dessus montre tout l'intérêt que pourrait avoir une modélisation du système de reproduction chez les mammifères. La modélisation, sous l'angle de la commande, des diverses interactions, et en particulier des couplages activateurs-inhibiteurs et leur modulation, fournirait un outil de simulation à même de permettre de mieux comprendre les imbrications, au caractère non linéaire, des divers agents en jeu, de mieux expliquer les causes de certaines pathologies et de bien appréhender les thérapeutiques existantes en leur apportant des améliorations dans le cas où les effets pervers des couplages seraient encore insuffisamment maîtrisés. La commande du système de reproduction ayant pour objet soit d'en modifier les paramètres, soit, par l'administration de substances identiques ou avec des effets équivalents aux agents impliqués dans les régulations, d'en rapprocher le comportement de l'évolution physiologique lorsqu'une évolution pathologique est constatée.

2 Modélisation du développement folliculaire ovarien

La folliculogénèse est l'ensemble des processus de croissance et de maturation fonctionnelle subis par les follicules ovariens depuis leur sortie de la réserve de follicules primordiaux jusqu'à l'ovulation qui libère un ou des ovocyte(s) fécondable(s). La plupart des follicules n'atteignent jamais le stade ovulatoire, mais subissent un processus de dégénérescence, appelé atresie. Le développement folliculaire terminal est sous le contrôle des gonadotropines hypophysaires, LH et FSH. En retour, les produits de sécrétion folliculaire, notamment l'œstradiol, régulent les niveaux de sécrétion des gonadotropines.

2.1 Modèle de Lacker

2.1.1 *Modèle original*

HM Lacker a développé un modèle mathématique permettant de représenter le processus de sélection des follicules ovulatoires responsable du taux d'ovulation constant et spécifique de chaque espèce. Ce modèle caractérise la divergence entre les trajectoires des follicules ovulatoires d'une part et atrétiques d'autre part, sur la base d'une évolution différentielle d'une variable d'état représentant leur capacité de sécrétion d'œstradiol. Il établit une loi d'évolution commune pour tous les follicules, décrivant les interactions entre les follicules en développement, la divergence étant permise par le caractère stochastique de la procédure d'initialisation. Il peut aussi rendre compte de cas d'échec à l'ovulation. Les conditions de survenue de l'ovulation sont assimilées aux conditions de déclenchement de la décharge ovulatoire qui est supposée se produire dès que l'œstradiol total dépasse une valeur seuil.

Chaque follicule est modélisé par une seule variable x_i , qui représente sa production d'œstradiol. Les follicules sont couplés via la production totale d'œstradiol ovarien X , avec $X = \sum_{i=1}^n x_i$. La dynamique d'évolution du i ème follicule est de la forme :

$$\begin{aligned} \frac{dx_i}{dt} &= x_i g(x_i, X), \\ \text{avec } g(x_i, X) &= \delta(X) \left[\rho(X) + \xi\left(\frac{x_i}{X}\right) \right]. \end{aligned}$$

Une hypothèse de séparation exprime la fonction d'accroissement de x_i , $g(x_i, X)$, comme une fonction composite de deux fonctions de X (δ et ρ) et d'une fonction ξ de x_i/X , contribution relative d'un follicule à l'œstradiol total. Cette hypothèse permet de séparer la dynamique de X de celle de x_i/X lors de l'analyse du système dynamique constitué par les équations d'évolution de l'ensemble des follicules.

Sur le plan mathématique, l'ovulation survient si X tends vers l'infini en un temps fini. Les cas d'anovulation correspondent à l'existence d'un point d'équilibre pour X .

Il est par ailleurs possible d'énoncer les conditions générales de stabilité des points d'équilibre du système.

La fonction particulière utilisée par Lacker est de la forme :

$$g(x_i, X) = K [1 - D(X - M_1 x_i)(X - M_2 x_i)],$$

où D, K, M_1, M_2 sont des paramètres constants, avec

$$\begin{aligned} \delta(X) &= KX^2, \\ \rho(X) &= \frac{1}{X^2} - D, \\ \xi\left(\frac{x_i}{X}\right) &= D\frac{x_i}{X} \left(M_1 + M_2 - M_1 M_2 \frac{x_i}{X}\right). \end{aligned}$$

Dans ce cas, il y peut y avoir autant de bassins d'attraction qu'il y a d'entiers dans l'intervalle $[M_H/2, M_H]$, avec M_H moyenne harmonique de M_1 et M_2 . Plus précisément, $M_H/2 < M < M_1$ correspond aux situations d'anovulation, avec M follicules immatures, tandis que $M_1 < M < M_H$ correspond aux situations d'ovulation avec M follicules ovulatoires. Les autres follicules rentrent en atresie.

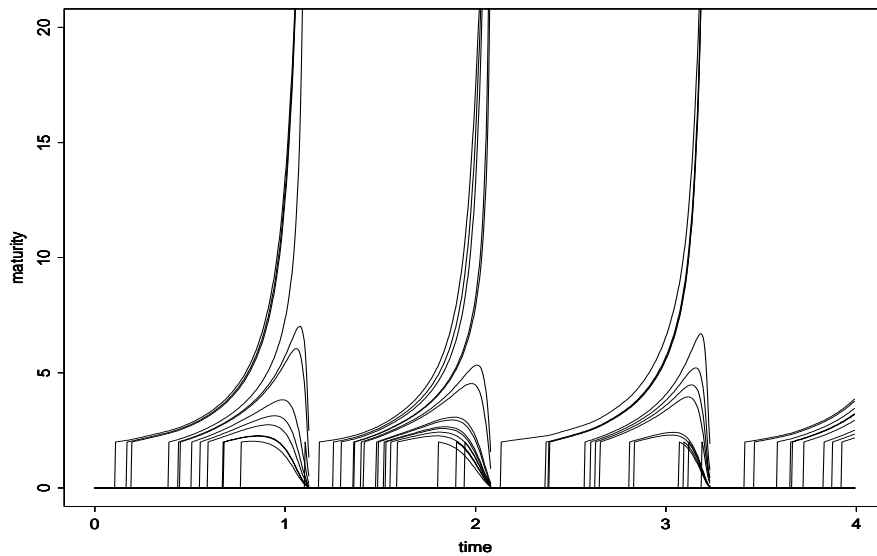


FIG. 1 – Cycles ovulatoires (4 ou 5 ovulations)

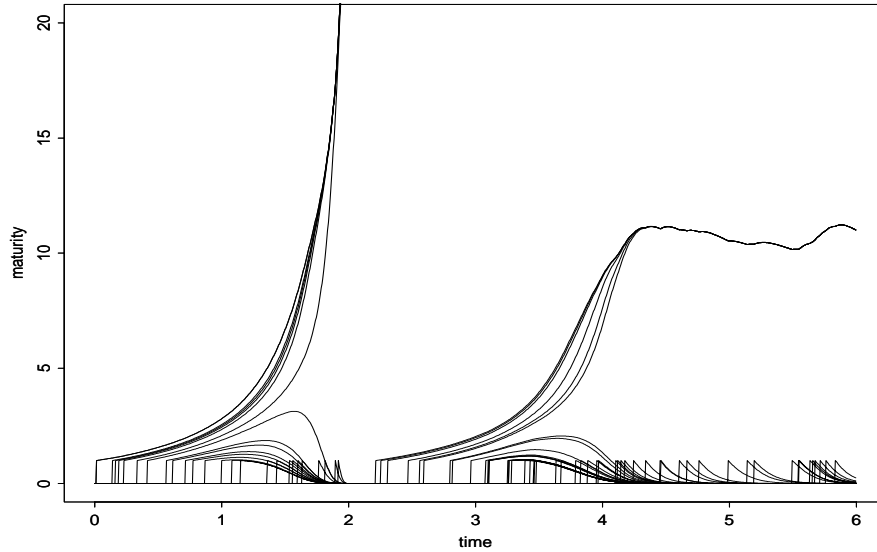


FIG. 2 – Alternance d'un cycle ovulatoire et d'un cycle anovulatoire (mêmes valeurs des paramètres, mais conditions initiales différentes)

2.1.2 Modèle révisé par A. Chavez-Ross

Cette version du modèle permet de rendre compte d'une situation non reproductible par le modèle initial, celle des ovaires polykystiques. Ce syndrome se caractérise par l'alternance de cycles avec un unique follicule ovulatoire et de cycles anovulatoires, avec plusieurs follicules arrêtés à un stade intermédiaire de développement.

La dynamique folliculaire est individualisée en écrivant:

$$g_i(x_i, X) = \delta(X) \left[\rho(X) + \xi_i \left(\frac{x_i}{X} \right) \right],$$

$$\text{avec } \xi_i \left(\frac{x_i}{X} \right) = D \frac{x_i}{X} \left(M_{1i} + M_{2i} - M_{1i} M_{2i} \frac{x_i}{X} \right).$$

Se rajoute à l'hétérogénéité des conditions initiales celle des valeurs des paramètres attribués à chaque follicule. Néanmoins, les hypothèses du modèle restent les mêmes. La dynamique folliculaire inclut en bloc à la fois la réponse de l'hypophyse à l'œstradiol et celle du follicule aux gonadotropines. Ce raccourci est simplificateur et prive de la représentation explicite des fonctions de contrôle du développement folliculaire terminal traduisant l'action des gonadotropines FSH et LH.

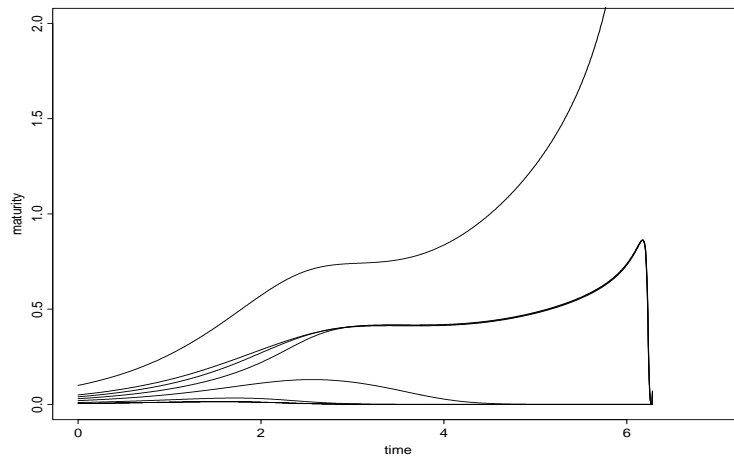


FIG. 3 – *Cycle ovulatoire (une ovulation)*

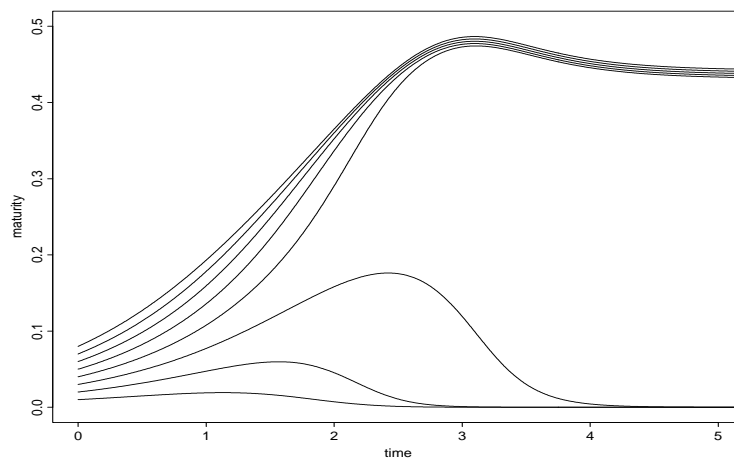


FIG. 4 – *Cycle anovulatoire (5 follicules kystiques)*

Sous ces hypothèses, l'individualisation des paramètres folliculaires revient à accorder une marge de fluctuation aux réponses individuelles des follicules vis-à-vis des gonadotropines et donc à sous-entendre une distribution des paramètres de la fonction de maturation. Dans leur approche, Thalabard *et al.* ont formalisé cette fluctuation aléatoire des réponses. Leur modèle permet de s'affranchir de la nécessité d'introduire des différences dans la maturité initiale des follicules pour générer le processus de sélection et ainsi d'éviter une hiérarchie préétablie au sein de la population folliculaire.

2.2 Modélisation de la cinétique cellulaire au sein de la granulosa

Cette démarche de modélisation s'inscrit dans la lignée des modèles mathématiques concernés par le processus de sélection des follicules ovulatoires tel que celui de Lacker, dans la mesure où elle cherche à caractériser la divergence entre les trajectoires folliculaires ovulatoires d'une part, et atrétiques d'autre part, sur la base d'une évolution différentielle de la capacité de sécrétion d'œstradiol. Elle s'en distingue par le niveau de description choisi, celui de la cinétique cellulaire au sein de la granulosa.

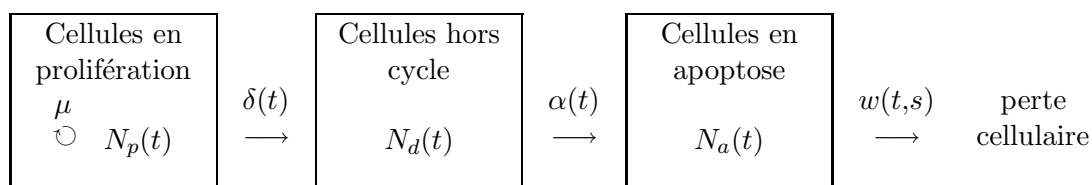
2.2.1 Intérêt physiologique du niveau cellulaire de description

Compte tenu de l'influence déterminante de FSH et LH sur le développement des follicules ovariens, il est intéressant de considérer ces deux hormones comme des entrées de commande agissant sur la fonction ovarienne, tout d'abord indépendamment du rétrocontrôle ovarien qu'elles subissent, puis au sein d'une représentation complète de la boucle de rétroaction entre hypophyse et ovaires. L'action des gonadotropines se fait à l'échelle cellulaire et il est donc nécessaire de caractériser et de comprendre les changements qui s'opèrent au niveau de la cellule de granulosa au cours du développement folliculaire.

2.2.2 Modélisation paramétrique

Le modèle décrit l'évolution de la composition cellulaire de la granulosa au cours du développement terminal des follicules ovariens. Il prend en compte les processus de prolifération, de différenciation et d'apoptose. Les variables en jeu sont, d'une part, les effectifs des différentes catégories de cellules (variables d'état), et, d'autre part, les taux de transition entre les différents états cellulaires. Ces taux sont des variables de contrôle qui traduisent la réponse des cellules folliculaires aux signaux qu'elles reçoivent de leur environnement hormonal, et en particulier de FSH et LH.

A chaque instant, des cellules proliférantes quittent le cycle cellulaire pour se différencier. Le taux de division cellulaire μ est constant au cours du développement folliculaire, tandis que le taux de sortie du cycle $\delta(t)$ est une fonction croissante de l'âge folliculaire. A partir d'un âge seuil, les cellules hors-cycle peuvent être exposées au risque d'entrée en apoptose. Une fois apoptotiques, elles disparaissent progressivement du follicule. Les flux entre les différents états cellulaires sont représentés par le diagramme ci-dessous:



Le système dynamique suivant régit l'évolution des effectifs cellulaires:

$$\begin{aligned}\frac{dN_p(t)}{dt} &= (\mu - \delta(t))N_p(t) \\ \frac{dN_d(t)}{dt} &= \delta(t)N_p(t) - \alpha(t)N_d(t) \\ \frac{dN_a(t)}{dt} &= \alpha(t)N_d(t) - \int_0^s w(\tau)\alpha(t - \tau)N_d(t - \tau)d\tau\end{aligned}$$

Sur la base de considérations physiologiques, le taux de sortie du cycle cellulaire $\delta(t)$ est paramétré par une fonction sigmoïde croissante (fonction logistique à 5 paramètres), et le taux d'entrée en apoptose $\alpha(t)$ par une fonction nulle avant le début d'atrésie, et augmentant de manière quadratique par la suite:

$$\begin{aligned}\delta(t) &= \delta_2 + \frac{\delta_1 - \delta_2}{(1 + \exp(\delta_3 + \delta_4 t))^{\delta_5}} \quad \text{avec } \delta_1, \delta_2, \delta_3, \delta_4, \delta_5 \text{ paramètres réels} \\ \alpha(t) &= \begin{cases} 0 & \text{si } t \leq t_A \\ a(t - t_A)^2 & \text{si } t > t_A \end{cases}\end{aligned}$$

Le terme de disparition morphologique, exprimé sous la forme d'une convolution, étale la disparition des cellules apoptotiques sur un intervalle de durée s après l'entrée en apoptose. Il rend compte d'un risque $w(t)$ croissant de disparition entre le début d'entrée en apoptose et ce délai maximal, dont la formulation pragmatique est de type $ns^{-n}t^{n-1}$.

On peut déduire du système précédent l'évolution de 2 variables accessibles sur un plan expérimental, l'effectif cellulaire viable total $N_T(t)$ et la fraction de croissance $GF(t)$, proportion de cellules proliférantes parmi les cellules viables:

$$\begin{aligned}N_T(t) &= N_p(t) + N_d(t) \\ GF(t) &= \frac{N_p(t)}{N_T(t)}\end{aligned}$$

Dans le cas des follicules ovulatoires, pour lesquels on peut négliger le processus d'apoptose, le système se réduit à 2 équations contrôlant l'effectif proliférant et l'effectif différencié. L'on peut alors exprimer l'évolution de l'effectif cellulaire viable total N_T en fonction des paramètres du modèle. Il est possible d'estimer le vecteur de paramètres du taux de sortie du cycle, dès lors que l'on dispose d'observations sur l'évolution de l'effectif cellulaire total en fonction de l'âge folliculaire, ce qui est le cas dans l'espèce ovine. A partir d'un état prolifératif dominant, la granulosa du follicule ovulatoire bascule progressivement vers un état totalement différencié, si bien que la fraction de croissance diminue continûment.

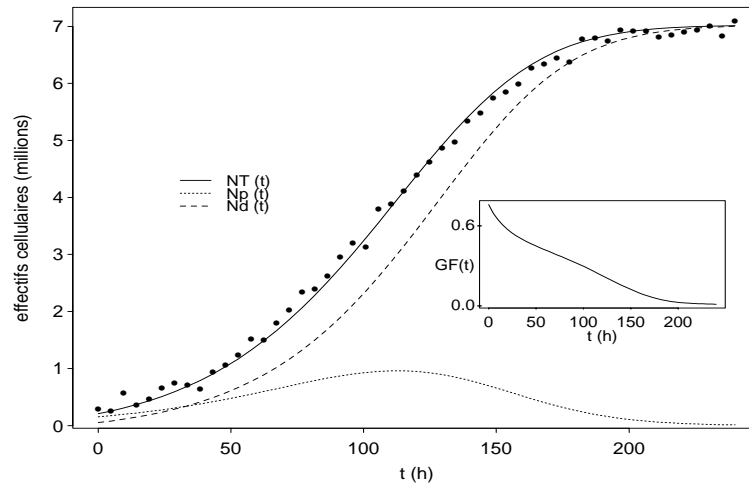


FIG. 5 – *Effectifs cellulaires*

Dans le cas des follicules atrétiques, on considère l'existence des 3 populations cellulaires dans la granulosa (y compris les cellules apoptotiques). Le processus d'apoptose conduit à la déplétion cellulaire progressive de la granulosa, d'autant plus rapide que l'effectif restant de cellules en prolifération est réduit au moment du déclenchement de l'apoptose.

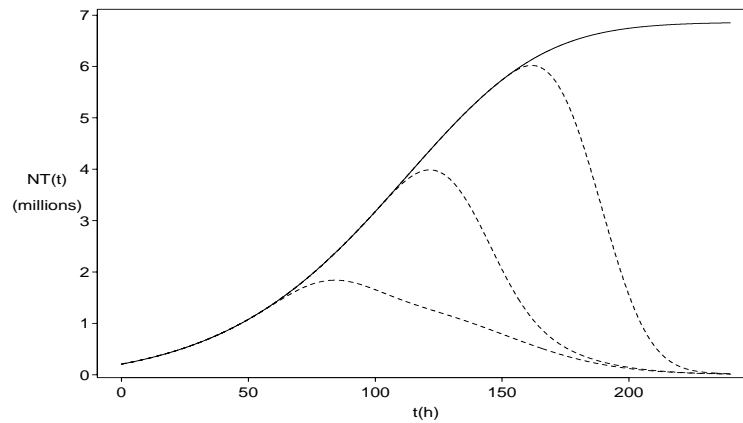


FIG. 6 – *Divergence des itinéraires atrétiques (tirets) par rapport à l'itinéraire ovulatoire (trait plein)*

Outre sa capacité à retracer, en termes d'effectifs cellulaires, les itinéraires des follicules ovulatoires et atrétiques, le modèle a pour principal résultat d'avoir mis en évidence la notion de gestion du capital prolifératif du follicule. La vitesse de bascule de la granulosa entre un état proliférant et un état pleinement différencié détermine en effet le potentiel de sécrétion d'œstradiol, par lequel le follicule intervient dans le dialogue endocrine entre les ovaires d'une part et l'axe hypothalamo-hypophysaire d'autre part.

2.2.3 Contrôle optimal

La finalité biologique de la folliculogénèse est de libérer des ovocytes fécondables lors de l'ovulation et le succès ovulatoire est une composante essentielle du succès reproductif dans son ensemble.

La notion de gestion du capital prolifératif conduit à s'interroger sur l'existence d'une stratégie optimale d'exploitation de ce capital, en regard de l'objectif final d'ovulation, via le contrôle optimal des taux de transition cellulaires (taux de sortie du cycle et d'entrée en apoptose).

La démarche de modélisation a donc été poursuivie par une démarche d'optimisation, envisageant comment l'évolution temporelle de la dynamique cellulaire conduisant à l'ovulation pouvait correspondre à un problème de contrôle optimal, dont la solution peut être donnée explicitement.

La dynamique d'évolution cellulaire est régie par le même système que précédemment, mais cette fois, les taux de transitions ne sont pas paramétrés à l'avance, car ils constituent la solution optimale recherchée. La seule contrainte qui leur est imposée est de prendre des valeurs bornées.

L'optimalité est définie par rapport aux conditions physiologiques de déclenchement de l'ovulation, ou plus exactement de la décharge ovulatoire de LH. Celle-ci se produit en réponse aux concentrations croissantes en œstradiol observées en phase folliculaire du cycle ovarien, l'œstradiol agissant en tant que signal de maturité folliculaire. Elle résulte de l'étroite synchronisation entre les cellules folliculaires d'une part et les cellules de l'axe hypothalamo-hypophysaire d'autre part, mise en place au cours de l'évolution.

Cette nécessité de synchronisation a été traduite en terme de contrainte sur l'état de différenciation du follicule au moment de la décharge. L'effectif différencié doit atteindre une valeur seuil correspondant aux exigences hypothalamo-hypophysaires en œstradiol. Il peut être comptabilisé selon 3 modalités, correspondant à 3 hypothèses physiologiques sur le mode d'action de l'œstradiol sur la décharge ovulatoire: sous une forme instantanée, sous une forme cumulée ou sous la forme d'un cumul pondéré accordant plus d'importance aux valeurs proches de l'instant de décharge. Le critère d'optimalité retenu est de minimiser le temps d'atteinte de l'état folliculaire cible.

La formulation complète du problème de contrôle optimal s'énonce comme suit:

Trouver les contrôles $v_p(t), v_d(t)$ minimisant le temps final, t_f , et vérifiant:

- la dynamique d'évolution cellulaire:

$$\begin{aligned}\frac{dN_p(t)}{dt} &= (\mu - v_p(t))N_p(t) \\ \frac{dN_d(t)}{dt} &= v_p(t)N_p(t) - v_d(t)N_d(t)\end{aligned}$$

- les contraintes de bords

$$\begin{aligned}v_{pmin} &\leq v_p \leq v_{pmax} \\ v_{dmin} &\leq v_d \leq v_{dmax}\end{aligned}$$

- les conditions d'atteinte de la cible

$$N_c = \begin{cases} N_d(t_f) & \text{Cible instantanée} \\ \int_{t_0}^{t_f} N_d(t) dt & \text{Cible cumulée} \\ \int_{t_0}^{t_f} \exp^{-\gamma(t_f-t)} N_d(t) dt & \text{Cible pondérée} \end{cases}$$

	t_0	instant initial
	t_f	instant de déclenchement de la décharge de LH
	$v_p(t)$	taux instantané de sortie du cycle
avec	v_{pmin}, v_{pmax}	valeurs extrêmes du taux de sortie du cycle
	$v_d(t)$	taux instantané d'entrée en apoptose
	v_{dmin}, v_{dmax}	valeurs extrêmes du taux d'apoptose
	N_c	seuil de déclenchement de la décharge de LH
	γ	coefficient de pondération

Quel que soit l'état cible envisagé, la solution optimale consiste, d'une part, à appliquer en permanence un taux d'apoptose $v_d(t)$ minimal v_{dmin} , et, d'autre part, à commuter le taux de sortie du cycle $v_p(t)$ entre sa valeur minimale v_{pmin} et sa valeur maximale v_{pmax} en un instant précis t_s . L'évolution optimale est donc caractérisée par la transition de type "bang-bang" entre deux régimes de différenciation cellulaire, à taux d'abord minimal, puis maximal.

La résolution complète du problème permet d'exprimer les instants de commutation t_s et de décharge ovulatoire t_f en fonction des paramètres et des conditions initiales. La chronologie exacte de ces événements dépend du type de cible. Les instants clés caractérisant la stratégie optimale peuvent être interprétés sur un plan physiologique.

La stratégie optimale ainsi définie est compatible avec les observations disponibles. Elle fournit les valeurs des intervalles pour les instants de décharge ovulatoire et d'ovulation, qui survient 24 heures plus tard, ainsi que pour les effectifs cellulaires correspondants. Les bornes inférieures et supérieures des intervalles sont respectivement associées aux cibles instantanée et cumulée, tandis que les valeurs intermédiaires sont associées à une cible pondérée avec différents coefficients de pondération.

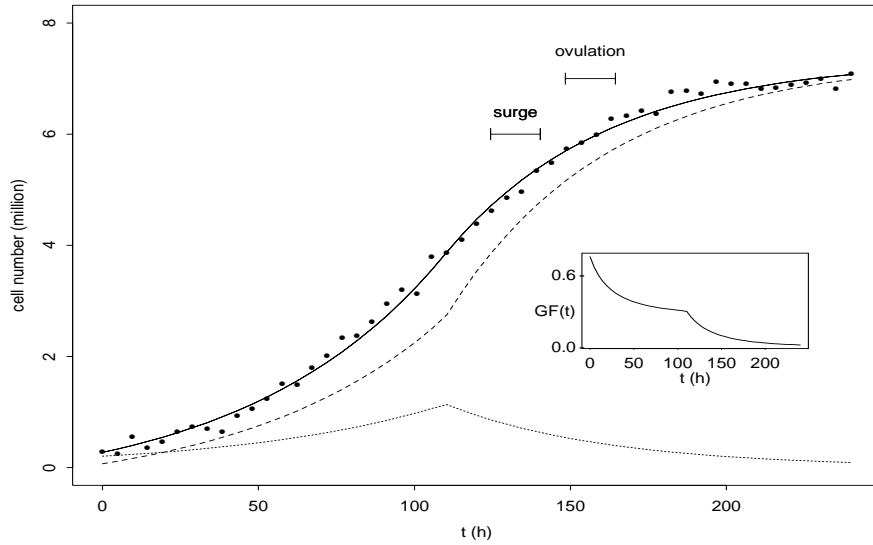


FIG. 7 – *Trajectoire optimale*

L'écart de la réponse folliculaire par rapport à la stratégie optimale peut être sanctionnée par l'échec de l'ovulation. Le délai avant la décharge s'allonge d'autant plus que l'instant de commutation est précoce. A la limite, on aboutit à des situations anovulatoires. Le décalage de l'instant de commutation vers des âges folliculaires plus élevés conduit à produire un excédent de cellules folliculaires par rapport à ce qui est nécessaire, mais les conditions d'ovulation finissent par être satisfaites, au prix d'un coût énergétique supérieur.

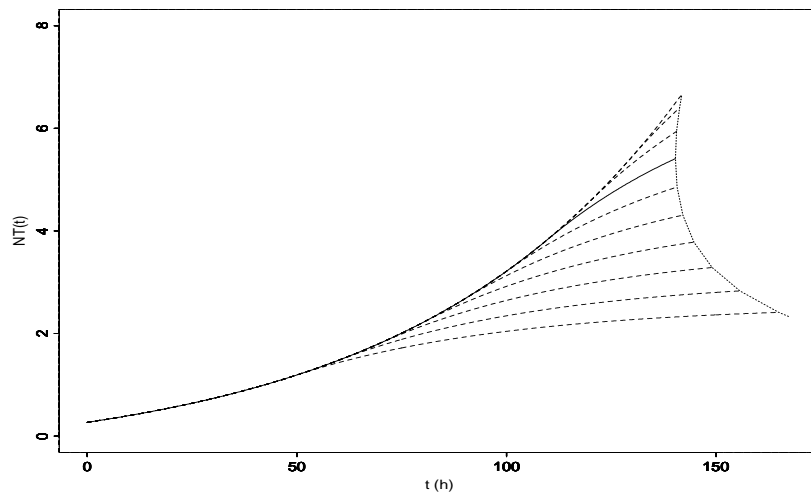


FIG. 8 – *Décalage de l'instant de commutation: trajectoires jusqu'à l'instant de décharge t_f . Instant optimal (trait plein), instants précoces (tirets inférieurs): risque d'anovulation, et instants tardifs (tirets supérieurs).*

Cette approche de contrôle optimal s'inscrit dans la recherche d'une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels peut se réaliser la synchronisation entre cellules folliculaires d'une part et cellules du complexe hypothalamo-hypophysaire d'autre part. Une telle synchronisation est un facteur essentiel du succès ovulatoire chez les espèces à ovulation spontanée, mais qui reste pour l'instant difficilement maîtrisable. La variabilité de l'instant de décharge ovulatoire constitue en effet un frein à l'efficacité des traitements de maîtrise du cycle ovarien d'espèces d'intérêt zootechnique. La résolution du problème formulé met l'accent sur la chronologie des événements préovulatoires et sur ses facteurs de variation hypophysaires ou folliculaires. La réflexion engagée peut aider à cerner l'origine de la variabilité observée.

Si la formulation actuelle rend bien compte des contraintes liées au déclenchement de la décharge préovulatoire de LH qui induit l'ovulation, elle n'intègre pas encore complètement les contraintes de sélection du ou des follicule(s) ovulatoire(s) étroitement liées à la sensibilité différentielle des cellules folliculaires vis-à-vis des gonadotropines en fonction du stade de développement folliculaire.

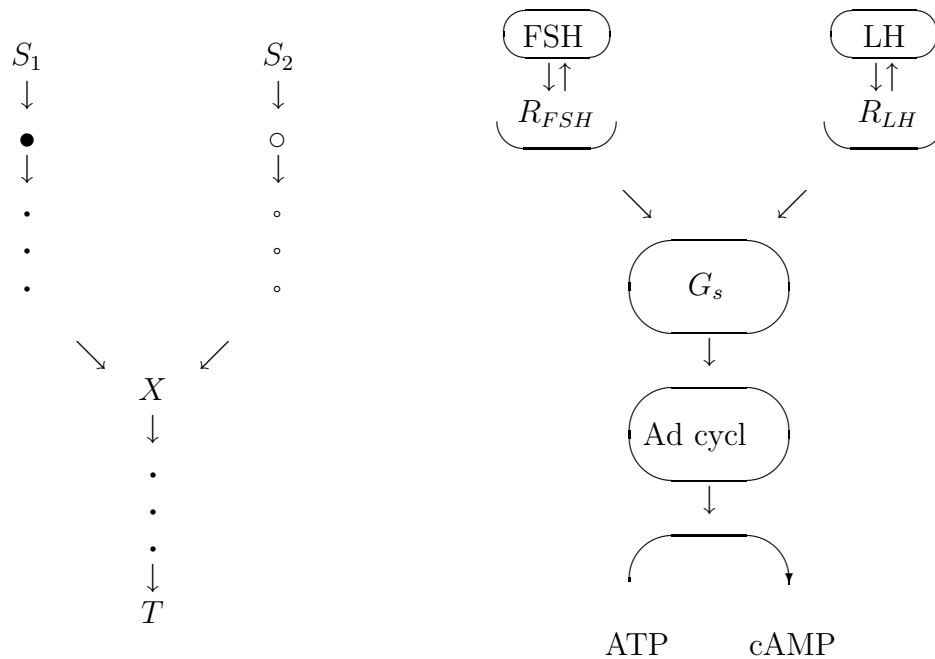
2.3 Modélisation de la réponse des cellules de granulosa aux gonadotropines en terme de production d'AMP cyclique

2.3.1 Contexte biologique

Les approches précédentes ont souligné l'importance de la dynamique d'évolution des taux de transition cellulaires, et en particulier du taux de sortie du cycle. Afin de pouvoir commander cette dynamique, il est nécessaire de comprendre plus finement les mécanismes qui lui sont sous-jacents.

Il s'agit donc de poursuivre le travail entrepris, en ayant une approche mécaniste des taux de transition cellulaires incorporant explicitement le mécanisme d'action des gonadotropines, et la réponse différentielle des cellules de la granulosa des follicules avant ou après le processus de sélection folliculaire. L'évolution temporelle de ces taux pourra alors être exprimée en fonction de l'historique d'exposition des cellules folliculaires aux fluctuations des concentrations plasmatiques en gonadotropines. Cela nécessite de se focaliser sur la mise en place des éléments de la cascade métabolique conduisant à la synthèse d'AMPc (Adénosine MonoPhosphate cyclique) en réponse à la stimulation des récepteurs membranaires à FSH et LH. En effet, les deux gonadotropines opèrent via cette cascade biochimique. La capacité de synthèse d'AMPc augmente au cours du développement folliculaire vers l'ovulation. La concentration intracellulaire en AMPc a un rôle critique dans l'arrêt du cycle cellulaire et l'engagement de la cellule dans un programme de différenciation terminale. Inversement, le découplage entre la liaison des ligands FSH et LH à leurs récepteurs et la synthèse d'AMPc est l'un des premiers maillons de la séquence d'événements conduisant à l'apoptose. Appréhender aussi bien la maturation que la régression de la voie AMPc permet de se situer au carrefour de la réponse cellulaire aux commandes extra-cellulaires qu'elle reçoit et de garder des perspectives de manipulation expérimentale de cette réponse. Il est possible au niveau biochimique de manipuler les concentrations intracellulaires en AMPc, en augmentant artificiellement sa synthèse (stimulation de protéines de transduction du signal, les protéines G, ou de l'enzyme adénylate cyclase) ou en agissant sur sa dégradation (inhibition de l'enzyme phospho-diestérase).

Les deux gonadotropines FSH (S_1) et LH (S_2) agissent sur les cellules de granulosa par l'intermédiaire du même second messager intracellulaire, l'AMPc (T). Leurs voies de signalisation convergent au niveau des protéines G et de l'enzyme adénylate cyclase (X). L'AMPc agit en retour en désensibilisant les récepteurs à FSH et en induisant l'apparition des récepteurs à LH. Seule la branche dépendante de FSH est opérationnelle dans les cellules de granulosa avant la sélection du follicule ovulatoire. Après sélection, les deux branches de la cascade métabolique fonctionnent.



Les récepteurs à LH n'étant pas constitutifs des cellules de granulosa, l'approche de modélisation comprendra 3 modules correspondant à différentes phases du développement folliculaire: la transduction du signal FSH, l'induction des récepteurs à LH et le couplage entre les signaux FSH et LH.

2.3.2 Transduction du signal FSH

Ce module est en cours de développement. Il doit rendre compte de l'augmentation de la production d'AMPc en réponse à la stimulation des récepteurs à FSH au cours du développement terminal, tout en incorporant les contrôles évitant l'emballement de la voie AMPc, source de lutéinisation précoce, voire d'apoptose.

Le modèle fait intervenir les signaux extra-cellulaires (gonadotropines) en tant que variables de contrôle, des variables de réception du signal (récepteurs membranaires), des variables d'amplification du signal (protéines G et enzyme adénylate cyclase), et la variable cible, l'AMPc, second messager cellulaire ayant un rôle critique dans l'orientation de la cellule et dans ses activités de synthèse. Les différentes étapes de traitement du signal FSH au niveau biochimique peuvent être schématisées par la séquence suivante:

		Variables d'état
Détection du signal		
	k_+	R_{FSH} récepteurs libres
	\rightarrow	X_{FSH} complexes récepteurs-ligands
$FSH + R_{FSH}$	\leftarrow	E_{FSH} variable de couplage récepteurs/second messenger
	k_-	AMP_c second messenger intracellulaire
Relai et amplification du signal		
	X_{FSH}	X_{pFSH} complexes récepteurs-ligands phosphorylés
	$\downarrow \beta$	R_i récepteurs internalisés
	E_{FSH}	
ω	\rightarrow	
	$cAMP$	
Extinction du signal		
	k_{pde}	k_+ constante d'association
$cAMP$	\rightarrow	k_- constante de dissociation
	AMP	β, ω paramètres de couplage
Désensibilisation		
	$\rho_{a,b,\gamma}$	k_{pde} constante d'hydrolyse de l'AMPc en AMP
X_{FSH}	\rightarrow	ρ fonction de désensibilisation
	X_{pFSH}	a, b, γ paramètres de désensibilisation
Recyclage		
	k_i	k_i constante d'internalisation
X_{pFSH}	\rightarrow	k_r constante de recyclage
	R_i	
	\rightarrow	
	R_{FSH}	

Le système d'équations différentielles suivant commande l'évolution de la cascade AMPc :

$$\begin{aligned} \frac{dR_{FSH}}{dt} &= k_- X_{FSH} + k_r R_i - k_+ FSH R_{FSH} \\ \frac{dX_{FSH}}{dt} &= k_+ FSH R_{FSH} - (\rho + k_-) X_{FSH} \\ \frac{dE_{FSH}}{dt} &= \beta (X_{FSH} - E_{FSH}) E_{FSH} \\ \frac{dAMP_c}{dt} &= \omega E_{FSH} - k_{pde} AMP_c \\ \frac{dX_{pFSH}}{dt} &= \rho X_{FSH} - k_i X_{pFSH} \\ \frac{dR_i}{dt} &= k_i X_{pFSH} - k_r R_i \end{aligned}$$

$$\rho = \frac{a AMP_c^\gamma}{b\gamma + AMP_c^\gamma}$$

2.3.3 Induction des récepteurs à LH et couplage des signaux FSH et LH

Ces modules viendront s'articuler au précédent. Le module d'induction des récepteurs doit rendre compte de l'apparition des récepteurs à LH sous l'imprégnation par FSH. Il doit incorporer au moins implicitement ce qui se passe en aval de la synthèse d'AMPc (activation des protéines kinases, phosphorylation des facteurs de transcription AMPc-dépendants, transcription de l'ADN et traduction de l'ARN). Il contient une double idée de délai :

- un délai lié à la différence d'échelle de temps entre les phénomènes purement enzymatiques et les phénomènes génétiques de la cascade métabolique à AMPc;
- un délai lié à l'activation séquentielle de l'expression des différents gènes contrôlés par FSH au cours du développement folliculaire.

Par ailleurs, le caractère soudain de l'apparition des récepteurs à LH fait penser à un phénomène de seuil. L'intérêt propre de ce module est d'étudier quelles conditions relatives à l'historique d'exposition du follicule à FSH sont nécessaires à l'apparition des récepteurs à LH sur les cellules de granulosa, et par conséquent à la sélection du follicule pour l'ovulation.

Le module de couplage entre les deux signaux gonadotropes FSH et LH correspond au stade préovulatoire après sélection. Il doit rendre compte de la perte de sensibilité du follicule ovulatoire vis-à-vis de FSH, imputable au phénomène de désensibilisation hétérologue, et de l'emballement contrôlé de la voie AMPc conduisant à l'ovulation.

Des améliorations ultérieures du modèle pourront consister à incorporer des différences dans la transmission du signal généré par différents isoformes biologiques de FSH, le transfert de molécules d'AMPc entre cellules via les gap-junctions et les interactions avec d'autres voies de signalisation cellulaire.

Conclusion

Une meilleure compréhension des événements menant à l'ovulation est un préalable indispensable à l'amélioration des protocoles de maîtrise du cycle ovarien, à visée thérapeutique dans l'espèce humaine ou zootechnique chez les mammifères domestiques, avec l'espoir de retombées significatives respectivement en terme de santé (fertilité) et de rentabilité économique.

La base cellulaire de description fait intervenir des variables ayant une signification physiologique directe, ce qui facilite l'interprétation des résultats et les possibilités d'interactions entre la démarche de modélisation et la démarche expérimentale. La réflexion engagée a ainsi déjà suscité la mise en place d'une expérience de mesure de la fraction de croissance (proportion de cellules proliférantes parmi les cellules viables) à différents stades du développement folliculaire. L'approche de contrôle optimal introduit d'emblée l'importance du dialogue endocrine entre les cellules folliculaires et les cellules du complexe hypothalamo-hypophysaire, sous la forme d'une contrainte explicite de synchronisation, qui apporte des informations précises sur la chronologie des événements ovulatoires, et sur les facteurs de variation qui l'affectent.

Il reste à faire intervenir explicitement les gonadotropines en tant que variables de contrôle sur les cellules de granulosa, ce qui permettra par la suite de coupler entre elles les trajectoires folliculaires tout en conservant une caractérisation cellulaire comme base d'interactions entre follicules. Cela passe par le travail de modélisation de la réponse cellulaire aux signaux gonadotropes, fait en concertation avec des endocrinologues de la reproduction, et qui permet de

réfléchir simultanément à l'altération de la transduction du signal dans les situations pathologiques telles que celles rencontrées dans le syndrome des ovaires polykystiques, première cause d'infertilité anovulatoire chez la femme. À terme cela devrait aider à améliorer les protocoles thérapeutiques ou du moins à mieux comprendre les protocoles disponibles.

La modélisation mathématique se révèle donc être un outil puissant d'intégration des connaissances en biologie de la reproduction, dès lors qu'elle manipule des concepts physiologiques pertinents.

Références

Articles de recherche

- Lacker HM, Akin E. How do the ovaries count? *Math. Biosci.*, 1988, 90: 305-332.
- Chavez-Ross A, Franks S, Mason HD, Hardy K, Stark J. Modelling the control of ovulation and polycystic ovary syndrome, *J. Math. Biol.*, 1997, 36:95-118.
- Thalabard JC, Thomas G, Methivier M. The emergence of the dominant follicle in primates: a random driven event? *In Cell to cell signalling: from experiments to theoretical models*. Ed Goldbeter A, Academic Press, pp 387-393.
- Clément F. Optimal control of the cell dynamics in the granulosa of ovulatory follicles. *Math. Biosci.*, 1998, 152: 123-142.
- Clément F, Gruet MA, Monget P, Terqui M, Jolivet E, Monniaux D. Growth kinetics of the granulosa cell population in ovarian follicles: an approach by mathematical modelling. *Cell Prolif.*, 1997, 30: 255-570.

Chapitres de livres

- Driancourt MA, Gougeon A, Royère D, Thibault C. La fonction ovarienne. *In La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Eds Thibault C et Levasseur MC, Editions INRA, Paris, 1991, pp 273-298.
- Erickson GF. The ovarian connection: Anatomy and physiology of folliculogenesis *In Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*. Eds Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. Lippincot-Raven Publishers, Philadelphie, 1996, pp 1142-1158.

ANNEXES

1. Axe gonadotrope

GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
LH	Luteinizing Hormone
FSH	Follicle Stimulating Hormone
E	Estradiol
P	Progesterone
A	Androgens
I	Inhibin

2. Contrôle du développement folliculaire

LH	Luteinizing Hormone
FSH	Follicle Stimulating Hormone
E	Estradiol
GF	Growth factors

3. Synthèse d'AMPC en réponse à un stimulus FSH constant

free FSH receptors	R_{FSH}
bound FSH receptors	X_{FSH}
FSH efficiency	E_{FSH}
phosphorylated receptors	Xp_{FSH}
internalized receptors	R_i
rho	ρ

Les graphes représentent l'évolution temporelle des concentrations en espèces membranaires (récepteurs libres et complexes ligand/récepteur) et en espèces intra-cellulaires (récepteurs internalisés, AMPc) et du taux de phosphorylation (ρ).

Les différentes courbes au sein d'une même série correspondent à des valeurs différentes des constantes d'association (k_+) et de dissociation (k_-), les valeurs des autres paramètres étant identiques.

trait en petits tirets : $k_+ = k_-$

traits plein et en pointillés : $k_+ > k_-$

traits en grands tirets : $k_+ < k_-$

Séries 1 à 3 : influence du taux d'hydrolyse (k_{pde}) de l'AMPC

Séries 3 à 5 : influence du niveau de stimulus FSH

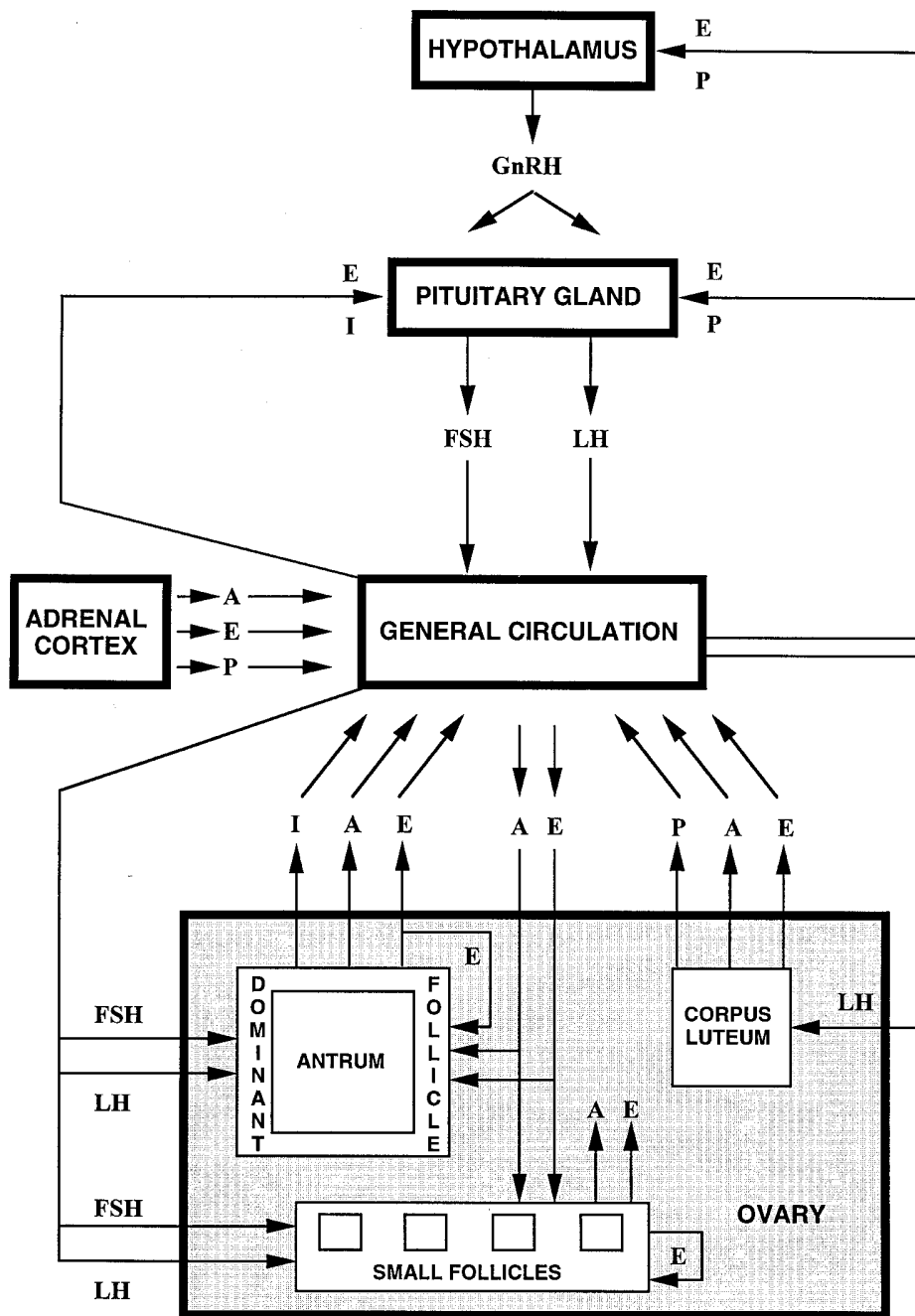


FIG. 9 -

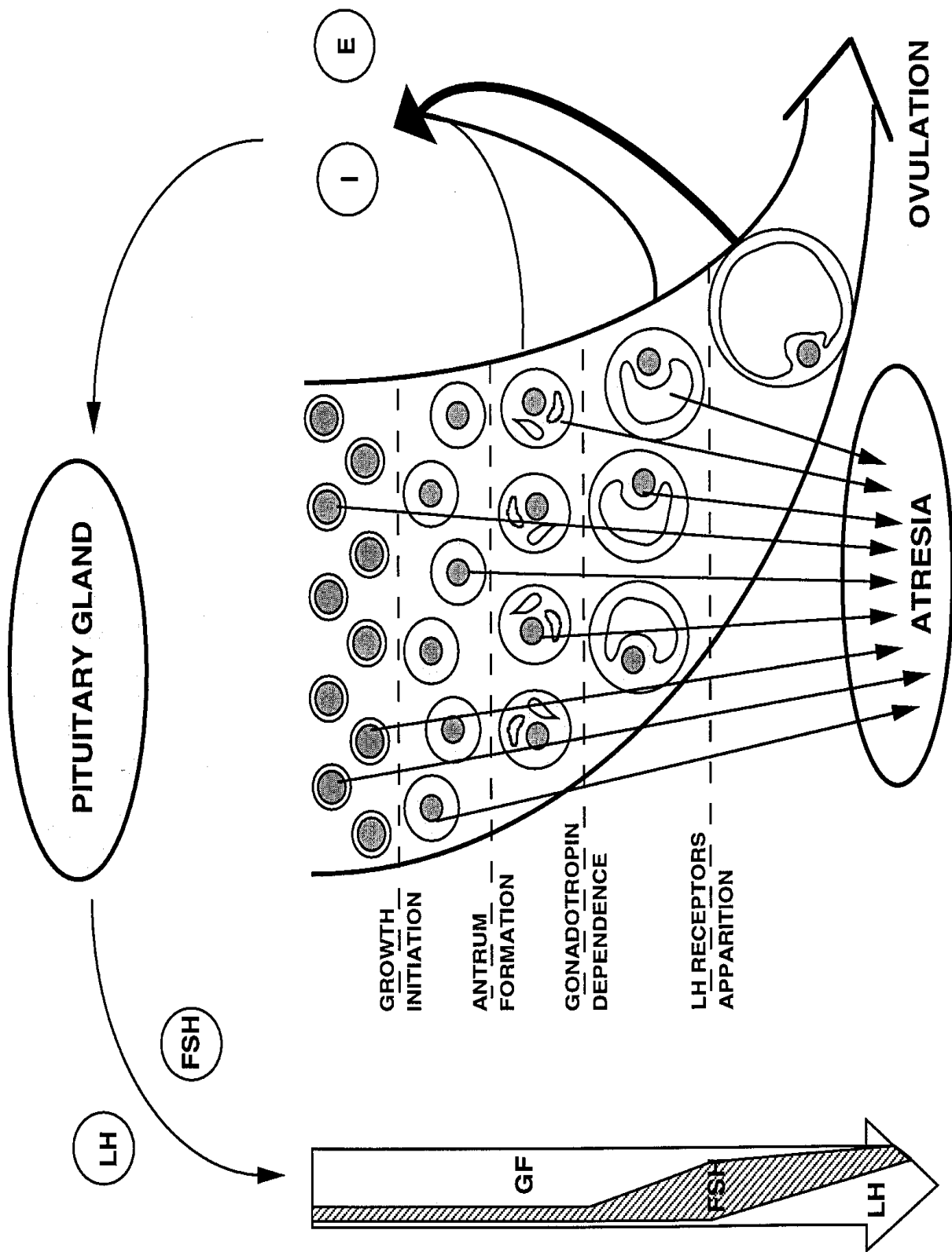


FIG. 10 -

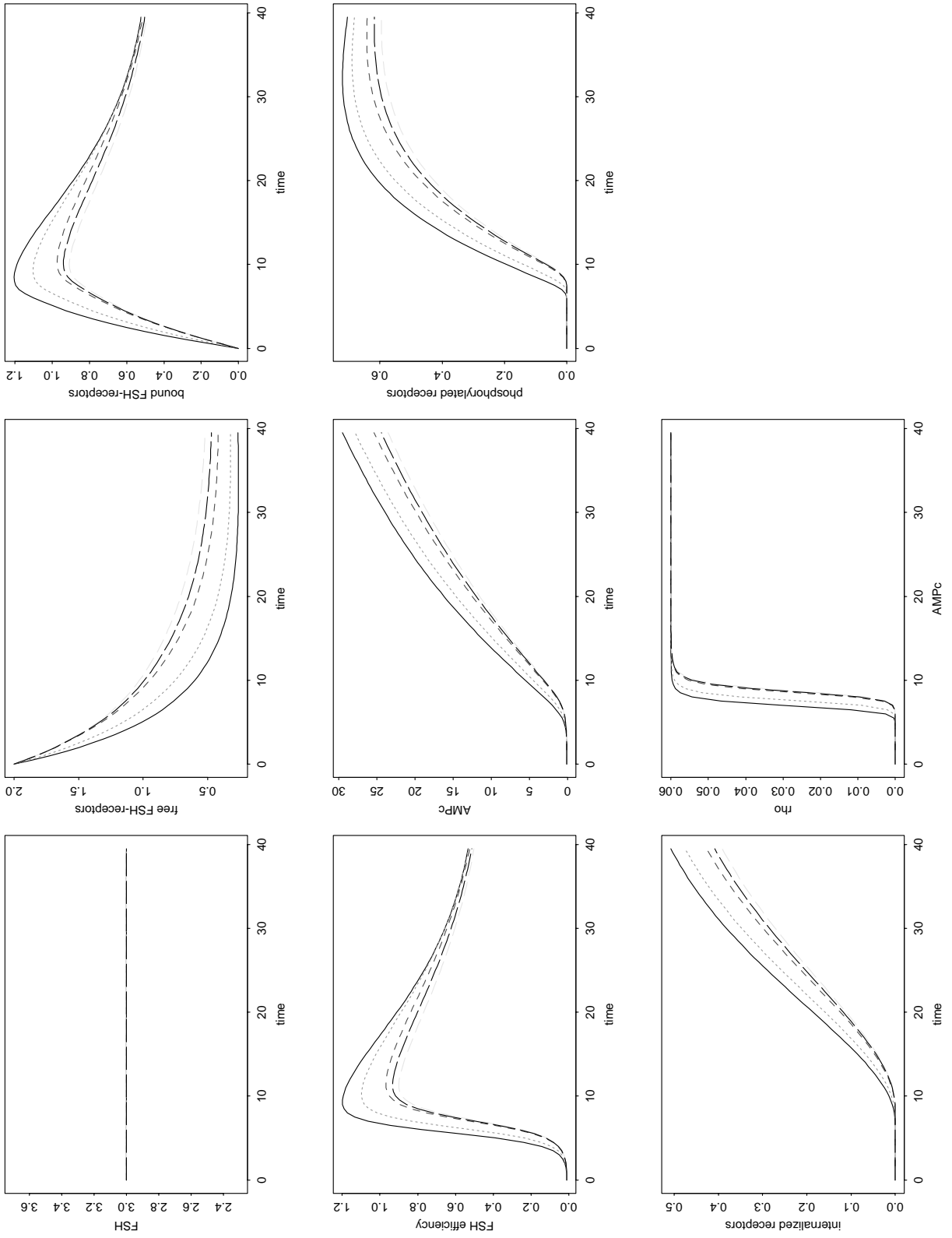


FIG. 11 –

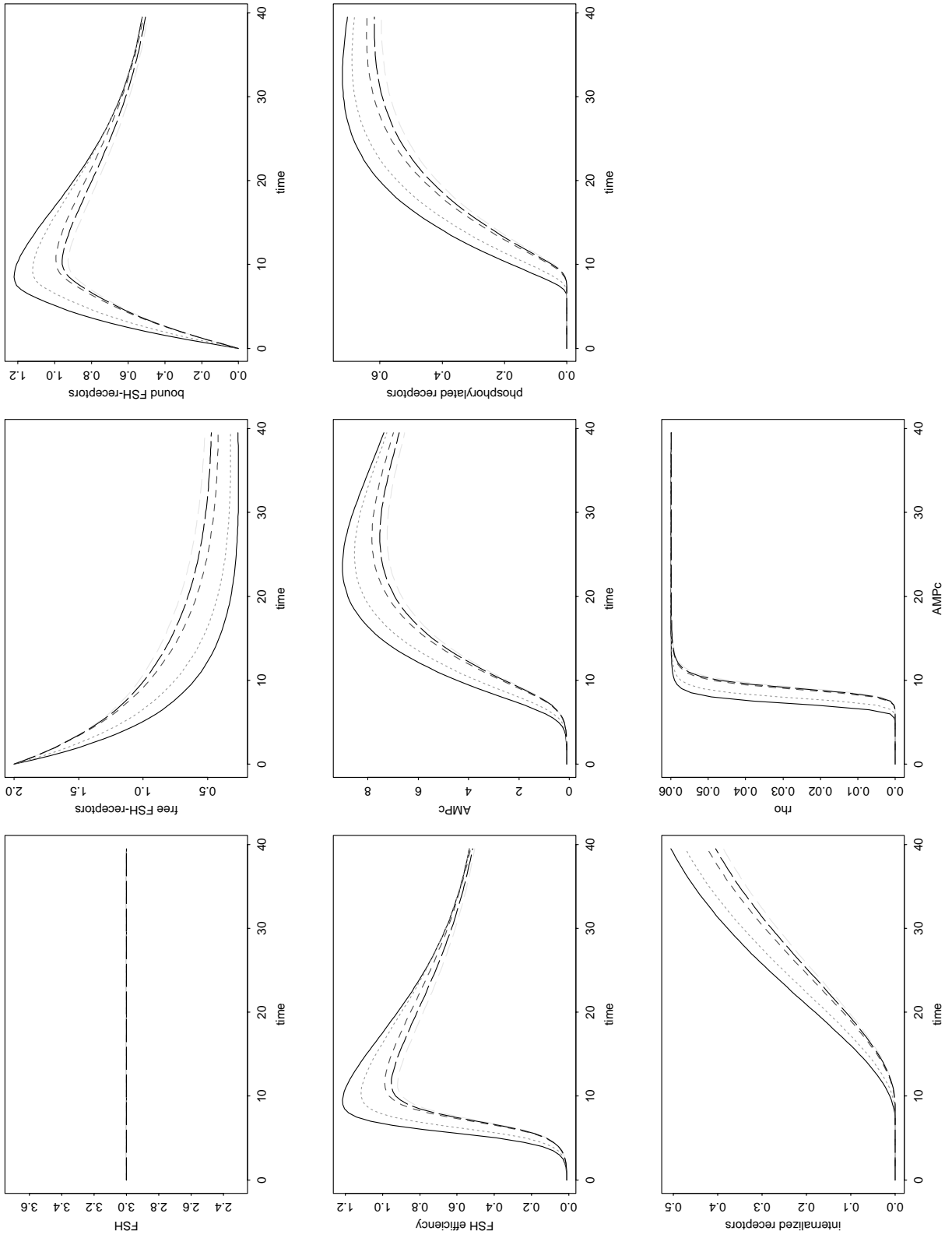


FIG. 12 –

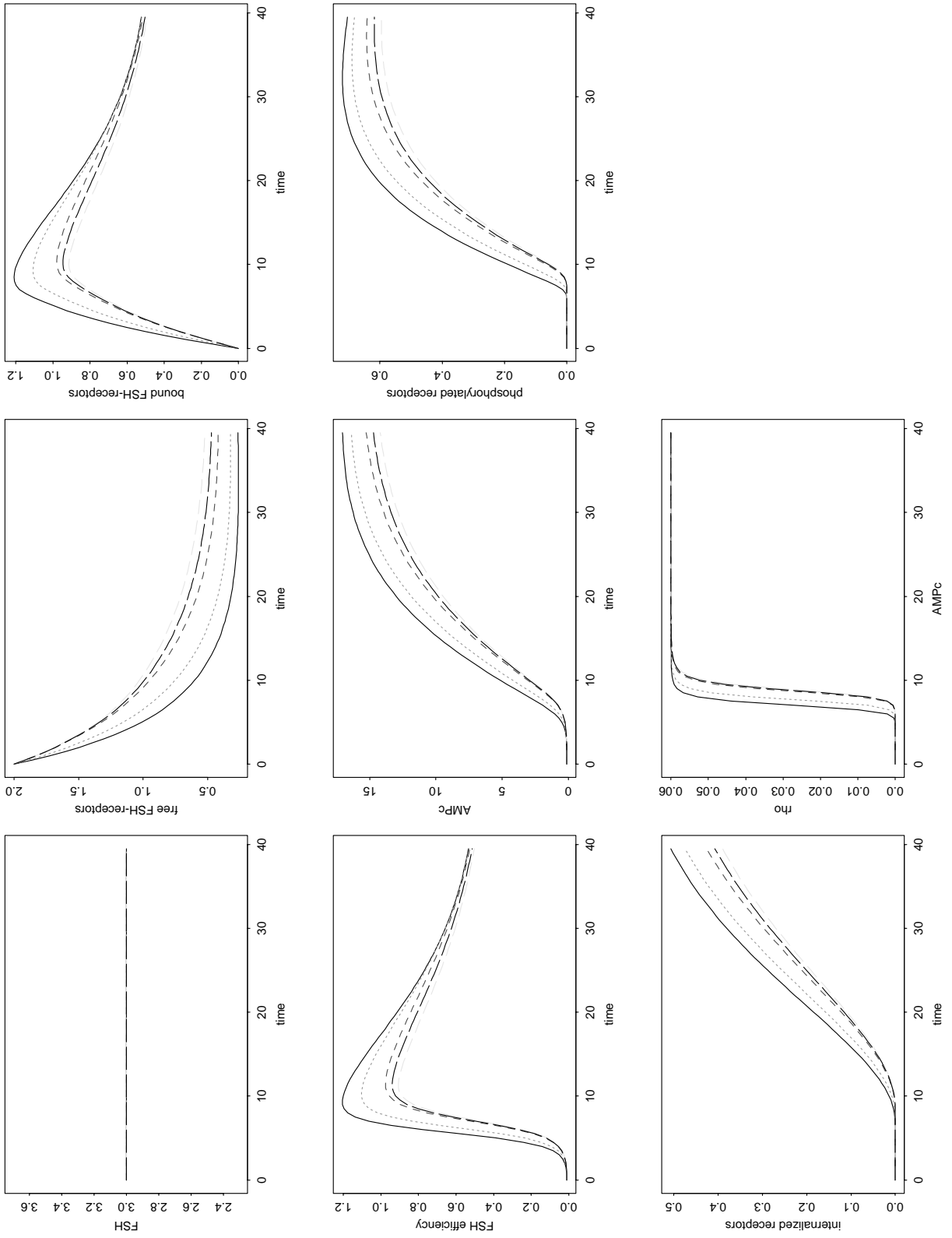


FIG. 13 –

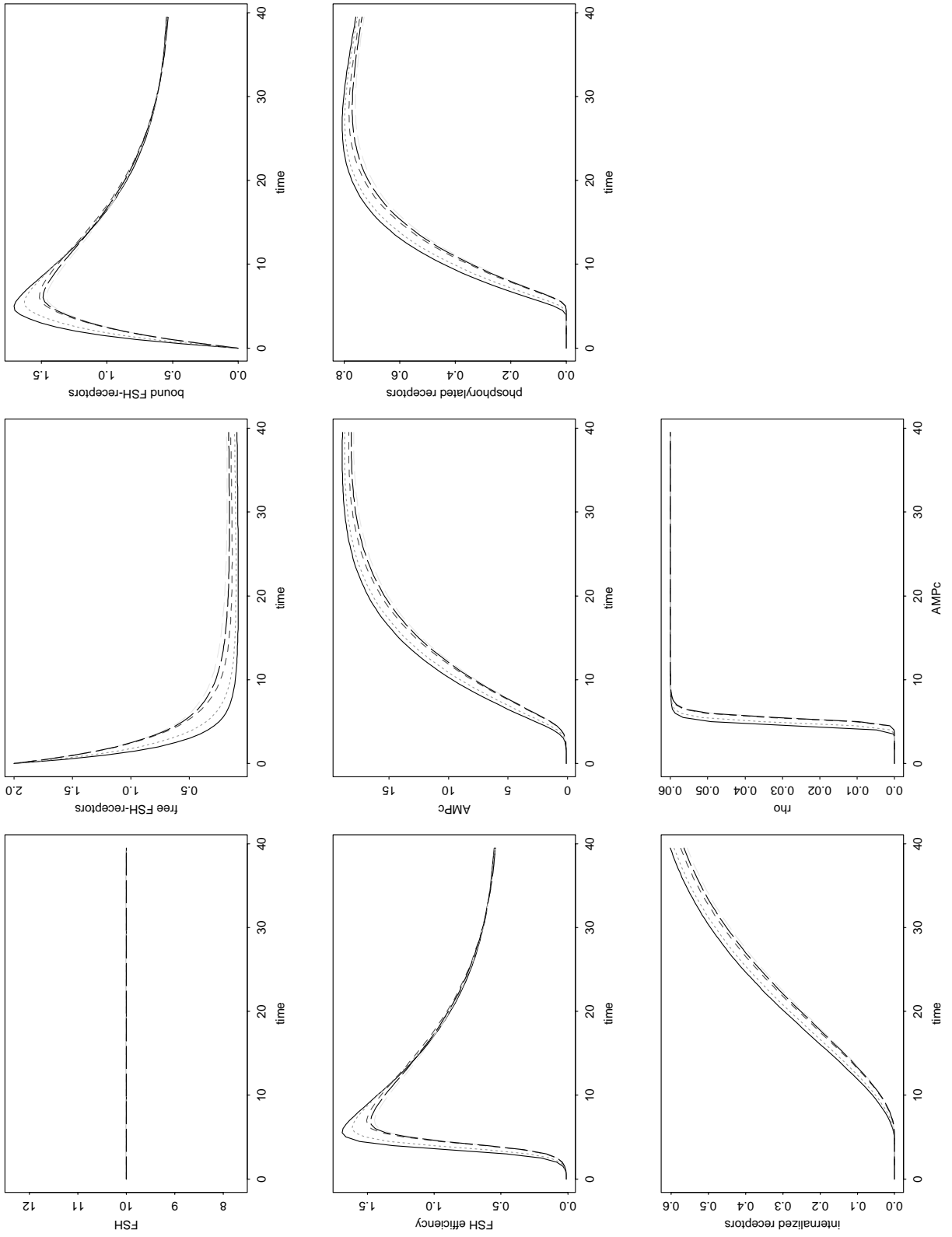


FIG. 14 –

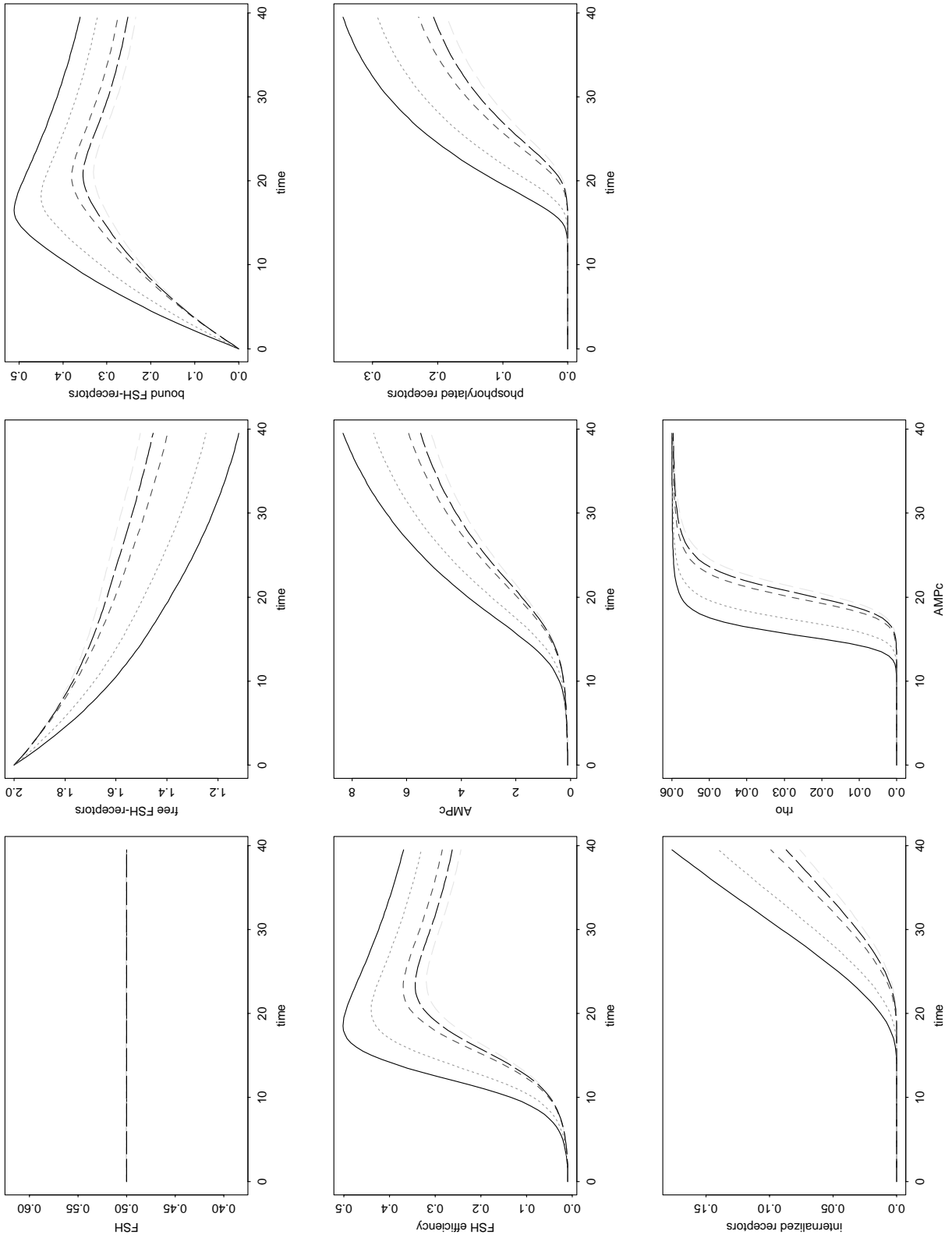


FIG. 15 –