

L'AMH, un régulateur de l'autophagie dans l'ovaire?

Tatiana Lecot-Connan^a, Yasmine Boumerdassi^a, Françoise Magnin^a, Nadine Binart^a, Charlotte Sonigo^{a,b}, Isabelle Beau^a

^a Physiologie et Physiopathologie Endocriniennes, Université Paris-Saclay, Inserm, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France

^b Service de Médecine de la reproduction et Préservation de la Fertilité, Hôpital Antoine Bécère, AP-HP, Université Paris-Saclay, 92140 Clamart, France

Contexte

Introduction :

L'hormone anti-müllérienne (AMH), une glycoprotéine de la famille TGF- β produite par les follicules en croissance, a un effet inhibiteur sur le recrutement des follicules primordiaux. Dans une étude récente *in vivo* chez la souris, nous avons obtenu des données suggérant que dans l'ovaire, i) l'injection d'AMH induit l'autophagie et ii) l'AMH active le facteur de transcription FOXO3a, un régulateur connu de l'autophagie (1). L'autophagie dans l'ovaire a un rôle déterminant dans la survie du pool folliculaire mais les mécanismes de régulation ne sont pas connus (2). Sur la base de ces observations, nous avons émis l'hypothèse que l'AMH maintient le pool de follicules primordiaux non seulement en inhibant l'activation folliculaire mais aussi en induisant l'autophagie. En utilisant un modèle de culture organotypique d'ovaires de souris, nous avons cherché à comprendre le lien entre l'AMH, le facteur de transcription FOXO3a et l'autophagie.

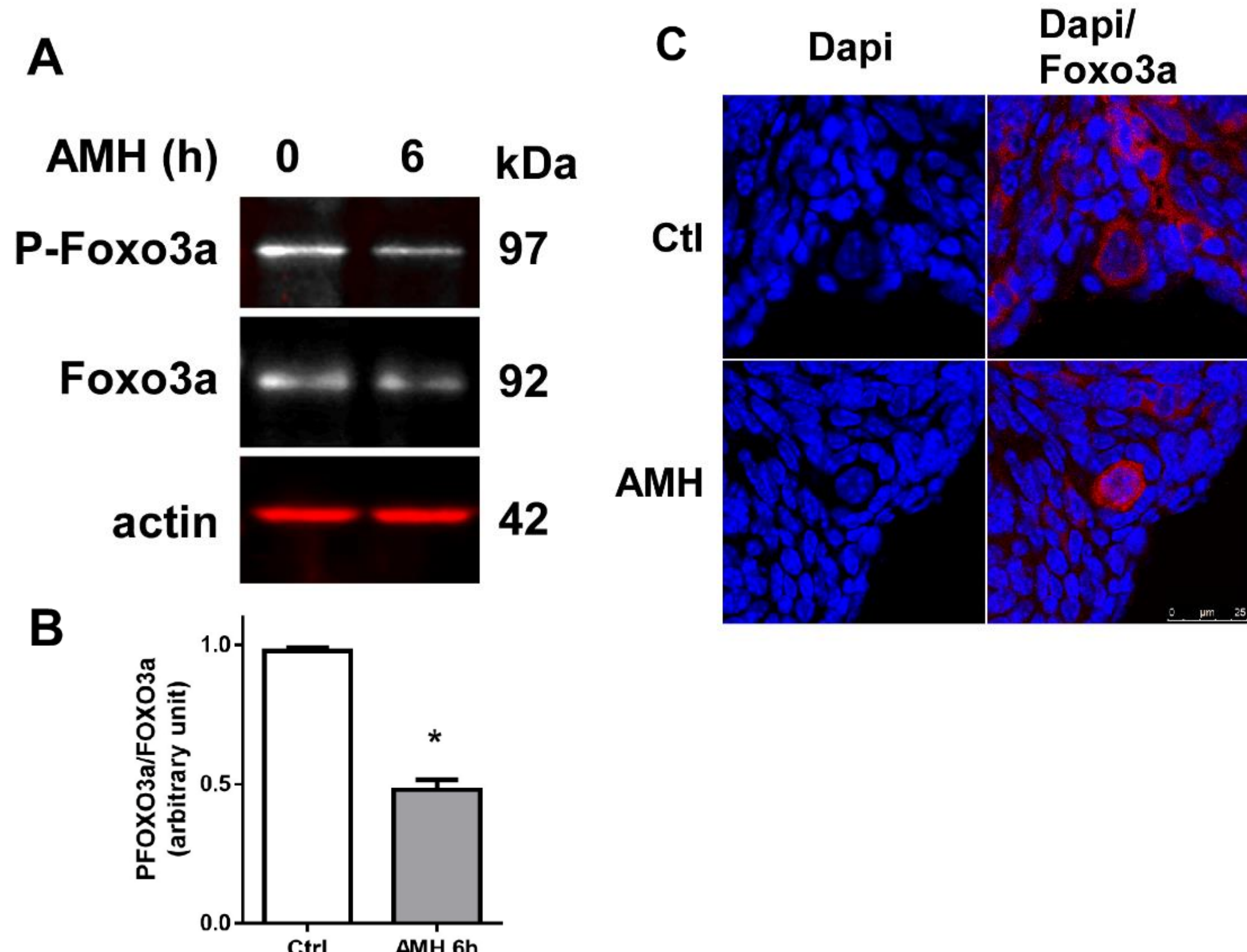
Matériels et méthodes :

Nous avons utilisé une approche *in vitro* avec des cultures organotypiques d'ovaires de souris prépubères, traités ou non avec de l'AMH.

L'autophagie et la phosphorylation de FOXO3a ont été analysées par Western blot. L'expression des gènes impliqués dans l'autophagie a été quantifiée par RT-qPCR.

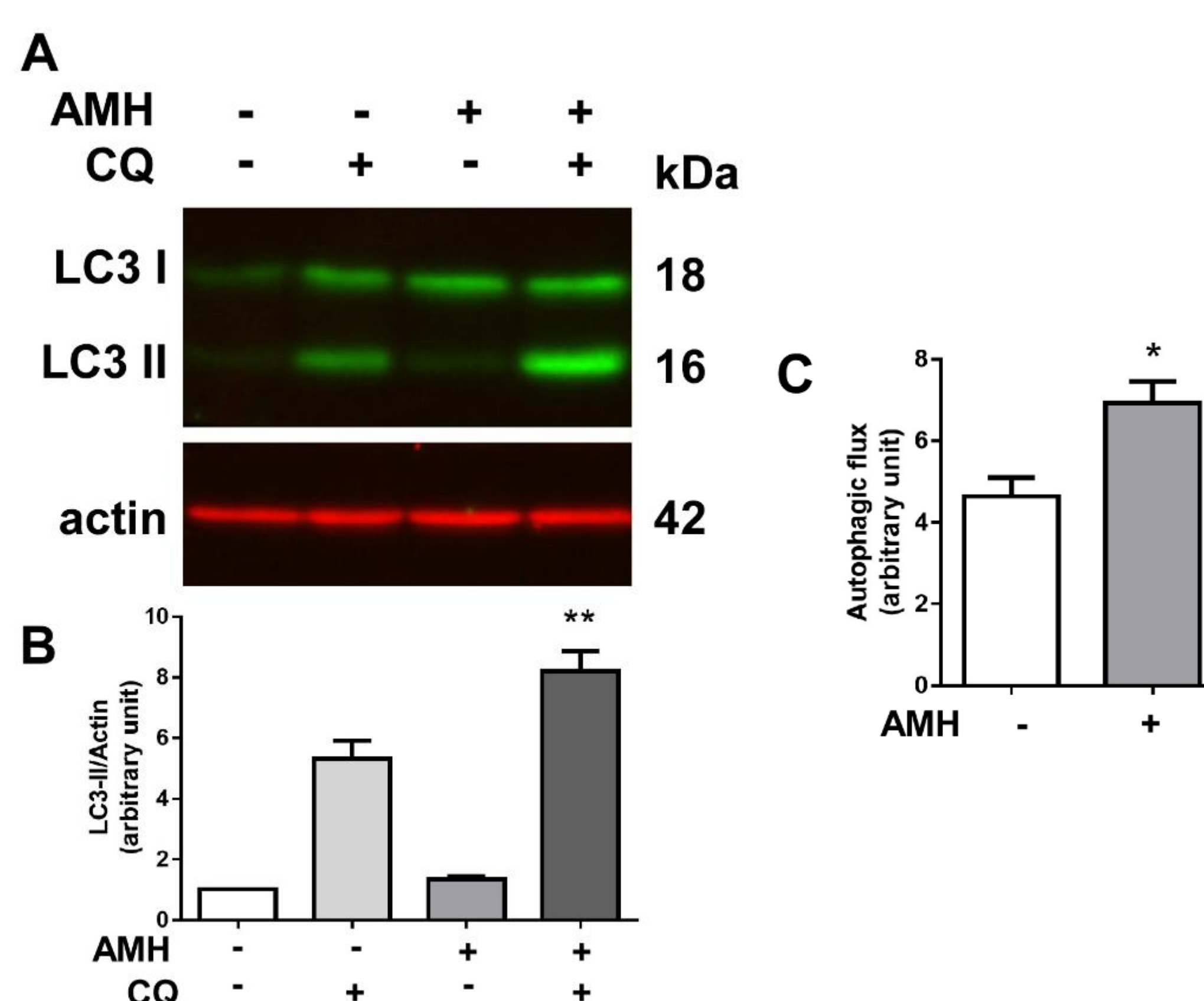
Résultats

L'AMH diminue la phosphorylation de FOXO3a



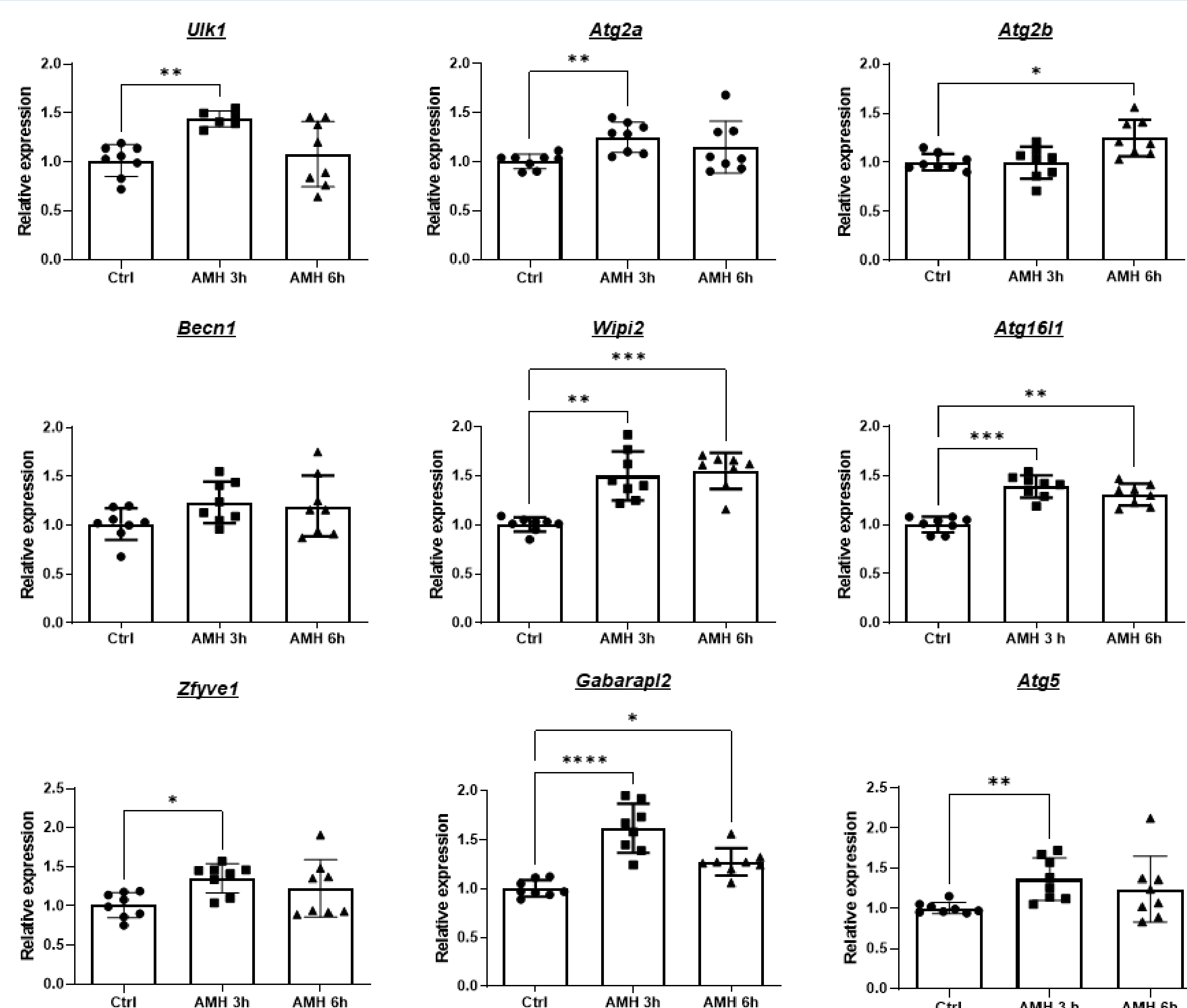
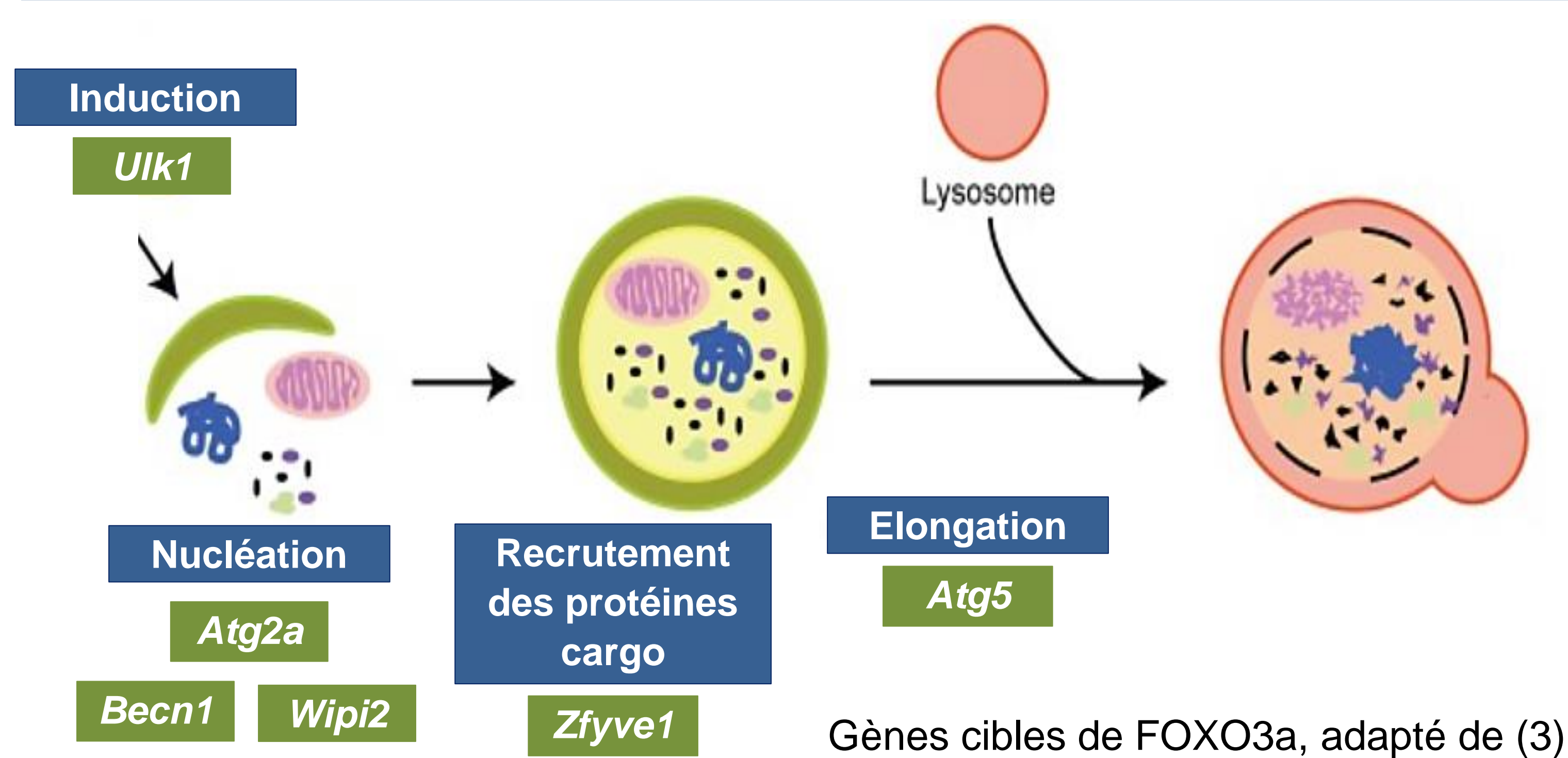
Les ovaires ont été incubés en présence ou non d'1 $\mu\text{g/mL}$ d'AMH pendant 3 et 6 heures. A) Analyse Western blot. B) Ratio P-FOXO3a/FOXO3a (N = 4 expériences indépendantes), * $p < 0,05$. C) Analyse histologique de la localisation de FOXO3a dans les follicules primordiaux

L'AMH induit l'autophagie



Les ovaires ont été incubés en présence ou non d'1 $\mu\text{g/mL}$ d'AMH \pm 100 μM de CQ pendant 13 heures. A) Analyse Western blot. B) Ratio LC3-II/ Actine (N = 6 expériences indépendantes) reflète de la biosynthèse des autophagosomes, ** $p < 0,01$. C) Flux autophagique (N = 6 expériences indépendantes), * $p < 0,05$

L'AMH augmente l'expression de gènes impliqués dans l'autophagie



Les ovaires ont été incubés en présence ou non d'1 $\mu\text{g/mL}$ d'AMH pendant 3 et 6 heures. Les résultats sont exprimés en quantité relative de ΔCt , entre les ovaires témoins et les ovaires traités, normalisée par rapport à la moyenne des ΔCt de deux gènes de ménage, GAPDH et 36B4. Ces résultats sont issus de deux expériences, où chaque condition était représentée en quadruple.

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$

Conclusion

Grâce à cette approche *in vitro*, nous avons identifié un nouveau rôle pour l'AMH. L'AMH induit l'autophagie, probablement par l'activation de FOXO3a induisant l'expression de gènes cibles impliqués dans le processus autophagique.

Ainsi, l'AMH protégerait le pool de follicules primordiaux en inhibant leur entrée en croissance et en assurant leur survie *via* l'activation de l'autophagie.

Références

- Sonigo *et al.* FASEB J (2019).
- Song *et al.* Cell Death Dis (2015).
- Audesse *et al.* Plos Genet (2019).

