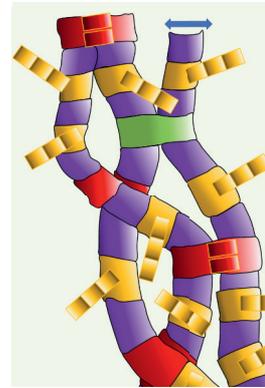


# La zone pellucide

## Aspects génétiques et infertilité

Daria Trocka<sup>1</sup>, Anne Pascale Satie<sup>2</sup>, Célia Ravel<sup>2,3</sup>

> La zone pellucide (ZP) est une matrice extracellulaire spécifique enveloppant l'ovocyte. Elle régule la liaison des spermatozoïdes à l'ovocyte lors de la fécondation. Après la fécondation, la zone pellucide prévient la polyspermie en modifiant sa conformation. La zone pellucide est importante pour la protection de l'embryon pré-implantatoire en développement lors de son trajet oviductal en évitant l'implantation ectopique. Suite au développement des techniques génétiques et du séquençage du génome, de nombreuses mutations ont été récemment décrites chez des patientes infertiles. Après avoir présenté la structure et les fonctions des glycoprotéines ZP constituant la zone pellucide, nous discutons dans cette revue de l'impact des mutations mises en évidence dans les gènes codant ces glycoprotéines sur la fertilité féminine. <



<sup>1</sup>Medical university of Bialystok, 15-089, Bialystok, Pologne.

<sup>2</sup>Univ Rennes, Inserm, EHESP (école des hautes études en santé publique), Irset (institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMR\_S 1085, F-35000 Rennes, France.

<sup>3</sup>Département de gynécologie obstétrique et reproduction humaine - CECOS, CHU de Rennes, 16 boulevard de Bulgarie, 35000 Rennes, France.

[celia.ravel@chu-rennes.fr](mailto:celia.ravel@chu-rennes.fr)

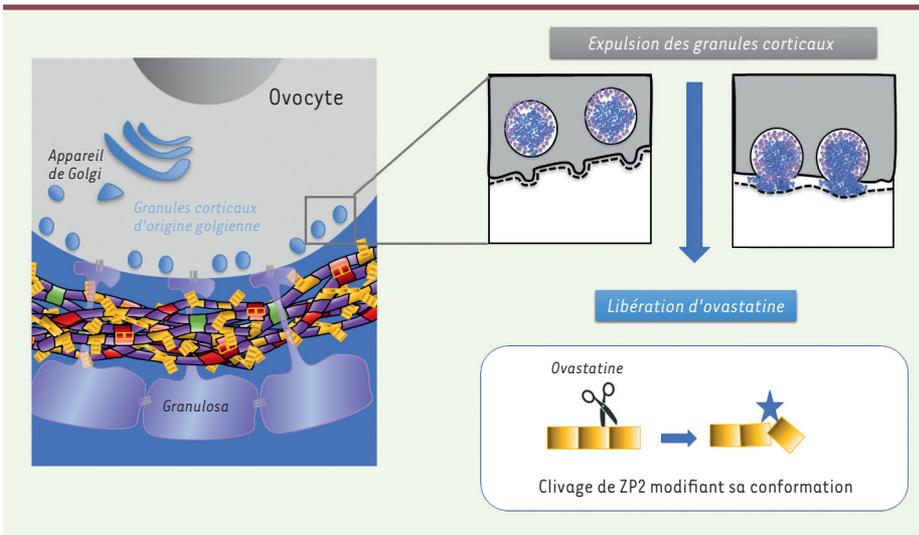
qui fusionnent rapidement pour former une matrice extracellulaire. Les protéines ZP2 et ZP3 se combinent pour former des unités de base qui polymérisent en de longs filaments qui sont périodiquement reliés entre eux par les protéines ZP1 et ZP4. Les glycoprotéines ZP sont fortement glycosylées, exposant des résidus mannosyles, N-acétylglucosaminyles et bêta-galactosyles [5]. Dans l'espèce humaine, ZP1, ZP3 et ZP4 peuvent toutes trois induire une réaction acrosomique [4], contrairement aux modèles murins dans lesquels ZP3 est le principal agoniste de l'induction de la réaction acrosomique. Chez la souris, lors de la fécondation *in vitro*, la plupart des spermatozoïdes féconds commencent leur réaction acrosomique avant le contact avec la zone pellucide [6]. Il semble en effet qu'une exocytose acrosomique survienne dans l'isthme supérieur au niveau de l'oviducte, avant d'atteindre l'ovocyte [7].

Avant la fusion avec la membrane plasmique ovocytaire, les spermatozoïdes se lient au domaine N-terminal de ZP2, qui est la cible d'une protéase granulaire corticale appelée ovastacine [8]. Lors de la fécondation, l'exocytose des granules corticaux entraîne la diffusion à travers la matrice d'ovastacine, à l'origine de la fragmentation du domaine N-terminal de ZP2, conduisant à une protéolyse (Figure 1). Le clivage de ZP2 par l'ovastacine rend ainsi la zone pellucide imperméable aux spermatozoïdes. En effet, ce clivage modifie la structure de la protéine ZP2, qui forme alors de nouvelles interactions protéine-protéine. La liaison du spermatozoïde à ZP3 peut également être à l'origine de changements de conformation de la zone pellucide. Ces désorganisations de la structure de la zone pellucide altèrent ses propriétés mécaniques, empêchant, de fait, la polyspermie, puisque les spermatozoïdes ne peuvent plus s'y lier. Notons que la zone pellucide reste cependant perméable aux macromolécules, comme les anticorps, les enzymes et les petits virus [9].

### Formation de la zone pellucide

Dans l'espèce humaine, les glycoprotéines constituant la zone pellucide (ZP), les protéines ZP, qui sont au nombre de quatre, ZP1, ZP2, ZP3 et ZP4 [1], semblent être synthétisées dès le stade de follicule primordial [2]. Elles ne peuvent cependant être observées qu'au stade du follicule primaire, constitué d'un ovocyte entouré d'une couche de cellules cubiques de la granulosa. Cette enveloppe sépare physiquement l'ovocyte des cellules somatiques folliculaires dont l'interaction est essentielle pour la croissance et la progression méiotique du gamète femelle. Les composants de la zone pellucide sont synthétisés par l'ovocyte en croissance [3], mais les cellules de la granulosa participeraient également à leur élaboration [4]. La zone pellucide apparaît autour des ovocytes en croissance sous forme de poches de fibrilles localisées

Vignette (© Célia Ravel).



**Figure 1. Le relargage des granules corticaux** (vésicules d'origine golgienne) entraîne la libération d'ovastatine qui, en clivant ZP2, va modifier la conformation de la zone pellucide (ZP) et empêcher toute liaison avec d'autres spermatozoïdes.

Au cours de la croissance folliculaire, la zone pellucide s'épaissit, jusqu'à la maturation de l'ovocyte. Dans les ovocytes humains matures, l'épaisseur moyenne de la zone pellucide est de 17  $\mu\text{m}$  (entre 15 et 20  $\mu\text{m}$ ). Certains embryons préimplantatoires ont une zone pellucide dont l'épaisseur est uniforme, d'autres présentent des régions localisées plus minces. Cette variation d'épaisseur de la zone pellucide peut être analysée, en particulier dans le cadre de l'évaluation morphologique des embryons préimplantatoires pour une fécondation *in vitro* (FIV). Au fur et à mesure que l'embryon se développe, la zone pellucide s'amincit. Au stade blastocyste, l'embryon éclot de sa zone pellucide avant de s'implanter dans l'utérus. Dans le cadre de la FIV, les variations d'épaisseur de la zone pellucide sont une caractéristique, encore controversée, de la réussite de l'implantation de l'embryon au stade clivé [10].

Lorsqu'un follicule primordial commence à se développer, l'épaississement de la zone pellucide génère une fine extension de la cellule de la granulosa qui reste liée à la membrane ovocytaire par des jonctions (Figure 1). Ces projections transzonales permettent une communication bidirectionnelle lors de la folliculogénèse. Ces longs prolongements des cellules de la *corona radiata*<sup>1</sup> pénètrent à travers la zone pellucide et établissent des jonctions avec la membrane ovocytaire [11]. Ces jonctions, qui présentent des pores d'environ 15 Å, permettent le passage de petites molécules dans les ovocytes, à partir des cellules de la granulosa environnante, en particulier par le biais de vésicules. Le microenvironnement ovocytaire est en effet constitué d'une grande diversité de vésicules extracellulaires dont la composition reflète l'état physiologique du follicule ovarien [12]. Une telle communication entre les ovocytes en croissance et les cellules de la granulosa à travers la zone pellucide est nécessaire au développement folliculaire normal [9].

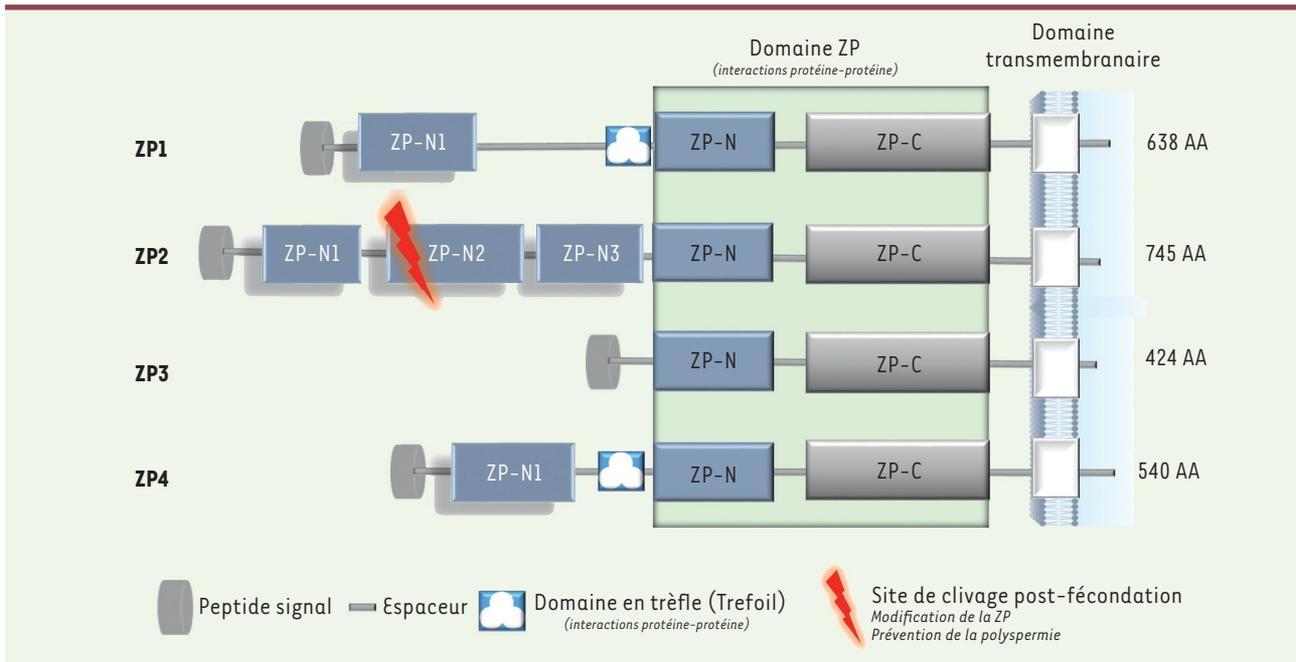
<sup>1</sup> L'ovocyte entouré de la zone pellucide est inclus dans une masse cellulaire, appelée *cumulus oophorus*, dont la couche en contact avec la zone pellucide est nommée *corona radiata*.

### Structure de la zone pellucide

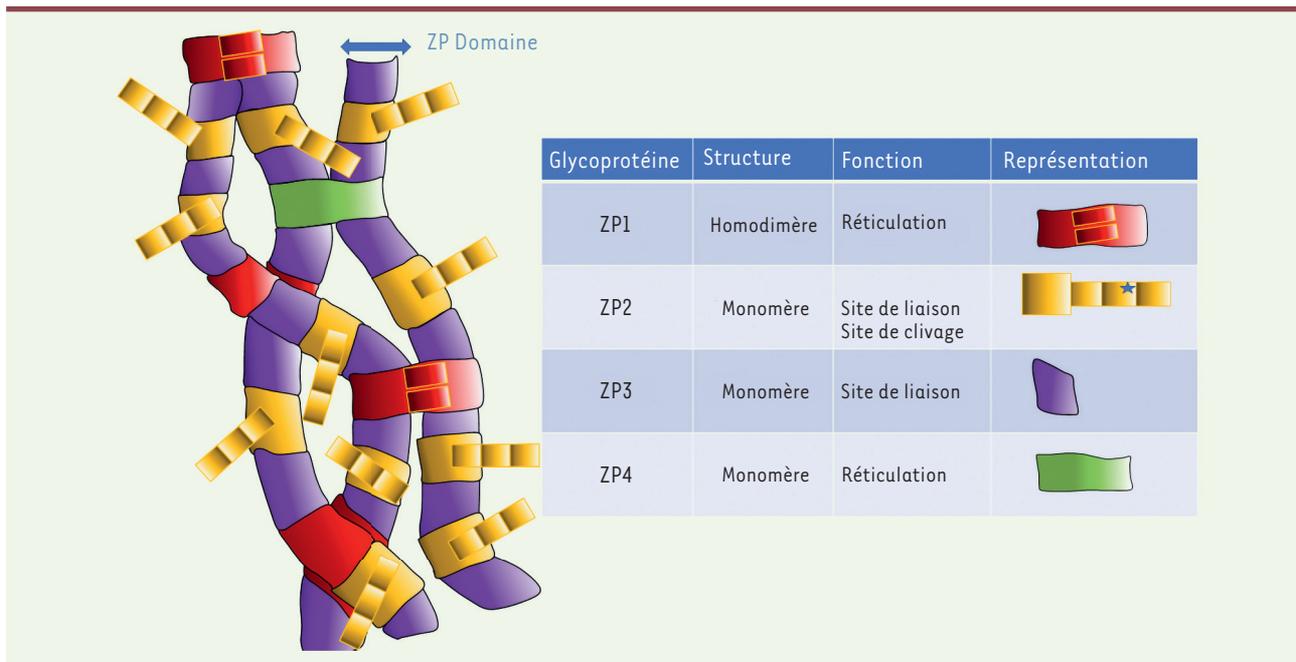
L'observation ultrastructurale de la zone pellucide révèle une structure filamenteuse constituée de longues fibrilles réticulées formées de polymères de glycoprotéines ZP maintenues entre eux par des liaisons non covalentes et un auto-assemblage de type amyloïde [13]. Chaque protéine ZP est constituée d'un domaine commun de 270 acides aminés (*ZP domaine* ou ZPD) lui-même composé de deux sous-domaines structurellement apparentés aux immunoglobulines : ZP-N et ZP-C (ZP-N étant toujours placé avant ZP-C) (Figure 2). Le domaine ZPD n'est pas spécifique aux protéines ovocytaires. Il se retrouve également dans d'autres protéines extracellulaires, telles que la tectorine, l'uromoduline, la mésogléine et les cuticlins [9].

Les protéines ZP sont synthétisées sous la forme d'un précurseur composé d'un peptide signal, du domaine ZPD (ZP-N et ZP-C), d'un domaine transmembranaire et d'une région cytoplasmique. Des copies du domaine ZP-N sont également retrouvées dans les régions N-terminales de ZP1, ZP2 et ZP4. Dans ZP1 et ZP4, un domaine en trèfle (*trefoil domain*), impliqué dans les interactions protéine-protéine, précède les modules ZP (Figure 2). Ces précurseurs subissent un processus de repliement et se polymérisent à l'extérieur de l'ovocyte. Le sous-domaine ZP-N est particulièrement impliqué dans la polymérisation en fibrilles des protéines ZP naissantes [14].

Première structure modélisée chez la souris [15], ZP1 est un homodimère constitué de deux polypeptides identiques liés par un pont disulfure. Il agit comme un agent de réticulation des fibrilles individuelles en réticulant de manière covalente les filaments de ZP dans une matrice tridimensionnelle (Figure 3). D'autres



**Figure 2. Organisation architecturale schématique des précurseurs protéiques ZP.** Ces précurseurs sont clivés et libérés dans l'espace périvitellin où ils adopteront un repliement efficace. AA : acides aminés (pour plus de clarté, l'espacement relatif n'est pas dessiné à l'échelle) (adapté de la figure 1 de [34]).



**Figure 3. Organisation des différentes glycoprotéines ZP humaines,** chacune présentant sa spécificité.

modèles structuraux ont également été proposés, comme une zone pellucide formée de la répétition d'hétérodimères ZP3-ZP2 et ZP3-ZP1 [16], ou des polymères de ZP1-ZP2-ZP3 reliés entre eux par ZP1 [17]. Le fragment C-terminal de ZP3 (ZP-C) a été impliqué dans la liaison des spermatozoïdes. Sa partie amino-terminale (ZP-N) participe à la formation de la zone pellucide [18]. Dans ZP2, on retrouve un site de

clivage post-fécondation important pour la modification structurale de la zone pellucide [19]. Enfin, ZP4 est impliqué dans la liaison des spermatozoïdes à la zone pellucide [20]. Chez la souris, les spermatozoïdes ont tendance à pénétrer dans les régions proches du globe polaire : c'est

à ce niveau que l'espace périvitellin est le plus large, ce qui laisse un espace suffisant aux spermatozoïdes pour se déplacer [21]. Au cours du développement préimplantatoire, la zone pellucide influencera ainsi l'alignement de l'axe embryonnaire et du premier plan de clivage. Elle assurera également l'intégrité de l'embryon lors de son trajet dans les trompes de Fallope pour rejoindre l'utérus [3].

### Conservation entre espèces

Si l'organisation des domaines ZP a été conservée au cours de centaines de millions d'années d'évolution, c'est pourtant la zone pellucide qui permet la reconnaissance spécifique entre les espèces. En effet, la zone pellucide ne reconnaît et ne fixe que les spermatozoïdes appartenant à la même espèce que l'ovocyte qu'elle entoure. Les protéines ZP jouent un rôle important dans cette barrière entre espèces. ZP2 et ZP3 font ainsi partie des 10 % de protéines les plus divergentes chez les mammifères [22]. La zone pellucide humaine est constituée des quatre sous-unités ZP1 à ZP4, mais chez certaines espèces (chien, renard, porc, bovin), ZP1 peut être absente. En revanche, sept protéines ZP ont été décrites chez les marsupiaux australasiens, et huit chez les monotrèmes<sup>2</sup> [23]. Chez la souris, ZP4 est absente dans le sous-genre *Mus*, mais elle est présente chez les autres espèces murines [24]. Dans l'espèce humaine, ZP4 pourrait remplacer ZP2 dans la constitution d'une zone pellucide [25] et, curieusement, une mutation conservée de ZP4 (p.A433V, l'alanine 433 modifiée en valine) a été retrouvée chez 15 espèces de vertébrés, d'*Homo Sapiens* à *Oryctolagus cuniculus*<sup>3</sup> [26]. Notons que la partie C-terminale de ZP3 joue un rôle majeur dans sa capacité à lier les spermatozoïdes d'une manière restreinte à l'espèce [17].

### Variations génétiques des gènes ZP

De nombreuses mutations ont été décrites chez des patientes infertiles (Tableau 1). Les mutations touchant les gènes *ZP1*, *ZP2*, *ZP3* et *ZP4* influencent les fonctions des protéines correspondantes et sont à l'origine d'une absence de zone pellucide ou d'anomalies ovocytaires allant jusqu'au syndrome du follicule vide, qui conduit à une infertilité [27].

#### Le gène *ZP1*

Le gène humain *ZP1* est situé sur le chromosome 11 (11q12.2). Il contient 12 exons et code un polypeptide de 638 acides aminés. La caractérisation des protéines *ZP1* portant des mutations chez des patientes infertiles suggère que la réticulation des filaments par *ZP1* est cruciale pour former une zone pellucide stable. En effet, la réticulation des filaments est hautement plastique et peut être modulée par la fucosylation de *ZP1* [28]. Contrairement aux souris dont le gène *Zp1* est délété (*Zp1* KO) qui présentent un phénotype modéré (hypofertilité) [9], chez les femmes infertiles, plusieurs mutations

sont retrouvées dans ce gène. Un variant homozygote faux-sens (p.R366Q) a été décrit chez 5 des 27 patientes d'une cohorte nord-africaine présentant un défaut de maturation ovocytaire [29]. Les patientes infertiles porteuses de cette mutation présentent une altération de sécrétion de *ZP1*, ce qui provoque l'absence de réticulation des filaments [30]. Une variation autosomique récessive aboutissant à une protéine *ZP1* tronquée a été associée à l'infertilité de femmes présentant des ovocytes anormaux dépourvus de zone pellucide [30]. En effet, la protéine *ZP1* mutée ne peut être transportée hors de la cellule, ce qui affecte également le transport de *ZP3* et *ZP4* ainsi que l'interaction ultérieure avec la protéine *ZP2* nécessaire à la formation des filaments de la zone pellucide [31].

#### Le gène *ZP2*

Chez l'homme, le gène *ZP2* est situé sur le chromosome 16 (16p12.3-p12.2). Il contient 19 exons et code un polypeptide de 745 acides aminés. Les patientes porteuses de mutations homozygotes tronquant *ZP2* produisent des ovocytes matures avec une zone pellucide dépourvue de *ZP2*, qui est amincie mais peut se maintenir jusqu'au stade blastocyste [32]. Bien qu'une fine zone pellucide soit présente autour des ovocytes matures, l'absence de *ZP2* fonctionnelle entraîne un défaut de liaison au spermatozoïde et donc un échec de fécondation. En effet, une protéine *ZP2* intacte est indispensable pour la reconnaissance et la pénétration des gamètes, en particulier son domaine ZP-N1 qui interagit avec le spermatozoïde [25]. Les souris *Zp2* KO sont stériles, confirmant l'importance de cette protéine [9].

#### Le gène *ZP3*

Le gène *ZP3* est situé sur le chromosome 7 (7q11.23). Il contient 8 exons et code un polypeptide de 424 acides aminés. Une mutation faux-sens récurrente hétérozygote du gène *ZP3* provoque le syndrome du follicule vide, diagnostiqué lors des procédures de fécondation *in vitro*. Cette mutation peut avoir un impact sur l'interaction des protéines ZP, empêchant la communication entre les cellules du cumulus et les ovocytes, et conduisant éventuellement à la dégénérescence des ovocytes [33]. *ZP3* joue un rôle clé dans l'assemblage des protéines ZP et sa présence est indispensable [34]. Des mutations dans le sous-domaine ZP-C de *ZP3* (Figure 1) pourraient affecter sa formation et sa stabilisation, entraînant ainsi la dégradation de la protéine [35]. Une variation particulière, le variant P221R (proline 221 remplacée par une arginine), a été identifiée chez une patiente infertile présentant une

<sup>2</sup> Les monotrèmes sont des mammifères qui pondent des œufs, comme l'ornithorynque par exemple.

<sup>3</sup> Lapin commun.

Identification OMIM	Gène	Variant	Phénotype	Référence
195000	ZP1	c.1708G>A (p.V570M)	Absence de ZP	[54]
195000	ZP1	c.1228C>T (p.R410W)	Absence de ZP	[54]
195000	ZP1	c.507del (p.H170Ifs*52)	Absence de ZP	[54]
195000	ZP1	c.1430 + 1G>T (p.C478X)	Absence de ZP	[54]
195000	ZP1	c.1775-8T>C (p.D592Gfs*29)	Absence de ZP	[54]
195000	ZP1	c.326G>A (p.R109H)	Absence de ZP	[27]
195000	ZP1	c.1260C>G (p.Y420X)	SFV	[55]
195000	ZP1	c.874C>T (p.Q292*)	Absence de ZP	[56]
195000	ZP1	c.1127_1128delCT (p.A376GTer386)	Absence de ZP	[56]
195000	ZP1	c.199G>T (p.E67Ter)	SFV	[51]
195000	ZP1	c.247T>C (p.W83R)	Anomalies morphologiques ovocytaires	[33]
195000	ZP1	c.1413G>A (p.W471X)	Anomalies morphologiques ovocytaires	[33]
195000	ZP1	c.181>T (p.R61C)	SFV et anomalies ovocytaires	[57]
195000	ZP1	c.1169_1176delTTTTCCCA (p.I390Tfs*16)	SFV et anomalies ovocytaires	[57]
195000	ZP1	c.1510C>T (p.R504Ter)	SFV	[49]
195000	ZP1	c.1014+1G>A	SFV	[49]
195000	ZP1	c.123C>A (p.Y41Ter)	SFV	[49]
195000	ZP1	c.1663C>T (p.R555Ter)	SFV	[49]
195000	ZP1	c.1129_1130del (p.V377LfsTer5)	SFV	[49]
195000	ZP1	c.508del (p.H170IfsTer52)	SFV	[49]
195000	ZP1	c.1573-2A>G	SFV	[49]
195000	ZP1	c.170_174del (p.G57Dfs*9)	Absence de ZP, dégénérescence ovocyttaire et SFV	[58]
195000	ZP1	c.1169_1176delTTTTCCCA (p.I390Tfs*16)	Absence de ZP, dégénérescence ovocyttaire et SFV	[58]
195000	ZP1	c.1097G>A (p.R366Q)	Dégénérescence ovocyttaire	[29]
195000	ZP1	c.1775-3C>A	Défaut de maturation ovocyttaire	[59]
195000	ZP1	c.858C>T	Lyse ovocyttaire	[60]
195000	ZP1	c.1078C>A (p.P360T)	Lyse ovocyttaire	[60]
182888	ZP2	c.1859G>A (p.C620Y)	ZP anormale	[61]
182888	ZP2	c.1421 T>C (p.L474P)	ZP anormale	[61]
182888	ZP2	c.1952G>A (p.R642Q)	SFV	[62]
182888	ZP2	c.1599G>T (p.R533S)	Anomalies morphologiques ovocytaires	[33]
182888	ZP2	c.1696T>C (p.C566R)	Anomalies morphologiques ovocytaires	[33]
182888	ZP2	c.1115G>C (p.C372S)	Absence de ZP ou ZP amincie	[54]
182888	ZP2	c.1691_1694dup (p.C566Wfs*5)	ZP amincie	[32]
182888	ZP2	c.G130A (p.G44S)	ZP amincie avec absence de la protéine ZP2	[32]
182888	ZP2	c.1695-2A>G (p.C566Hfs*5)	ZP amincie avec absence de la protéine ZP2	[32]
182888	ZP2	c.1-73G>T	Lyse ovocyttaire	[60]
182888	ZP2	c.747T>C	Lyse ovocyttaire	[60]
182889	ZP3	c.763C>G (p.R255G)	Absence de ZP	[54]
182889	ZP3	c.518C>G (p.S173C)	SFV et ZP anormale	[63]
182889	ZP3	c.400G>A (p.A134T)	Absence de ZP	[27]
182889	ZP3	c.565_579del (p.T189_G193del)	SFV	[35]
182889	ZP3	c.91G>A (p.G31R)	Lyse ovocyttaire	[60]
613514	ZP4	c.3 G>C (p.M1?/)	Endométriose ovarienne	[26]
613514	ZP4	c.1298C>T (p.A433 V)	Endométriose ovarienne	[26]
613514	ZP4	c.T114G (p.C223G)	SOPK	[64]
613514	ZP4	c.1216T>C	Lyse ovocyttaire	[60]

**Tableau 1. Polymorphismes des gènes ZP et phénotypes associés.** ZP : zone pellucide ; SFV : syndrome du follicule vide ; SOPK : syndrome des ovaires polykystiques.

zone pellucide anormale morphologiquement [36]. Cette mutation, qui affecte un résidu situé à côté des brins  $\beta$  de ZP-C, pourrait déstabiliser la formation de dimères de ZP3 [16]. Notons que les souris *Zp3* KO sont stériles [9] et que l'absence de ZP3 semble empêcher la formation d'une matrice extracellulaire, malgré la présence de ZP1 et ZP2 [37].

### Le gène *ZP4*

Le gène *ZP4* est situé sur le chromosome 1 (1q43). Il contient 12 exons et code un polypeptide de 540 acides aminés. Les mutations de *ZP4* sont associées à une zone pellucide anormale et à une infertilité [38]. Une cinquantaine de polymorphismes conduisant à des codons « stop » prématurés ont été décrits dans la région codante de *ZP4* (*genome aggregation database* [39]). La fréquence des individus porteurs d'au moins une de ces mutations conduisant à une perte de fonction de *ZP4* est d'environ 0,3 % dans la population analysée [40]. Chez le lapin, la perte de *ZP4* conduit à la formation d'une zone pellucide plus fine et irrégulière. Contrairement à la femme, les lapines mutées ne présentent pas d'anomalies d'ovulation ou de fécondation, ni des premiers stades de développement embryonnaire, mais elle sont néanmoins hypofertiles [40].

### Infertilité et zone pellucide

#### L'endométriase

Chez les patientes présentant une infertilité associée à l'endométriase, la qualité des ovocytes et celle de l'embryon peuvent être compromises. Dans le cadre de la FIV, les nombres d'ovocytes récupérés et d'embryons obtenus sont en effet plus faibles chez ces patientes. Malgré un taux d'implantation plus faible, les taux de formation de blastocystes restent cependant inchangés [41]. Ces ovocytes présentent davantage d'anomalies de la zone pellucide [42]. L'éclosion assistée par laser, par amincissement de la zone pellucide, pourrait améliorer les résultats cliniques de FIV, ainsi que les taux d'implantation ou les taux de grossesse en cas d'endométriase [43].

#### Le syndrome des ovaires polykystiques

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) touche environ 15 % des femmes en âge de procréer, avec des phénotypes variables, pouvant être associés à un surpoids, voire une obésité, à une résistance à l'insuline, ou à un diabète de type 2. Dans cette affection, un grand nombre de petits follicules synthétisent une grande quantité d'hormone anti-mullerienne [44]. Parce que ce syndrome est associé à une hyperandrogénie et que les androgènes sont impliqués dans la folliculogénèse, on pourrait supposer que cet environnement hyperandrogène conduit à une zone pellucide anormale. Pourtant, l'analyse de la zone pellucide des ovocytes dans ce cadre n'a révélé aucune différence significative entre les phénotypes de SOPK [45].

#### Les problèmes d'auto-immunité

La zone pellucide est constituée de nombreux types de protéines immunogènes mais, généralement, une tolérance immunitaire se développe, supprimant la production d'auto-anticorps. Des anticorps sont néanmoins retrouvés dans le sérum et surtout dans le liquide

folliculaire. Il ne semble cependant pas qu'il y ait association entre présence de ces anticorps anti-ZP et l'infertilité idiopathique, une infertilité sans cause évidente. Ce sujet reste toutefois discuté [46].

### Le syndrome du follicule vide

Dans le cadre de la FIV, le syndrome du follicule vide (SFV) est défini comme l'échec complet de récupération d'ovocytes après stimulation ovarienne, malgré un développement folliculaire normal et un taux d'estradiol sérique approprié [47]. Ce syndrome survient chez 0,045 à 7 % des patientes recevant un traitement de FIV [48]. Des causes génétiques ont été décrites. Elles incluent des mutations touchant *ZP1*, *ZP2* et *ZP3*, mais aussi le gène codant le récepteur de l'hormone lutéinisante, *LHCGR* (*luteinizing hormone/human chorionic gonadotrophin [LH/hCG] receptor*) [48-52]. Les mutations touchant les gènes *ZP* et le gène *LHCGR* sont à l'origine de phénotypes différents. Chez les patientes présentant une mutation du gène *LHCGR*, les complexes cumulo-ovocytaires (COC), les ovocytes entourés de leurs cellules folliculaires, ainsi que les ovocytes sont absents. Chez les patientes présentant une mutation de gène *ZP*, des COC ont été décrits bien qu'ils ne contiennent pas d'ovocytes ou contiennent des ovocytes dégénérés. Les mutations du gène *LHCGR* altèrent les récepteurs de la LH/hCG et les voies de signalisation qui en dépendent. Cela se traduit par une adhérence étroite des COC à la paroi folliculaire. Les mutations des gènes *ZP* entraîne, quant à eux, l'inhibition de la formation de la zone pellucide, en perturbant les connexions entre les ovocytes et les cellules de la granulosa, ce qui conduit à la dégénérescence des ovocytes et donc à un SFV [51].

### Conclusion

Les études réalisées chez l'être humain et chez la souris ont révélé que les observations faites dans une espèce ne pouvaient être extrapolées à d'autres. Ainsi, chez *Mus musculus*, *Zp4* est un pseudogène. Cette espèce n'est donc pas un modèle animal adéquat pour étudier l'infertilité humaine, en particulier l'infertilité idiopathique. Chez les espèces qui présentent quatre glycoprotéines ZP, la génération d'animaux KO pourrait être informative afin de comprendre la fonctionnalité des différentes protéines, comme pour *ZP4* qui a été identifiée chez les lapins pour son rôle crucial dans le développement de l'embryon mais pas dans la fécondation [40]. Chez l'être humain, les travaux de recherche sur la zone pellucide nécessiteraient la manipulation d'ovocytes et d'embryons préimplantatoires. Cela

soulève cependant des problèmes éthiques, malgré l'importance de ces recherches pour améliorer le diagnostic et le traitement des patientes présentant des mutations dans les gènes codant les glycoprotéines de la zone pellucide qui sont à l'origine d'anomalies ovocytaires et d'une infertilité. Les souris humanisées pourraient alors constituer un modèle d'étude de la structure de la zone pellucide humaine permettant en particulier de comprendre son rôle de barrière d'espèce [53] (→). ◇

(→) Voir la Nouvelle de  
J.C. Weill et C.A. Reynaud, m/s  
n° 11, novembre 2014, page 949

## SUMMARY

### The human zona pellucida: New genetic findings

The Zona Pellucida (ZP) is an ovarian specialized extracellular coat surrounding the oocyte. In human, ZP is composed of four glycoproteins: ZP1, ZP2, ZP3 and ZP4. It regulates sperm binding to the oocyte during fertilization. After fertilization, ZP prevents polyspermy and is important for the protection of the developing embryo and oviductal transport avoiding ectopic implantation. According to the development of sequencing techniques, many mutations have been described in infertile patients. The aim of this review is to synthesize mutations in genes encoding ZP glycoproteins described in humans and their effects on female fertility. ◇

## REMERCIEMENTS

DT est bénéficiaire du programme SCORE (Standing Committee On Research Exchange). Les auteurs remercient Luca Jovine (professeur de biologie structurale, Department of Biosciences and Nutrition, Karolinska Institutet) pour son aide, en particulier pour la réalisation de la Figure 3.

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

- Wassarman PM, Litscher ES. A Bespoke Coat for Eggs. *Current Topics in Developmental Biology* 2016 ; 539–52.
- Gook DA, Edgar DH, Borg J, et al. Detection of zona pellucida proteins during human folliculogenesis. *Hum Reprod* 2007 ; 23 : 394–402.
- Wassarman PM. Zona Pellucida Glycoproteins. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 24285–9.
- Gupta SK. The Human Egg's Zona Pellucida. *Curr Top Dev Biol* 2018 : 379–411.
- Tumova L, Zigo M, Sutovsky P, et al. Ligands and Receptors Involved in the Sperm-Zona Pellucida Interactions in Mammals. *Cells* 2021 ; 10 : 133.
- Jin M, Fujiwara E, Kakiuchi Y, et al. Most fertilizing mouse spermatozoa begin their acrosome reaction before contact with the zona pellucida during in vitro fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 4892–6.
- La Spina FA, Puga Molina LC, Romarowski A, et al. Mouse sperm begin to undergo acrosomal exocytosis in the upper isthmus of the oviduct. *Dev Biol* 2016 ; 411 : 172–82.
- Burkart AD, Xiong B, Baibakov B, et al. Ovastacin, a cortical granule protease, cleaves ZP2 in the zona pellucida to prevent polyspermy. *J Cell Biol* 2012 ; 197 : 37–44.
- Wassarman PM, Litscher ES. Zona Pellucida Genes and Proteins: Essential Players in Mammalian Oogenesis and Fertility. *Genes* 2021 ; 12 : 1266.
- Lewis EI, Farhadifar R, Farland LV, et al. Use of imaging software for assessment of the associations among zona pellucida thickness variation, assisted hatching, and implantation of day 3 embryos. *J Assist Reprod Genet* 2017 ; 34 : 1261–9.
- Clarke HJ. Transzonal projections: Essential structures mediating intercellular communication in the mammalian ovarian follicle. *Mol Reprod Dev* 2022 ; 89 : 509–25.
- Neyroud A-S, Chiechio RM, Moulin G, et al. Diversity of Extracellular Vesicles in Human Follicular Fluid: Morphological Analysis and Quantification. *IJMS* 2022 ; 23 : 11676.
- Louras NN, Chrysinia ED, Baltatzis GE, et al. A common 'aggregation-prone' interface possibly participates in the self-assembly of human zona pellucida proteins. *FEBS Lett* 2016 ; 590 : 619–30.
- Bokhove M, Jovine L. Structure of Zona Pellucida Module Proteins. *Curr Top Dev Biol* 2018 : 413–42.
- Bleil JD, Wassarman PM. Synthesis of zona pellucida proteins by denuded and follicle-enclosed mouse oocytes during culture in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980 ; 77 : 1029–33.
- Dean J. Reassessing the molecular biology of sperm-egg recognition with mouse genetics. *Bioessays* 2004 ; 26 : 29–38.
- Monné M, Jovine L. A Structural View of Egg Coat Architecture and Function in Fertilization. *Biol Reprod* 2011 ; 85 : 661–9.
- Monné M, Han L, Schwend T, et al. Crystal structure of the ZP-N domain of ZP3 reveals the core fold of animal egg coats. *Nature* 2008 ; 456 : 653–7.
- Gahlay G, Gauthier L, Baibakov B, et al. Gamete Recognition in Mice Depends on the Cleavage Status of an Egg's Zona Pellucida Protein. *Science* 2010 ; 329 : 216–9.
- Dilimulati K, Orita M, Yonahara Y, et al. Identification of Sperm-Binding Sites in the N-Terminal Domain of Bovine Egg Coat Glycoprotein ZP4. *IJMS* 2022 ; 23 : 762.
- Fujimori T. Preimplantation development of mouse: A view from cellular behavior: Preimplantation mouse development. *Dev Growth Differ* 2010 ; 52 : 253–62.
- Makalowski W, Boguski MS. Evolutionary parameters of the transcribed mammalian genome: An analysis of 2,820 orthologous rodent and human sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 9407–12.
- Moros-Nicolás C, Chevret P, Jiménez-Movilla M, et al. New Insights into the Mammalian Egg Zona Pellucida. *IJMS* 2021 ; 22 : 3276.
- Izquierdo-Rico MJ, Moros-Nicolás C, Pérez-Crespo M, et al. ZP4 Is Present in Murine Zona Pellucida and Is Not Responsible for the Specific Gamete Interaction. *Front Cell Dev Biol* 2021 ; 8 : 626679.
- Avella MA, Baibakov B, Dean J. A single domain of the ZP2 zona pellucida protein mediates gamete recognition in mice and humans. *J Cell Biol* 2014 ; 205 : 801–9.
- Zou Y, Zhou JY, Guo J-B, et al. Mutation analysis of ZP1, ZP2, ZP3 and ZP4 genes in 152 Han Chinese samples with ovarian endometriosis. *Mut Res* 2019 ; 813 : 46–50.
- Qao Q, Zhao C, Zhang X, et al. Heterozygous mutations in ZP1 and ZP3 cause formation disorder of ZP and female infertility in human. *J Cell Mol Med* 2020 ; 24 : 8557–66.
- Nishimura K, Dioguardi E, Nishio S, et al. Molecular basis of egg coat cross-linking sheds light on ZP1-associated female infertility. *Nat Commun* 2019 ; 10 : 3086.
- Loeuillet C, Dhellemmes M, Cazin C, et al. A recurrent ZP1 variant is responsible for oocyte maturation defect with degenerated oocytes in infertile females. *Clin Genet* 2022 ; 102 : 22–9.
- Huang HL, Lv C, Zhao YC, et al. Mutant ZP1 in Familial Infertility. *N Engl J Med* 2014 ; 370 : 1220–6.
- Lv C, Huang HL, Yi DJ, et al. Mutant Zp1 impedes incorporation of ZP3 and ZP4 in the zona pellucida, resulting in zona absence and female infertility in rats. *Biol Reprod* 2021 ; 104 : 1262–70.
- Dai C, Hu L, Gong F, et al. ZP2 pathogenic variants cause in vitro fertilization failure and female infertility. *Genet Med* 2019 ; 21 : 431–40.
- Yang P, Luan X, Peng Y, et al. Novel zona pellucida gene variants identified in patients with oocyte anomalies. *Fertil Steril* 2017 ; 107 : 1364–9.
- Fahrenkamp E, Algarra B, Jovine L. Mammalian egg coat modifications and the block to polyspermy. *Mol Reprod Dev* 2020 ; 87 : 326–40.
- Chen Y, Wang Z, Wu Y, et al. Case Report: A Novel Heterozygous ZP3 Deletion Associated With Empty Follicle Syndrome and Abnormal Follicular Development. *Front Genet* 2021 ; 12 : 690070.
- Pöykkylä RM, Lakkakorpi JT, Nuojua-Huttunen SH, et al. Sequence variations in human ZP genes as potential modifiers of zona pellucida architecture. *Fertil Steril* 2011 ; 95 : 2669–72.
- Liu C, Litscher ES, Mortillo S, et al. Targeted disruption of the mZP3 gene results in production of eggs lacking a zona pellucida and infertility in female mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 5431–6.
- Wei X, Li Y, Liu Q, et al. Mutations in ZP4 are associated with abnormal zona pellucida and female infertility. *J Clin Pathol* 2022 ; 75 : 201–4.
- Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016 ; 536 : 285–91.
- Lamas-Toranzo I, Fonseca Balvís N, Querejeta-Fernández A, et al. ZP4 confers structural properties to the zona pellucida essential for embryo development. *eLife* 2019 ; 8 : e48904.
- Borges Jr. E, Braga DPAF, Setti AS, et al. Endometriosis Affects Oocyte Morphology in Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles. *JBRA Assist Reprod* 2015 ; 19 : 235–40.

## RÉFÉRENCES

42. Kasapoglu I, Kuspinar G, Saribal S, et al. Detrimental effects of endometriosis on oocyte morphology in intracytoplasmic sperm injection cycles: a retrospective cohort study. *Gynecol Endocrinol* 2018 ; 34 : 206–11.
43. Nada AM, El-Noury A, Al-Inany H, et al. Effect of laser-assisted zona thinning, during assisted reproduction, on pregnancy outcome in women with endometriosis: randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet* 2018 ; 297 : 521–8.
44. Bertho S, Neyroud AS, Brun T, et al. Anti-Müllerian hormone: A function beyond the Müllerian structures. *Morphologie* 2021 ; S1286-0115(21)00251-4.
45. Uk A, Decanter C, Grysole C, et al. Polycystic ovary syndrome phenotype does not have impact on oocyte morphology. *Reprod Biol Endocrinol* 2022 ; 20 : 7.
46. Hasegawa A, Tanaka H, Shibahara H. Infertility and Immunocontraception based on zona pellucida. *Reprod Med Biol* 2014 ; 13 : 1–9.
47. Revelli A, Carosso A, Grassi G, et al. Empty follicle syndrome revisited: definition, incidence, aetiology, early diagnosis and treatment. *Reprod BioMed Online* 2017 ; 35 : 132–8.
48. Yuan P, He Z, Zheng L, et al. Genetic evidence of 'genuine' empty follicle syndrome: a novel effective mutation in the LHCGR gene and review of the literature. *Hum Reprod* 2017 ; 32 : 944–53.
49. Dai C, Chen Y, Hu L, et al. ZP1 mutations are associated with empty follicle syndrome: evidence for the existence of an intact oocyte and a zona pellucida in follicles up to the early antral stage. A case report. *Hum Reprod* 2019 ; dez174.
50. Chen C, Xu X, Kong L, et al. Novel homozygous nonsense mutations in LHCGR lead to empty follicle syndrome and 46, XY disorder of sex development. *Hum Reprod* 2018 ; 33 : 1364–9.
51. Wang J, Yang X, Sun X, et al. A novel homozygous nonsense mutation in zona pellucida 1 (ZP1) causes human female empty follicle syndrome. *J Assist Reprod Genet* 2021 ; 38 : 1459–68.
52. Yang P, Chen T, Liu Y, et al. The critical role of ZP genes in female infertility characterized by empty follicle syndrome and oocyte degeneration. *Fertil Steril* 2021 ; 115 : 1259–69.
53. Weill JC, Reynaud C-A. Des souris toujours plus humanisées pour de nouvelles applications thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 949–51.
54. Zhou Z, Ni C, Wu L, et al. Novel mutations in ZP1, ZP2, and ZP3 cause female infertility due to abnormal zona pellucida formation. *Hum Genet* 2019 ; 138 : 327–37.
55. Zou T, Xi Q, Liu Z, et al. A Novel Homozygous Nonsense Mutation in ZP1 Causes Female Infertility due to Empty Follicle Syndrome. *Reprod Sci* 2022 ; 29 : 3516–20.
56. Zhang Z, Shangguan T, Li Y, et al. [Loss of zona pellucida in oocytes due to compound heterozygous variants of ZP1 gene]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2020 ; 37 : 789–91.
57. Yuan P, Li R, Li D, et al. Novel mutation in the ZP1 gene and clinical implications. *J Assist Reprod Genet* 2019 ; 36 : 741–7.
58. Sun L, Fang X, Chen Z, et al. Compound heterozygous ZP1 mutations cause empty follicle syndrome in infertile sisters. *Hum Mut* 2019 ; 40 : 2001–6.
59. Okutman Ö, Demirel C, Tülek F, et al. Homozygous Splice Site Mutation in ZP1 Causes Familial Oocyte Maturation Defect. *Genes* 2020 ; 11 : 382.
60. Ferré M, Amati-Bonneau P, Morinière C, et al. Are zona pellucida genes involved in recurrent oocyte lysis observed during in vitro fertilization? *J Assist Reprod Genet* 2014 ; 31 : 221–7.
61. Hou M, Zhu L, Jiang J, et al. Novel Heterozygous Mutations in ZP2 Cause Abnormal Zona Pellucida and Female Infertility. *Reprod Sci* 2022 ; 29 : 3047–54.
62. Shen Y, Guo J, Zhang X, et al. Identification of a heterozygous variant of ZP2 as a novel cause of empty follicle syndrome in humans and mice. *Hum Reprod* 2022 ; 37 : 859–72.
63. Zhang D, Zhu L, Liu Z, et al. A novel mutation in ZP3 causes empty follicle syndrome and abnormal zona pellucida formation. *J Assist Reprod Genet* 2021 ; 38 : 251–9.
64. Meczekalski B, Nawrot R, Nowak W, et al. Study on the zona pellucida 4 (ZP4) gene sequence and its expression in the ovaries of patients with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2015 ; 38 : 791–7.

**TIRÉS À PART**  
C. Ravel



# PsyS

Une histoire inédite  
de la santé mentale

Jeffrey A. Lieberman

Avec la collaboration d'Ogi Ogas

Traduction : Aurélie Bretel

edpsciences

Inserm

ISBN : 978-2-7598-2725-1  
440 pages - 24 € TTC

Enfin disponible en français

## L'histoire de la santé mentale par Jeffrey A. Lieberman

Qu'est-ce que la maladie mentale ?

Ce livre captivant apporte une perspective historique et des réponses à cette question. Il nous transporte dans une aventure médicale étonnante, avec des études de cas fascinantes et des portraits des sommités dans ce domaine, de Sigmund Freud à Éric Kandel.

Ce récit passionnant est écrit avec l'autorité d'un expert, mais avec l'humilité d'un médecin qui a appris à traiter les formes les plus profondes et mystérieuses des maladies mentales. Le Dr Jeffrey A. Lieberman a réalisé avec ce livre une histoire magistrale des coulisses de la psychiatrie – et, par extension, de la condition humaine.

En vente sur [laboutique.edpsciences.org](http://laboutique.edpsciences.org)