

Nutrition et métabolisme : quel lien avec le développement folliculaire et embryonnaire chez les mammifères ?

J. DUPONT¹, R.J. SCARAMUZZI^{1,2}, P. FROMENT¹

¹ PRC, CNRS, IFCE, INRA, Université de Tours, 37380, Nouzilly, France

² Department of Comparative Biological Sciences, Royal Veterinary College, Hawkshead Lane 8 South Mimms, Hertfordshire AL9 7TA, Royaume-Uni

Courriel : joelle.dupont@tours.inra.fr

Les facteurs nutritionnels peuvent agir directement ou indirectement à l'aide de certaines hormones du métabolisme sur le développement folliculaire, la qualité ovocytaire ainsi que sur le développement embryonnaire. À la fois en production animale et en clinique humaine, une meilleure connaissance du rôle de la nutrition sur la reproduction permettrait de restaurer certaines infertilités ou de proposer des stratégies nutritionnelles afin d'augmenter les chances de concevoir.

Un effet de l'alimentation sur la reproduction humaine a été décrit il y a plus de 2 000 ans par Hippocrate qui avait noté que les femmes servantes minces étaient plus fertiles que leurs employeurs romains suralimentés et sédentaires. Plus récemment, au cours des XIX et XX^{ème} siècles, de nombreux auteurs ont observé des relations entre l'état nutritionnel et / ou le régime alimentaire et la fertilité ou l'infertilité chez les ovins, les bovins, les rongeurs et les primates. En médecine, un lien entre excès énergétique (obésité), diabète et la pathologie de l'ovaire a été établi en démontrant des associations entre l'insulinorésistance et le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) qui touche entre 6 et 10% des femmes en âge de procréer (Puder et Pralong 2009). Ce syndrome, qui conduit à une baisse de fertilité, est une dérégulation du métabolisme, associée à un déséquilibre des hormones de la reproduction. De plus, les femmes atteintes de SOPK ont de multiples anomalies lipidiques, y compris des niveaux élevés d'Acides Gras Non Estérifiés (AGNE) et de cholestérol plasmatique, des problèmes qui sont aussi fréquemment associés à une réduction de la fertilité en post-partum chez la vache laitière haute productrice (Leroy *et al* 2005, Trottier *et al* 2012). Cependant, dans ce dernier modèle, la baisse de fertilité en post-partum est associée à un bilan énergétique négatif et non à un excès de calories conduisant à une obésité (Leroy *et al* 2005, Trottier *et al* 2012). Dans l'ovaire de femme, le SOPK est caractérisé par une augmentation du nombre de follicules, la maturation fol-

liculaire préantrale est arrêtée et une perturbation de la sélection du follicule ovulatoire est observée. La boulimie et l'anorexie mentale sont deux autres pathologies humaines qui ont des conséquences sur les fonctions de reproduction.

Chez les bovins laitiers, de faibles concentrations d'insuline dans la période post-partum sont associées à une fertilité réduite et chez les ovins une disponibilité accrue de substrats énergétiques est associée à une augmentation de la prolificité. En effet, chez la brebis une augmentation à court terme de la disponibilité de l'énergie alimentaire durant les derniers jours de la phase lutéale est capable de stimuler les étapes finales de la folliculogenèse conduisant à un taux d'ovulation accru et donc à une augmentation du taux de naissance gémellaire. Cet effet est associé à une augmentation du nombre de follicules ovariens sans changements dans les concentrations circulantes de FSH et de LH suggérant que les influences alimentaires sur la reproduction peuvent aussi agir au niveau de l'ovaire. Ces données et beaucoup d'autres observations ont conduit à déterminer les mécanismes physiologiques et moléculaires mis en jeu dans les relations nutrition-reproduction afin d'améliorer la fertilité non seulement des animaux de rente mais aussi de l'Homme. Les composants alimentaires impliqués comprennent les lipides, les protéines et hydrates de carbone, en particulier le glucose et les minéraux.

Cette synthèse fait le point sur les connaissances actuelles relatives aux effets

des nutriments et de certaines hormones du métabolisme sur le développement des follicules ovariens, la qualité ovocytaire et le développement précoce de l'embryon en prenant pour exemple différentes espèces animales d'intérêt agronomique ou modèle (souris) et l'espèce humaine. Les différentes étapes du développement folliculaire et embryonnaire ne seront pas présentées ici, elles ont été décrites dans des revues antérieures (Monniaux *et al* 2009, Scaramuzzi *et al* 2011).

1 / Effets des nutriments : lipides, glucose et acides aminés

La nutrition a un impact sur l'environnement folliculaire et par conséquent sur la qualité ovocytaire. En effet, elle modifie l'environnement à la fois biochimique et hormonal du liquide folliculaire. Dans ce paragraphe nous évoquerons l'effet des lipides, du glucose et des acides aminés sur le follicule ovarien et l'embryon (figure 1).

1.1 / Les lipides

Les fonctions des lipides sont nombreuses (substrats énergétiques, molécules de signalisation, composants des membranes cellulaires). Il existe trois groupes majeurs de lipides :

- Le cholestérol, qui est un composant des membranes cellulaires mais aussi le précurseur des hormones stéroïdiennes ;

- Les phospholipides, qui sont des constituants majeurs des membranes cellulaires, sont aussi source d'acides gras nécessaires pour la synthèse de molécules inflammatoires d'eicosanoïdes comprenant les prostaglandines, le thromboxane et les leucotriènes ;

- Les triglycérides appelés aussi acides gras neutres qui sont des réserves hautement énergétiques.

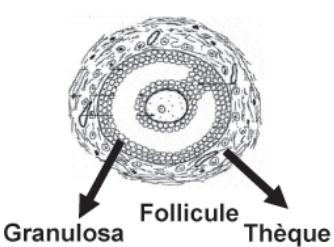
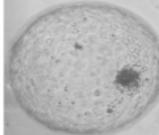
Les propriétés et la fonction spécifique des acides gras sont largement dépendantes de la longueur de la chaîne hydrocarbonée et du degré de saturation (Mattos *et al* 2000). Les acides gras saturés ne contiennent pas de double liaison dans leur chaîne carbonée alors que les acides

gras insaturés en contiennent. Ils peuvent être divisés en acides gras monoinsaturés (une seule double liaison) ou polyinsaturés (AGPI) (deux ou plusieurs doubles liaisons), dépendant du nombre de double liaisons. Les acides gras insaturés sont classés en différentes familles selon la position et le nombre de doubles liaisons, les deux principales familles étant les acides gras polyinsaturés n-3 (oméga 3) et n-6 (oméga 6). Pour rappel, la nomenclature abrégée des acides gras permet de classer simplement ceux-ci, en mentionnant le nombre d'atomes de carbone, le nombre de doubles liaisons et la position de la première double liaison à partir du carbone terminal. Par exemple, la nomenclature de l'acide linolénique est C18:3 ω3 ou le 18 indique le nombre de

carbone, le 3 indique le nombre d'insaturations et le ω3 indique la position de la première insaturation à partir du méthyl terminal.

Chez la vache laitière, une supplémentation en lipides était auparavant effectuée pour couvrir le fort besoin en énergie pour la production de lait après vêlage. Cependant, plus récemment il a été montré que les lipides alimentaires (AGPI n-3) pouvaient affecter les paramètres de reproduction et plus précisément augmenter *i)* la concentration de progestérone dans le plasma et la durée de vie du corps jaune (Hawkins *et al* 1995), *ii)* le nombre et le diamètre des follicules ovariens (Thomas *et al* 1997), *iii)* le taux de réussite à la première insémination artificielle.

Figure 1. Exemples d'effet *in vivo* et/ou *in vitro* des lipides, du glucose et des acides aminés sur les cellules ovariennes, l'ovocyte et l'embryon.

	 Granulosa Follicule Thèque	 Ovocyte	 Embryon
Lipides	<ul style="list-style-type: none"> - AGPI ↑ croissance folliculaire, concentration plasmatique et liquide folliculaire en cholestérol et stéroïdes <i>in vivo</i> (vache) 	<ul style="list-style-type: none"> - AGPI ↑ nombre d'ovocyte et qualité ovocytaire (vache, brebis) - Substrats énergétiques importants après β-oxydation pour méiose et maturation cytoplasmique (vache, souris, porc, homme) 	<ul style="list-style-type: none"> - AGPI ↑ développement <i>in vitro</i> embryonnaire précoce (vache)
Glucose	<ul style="list-style-type: none"> - Administration <i>in vivo</i> conduit à une ↑ de la sécrétion lutéale de progestérone (brebis) - ↑ entrée cholestérol dans cellules ovariennes (vache et brebis) - Forte concentration de glucose ↓ de production <i>in vitro</i> des stéroïdes par cellules de la granulosa (rat) 	<ul style="list-style-type: none"> - Rôle important des cellules du cumulus dans l'apport du glucose vers l'ovocyte - Forte teneur en glucose retarde la reprise de méiose (souris diabétiques) 	<ul style="list-style-type: none"> - Rôle inhibiteur dans stades précoces de développement et stimulateur dans stades tardifs - Forte teneur en glucose ↓ du développement embryonnaire
Acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> - Chez les ruminants, un régime haut en protéines conduit à ↑ concentration en urée et ammoniac dans plasma et liquide folliculaire et à une ↓ du diamètre folliculaire et à l'activité aromatase des cellules 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>In vitro</i>, les acides aminés améliorent la maturation cytoplasmique et l'élosion des ovocytes (souris, vache, hamster, chien, lapin, singe). - La glycine régule le volume de l'ovocyte au cours de l'ovulation (souris) 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>In vitro</i>, les acides aminés améliorent le développement (rat, vache, souris) - Chez bovin, régime hyperprotéique conduit <i>in vivo</i> à une ↑ urée plasmatique qui ↓ le développement embryonnaire

nd: non déterminé, ↑: augmente, ↓: diminue

ficielle, mais aussi modifier l'environnement utérin (Mattos *et al* 2000). Par exemple, un régime enrichi en acide gras à longue chaîne augmente le nombre de follicules de classe moyenne (6–9mm) ainsi que le diamètre du follicule pré-ovulatoire (Lucy *et al* 1991, Staples *et al* 1998). Cependant, une récente revue indique que les effets des AGPI n-3 sur la fertilité des vaches laitières ne sont pas toujours très clairs et dépendent de plusieurs paramètres (le ou les acides gras utilisés, le régime et le taux de supplémentation) (Leroy *et al* 2014). Chez la souris, des travaux montrent qu'une supplémentation en lipides (AGPI n-3) peut conduire à des effets néfastes sur la fertilité (Wakefield *et al* 2008). Par exemple, un régime hypercalorique enrichi en AGPI n-3 pendant plusieurs semaines induit une élévation de l'apoptose dans les follicules conduisant à l'obtention d'ovocytes plus petits avec un retard de maturation ne permettant pas un développement embryonnaire correct (Wakefield *et al* 2008). Ces différences d'effet des AGPI n-3 entre la vache et la souris peuvent en partie s'expliquer par des quantités de ces AGPI n-3 ingérées beaucoup plus faibles chez la vache, par rapport aux autres acides gras dans le régime alimentaire et à d'autres sources d'énergie.

a) Comment les lipides peuvent affecter le développement du follicule ovarien et de l'embryon ?

Des changements métaboliques observés dans le sérum incluant des modifications du cholestérol sont reflétés dans le liquide folliculaire et peuvent avoir des effets directs sur la qualité ovocytaire et par conséquent sur le développement embryonnaire (Leroy *et al* 2004). Chez les mammifères et en particulier chez les ruminants, la consommation d'acides gras polyinsaturés est corrélée avec une augmentation des concentrations plasmatiques de différentes hormones du métabolisme, GH (« Growth Hormone », hormone de croissance), insuline, IGF-1 qui sont des hormones connues pour agir au niveau des cellules ovarianes, en modulant leur prolifération mais aussi leur différenciation et leur sécrétion de stéroïdes comme décrit plus loin dans cet article. De plus, les AGPI des familles n-3 et n-6, tels que les acides linoléique (18:2n-6) et linolénique (18:3n-3) sont des précurseurs respectifs des acides arachidonique (20:4n-6) et eicosapentaénoïque (20:5n-3), qui sont essentiels pour la synthèse des prostaglandines (Robinson *et al* 2002). Ces dernières jouent un rôle clé dans les fonctions de reproduction (stéroïdogenèse et lutéolyse, contraction de l'utérus...). Les AGPI alimentaires peuvent donc conduire à des altérations de synthèse et de sécrétion des prostaglandines et par

conséquent avoir des effets importants sur la survie précoce de l'embryon (Robinson *et al* 2002, Marei *et al* 2009).

b) Les lipides jouent un rôle important dans la maturation ovocytaire et le développement embryonnaire : importance de la bêta oxydation et des mitochondries

Les taux de lipides dans les ovocytes de mammifère varient considérablement entre les espèces (4 ng/ovocyte de souris, 63 ng/ovocyte de vache et 161 ng/ovocyte de porc). Les lipides de l'ovocyte sont constitués de 25 à 29% de phospholipides et 28 à 46% de triglycérides. Ces pourcentages varient aussi avec le stade de maturation de l'ovocyte (McEvoy *et al* 2000). Au sein des ovocytes immatures, les acides gras saturés représentent 45 à 55% de l'ensemble des acides gras avec 27 à 34% de monoinsaturés et 11 à 21% d'AGPI (McEvoy *et al* 2000). Les acides gras palmitique, oléique et stéarique sont les acides gras les plus abondants dans les ovocytes immatures de vache, de brebis et de porc (McEvoy *et al* 2000). Des études de cryopréservation montrent que la composition en acides gras est un indicateur important de la qualité ovocytaire (Zeron *et al* 2001). De plus certains travaux indiquent que l'addition d'acide gras non estérifiés dans les milieux de culture peut retarder la maturation ovocytaire et par conséquent la fécondation et le développement de l'embryon (Jorritsma *et al* 2004). Les stocks de triglycérides diminuent fortement au cours de la maturation *in vitro* chez le porc et la vache. Les triglycérides sont oxydés via le cycle de Krebs. Cette bêta-oxydation est stimulée par les facteurs de croissance comme l'IGF-1, EGF (Epidermal Growth Factor) ou l'insuline (Ferguson et Leese 1999).

La bêta-oxydation de lipides dans l'ovocyte est importante pour la production d'énergie et la synthèse protéique qui sont essentielles pour la méiose et la maturation cytoplasmique (Sturmy et Leese 2003). Comme décrit dans différentes cellules de l'organisme, les acides gras sont transportés dans l'ovocyte via différents transporteurs protéiques : les translocases d'acides gras (FAT), les protéines de transport d'acides gras spécifique (FATP) et les protéines de liaison plasmatiques aux acides gras (FABP). Une fois à l'intérieur de la cellule les acides gras sont transportés vers la membrane mitochondriale externe à l'aide des CPT (Carnitine-palmitoyl Transferase), puis à travers la membrane interne de la mitochondrie. La bêta-oxydation va libérer des acétyl-coA à partir des acides gras, l'acétyl coA va alors entrer dans le cycle de Krebs pour produire de l'ATP. Comparés aux autres nutriments, les acides gras libèrent plus d'ATP par la bêta-oxydation et sont donc plus énergétiques.

La CPT est une enzyme clé dans le contrôle de la vitesse de la bêta-oxydation. En effet, une inhibition de la CPT1 conduit à une diminution de la viabilité des embryons et un blocage de la reprise de méiose lors de la maturation *in vitro* chez la souris (Dunning *et al* 2010). De plus, des études menées également chez la souris montrent que la supplémentation *in vitro* de L-carnitine (un co-facteur de CTP1) dans le milieu de culture des follicules améliore la bêta-oxydation mais aussi le taux de développement des embryons au stade blastocyste (Dunning *et al* 2011). De même chez le porc, la supplémentation du milieu de maturation en L-carnitine augmente la concentration en glutathion (un antioxydant) et favorise le développement des ovocytes (You *et al* 2012).

L'importance de la bêta-oxydation des acides gras a également été démontrée dans la maturation nucléaire des ovocytes de souris, de vache et de porc (Paczkowski *et al* 2013, Dunning *et al* 2014). Chez la femme, une perturbation de l'activité mitochondriale et du stress oxydatif observée en cas d'obésité a été également évoquée pour expliquer l'altération de la qualité ovocytaire observée dans ces conditions (Grindler et Moley 2013). En effet, la quantité et la distribution des mitochondries jouent un rôle clé dans les compétences fonctionnelles ovocytaires. Comme les mitochondries sont transmises par la mère et qu'aucune réplication ne survient avant l'implantation, toute déficience de ces organites peut affecter négativement la capacité de développement d'un embryon. Les mitochondries ovocytaires des femmes obèses ont un potentiel membranaire augmenté, une répartition inhomogène dans l'ooplasme, et génèrent plus de « Reactive Oxygene Species » (ROS) (Grindler et Moley 2013). L'excès de stress oxydant perturbe la régulation de la génération des mitochondries et augmente le nombre de copies d'ADN mitochondrial qui peut aussi être altéré. Ces ovocytes ont donc moins de chance d'évoluer vers la formation d'un blastocyste par rapport aux souris non obèses. Ces données montrent l'importance d'une fonction mitochondriale normale pour un développement embryonnaire optimal.

Outre leur rôle comme source énergétique, les lipides sont aussi importants dans la signalisation cellulaire de l'ovocyte. Le DAG (Diacyl glycerol), généré par l'hydrolyse des lipides et la protéine kinase C (PKC), jouent un rôle clé dans la régulation du cycle cellulaire, la survie cellulaire, la reprise de méiose de l'ovocyte et son développement. Les acides gras se lient à des récepteurs nucléaires et à des facteurs de transcription comme les PPAR (« Peroxisome-proliferator activated receptors ») et

SREBP (« Sterol regulatory element-binding protein »). PPARs et SREBP ont été identifiés dans les ovocytes de différentes espèces et sont associés au développement de l'embryon et à la fertilité (pour revue Dupont *et al* 2008, Sieber et Spradling 2015).

1.2 / Le glucose et les carbohydrates

Dans la majorité des espèces animales, le glucose représente la principale source d'énergie pour les cellules de l'organisme. Dans des conditions d'aérobiose le glucose est converti en CO_2 et H_2O avec la libération de 36 molécules d'ATP. La glycolyse qui est l'étape initiale du métabolisme du glucose, n'implique pas d' O_2 . Chez la vache laitière, le rumen, le foie et la glande mammaire sont les organes majeurs impliqués dans le métabolisme du glucose. Les microorganismes du rumen fermentent les carbohydrates pour produire de l'énergie sous forme d'acides gras volatils (acides acétique, propionique et butyrique principalement). Ces acides gras produits dans le rumen sont absorbés par la paroi du rumen et transportés *via* le système sanguin porte vers le foie où la majeure partie du propionate est convertie en glucose (Boland *et al* 2001).

L'entrée de glucose dans la cellule se fait à l'aide de deux types de transporteurs de glucose :

- Les transporteurs Na^+ dépendants (non régulés par l'insuline, présents principalement dans le tractus intestinal et le rein) qui assurent un transport actif ;
- Les transporteurs connus sous le nom de GLUTs au nombre d'environ une douzaine qui permettent un transport facilité (par diffusion passive).

a) Cellules folliculaires

Des études chez la brebis montrent que l'administration de glucose *in vivo* (injection intraveineuse) induit une augmentation de l'insulinémie conduisant à des altérations de la fonction ovarienne et à une augmentation de la sécrétion lutéale de progestérone (Rubio *et al* 1997). Cependant, les études *in vivo* sur les effets propres du glucose sont difficiles à interpréter parce que ceux-ci sont toujours liés à des modifications des concentrations plasmatiques de l'insuline. L'étude de Rabiee et Lean (2000) suggère que le glucose peut stimuler l'entrée de cholestérol dans les cellules ovarien, mais que le cholestérol peut aussi stimuler l'entrée de glucose dans les mêmes cellules.

Le glucose, et non les lipides, est la source majeure d'énergie pour l'ovaire. Il est principalement impliqué dans le développement et le fonctionnement du

corps jaune (Rabiee et Lean 2000). La supplémentation en glucose est essentielle pour la maturation ovocytaire et la fécondation *in vitro*. Des taux glycolytiques élevés ont été associés à une amélioration de la compétence de l'ovocyte au développement (Downs et Utecht 1999, Krisher et Bavister 1999). Au sein de l'ovaire, au moins trois transporteurs de glucose (GLUT1, 3 et 4) ont été identifiés au sein du follicule chez le bovin (Nishimoto *et al* 2006). Chez l'Homme et la souris, les messagers de GLUT1 sont présents dans les ovocytes, cependant ces transporteurs ne semblent fonctionner seulement qu'après la fécondation (Pantaleon *et al* 2001). Ceci a été confirmé par des études de Boland *et al* (2001), qui ont rapporté qu'une faible quantité de glucose était incorporée par les ovocytes immatures et que l'incorporation de glucose augmentait entre le stade une cellule et le stade blastocyste. Les cellules du cumulus entourant l'ovocyte sont principalement responsables de l'absorption du glucose effectuée par les complexes cumulo-ovocytaires (Downs et Utecht 1999). Des études chez la brebis montrent la présence de GLUT1 et GLUT4 dans les cellules folliculaires (cellules de la granulosa et de la théque). Les concentrations de ces transporteurs de glucose ne sont pas affectées par les traitements nutritionnels et ne sont pas corrélées au diamètre du follicule (Williams *et al* 2001).

b) Embryon

Avant l'activation génomique (moment où l'embryon commence à synthétiser son propre ARN et ses propres protéines) qui est initiée à un moment de la période préimplantatoire variable selon les espèces, l'embryon utilise surtout le pyruvate et le lactate, le glucose ne semble pas *a priori* indispensable. Après l'activation du génome embryonnaire, le glucose devient un métabolite clé nécessaire à la synthèse des lipides, des acides aminés et du matériel nucléaire. Il se transforme en glucose-6-phosphate, soit pour entrer dans la voie de la glycolyse avec pour résultat final la production de deux molécules de pyruvate et d'eau, soit pour emprunter la voie des Pentoses Phosphate (PPP) avec comme résultat final la production d'une molécule de ribose et du CO_2 (le ribose étant le substrat principal pour la synthèse des nucléotides).

Contrairement à l'ovocyte, des travaux montrent que l'expression des GLUTs varie en fonction du stade du développement embryonnaire. GLUT1 est présent tout au long du développement pré-implantatoire alors que GLUT2 est détectable seulement au stade 8 cellules. Son rôle dans le transport du glucose est incertain. GLUT3 est présent à partir du

stade 4 cellules et est essentiel pour la formation du blastocyste chez la souris (Pantaleon *et al* 2001). GLUT8 est détecté dans le blastocyste pre-implantatoire de souris et est responsable de l'entrée du glucose dépendante de l'insuline. GLUT8 joue un rôle primordial dans la survie de l'embryon (Pinto *et al* 2002). Chez la vache, GLUT1, 3 et 8 sont présents à des stades précoces de développement de l'embryon, alors que GLUT2 et 4 sont présents seulement à partir du stade blastocyste (Augustin *et al* 2001). Le rôle du glucose pour l'embryon change en fonction de son stade de développement. En effet, s'il a plutôt un rôle inhibiteur dans les stades précoces de développement, celui-ci devient stimulateur dans les stades tardifs de développement suite à l'activation du génome (Pantaleon *et al* 2001). La plupart des études rapportent que la supplémentation de glucose dans des milieux de culture d'embryons a des effets stimulateurs sur la formation du blastocyste *in vitro*, à la fois en présence et en absence de sérum (Gomez et Diez 2000). Le glucose n'est pas seulement nécessaire à la production d'énergie, mais aussi à la synthèse de triglycérides et de phospholipides ainsi qu'à la fourniture de précurseurs pour la formation de sucres complexes.

1.3 / Les acides aminés

Les acides aminés sont des éléments nécessaires dans les apports nutritionnels, et ils sont obtenus à partir des protéines alimentaires. Toutefois les ruminants, contrairement aux autres espèces, sont capables de synthétiser eux même des acides aminés en utilisant des sources azotées non protéiques, telles que l'urée à l'aide du microbiote du système gastrointestinal, qui peut aussi être recyclée pour éviter les pertes protéiques. Comme le glucose, les acides aminés sont essentiels pour l'ovocyte et plus tard pour le développement embryonnaire. Outre leur rôle majeur comme source d'énergie, les acides aminés agissent aussi comme des osmolytes, des régulateurs du pH, des protecteurs de la viabilité cellulaire et des substrats pour la synthèse des protéines et des acides nucléiques (Lane 2001).

a) Cellules folliculaires

Chez le bovin, lorsque les acides aminés sont ajoutés au milieu de culture, il a été observé *in vitro* une meilleure maturation cytoplasmique des ovocytes (Lim *et al* 1999). Chez la souris, les acides aminés favorisent également la croissance et l'éclosion *in vitro* des ovocytes (Gardner et Leese 1988). Cependant, *in vivo*, un régime haut en énergie et en protéines chez les ruminants peut conduire à une augmentation des concentrations en urée et en ammoniac dans le plasma et le liquide folliculaire. Les teneurs en

urée et en ammoniac sont négativement corrélées avec la qualité ovocytaire, le diamètre folliculaire et l'activité aromatase des cellules folliculaires (Boland *et al* 2001). Les acides aminés sont transportés dans la cellule à l'aide de systèmes de transport spécialisés en fonction de l'acide aminé et du besoin ou non d'un co-transport Na^+ . Chez la souris, même si le rôle des acides aminés a été plus étudié chez les embryons pré-implantatoires que dans les ovocytes, la présence de nombreux systèmes de transport dans l'ovocyte montre la capacité de cette cellule à utiliser les acides aminés à partir du milieu extérieur (Pelland *et al* 2009). Toutefois, dans cette espèce, il semble que les cellules du cumulus soient importantes pour le transport des acides aminés dans l'ovocyte (Eppig *et al* 2005). Là encore, il y a donc une coopération métabolique entre les cellules folliculaires et l'ovocyte pour le transport d'acides aminés. La glutamine est un substrat énergétique efficace pour soutenir le développement de l'ovocyte. En effet, sa supplémentation dans les milieux de culture favorise la maturation de l'ovocyte chez la vache, le hamster, le chien, le lapin et le singe. Enfin, chez la souris, la glycine est impliquée dans la régulation du volume de l'ovocyte au cours de l'ovulation (Zhou *et al* 2013).

b) Embryon

En général, les acides aminés ont des effets positifs sur le développement *in vitro* de l'embryon de différentes espèces (rat, vache, souris, Van Winkle 2001). Les embryons pré-implantatoires possèdent des transporteurs d'acides aminés originaux qui permettent de maintenir un pool d'acides aminés endogènes. Cependant, des concentrations excessives d'acides aminés ont des effets négatifs sur le développement embryonnaire chez la vache observés par une réduction des taux de clivages. Chez le bovin, selon De Wit *et al* (2001), des concentrations élevées en urée n'ont pas d'effet délétère sur le développement de l'embryon. Toutefois d'autres auteurs ont observé que des concentrations élevées en urée pouvaient altérer l'environnement intratutérin, conduisant à des effets néfastes sur le développement de l'embryon (McEvoy *et al* 1997) et en conséquence augmenter la mortalité embryonnaire précoce (MEP) (Boland *et al* 2001). Chez la vache, la MEP consiste en la mort de l'embryon avant l'émission des signaux embryonnaires de maintien du corps jaune, soit avant le 16^{ème} jour de gestation.

2 / Effets des hormones du métabolisme

Des changements de courte durée dans l'apport alimentaire sur l'activité

de l'ovaire peuvent être corrélés avec des variations de concentrations circulantes d'hormones métaboliques comme l'insuline, le facteur de croissance (IGF-1), l'hormone de croissance (GH), les hormones thyroïdiennes (la triiodothyronine (T3) et la thyroxine (T4)), la ghréline, l'apeline et les adipocytokines (leptine, adiponectine, résistine). Plusieurs effets de ces hormones ont été décrits sur les cellules ovarianes et l'embryon (figure 2).

2.1 / Insuline et IGF-1 (« *Insulin-like Growth Factor 1* »)

L'insuline est une hormone pancréatique produite par les cellules bêta des îlots de Langherans. Sa libération est induite par l'augmentation postprandiale de la glycémie. Les organes cibles de l'insuline sont les tissus périphériques (muscle, tissu adipeux) et le foie. L'insuline joue un rôle majeur dans la régulation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique et contrôle aussi le transport des acides aminés, la synthèse de glycogène, la transcription des gènes, la synthèse de l'ADN et la synthèse et la dégradation protéique.

L'IGF-1 est un polypeptide partageant 50% d'homologie de séquence avec la pro-insuline. Le foie est la source majeure de l'IGF-1 circulant qui agit comme un facteur endocrine essentiel pour une croissance postnatale normale. L'IGF-1 est aussi produit par d'autres tissus incluant l'ovaire et plus précisément les cellules lutéinisées de la granulosa et les cellules du corps jaune (cellules lutéales). L'IGF-1 agit alors comme un facteur ovarien autocrine et paracrine (Baker *et al* 1996). Les aliments énergétiques et protéiques jouent un rôle primordial dans la régulation des concentrations plasmatiques de l'IGF-1. Contrairement à l'insuline, l'IGF-1 possède des protéines de liaison qui permettent de réguler son effet au niveau de son transport et de sa biodisponibilité.

Pour agir, l'IGF-1 se fixe à son récepteur (IGF-1R) situé à la surface cellulaire. Ce récepteur est structurellement similaire au récepteur de l'insuline (IR), comprenant deux sous-unités alpha extracellulaires et deux sous-unités transmembranaires bêta possédant une activité tyrosine kinase (Dupont et LeRoith 2001, figure 3). Les IR et IGF-1R, une fois phosphorylés sur résidus tyrosine, vont phosphoryler différents substrats (IRSSs, « *Insulin Receptor Substrates* », Shc, « *Src Homology Collagen protein* ») pour activer deux réseaux majeurs de signalisation, la voie MAPK ERK majoritairement impliquée dans les effets mitogènes et la voie PI3K (Phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt)

principalement responsable des effets métaboliques (figure 3). Cette dernière voie implique d'autres kinases/phosphatasées telles que Foxo, PTEN, Tsc2, Pdk1/2, Rictor, Raptor dont les invalidations conditionnelles dans les cellules ovarianes ont montré leur importance dans la folliculogenèse chez la souris (tableau 1).

a) Effet de l'insuline et de l'IGF-1 dans le follicule

- Les cellules de la granulosa

L'insuline ou l'IGF-1 stimule la production de progestérone et d'oestradiol en présence ou non de FSH ou de LH chez de nombreuses espèces. Elle est également capable d'augmenter l'activité basale et induite par la FSH de la P450 aromatase, qui est l'étape obligatoire afin de convertir la progestérone et les androgènes en oestradiol. Dans les cellules de la granulosa de plusieurs espèces, l'insuline inhibe également la synthèse d'une protéine de liaison à l'IGF-1, IGFBP-1 (« *Insulin Like Growth Factor 1 Binding Protein* »), ce qui provoque une augmentation de la biodisponibilité de l'IGF-1 et son action sur les cellules de la granulosa et/ou de la thèque. L'IGF-1 est connu pour stimuler la prolifération des cellules de l'ovaire et de la production d'androgènes. De nombreuses études ont montré que les gènes de l'IGF-1 et de son récepteur sont co-exprimés au niveau des cellules de la granulosa de follicules en croissance. L'étude de deux modèles de souris knock-out pour la FSH et l'IGF-1 a permis de découvrir qu'il existait une co-localisation de l'expression des gènes de l'IGF-1 et du récepteur de la FSH dans une cohorte de follicules sains et de follicules pré-ovulatoires, et que la production locale d'IGF-1 amplifiait l'expression du gène du FSHR et ainsi l'action de la FSH au niveau de cette cohorte de follicules. En retour, la FSH induit l'augmentation de l'expression du gène du récepteur de l'IGF-1 et de son propre récepteur. Cette boucle de rétrocontrôle positif semble être indispensable à l'amplification de l'action de la FSH, qui va conduire à la formation de follicules pré-ovulatoires matures. Ces observations chez de nombreuses espèces suggèrent que la phase de croissance terminale du follicule est sous la dépendance de la synthèse d'IGF-1 par le follicule ovarien et de la capacité de celui-ci à interagir avec son récepteur.

- Les cellules de la thèque

L'insuline et l'IGF1 sont des acteurs clés dans la croissance des cellules de la thèque. *In vitro*, l'insuline stimulate la sécrétion d'androgènes par les cellules de la thèque chez l'Homme et les animaux domestiques. Ces androgènes fournissent

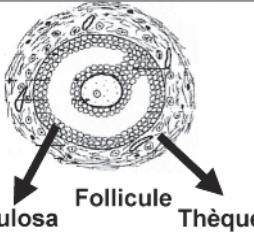
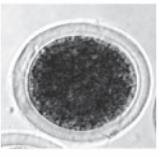
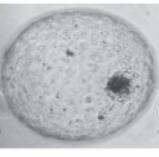
également des substrats pour la synthèse de l'œstrogène par les cellules de la granulosa (Young et McNeilly 2010). Des récepteurs de l'insuline sont localisés dans les cellules de la théque et permettent l'action de l'insuline sur la genèse des stéroïdes et la sécrétion d'androgènes *in vitro*.

- L'ovocyte

Les messagers du récepteur de l'insuline ont été décrits dans l'ovocyte chez différentes espèces telles que l'Homme, le bovin, et le rat. L'insuline, à des concentrations supra-physiologiques, a un effet stimulant sur le taux de clivage

et la maturation des ovocytes *in vitro* (Gong *et al* 2002). Ceci est en accord avec l'observation que l'insuline affecte le développement folliculaire *in vivo* (Gong *et al* 2002). Adamiak *et al* (2005) rapportent que l'hyperinsulinémie a été associée à une altération de la qualité des ovocytes chez les bovins. Des

Figure 2. Exemple d'effets *in vitro* et/ou *in vivo* de certaines hormones du métabolisme sur les cellules ovarianes, l'ovocyte et l'embryon.

Organe producteur de l'hormone (s)	Hormone (s)	 Granulosa Follicule Thèque	 Ovocyte	 Embryon
Hypophyse	GH	GH ↑ <i>in vivo</i> la capacité ovulatoire (souris) GH ↑ <i>in vivo</i> le développement folliculaire (vache)	nd	nd
Thyroïde	T3/T4	Hypothyroïdie conduit à un arrêt de la folliculogenèse (nombreuses espèces) ↑ Stéroïdogenèse <i>in vitro</i> (bovin)	nd	↑ Développement <i>in vitro</i> blastocystes (bovin)
Foie	IGF-1	↑ Stéroïdogenèse et ↑ de la prolifération cellulaire <i>in vitro</i> (nombreuses espèces)	↑ Maturation méiotique <i>in vitro</i> de l'ovocyte et le développement embryonnaire à doses physiologiques (nombreuses espèces)	
Pancréas	Insuline			
Estomac	Ghréline	↓ Stéroïdogenèse <i>in vitro</i> des cellules luténisées (femme)	↓ Maturation méiotique <i>in vitro</i> (porc et poisson) et ↑ chez les ovins	↑ Développement <i>in vitro</i> blastocystes (ovin)
Tissu adipeux blanc	Leptine	↓ Stéroïdogenèse (rongeurs, bovins, humain)	↑ Maturation méiotique (souris et porc)	↑ Développement (porc)
	Adiponectine	↑ Stéroïdogenèse en réponse à l'IGF1 (rongeurs, humain)	↑ Maturation méiotique (porc)	↑ Développement (porc)
	Résistine	↑ ou ↓ Stéroïdogenèse : effet variable selon l'espèce (rat, bovin)	nd	nd
	Apeline	Rôle possible dans l'apoptose des cellules de la granulosa (vache)	nd	nd

nd: non déterminé, ↑: augmente, ↓: diminue

niveaux élevés d'insuline pendant une période prolongée ont un impact négatif sur la compétence au développement de l'ovocyte, définie comme la capacité des ovocytes à soutenir le développement embryonnaire au stade blastocyste et / ou établir des grossesses normales.

b) Effet sur le développement précoce de l'embryon

De nombreuses études ont montré que l'insuline a un effet sur le développement précoce de l'embryon *in vitro*. Cependant, les résultats paraissent contradictoires montrant à la fois un développement accru au stade morula *in vitro* et une diminution du développement au stade blastocyste *in vitro*.

Chez la souris, l'hyperinsulinémie et la dyslipidémie associée conduisent à une anovulation et à un retard de développement embryonnaire. L'administration de rosiglitazone (sensibilisateur à l'insuline) permet de rétablir un développement embryonnaire normal en cas d'hyperinsulinémie. L'obésité est fré-

quemment associée à une insulino-résistance et une hyperinsulinémie. Chez la femme, le plus fort pourcentage d'ovocytes de bonne qualité est obtenu dans le groupe où les Indices de Masse Corporelle (IMC) sont normaux par rapport aux groupes dont l'IMC est supérieur à 25 (patientes en surpoids ou obèses). L'analyse rétrospective de Marquardt *et al* (2011) en FIV/ICSI a montré que les femmes obèses et/ou avec un syndrome des ovaires polykystiques ont des ovocytes de plus petite taille par rapport au groupe contrôle, ce qui est cohérent avec les données des modèles de souris obèses et insulino-résistantes. Une perturbation de l'activité mitochondriale a été également évoquée pour expliquer l'altération de la qualité ovocytaire chez la femme obète (cf. § 1.1 b).

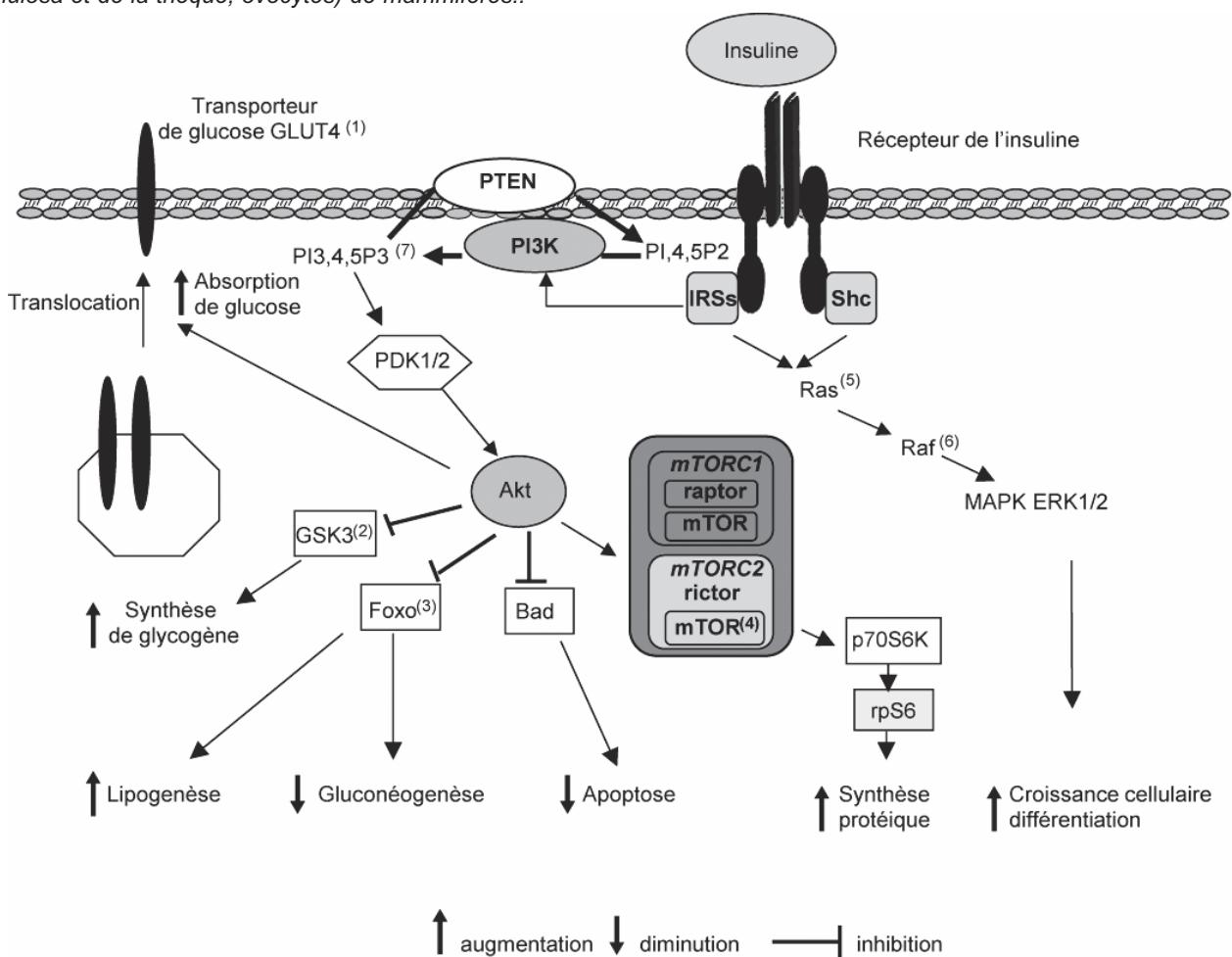
c) Les agents insulino-sensibilisateurs et le développement folliculaire chez la femme

Le biguanide (metformine) et les thiazolidinediones (troglitazone, pioglitazone et rosiglitazone) sont des médicaments

antidiabétiques qui agissent pour améliorer la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline, conduisant à une diminution de l'insulinémie. Leur utilisation conduit à des effets sur les fonctions ovariennes.

La metformine réduit l'hyperglycémie en réduisant la production de glucose hépatique et en améliorant la sensibilité à l'insuline périphérique (Kirpichnikov *et al* 2002). Elle stimule également l'oxydation des graisses et réduit leur synthèse et leur stockage. Le mécanisme moléculaire de ce médicament est considéré comme secondaire par rapport à ses actions sur la chaîne respiratoire mitochondriale. La metformine a été identifiée comme un substrat de transporteurs de cations organiques, (OCT, « Organic Cation Transporter »). Bien que l'efficacité de la metformine sur l'amélioration systémique du métabolisme chez les patients souffrant du SOPK ait été confirmée, son effet sur la reproduction reste controversé. Certains chercheurs ont montré que la metformine ne permet pas de restaurer le cycle menstrual, la

Figure 3. Quelques réseaux de signalisation du récepteur de l'insuline étudiés dans les cellules ovaraines (cellules de la granulosa et de la théque, ovocytes) de mammifères..



(1) GLUT4: Transporteur de glucose insulino-sensible ; (2) GSK3: Glycogen synthase kinase 3 ; (3) Foxo: Forkhead box de classe O ; (4) mTOR: mammalian target of rapamycin ; (5) Ras: GTPase qui permet la conversion du GDP en GTP ; (6) Raf: kinase qui conduit à l'activation des MAPK ERK1/2 ; (7) PI3,4,5P3: Phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate.

fertilité, ni d'améliorer les taux de conception après induction de l'ovulation (Palomba *et al* 2007, Tso *et al* 2015). Chez les femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques, le traitement par la metformine avant ou pendant les cycles de reproduction assistée augmente les taux de grossesses cliniques et diminue le risque de syndrome d'hyperstimulation ovarienne. Alors que les effets positifs de la metformine sur les paramètres de reproduction tels que la diminution de l'hyperandrogénie ont été attribués à des actions de sensibilisation à l'insuline de la metformine, plusieurs études *in vitro* montrent un effet direct de la metformine sur la stéroïdogenèse ovarienne et la maturation ovocytaire (Tosca *et al* 2006, Tosca *et al* 2007a et b).

Contrairement à la metformine qui réduit essentiellement la production de glucose hépatique, la rosiglitazone augmente principalement la sensibilité à l'insuline des tissus. Elle exerce son action sur le récepteur nucléaire, peroxysome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) (Desvergne et Wahli 1999). En présence de rosiglitazone, PPAR γ s'hétérodimérisé avec le récepteur de l'acide rétinoïde RXR afin de se lier à

des éléments « PPAR γ -sensible » sur la région promotrice d'un gène cible, permettant ainsi la transcription de gènes spécifiques. Chez la souris, l'invalidation de PPAR γ dans les cellules ovariennes conduit à une subfertilité (Cui *et al* 2002).

2.2 / L'hormone de croissance (GH)

L'hormone de croissance produite par l'adénohypophyse exerce des effets dans presque tous les organes du corps, y compris l'ovaire. Elle agit soit directement après liaison à des récepteurs de GH spécifiques (GHR), soit indirectement après liaison à des récepteurs GHR au niveau du foie qui vont induire la production de l'IGF-I. Le traitement des ruminants avec de la GH exogène stimule le développement folliculaire (Gong *et al* 1993), la croissance du corps jaune et sa production de progestérone (Lucy *et al* 1999). Plus précisément, l'hormone de croissance peut stimuler sélectivement les populations spécifiques de follicules. Par exemple chez les génisses elle inhibe le développement du follicule pré-ovulatoire, mais stimule la croissance dès le follicule secondaire. Chez la rate, la GH joue un rôle important dans le contrôle

des phases précoces du développement folliculaire, indépendantes des gonadotrophines (cité par Silva *et al* 2009). Plusieurs études laissent aussi à penser que la GH pourrait avoir une action inhibitrice directe sur l'apoptose des follicules pré-ovulatoires (Silva *et al* 2009). Dans un modèle de souris transgénique surexprimant la GH bovine, il a ainsi été montré une diminution du pourcentage de follicules pré-ovulatoires entrant en apoptose, conduisant à une augmentation de la capacité ovulatoire de ces animaux. Une action directe de la GH sur l'ovaire est possible puisque le récepteur GHR est exprimé au niveau des cellules ovariennes. En effet, les récepteurs de l'hormone de croissance ont été détectés dans les cellules de la granulosa et de la thèque, les cellules lutéales, les cellules du cumulus et l'ovocyte. De plus, chez la vache, la quantité de l'ARNm GHR dans l'ovaire varie selon le type cellulaire au cours du cycle ovarien. Cependant, l'expression folliculaire du GHR reste faible et la plupart des effets de la GH sont des effets systémiques plutôt que des effets locaux de la GH sur le follicule ovarien. Une action directe de la GH sur le follicule reste à démontrer *in vivo*.

Tableau 1. Conséquences d'une invalidation ciblée dans les cellules ovariennes de différents composants du réseau de signalisation du récepteur de l'insuline chez la souris.

Composants	Cellule ovarienne	Conséquences	Références
IR ⁽¹⁾ ou IGF-1R ⁽²⁾	Ovocytes	Fertile	Pitetti <i>et al</i> (2009)
IR	Cellules de la thèque	Infertile si nourrie avec régime riche en graisse	Wu <i>et al</i> (2014)
PTEN ⁽³⁾	Cellules granulosa	↑ Prolifération des cellules granulosa, durée vie du corps jaune et ovulation	Fan <i>et al</i> (2008)
PTEN	Ovocyte (follicule primordial)	Infertile, Insuffisance ovarienne précoce	Reddy <i>et al</i> (2008)
PTEN	Ovocyte (follicule en croissance)	Fertile	Jagaramudi <i>et al</i> (2009)
Tsc1 ⁽⁴⁾	Ovocyte	Infertile, Insuffisance ovarienne précoce	Adhikari <i>et al</i> (2010)
Tsc1	Cellules granulosa	Infertile	Tanaka <i>et al</i> (2012)
Tsc2 ⁽⁴⁾	Ovocyte	Infertile, Insuffisance ovarienne précoce	Adhikari <i>et al</i> (2009)
PDK1 ⁽⁵⁾	Ovocyte (follicule primordial)	Perte des follicules de toutes les tailles	Reddy <i>et al</i> (2009)
rpS6 ⁽⁶⁾	Ovocyte (follicule primordial)	Infertile, Insuffisance ovarienne précoce	Reddy <i>et al</i> (2009)
Raptor ⁽⁷⁾	Ovocyte (follicule primordial)	Fertile	Gorre <i>et al</i> (2014)
Rictor ⁽⁸⁾	Ovocyte (follicule primordial)	Infertile, Insuffisance ovarienne précoce	Chen <i>et al</i> (2015)
MAPK ERK ⁽⁹⁾	Cellules de la granulosa et du cumulus	Infertile, absence d'ovulation	Fan <i>et al</i> (2009)

⁽¹⁾IR : Récepteur de l'Insuline ; ⁽²⁾IGF-1R : Récepteur de l'Insulin-Like Growth Factor 1 ; ⁽³⁾PTEN : Phosphatase and Tensin homolog ; ⁽⁴⁾Tsc1 ou 2: Tuberous sclerosis complex 1 or 2 ; ⁽⁵⁾PDK1 : Phosphoinositide-Dependent Kinase-1 ; ⁽⁶⁾rpS6 : ribosomal protein S6 ; ⁽⁷⁾Raptor : Regulatory associated protein of mTOR ; ⁽⁸⁾Rictor : RPTOR Independent Companion Of MTOR, Complex 2 ; ⁽⁹⁾MAPK ERK : Mitogen-Activated Protein Kinase Extracellular-signal-Regulated Kinase.

2.3 / Les hormones thyroïdiennes T3/T4

Les hormones thyroïdiennes sont au nombre de deux : la 3,5,3',5'-tétraiodothyronine, ou thyroxine (T4), et la 3,5,3'-triiodothyronine (T3). Leurs effets sont similaires ou identiques, mais la T3 est beaucoup plus active. Toutes les deux sont sécrétées conjointement par les vésicules thyroïdiennes mais il existe aussi une conversion périphérique de T4 en T3, grâce à la 5'-monodésiodase. Leur action s'exerce au niveau de récepteurs nucléaires spécifiques qui agissent, après liaison de leur ligand, comme facteurs modulant la transcription de nombreux gènes et dans la plupart des tissus. La sécrétion de T3 et T4 est stimulée par l'hormone thyrotrope hypophysaire (TSH). L'activité de la désiodase est contrôlée par l'hormone de croissance.

Les hormones thyroïdiennes ont plusieurs effets sur la fonction ovarienne. Chez l'animal, l'hypothyroïdie entraîne chez la femelle une diminution du poids des ovaires associée à un arrêt de la folliculogenèse et une baisse de la fréquence des ovulations. Ces observations se retrouvent chez différentes espèces. Chez la femme, l'hyperthyroïdie est à l'origine d'une dysovulation, voire une aménorrhée, et l'hypothyroïdie provoque une anovulation et une infertilité marquée.

Chez les bovins, les concentrations en T4 dans le plasma augmentent avec l'apport en nutriments après le vêlage ou au moment du tarissement. Les fractions libres des hormones thyroïdiennes sont également présentes dans le liquide folliculaire d'ovaires de vache, ce qui suggère que ces hormones peuvent réguler la fonction folliculaire. Toujours chez le bovin, l'état des follicules antraux (atractiques ou non) influence l'accumulation de T4 dans le liquide folliculaire (Ashkar *et al* 2010). Par exemple, l'hyperstimulation ovarienne induit augmenté les taux circulants de T4 libre et de T4 totale dans le fluide folliculaire. Ainsi, les hormones thyroïdiennes (T3 et T4) sont capables d'augmenter la stéroïdogenèse *in vitro* des cellules de la granulosa et de la thèque bovine. De plus, une supplémentation avec de la T3 dans le milieu de culture de maturation a un effet bénéfique sur la cinétique de développement de l'embryon bovin (Costa *et al* 2013). Dans l'ovaire de souris les récepteurs d'hormones thyroïdiennes (TR α -1, TR α -2 et TR β -2) sont présents dans les ovocytes, cumulus, granulosa et les cellules lutéales. Ainsi, les hormones thyroïdiennes pourraient avoir des effets directs bénéfiques sur la fonction ovarienne et le développement de l'embryon chez les bovins, mais aussi chez les rongeurs.

2.4 / La ghréline

La ghréline est un peptide de 28 acides aminés sécrété principalement par l'estomac au niveau périphérique, mais également par l'hypophyse et l'hypothalamus dans le cerveau. Elle est aussi présente dans les tissus reproducteurs chez le mouton et le bovin (Miller *et al* 2005, Deaver *et al* 2013). Découverte en tant que ligand du récepteur hypophysaire des sécrétagogues de l'hormone de croissance (GHSs), elle a un puissant effet libérateur de GH, et joue également un rôle important dans la régulation de la prise alimentaire et du poids à long terme. Elle est, à l'heure actuelle la seule hormone orexigène connue. Sa concentration plasmatique augmente rapidement avant chaque repas et diminue tout aussi rapidement dès l'ingestion d'aliments (effet à court terme). La concentration basale de ghréline plasmatique est inversement corrélée à l'importance des réserves énergétiques, elle est plus faible chez l'obèse et plus élevée chez l'anorexique que chez le sujet sain. Elle augmente avec une restriction alimentaire et diminue avec une prise de poids (effet à long terme). Le récepteur de la ghréline fonctionnel, (l'hormone de croissance sécrétagogue récepteur 1A, GHS-R1A), appartient à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires.

La ghréline et son récepteur sont présents dans l'ovaire du mouton fœtal et adulte (Miller *et al* 2005). Dans l'ovaire de mouton, la ghréline est exprimée tout au long du cycle folliculaire avec une forte expression durant la phase lutéale (Du *et al* 2009). Chez le mouton, elle est retrouvée dans les ovocytes, les cellules de la thèque, les cellules de la granulosa des follicules antraux et dans le corps jaune (Du *et al* 2009), alors que chez la génisse de race Holstein, l'expression de la ghréline est surtout observée dans les cellules de la granulosa des follicules ovariens (Deaver *et al* 2013). Chez le mouton, la ghréline favorise *in vitro* la maturation des ovocytes (Bai *et al* 2012) et la formation des blastocystes (Wang *et al* 2013). Chez les ruminants, la ghréline et le GHS-R1A sont aussi exprimés dans l'ampoule et l'isthme de l'oviducte et l'utérus (Deaver *et al* 2013). Toutefois, malgré la présence de la ghréline et de son récepteur dans diverses parties de l'appareil génital, ses effets *in vivo* sur la fertilité ne sont pas clairement établis.

2.5 / Les adipocytokines

Chez la femme, il est bien connu maintenant dans la littérature qu'une perte de poids modérée provoque l'arrêt des menstruations (aménorrhée). De plus, un pourcentage élevé de tissu adipeux, de 26 à 28% est nécessaire et influence

directement la reproduction. Il existe un IMC minimum nécessaire pour faire débuter les menstruations à la puberté et pour maintenir leur régularité par la suite. Le tissu adipeux est maintenant considéré comme un organe endocrinien majeur ayant un rôle clé sur la régulation de la balance énergétique, la réponse immunitaire, l'inflammation mais aussi la reproduction. Il produit et sécrète une multitude de facteurs/hormones appelées « adipocytokines » vers la circulation sanguine. Nous aborderons ci-dessous les adipocytokines les plus connues pour agir sur le développement folliculaire et embryonnaire.

a) La leptine

Comme chez la plupart des mammifères une relation entre la consommation alimentaire et les concentrations de leptine dans le plasma a été rapportée chez les ovins et les bovins. Les effets de la leptine s'exercent notamment dans le cerveau après liaison à son récepteur de forme longue (Ob Rb) et au niveau des tissus périphériques (y compris l'ovaire). Le Ob Rb est la seule isoforme qui est capable, après la liaison du ligand, de relayer la signalisation en aval. Il existe au moins six isoformes de Ob-R qui sont exprimées dans plusieurs organes, y compris l'ovaire. Dans l'ovaire, la leptine et son récepteur sont présents dans toutes les cellules du follicule. Dans les follicules ovariens, l'Ob Rb est majoritairement exprimé dans les cellules de la thèque et de la granulosa des follicules où la concentration de l'œstradiol dans le liquide folliculaire est faible (< 0,5 ng/mL) (Sarkar *et al* 2010). La leptine inhibe *in vitro* de manière dose dépendante les sécrétions de progestérone et d'œstradiol par des cellules de la granulosa issues de petits et gros follicules bovins (Spicer et Francisco 1997). Des effets inhibiteurs de la leptine ont été retrouvés *in vivo* sur la production de l'œstradiol chez le mouton au cours de la phase folliculaire. Comme dans les cellules de la granulosa, la leptine inhibe la production *in vitro* de la progestérone et de l'androstenedione induite par l'insuline par les cellules de la thèque. Chez la vache, la leptine et ses différents récepteurs (forme longue et courte) sont présents dans le corps jaune et une diminution de leur expression est observée lors de la régression lutéale (Sarkar *et al* 2010).

Contrairement aux effets inhibiteurs de la leptine observés au niveau des cellules de la thèque ou de la granulosa, la leptine améliore chez le bovin la maturation ovocytaire et la capacité de l'ovocyte à soutenir le développement embryonnaire (Jia *et al* 2012). De plus, ces effets pourraient dépendre de la présence des cellules du cumulus. En revanche,

Cordova *et al* (2011) ont observé que l'ajout de la leptine dans le milieu de maturation des ovocytes de vaches prépubères n'augmentait pas leur potentiel de développement.

En résumé, des concentrations circulantes élevées de leptine observées en cas d'obésité pourraient inhiber la production de stéroïdes des cellules de la granulosa et de la thèque. A l'inverse, elles auraient des effets bénéfiques sur la maturation ovocytaire. Cependant, ces données ont été obtenues *in vitro* et les effets directs *in vivo* sur la maturation des ovocytes restent à démontrer chez les mammifères domestiques.

b) L'adiponectine

L'adiponectine est une protéine produite principalement par le tissu adipeux blanc. Chez l'Homme, son niveau d'expression varie en fonction de la localisation du tissu adipeux. L'adiponectinémie est plus faible dans le tissu adipeux viscéral que dans le tissu adipeux sous-cutané (Kadowaki et Yamauchi 2005). Dans le plasma, l'adiponectine circule sous différentes formes : dimère, trimère et haut poids moléculaires. L'adiponectinémie est plus élevée chez les sujets maigres que chez les sujets obèses (Kadowaki et Yamauchi 2005). Elle régule les métabolismes lipidique et glucidique et a un rôle important dans la physiopathologie de l'obésité et du diabète de type 2. Pour agir au niveau cellulaire, l'adiponectine se fixe à ses récepteurs appelés AdipoR1 et AdipoR2 (Kadowaki et Yamauchi 2005). Ce sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires. Une fois activés, AdipoR1 ou AdipoR2 lie une protéine adaptatrice, (APPL), qui, à son tour, active différentes voies de signalisation dont certaines impliquent l'AMPK (Adenosine Mono-Phosphate Kinase) ou les récepteurs nucléaires PPAR. Chez l'Homme et les ruminants, les concentrations plasmatiques de l'adiponectine sont de l'ordre de 5 à 30 mg/L, l'adiponectine représente donc 0,01% des protéines plasmatiques totales (Kadowaki et Yamauchi 2005). Chez les rongeurs et l'Homme, les régimes riches en graisses saturées diminuent l'adiponectinémie alors que les régimes riches en AGPI l'augmentent.

Plusieurs travaux *in vitro* montrent que l'adiponectine régule la fonction ovarienne et peut affecter l'embryon à un stade très précoce de la gestation pendant la période pré-implantatoire (Palin *et al* 2012). Chez les bovins, l'adiponectine et ses récepteurs sont présents dans différentes cellules folliculaires (ovocytes, cellules de la thèque et de la granulosa et du cumulus, (Maillard *et al* 2010)). L'expression du système varie en fonction du stade folliculaire chez la vache

(Tabandeh *et al* 2010). En effet, l'expression de l'adiponectine, AdipoR1 et AdipoR2 dans les cellules de la thèque et du cumulus et les oocytes est plus élevée dans les follicules dominants comparés aux follicules atrétiques à la fois pendant la phase folliculaire et lutéale (Tabandeh *et al* 2012). Dans notre laboratoire, nous avons montré que l'adiponectine diminue *in vitro* la stéroïdogénèse induite par l'insuline et la prolifération induite par l'IGF-1 dans les cellules de la granulosa bovine en culture (Maillard *et al* 2010). À l'inverse nous n'avons montré aucun effet *in vitro* de l'adiponectine sur la maturation de l'ovocyte ou le développement de l'embryon dans l'espèce bovine.

Ainsi, les effets de l'adiponectine sur le follicule ovarien sont plutôt une action indirecte via les effets de l'insuline ou de l'IGF-1. Cependant, là encore les données ont été obtenues *in vitro* et doivent être confirmées *in vivo*. De plus, le rôle de l'adiponectine *in vivo* dans le développement embryonnaire précoce chez le bovin reste à étudier.

c) La résistine

La résistine est une petite protéine de 108 acides aminés chez l'Homme et de 114 acides aminés dans la souris appartenant à la famille des « molécules de « résistine-like » ou « FIZZ » (Schwartz et Lazar 2011). Elle se compose de deux homodimères liés par des ponts disulfures. Chez la souris, la résistine est produite par les adipocytes, tandis que chez l'Homme, elle est produite par les macrophages du tissu adipeux blanc. Très peu d'informations sont actuellement disponibles sur le mode d'action de la résistine. Aucun récepteur n'a été clairement identifié et la voie de signalisation utilisée par la résistine reste obscure. Des études récentes suggèrent que la résistine pourrait se lier à une tyrosine kinase de récepteur connu sous le nom (récepteur orphelin kinase-like receptor tyrosine) ROR1 dans les adipocytes pré-3T3-L1 de souris ou au récepteur connu sous le nom TLR4 (récepteur de type Toll 4) dans l'hypothalamus de la souris. Chez les vaches laitières, l'expression de la résistine dans le tissu adipeux est plus importante que chez les vaches allaitantes (Komatsu *et al* 2003).

Chez le bovin, la résistine est présente dans les ovaires. *In vitro*, la résistine recombinante humaine diminue la sécrétion de progestérone et d'oestradiol induite par l'IGF-1 dans les cellules de la granulosa bovine issue de petits follicules (Maillard *et al* 2011). Spicer *et al* (2011) ont également observé que la résistine inhibe la prolifération des cellules de la granulosa issues de gros follicules, ce qui suggère que la réponse

ovarienne à la résistine est modifiée au cours du développement folliculaire. Des données suggèrent que la résistine pourrait être impliquée dans la régulation nutritionnelle de la fonction ovarienne et la fertilité chez les ruminants.

d) L'apeline

L'apeline, extraite à partir d'estomac bovin, est le ligand endogène du récepteur à sept domaines membranaires couplé aux protéines G, appelé APJ. Plusieurs isoformes de ce peptide existent, comme l'apeline-36 et l'apeline-13. L'apeline et APJ sont exprimées dans le système nerveux central, en particulier dans l'hypothalamus et dans de nombreux tissus périphériques, comme le cœur, les poumons, le tissu adipeux, les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins et le muscle squelettique. L'apeline est impliquée dans la régulation de la prise hydrique par ses effets diurétiques, dans les fonctions cardio-vasculaires, celles de la prise alimentaire, de la prolifération cellulaire et de l'angiogenèse. L'expression et la sécrétion de l'apeline par les adipocytes sont principalement régulées par l'insuline chez l'Homme et les rongeurs. Avec l'obésité et les pathologies associées, comme le diabète de type 2, les concentrations plasmatiques d'apeline sont augmentées. Le lien entre l'apeline et les troubles métaboliques est un nouveau domaine d'investigation. Des données récentes ont mis en évidence un rôle important de l'apeline, non seulement sur le métabolisme glucidique mais aussi lipidique. L'apeline apparaît désormais comme un adipocytokine bénéfique avec des propriétés anti-obésité et antidiabétiques.

Dans l'ovaire de vache, le système apeline/APJ est impliqué dans les mécanismes régulant l'angiogenèse au cours de la maturation folliculaire ainsi que pendant le développement lutéal (Schilf-farth *et al* 2009). Apeline et APJ sont exprimées dans les cellules de la granulosa bovine et la progestérone augmente l'expression des APJ dans ces cellules (Shimizu *et al* 2009). Ces derniers auteurs suggèrent que le système apeline/APJ pourrait jouer un rôle lors de la sélection du follicule et la dominance chez la vache. Le système apeline/APJ est également présent dans le corps jaune bovin (Shirasuna *et al* 2008), où il pourrait être impliqué dans la maturation de corps jaune et être un régulateur des artéries intra-lutéales (Shirasuna *et al* 2008).

D'autres adipocytokines sont présentes au niveau de l'ovaire dont la chemerine et la visfatine qui sont connues réguler la sensibilité à l'insuline. Cependant, les effets physiologiques *in vivo* de ces adipocytokines dans les cellules ovaraines restent à déterminer.

Conclusion

Il est maintenant bien établi que les nutriments jouent un rôle crucial dans la régulation des fonctions de reproduction telles que la folliculogenèse et influencent la qualité ovocytaire ainsi que le développement embryonnaire. Leurs effets au niveau ovarien peuvent être

directs ou indirects faisant intervenir différentes hormones du métabolisme. Bien comprendre le mode d'action des nutriments et de ces hormones a une importance pratique en production animale afin d'améliorer la fertilité ou limiter sa baisse grâce à l'alimentation (supplémentation en AGPI n-3 chez les bovins laitiers, glucose chez les petits ruminants), mais aussi en clinique

humaine (infertilités liées à l'obésité et au diabète qui sont des dérégulations métaboliques de plus en plus fréquentes dans notre société). D'autres investigations faisant appel par exemple à la nutrigénomique sont donc nécessaires pour comprendre les interactions entre les nutriments et la fertilité.

Références

- Adamiak S.J., Mackie K., Watt R.G., Webb R., Sinclair K.D., 2005. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. *Biol. Reprod.*, 73, 918-926.
- Adhikari D., Flohr G., Gorre N., Shen Y., Yang H., Lundin E., Lan Z., Gambello M.J., Liu K., 2009. Disruption of Tsc2 in oocytes leads to overactivation of the entire pool of primordial follicles. *Mol. Hum. Reprod.*, 15, 765-770.
- Adhikari D., Zheng W., Shen Y., Gorre N., Hamalainen T., Cooney A.J., Huhtaniemi I., Lan Z.J., Liu K., 2010. Tsc/mTORC1 signaling in oocytes governs the quiescence and activation of primordial follicles. *Hum. Mol. Genet.*, 19, 397-410.
- Ashkar F.A., Bartlewski P.M., Singh J., Malhi P.S., Yates K.M., Singh T., King W.A., 2010. Thyroid hormone concentrations in systemic circulation and ovarian follicular fluid of cows. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 235, 215-221.
- Augustin R., Pocar P., Navarrete-Santos A., Wrenzycki C., Gandolfi F., Niemann H., Fischer B., 2001. Glucose transporter expression is developmentally regulated in *in vitro* derived bovine preimplantation embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 60, 370-376.
- Bai R., Zhao P., Cao G., Wen S., Li Q., Meng Q., 2012. Ghrelin promotion of oocyte maturation via ERK1/2 pathway in ovis aries. *Cell. Mol. Biol.*, 58, Suppl, OL1797-1802.
- Baker J., Hardy M.P., Zhou J., Bondy C., Lupi F., Bellve A.R., Efstratiadis A., 1996. Effects of an Igf1 gene null mutation on mouse reproduction. *Mol. Endocrinol.*, 10, 903-918.
- Boland M.P., Lonergan P., O'Callaghan D., 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*, 55, 1323-1340.
- Chen Z., Kang X., Wang L., Dong H., Wang C., Xiong Z., Zhao W., Jia C., Lin J., Zhang W., Yuan W., Zhong M., Du H., Bai X., 2015. Rictor/mTORC2 pathway in oocytes regulates folliculogenesis, and its inactivation causes premature ovarian failure. *J. Biol. Chem.*, 290, 6387-6396.
- Cordova B., Morato R., de Frutos C., Bermejo-Alvarez P., Paramio T., Gutierrez-Adan A., Mogas T., 2011. Effect of leptin during *in vitro* maturation of prepubertal calf oocytes: embryonic development and relative mRNA abundances of genes involved in apoptosis and oocyte competence. *Theriogenology*, 76, 1706-1715.
- Costa N.N., Cordeiro M.S., Silva T.V., Sastre D., Santana P.P., Sa A.L., Sampaio R.V., Santos S.S., Adona P.R., Miranda M.S., Ohashi O.M., 2013. Effect of triiodothyronine on developmental competence of bovine oocytes. *Theriogenology*, 80, 295-301.
- Cui Y., Miyoshi K., Claudio E., Siebenlist U.K., Gonzalez F.J., Flaws J., Wagner K.U., Hennighausen L., 2002. Loss of the peroxisome proliferation-activated receptor gamma (PPAR-gamma) does not affect mammary development and propensity for tumor formation but leads to reduced fertility. *J. Biol. Chem.*, 277, 17830-17835.
- De Wit A.A., Cesar M.L., Kruip T.A., 2001. Effect of urea during *in vitro* maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complexes. *J. Dairy Sci.*, 84, 1800-1804.
- Deaver S.E., Hoyer P.B., Dial S.M., Field M.E., Collier R.J., Rhoads M.L., 2013. Localization of ghrelin and its receptor in the reproductive tract of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 96, 150-157.
- Desvergne B., Wahli W., 1999. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr. Rev.*, 20, 649-688.
- Downs S.M., Utecht A.M., 1999. Metabolism of radiolabeled glucose by mouse oocytes and oocyte-cumulus cell complexes. *Biol. Reprod.*, 60, 1446-1452.
- Du C., Xilingaowa, Cao G., Wang C., Li H., Zhao Y., Sipingaowa, Cao J., 2009. Expression of the orexigenic peptide ghrelin in the sheep ovary. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 36, 89-98.
- Dunning K.R., Cashman K., Russell D.L., Thompson J.G., Norman R.J., Robker R.L., 2010. Bêta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development. *Biol. Reprod.*, 83, 909-918.
- Dunning K.R., Akison L.K., Russell D.L., Norman R.J., Robker R.L., 2011. Increased bêta-oxidation and improved oocyte developmental competence in response to l-carnitine during ovarian *in vitro* follicle development in mice. *Biol. Reprod.*, 85, 548-555.
- Dunning K.R., Russell D.L., Robker R.L., 2014. Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and β -oxidation. *Reproduction*, 148, R15-27.
- Dupont J., LeRoith D., 2001. Insulin and insulin-like growth factor I receptors: similarities and differences in signal transduction. *Horm. Res.*, 55, 22-26.
- Dupont J., Froment P., Ramé C., Pierre P., Coyral-Castel S., Chabrolle C., 2008. Role of the fatty acids in ovarian functions: involvement of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) and adipokines. *Gynecol. Obstet. Fertil.*, 36, 1230-1238.
- Eppig J.J., Pendola F.L., Wigglesworth K., Pendola J.K., 2005. Mouse oocytes regulate metabolic cooperativity between granulosa cells and oocytes: amino acid transport. *Biol. Reprod.*, 73, 351-357.
- Fan H.Y., Liu Z., Cahill N., Richards J.S., 2008. Targeted disruption of Pten in ovarian granulosa cells enhances ovulation and extends the life span of luteal cells. *Mol. Endocrinol.*, 22, 2128-2140.
- Fan H.Y., Liu Z., Shimada M., Sterneck E., Johnson P.F., Hedrick S.M., Richards J.S., 2009. MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulosa cells are essential for female fertility. *Science*, 324, 938-941.
- Ferguson E.M., Leese H.J., 1999. Triglyceride content of bovine oocytes and early embryos. *J. Reprod. Fertil.*, 116, 373-378.
- Gardner D.K., Leese H.J., 1988. The role of glucose and pyruvate transport in regulating nutrient utilization by preimplantation mouse embryos. *Development*, 104, 423-429.
- Gomez E., Diez C., 2000. Effects of glucose and protein sources on bovine embryo development *in vitro*. *Anim. Reprod. Sci.*, 58, 23-37.
- Gong J.G., Bramley T.A., Webb R., 1993. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 97, 247-254.
- Gong J.G., Lee W.J., Garnsworthy P.C., Webb R., 2002. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction*, 123, 419-427.
- Gorre N., Adhikari D., Lindkvist R., Brannstrom M., Liu K., Shen Y., 2014. mTORC1 Signaling in oocytes is dispensable for the survival of primordial follicles and for female fertility. *PLoS One*, 9, e110491.
- Grindler N.M., Moley K.H., 2013. Maternal obesity, infertility and mitochondrial dysfunction: potential mechanisms emerging from mouse model systems. *Mol. Hum. Reprod.*, 8, 486-494.
- Hawkins D.E., Niswender K.D., Oss G.M., Moeller C.L., Odde K.G., Sawyer H.R., Niswender G.D., 1995. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *J. Anim. Sci.*, 73, 541-545.

- Jagaramudi K., Liu L., Adhikari D., Reddy P., Idahl A., Ottander U., Lundin E., Liu K., 2009. Oocyte-specific deletion of Pten in mice reveals a stage-specific function of PTEN/PI3K signaling in oocytes in controlling follicular activation. *PLoS One*, 4, e6186.
- Jia Z., Zhang J., Wu Z., Tian J., 2012. Leptin enhances maturation and development of calf oocytes *in vitro*. *Reprod. Domest. Anim.*, 47, 718-723.
- Jorritsma R., Cesar M.L., Hermans J.T., Kruitwagen C.L., Vos P.L., Kruip T.A., 2004. Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cells and developmental potential of oocytes *in vitro*. *Anim. Reprod. Sci.*, 81, 225-235.
- Kadowaki T., Yamauchi T., 2005. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr. Rev.*, 26, 439-451.
- Kirpichnikov D., SamyI., Mc Farlane M.D., James R., Sowers M.D., 2002. Metformin: An update. *Ann. Intern. Med.*, 137, 25-33.
- Komatsu T., Itoh F., Mikawa S., Hodate K., 2003. Gene expression of resistin in adipose tissue and mammary gland of lactating and non-lactating cows. *J. Endocrinol.*, 178, R1-5.
- Krischer R.L., Bavister B.D., 1999. Enhanced glycolysis after maturation of bovine oocytes *in vitro* is associated with increased developmental competence. *Mol. Reprod. Dev.*, 53, 19-26.
- Lane M., 2001. Mechanisms for managing cellular and homeostatic stress *in vitro*. *Theriogenology*, 55, 225-236.
- Leroy J.L., Vanholder T., Delanghe J.R., Opsomer G., Van Soom A., Bols P.E., Dewulf J., de Kruif A., 2004. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology*, 62, 1131-1143.
- Leroy J.L., Vanholder T., Mateusen B., Christophe A., Opsomer G., de Kruif A., Genicot G., Van Soom A., 2005. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes *in vitro*. *Reproduction*, 130, 485-495.
- Leroy J.L., Sturmy R.G., Van Hoeck V., De Bie J., McKeegan P.J., Bols P.E., 2014. Dietary fat supplementation and the consequences for oocyte and embryo quality: hype or significant benefit for dairy cow reproduction? *Reprod. Domest. Anim.*, 49, 353-361.
- Lim J.M., Lee B.C., Lee E.S., Chung H.M., Ko J.J., Park S.E., Cha K.Y., Hwang W.S., 1999. *In vitro* maturation and *in vitro* fertilization of bovine oocytes cultured in a chemically defined, protein-free medium: effects of carbohydrates and amino acids. *Reprod. Fertil. Dev.*, 11, 127-132.
- Lucy M.C., Staples C.R., Michel F.M., Thatcher W.W., Bolt D.J., 1991. Effect of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows on plasma prostaglandin F2a, luteinizing hormone and follicular growth. *J. Dairy Sci.*, 74, 483-489.
- Lucy M.C., Bilby C.R., Kirby C.J., Yuan W., Boyd C.K., 1999. Role of growth hormone in development and maintenance of follicles and corpora lutea. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 54, 49-59.
- Maillard V., Uzbekova S., Guignot F., Perreau C., Rame C., Coyral-Castel S., Dupont J., 2010. Effect of adiponectin on bovine granulosa cell steroidogenesis, oocyte maturation and embryo development. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 8, 23.
- Maillard V., Froment P., Rame C., Uzbekova S., Elis S., Dupont J., 2011. Expression and effect of resistin on bovine and rat granulosa cell steroidogenesis and proliferation. *Reproduction*, 141, 467-479.
- Marei W.F., Wathes D.C., Fouladi-Nashta A.A., 2009. The effect of linolenic Acid on bovine oocyte maturation and development. *Biol. Reprod.*, 81, 1064-1072.
- Marquard K.L., Stephens S.M., Jungheim E.S., Ratts V.S., Odem R.R., Lanzendorf S., Moley K.H., 2011. Polycystic ovary syndrome and maternal obesity affect oocyte size in *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil. Steril.*, 95, 2146-2149, 2149 e2141.
- Mattos R., Staples C.R., Thatcher W.W., 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev. Reprod.*, 5, 38-45.
- McEvoy T.G., Robinson J.J., Aitken R.P., Findlay P.A., Robertson I.S., 1997. Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. *Anim. Reprod. Sci.*, 47, 71-90.
- McEvoy T.G., Coull G.D., Broadbent P.J., Hutchinson J.S., Speake B.K., 2000. Fatty acid composition of lipids in immature cattle, pig and sheep oocytes with intact zona pellucida. *J. Reprod. Fertil.*, 118, 163-170.
- Miller D.W., Harrison J.L., Brown Y.A., Doyle U., Lindsay A., Adam C.L., Lea R.G., 2005. Immunohistochemical evidence for an endocrine/paracrine role for ghrelin in the reproductive tissues of sheep. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 3, 60.
- Monniaux D., Caraty A., Clement F., Dalbies-Tran R., Dupont J., Fabre S., Gerard N., Mermilliod P., Monget P., Uzbekova S. Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Prod. Anim.*, 2009, 22, 59-76.
- Nishimoto H., Matsutani R., Yamamoto S., Takahashi T., Hayashi K.G., Miyamoto A., Hamano S., Tetsuka M., 2006. Gene expression of glucose transporter (GLUT) 1, 3 and 4 in bovine follicle and corpus luteum. *J. Endocrinol.*, 188, 111-119.
- Paczkowski M., Silva E., Schoolcraft W.B., Krischer R.L., 2013. Comparative importance of fatty acid bêta-oxidation to nuclear maturation, gene expression, and glucose metabolism in mouse, bovine, and porcine cumulus oocyte complexes. *Biol. Reprod.*, 88, 111.
- Palin M.F., Bordignon V.V., Murphy B.D., 2012. Adiponectin and the control of female reproductive functions. *Vitam. Horm.*, 90, 239-287.
- Palomba S., Orio F., Jr., Falbo A., Russo T., Tolino A., Zullo F., 2007. Clomiphene citrate versus metformin as first-line approach for the treatment of anovulation in infertile patients with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 92, 3498-3503.
- Pantaleon M., Ryan J.P., Gil M., Kaye P.L., 2001. An unusual subcellular localization of GLUT1 and link with metabolism in oocytes and preimplantation mouse embryos. *Biol. Reprod.*, 64, 1247-1254.
- Pellant A.M., Corbett H.E., Baltz J.M., 2009. Amino Acid transport mechanisms in mouse oocytes during growth and meiotic maturation. *Biol. Reprod.*, 81, 1041-54.
- Pinto A.B., Carayannopoulos M.O., Hoehn A., Dowd L., Moley K.H., 2002. Glucose transporter 8 expression and translocation are critical for murine blastocyst survival. *Biol. Reprod.*, 66, 1729-1733.
- Pitetti J.L., Torre D., Conne B., Papaioannou M.D., Cederroth C.R., Xuan S., Kahn R., Parada L.F., Vassalli J.D., Efstratiadis A., Nef S., 2009. Insulin receptor and IGF1R are not required for oocyte growth, differentiation, and maturation in mice. *Sex. Dev.*, 3, 264-272.
- Puder J., Pralong F., 2009. Syndrome des ovaires polykystiques et résistance à l'insuline. *Rev. Med. Suisse*, 5, 779-782.
- Rabiee A.R., Lean I.J., 2000. Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations. *Anim. Reprod. Sci.*, 64, 199-209.
- Reddy P., Liu L., Adhikari D., Jagaramudi K., Rajareddy S., Shen Y., Du C., Tang W., Hamalainen T., Peng S.L., Lan Z.J., Cooney A.J., Huhtaniemi I., Liu K., 2008. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science*, 319, 611-613.
- Reddy P., Adhikari D., Zheng W., Liang S., Hamalainen T., Tohonen V., Ogawa W., Noda T., Volarevic S., Huhtaniemi I., Liu K., 2009. PDK1 signaling in oocytes controls reproductive aging and lifespan by manipulating the survival of primordial follicles. *Hum. Mol. Genet.*, 18, 2813-2824.
- Robinson R.S., Pushpakumara P.G., Cheng Z., Peters A.R., Abayasekara D.R., Wathes D.C., 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124, 119-131.
- Rubio J.M., Hallford D.M., Hawkins D.E., 1997. Effect of glucose administration during the estrous cycle on serum hormone profiles, mRNA for steroidogenic enzymes, and breeding performance of ewes. *J. Anim. Sci.*, 75, 775-780.
- Sarkar M., Schilffarth S., Schams D., Meyer H.H., Berisha B., 2010. The expression of leptin and its receptor during different physiological stages in the bovine ovary. *Mol. Reprod. Dev.*, 77, 174-181.
- Scaramuzzi R.J., Baird D.T., Campbell B.K., Driancourt M.A., Dupont J., Fortune J.E., Gilchrist R.B., Martin G.B., McNatty K.P., McNeilly A.S., Monget P., Monniaux D., Viñoles C., Webb R., 2011. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reprod. Fertil. Dev.*, 23, 444-467.
- Schilffarth S., Antoni B., Schams D., Meyer H.H., Berisha B., 2009. The expression of apelin and its receptor APJ during different physiological stages in the bovine ovary. *Int. J. Biol. Sci.*, 5, 344-350.
- Schwartz D.R., Lazar M.A., 2011. Human resistin: found in translation from mouse to man. *Trends Endocrinol. Metab.*, 22, 259-265.
- Shimizu T., Kosaka N., Murayama C., Tetsuka M., Miyamoto A., 2009. Apelin and APJ receptor expression in granulosa and theca

- cells during different stages of follicular development in the bovine ovary: Involvement of apoptosis and hormonal regulation. *Anim Reprod Sci.*, 116, 28-37.
- Shirasuna K., Shimizu T., Sayama K., Asahi T., Sasaki M., Berisha B., Schams D., Miyamoto A., 2008. Expression and localization of apelin and its receptor APJ in the bovine corpus luteum during the estrous cycle and prostaglandin F2alpha-induced luteolysis. *Reproduction*, 135, 519-525.
- Sieber M.H., Spradling A.C., 2015. Steroid Signaling Establishes a Female Metabolic State and Regulates SREBP to Control Oocyte Lipid Accumulation. *Curr. Biol.*, 25, 993-1004.
- Silva J.R., Figueiredo J.R., van den Hurk R., 2009. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology*, 71, 1193-1208.
- Spicer L.J., Francisco C.C., 1997. The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology*, 138, 3374-3379.
- Spicer L.J., Schreiber N.B., Lagaly D.V., Aad P.Y., Douthit L.B., Grado-Ahur J.A., 2011. Effect of resistin on granulosa and theca cell function in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 124, 19-27.
- Staples C.R., Burke J.M., Thatcher W.W., 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 81, 856-871.
- Sturmey R.G., Leese H.J., 2003. Energy metabolism in pig oocytes and early embryos. *Reproduction*, 126, 197-204.
- Tabandeh M.R., Hosseini A., Saeb M., Kafi M., Saeb S., 2010. Changes in the gene expression of adiponectin and adiponectin receptors (AdipoR1 and AdipoR2) in ovarian follicular cells of dairy cow at different stages of development. *Theriogenology*, 73, 659-669.
- Tabandeh M.R., Golestani N., Kafi M., Hosseini A., Saeb M., Sarkoohi P., 2012. Gene expression pattern of adiponectin and adiponectin receptors in dominant and atretic follicles and oocytes screened based on brilliant cresyl blue staining. *Anim. Reprod. Sci.*, 131, 30-40.
- Tanaka Y., Park J.H., Tanwar P.S., Kaneko-Tarui T., Mittal S., Lee H.J., Teixeira J.M., 2012. Deletion of tuberous sclerosis 1 in somatic cells of the murine reproductive tract causes female infertility. *Endocrinology*, 153, 404-416.
- Thomas M.G., Bao B., Williams G.L., 1997. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *J. Anim. Sci.*, 75, 2512-2519.
- Trottier A., Battista M.C., Geller D.H., Moreau B., Carpentier A.C., Simoneau-Roy J., Baillargeon J.P., 2012. Adipose tissue insulin resistance in peripubertal girls with first-degree family history of polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.*, 98, 1627-1634.
- Tso L.O., Costello M.F., Albuquerque L.E., Andriolo R.B., Marjoribanks J., Macedo C.R., 2015. Metformin treatment before and during *in vitro* fertilization or intracytoplasmic sperm injection in women with polycystic ovary syndrome: summary of a Cochrane review. *Fertil. Steril.*, 104, 542-544.
- Tosca L., Uzbekova S., Chabrolle C., Dupont J., 2007a. Possible role of 5'AMP-activated protein kinase in the metformin-mediated arrest of bovine oocytes at the germinal vesicle stage during *in vitro* maturation. *Biol. Reprod.*, 77, 452-465.
- Tosca L., Chabrolle C., Uzbekova S., Dupont J., 2007b. Effects of metformin on bovine granulosa cells steroidogenesis: possible involvement of adenosine 5' monophosphate-activated protein kinase (AMPK). *Biol. Reprod.*, 76, 368-378.
- Tosca L., Solnais P., Ferré P., Foufelle F., Dupont J., 2006. Metformin-induced stimulation of adenosine 5' monophosphate-activated protein kinase (PRKA) impairs progesterone secretion in rat granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 75, 342-351.
- Van Winkle L.J., 2001. Amino acid transport regulation and early embryo development. *Biol. Reprod.*, 64, 1-12.
- Wakefield S.L., Lane M., Schulz S.J., Hebart M.L., Thompson J.G., Mitchell M., 2008. Maternal supply of omega-3 polyunsaturated fatty acids alter mechanisms involved in oocyte and early embryo development in the mouse. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 294, E425-434.
- Wang Z., Lin P., Yu S., 2013. Effects of ghrelin on developmental competence and gene expression of *in vitro* fertilized ovine embryos. *Theriogenology*, 79, 695-701.
- Williams S.A., Blache D., Martin G.B., Foot R., Blackberry M.A., Scaramuzzi R.J., 2001. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reproduction*, 122, 947-956.
- Wu S., Divall S., Nwaopara A., Radovick S., Wondisford F., Ko C., Wolfe A., 2014. Obesity-induced infertility and hyperandrogenism are corrected by deletion of the insulin receptor in the ovarian theca cell. *Diabetes*, 63, 1270-1282.
- Young J.M., McNeilly A.S., 2010. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction*, 140, 489-504.
- You J., Lee J., Hyun S.H., Lee E., 2012. L-carnitine treatment during oocyte maturation improves *in vitro* development of cloned pig embryos by influencing intracellular glutathione synthesis and embryonic gene expression. *Theriogenology*, 78, 235-243.
- Zeron Y., Ocheretny A., Kedar O., Borochov A., Sklan D., Arav A., 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction*, 121, 447-454.
- Zhou C., Fitzharris G., Alper S.L., Baltz J.M., 2013. Na⁺/H⁺ exchange is inactivated during mouse oocyte meiosis, facilitating glycine accumulation that maintains embryo cell volume. *J. Cell. Physiol.*, 228, 2042-2053.

Résumé

L'influence du poids et des apports énergétiques sur la fertilité chez les animaux, mais aussi chez l'Homme est reconnue depuis très longtemps. Les animaux ou individus en mauvaise condition, ou perdant du poids, ont généralement des performances reproductives décevantes. Les pertes économiques associées à l'infertilité sont parfois importantes, et dépassent chez le bovin largement le coût de l'insémination et de la semence. De nombreux arguments suggèrent que l'influence de la nutrition sur la reproduction s'exerce par l'intermédiaire des composants du régime alimentaire comme les lipides, le glucose, les acides aminés et les minéraux au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire et aussi directement au niveau des gonades. Ces effets nutritionnels peuvent aussi s'exercer par une modulation des hormones du métabolisme comme l'insuline, l'insulin-like growth factor 1, l'hormone de croissance, la ghréline, les hormones thyroïdiennes ou encore les hormones produites et secrétées par le tissu adipeux blanc. Dans cette revue nous rapportons les effets connus de ces nutriments et hormones métaboliques sur le développement folliculaire, les cellules ovarien, la qualité oocyttaire ainsi que sur le développement embryonnaire précoce en prenant l'exemple de différentes espèces de mammifères.

Abstract

Nutrition and metabolism: what links with follicle and embryo development in mammals?

The influence of weight and energy intake on fertility animals and humans has been known for a long time. Animals in poor condition, or losing weight, have generally poor reproductive performance. Economic losses associated with infertility can be very important and for example in cattle, they can considerably exceed the cost of artificial insemination. Some evidence suggests that the

effects of nutrition on reproductive function are mediated through dietary components such as lipids, glucose, amino acids, and minerals acting on the hypothalamic-pituitary axis but also directly on the gonads. These nutritional effects may also be mediated through changes in metabolic hormones such as insulin, insulin-like growth factor 1, growth hormone, ghrelin, thyroid hormones or hormones produced and secreted by the white adipose tissue. Here, we will review the known effects of these nutritional metabolites, nutrients and metabolic hormones on the follicular development, the activity of ovarian cells, oocyte quality and on early embryonic development in different mammalian species.

DUPONT J., SCARAMUZZI R.J., FROMENT P., 2016. Nutrition et métabolisme : quel lien avec le développement folliculaire et embryonnaire chez les mammifères ? INRA Prod. Anim., 29, 103-116.