

- L'Anson H., Foster D.L., Foxcroft G.R., Booth P.J., 1991. Nutrition and reproduction. *Oxf. Rev. Reprod. Biol.*, 13, 239-311.
- Katila T., Koskinen E., 1991. Onset of luteal activity in different types of mares after winter anoestrus. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 44, 678-679.
- Kilmer D.M., Sharp D.C., Berglund L.A., Grubbaugh W., McDowell K.J., Peck L.S., 1982. Melatonin rhythms in Pony mares and foals. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 303-307.
- Malinowski K., Johnson A.L., Scanes C.G., 1985. Effects of interrupted photoperiods on the induction of ovulation in anoestrous mares. *J. Anim. Sci.*, 61, 4, 951-955.
- Nishikawa Y., 1959. Studies on reproduction in horses. *Jap. Racing Ass., Tokio.*
- Palmer E., Driancourt M.A., 1983. Some interactions of season of foaling, photoperiod and ovarian activity in the equine. *Livest. Prod. Sci.*, 10, 197-210.
- Palmer E., Guillaume D., 1992. Photoperiodism in the equine species - what is a long night ? *Anim. Reprod. Sci.*, 28, 21-30.
- Palmer E., Driancourt M.A., Ortavant R., 1982. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anoestrous. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 275-282.
- Quintero B., Manzo M., Diaz T., Verde O., Benachio N., Sifontes L., 1994. Reproductive behavior of thoroughbred mares in a tropical environment. 6th International Symposium on Equine Reproduction, August 7-13, Caxambu Minas Gerais Brazil, 111-112.
- Scraba S.T., Ginther O.J., 1985. Effects of lighting programs on onset of the ovulatory season in mares. *Theriogenology*, 24, 667-679.
- Sharp D.C., Grubbaugh W.R., 1983. Pulsatile secretion of melatonin during the scotophase in mares. *Biol. Reprod.*, 28, Abst. 136.
- Sharp D.C., Kooistra L., Ginther O.J., 1975. Effect of artificial light on the oestrus cycle of the mare. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 23, 241-246.
- Sharp D.C., Vernon M.W., Zavy M.T., 1979. Alteration of seasonal reproductive patterns in mares following superior cervical ganglionectomy. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 27, 1-7.
- Sharp D.C., Grubbaugh W., Berglund L.A., Seamans K.W., 1980a. Isoproterenol-stimulation of melatonin release in mares. *J. Anim. Sci.*, 51, Suppl. 1, Abst. 534.
- Sharp D.C., Grubbaugh W., Zavy M.T., Vernon M.W., 1980b. Seasonal variation in melatonin secretory patterns in mares. *J. Anim. Sci.*, 51, Suppl. 1, Abst. 535.
- Sharp D.C., Grubbaugh W.R., Gum G.C., Wirsig C.R., 1984. Demonstration of a direct retinohypothalamic projection in the mare. Society for the study of reproduction 17th annual meeting, July 23-26, University of Wyoming Laramie, Wyoming USA, Abst. 252.
- Spadetta M., Guillaume D., Palmer E., 1995. Immediate adaptation of melatonin secretion to light-dark cycle in equine species. *Biol. Rhythm Res.*, 26, 445.
- Stankov B., Cozzi B., Lucini V., Fumagalli P., Scaglione F., Fraschini F., 1991. Characterization and mapping of melatonin receptors in the brain of three Mammalian species : Rabbit, Horse and Sheep. *Neuroendocrinology*, 53, 214-221.

C. BRIANT

INRA-Haras
Nationaux, PRMD,
Equipe Reproduction
Equine, 37380 Nouzilly

e-mail :
christine.briant@tours.
inra.fr

Maîtrise de l'activité ovarienne chez la jument

Outre les traitements d'induction de la cyclicité saisonnière et de synchronisation des cycles pendant la période d'activité sexuelle, la maîtrise de l'activité ovarienne de la jument comprend également les techniques d'induction d'ovulation et de stimulation de la croissance folliculaire, dite superovulation. Nous présenterons tout d'abord les traitements d'induction d'ovulation car il sont bien maîtrisés ; cependant les plus efficaces, c'est-à-dire permettant d'induire l'ovulation dans le délai désiré et avec le minimum d'interventions chez l'animal, ne sont pas encore commercialisés en France. Les techniques de superovulation sont encore testées au plan expérimental.

INRA Productions Animales, décembre 1999

L'induction de l'ovulation

L'induction pharmacologique de l'ovulation est obtenue par la production d'un pic de LH, soit d'origine exogène par injection d'hormones gonadotropes à activité LH, soit d'origine endogène par administration d'un analogue du GnRH.

L'administration des hormones gonadotropes se fait par injection unique intraveineuse lorsque le follicule dominant atteint la taille préovulatoire (30 à 40 mm). Le produit est considéré efficace s'il permet d'induire l'ovulation dans les 24 à 48 heures qui suivent l'injection. Associée au suivi ovarien par échographie trans-rectale, cette technique permet une programmation rationnelle des

inséminations. En France seule l'hCG (hormone chorionique humaine, 2500 UI par injection) est commercialisée ; mais son administration répétée sur un même animal entraîne la formation d'anticorps, associée à une baisse d'efficacité. Certains praticiens rapportent également l'observation de lutéolyse précoce.

Une alternative intéressante est fournie par l'injection de LH équine (1,5 mg par injection), produite à partir d'un extrait hypophysaire équin, qui n'est cependant disponible qu'à titre expérimental. Utilisée en routine à l'INRA de Nouzilly depuis 1987, cette technique permet d'induire une ovulation en 24 à 48 h chez plus de 85 % des juments traitées.

L'administration de peptides de synthèse analogues du GnRH peut s'effectuer sous deux formes pharmaceutiques différentes :

- la buséreline (commercialisée en France et utilisable également chez la vache) est injectée toutes les 12 heures, à partir du moment où le follicule dominant atteint la taille préovulatoire. L'administration intramusculaire de 40 µg par injection jusqu'à l'ovulation (3,8 injections en moyenne) permet d'obtenir 67 % d'ovulations dans les 48 heures (vs 20 % dans les 80 heures chez les témoins). L'administration intraveineuse de 20 µg par injection en 4 injections permet d'obtenir 83 % d'ovulations dans les 40 heures.

- le deslorelin est commercialisé en Australie et est utilisé dans d'autres pays, notamment aux Etats-Unis. C'est un implant sous-cutané, contenant 2,1 mg de principe actif, à libération de courte durée, qui est administré quand le follicule dominant atteint 35 mm. Son efficacité est semblable à celle des hormones gonadotropes (90 % d'ovulations dans les 48 heures), sa tolérance est bonne et il n'y a pas de perte d'activité dans le temps. Il n'est pas actuellement commercialisé en France.

Les traitements de superovulation

Ces traitements permettent d'induire, au cours d'un même cycle, la croissance de plusieurs follicules préovulatoires, qui doivent aboutir à la production de plusieurs embryons viables par cycle. Dans l'espèce équine, l'association de cette technique à celle du transfert d'embryons permettrait de proposer aux éleveurs un moyen d'augmenter la productivité des juments.

Chez la jument, espèce mono-ovulante, au cours de la phase folliculaire, la FSH endogène stimule l'émergence et la croissance des follicules qui sécrètent des quantités croissantes d'oestradiol et d'inhibine jusqu'à l'ovulation. L'inhibine est une protéine qui exerce un rétro-contrôle négatif sur la sécrétion de FSH hypophysaire. Quand le follicule dominant atteint environ 20 mm, la FSH endogène est fortement déprimée et seul le follicule dominant peut atteindre la taille préovulatoire et ovuler lors de la montée de LH.

Les traitements de superovulation consistent à compenser la dépression de la FSH

endogène, soit en injectant une hormone à activité FSH, soit en stimulant la production de FSH endogène par neutralisation de l'inhibine. L'immunisation anti-inhibine peut être active (vaccination anti-inhibine) ou passive (injection d'anticorps anti-inhibine).

Les gonadotrophines exogènes

Les hormones gonadotropes disponibles sur le marché, eCG (equine chorio-gonadotrophin, anciennement appelée PMSG) et FSH porcine ne sont pas efficaces chez la jument, du fait de la non adéquation hormones/récepteurs et seule la FSH équine permet d'obtenir une poly-ovulation.

Au plan expérimental des préparations de FSH obtenues à partir d'extraits hypophysaires équins sont testées depuis environ 15 ans. Ces préparations sont injectées quotidiennement par voie intramusculaire (0,75 mg de FSH) pendant la phase de croissance folliculaire. Elles permettent d'augmenter le nombre d'ovulations par cycle de façon répétable (2 à 4 ovulations/cycle traité vs 1/cycle témoin), mais l'augmentation du nombre d'embryons, collectés à 7 jours, varie selon les animaux et les cycles et n'est pas reproductible d'une expérience à l'autre (quelques expériences rapportent cependant l'obtention de 2 embryons/cycle traité vs 0,7/cycle témoin).

Différentes hypothèses sont proposées et actuellement testées : effet globalement nocif du traitement, contamination trop importante en LH, ovulation de mauvaise qualité, résorption embryonnaire précoce.

Il est certain qu'à plus long terme seul un produit répondant aux exigences du marché, hormone de synthèse ou recombinante, pourra être commercialisé.

L'immunisation anti-inhibine

Cette voie de recherche est intéressante parce qu'elle utilise les hormones endogènes. Des essais d'immunisation anti-inhibine chez la jument sont publiés depuis 1992. Cette technique permet d'augmenter le nombre d'ovulations (jusqu'à 4 en moyenne par cycle), cependant une seule publication mentionne la production d'embryons (1,6 embryon/cycle après immunisation active). Les travaux sur ce thème sont poursuivis, notamment pour mieux comprendre les mécanismes de régulation de la mono-ovulation.

Pour en savoir plus

Briant C., 1999. La superovulation chez la jument : point sur les techniques et débouchés potentiels. 25e journée de la recherche équine, Paris, Institut du cheval, DEFI, 3 mars 1999, 69-75.

Bruyas J.-F., Battut I., Trocherie E., Hecht S., Fieni F., Egron L., Tainturier D., 1996. Efficacité de la buséreline pour induire les ovulations chez la jument cyclée : essais de deux protocoles de traitement. 22e Journée de la recherche équine, Paris, Institut du cheval, 28 février 1996, 8-18.

Gaillot C., Guillaume D., Lecompte F., Combarous Y., 1994. Les gonadotrophines équine : de la connaissance fondamentale à l'élevage. 20e Journée de la recherche équine, Paris, CEREOPA, 2 mars 1994, 145-155.

Harrison L.A., Squires E.L., McKinnon A., 1991. Comparison of hCG, busserelin and luprostriol for induction of ovulation in cycling mares. *Equine Vet. Sci.*, 11, 163-166.

Mc Kinnon A., Figueroa S., Skidmore J., Vasey J.R., Trigg T., 1993. Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue Deslorelin. *Equine Vet. J.*, 25, 321-323.

Mc Kinnon A., Vasey J., Lescun T., Trigg T., 1997. Repeated use of a GnRH analogue Deslorelin (Ovuplant) for hastening ovulation in the transitional mare. *Equine Vet. J.*, 29, 153-155.

N. GÉRARD

INRA-Haras
Nationaux, PRMD,
Equipe Reproduction
Equine, 37380 Nouzilly

e-mail :
nadine.gerard@tours.
inra.fr

Développement folliculaire terminal : évolution biochimique du follicule

Le développement folliculaire terminal regroupe l'ensemble des processus de croissance et de maturation du follicule dominant depuis sa sélection jusqu'à l'ovulation, ainsi que la régression (atrésie) des follicules dominés. Chez la jument, la sélection du follicule dominant a lieu au moins 6 jours avant l'ovulation, lorsque son diamètre atteint 15-20 mm. A la fin de la phase folliculaire, le follicule dominant atteint 40 mm de diamètre et acquiert la capacité à ovuler en réponse à une stimulation LH (endogène ou exogène). A ce stade, les événements impliqués incluent la maturation du complexe ovocyte-cumulus ainsi que la différenciation des cellules folliculaires (cellules de la granulosa et cellules de la thèque). Ces événements mènent à la rupture du mur folliculaire (ovulation), à la production d'un complexe ovocyte-cumulus mature, c'est à dire apte à être fécondé, et à la formation d'un corps jaune sécrèteur de progestérone (lutéinisation).

Les hormones gonadotropes hypophysaires LH et FSH jouent un rôle essentiel dans le contrôle endocrinien du développement folliculaire, alors que les stéroïdes, les facteurs de croissance et autres facteurs peptidiques sont impliqués à un niveau local, comme facteurs paracrines ou autocrines, modulateurs de l'action des gonadotropines. A ce jour, les mécanismes physiologiques impliqués dans la régulation endocrine de la croissance et de la maturation folliculaire sont relativement bien connus, alors que les mécanismes locaux restent encore à déterminer pour la plupart. Une meilleure connaissance des constituants du fluide folliculaire et de l'activité des cellules folliculaires permettrait vraisemblablement de mieux comprendre, voire de résoudre certains des problèmes rencontrés dans l'espèce équine lors de la procréation assistée, au cours de la maturation et de la fécondation *in vitro*.

Cet article passe en revue les connaissances actuelles sur la composition du fluide

folliculaire équin et sur l'activité des cellules du follicule dans cette espèce.

Réceptivité aux hormones gonadotropes et stéroïdogénèse folliculaire

L'ovaire est le site majeur de synthèse de stéroïdes, qui sont le reflet de l'état physiologique des follicules. La présence de stéroïdes dans le fluide folliculaire de jument a été montré dès 1960 (Short 1960), et la capacité stéroïdogène des cellules folliculaires a été décrite quelques années plus tard (Ryan et Short 1965). Dans l'espèce équine, la croissance du follicule dominant est caractérisé par l'augmentation intrafolliculaire des concentrations d'oestradiol-17 β et de progestérone (Fay et Douglas 1987, Sirois *et al* 1990, Gérard *et al* 1998, Gérard et Monget 1998), associée à l'augmentation du nombre de récepteurs à LH (Fay et Douglas 1987, Goudet *et al* 1999) et de l'expression des enzymes impliquées dans la synthèse des stéroïdes. En fin de croissance, le follicule dominant présente une activité stéroïdogène maximale ; il produit une quantité abondante d'oestradiol-17 β . Celui-ci est un des signaux participant à l'augmentation des taux circulants de LH responsable de la maturation préovulatoire. Cette augmentation de la synthèse d'oestradiol-17 β au cours de la croissance folliculaire s'accompagne de l'augmentation de la quantité d'aromatase, enzyme de conversion des androgènes en oestrogènes. Cette maturation terminale, qui peut également être induite par injection de LH exogène, se caractérise par une baisse de la concentration intrafolliculaire d'oestradiol-17 β et une augmentation de la concentration de progestérone, accompagnées d'une baisse d'expression des enzymes impliquées dans la synthèse des stéroïdes. A ces stades, les follicules dominés (vraisemblablement atrétiques) sont caracté-