

Expression du système IGF et des récepteurs aux gonadotropines au sein du complexe ovocyte-cumulus bovin au cours de la maturation

Expression of components of the insulin-like growth factor system and gonadotropin receptors in bovine cumulus oocyte complexes during oocyte maturation

F. NUTTINCK (1), G. CHARPIGNY (2), P. MERMILLOD (3), H. LOOSFELT (4), G. MEDURI (4), S. FRERET (1), B. GRIMARD (1), Y. HEYMAN (2)

(1) UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, INRA - ENVA, 94704 Maisons-Alfort, France

(2) UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, INRA - ENVA, 78352 Jouy-en-Josas, France

(3) INRA, Unité de Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37 380 Nouzilly, France

(4) INSERM, Unité de Recherches Hormones et Reproduction, Hôpital de Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

INTRODUCTION

L'Insulin-like growth factor (IGF-I) stimule la maturation ovocytaire et le développement embryonnaire *in vitro* chez la vache (Makarevich et Markkula, 2002). L'expression du système IGF est largement explorée au sein de la paroi du follicule ovarien chez les ruminants (Lucy, 2000 ; Monget *et al.*, 2002). En revanche, elle est peu étudiée au sein du complexe ovocyte-cumulus (COC). Nous avons analysé l'expression de l'IGF-I, de l'IGFR-I, de l'IGFBP-2, de l'IGFBP-4 ainsi que celle des récepteurs aux gonadotropines, FSHR et LHR, dans le COC bovin au cours de la maturation ovocytaire.

1. MATERIEL ET METHODES

Les ovaires sont récoltés à l'abattoir. Les COCs sont obtenus par ponction des follicules de 3 à 5 mm et sont cultivés durant 24h à 39°C dans une atmosphère humide à 5 % de CO₂. Le milieu de maturation est composé de TCM199 (Sigma) contenant 10 % (v / v) de sérum de veau fœtal, 1 µg / ml de 17β estradiol (Sigma), 10 µg / ml de pLH et 10 µg / ml de pFSH (la pLH et la pFSH, purifiées à partir de glandes pituitaires porcines, sont fournies par le Prof. J.F. Beckers, Liège, Belgique). Des conditions de culture définies pour induire différents taux de maturation sont également utilisées (Nuttinck *et al.*, 2002). Il s'agit de TCM199 seul ou additionné de 10 ng / ml d'*epidermal growth factor* (EGF souris, Sigma). L'expression des ARNm codant pour l'IGF-I, l'IGFR-I, l'IGFBP-2, l'IGFBP-4 ainsi que pour les récepteurs des gonadotropines est analysée par RT-PCR et *southern-blots* hybridés avec des sondes spécifiques radioactives. L'expression des protéines est analysée par *western-blot* pour l'IGFBP-2 et la FSHR.

2. RESULTATS

Les ARNm de l'IGFR-I et de l'IGFBP-2 sont détectés dans le cumulus et l'ovocyte. Ceux de l'IGF-I, de l'IGFBP-4 et du FSHR sont détectés uniquement dans le cumulus. L'expression de LHR n'est pas détectée dans le COC. La topographie de l'expression du système IGF et des récepteurs aux gonadotropines au sein du COC n'est pas affectée par l'étape de maturation. Le niveau d'expression

des ARNm et des protéines de l'IGFBP-2 et du FSHR diminue significativement ($p < 0,05$) au sein du COC mûri. Lorsque les COCs sont cultivés en milieu défini, l'expression de l'IGFBP-2 et du FSHR reste élevée dans le TCM199 seul aussi bien pour l'ARNm que pour la protéine. Elle diminue significativement ($p < 0,05$) en présence de 10 ng / ml de EGF.

3. DISCUSSION

L'expression de l'IGF-I n'est mise en évidence que dans le cumulus tandis que l'expression de son récepteur, l'IGFR-I, est détectée dans le cumulus et dans l'ovocyte. Ce résultat suggère une action autocrine et paracrine de l'IGF-I dans le COC. La diminution conjointe de l'expression de l'IGFBP-2 et du FSHR au cours de la maturation suggère que la diminution de l'influence de la FSH s'accompagne d'une augmentation de la biodisponibilité de l'IGF-I dans le microenvironnement de l'ovocyte.

CONCLUSION

Nos résultats montrent une localisation cellulaire spécifique de l'expression des membres du système IGF au sein du COC bovin. Ils suggèrent de nouvelles interactions entre les compartiments somatique et germinale du COC. Les modifications synchrones de l'expression de l'IGFBP-2 et du FSHR suggèrent la possibilité d'actions synergiques de l'IGF-I et de la FSH au cours de la maturation ovocytaire.

Nous remercions Yvette Lavergne (INRA, Jouy-en-Josas, France) et Dr Catherine Guyarder-Joly (UNCEIA, Chateaufvillain, France) pour l'approvisionnement en COCs mûris in vitro et in vivo respectivement.

Lucy M.C. 2000 J. Dairy Science, 83, 1635-1647

Makarevich A.V., Markkula M. 2002 Biol. Reprod., 66, 386-392

Monget P., Fabre S., Mulsant P., Lecerf F., Elsen J.M., Mazerbourg S., Pisselet C., Monniaux D. 2002 Dom. An. Endo., 23, 139-154

Nuttinck F., Reinaud P., Tricoire H., Vigneron C., Peynot N., Mialot J.P., Mermillod P., Charpigny G. 2002 Mol. Reprod. Dev., 61, 93-101