



Introduction

Des suppléments alimentaires en acides gras polyinsaturés oméga-3 (AGPI n-3), tels que les graines de lin, riche en acide α -linoléique (ALA; C18: 3 n-3) et l'huile de poisson, riche en acide eicosapentaénoïque (EPA, C20: 5 n-3) et en acide docosahexaénoïque (DHA, C22: 6 n-3), sont utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez la vache laitière. Les AGPI n-3 ont montré des effets bénéfiques sur l'environnement utérin, l'activité ovarienne, la croissance folliculaire et la qualité de l'ovocyte. Le DHA est considéré comme l'AGPI n-3 le plus physiologiquement actif de la famille n-3. **L'objectif** de ce travail est d'étudier, chez les bovins, si le **DHA** a un effet direct sur la maturation de l'ovocyte (MIV) et sur sa compétence au développement après activation parthénogénétique (AP) (c'est-à-dire que le clivage et le développement embryonnaire va être initié sans fécondation, ainsi le développement embryonnaire ne dépend que de la qualité de l'ovocyte) ou fécondation *in vitro* (FIV) et d'en comprendre les mécanismes d'action.

Matériel et Méthodes

Expérimentation 1 (MIV)

MIV (22h - milieu sub-optimal) des complexes ovocytes-cumulus (COCs) bovins en absence ou présence de **1, 10 et 100 μ M DHA**.

Evaluation:

- **Viabilité** des ovocytes (kit Live/Dead)
- **Stades méiotiques** des ovocytes (marquage ADN par Hoechst)

Expérimentation 2 (AP)

MIV (22h) des COCs bovins en absence ou présence de **1, 10 et 100 μ M DHA** suivie par l'AP et développement *in vitro* (DIV) pendant 7 jours.

Sécrétion de progestérone (P4)

Mesure de la progestérone (surnageant-ELISA)

Expérimentation 3 (FIV)

MIV (22h) des COCs bovins en absence ou présence de **1 μ M DHA**, FIV (1×10^6 spz/ml) pendant 18h et DIV pendant 7 jours.

Evaluation:

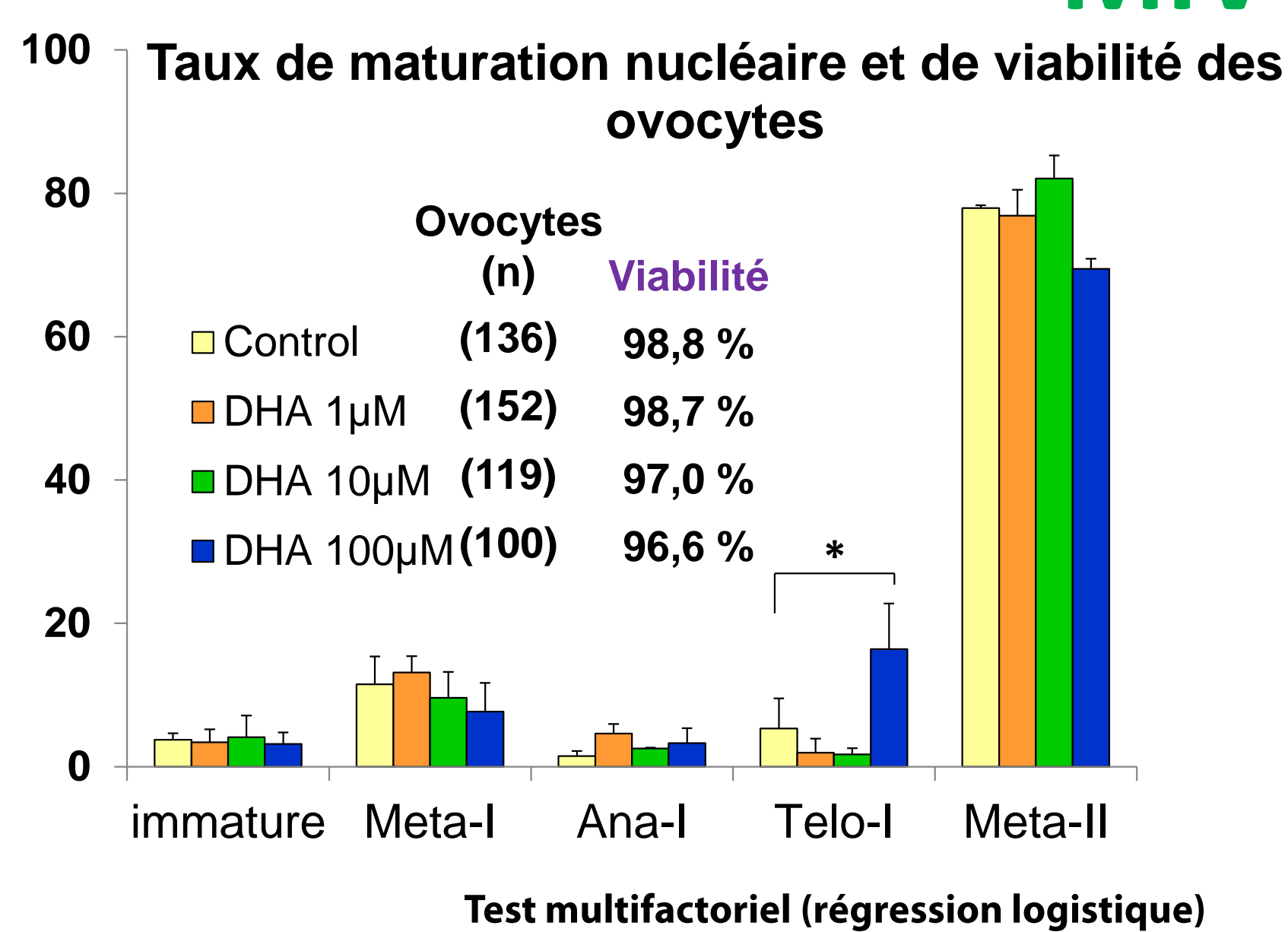
- **Taux de clivage (Jour 2)**
- **Taux de blastocystes (Jour 7)**
- **Nombre de cellules embryonnaires (J7)**

Expression des gènes –candidats dans les cellules de cumulus (CC)

ARNs extraits à partir de CC séparées de COCs après 22h de MIV en absence ou présence de 1, 10 et 100 μ M DHA et analysés par RT-qPCR (n=5 par condition). La moyenne géométrique de trois gènes rapporteurs (*RPL19*, *RPS9* et *GAPDH*) a été utilisée pour normaliser les valeurs d'expression.

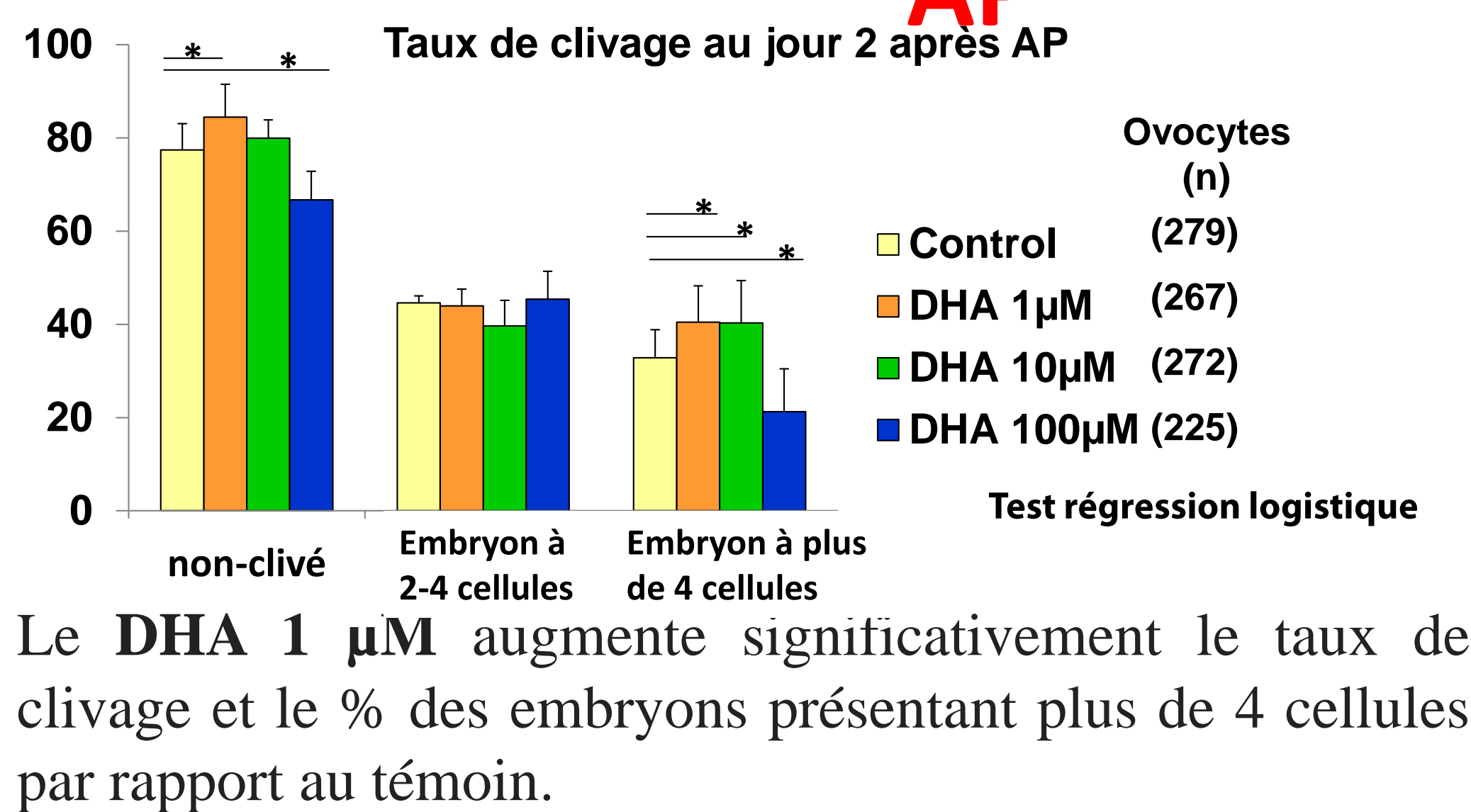
Résultats

MIV

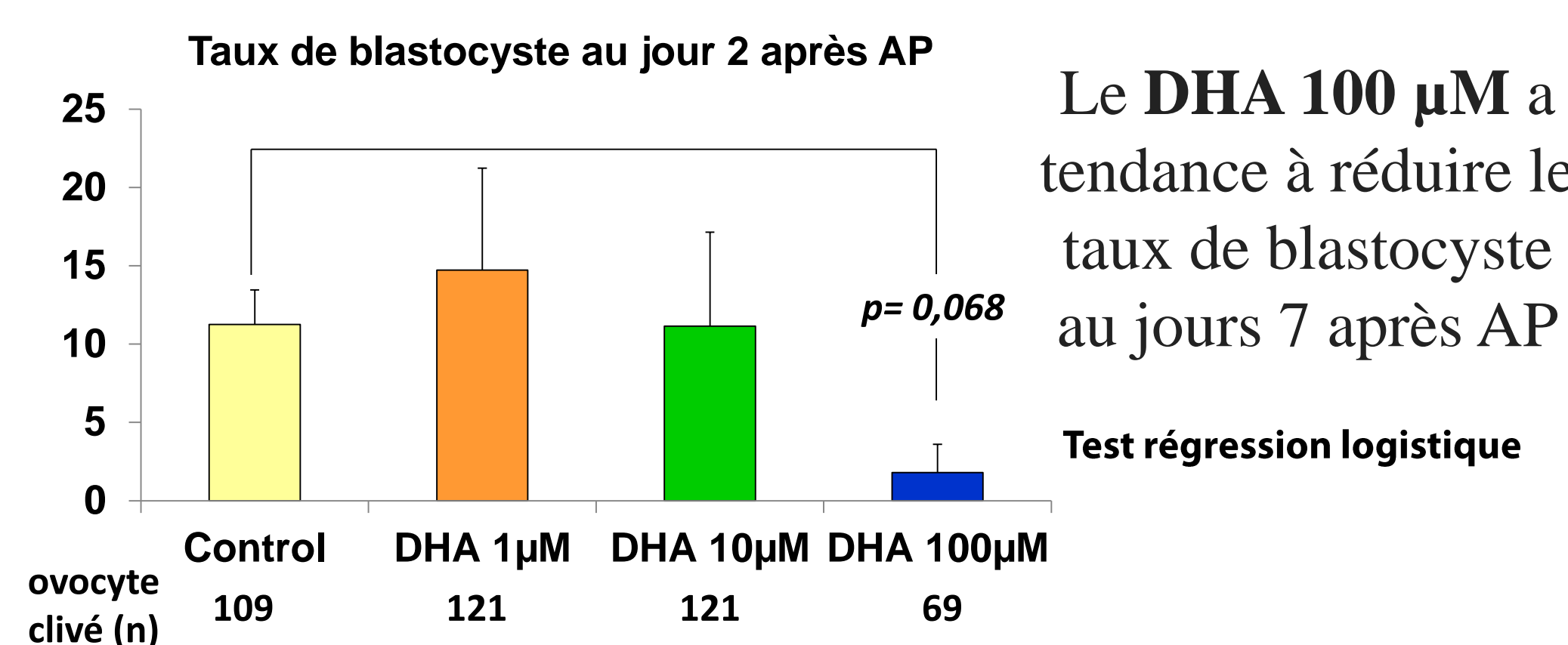


Il n'y a pas d'effets du DHA 1, 10 et 100 μ M sur le taux de viabilité et de maturation nucléaire (Telo-I + Meta-II) des ovocytes bovins. Toutefois, le **DHA 100 μ M** augmente significativement le taux des ovocytes en Téléphase-1 par rapport au témoin ($P < 0,05$).

AP

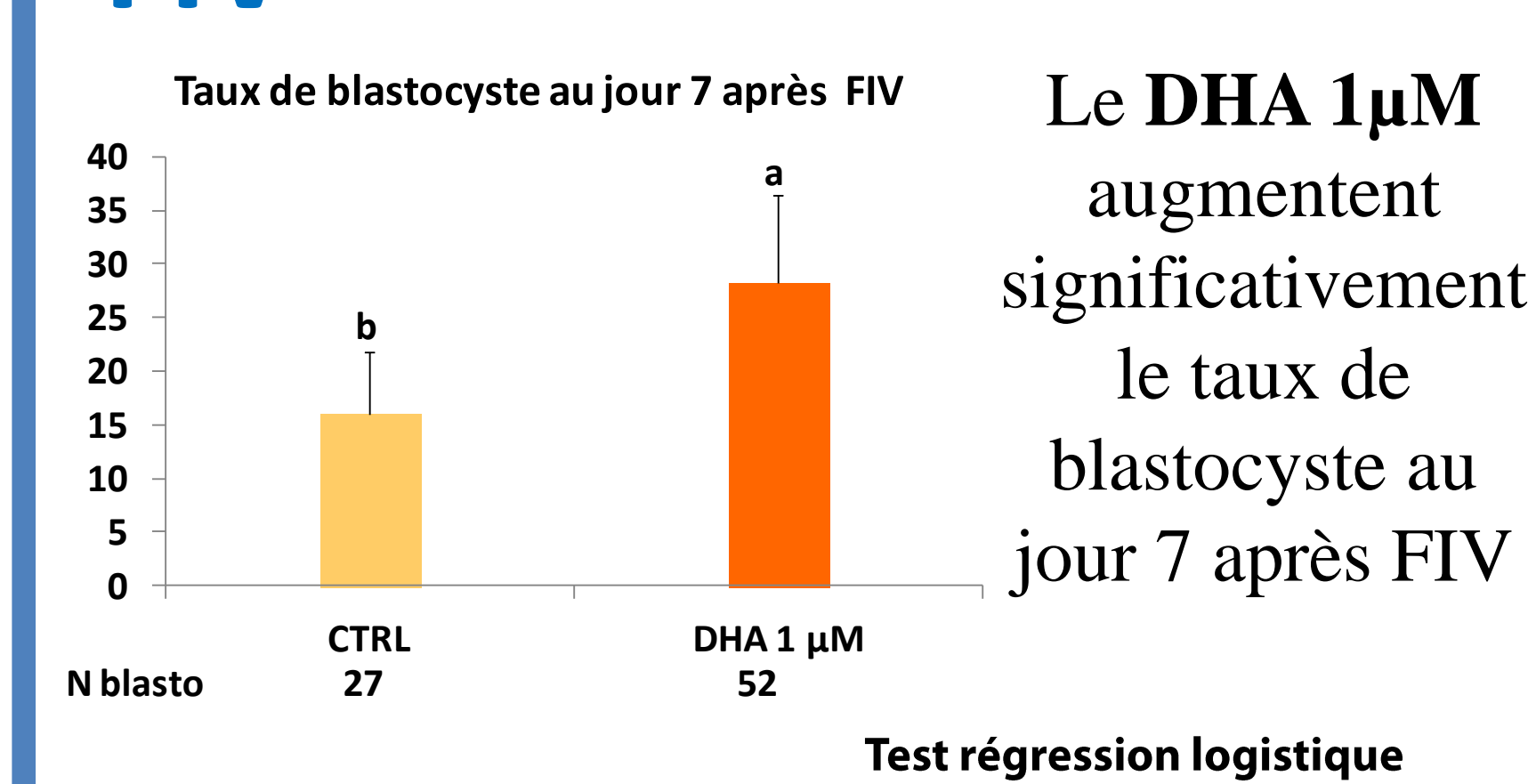


Le **DHA 1 μ M** augmente significativement le taux de clivage et le % des embryons présentant plus de 4 cellules par rapport au témoin.

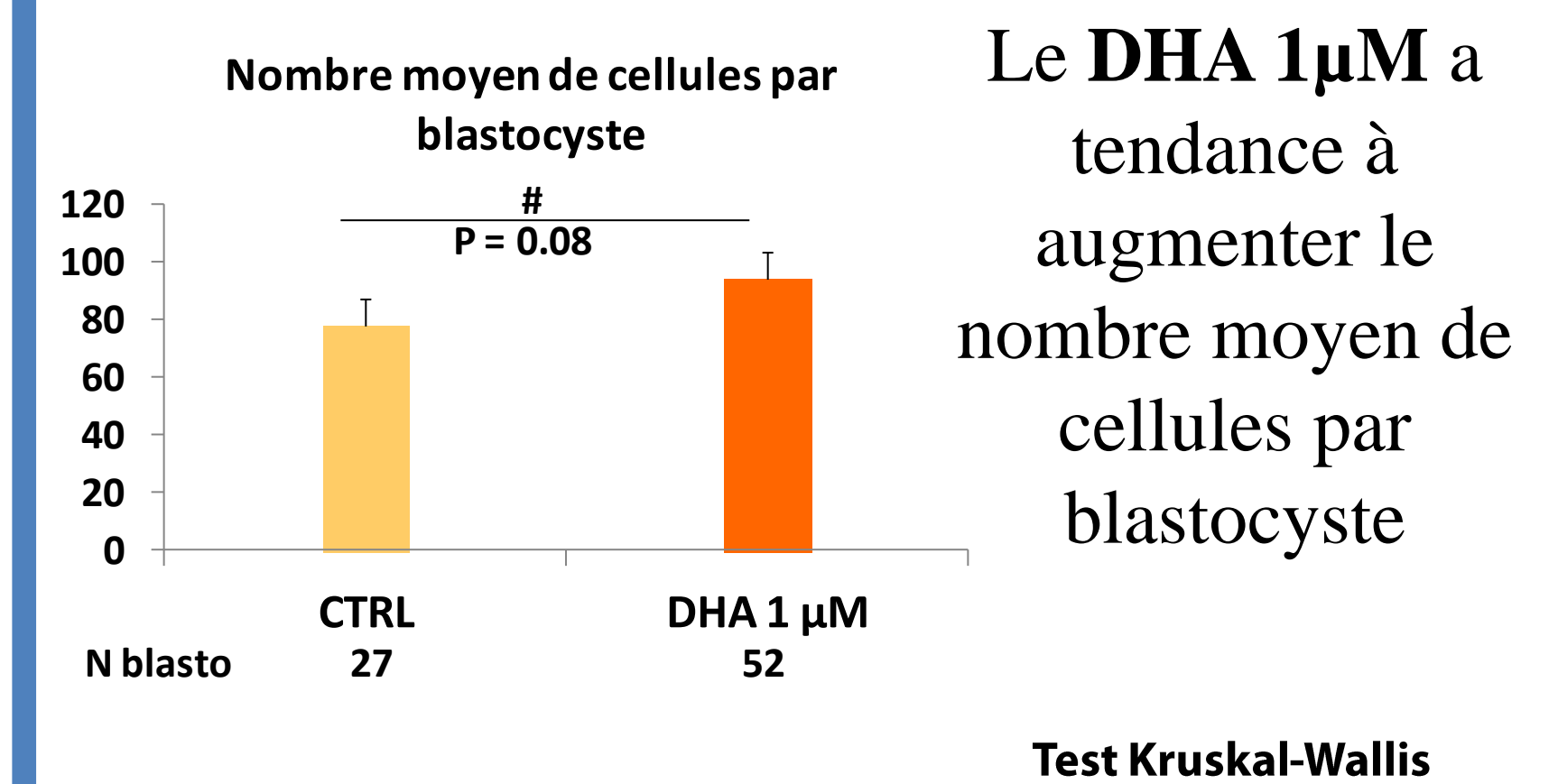


Le **DHA 100 μ M** a tendance à réduire le taux de blastocyste au jour 7 après AP ($p = 0,068$).

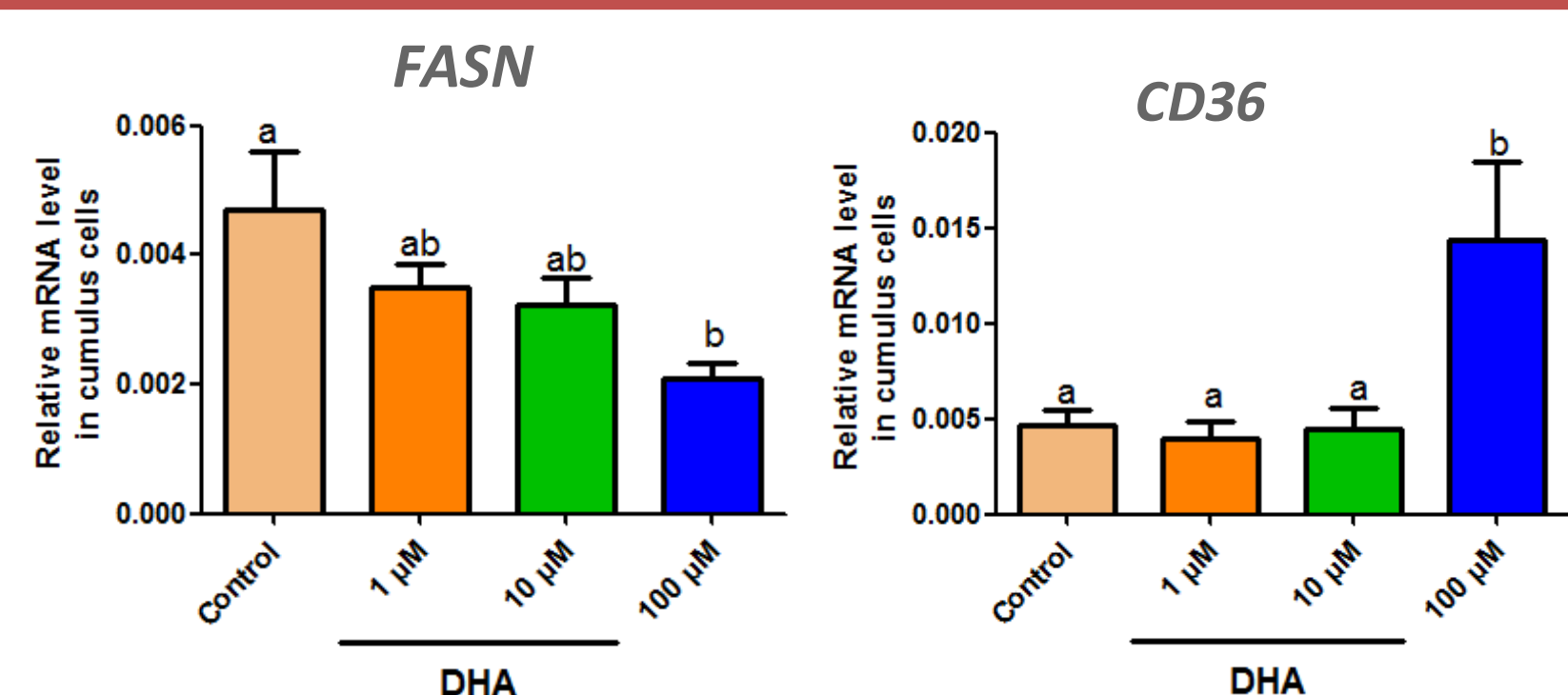
FIV



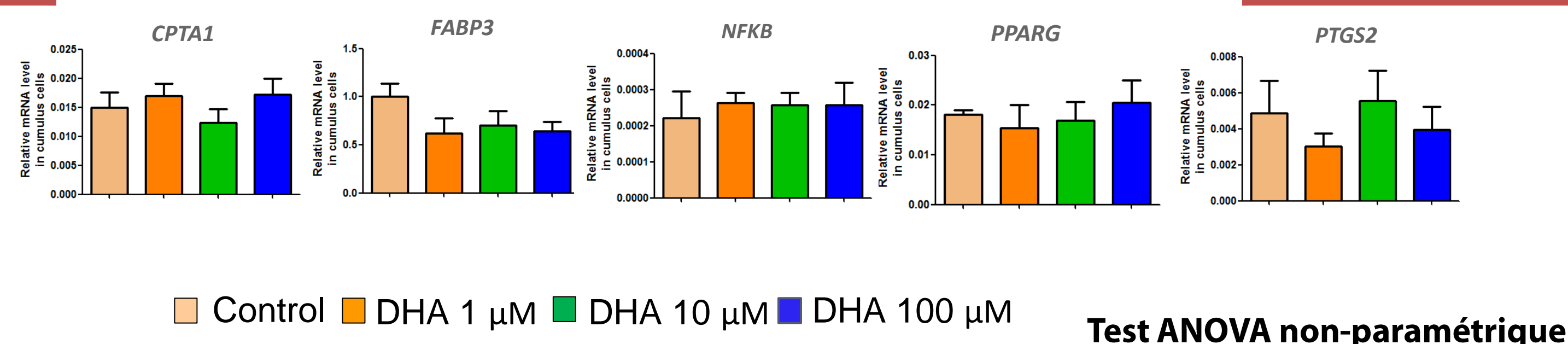
Le **DHA 1 μ M** augmentent significativement le taux de blastocyste au jour 7 après FIV.



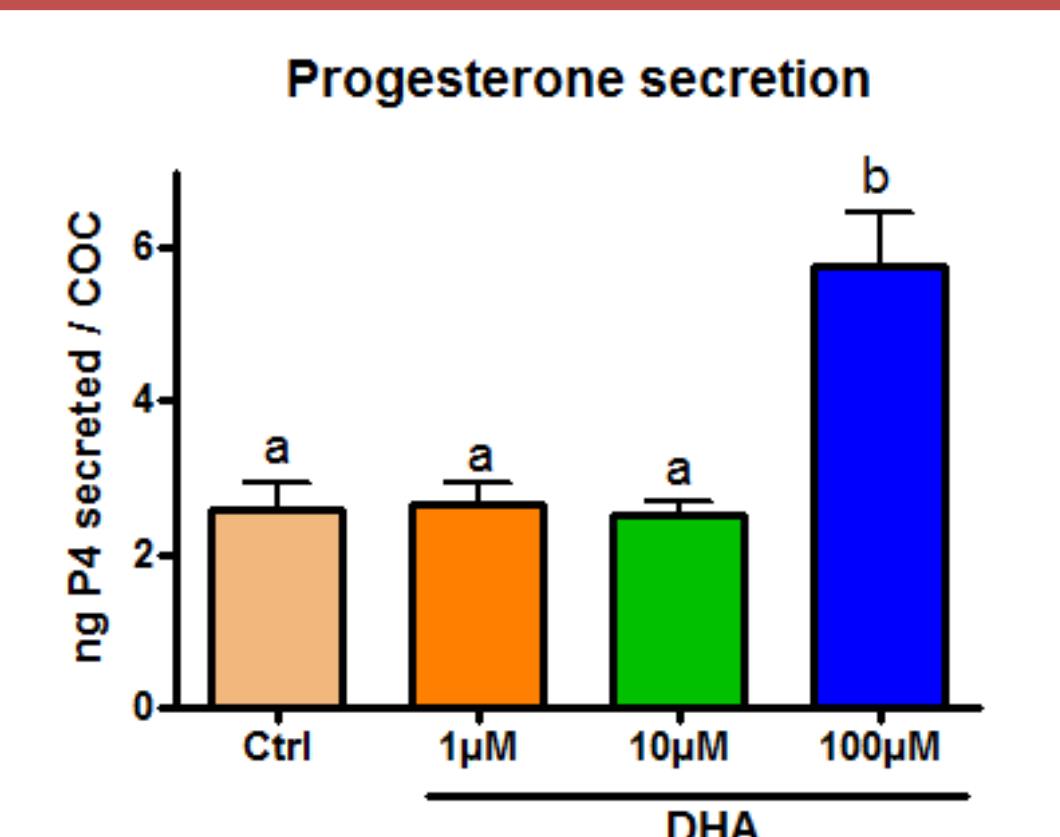
Le **DHA 1 μ M** a tendance à augmenter le nombre moyen de cellules par blastocyste ($P = 0,08$).



L'expression du gène *CD36* a augmenté significativement après traitement par le **DHA 100 μ M** par rapport au témoin ($p < 0,05$). L'expression de *FASN* était significativement plus faible ($P < 0,05$) après traitement par le **DHA 100 μ M** par rapport au témoin. L'expression des autres gènes codant pour le métabolisme lipidique (*FABP3*, *FABP5*, *PLIN2*, *CPT2*, *PNPL2*, *DGAT1*, *CPTA1*), le facteur de transcription (PPARG), la synthèse de prostaglandine (PTGS2) et la voie de signalisation (NFKB) ne diffère pas entre les groupes.



Test ANOVA non-paramétrique



Le **DHA 100 μ M** augmente significativement le taux de progestérone secrété par les CC après 22 h de MIV.

Conclusion

- Le traitement des ovocytes bovins avec le DHA 1, 10 et 100 μ M pendant la MIV n'a pas affecté la viabilité et le taux de maturation nucléaire.
- Le DHA 1 μ M ajouté pendant la MIV pourrait améliorer le développement embryonnaire *in vitro*.
- L'étude d'expression de gènes candidats n'était pas suffisante pour comprendre le mécanisme d'action par lequel le DHA 1 μ M affecterait la qualité des ovocytes.
- Le taux de progestérone plus élevée en présence de DHA 100 μ M pourrait avoir des effets négatifs sur la compétence des ovocytes au développement.
- En conclusion, cette étude suggère qu'une **faible dose de DHA (1 μ M) pendant la MIV pourrait améliorer la compétence des ovocytes au développement**. Le rôle spécifique du DHA sur la maturation cytoplasmique, la structure et la fonction des ovocytes bovins, et les mécanismes par lesquels le potentiel de développement est affecté restent à élucider.