

Effet d'un acide gras oméga-3 (DHA) sur la compétence de l'ovocyte bovin

Effect of one omega-3 fatty acid (DHA) on bovine oocyte developmental competence

OSEIKRIA M. (1), ELIS S. (1), UZBEKOVA S. (1)

(1) INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly

INTRODUCTION

L'acide docosahexaénoïque (DHA, C22 :6 n-3) est un acide gras poly-insaturé oméga3 (AGPI n-3) possédant des effets bénéfiques sur la santé. Des suppléments en AGPI n-3 de la ration de vaches laitières ont suggéré un effet positif sur la fertilité des vaches (Elis et al. 2014), qui passerait par l'environnement utérin (Mattos et al. 2004) ou par la qualité de l'ovocyte (Moallem et al. 2013). Afin de déterminer les effets du DHA sur la qualité de l'ovocyte, des expériences de maturation et de développement embryonnaire *in vitro* ont été réalisées.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. MATURATION OVOCYTAIRE NUCLEAIRE

Des complexes ovocyte-cumulus (COC), prélevés sur des ovaires bovins provenant d'abattoir, ont été mis en maturation *in vitro* (MIV) pendant 24 heures (38,8°C, 5% CO₂) en milieu TCM199 (Sigma, Saint-Quentin Fallavier, France) avec EGF (10ng/mL) en absence ou présence de DHA (1, 10 ou 100 µM). Après la MIV, les ovocytes ont été décoronés, colorés en Cy3/ calcéïne (Live/Dead) afin de déterminer la viabilité, puis fixés (PAF 4%) et colorés en Hoechst afin de déterminer le stade de maturation nucléaire méiotique (n= 3 expériences indépendantes). Un milieu sub-optimal a été choisi afin de voir un potentiel effet bénéfique.

1.1. ACTIVATION PARTHENOGENETIQUE

Après maturation des COC pendant 22 heures (38,8°C, 5% CO₂, 5% O₂) en milieu TCM199, 10% serum de veau fœtal, EGF (5 ng/mL), 17 β-estradiol (1 µg/mL), FSH (10 µg/mL), LH (12 µg/mL), en absence ou présence de DHA (1, 10 ou 100 µM), les ovocytes ont été décoronés (récupération des cellules de cumulus pour des études d'expression de gènes) puis remis en maturation 4 heures supplémentaires dans ce milieu. Les ovocytes subissent ensuite une activation parthénogénétique, 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. L'activation parthénogénétique est induite par 5 min de ionomycine (5 µM) puis 4 heures de 6DMAP (2 mM). Les ovocytes sont ensuite mis en développement dans du fluide oviductal synthétique modifié (J0), supplémenté à 1% de serum de vache en estrus. Le taux de clivage et le nombre de blastomères est déterminé et après marquage au Hoechst à J2 et J7 (n= 5 expériences indépendantes). Les différents paramètres ont été comparés par des tests de chi² (p<0.05 significatif).

2. RESULTATS

2.1. EFFET SUR LA MATURATION OVOCYTAIRE

2.1.1. Viabilité ovocytaire

La viabilité des ovocytes est de 98,7 % pour le témoin (Tableau 1). Les concentrations de DHA 1, 10 ou 100 µM ne modifient

pas la viabilité de l'ovocyte après 24 h de maturation (98,8 %, 97,0 %, et 96,3 %, respectivement).

2.1.2. Maturation méiotique

Après 24 h de maturation, la coloration de Hoechst a permis de déterminer les stades de maturation méiotiques : immature, métaphase 1, anaphase 1, télophase 1 et métaphase 2 (Tableau 1). Le % d'ovocyte mature (télophase 1 + métaphase 2) n'est pas différent entre le témoin (83,1 %) et le DHA 1, 10 et 100 µM (78,9 %, 84 % et 84 %, respectivement). En revanche, le DHA 100 µM augmente le % d'ovocyte en télophase 1 comparé au témoin (16,2 % vs 5,4 %, respectivement, p= 0.02)

2.2. EFFET SUR LE DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE APRES PARTHENOGENESE

2.2.1. Taux de clivage à J 2

Une durée de 26 h de maturation en présence de DHA 1, 10 ou 100 µM affecte le taux de clivage à J2 après l'activation parthénogénétique du développement embryonnaire (Tableau 1). Le DHA 1 µM entraîne une augmentation significative (p = 0.02) du % d'embryon clivé par rapport au témoin (84,3 % vs 76 %, respectivement) et en même temps une augmentation significative (p = 0.02) du % d'embryon à plus de 4 cellules par rapport au témoin (40,8 % vs 31,2 %, respectivement). Au contraire le DHA 100 µM entraîne une diminution significative (p = 0.02) du % d'embryon clivé (66,2 % vs 76 %, respectivement) et du % d'embryon à plus de 4 cellules par rapport au témoin (22,2 % vs 31,2 %).

2.2.2. Nombre de cellules embryonnaires à J 7

Le DHA 1 µM entraîne une augmentation significative (p = 0.04) du % d'embryon possédant plus de 80 cellules à J 7 par rapport au témoin (14 % vs 2,2 %, respectivement) et une tendance à la diminution (p = 0.09) du % d'embryon possédant entre 16 et 30 cellules (42 % vs 60 %, respectivement).

3. DISCUSSION

Une dose modérée de DHA (1 µM) au cours de la MIV semblerait améliorer la qualité de l'ovocyte (augmentation du taux de clivage et du nombre de blastomères) et cela indépendamment de la maturation nucléaire de l'ovocyte. Au contraire, une dose trop élevée de DHA (100 µM) semble délétère pour le développement de l'embryon *in vitro*, en accord avec la littérature (Leroy *et al.* 2014).

CONCLUSION

D'autres études sont nécessaires pour confirmer ces résultats par fécondation *in vitro* et pour déterminer le(s) mécanisme(s) d'action du DHA.

Elis S. *et al.*, 2014. 3R, 21, 273-276

Leroy J. *et al.* 2014, *Reprod. Domest. Anim.*, 49, 353-361

Mattos R. *et al.* 2004, *J Dairy Sci*, 87, 921-932

Moallem U. *et al.* 2013, *Reproduction*, 146, 603-614

Conditions	viabilité	Maturation Méiotique			Activation parthénogénétique							
		Nb Ovocytes	Ovocytes immatures			Nb Ovocytes	Emb. non clivés	Emb. 2-4 cellules	Emb. >4 cellules			
témoin	98,7 %	136	Ovo. matures	immature	Méta-1	Ana-1	Télo-1	Méta-2	279	24 %	44,8 %	31,2 %
DHA 1 µM	98,8 %	152	78,9 %	3,3 %	13,1 %	4,6 %	2 %	77 %	267	15,7 %	43,5 %	40,8 %
DHA 10 µM	97,0 %	119	84 %	4,2 %	9,2 %	2,5 %	1,7 %	82,4 %	272	20,2 %	39,3 %	40,5%
DHA 100 µM	96,3 %	100	84 %	3 %	9 %	4 %	14 %	70 %	225	33,8 %	44 %	22,2 %