

Année 2010



**ETUDE COMPARATIVE DE L'OVULATION  
CHEZ LES MAMMIFÈRES**

THESE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

Le 18 janvier 2010

par

**Emmeline, Marie-Alexandrine WURTH**

Née le 26 septembre 1984 à Schiltigheim (Bas-Rhin)

JURY

**Président : M.**

**Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL**

**Membres**

**Directeur : Pr. Sylvie CHASTANT-MAILLARD**

**Professeur à l'ENVA**

**Assesseur : Dr Fanny STORCK-PILOT**

**Maître de conférences à l'ENVA**

### LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard  
Professeurs honoraires: MM. BRUGERE Henri, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, LE BARS Henri, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques,

#### DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

**Chef du département : Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences**

<p>- <b>UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES</b> Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur Mme ROBERT Céline, Maître de conférences M. CHATEAU Henry, Maître de conférences*</p> <p>- <b>UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE , MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE</b> Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur M. FREYBURGER Ludovic, Maître de conférences</p> <p>- <b>UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE</b> Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur* M. TIRET Laurent, Maître de conférences Mme STORCK-PILOT Fanny, Maître de conférences</p> <p>- <b>UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE</b> Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur M. TISSIER Renaud, Maître de conférences* M. PERROT Sébastien, Maître de conférences</p> <p>- <b>DISCIPLINE : ETHOLOGIE</b> M. DEPUTTE Bertrand, Professeur</p> <p>- <b>DISCIPLINE : ANGLAIS</b> Mme CONAN Muriel, Professeur certifié</p>	<p>- <b>UNITE D'HISTOLOGIE , ANATOMIE PATHOLOGIQUE</b> M. CRESPEAU François, Professeur M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme BERNEX Florence, Maître de conférences Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences</p> <p>- <b>UNITE DE VIROLOGIE</b> M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences</p> <p>- <b>DISCIPLINE : PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES</b> M. MOUTHON Gilbert, Professeur</p> <p>- <b>UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE</b> M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences*</p> <p>- <b>UNITE DE BIOCHIMIE</b> M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences* M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences</p> <p>- <b>DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE</b> M. PHILIPS, Professeur certifié</p>
--	---

#### DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

**Chef du département : M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Maître de conférences**

<p>- <b>UNITE DE MEDECINE</b> M. POUHELON Jean-Louis, Professeur* Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. BLOT Stéphane, Maître de conférences M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY Christelle, Maître de conférences Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel</p> <p>- <b>UNITE DE CLINIQUE EQUINE</b> M. DENOIX Jean-Marie, Professeur M. AUDIGIE Fabrice, Maître de conférences* Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences contractuel</p> <p>- <b>UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE</b> Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Professeur (rattachée au DPASP) M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences* M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP) Mme DEGUILLAUME Laure, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP)</p> <p>- <b>DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS</b> Mme Française ROUX, Maître de conférences contractuel</p>	<p>- <b>UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE</b> M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mme RAVARY-PLUMIOEN Béangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences contractuel M. JARDEL Nicolas, Maître de conférences contractuel</p> <p>- <b>UNITE D'IMAGERIE MEDICALE</b> Mme BEGON Dominique, Professeur* Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier</p> <p>- <b>DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE</b> Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences</p> <p>- <b>UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES</b> M. CHERMETTE René, Professeur * M. POLACK Bruno, Maître de conférences M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARIIGNAC Geneviève, Maître de conférences Mme HALOS Lénéaig, Maître de conférences M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier</p> <p>- <b>UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT</b> M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel</p> <p>- <b>DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION</b> M. PARAGON Bernard, Professeur</p>
---	---

#### DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

**Chef du département : M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences**

<p><b>UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES</b> M. BENET Jean-Jacques, Professeur* Mme HADDAD/ HOANG-XUAN Nadia, Maître de conférences Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences</p> <p>- <b>UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE</b> M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p>- <b>DISCIPLINE : BIOSTATISTIQUES</b> M. SANAA Moez, Maître de conférences</p>	<p>- <b>UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE</b> M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Maître de conférences*</p> <p>- <b>UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR</b> M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur (rattachée au DSBP) M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences M. ADJOU Karim, Maître de conférences*</p>
--	--

# REMERCIEMENTS

Au Professeur,

de la faculté de Médecine de Créteil, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

**Hommage respectueux,**

A Madame le Professeur Chastant-Maillard,

Professeur en Reproduction animale à l'ENVA, qui m'a proposé ce sujet et qui m'a aidée tout au long de la réalisation de ce travail par ses conseils précieux, son soutien et sa disponibilité.

A Madame le Docteur Storck-Pilot,

Maître de conférences en Physiologie à l'ENVA, pour avoir accepté d'être l'assesseur de ma thèse et pour sa collaboration à ce document.

A toute l'équipe du CERCA et du laboratoire UMR 1198  
Biologie du Développement et Reproduction.

et en particulier aux Dr Fontbonne et Dr Reynaud, qui m'ont aidée au quotidien dans mes recherches et pour leur accueil chaleureux.

# ETUDE COMPARATIVE DE L'OVULATION CHEZ LES MAMMIFERES

**NOM et Prénom** : WURTH Emmeline

## Résumé

L'ovulation, répondant au pic d'hormone lutéinisante (LH) secrété par l'hypophyse, est un phénomène complexe, associant la reprise de la méiose de l'ovocyte, l'expansion du cumulus, la rupture du pôle apical du follicule et la restructuration tissulaire associée à la différenciation cellulaire nécessaire à la formation du corps jaune. Les paramètres de l'ovulation présentent une variabilité interspécifique, notamment au niveau du nombre d'ovulations, du diamètre du follicule ovulatoire, de l'activité ovarienne, de l'étalement dans le temps et du stade nucléaire de l'ovocyte expulsé.

L'ovulation ne se produit que si les caractéristiques endogènes de l'individu (pic de LH, stade physiologique ...) et son environnement (photopériode, nutrition ...) le permettent. Pour détecter cette ovulation, différents moyens peuvent être utilisé : les dosages sanguins de LH, des œstrogènes, de la progestérone, mais aussi par laparotomie, palpation transrectale des ovaires, échographie ovarienne, ou encore par observation de la muqueuse vaginale, mesure de la conductivité de son mucus, réalisation d'un frottis vaginal, et prise de température vaginale.

Enfin, la gestion de l'ovulation repose sur la maîtrise par induction ou inhibition du moment de l'ovulation grâce à des facteurs hormonaux ou non, mais aussi sur la maîtrise du nombre d'ovulations contrôlé grâce à la génétique et aux traitements de superovulation.

**Mots clés** : REPRODUCTION, OVULATION, FOLLICULE, OVAIRE, ŒSTRUS, INDUCTION, INHIBITION, GENETIQUE, SUPEROVULATION, MAMMIFERES

## Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr Chastant-Maillard

Assesseur : Dr Storck-Pilot

Adresse de l'auteur :

23 rue Hofacker

67205 Oberhausbergen

# COMPARATIVE STUDY OF OVULATION IN MAMMALS

**NAME and given name :** Wurth Emmeline

**Summary :**

Ovulation, following the LH peak, is a complex phenomenon, that induces maturation of the cumulus oocyte complex within the ovulatory follicle, rupture of the follicular wall and corpus luteum formation.

Ovulation's parameters differ widely among species, especially for ovulation rate, preovulatory diameter, ovarian activity ... Ovulation is controlled by endogenous signals (LH peak, physiology) and external factors (photoperiod and nutrition). To detect ovulation, different methods of investigation can be useful such as concentration of LH, oestrogen and progesterone, laparotomy, ovary transrectal palpation, echography, vaginal mucus conductivity, vaginal temperature ...

Finally, ovulation's management results from knowledge of ovulation time (with the help of hormonal or different methods) and from the knowledge of ovulation rate (with the help of genetic and superovulation treatment).

**Keywords** REPRODUCTION, OVULATION, FOLLICULE, OVARY, ŒSTRUS, INDUCTION, INHIBITION, SUPEROVULATION

**Jury :**

President : Pr.

Director : Pr. Chastant-Maillard

Assessor : Pr. Storck-Pilot

Guest : M.

Author's address:

23 rue Hofacker

67205 Oberhausbergen

France

# TABLE DES MATIERES

<b>INDEX DES FIGURES .....</b>	<b>3</b>
<b>INDEX DES TABLEAUX.....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>7</b>
<b>I.     <b>Physiologie de l'ovulation.....</b></b>	<b>8</b>
1. Le follicule préovulatoire .....	8
2. Le signal ovulatoire : déclenchement de l'ovulation et de la maturation ovocytaire... 11	11
3. Cascades moléculaires induites par le pic de LH..... 19	19
4. Les modifications vasculaires du follicule .....	22
5. La rupture de la paroi folliculaire..... 24	24
6. La maturation du complexe ovocyte-cumulus .....	26
<b>II.    <b>Paramètres de l'ovulation .....</b></b>	<b>27</b>
1. Nombre d'ovulations..... 27	27
2. Diamètre à l'ovulation..... 29	29
3. Site et latéralité des ovulations..... 31	31
4. Durée de l'ovulation..... 32	32
5. Fréquence des ovulations .....	33
6. L'ovocyte ovulé : stade nucléaire et nombre par follicule .....	34
<b>III.   <b>Détermination du moment de l'ovulation.....</b></b>	<b>35</b>
1. Par rapport au pic de LH .....	35
2. Par rapport au comportement d'oestrus .....	36
3. Par rapport au coût .....	38
4. Par rapport à la saison .....	39
5. Par rapport au stade physiologique .....	40
a. Par rapport à la puberté .....	40
b. Par rapport à la gestation et à la lactation.....	43
c. La ménopause.....	45

<b>IV. Prévision du moment de l'ovulation.....</b>	<b>46</b>
1. Laparotomie .....	46
2. Palpation transrectale .....	46
3. Echographie.....	47
a. Echographie seule .....	47
b. Echographie Doppler.....	49
4. Dosage de LH.....	50
5. Dosage de la progestérone.....	51
6. Dosage du taux d'œstrogènes circulants .....	53
7. Mucus vaginal .....	54
8. Frottis vaginal.....	54
9. Apparence de la muqueuse vaginale .....	56
10. Température corporelle .....	56
<b>V. Maîtrise du moment de l'ovulation .....</b>	<b>57</b>
A. Méthodes d'induction de l'ovulation .....	57
1. Méthodes hormonales .....	57
2. Méthodes non hormonales .....	63
B. Méthodes d'inhibition de l'ovulation.....	67
1. Facteurs hormonaux .....	67
2. Facteurs non hormonaux .....	70
<b>VI. Maîtrise du nombre d'ovulations .....</b>	<b>74</b>
1. Génétique .....	74
2. Superovulation médicamenteuse.....	77
a. Gonadotropines .....	77
b. Immunisation active ou passive .....	81
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>83</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>84</b>

## INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Principales étapes du développement folliculaire et de la maturation ovocytaire (Monniaux <i>et al.</i> , 2009).....	9
Figure 2 : Etat d'un follicule peu avant l'ovulation (Driancourt <i>et al.</i> , 2001). ....	10
Figure 3 : Concentrations hormonales autour de l'ovulation – Modèle général (Goodman, 2002).....	11
Figure 4 : Position de l'ovulation dans le cycle chez la brebis (Noakes, 2001).....	12
Figure 5 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la vache (Noakes, 2001)..	13
Figure 6 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la truie (Noakes, 2001). ....	14
Figure 7 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la chienne (Noakes, 2001).15	
Figure 8 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la jument (Noakes, 2001). 16	
Figure 9 : Mécanisme hormonal de l'ovulation (Bonnes <i>et al.</i> , 2005).....	18
Figure 10 : Rôle des gonadotropines et de l'angiotensine II dans la reprise de la méiose et ovulation (Driancourt <i>et al.</i> , 2001).....	20
Figure 11 : Evolution du taux d'ovulation double avec la production laitière (Wiltbank <i>et al.</i> , 2006).....	29
Figure 12 : Disposition originale schématique comparée de la medulla et du cortex chez la jument et chez les autres mammifères (Ginther, 1992).....	31
Figure 13 : Déterminisme de l'ovulation en fonction du stade physiologique (Driancourt <i>et al.</i> , 2001). ....	41
Figure 14 : Périodes d'ovogenèse et de folliculogenèse chez différents mammifères (Monniaux <i>et al.</i> , 2009).....	42
Figure 15 : Implications des facteurs endocriniens, nutritionnels et saisonniers dans la régulation des fonctions ovariennes (Monniaux <i>et al.</i> , 2009). ....	64

## INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Diamètre folliculaire d'acquisition des récepteurs de LH sur les cellules de la granulosa chez différentes espèces de mammifères (Monniaux <i>et al.</i> , 2009).....	19
Tableau 2 : Gènes cibles et facteurs de transcription induits au pic de LH (Monniaux <i>et al.</i> , 2009).....	22
Tableau 3 : Récapitulatif des modifications intervenant dans le follicule au moment de l'ovulation (Driancourt <i>et al.</i> , 2001). ....	23
Tableau 4 : Nombre de follicules ovulés par cycle chez différents mammifères. ....	27
Tableau 5 : Variation du taux d'ovulation en fonction de la taille chez la chienne (Reynaud <i>et al.</i> , 2006). ....	28
Tableau 6 : Diamètre du follicule à l'ovulation chez différents mammifères (Baker, 1982 ; Monniaux <i>et al.</i> , 1997 ; Driancourt <i>et al.</i> , 2001).....	30
Tableau 7 : Latéralité des ovulations chez différentes espèces de mammifères. ....	31
Tableau 8 : Durée de l'ovulation chez différentes espèces de mammifères. ....	32
Tableau 9 : Fréquence des ovulations et nombre de vagues folliculaires chez différentes espèces de mammifères (Driancourt <i>et al.</i> , 2001 ; Monniaux <i>et al.</i> , 2009). ....	33
Tableau 10 : Intervalle entre le pic de LH et l'ovulation chez différents mammifères (Driancourt <i>et al.</i> , 2001 ; Monniaux <i>et al.</i> , 2009). ....	35
Tableau 11 : Signes d'œstrus et durée de l'intervalle œstrus-ovulation chez quelques mammifères.....	36
Tableau 12 : Etapes de l'accouplement chez le chat (Verstegen, 1998). ....	38
Tableau 13 : Saison de reproduction chez différents mammifères (Noakes, 2001).....	40
Tableau 14 : Age à la puberté chez différentes espèces de mammifères. ....	43
Tableau 15 : Fréquence des signes échographiques caractérisant l'ovulation chez la chienne (Marseloo <i>et al.</i> , 2004 ; Fontbonne, 2008). ....	48
Tableau 16 : Score d'œdème endométrial (Samper et Pycock, 2007). ....	49
Tableau 17 : Paramètres du pic de LH chez différents mammifères. ....	51
Tableau 18 : Progestéronémie à l'ovulation chez la chienne de race Beagle. ....	52
Tableau 19 : Protocole utilisé à l'ENVA pour le suivi de l'œstrus chez la chienne (Fontbonne, 2008).....	53

Tableau 20 : Concentration d'œstradiol-17 $\beta$ sanguine maximale avant l'ovulation chez différents mammifères.....	53
Tableau 21 : Evolution de la composition cellulaire d'un frottis vaginal autour de l'ovulation chez la chienne (Noakes, 2001).....	55
Tableau 22 : Spécialités contenant des gonadotrophines (DMV, 2009 et VIDAL, 2009).....	59
Tableau 23 : Protocoles d'induction de l'ovulation à base de gonadotrophines (DMV, 2009 et VIDAL, 2009).....	60
Tableau 24 : Agonistes de la GnRH utilisées chez les mammifères (DMV 2009, VIDAL 2009).....	62
Tableau 25 : Principales molécules de progestérone/progestagènes chez les mammifères.....	69
Tableau 26 : Mutations ovines ayant un impact sur le taux d'ovulation (Mulsant, 2005).....	75
Tableau 27 : Comparaison des effets des mutations naturelles ovines (m) et des inactivations de gènes de la souris (KO) sur le taux d'ovulation des femelles.....	76
Tableau 28 : Loci à effets quantitatifs (QTL) ayant un effet sur le taux d'ovulation chez la vache (Kirkpatrick et al, 2000).....	77
Tableau 29 : Traitements de stimulation ovarienne utilisés pour la superovulation (Driancourt, 2001).....	79
Tableau 30 : Description des gonadotropines utilisées pour la superovulation chez certains mammifères (DMV, 2009).....	79



## INTRODUCTION

L'ovaire des mammifères est un organe de stockage des ovocytes formés pendant la vie embryonnaire ou autour de la naissance. Il est le lieu de l'ovogenèse et de la folliculogenèse, deux phénomènes culminant à l'ovulation.

L'ovulation consiste, plus précisément, en la rupture d'un ou plusieurs follicules pré-ovulatoires qui libèrent chacun un gamète femelle, apte à être fécondés. Bien qu'il s'agisse d'un phénomène ponctuel dans le temps, l'ovulation est donc le résultat de deux processus de très longue durée : d'une part la folliculogenèse, d'autre part, l'ovogenèse permettant respectivement la maturation des follicules et des ovocytes. Dès lors, ce phénomène est fortement dépendant de régulations fines et n'a lieu que dans des contextes environnementaux précis : il concerne seulement 0,01 % des follicules, soit environ 400 ovulations au cours de la vie d'une femme. Ainsi, le contrôle de ce phénomène rare est indispensable aussi bien chez les femelles de rente que de compagnie et son étude comparée chez certains mammifères permet de mieux comprendre la physiologie générale de l'ovulation.

Après des rappels physiologiques, nous étudierons les paramètres de l'ovulation et le déterminisme du moment de l'ovulation. Puis, différentes méthodes seront décrites pour détecter le moment de l'ovulation chez les mammifères. Enfin l'amélioration de la reproduction repose aussi sur la maîtrise du moment de l'ovulation et du nombre de follicules ovulatoires.

## **I. Physiologie de l'ovulation**

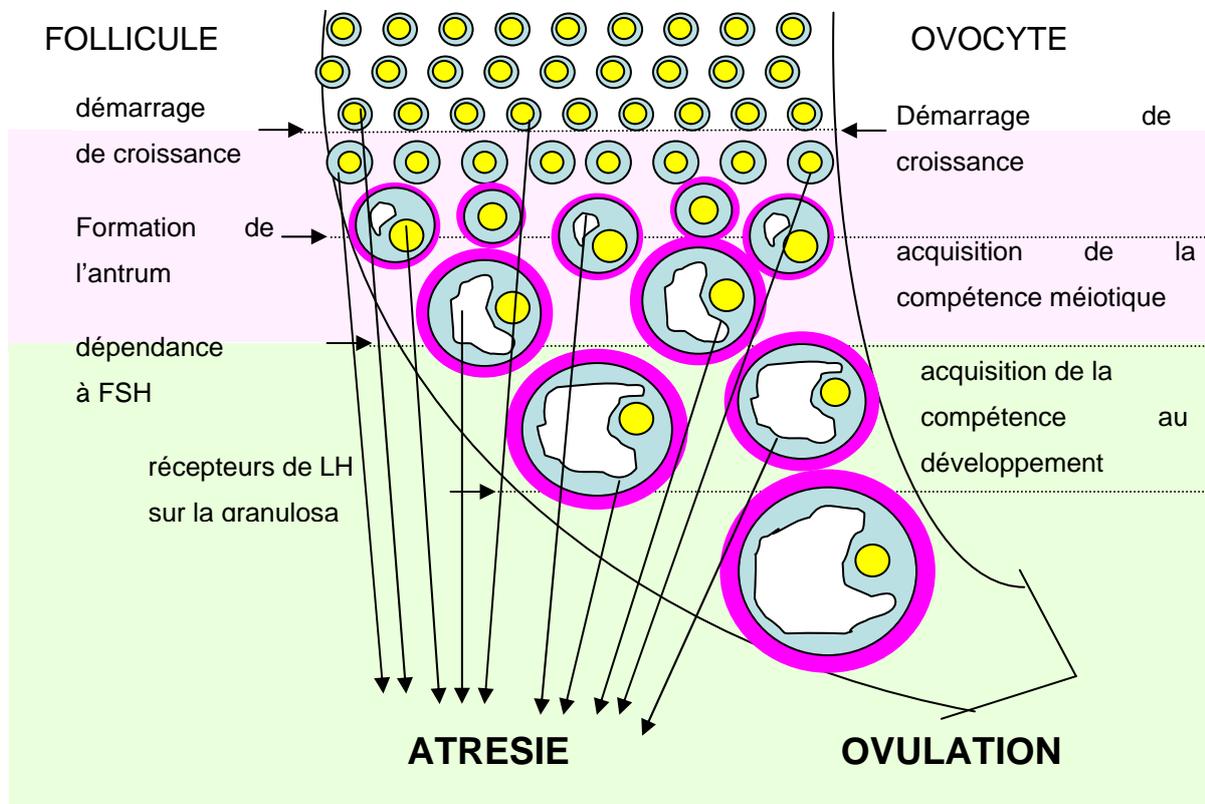
L'ovulation est un processus complexe correspondant à la reprise de la méiose de l'ovocyte, l'expansion du cumulus, la rupture du pôle apical du follicule, et la restructuration tissulaire associée à la différenciation cellulaire nécessaire à la formation du corps jaune. Face à ce phénomène ponctuel, l'ovulation résulte de deux processus plus longs : la folliculogénèse et l'ovogénèse.

### **1. Le follicule préovulatoire**

Le follicule préovulatoire correspond au stade ultime de la folliculogénèse et de l'ovogénèse, que l'immense majorité des follicules n'atteint pas (figure 1 et 2).

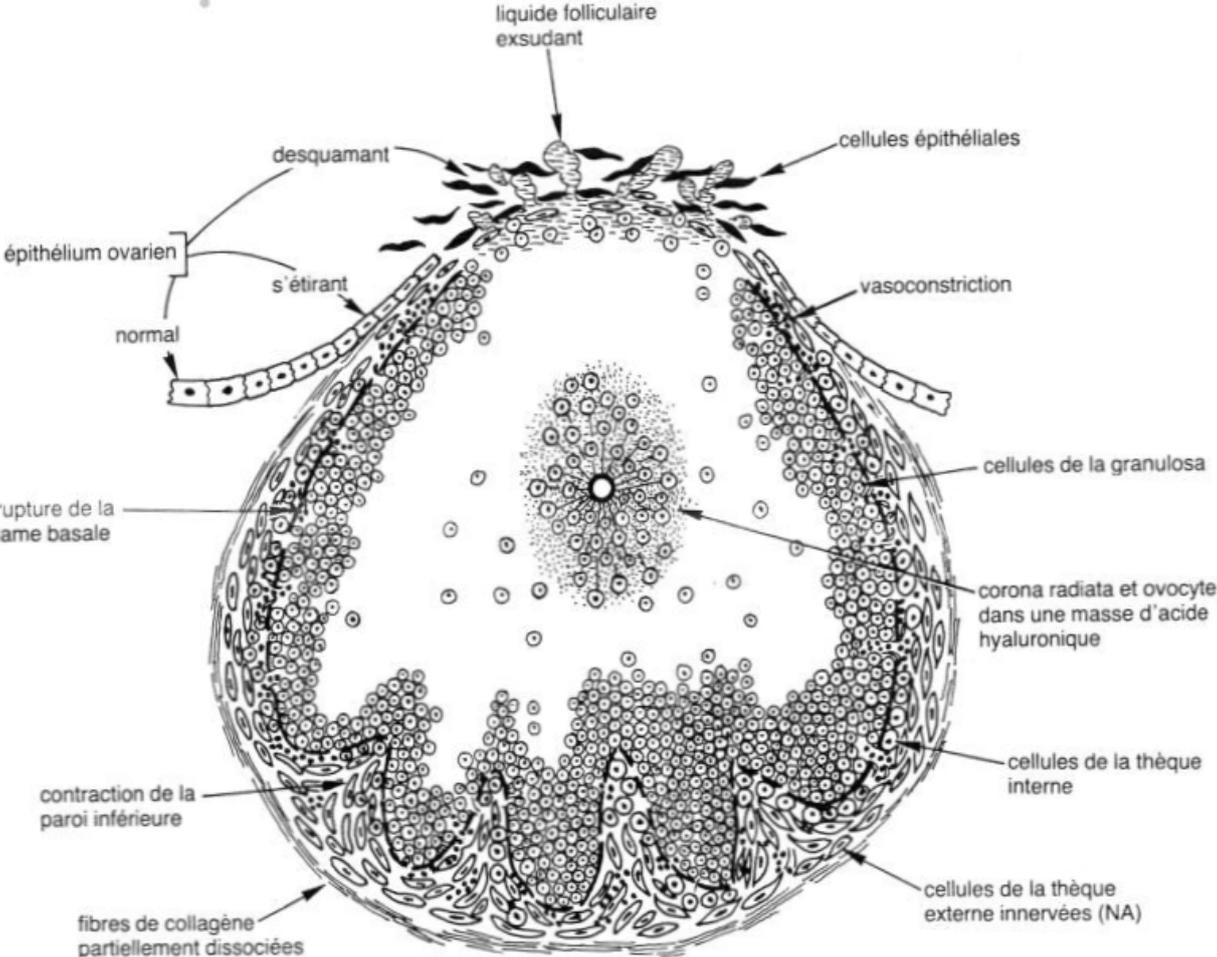
Au début de la folliculogénèse basale, l'initiation de la croissance folliculaire se caractérise par l'augmentation du volume de l'ovocyte et l'entrée en prolifération des cellules de la granulosa dans les follicules primaires. Puis, à partir de deux couches de cellules de la granulosa, le follicule est appelé follicule secondaire. Au stade tertiaire, il s'entoure d'une ébauche de thèque interne et la zone pellucide entourant l'ovocyte s'épaissit. Enfin, dans le follicule se forme une cavité appelée antrum à l'intérieur de la granulosa. Le follicule possède alors des récepteurs à l'hormone lutéinisante (LH) dans la thèque interne et à l'hormone folliculostimulante (FSH) dans la granulosa, lui permettant de répondre à une stimulation gonadotrope. Chez tous les mammifères, le follicule ovarien présente dès la formation de l'antrum une thèque externe, une thèque interne séparée de la granulosa par la lame basale, un ovocyte entouré d'un massif de cellules de la granulosa appelé cumulus. Au cours du développement terminal du follicule à antrum, la taille de l'ovocyte n'augmente plus beaucoup, la prolifération des cellules de granulosa diminue progressivement et la croissance folliculaire jusqu'au stade préovulatoire s'effectue essentiellement par accroissement du volume de l'antrum. Cependant, la majorité des follicules n'atteint jamais le stade préovulatoire. Ainsi, l'atrésie folliculaire débute par l'apoptose de l'ovocyte dans les follicules primaires, secondaires et préantraux, et par l'apoptose des cellules de granulosa dans les follicules à antrum (Driancourt *et al.*, 2001 ; Monniaux *et al.*, 2009).

Figure 1 : Principales étapes du développement folliculaire et de la maturation ovocytaire (Monniaux *et al.*, 2009)



Le follicule pré-ovulatoire apporte à l'ovocyte l'environnement nécessaire à sa croissance et à l'acquisition de sa compétence à la fécondation et au développement embryonnaire. Finalement, il existe un lien étroit entre la folliculogénèse et l'ovogénèse (Reynaud, 2003). L'ovogénèse est indissociable de la folliculogénèse et ce lien s'effectue dans les deux sens. Ces deux processus déterminent le nombre et la qualité des ovocytes produits.

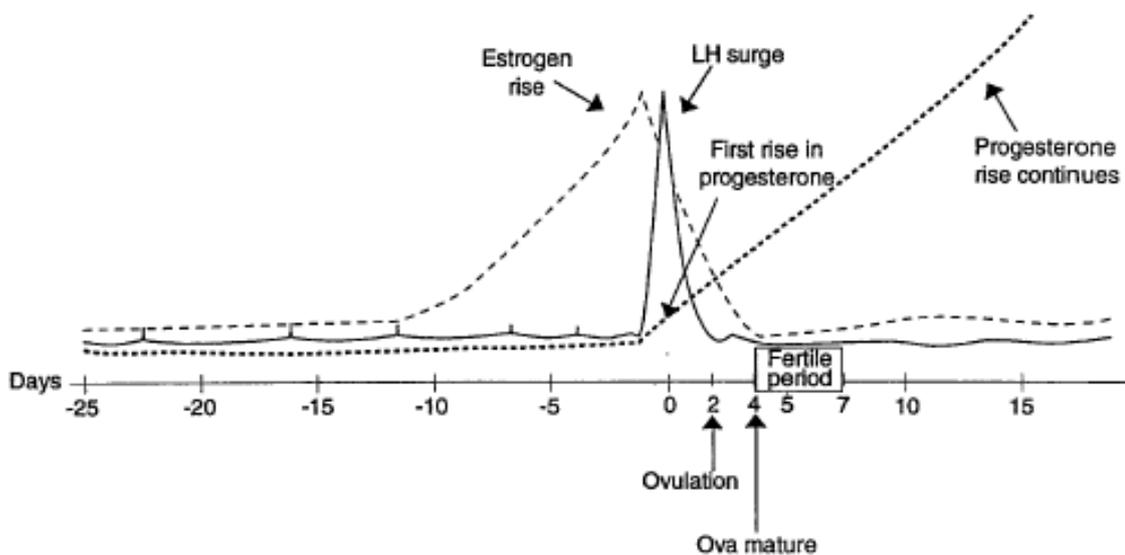
Figure 2 : Etat d'un follicule peu avant l'ovulation (Driancourt *et al.*, 2001).



## 2. Le signal ovulatoire : déclenchement de l'ovulation et de la maturation ovocytaire

Le facteur déclenchant de l'ovulation est une augmentation très significative du taux circulant de LH sécrétée par l'hypophyse (figures 3 à 8).

Figure 3 : Concentrations hormonales autour de l'ovulation – Modèle général (Goodman, 2002).



- LH (synthétisée par l'antéhypophyse)
- Œstrogènes (synthétisée par les follicules ovariens)
- ..... Progestérone (synthétisée par le corps jaune de l'ovaire)

Selon que l'ovulation est spontanée (cas général des mammifères) ou réflexe (chez les félins, lagomorphes...), le mécanisme de déclenchement du pic de LH varie. Pour l'ovulation spontanée, la fréquence des décharges endogènes de LH est directement liée à celle des décharges de gonadolibérine (GnRH : Gonadotrophine Releasing Hormone), elle-même due à l'augmentation progressive des teneurs sériques en œstradiol, du fait de la croissance terminale du follicule. Dans les cas d'ovulation réflexe, la stimulation des zones génitales déclenche un réflexe neuro-hormonal, à l'origine de la libération de LH. Ce mécanisme n'est mis en jeu qu'après plusieurs accouplements d'une durée suffisante. Par exemple, chez la

chatte, l'ovulation peut être induite par stimulation du vagin à l'aide d'un écouvillon urétral, répétée 5 fois toutes les 30 minutes (Malandain *et al.*, 2006). Pourtant, une décharge de LH peut apparaître spontanément chez la chatte sans stimulation vaginale et être suivie d'une ovulation. En particulier, l'ovulation spontanée est fréquente chez les vieilles chattes et dans les colonies reproductrices où le mâle loge dans la même pièce (Verstegen, 1998).

L'ovulation est contrôlée par le système hypothalamo-hypophysaire qui non seulement assure la production de GnRH et de LH, mais aussi intègre les informations de différents systèmes de contrôle de l'homéostasie tels que le contrôle du poids corporel, du comportement alimentaire, de la thermogenèse et de la perception de la photopériode.

Figure 4 : Position de l'ovulation dans le cycle chez la brebis (Noakes, 2001).

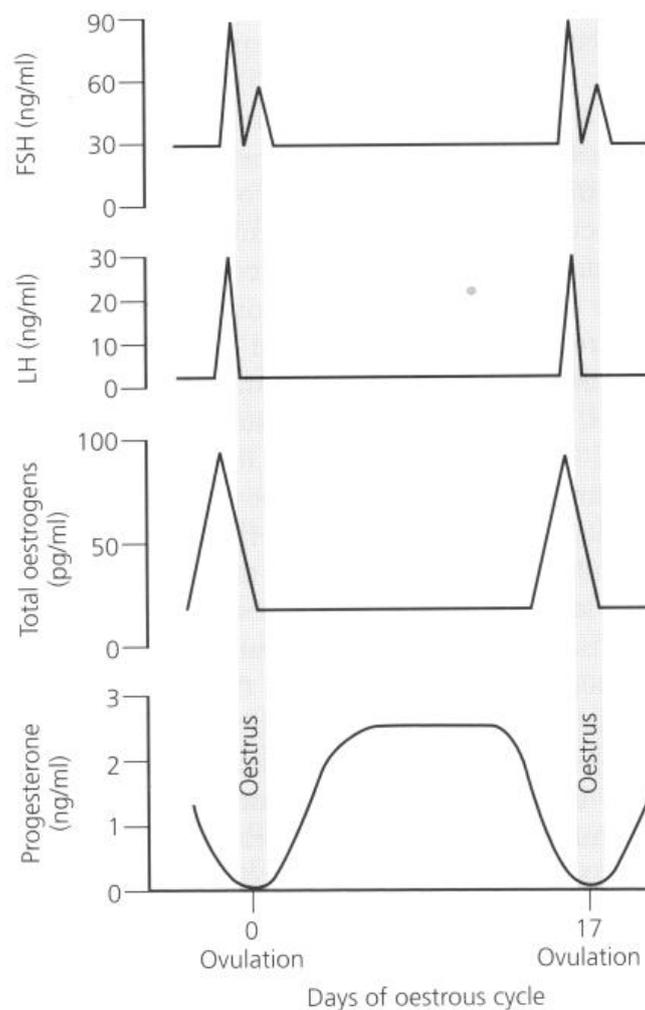


Figure 5 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la vache (Noakes, 2001).

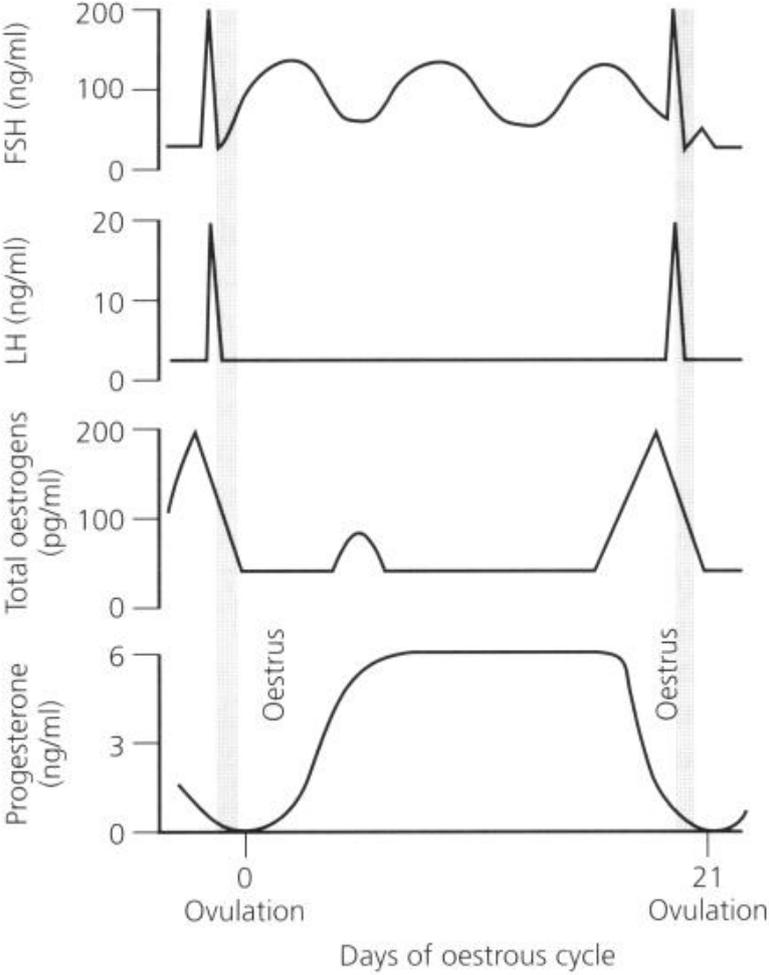


Figure 6 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la truie (Noakes, 2001).

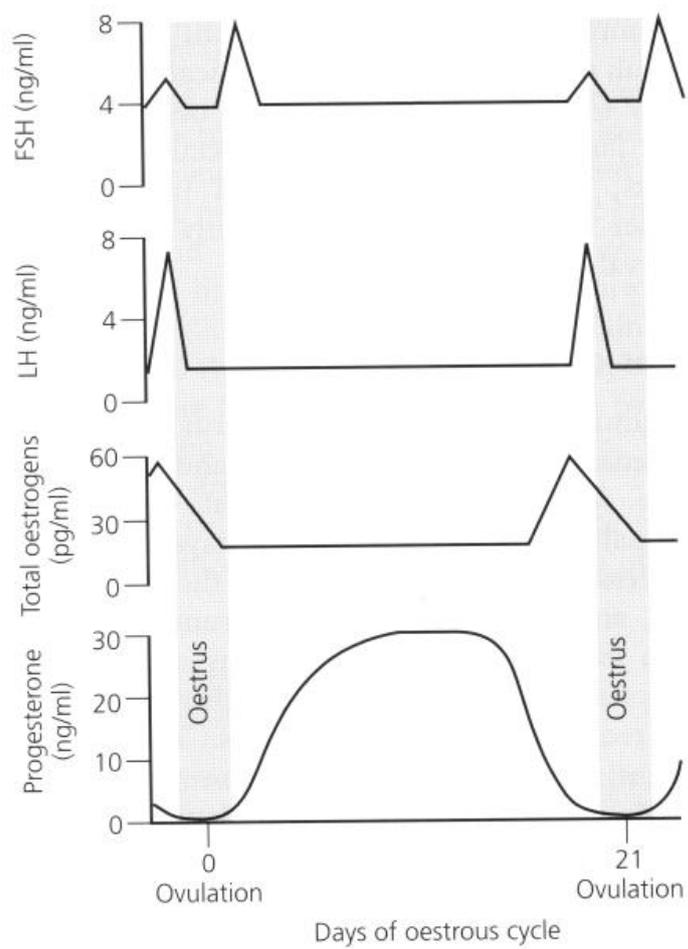


Figure 7 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la chienne (Noakes, 2001).

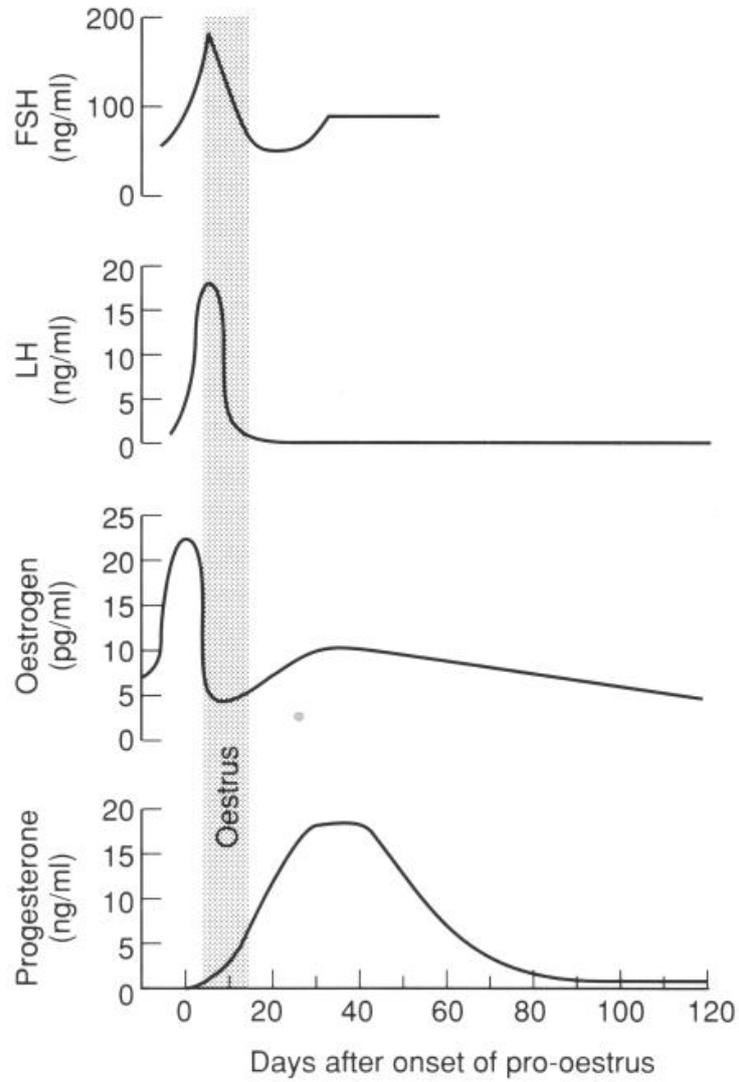
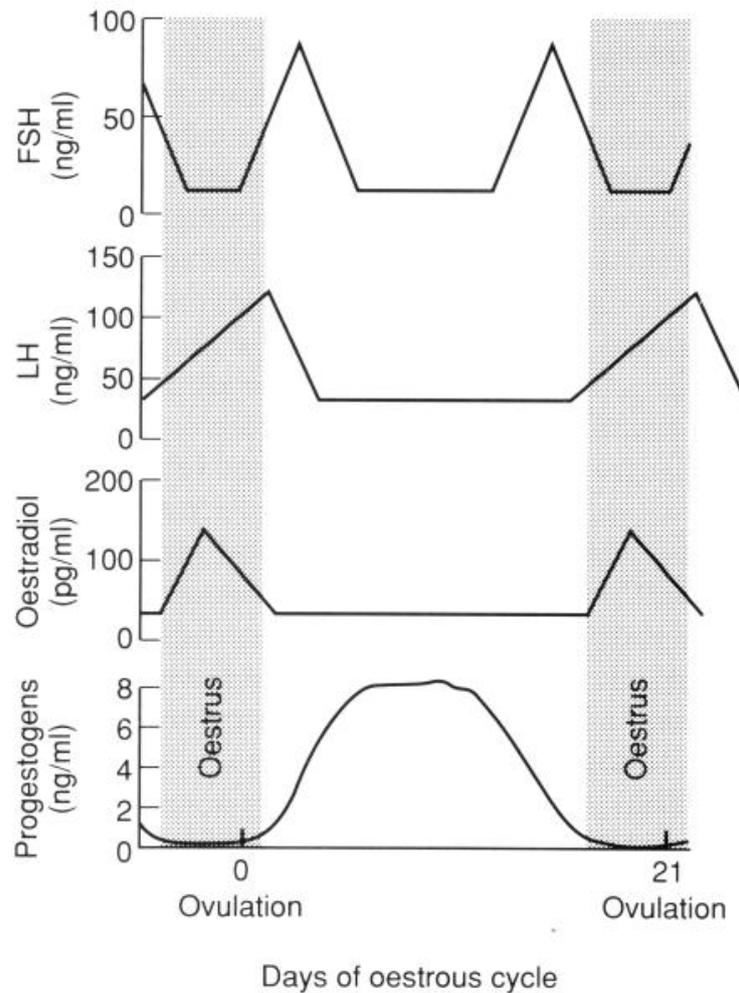


Figure 8 : Position de l'ovulation dans le cycle endocrinien chez la jument (Noakes, 2001).



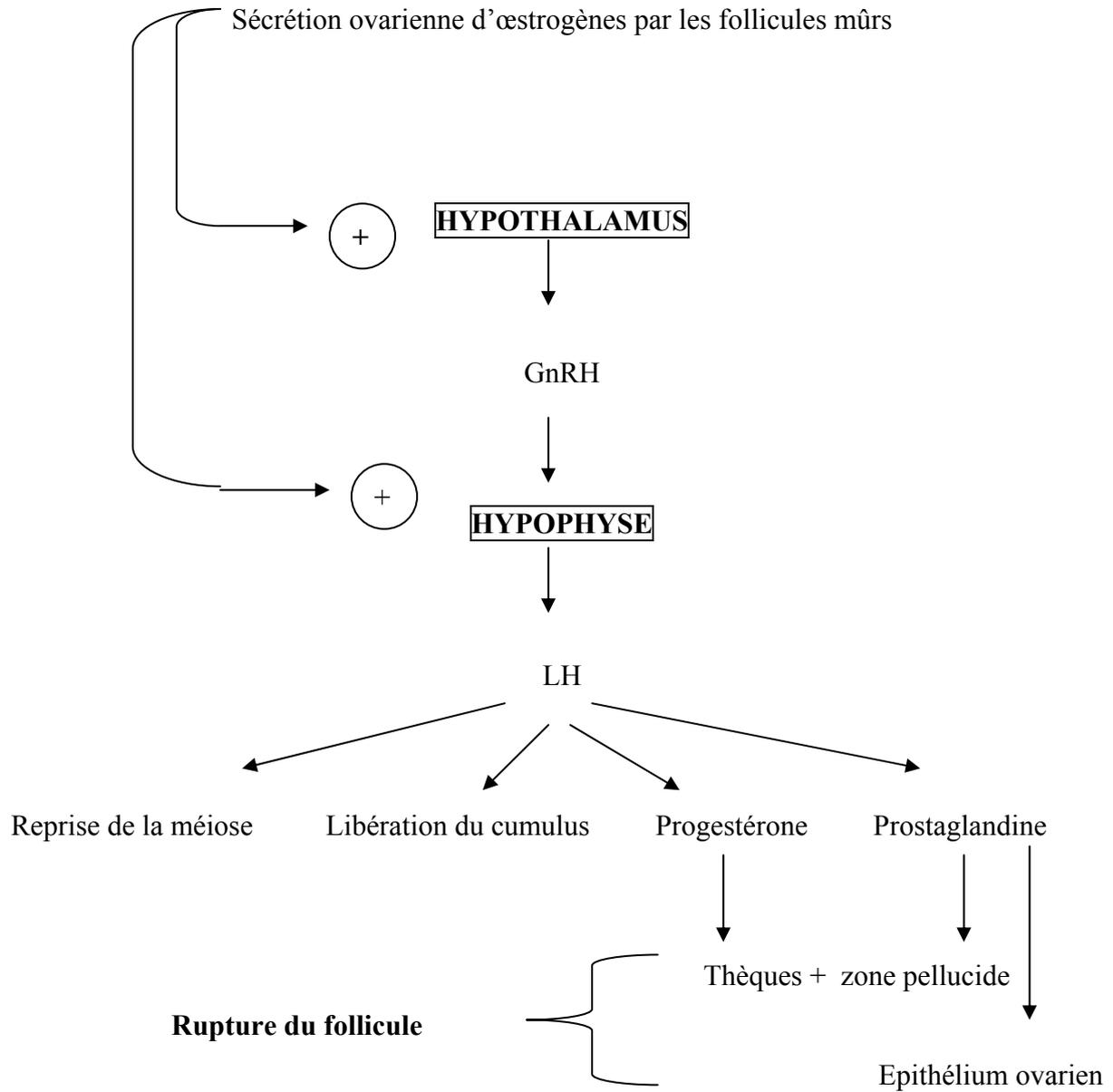
La sécrétion de la LH est sous le contrôle de la GnRH, neurohormone hypothalamique sécrétée dans la tige pituitaire en fonction du contexte endocrinien (figure 9). Les stéroïdes, tels l'œstradiol et la progestérone d'origine ovarienne, inhibent la sécrétion pulsatile de GnRH par un rétrocontrôle négatif. C'est ainsi que les vagues folliculaires ayant lieu pendant la phase lutéale chez la vache n'ovulent pas. Cependant cette inhibition n'est pas absolue chez la jument (voir plus loin). Enfin, l'élévation de la progestérone est indispensable pour qu'une

ovulation normale se produise (Driancourt *et al.*, 2001). Particulièrement, chez les canidés, l'ovulation a lieu en présence d'un taux déjà élevé de progestérone car le follicule subit une lutéinisation pré-ovulatoire (figure 7). De même, à faible dose, les œstrogènes permettent de déclencher la décharge de FSH, ce qui stimule l'expression de récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa. L'augmentation de l'œstradiol permet une décharge gonadotrope ovulante normale. En fin de croissance folliculaire terminale et au-delà d'une concentration-seuil, l'œstradiol exerce une action positive sur le système hypothalamo-hypophysaire. Il provoque alors une augmentation de la fréquence des décharges de GnRH avec une libération importante de cette dernière, et une augmentation de la sensibilité hypophysaire, qui conduisent à une décharge importante de LH (Monniaux *et al.*, 2009).

La sécrétion de GnRH est également sous la dépendance d'autres signaux. Actuellement des recherches sur la kisspeptine (nommée aussi metastatine ou KISS1) sont en cours. Le peptide KISS1 est un régulateur de la sécrétion de GnRH par contrôle neuroendocrinien, il provoque la libération de gonadotropines (Matsui *et al.*, 2004). Ainsi, la kisspeptine stimule la sécrétion de LH chez la ratte, la souris, la brebis et la jument. Par exemple, 75 % des juments ovulent dans les 2 jours après l'administration par voie intraveineuse de 10 mg de kisspeptine (Briant *et al.*, 2006).

Toutefois, toujours chez la jument, l'élévation sérique pré-ovulatoire de LH s'effectue de manière progressive et ne présente pas de pic (figure 7). En effet, l'intensification de la sécrétion de LH commence quelques jours avant le début de l'œstrus et devient maximale lors de l'ovulation puis diminue ensuite. Cependant, lors de vague de croissance secondaire, une ovulation peut survenir pendant le diœstrus alors que le taux de LH est basal ou peu élevé. Il semble donc que chez la jument l'action de la LH soit moins fine et moins précise que chez les autres espèces. Le critère important serait des changements de réceptivité des cellules cibles de la LH plutôt que la concentration de cette hormone (Bergfelt et Adams, 2007).

Figure 9 : Mécanisme hormonal de l'ovulation (Bonnes *et al.*, 2005)



### **3. Cascades moléculaires induites par le pic de LH**

Les récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa apparaissent lors de la maturité complète du follicule, qui devient alors apte à ovuler (tableau 1). Cette maturité finale est atteinte pour des tailles folliculaires variant entre 0,5 mm de diamètre chez les rongeurs à 15 mm de diamètre chez la jument (Monniaux *et al.*, 2009).

Tableau 1 : Diamètre folliculaire d'acquisition des récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa chez différentes espèces de mammifères (Monniaux *et al.*, 2009).

Espèces	Diamètre (en mm) d'acquisition des récepteurs de LH
Femme	10-12
Vache	9
Truie	5
Brebis	3-3,5
Jument	15
Ratte	0,5

La fixation de la LH sur ses récepteurs présents à la surface de la granulosa et des thèques provoque la régulation de l'expression de plusieurs gènes qui transmettent le signal aux cellules du cumulus et à l'ovocyte. Les taux intracellulaires d'Adénosine MonoPhosphate cyclique (AMPC) et d'inositol phosphate augmentent dans les cellules de la granulosa (figure 10). La Protéine Kinase, AMPC dépendante (PRKAC) ainsi activée induit une cascade de phosphorylation et d'activation de facteurs de transcription (CREB1, SP1) qui vont inhiber ou activer l'expression des gènes cibles (CYP19A1 ou aromatasé/P450Aro, CYP17A1 ou STAR, CYP11A1, HSD3B2 ; figure 11 et tableau 2). Ces changements se traduisent par une importante modification du profil de sécrétion des stéroïdes : les taux sériques d'œstrogènes et d'androgènes diminuent alors que le taux de progestérone augmente fortement (Monniaux *et al.*, 2009).

Par ailleurs, le système rénine-angiotensine est présent dans l'ovaire : le gène de la rénine s'exprime dans les cellules de la thèque interne des follicules susceptibles d'ovuler

(figure 10). Le niveau d'angiotensine II s'élève rapidement après le pic de LH et ce facteur peut être considéré comme un autre second médiateur des gonadotropines dans les follicules en parallèle de l'AMPc (Driancourt *et al.*, 2001).

Figure 10 : Rôle des gonadotropines et de l'angiotensine II dans la reprise de la méiose et ovulation (Driancourt *et al.*, 2001).

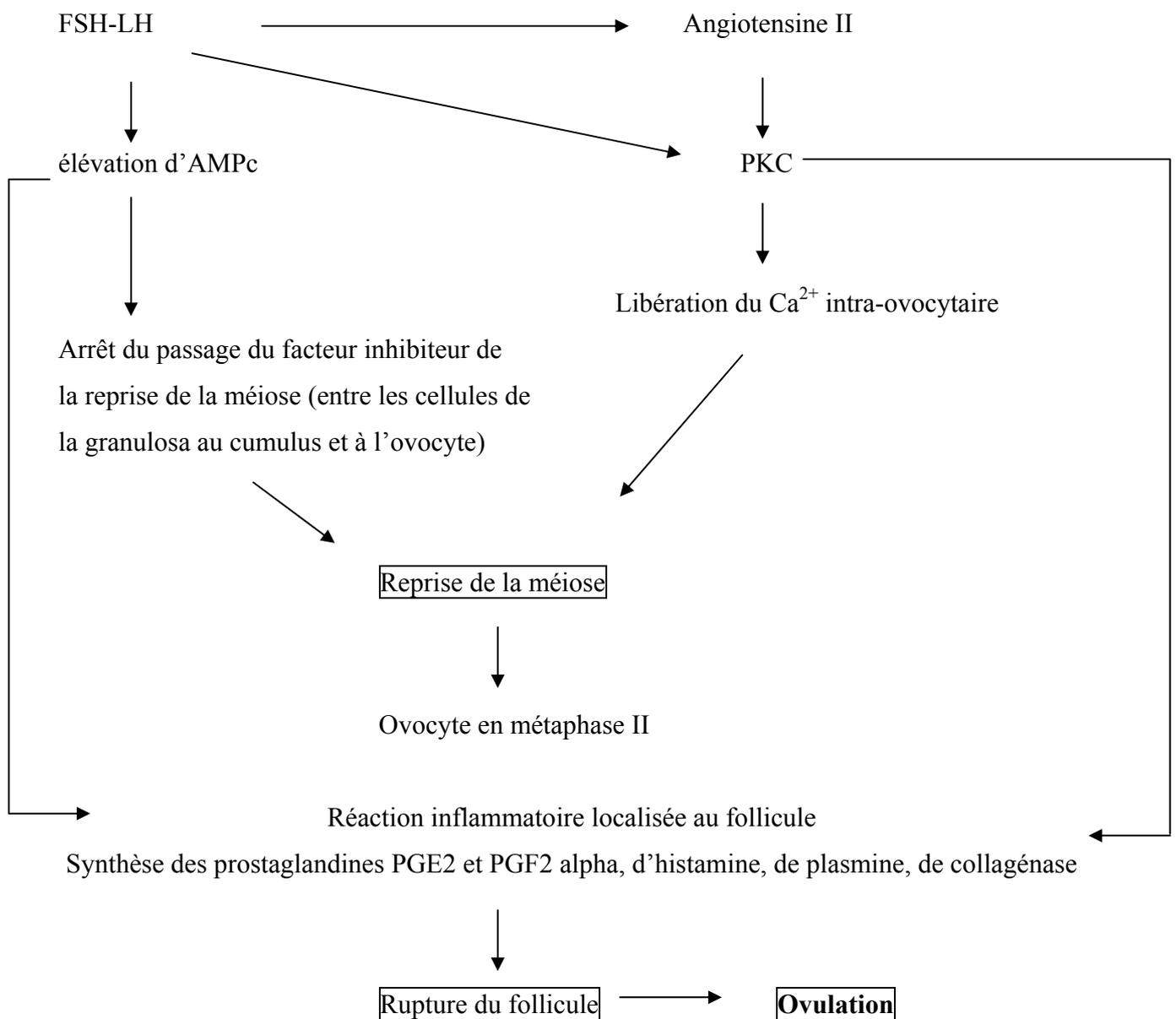


Figure 11 : Cascade d'évènements déclenchés par le pic de LH conduisant à l'ovulation du follicule préovulatoire (Monniaux *et al.*, 2009).

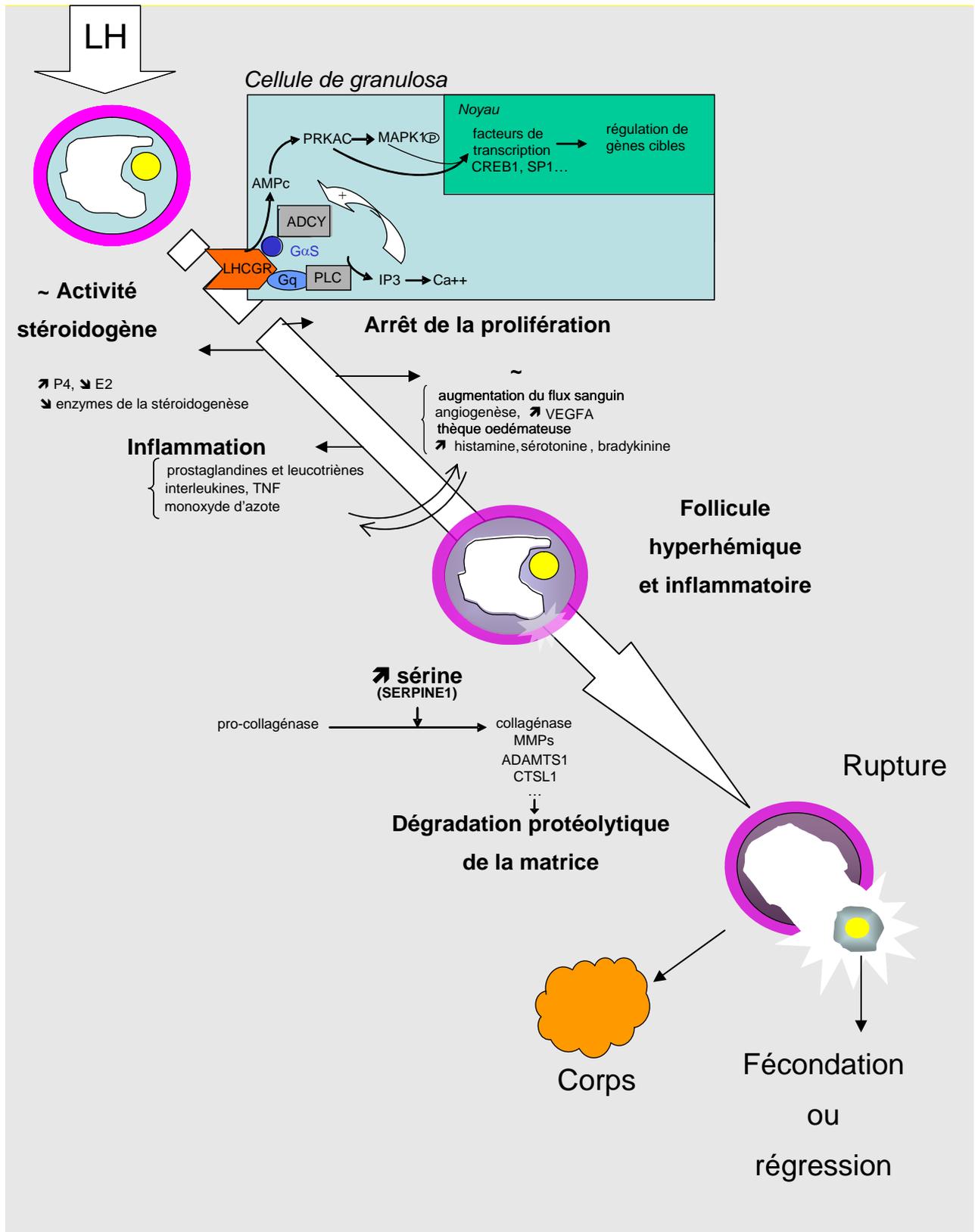


Tableau 2 : Facteurs de transcription activés et gènes cibles induits au pic de LH (Monniaux *et al.*, 2009).

Symbole	Description
CREB1	Protéine de liaison de la réponse AMPc
SP1 ou Gremlin3	Facteur de transcription
CYP19A1 ou aromatase ou P450Aro	Cytochrome P450, famille 19, sous famille A, polypeptide 1
CYP17A1 ou P450C17	Cytochrome P450, famille 17, sous famille A, polypeptide 1
StAR	Protéine régulatrice de façon aiguë de la stéroïdogénèse
CYP11A1 ou P450SCC	Cytochrome P450, famille 11, sous famille A, polypeptide 1
HSD3B2 ou 3beta-HSD	Hydroxy-delta-5-stéroïde deshydrogénase, 3-beta et stéroïde delta isomérase2

#### **4. Les modifications vasculaires du follicule**

Après la décharge ovulatoire, une augmentation du débit sanguin ovarien et de la perméabilité vasculaire est observée. D'une part, le flux sanguin ovarien augmente et est associé à une hyperhémie. La vasodilatation qui suit la décharge gonadotrope est due au monoxyde d'azote (NO), puissant vasodilatateur (tableau 3). Suite à la vasodilatation, le diamètre des vaisseaux et la surface des capillaires doublent dans la thèque interne. D'autre part, la perméabilité vasculaire augmente par exsudation de plasma sanguin et apparition de fenestrations dans les parois des capillaires par où s'échappent les cellules sanguines. Le PAF (Platelet Activating Factor) et le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) contribuent à l'augmentation de cette perméabilité vasculaire (figure 10).

Peu avant l'ovulation, une vasoconstriction localisée à l'apex du follicule résultant de la présence d'endothéline entraîne une ischémie totale du stigma (Driancourt *et al.*, 2001).

Tableau 3 : Récapitulatif des modifications intervenant dans le follicule au moment de l'ovulation (Driancourt *et al.*, 2001).

	Premières heures après le pic de LH	Heures après le pic de LH jusqu'à la rupture du follicule
Premiers évènements	-Formation d'AMPC puis angiotensine II. -Activation de la PKC, synthèse IP3. -Augmentation de Ca <sup>2+</sup> intracellulaire.	
Vaisseaux	-Vasodilatation par NO. -Perméabilité vasculaire due à l'augmentation du VEGF et du PAF. -Fenestrations dues au VEGF.	- Vasoconstriction
Activation d'enzymes	-Kallikréine en bradykinine -Activateur du plasminogène en plasmine -Transformation de plasmine en procollagénase puis en collagénase -Activateur de la P450 <sub>SCC</sub> (coupure de la chaîne latérale du cholestérol)	- Prostaglandine synthase -A l'apex, la plasmine libère le TNF $\alpha$ actif -Protéases
Réaction inflammatoire	-Bradykinine -Histamine -IL1 $\beta$ -IL6 -PAF	-Augmentation des prostaglandines -Libération du TNF $\alpha$ -Arrêt de la réaction inflammatoire due à inhibition de l'IL1 $\beta$
Séroïdes	Tous les stéroïdes diminuent puis seule la progestérone continue de s'élever.	
Abréviations utilisées	AMPC=adenosine monophosphate cyclique ; IL=interleukine ; IP3= inositol 1,4,5-triphosphate ; NO=monoxide d'azote ; P450 <sub>SCC</sub> =CYP11A ; PAF= facteur d'activation plaquettaire ; PKC =protéine kinase C ; TNF = tumor necrosis factor ; VEGF= vascular endothelial growth factor.	

En plus de ces phénomènes vasculaires, l'ovulation est associée à une réaction de type inflammatoire (figure 10). Le nombre de lymphocytes et de macrophages augmentent autour des follicules pré-ovulatoires et ils secrètent des cytokines (IL-1  $\beta$  =interleukine 1  $\beta$  et TNF  $\alpha$  = Tumor Necrosis Factor). Après la décharge gonadotrope, les concentrations de bradykinine, histamine et de facteur d'activation plaquettaire (PAF) augmentent (figure 10). Cependant l'augmentation des taux de métabolites de l'acide arachidonique, leucotriènes, prostaglandines PGE2 et PF2alpha est plus tardive (Driancourt *et al.*, 2001). Les cytokines inflammatoires, dont la concentration augmente, stimulent l'activité d'enzymes protéolytiques, la production de prostaglandines et de monoxyde d'azote. D'autre part, elles modulent aussi la stéroïdogénèse et interviennent dans la maturation du complexe ovocyte-cumulus.

## **5. La rupture de la paroi folliculaire**

D'importants remaniements morphologiques et cytologiques aboutissent à la rupture des follicules (figures 10 et 11) :

- La thèque externe devient œdémateuse par diffusion de plasma sanguin.
- Les faisceaux de fibres de collagène de la thèque externe et de l'albuginée se dissocient.
- Les cellules de la granulosa se détachent de la lame basale, cessent de se diviser et perdent les jonctions qui les unissaient.
- Les cellules du cumulus présentent les mêmes transformations que les cellules de la granulosa sauf que leur dissociation est totale car elles secrètent abondamment de l'acide hyaluronique. Les cellules péri-ovocytaires demeurent assez souvent attachées à l'ovocyte formant la corona radiata. Chez la lapine, la souris, la ratte, la femme, cette couronne persiste après l'ovulation alors que chez les ruminants, la corona disparaît rapidement.
- La lame basale séparant la granulosa de la thèque interne disparaît par endroit et des vaisseaux néoformés pénètrent dans la granulosa (Driancourt *et al.*, 2001).

En outre, des changements ont également lieu à l'apex du follicule :

- Les cellules de l'épithélium ovarien s'étirent et s'aplatissent, accompagnant l'extériorisation du follicule à la surface de l'ovaire, puis se détachent.
- Les cellules sous jacentes de la granulosa, des thèques et de l'albuginée se dissocient complètement puis disparaissent.

Par la suite, la rupture de la paroi folliculaire nécessite l'action d'enzymes protéolytiques dégradant la matrice extracellulaire (figure 10). Notamment, après le pic de LH, la production locale d'activateur du plasminogène, de plasmine et de collagénases augmente considérablement. En effet, l'activité plasmine, résultant de la production d'activateurs du plasminogène par les cellules de la granulosa, a deux types d'actions : d'une part, une activité directe qui dissocie la matrice protéique des faisceaux de fibres de collagène ; d'autre part, une activité indirecte qui libère la collagénase de son précurseur et détache de la paroi des vaisseaux le TNF $\alpha$  sous forme active. Par ailleurs, la collagénase fragmente les chaînes des fibres de collagène. Enfin, le TNF  $\alpha$  augmente l'activité collagénase, stimule la production des prostaglandines et entraîne l'apoptose des cellules épithéliales de l'ovaire au niveau de l'apex (tableau 3).

De plus, deux protéases (ADAM TS-1 et cathepsine L), nécessaires à la rupture du follicule, sont induites par le récepteur de la progestérone, lui-même induit par le pic de LH et qui agit comme facteur de transcription. En effet, l'activité d'inhibiteurs de sérines protéases et celle des inhibiteurs de métalloprotéases matricielles augmentent et sont régulées par les stéroïdes et les prostaglandines (Monniaux *et al.*, 2009).

Finalement, la faible augmentation de la pression intra folliculaire entre la décharge de LH et l'ovulation peut faciliter la rupture du follicule qui s'achève par la désintégration complète de l'apex. L'ovocyte est alors expulsé en réponse à la chute de pression hydrostatique provoquée par la rupture folliculaire.

## **6. La maturation du complexe ovocyte-cumulus**

Pendant la folliculogénèse, l'ovocyte est bloqué en prophase de première division méiotique. En effet, dans le follicule, un facteur inhibiteur transite des cellules de la granulosa au cumulus et à l'ovocyte par des jonctions communicantes. Ainsi, le pic de LH induisant la phosphorylation de la connexine 43 constituant les jonctions communicantes, bloque le passage de ce facteur inhibiteur, par arrêt du couplage métabolique entre les cellules folliculaires et l'ovocyte. La nature exacte de ce facteur dit « Oocyte Meiosis Inhibitor » n'est pas connue dans toutes les espèces. L'AMPc est mise en cause chez les ruminants et les purines chez les rongeurs.

Après le pic de LH, l'ovocyte reprend donc sa maturation : il libère son globule polaire puis reste bloqué en métaphase II jusqu'à sa fécondation (figures 9 et 10). Toutefois, les canidés font exception à ce modèle : l'ovulation libère des ovocytes en prophase I encore immatures et non fécondables.

Parallèlement à cette maturation nucléaire, une réorganisation des composants cytoplasmiques a lieu dans l'ovocyte :

- les granules corticaux migrent vers la zone corticale en s'associant au cytosquelette,
- les mitochondries forment des agrégats avec le réticulum endoplasmique dans la région péri-nucléaire,
- les réserves en lipides et glutathion augmentent,
- dans le cytosol, la concentration de calcium augmente.

Par ailleurs, les cellules qui entourent l'ovocyte sont également modifiées. En effet, au pic de LH, la sécrétion d'une matrice extracellulaire riche en acide hyaluronique provoque l'expansion du cumulus (Monniaux *et al.*, 2009).

## II. Paramètres de l'ovulation

### 1. Nombre d'ovulations

Le nombre de follicules ovulant simultanément varie selon les espèces. En effet, comme le montre le tableau 4, certaines espèces sont poly-ovulantes et donc très prolifiques, d'autres essentiellement mono-ovulantes, sauf en cas de dysfonctionnement du mécanisme de sélection folliculaire, autorisant d'autres follicules à atteindre leur maturité et à ovuler (Davies Morel *et al.*, 2005).

Tableau 4 : Nombre de follicules ovulés par cycle chez différents mammifères.

Espèces	Nombre moyen de follicules ovulés par cycle	Références bibliographiques
Femme	1	Baker, 1982
Vache	1	Baker, 1982
Truie	10	Baker, 1982
Brebis	2 sans compter les races prolifiques	Hunter <i>et al.</i> , 2004
Jument	1.31	Davies Morel <i>et al.</i> , 2005
Chienne	6	Shimizu <i>et al.</i> , 1990
Chatte	5.1	Verstegen, 1998
Souris	8	Baker, 1982
Hamster	6	Baker, 1982
Ratte	10	Baker, 1982
Lapine	5	Baker, 1982

Mais ce chiffre moyen caractéristique de l'espèce souffre de variations au sein même de l'espèce. Chez la chienne, le taux d'ovulation dépend de la taille de la femelle : les femelles de petites races (inférieures à 10 kg) ont un taux d'ovulation plus faible que les grandes races (tableau 5 ; Reynaud *et al.*, 2006). Chez la chatte, le taux d'ovulation est en relation avec l'amplitude de la décharge de LH, qui est corrélée au nombre, à l'intervalle et la qualité des coïts (Verstegen, 1998).

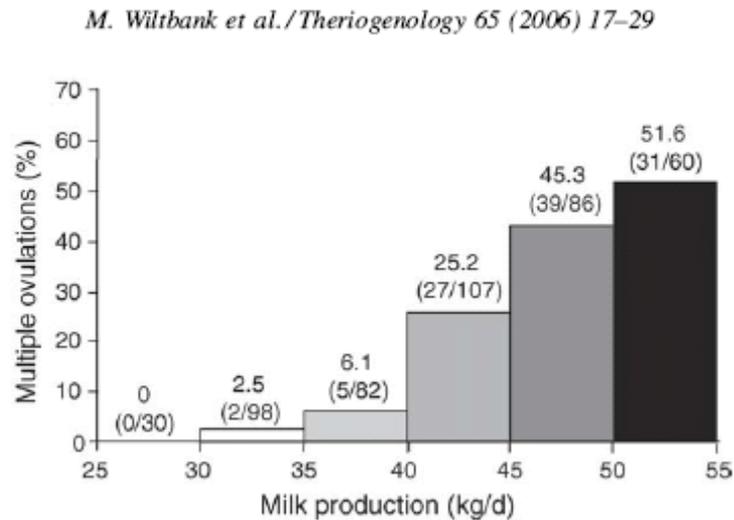
Tableau 5 : Variation du taux d'ovulation en fonction de la taille chez la chienne (Reynaud *et al.*, 2006).

Caractéristiques de la race	Nombre de chiennes	Taux d'ovulation
Petite taille, <10 kg	13	5,5±0,7
Moyenne taille, 10-20 kg	20	7,8±0,7
Grande taille, >20 kg	11	10,1±1,4

Chez la vache, en moyenne un seul un follicule ovule et libère un ovocyte. Pourtant, certaines vaches présentent des doubles ovulations ou multiples. Dans des troupeaux de vaches laitières hautes productrices, les incidences rapportées sont de 15,5% (Lopez-Gatius *et al.*, 2005) ou 26,8% (Lopez-Gatius *et al.*, 2002). Les ovulations multiples sont principalement des ovulations doubles (35 sur 235), seule 1 sur 235 ovulations est triple (Stevenson *et al.*, 2007). Différents facteurs influenceraient la production de jumeaux chez la vache comme l'âge, la saison, la génétique, des antibiotiques, des hormones, les kystes ovariens et la production laitière. Dans 92,6% des cas, les deux follicules ovulés proviennent de la même vague folliculaire chez la vache. La naissance de jumeaux est plus élevée lors de la 2<sup>ème</sup> mise bas chez la vache (6-7%) par rapport aux génisses (1%). Par ailleurs, l'incidence des ovulations doubles (14%) est plus élevée dans les cycles à 3-4 vagues que dans les cycles à 2 vagues. La production laitière est un des facteurs influençant le plus le taux d'ovulation double (figure 11). Chez les vaches produisant moins de 40 kg/jour de lait, le taux de double ovulation est faible (6,9%) alors qu'il atteint 20,2% au-delà de 40 kg/jour (Wiltbank *et al.*, 2006 ; figure 11).

Chez la jument, autre espèce principalement mono-ovulante, les ovulations sont néanmoins multiples dans 29,3% des cycles (Davies Morel *et al.*, 2005). Ainsi les doubles ovulations se rencontrent dans 8 à 44% des cycles, et les ovulations triples ou quadruples sont dix fois moins fréquentes que les ovulations doubles. De plus, le taux d'ovulations multiples diffère selon les races : élevé chez les purs sangs et les Trotteurs américains (15 à 25%), d'au moins 14% chez les Selles Français, rare chez les arabes et les poneys. Les doubles ovulations semblent répétables chez un même individu. En outre, le taux d'ovulations multiples (18%) est réduit chez les juments suitées par rapport aux juments vides (26%). Ce taux augmenterait progressivement de février jusqu'à juillet et serait plus élevé entre 6 et 10 ans qu'entre 2 et 5 ans (Clément *et al.*, 2001).

Figure 11 : Evolution du taux d'ovulation double avec la production laitière (Wiltbank *et al.*, 2006).



L'espèce ovine a la particularité de renfermer à la fois des races poly-ovulantes (Romanov : taux d'ovulation=3, Finnoise : taux d'ovulation=2, Boorola : taux d'ovulation=5, Cambridge, Belclare ...) et des races mono-ovulantes (Ile de France, Mérinos...). Outre la race, le taux d'ovulation varie avec la saison : pour des brebis poly-ovulantes mises à la reproduction de mai à juillet, le taux est de 1 alors qu'en automne et en hiver, il s'élève à 1,7-1,8 (Rawlings *et al.*, 2007).

Chez la chèvre et la truie, le taux d'ovulation évolue en fonction de l'âge. Chez la truie, le taux d'ovulation est bas lors du premier œstrus, il augmente progressivement et devient optimal à partir des troisièmes chaleurs (Noakes, 2001).

## **2. Diamètre à l'ovulation**

Le diamètre à l'ovulation constitue le diamètre maximal qu'atteint le follicule au cours de la folliculogénèse. Il est variable en fonction des différentes espèces (tableau 6). Chez la jument, le diamètre du follicule est très variable et peut s'échelonner de 30 à 70 millimètres à l'ovulation. Ce diamètre folliculaire dépend de la saison (plus large de 5-8 millimètres au printemps), de la race (5 millimètres plus petit pour les races miniatures, 10 millimètres de plus pour les juments de trait), mais aussi du nombre de follicules ovulatoires : une

diminution de 4-9 millimètres de diamètre est notée dans les doubles ovulations par rapport aux ovulations simples (Bergfelt et Adams, 2007). Chez la chienne, espèce au sein de laquelle les races ont une grande variabilité de taille, le diamètre ovulatoire semble néanmoins constant (Reynaud *et al.*, données non publiées).

Tableau 6 : Diamètre du follicule à l'ovulation chez différents mammifères (Baker, 1982 ; Monniaux *et al.*, 1997 ; Driancourt *et al.*, 2001).

Espèces	Diamètre à l'ovulation (en millimètre)
Femme	20-25
Vache	10-20
Truie	7-11
Brebis	6-8
Jument	45
Chienne	4-6
Chatte	3
Ratte	0.6-0.9
Lapine	0.8-2

### 3. Site et latéralité des ovulations

Chez les mammifères, l'ovulation a lieu à n'importe quel point de la surface de l'ovaire, sauf au niveau du hile alors que chez la jument, l'ovulation a toujours lieu au niveau de la fosse ovulatoire (figure 12).

De plus, une certaine latéralité des ovulations sur l'ovaire droit est observé chez beaucoup de mammifères (tableau 7). L'espèce équine fait exception : une majorité de juments nullipares (62%) présente leur première ovulation sur l'ovaire gauche, ceci probablement du fait d'une meilleure vascularisation initiale. Cette asymétrie d'irrigation sanguine s'estompe à la première gestation qui provoque une hypertrophie vasculaire identique sur les deux ovaires (Rubion, 2000).

Figure 12 : Disposition originale schématique comparée de la medulla et du cortex chez la jument et chez les autres mammifères (Ginther, 1992).

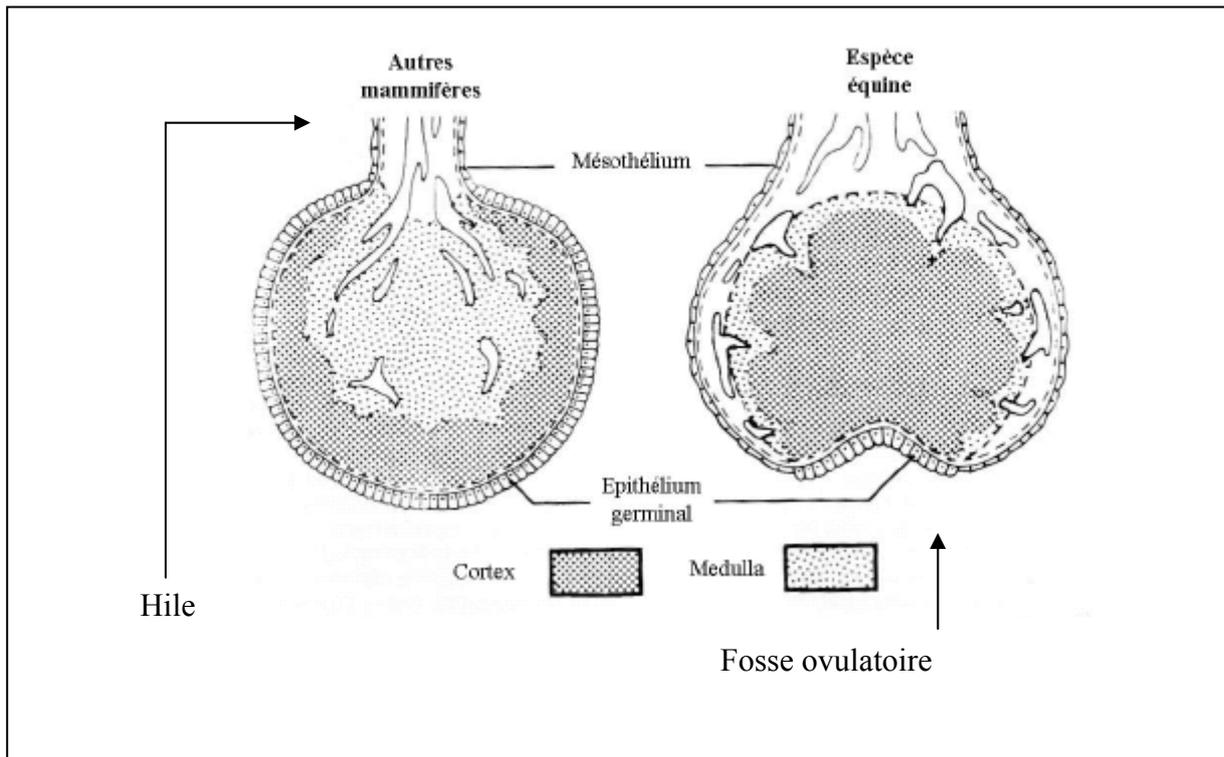


Tableau 7 : Latéralité des ovulations chez différentes espèces de mammifères.

Espèce	Activité des ovaires
Vache	60% d'ovulations sur l'ovaire droit pour les vaches laitières (Chastant-Maillard, 2005) 53,2% de gestation sur corne utérine droite (Hylan <i>et al.</i> , 2009) Pas de différence pour les vaches allaitantes (Stevenson, 2007)
Brebis	60% sur l'ovaire droit (Rawlings <i>et al.</i> , 2007)
Chèvre	Pas de différence (Romano <i>et al.</i> , 1997)
Jument	Pas de différence (Rubion, 2000)
Chienne	60 % d'ovulations sur l'ovaire droit (Reynaud <i>et al.</i> , 2005)

#### 4. Durée de l'ovulation

La durée de l'ovulation, au sens de l'intervalle de temps qui sépare les ovulations du premier et du dernier follicule chez les espèces polyovulantes, est très variable entre les mammifères et dépend de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques (tableau 8).

Tableau 8 : Durée de l'ovulation chez différentes espèces de mammifères.

Espèce	Durée de l'ovulation	Références bibliographiques
Truie	2-9h	Soede <i>et al.</i> , 1992
Chèvre	3h	Romano <i>et al.</i> , 1997
Jument	1 jour	Bergfelt et Adams, 2007
Chienne	24-36h	Fontbonne 2008
Chatte	10h	Malandain <i>et al.</i> , 2006

## 5. Fréquence des ovulations

Le cycle sexuel correspond à l'intervalle entre deux ovulations ou plus exactement entre deux périodes de chaleurs (tableau 9). Mais des ovulations peuvent en réalité intervenir entre temps pendant la phase lutéale, à cause de l'existence de vagues folliculaires. Ces ovulations supplémentaires ne s'accompagnent le plus souvent pas de comportement d'œstrus. Une vague folliculaire correspond à la croissance synchrone d'une cohorte de follicules, qui évoluent vers l'ovulation ou leur régression (Evans, 2003). Selon les espèces, une seule (femme, rongeur, truie) ou plusieurs (brebis, vache, jument) vagues de développement terminal sont observables au cours du cycle (Driancourt *et al.*, 2001).

Chez la jument, un cycle dure en moyenne 21,5 jours. Mais cette durée est très variable en fonction du moment de l'année : en début d'année, il dure 25 jours alors qu'en été, il peut se raccourcir à 17-18 jours. Dans cette espèce, la majorité des cycles ovariens ne comporte qu'une seule vague de croissance folliculaire, mais dans 30 à 60 % des cycles de juments, une vague secondaire peut s'intercaler entre les vagues principales même sous imprégnation progestéronique. L'ovulation spontanée en phase lutéale serait rare chez la jument, mais possible dans 4 à 20% des cycles (Clément *et al.*, 1997).

Tableau 9 : Fréquence des ovulations et nombre de vagues folliculaires chez différentes espèces de mammifères (Driancourt *et al.*, 2001 ; Monniaux *et al.*, 2009).

Espèce	Intervalle entre ovulations en jour (durée du cycle)	Nombre de vagues de croissance folliculaire par cycle
Femme	28	1
Vache	17-25	2-3
Truie	21	1
Brebis	17	4-6
Jument	20-25 pendant la saison de reproduction	1-2
Chienne	6-7 mois	1
Chatte	2-3 semaines pendant la saison de reproduction	1
Rongeurs	4-5	1

La vache présente de 2 à 4 vagues folliculaires, exceptionnellement jusqu'à 6 vagues folliculaires : 2 vagues chez 75% des vaches (Bleach et al, 2004), trois vagues chez 70% des génisses (Wolfenson *et al.*, 2004). Le nombre de vagues folliculaires affecte la durée totale du cycle, la durée de la vague folliculaire ainsi que le pourcentage d'ovulations doubles (Jaiswal *et al.*, 2009).

Les brebis présentent de 2 à 4 vagues folliculaires par cycle. Les follicules ovulatoires se développent majoritairement à partir des follicules issus de la dernière vague folliculaire. Mais dans certains cas, les follicules ovulatoires peuvent aussi provenir de l'avant-dernière vague folliculaire (Evans, 2003).

## **6. L'ovocyte ovulé : stade nucléaire et nombre par follicule**

Chez la plupart des mammifères, suite au pic de LH pré-ovulatoire, l'ovocyte bloqué en prophase I reprend sa méiose pour atteindre le stade métaphase II dans le follicule peu avant l'ovulation. A ce stade, l'ovulation a lieu et l'ovocyte est directement apte à être fécondé. Ce modèle général présente quelques exceptions. Chez la chienne, malgré l'existence d'un pic de LH déclenchant l'ovulation, l'ovocyte est expulsé de son follicule à un stade encore immature (en prophase I) et l'ovocyte ne reprend sa méiose que quarante-huit heures après l'ovulation (Reynaud *et al.*, 2005).

D'autre part, le modèle général chez les mammifères veut que chaque follicule libère un ovocyte à chaque ovulation. Néanmoins, en pourcentage variable selon l'espèce, les follicules ovariens peuvent contenir plusieurs ovocytes : on parle de follicules poly-ovocytaires. Les follicules poly-ovocytaires représentent 0,1 % à 3 % de la population folliculaire chez la femme ou la souris, 4 % chez la chatte, et jusqu'à 14 % chez la chienne, où ils contiennent de 2 à 17 ovocytes (Mc Dougall *et al.*, 1997). Mais on ignore si les follicules poly-ovocytaires atteignent l'ovulation et s'ils expulsent plusieurs ovocytes ou un seul. Chez la chienne, le nombre d'ovocytes ou d'embryons collectés par rinçage de l'oviducte est parfois supérieur au nombre de corps jaunes, ce qui suggère qu'un follicule puisse ovuler plusieurs ovocytes (Bysted *et al.*, 2001 ; Reynaud *et al.*, 2005).

### III. Détermination du moment de l'ovulation

La connaissance du moment de l'ovulation est importante pour déterminer le moment optimum de l'accouplement ou de l'insémination artificielle.

#### 1. Par rapport au pic de LH

L'intervalle entre le pic de LH et l'ovulation est très variable chez les différentes espèces de mammifères (tableau 10). Chez la chatte, l'intervalle entre la stimulation et l'ovulation est indirectement proportionnelle au nombre de coïts. Une chatte en œstrus depuis plusieurs jours ovule plus précocement après le coït qu'à une chatte venant d'entrer en œstrus. L'ovulation peut se dérouler aussi bien à 24 ou 52 heures après la décharge de LH induite (Verstegen, 1998). Chez les vaches modernes, le délai entre le pic de LH et l'ovulation a tendance à s'allonger, 27% des vaches hautes productrices laitières ont un intervalle pic de LH-ovulation de plus de 24 heures. Cet allongement du délai est associé à un follicule préovulatoire moins actif, sécrétant moins d'œstradiol et qui serait responsable d'une diminution par 2,5 de la concentration maximale de LH au pic (Bloch et al, 2006). Contrairement aux autres mammifères, la jument a une concentration en LH qui augmente quelques jours avant l'ovulation et qui atteint son maximum 1 ou 2 jours après (Rubion, 2000).

Tableau 10 : Intervalle entre le pic de LH et l'ovulation chez différents mammifères (Driancourt *et al.*, 2001 ; Monniaux *et al.*, 2009).

Espèces	Intervalle pic LH-ovulation
Femme	35-36h
Vache	24.4h (Bloch et al, 2006)
Truie	40-43h
Brebis	23-25h
Jument	Pic de LH : 2 jours post ovulation
Chienne	36-50h (Reynaud <i>et al.</i> , 2005)
Chatte	24-52h (Verstegen, 1998).
Ratte	14h

## 2. Par rapport au comportement d'œstrus

A l'exception des primates, les mammifères domestiques présentent à la fin de la croissance folliculaire des périodes de modifications comportementales et/ou physiques : il s'agit de la phase d'œstrus (ou chaleurs), qui marque une réceptivité sexuelle (acceptation du mâle). L'œstrus est donc directement à mettre en relation avec l'ovulation. Les chaleurs étant la seule manifestation extérieure du cycle sexuel, il est commode de situer l'ovulation par rapport aux chaleurs. L'ovulation a lieu au début du cycle ovarien mais avec de grandes variations selon l'espèce (tableau 11).

Tableau 11 : Signes d'œstrus et durée de l'intervalle œstrus-ovulation chez quelques mammifères.

Espèces	Signes cliniques d'œstrus	Intervalle début d'œstrus-ovulation
Chienne	Attirance des mâles, accepte la saillie	24-48h (Chaffaux et Bazile, 2001)
Chatte	Diminution de l'activité générale, miaulements, piétinements sur les membres postérieurs, frottement contre divers objets, acceptation du chevauchement et coït	Anovulatoire si pas de stimulation vaginale Diamètre folliculaire atteint en 1 à 8 jours (Malandain <i>et al.</i> , 2006).
Brebis	Cherche le bélier, place sa tête dans son flanc et dans sa région scrotale, acceptation du chevauchement	29-30h (Rawlings et Bartlewski, 2007)
Vache	Chevauchements	26,4h ± 5,2h (Stevenson <i>et al.</i> , 2007)
Jument	Acceptation de la saillie par la jument	48h (Bergfelt et Adams, 2007)
Truie	Reflexe d'immobilité	36-44h (Safranski et Cox, 2007)

Chez la chienne, l'ovulation a lieu en moyenne 24-48 heures après le premier accouplement, mais cet intervalle est très variable. La première acceptation du mâle peut avoir lieu 5 jours avant l'ovulation et jusqu'à 3 jours après (Reynaud *et al.*, 2006).

Chez la chatte, en l'absence de stimulation vaginale, les chaleurs sont anovulatoires. Le diamètre folliculaire maximal est atteint en moyenne à  $3,8 \pm 0,3$  jours après le premier jour d'apparition des manifestations comportementales d'œstrus (Malandain *et al.*, 2006).

Chez la vache, la première acceptation du chevauchement est un bon signe d'œstrus pour prédire l'ovulation, qui a lieu  $26,4 \pm 5,2$  h après la première acceptation. Mais ce signe ne se manifeste que dans 58% des œstrus. Le chevauchement de congénères par la vache en œstrus elle-même semble être un meilleur moyen pour détecter l'ovulation puisque les vaches montrent ce comportement dans 90% des périodes d'œstrus : le premier chevauchement, réalisé par la vache en œstrus a lieu  $28,7 \pm 5,3$ h avant l'ovulation (Roelofs *et al.*, 2005).

Chez la jument, la variabilité de la durée des chaleurs est considérable : de 2 à 15 jours avec une durée moyenne de 7 jours. L'ovulation de la jument a lieu à la fin des chaleurs. Ainsi, 69% des ovulations ont lieu au cours des 2 derniers jours de l'œstrus et 11% se produisent le premier jour du refus du mâle, c'est-à-dire le lendemain de la fin des chaleurs (Clément *et al.*, 2001).

Chez la brebis, l'ovulation a lieu 29-30 heures après le début des chaleurs. En période de chaleurs, la brebis est excitée, va au devant du bélier, tourne autour de lui, cherche à placer sa tête dans ses flancs et dans la région scrotale. A l'approche du bélier, elle s'immobilise, tourne la tête sur le côté et le regarde, agite la queue et accepte le chevauchement (Rawlings et Bartlewski, 2007).

Dans certains cas, l'ovulation peut avoir lieu en l'absence de signes de chaleurs, on parle de chaleurs silencieuses. Ce type de chaleurs existe chez certaines chiennes, vaches, brebis et truies. Chez la vache laitière, la première ovulation post-partum s'accompagne de chaleurs silencieuses dans 50 % à 94 % des cas (Stevenson *et al.*, 2007). Chez la brebis, la première ovulation après l'introduction des mâles dans le troupeau est le plus souvent silencieuse (Rawlings et Bartlewski, 2007) alors que pour les truies, des chaleurs silencieuses ne sont observées que chez 2 % des femelles (Safranski et Cox, 2007). Dans d'autres cas, les chaleurs peuvent être observées sans que l'ovulation n'ait lieu : c'est le cas des split-heat ou fausses chaleurs, observées chez certaines chiennes de moins de 2 ans. Les chaleurs suivantes, 1 à 10 semaines plus tard, sont en général ovulantes. En cycle anovulatoire, la chienne présente une augmentation de la concentration en œstrogènes accompagnée des signes d'œstrus mais il n'y a pas d'augmentation de la LH, ni de la progestérone (Fontbonne, 2008).

L'ovulation semble possible également chez la vache, en particulier dans les situations inhibant la survenue d'un pic de LH suffisant (douleur telle qu'une boiterie, faible état corporel).

### **3. Par rapport au coït**

Il n'existe pas de véritable cycle ovarien chez les espèces dont l'ovulation est déclenchée par l'accouplement. Chez la chatte, la copulation comporte plusieurs étapes (tableau 12).

Tableau 12 : Etapes de l'accouplement chez le chat (Verstegen, 1998).

Actions	Durée
Montée du mâle, morsure au cou	5-50s
Chevauchement	0,3-9 min
Intromission et éjaculation	1-27s
Le mâle se retire	15s

Les papilles cornées à la surface du pénis du chat exercent des stimuli mécaniques sur le vagin. Quelques minutes après la copulation, la concentration circulante de LH augmente suite à un réflexe neuroendocrinien, pour atteindre un pic dans les 2 heures après le coït. L'ovulation a lieu selon les auteurs 24-56 heures post-coïtum. Environ 50 % des chattes ovulent après un seul accouplement (Noakes, 2001).

Une réaction post-coïtale de 1-17 minutes est nettement observée chez la chatte : la femelle rejette le mâle, se montre agressive envers lui et émet un cri coïtal caractéristique très bruyant et sourd. Puis elle s'étire, effectue des roulements désorientés et se lèche la partie génitale. La chatte peut refuser la copulation jusqu'à 5 heures après le coït. Mais 10-60 minutes après le coït en moyenne, la chatte reprend l'attitude de l'œstrus et la copulation reprend. Lors de l'exposition de chattes en œstrus à des mâles fertiles pendant 2 heures par jour, il se produit entre 4 et 8 copulations par œstrus avec une moyenne de 5,4 copulations (Johnston *et al.*, 2001).

#### 4. Par rapport à la saison

Chez les espèces à reproduction saisonnière, la photopériode est un facteur qui module l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'information photopériodique est captée par la rétine et transmise par voie nerveuse à l'épiphyse. La mélatonine, hormone produite pendant la nuit par la glande pinéale, constitue un signal endocrinien permettant à l'organisme de distinguer les jours longs d'été par rapport aux jours courts d'hiver. La mélatonine agit au niveau de l'hypothalamus et contrôle la libération de GnRH, donc la libération de LH et l'activité des gonades (Monniaux *et al.*, 2009). Cette influence de la photopériode n'est visible que dans certaines espèces, dites saisonnières. Les ovulations dans ces espèces n'ont donc lieu qu'à certaines périodes de l'année, périodes variables selon les espèces (tableau 13). La même information photopériodique a cependant des effets contraires selon les espèces. Pour la chatte et la jument, l'activité sexuelle est stimulée lors des jours croissants alors que la brebis et la chèvre sont des espèces à saisonnalité de jours décroissants. Chez la brebis, la durée de la saison de reproduction diminue avec l'augmentation de la latitude et la température a seulement un rôle secondaire (Noakes, 2001).

Par ailleurs, pour une même espèce généralement saisonnière, il existe des variations intra-espèce liées à la race et/ou à l'individu. La durée de la saison sexuelle peut varier du simple au double entre races et individus au sein de la même race. Ainsi, les brebis issues des races dont le berceau est situé à des latitudes moins élevées ont une période de reproduction plus longue avec un anoestrus saisonnier plus court. Certaines femelles manifestent une reprise de l'activité sexuelle au printemps. Ce sont les races dites « désaisonnées », comme les Mérinos, Ile-de-France, Préalpes, rustique du Massif central et Romanov : elles ont la capacité de se reproduire naturellement en contre-saison. D'autres races sont saisonnées (Texel, Mouton Charollais, Rouge de l'ouest, Suffolk), leur activité hormonale liée à la reproduction commence à s'atténuer dès le début de février et ne reprend réellement que mi-septembre. D'autre part, chez la chatte, l'anoestrus d'hiver concerne 90 % des femelles persanes et seulement 40 % des femelles orientales (Fontbonne, 2008). Des facteurs environnementaux sont aussi à prendre en compte. Certaines juments ne subissant pas de stress et bien nourries restent cyclées tout l'hiver (Clément *et al.*, 2001).

Tableau 13 : Saison de reproduction chez différents mammifères (Noakes, 2001).

Espèces	Période d'ovulations
Femme	De la puberté à la ménopause : pas de saisonnalité
Vache	Cycles continus, polyœstrus : pas de saisonnalité
Truie	Cycles continus, polyœstrus : pas de saisonnalité
Brebis	Août à décembre, polyœstrus saisonnier
Chèvre	Août à février, polyœstrus saisonnier
Jument	Mars à août, polyœstrus saisonnier
Chienne	Cycles continus, mono/diœstrus : pas de saisonnalité
Chatte	Février à octobre, polyœstrus saisonnier

## 5. Par rapport au stade physiologique

L'ovulation est influencée par le stade physiologique, de façon variable selon les différentes espèces de mammifères (figures 13 et 14).

### a. Par rapport à la puberté

La puberté correspond à la période d'installation de l'activité sexuelle et donc à la première ovulation. A la puberté, une augmentation de la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus conduit à une sécrétion de gonadotrophines et à la croissance folliculaire. L'âge de la puberté est très variable selon les espèces et est également variable pour une espèce donnée (tableau 14). Il dépend principalement de la vitesse de croissance, elle-même liée à des facteurs tels que l'alimentation, l'environnement et des facteurs génétiques. La puberté est ainsi acquise lorsque le jeune atteint, par exemple, 30-40 % de son poids adulte chez la ratte, 40-55 % chez la vache et 60-70 % chez la brebis (Nicolino et Forest, 2001). Lors de la puberté, les premières chaleurs sont souvent silencieuses. Il semble que le système nerveux central ait besoin de l'imprégnation de progestérone pour exprimer des signes de chaleurs. Il y a donc ovulation sans expression de chaleurs.

Figure 13 : Déterminisme de l'ovulation en fonction du stade physiologique (Driancourt *et al.*, 2001).

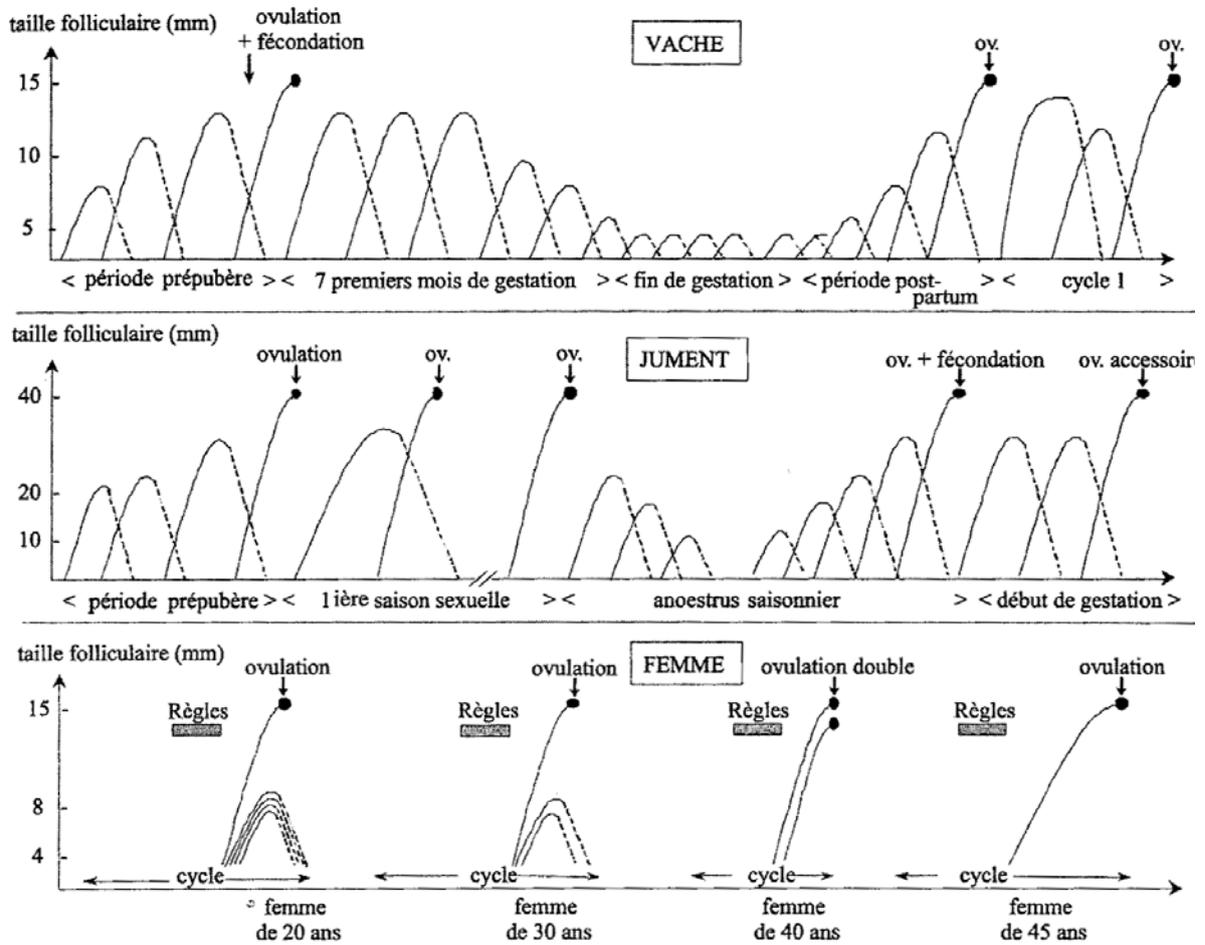


Figure 14 : Périodes d'ovogenèse et de folliculogénèse chez différents mammifères (Monniaux *et al.*, 2009).

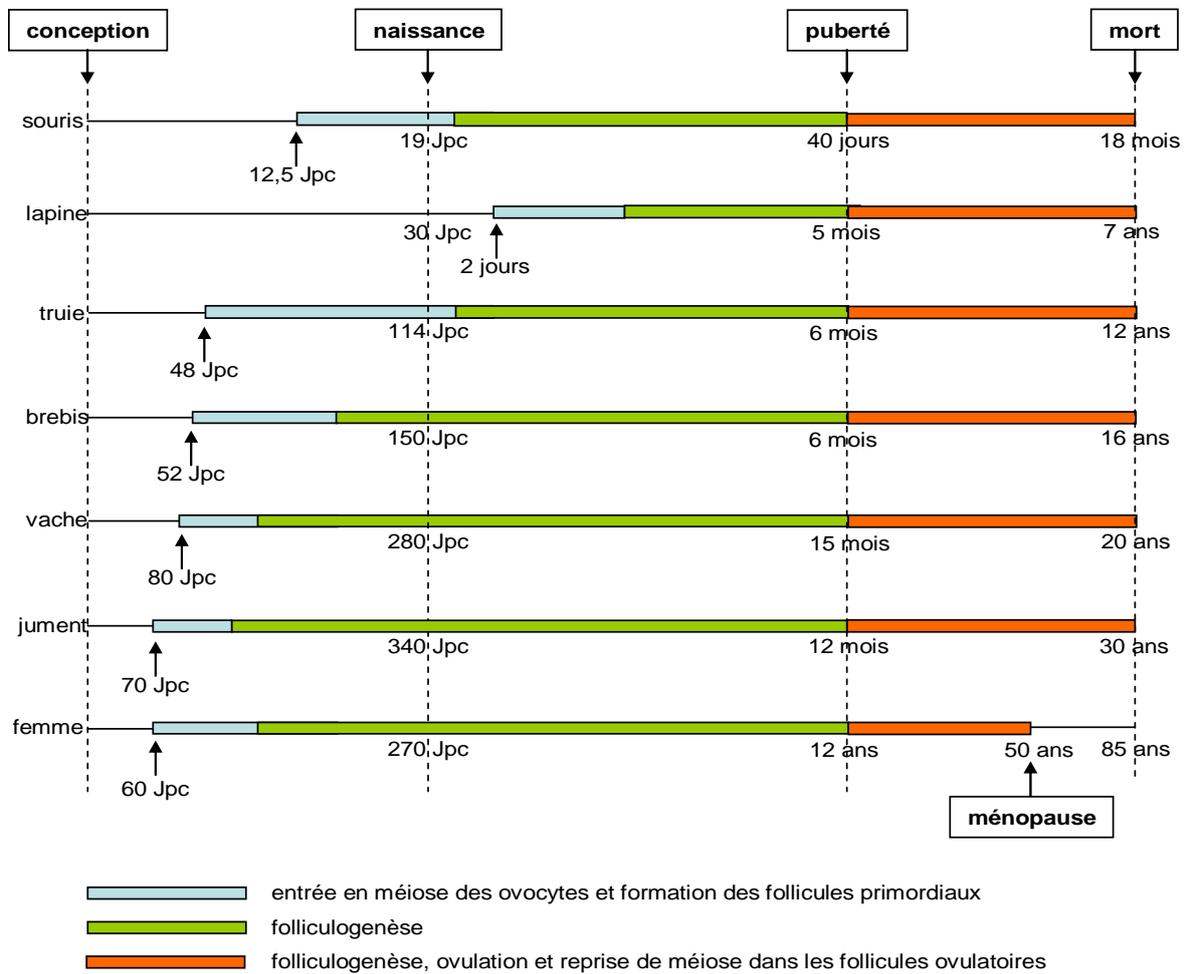


Tableau 14 : Age à la puberté chez différentes espèces de mammifères.

Espèces	Age à la puberté	Références bibliographiques
Femme	11-14 ans	Baker 1982
Vache	12-15 mois	Baker 1982 ; Monniaux <i>et al.</i> , 2009
Truie	6-7 mois	Baker 1982 ; Monniaux <i>et al.</i> , 2009
Brebis	6-7 mois	Baker, 1982
Jument	12 mois	Monniaux <i>et al.</i> , 2009
Chienne	6-9 mois	Laing <i>et al.</i> , 1988
Chatte	4-18 mois	Verstegen, 1998
Hamster	25-30 jours	Baker, 1982
Ratte	33-40 jours (Baker, 1982)	Baker, 1982
Souris	30-40 jours	Baker, 1982 ; Monniaux <i>et al.</i> , 2009
Lapine	3-5 mois	Baker, 1982 ; Monniaux <i>et al.</i> , 2009

#### **b. Par rapport à la gestation et à la lactation**

Pour les mammifères polycycliques à reproduction non saisonnière, l'activité d'ovulation est interrompue pendant la gestation et la lactation (à l'exception de la vache laitière pendant la traite ; figure 13). A l'opposé, pour les espèces à reproduction saisonnière, l'allaitement a lieu pendant la période annuelle d'anœstrus et n'a donc que rarement des conséquences inhibitrices sur l'ovulation. Pendant la gestation, la progestérone inhibe la production des hormones gonadotropes hypophysaires, empêchant en particulier toute décharge ovulante de LH. Mais cet effet inhibiteur de la gestation sur l'ovulation n'est pas aussi exclusif selon les différentes espèces. Chez la jument, d'une part la vague folliculaire de la phase lutéale peut ovuler, d'autre part, des juments gestantes de quelques jours peuvent ovuler. De plus, des cas de superfœtation sont décrits dans de nombreuses espèces, témoignant de la possibilité d'ovulation pendant la gestation (Clément *et al.*, 2001).

En post-partum, la fréquence et l'amplitude des décharges répétées de LH, fortement réduites pendant la gestation, augmentent progressivement, permettant la reprise de la croissance complète de follicules ovariens avec ovulation.

L'allaitement ralentit la reprise de cette activité hypothalamo-hypophysaire. Les facteurs responsables sont mal connus : la prolactine joue un rôle mais elle n'est pas la seule en cause. La stimulation du mamelon au moment de la tétée entraîne une décharge de beta-endorphine qui provoque à la fois une décharge de prolactine et une inhibition de la décharge de LH chez la brebis et la truie. Quand la taille de la portée est importante, l'ovulation ne peut se produire qu'après le sevrage chez la truie. Cependant, chez les rongeurs, les lagomorphes et les équins, une ovulation féconde peut se produire peu après la parturition. Chez la jument, les chaleurs ovulatoires surviennent 5 à 12 jours après la mise bas et la lapine est réceptive 24 à 48 heures après la mise bas (Delouis *et al.*, 2001).

Chez la truie, l'activité ovarienne est complètement supprimée pendant la lactation. Les truies reviennent en œstrus 3-8 jours après une période de lactation de 16-22 jours. Pour une lactation de moins de 14 jours, le retour en œstrus est beaucoup plus tardif, en moyenne 10 jours après le sevrage. Une diminution de l'intensité de l'allaitement et un sevrage partiel permettent de diminuer l'intervalle sevrage-œstrus après une longue période de lactation (Knox et Wilson, 2007).

Chez les ruminants, la durée de l'anœstrus de lactation dépend de plusieurs facteurs, tels les facteurs génétiques propres à chaque femelle, les conditions d'élevage et d'alimentation. Quand celles-ci sont très bonnes, la durée de l'anœstrus de lactation peut être fortement réduite (Delouis et al, 2001). La durée de l'anœstrus post-partum est variable en fonction du mode d'élevage, selon que les vaches sont traites ou tétées. En élevage allaitant, la tétée inhibe fortement la décharge pulsatile de LH par un réflexe neuroendocrinien ce qui n'est pas le cas en élevage laitier.

De même, chez la chatte, l'activité ovarienne est en général suspendue pendant la lactation. Néanmoins, l'inhibition par la lactation n'est pas absolue, certaines chattes revenant en chaleurs en fin de lactation, ou parfois 10-15 jours après la mise-bas (Johnston *et al.*, 2001).

Chez la chèvre et la brebis, la lactation a lieu pendant une photopériode croissante qui inhibe l'activité ovarienne. Si une brebis met bas en automne, l'ovulation a lieu 12 jours post-partum. La lactation a un léger effet supprimeur sur l'activité ovarienne. La durée de l'anœstrus est influencée de la même façon par le mode d'élevage, la saison, l'alimentation, par la traite et l'allaitement (Delouis *et al.*, 2001).

### c. La ménopause

L'arrêt de l'activité ovarienne lié à l'âge est appelé ménopause chez les primates. Chez la femme, la ménopause apparaît entre 45 et 50 ans. Chez les mammifères, la sénescence reproductive est très peu décrite, en particulier parce que les femelles des espèces de rente sont abattues bien avant l'apparition de celle-ci. Pour les espèces de compagnie ou de loisir, on constate qu'il s'agit plutôt d'un ralentissement que d'un arrêt. Chez la chienne, la sénilité s'exprime par une augmentation de la durée du cycle œstrien qui peut durer jusqu'à 12 voir 15 mois en toute fin de vie, au lieu de 6-7 mois pendant la phase adulte (Stabenfeldt *et al.*, 2002). Chez la jument âgée, les cycles ovariens deviennent plus longs avec des ovulations intermittentes et une qualité ovocytaire diminuée. Le modèle de la jument a été proposée pour étudier la physiologie de la reproduction de la femme ménopausée (Carnevale, 2008).

Pour planifier la reproduction, la mise en contact avec le mâle ou l'insémination artificielle, il est important de pouvoir prévoir le moment de survenue de l'ovulation.

#### IV. **Prévision du moment de l'ovulation**

La connaissance du moment de l'ovulation est importante pour déterminer le moment optimum de l'accouplement ou de l'insémination artificielle.

##### 1. **Laparotomie**

La laparotomie permet l'observation in situ des ovaires et des follicules pré-ovulatoires. Mais il s'agit d'une méthode invasive avec une anesthésie, qui perturbe l'ovulation. Ainsi, le stress de la contention et certains anesthésiques couramment utilisés (kétamine, pentobarbital, halothane) perturbent la survenue du pic de LH, retardent ou suppriment l'ovulation chez la chatte (Malandain et al, 2006). De même, de façon générale, un stress brutal provoque une augmentation de la concentration circulante en cortisol et peut compromettre l'ovulation (Howard *et al.*, 1992).

##### 2. **Palpation transrectale**

Chez les mammifères pour lesquels la palpation transrectale des ovaires est possible, la palpation d'un ovaire douloureux révèle une ovulation imminente. Les ovaires sont beaucoup plus sensibles à ce moment précis du cycle à cause de la dégradation enzymatique et de l'inflammation associées à l'ovulation. Chez la jument, la palpation transrectale permet d'estimer plus tardivement les ovulations multiples (36 heures après le diagnostic échographique) par rapport à l'échographie. Pour les ovulations simple, il semblerait que les deux techniques soient comparables avec un intervalle de 12 heures (Bergfelt et Adams, 2007). La palpation permet de sentir la texture des follicules qui se ramollissent dans les 12-72 heures avant l'ovulation. Par ailleurs, chez la vache, la palpation transrectale permet de détecter la présence d'un follicule préovulatoire mais l'échographie reste l'examen de choix pour la détection de l'ovulation (Carrière *et al.*, 2009).

### **3. Echographie**

#### **a. Echographie seule**

L'ovulation s'accompagne de la transformation d'un follicule pré-ovulatoire, à cavité liquidienne, en une structure lutéale après expulsion du liquide antral. L'échographie, qui permet d'objectiver ces changements de texture tissulaire, permet de déterminer le moment de l'ovulation *a priori* ou *a posteriori*. En effet, les follicules antraux apparaissent sous forme de taches anéchogènes plus ou moins grandes, sphériques, accolées les unes aux autres. Les zones anéchogènes correspondent au liquide folliculaire. Au moment de l'ovulation, les taches apparaissent plus petites et parfois floues. Après l'ovulation, les taches deviennent grises et le contour des follicules est difficilement identifiable (Martinat-Botté *et al.*, 1998).

Chez la chienne, la chatte, la lapine et la ratte, l'échographie des ovaires s'effectue par voie transabdominale. Ainsi chez la chienne, les signes échographiques traduisant l'ovulation sont nombreux mais non tous systématiquement observés (tableau 15). On observe une disparition des cavités folliculaires totale ou partielle, avec le plus souvent persistance de structures intra-ovariennes qui apparaissent anéchogènes ou hypoéchogènes et de taille inférieure à celle des follicules pré-ovulatoires. Dans une étude menée avec 69 chiennes, l'ovulation a été clairement détectée par échographie chez 64 chiennes (92,6%). Une échographie quotidienne suffit pour détecter correctement l'ovulation (Fontbonne, 2008).

Malgré la faible taille de l'ovaire, le suivi de l'ovulation est également possible chez la chatte par échographie transabdominale : l'ovulation se traduit par une disparition des follicules anéchogènes de plus de 3 mm de diamètre, parfois précédée par une diminution du diamètre folliculaire. Tous les follicules ne disparaissent pas de façon synchrone (Malandain *et al.*, 2006).

Tableau 15 : Fréquence des signes échographiques caractérisant l'ovulation chez la chienne (Marseloo *et al.*, 2004 ; Fontbonne, 2008).

Signe échographique	Fréquence (%) sur 48 chiennes
Présence d'un point blanc intrafolliculaire avant l'ovulation	>29,2%
Persistance de follicules non ovulés	45,9%
Présence de liquide autour de l'ovaire	39,6%
Présence de structures hypoéchogènes dans l'ovaire après ovulation	50%
Complète disparition des cavités folliculaires	37,5 %

Chez les bovins, ovins, caprins et équins, l'échographie des ovaires s'effectue majoritairement par voie transrectale. Ainsi, chez la vache, la production continue de vagues folliculaires pendant tout le cycle œstral implique que lorsque la vague est finie et que le follicule dominant ovule ou s'atrophie, la vague suivante commence par le recrutement de follicules de 3 mm de diamètre. Par conséquent, la prédiction du moment de l'ovulation basée seulement sur l'identification d'un gros follicule (>15 mm) peut être erronée car on ne sait différencier un follicule dominant qui ovule ou qui s'atrophie. D'autres signes, comme la modification de l'échogénicité de la paroi utérine et du corps jaune, l'augmentation de la tonicité utérine, la présence de sécrétions endométriales dans l'utérus, la présence de mucus cervical et les changements comportementaux doivent être observés simultanément pour affirmer que le follicule dominant ovulera prochainement (Carrière *et al.*, 2009).

Chez la jument, on peut détecter une ovulation imminente en mesurant la taille des follicules et en observant la modification de leur forme. La granulosa devient anéchogène 24 heures avant l'ovulation du fait de l'augmentation en taille et en nombre de ses cellules. 90 % des follicules dominants deviennent moins turgides et perdent leur forme sphérique 12 heures avant l'ovulation. En parallèle de ces signes ovariens, la prédiction de l'ovulation utilise également des signes endométriaux. L'hétérogénéité de l'endomètre liée à l'œdème endométrial s'accroît pendant l'œstrus et est maximale 24-48h avant l'ovulation puis diminue. Un score de 0 à 5 permet de caractériser l'œdème endométrial (tableau 16). Un faible score d'œdème utérin et la présence d'un follicule de diamètre supérieur à 40 mm sont

indicateurs d'une ovulation imminente. L'échographie permet donc de prévoir la survenue d'une ovulation dans les 2 jours qui suivent alors que la palpation ne peut la pronostiquer que dans les 3-4 jours. Une surveillance échographique toutes les 24-48h dès le début des chaleurs est donc recommandée (Samper et Pycock, 2007).

Chez la chèvre, le follicule pré-ovulatoire présente des contours irréguliers. L'antrum n'est pas complètement anéchogène et présente une hypoéchogénicité diffuse et hétérogène avec des artefacts de réverbération. L'ovulation est diagnostiquée par la disparition du follicule antral et par l'augmentation de l'échogénicité hétérogène du site (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004).

Tableau 16 : Score d'œdème endométrial chez la jument (Samper et Pycock, 2007).

Score	Description
0	Pas d'œdème, échostructure homogène caractéristique du diœstrus
1	Œdème utérin léger
2	Œdème modéré localisé au corps utérin
3	Œdème important touchant l'ensemble de l'utérus
4	Œdème utérin maximal, liquide détectable dans la lumière, œdème localisé au corps utérin
5	Œdème utérin anormal caractérisé par son irrégularité et sa désorganisation

### **b. Echographie Doppler**

L'échographie Doppler couleur est une technique utile et non invasive pour évaluer la fonction vasculaire ovarienne, permettant d'observer le débit sanguin d'une zone précise de la paroi du follicule préovulatoire et donc de détecter les changements hémodynamiques lors de l'ovulation. Chez la vache, le débit sanguin dans la thèque externe augmente rapidement lorsque le moment de l'initiation du pic de LH approche et devient maximal avant l'ovulation. Dans un groupe de vaches à ovulation spontanée, l'augmentation de l'aire colorée, représentant la vascularisation pariétale folliculaire, est graduelle et est significativement plus élevée au moment du début du pic de LH, soit 24 à 26 heures avant l'ovulation (Acosta *et al.*, 2003). L'augmentation du débit sanguin local dans la paroi folliculaire coïncide avec l'initiation du pic de LH et pourrait être étroitement associée avec les changements

structuraux et fonctionnels de la paroi folliculaire à l'ovulation (Carrière et al, 2009). De même chez la jument, l'échographie Doppler couleur permet de différencier un follicule ovulatoire d'un follicule anovulatoire étant donné que l'aire colorée représentant la vascularisation pariétale est approximativement deux fois plus élevée pour les follicules dominants ovulatoires que pour les follicules anovulatoires. Finalement, le pronostic de l'ovulation chez la jument est amélioré par l'échographie Doppler en permettant la prédiction de l'anovulation et en améliorant la prédiction de l'ovulation donnée par l'échographie classique (Verdonck, 2006).

#### **4. Dosage de la LH**

Chez les mammifères, un pic de LH est observé le plus souvent avant l'ovulation ; cette hormone se retrouve dans la circulation générale et peut donc être dosée (figure 2 et tableau 17). Des techniques radioimmunologiques et des tests ELISA permettent de doser la LH. Les dosages sanguins de LH doivent être effectués quotidiennement car l'augmentation de LH peut durer 24 heures pour la chienne à seulement 6 heures pour la vache. La détermination du moment du pic de LH pourrait permettre de prédire le moment de l'ovulation (tableau 10). Chez la chienne, l'ovulation a lieu 2-3 jours après le pic de LH. Ce dosage peut être intéressant en association avec la mesure de la progestérone. Chez la vache, comme la durée du pic de LH est seulement de 6 heures, il faut poser un cathéter et effectuer des prélèvements sanguins toutes les 15 minutes pour pouvoir détecter le pic de LH. Chez la jument, la concentration en LH circulante commence à augmenter quelques jours avant l'œstrus et atteint son maximum 1 ou 2 jours après l'ovulation et diminue de nouveau ensuite pendant 4 à 6 jours (Rubion, 2000).

Tableau 17 : Paramètres du pic de LH chez différents mammifères.

Espèces	Taux de LH au pic	Durée du pic de LH
Vache	10ng/ml (Bloch <i>et al.</i> , 2006)	6h (Bloch <i>et al.</i> , 2006)
Truie	5ng/ml	Environ 4 j
Brebis	22-23ng/ml (Rawlings, 2007)	2 jours (Rawlings, 2007)
Jument	36ng/ml (Bergfelt et Adams, 2007)	
Chienne	18,7±5,8 ng/ml (De Gier <i>et al.</i> , 2006)	36 ± 5h (De Gier <i>et al.</i> , 2006)
Chatte	100ng/ml (lors de stimulation maximale ; Verstegen, 1998)	12-24h (Verstegen, 1998)

## 5. Dosage de la progestérone

La stratégie d'interprétation d'un dosage de progestérone varie selon les espèces. Chez les espèces à ovulation provoquée, la progestérone n'est présente qu'après l'ovulation et à condition qu'elle ait bien eu lieu. Chez la truie et les canidés, deux espèces à ovulation spontanée, il existe une lutéinisation préovulatoire. Le taux de progestérone augmente donc dès avant l'ovulation (figures 6 et 7). Chez les autres espèces, à ovulation spontanée et qui sont le cas général, la progestérone augmente après l'ovulation et sa chute en fin de phase lutéale signe l'entrée en phase folliculaire au cours de laquelle a lieu l'ovulation (figure 3).

La progestérone peut être dosée par des méthodes radioimmunologiques ou ELISA. Son dosage pour la prédiction du moment de l'ovulation n'est utile que chez la chienne et la renarde. Elle pourrait l'être aussi chez la truie compte tenu de son évolution particulière : l'augmentation de la progestérone de plus 0,3ng/ml par rapport au niveau de base indique une ovulation imminente (Terqui *et al.*, 2000).

Chez les canidés, la progestéronémie atteint 2 ng/ml le jour du pic de LH et dans les 24 heures qui suivent. A l'ovulation, la progestérone est comprise entre 2 et 3.7ng/ml avec une moyenne de 6 ng/ml (tableau 18). Cette fourchette de valeurs peut être expliquée par le recours à

plusieurs laboratoires. Par contre, dans le même laboratoire, la valeur de progestéronémie autour de l'ovulation est assez proche chez toutes les chiennes (faible écart type ; Clero, 2009). Le délai entre l'estimation du moment de l'ovulation grâce au taux de progestérone et à la détection par échographie est inférieur à 24 heures chez 90% des chiennes (Fontbonne, 2008). Le suivi du taux de progestérone est ainsi la base du suivi de chaleurs en vue de déterminer le moment de l'ovulation chez la chienne. Dès le 5-6<sup>ème</sup> jour des chaleurs, si le frottis vaginal (voir plus loin) présente une kératinisation majeure (>60 %) accompagnée de signes comportementaux de chaleurs, le dosage de la progestérone sanguine est effectué (tableau 19). Une échographie ovarienne quotidienne permet éventuellement de contrôler l'évolution, mais le suivi du taux de progestérone circulant est en général suffisant (Fontbonne 2008).

Chez la chatte, une progestéronémie supérieure à 1ng/ml, 3 à 4 jours après l'induction, témoigne de la réalité de l'ovulation (Johnston *et al.*, 2001).

Chez la vache, les mesures de la concentration en progestérone dans le sang et dans le lait ne sont pas suffisantes pour estimer l'ovulation car elle est presque nulle autour de l'ovulation. Le suivi de la chute du taux de progestérone en fin de phase lutéale permet au mieux d'évaluer la survenue de l'ovulation à environ 2 jours près. La concentration dans le plasma est inférieure à 4ng/ml 90,5 ±19,6h avant l'ovulation et est inférieure à 2ng/ml 75 ± 12,2h avant l'ovulation (Roelofs *et al.*, 2006).

Tableau 18 : Progestéronémie à l'ovulation chez la chienne de race Beagle.

	Nombre de chiennes	Age	Concentration de progestérone à l'ovulation (ng/ml)
Fontbonne, 2008	21	8-14 mois	5,39±1,52
	13	9 mois – 8 ans	6,25±1,48
	35	10 mois-6 ans	6,25±1,55
Hayer <i>et al.</i> , 1993	13	1-3 ans	7,2±1,7
Hase <i>et al.</i> , 2000	11	2-5 ans	2,34±0,17

Tableau 19 : Protocole utilisé à l'ENVA pour le suivi de l'œstrus chez la chienne (Fontbonne, 2008).

Concentration de progestérone circulante en ng/ml (obtenu avec un laboratoire étalonné)	Interprétation
Taux de progestérone basal (<1ng/ml)	La chienne est encore loin de l'ovulation. Attente de 4-6 jours
Début d'augmentation (1 à 3 ng/ml)	Ovulation imminente Contrôle 1 ou 2 jours plus tard
Taux entre 5 à 10 ng/ml	Ovulation

### 6. Dosage du taux d'œstradiol-17β circulant

Chez les mammifères, la concentration sanguine en œstrogènes est environ 1000 fois inférieure à celle de la progestérone (tableau 20). Ainsi il est plus difficile et coûteux de mesurer les œstrogènes. Chez la chienne, l'augmentation des œstrogènes est rapide et a lieu en fin de præstrus pour l'œstradiol-17β et non pas en œstrus comme pour les autres mammifères (Johnston et al, 2001 ; figure 2). Chez la jument, la concentration en œstrogènes circulants s'élève entre le 6<sup>ème</sup> et 8<sup>ème</sup> jour précédant l'ovulation, est maximale 2 jours avant l'ovulation et chute ensuite (figure 7 ; Clément *et al.*, 2009). Chez la vache, le pic d'œstradiol-17β est atteint à 46,7 ±5,3h et 30,7 ±6,3h avant l'ovulation respectivement dans le lait et dans le sang (figure 4 ; Lopez *et al.*, 2002).

Tableau 20 : Concentration d'œstradiol-17β sanguine maximale avant l'ovulation chez différents mammifères.

Espèces	Taux d' œstradiol-17β au pic	Références bibliographiques
Chienne	50-100pg/ml	Concannon et al, 1989
Chatte	70pg/ml	Johnston et al, 2001
Jument	100-150pg/ml	Rubion, 2000
Truie	60pg/ml	Noakes, 2001
Brebis	80-100pg/ml	Noakes, 2001
Vache	200pg/ml	Noakes, 2001

## **7. Mucus vaginal**

Particulièrement chez la vache, la brebis et la femme pendant la période péri-ovulatoire, le col utérin secrète en abondance un mucus libéré dans le vagin. Au moment de l'ovulation, le volume de sécrétion est multiplié par 10, la teneur en eau augmente jusqu'à 98% et les mailles du réseau de mucines s'élargissent (Driancourt et Levasseur, 2001). Parallèlement, la composition ionique du mucus vaginal varie. Ainsi, il existe une relation entre la conductivité du mucus vaginal et le moment du pic de LH et donc indirectement avec l'ovulation. La conductivité du mucus vaginal peut être mesurée à l'aide d'une sonde vaginale.

Chez les mammifères, la résistivité du mucus vaginal est très basse au moment du pic de LH, alors que chez les canidés et les rongeurs, la résistivité est maximale le jour du pic de LH. Chez la truie, la diminution de la résistivité du mucus vaginal est rapide, à 4-8h en moyenne avant l'ovulation. Des sondes de mesure de la résistivité vaginale sont disponibles chez la vache, le jument, la truie, la brebis, la chèvre et la chienne. Les valeurs de la résistivité du mucus vaginal chez la chienne à l'ovulation sont très variables (de 320  $\Omega$  à 660  $\Omega$ ), par contre elle sont inférieures en période anovulatoire. En race Beagle, le suivi de la résistivité a permis de détecter l'ovulation à  $\pm$  24 heures dans 76% des cas. Mais l'ovulation ne se produisant pas pour une même valeur de conductance pour différents individus, il est indispensable de réaliser un suivi, à raison d'une mesure quotidienne (Cléro, 2009).

## **8. Frottis vaginal**

La muqueuse vaginale se renouvelle à chaque cycle œstrien ou menstruel. Sous l'action de l'œstradiol, les cellules de la couche basale se divisent et la muqueuse s'épaissit. Puis les assises superficielles se kératinisent. La vitesse et l'intensité de la kératinisation varient en fonction de chaque individu. C'est seulement chez la ratte que les changements cytologiques de la muqueuse vaginale sont tellement tranchés qu'ils permettent de reconnaître les périodes du cycle notamment le jour où a lieu la décharge gonadotrope ovulante et celui de l'ovulation. En effet, le frottis vaginal est composé uniquement de cellules épithéliales rondes pendant la phase folliculaire ; elles font place à des cellules plates kératinisées après la décharge de FSH/LH. Quand apparaissent quelques polynucléaires au milieu des cellules

kératinisées, l'ovulation a eu lieu. Chez les autres mammifères, les populations sont moins homogènes et ne permettent pas d'identifier aussi clairement les stades du cycle ; seule varie la proportion des différents types cellulaires, le frottis n'a donc qu'une valeur indicative de l'activité ovarienne (Driancourt et Levasseur, 2001).

Par exemple, l'observation d'un frottis vaginal de chienne en œstrus au microscope montre la présence de cellules superficielles kératinisées avec des cellules intermédiaires et des globules rouges (tableau 21). Le début du post-œstrus (immédiatement après l'ovulation) est marqué par un changement net de la proportion des cellules épithéliales. Le pourcentage de cellules superficielles diminue d'au moins 20%. La proportion de cellules parabasales et intermédiaires, qui étaient absentes auparavant ou inférieures à 5% du total, augmente à plus de 10 % et souvent à plus de 50% (Tiret, 2005).

Chez la chèvre, de nombreux leucocytes avec un noyau compact apparaissent à l'ovulation (Rawlings *et al.*, 2007).

Enfin, chez la chatte, les modifications du frottis interviennent largement avant et après l'œstrus, en fonction du taux d'œstrogènes circulants. Le frottis permet uniquement de diagnostiquer l'œstrus grâce à l'index éosinophilique élevé, mais ne permet pas de déterminer le moment de l'ovulation (Malandain *et al.*, 2006).

Tableau 21 : Evolution de la composition cellulaire d'un frottis vaginal autour de l'ovulation chez la chienne (Noakes, 2001).

Types de cellules	Début d'œstrus = avant l'ovulation	Fin d'œstrus = ovulation imminente	Début metœstrus = post-ovulation
Cellules parabasales	-	-	-
Petites cellules intermédiaires	-	-	+
Grandes cellules intermédiaires	+++	+++	-
Cellules anucléées kératinisées	++++	+++	+/-
Globules rouges	++	-	-
Neutrophiles	-	+	+++

## **9. Apparence de la muqueuse vaginale**

L'apparence de la muqueuse vaginale peut être observée à l'aide d'un vaginoscope, un endoscope (fibre optique) ou un sigmoidoscope pédiatrique et permet de confirmer la période ovulatoire. Par exemple, chez la chienne, le ramollissement de la vulve tuméfiée et œdématisée est observé 1 jour après le pic de LH (Chaffaux et Bazile, 2001). Entre l'ovulation et la maturation ovocytaire, le degré de crénulation est maximal (Clero, 2009). D'autre part, chez la jument proche de l'ovulation, le col de l'utérus se relâche et des plis vaginaux œdémateux se forment. Les parois vaginales sont recouvertes d'un mucus lubrifiant clair (Noakes, 2001).

## **10. Température corporelle**

Chez la vache, il existe un lien entre la température corporelle, l'œstrus et l'ovulation. Une augmentation de la température vaginale de 0,3 à 1°C est constatée 21 à 27 heures avant l'ovulation (Soede et al, 1996). Ce pic de température coïncide avec le pic de LH (Mosher et al, 1990). Ainsi, une prise de température vaginale par des systèmes de mesures télémétriques ou d'autres méthodes pour mesurer la température du lait permettent de déterminer l'ovulation chez la vache. A l'opposé, chez la truie, aucun changement de température n'est détecté à l'ovulation (Soede *et al.*, 1996).

Au-delà de la cyclicité spontanée, il est intéressant de pouvoir contrôler la survenue de l'ovulation. Ce contrôle concerne la maîtrise du moment, mais aussi l'inhibition et l'induction de l'ovulation.

## V. Maîtrise du moment de l'ovulation

### A. Méthodes d'induction de l'ovulation

Le but de l'induction de l'ovulation est d'améliorer la gestion de la reproduction en synchronisant l'ovulation avec la saillie ou l'insémination.

#### 1. Méthodes hormonales

Compte-tenu du rôle central et direct de la GnRH et de la LH dans l'ovulation (partie I), toutes les substances à action LH ou GnRH peuvent induire l'ovulation.

##### a. Hormones stéroïdes

Les œstrogènes, produits par les follicules ovariens, régulent la sécrétion des gonadotrophines. L'œstradiol 17-beta exogène permet d'induire l'ovulation par le rétrocontrôle positif qu'il exerce sur la décharge de LH et FSH. Le traitement est à base de diéthylstilbestrol à 5mg/animal pendant 10 jours chez la chienne ou arrêté un jour après l'apparition des saignements vulvaires, permet l'induction de l'ovulation dans tous les cas (Kutzler, 2005). Chez la vache, une injection d'œstradiol induit l'ovulation chez les vaches en post-partum. Un implant d'œstradiol administré pendant 5 jours entre le 10<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour post-partum induit une décharge de LH et FSH (Yavas et Watton, 2000). Ainsi l'apport exogène de fortes doses d'œstrogènes provoque une décharge ovulante de LH.

Les anti-œstrogènes comme le citrate de clomiphène et la tamoxiphène possèdent une structure dérivée du triphényléthylène, non stéroïdienne, mais leur permettant d'interagir avec le récepteur de l'œstradiol. Ils agissent sur tous les tissus œstrogène-dépendants, en stimulant la sécrétion de la GnRH par blocage du rétrocontrôle des œstrogènes. Chez la femme, les posologies utilisées sont de 25 à 100 mg par jour pour le clomiphène et de 10 à 50 mg par jour pour le tamoxiphène, pendant 5 jours en moyenne, au début du cycle. L'ovulation est rétablie dans 66 à 95 % des cycles. Chez la brebis et la vache, l'administration d'anti-œstrogènes ne permet pas d'induire l'ovulation chez les femelles en anœstrus saisonnier ou post-partum.

Seule l'injection de gonadotropines après traitement progestatif le permet (Driancourt *et al.*, 2001).

### **b. Les gonadotropines**

Les gonadotropines par leur effet LH/FSH ont une incidence directe sur l'ovaire et permettent l'induction de l'ovulation (tableaux 22 et 23). Parmi les gonadotrophines, l'eCG (equine Chorionic Gonadotropin), aussi appelée PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin), produite par la jument gestante, a un effet FSH de 3 à 5 fois supérieur à l'effet LH alors que l'hCG (human Chorionic Gonadotropin), extraite des urines de femmes enceintes, a principalement un effet LH.

L'inconvénient des traitements à base de gonadotropines exogènes est l'induction de réactions immunitaires lors de traitements répétés. Ainsi, l'administration d'hCG entraîne la formation d'anticorps anti-hCG chez les mammifères, ce qui diminue fortement l'efficacité de cette molécule lors de sa prochaine administration. De même, chez les ovins et caprins, se développe une réaction immunitaire avec formation d'anticorps anti-eCG. D'autre part, chez des ponettes ayant reçu 20 à 30 injections quotidiennes de 200 UI d'hCG, ont été observés des taux élevés d'anticorps anti-hCG et une absence de réponse à l'hCG en termes d'induction de l'ovulation. Par contre, ces anticorps n'empêchent nullement les hormones propres de la jument, FSH et LH, de fonctionner. En pratique d'élevage, l'utilisation systématique sur chaque cycle ne semble pas provoquer d'immunisation suffisante pour supprimer à terme l'efficacité de l'hCG chez la jument (Clément *et al.*, 2001). En outre, chez la chatte, l'administration d'hCG perturbe le transport des ovocytes dans l'oviducte et peut induire une réaction d'immunisation responsable d'une diminution de la fertilité lors d'administrations répétées (Drion *et al.*, 2001 ; Malandain *et al.*, 2006).

Tableau 22 : Spécialités contenant des gonadotropines (DMV, 2009 et VIDAL, 2009).

Hormones	AMM = Noms déposés	Espèces pour lesquelles la spécialité possède une AMM
FSH	FERTILINE <sup>ND</sup> Organon GONAL F <sup>ND</sup> Serono-France PUREGON <sup>ND</sup> Organon	Femme
FSH/LH	PLUSET <sup>ND</sup> Franvet	Vache, brebis
	STIMUFOL <sup>ND</sup> Merial	Vache
hCG	GONADOTROPHINE CHORIONIQUE ENDO <sup>ND</sup> Organon	Femme
	CHORULON <sup>ND</sup> Intervet Schering Plough	Jument, vache, chatte, chienne, brebis, chèvre, truie
hMG=human Menopausal Gonadotrophin	HUMEGON <sup>ND</sup> Organon	Femme
PMSG = eCG	CHRONOGEST PMSG <sup>ND</sup> Intervet Schering Plough	Vache, brebis, chèvre
	SYNCRO-PART PMSG <sup>ND</sup> , Ceva	Vache, brebis
hCG/PMSG	FERTIPIG <sup>ND</sup> Ceva PG 600 <sup>ND</sup> Intervet Schering Plough	Truie

Tableau 23 : Protocoles d'induction de l'ovulation à base de gonadotrophines (DMV, 2009 et VIDAL, 2009).

Espèces	Hormones	Protocoles
Jument	hCG	Dose IV de 1500 à 2500 UI d'hCG en présence d'un follicule >35 mm (Bernardeau et al, 2001) Ovulation en 36-48 heures dans plus de 80% des cas
Vache	eCG	Une injection de 750-2250 UI vers la fin d'un traitement progestagène
Chatte	hCG	Injection de 50-250 UI pendant une phase de croissance folliculaire Ovulation en 24-36 heures (Verstegen, 1998)
Chienne	hCG eCG	Injection de 500 UI/chien d'eCG pendant 8-9 jours puis de 500 UI/chien d'hCG le 10ème jour => 100 % d'ovulations (Kutzler, 2005)
Truie	eCG hCG	Injection de 400 UI d'eCG et de 200 UI d'hCG pendant une p <sup>h</sup> ase de croissance folliculaire
Brebis	PMSG	Injection de 500-1500 UI de PMSG après un traitement progestagène
	hCG	Injection de 200 UI de PMSG avec 400 UI d'hCG

### c. La GnRH

La GnRH et ses analogues synthétiques sont utilisés chez les animaux domestiques pour induire l'ovulation, améliorer les taux de fécondation et en cas de dysfonctionnement ovarien (tableau 24).

Chez la chienne, l'administration de 139 pg/kg de GnRH toutes les 90 minutes par voie intra-veineuse pendant 11-13 jours permet l'induction de l'ovulation dans 87,5 % des cas. Mais ces injections multiples restent trop onéreuses pour pouvoir être utilisées en clinique ou en élevage. Néanmoins, les implants de GnRH à libération longue durée permettent d'induire l'ovulation efficacement. Ils stimulent pendant une courte durée la production et la libération de gonadotropines hypophysaires (7-14 jours), puis inhibent l'axe hypothalamo-

hypophysaire pendant plusieurs mois (voir plus loin). La durée de l'administration détermine largement l'effet activateur ou inhibiteur des agonistes de GnRH (Kutzler, 2005).

Chez la chatte, l'ovulation peut être obtenue par deux injections de GnRH (25 microg/chatte) par voie intramusculaire espacées de 12 heures et l'ovulation est obtenue dans les 24-36 heures après l'injection (Chaffaux et Bazile, 2001).

Chez la vache, l'ovulation peut commencer à être induite par une simple injection de GnRH entre le 10<sup>ème</sup> et 18<sup>ème</sup> jour post-partum chez la vache laitière et entre le 21<sup>ème</sup> et le 31<sup>ème</sup> jour post-partum chez la vache allaitante (Yavas et Walton, 2000). En outre, l'injection de GnRH peut être utilisée dans un protocole plus complexe pour maîtriser les vagues folliculaires : le protocole GPG consiste en une injection de GnRH suivie 7 jours plus tard d'une injection de PGF2 $\alpha$ , puis 12 à 18 heures après, une ultime injection de GnRH. La seconde injection de GnRH permet d'imposer l'ovulation du follicule dominant de la vague nouvellement déclenchée. Ce protocole permet d'obtenir plus de 78% de vaches laitières hautes productrices en période péri-ovulatoire au 10<sup>ème</sup> jour du traitement avec une progestérone sanguine supérieure à 3 ng/ml (Peters *et al.*, 1999).

Chez la jument, l'utilisation de GnRH et de ses analogues permet d'avancer l'ovulation. La GnRH est donc utilisée chez cette espèce pour déclencher l'ovulation à un moment connu, de façon à pouvoir déplacer la jument jusqu'au lieu de résidence de l'étalon pour la saillie. La buséreline, analogue de GnRH administré à raison de 20 microg/jument par voie IV toutes les 12 heures induit l'ovulation en 24 à 48 heures dans 60 à 90% des cas. Ce traitement est plus onéreux et moins pratique que l'hCG mais constitue un éventuel remplacement chez des juments immunisées contre l'hCG. Par ailleurs, un implant sous-cutané à libération de courte durée à base de 2,1 mg de desloréline (analogue de GnRH) fut essayé avec succès sur des juments expérimentales. L'ovulation a été observée dans 80 % des cas dans les 48 heures après la mise en place de l'implant (Clément *et al.*, 2001).

Chez la femme, l'administration de GnRH ou analogue est réalisée à l'aide de pompes, autorisant une administration pulsatile de la GnRH. Cette thérapie est utilisée dans les cas d'hypogonadisme hypogonadotrope d'origine hypothalamique ou d'anovulation par hypopulsatilité et permet d'induire une ovulation dans 70-80% des cas (Driancourt *et al.*, 2001).

Tableau 24 : Agonistes de la GnRH utilisés chez les mammifères (DMV 2009, VIDAL 2009).

Molécules	Noms déposés	laboratoires	Espèces
Gonadolibérine	CYSTORELINE <sup>ND</sup>	Ceva Janssen	Vache, lapine
	FERTAGYL <sup>ND</sup>		
	LUTRELEF <sup>ND</sup>	Ferring	Femme
Buséreléline	RECEPTAL <sup>ND</sup> BUSOL <sup>ND</sup>	Intervet Biové	Lapine, jument, vache
Buséreléline et Triptoréline	DECAPEPTYL <sup>ND</sup>	Ipsen, Biotech	lapine, jument, vache
	SUPREFACT <sup>ND</sup>	Hoechst-Houdé	Femme
Lécireline	DALMARELIN <sup>ND</sup>	Virbac	Vache, lapine
Nafaréline	SYNAREL <sup>ND</sup>	Monsanto France	Femme
Leuproréline	ENANTONE <sup>ND</sup>	Takeda	Femme
Desloréline (implant sous-cutané)	SUPRELORIN <sup>ND</sup>	Virbac	Chienne
	OVUPLANT <sup>ND</sup>	Dechra	

## **2. Méthodes non hormonales**

### **a. Régulation nutritionnelle de l'ovulation**

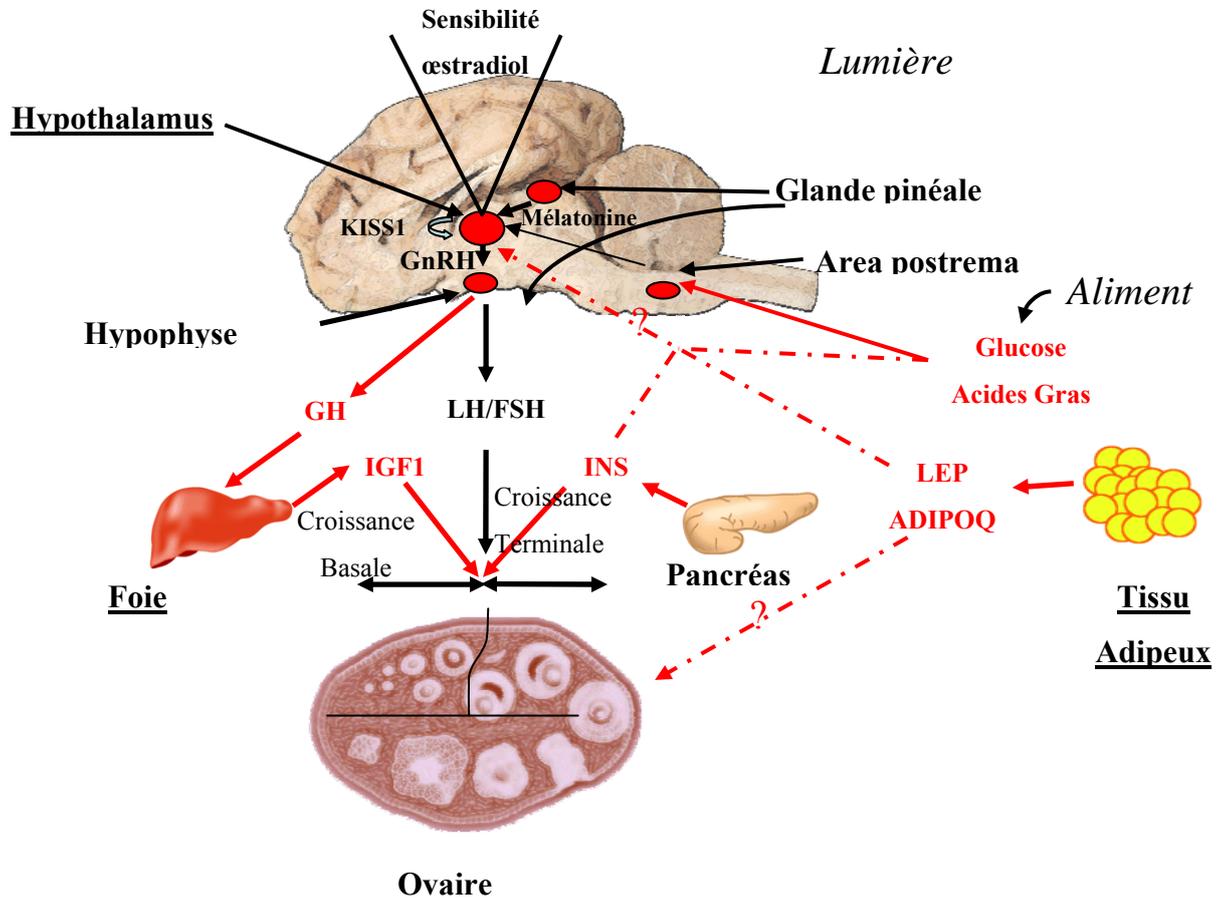
Plusieurs autres facteurs semblent avoir une influence sur l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope et donc sur la fonction ovulatoire : l'insuline, la leptine, l'IGF1 (Insulin-like Growth Factor 1) ainsi que les glucides et les acides-gras (figure 15).

L'insuline sécrétée par le pancréas et l'IGF1 synthétisé par le foie jouent un rôle dans la régulation ovarienne. En effet, chez la truie, l'augmentation de l'insulinémie, expérimentalement ou à la suite d'une augmentation de la ration alimentaire permet d'augmenter le taux d'ovulation. Au niveau central, l'IGF1 régule la neurosécrétion de GnRH et de LH et l'insuline modifie l'expression génique ou la libération de diverses substances hypothalamiques intervenant dans la régulation gonadotrope (IGF2, neuropeptide Y).

Par ailleurs, la leptine sécrétée par le tissu adipeux constitue un signal nécessaire au système nerveux central pour déclencher entre autres les premières ovulations chez les jeunes. In vitro, la leptine induit la libération de la LH (Monniaux *et al.*, 2009).

Les nutriments comme le glucose et les acides gras modulent la fonction ovarienne par deux mécanismes de régulation. Le premier concerne l'entrée de ces substrats : en cas de restriction alimentaire, la baisse de l'insulinémie provoquera très rapidement un blocage de l'entrée du glucose dans les cellules de l'hypothalamus et de l'hypophyse. Le deuxième concerne l'oxydation de ces substrats et leur transformation en énergie directement utilisable par la cellule. L'administration de 2 desoxy-D glucose, agent bloquant de la glycolyse, induit une chute brutale de la sécrétion de LH et bloque l'ovulation. De même, l'administration de methyl-palmoxyrate, agent empêchant l'oxydation des acides gras, perturbe fortement l'ovulation (Monniaux *et al.*, 2009).

Figure 15 : Implications des facteurs endocriniens, nutritionnels et saisonniers dans la régulation des fonctions ovariennes (Monniaux *et al.*, 2009).



Significations des abréviations : ADIPOQ=adiponectine ; GH=hormone de croissance ; GnRH=gonadolibérine ; IGF1= insulin-like growth factor 1 ; INS=insuline ; KISS1=kisspeptine ; LEP=leptine.

En pratique, chez la brebis, le poids vif avant la lutte, reflétant l'état nutritionnel moyen du troupeau, a une influence déterminante sur le taux d'ovulation, la fertilité et la prolificité. Le « flushing » consiste un mois avant et pendant la lutte en une distribution supplémentaire de concentré et/ou une amélioration des conditions de pâturage, augmentant l'apport énergétique. La technique de « flushing » permet à court terme d'exprimer le

potentiel génétique à ovuler en augmentant significativement l'insulinémie. Sur une brebis maigre, il permet d'augmenter le taux d'ovulation (Monget *et al.*, 2001).

Chez la vache, une alimentation en haute teneur en protéines permet d'augmenter l'amplitude du pic de LH (Spain *et al.*, 2007). La période post-partum correspond à une très forte augmentation des besoins nutritionnels liés à la lactation. Ces besoins sont partiellement couverts par les réserves accumulées pendant la gestation. Ainsi pendant la gestation une ration alimentaire adaptée est primordiale (voir plus loin pour l'influence du déficit énergétique sur l'aptitude de la vache à ovuler). Enfin, les truies sevrées doivent être nourries à volonté, du sevrage au moment de la saillie, afin de stimuler leur taux d'ovulation.

En ce qui concerne les substances pro-vitaminiques, le beta carotène, précurseur de la vitamine A, est le plus étudié en particulier chez la vache. La concentration plasmatique de beta-carotène avant le part influence la capacité de la 1<sup>ère</sup> vague folliculaire en post-partum à ovuler. Elle est plus élevée chez les vaches ovulant lors de la première vague folliculaire post-partum que chez les vaches n'ovulant pas. De plus, la cinétique du beta carotène diffère entre ces deux catégories de femelles : chez les vaches n'ovulant pas durant la première vague folliculaire, la concentration plasmatique de beta-carotène reste basse et stable alors qu'elle diminue au cours de la première semaine post-partum chez les vaches à première vague ovulatoire (Kawashima *et al.*, 2009).

#### **b. Importance de la photopériode et de la mélatonine**

On peut utiliser l'influence de la lumière qui agit via la photopériode traduite en concentration circulante de mélatonine sur l'ovulation pour modifier la période d'ovulation dans certaines espèces. Ainsi, le contrôle photopériodique et/ou les traitements à base de mélatonine permettent d'une part d'avancer la date de la saison sexuelle annuelle, d'autre part d'induire et de maintenir à contre-saison une activité ovarienne. Des jours artificiellement longs (obtenus par un éclairage artificiel) débutant en fin d'automne permettent d'induire l'activité de reproduction chez les juments dès le mois de février (Chemineau *et al.*, 2001). Par ailleurs, chez la brebis, 13 heures de lumière par jour permettent la hausse de LH si les animaux ont été exposés précédemment à 16 heures de lumière par jour (Malpaux, 2001). De même, chez la chèvre et la brebis, une exposition à la lumière pendant 16h pendant plus de 60 jours puis une administration de mélatonine permettent l'induction de l'œstrus.

La pose d'un implant de mélatonine (MELOVINE<sup>ND</sup>) en position sous-cutanée à l'oreille des brebis permet un relargage progressif de mélatonine dans l'organisme pendant 3-4 mois à des taux comparables à ceux observés pendant la phase de sécrétion nocturne. Cet implant permet d'avancer la saison de reproduction de 4 à 6 semaines et améliore les performances de reproduction avec des portées plus homogènes et une proportion de triplés et quadruplés très faible. Si aucune synchronisation n'est utilisée, les béliers peuvent être introduits 43 jours après l'administration de l'implant. Un pic d'activité sexuelle est constaté 10-30 jours après l'introduction des béliers (DMV, 2009).

Chez la chatte, la mise en place d'un implant de mélatonine (18 mg) par voie sous-cutanée provoque une suppression de l'œstrus pendant 2-4 mois (Gimenez *et al.*, 2009).

### **c. Biostimulation**

Les phéromones constituent chez les mammifères un mode de communication chimique. Les phéromones émises par les glandes sébacées, le tractus urinaire et génital sont perçues par le système olfactif accessoire par un circuit quasi réflexe, par stimulation de l'organe voméronasal ; l'information passe aux bulbes olfactifs accessoires qui la transmettent à l'hypothalamus via l'amygdale. Par simple olfaction de phéromones, la fonction ovarienne est modifiée (Rekwot *et al.*, 2001). Par ailleurs, les autres voies sensorielles interviennent et peuvent même se substituer à l'odorat (Balthazart et Fabre-Nys, 2001). Cette biostimulation permet d'augmenter le relargage de LH dans un délai de quelques minutes à quelques heures chez les mammifères. Ainsi, la biostimulation et la communication par les phéromones permettent d'avancer la saison sexuelle mais aussi d'induire l'ovulation.

Chez la brebis et la chèvre, les phéromones du mâle induisent ainsi une stimulation immédiate de l'ovulation. L'introduction d'un bélier parmi des brebis en période de reproduction stimule les femelles, qui ovulent dans les 6 jours. Chez la chèvre, l'introduction d'un bouc pour 10-20 chèvres après une séparation minimale de 3 semaines provoque une reprise de l'activité sexuelle. Les ovulations déclenchées sont synchrones, 97% des chèvres ovulant dans les 48-72 heures après l'introduction du bouc (Dawson, 2007).

Dans un troupeau de vaches, la présence d'un taureau permet d'accélérer le retour en chaleurs en post-partum qui intervient en 68,6 jours au lieu de 75,6 jours pour les vaches non exposées.

Mais ce rôle n'est pas aussi déterminant que dans les autres espèces (mouton, chèvre, truie) car d'autres paramètres (nutrition, environnement) interagissent fortement avec le déclenchement de l'ovulation (Rekwot *et al.*, 2001).

Chez la chienne, la phéromone (méthyl-p-hydroxybenzoate), secrétée sous l'influence de l'œstradiol par les reins et le tractus génital, stimule l'attraction sexuelle du mâle mais a aussi une influence hypothalamique sur la chienne en stimulant l'activité du GnRH (Jeffcoate, 1998).

Chez la femme, il n'existe pas de récepteurs aux phéromones. Pourtant, chez la femme cyclée, le pic préovulatoire est avancé par l'exposition à l'odeur d'autres femmes en fin de phase folliculaire (Balthazart et Fabre-Nys, 2001).

## **B. Méthodes d'inhibition de l'ovulation**

L'ovulation peut être inhibée par des facteurs hormonaux, notamment par les stéroïdes, les agonistes et antagonistes de la GnRH et la mélatonine, mais aussi par d'autres facteurs, environnementaux ou individuels. Il est évident aussi que l'ablation chirurgicale de l'ovaire inhibe la survenue de l'ovulation et ce de façon définitive. L'absence congénitale d'ovaire empêche également l'ovulation : on parle dans ce cas d'acyclicité primaire.

### **1. Facteurs hormonaux**

#### **a. Les stéroïdes**

Chez la plupart des mammifères, la présence de progestérone inhibe la sécrétion de GnRH et par conséquent la libération de LH par l'hypophyse antérieure. La progestérone est un stéroïde secrété par le placenta et le corps jaune durant la gestation et la phase lutéale de l'animal non gestant. Elle agit sur l'axe hypothalamo-hypophysaire en freinant la sécrétion pulsatile de LH et inhibe ainsi la maturation folliculaire (tableau 25). Une augmentation brutale de la concentration en progestérone provoque alors un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et entraîne ainsi une diminution des décharges de LH (Fike *et al.*, 2004).

L'exploitation de la progestérone chez la vache permet de contrôler le démarrage d'une vague folliculaire ovulante. Ainsi, chez la vache, trois formes galéniques sont disponibles. Le dispositif PRID<sup>ND</sup> (Ceva) est constitué d'une spirale qui est introduite dans le vagin et libère alors la progestérone dont elle est imprégnée. La progestérone est libérée pendant la durée d'insertion du dispositif dans le vagin. Les quantités que l'on retrouve dans le lait ou le plasma sont identiques à celles observées pendant la phase lutéale au cours d'un cycle naturel. En outre l'action de la progestérone associée à une prostaglandine F2 alpha injectée 24 heures avant le retrait du dispositif permet de maîtriser efficacement le cycle sexuel des vaches. L'activité lutéolytique de la prostaglandine F2 alpha administrée avant la fin du traitement progestatif provoque la lyse du corps jaune cyclique et induit l'ovulation. D'autre part, chez la vache, le norgestomet est utilisé comme progestagène dans la méthode CRESTAR SO<sup>ND</sup> (Intervet-Schering Plough) afin de synchroniser les chaleurs dans le cadre d'un traitement associant une injection de buséreline le jour de la pose de l'implant de norgestomet, une injection de prostaglandines 2 jours avant le retrait de l'implant et une injection d'eCG au retrait de l'implant. Après le retrait de l'implant, les concentrations plasmatiques de norgestomet chutent et permettent la reprise de la sécrétion pulsatile de LH qui induit la maturation du plus gros follicule, la venue en chaleurs puis l'ovulation. Enfin, le dispositif intravaginal CIDR 1,38g<sup>ND</sup> (Pfizer) contient 1,38 g de progestérone, qui permet d'inhiber la sécrétion de GnRH et par conséquent la libération de LH. Le dispositif reste 7 jours en place. Pour effectuer un traitement de synchronisation de l'œstrus, une injection de prostaglandine F2 alpha est réalisée 24 heures avant le retrait. Après le retrait du dispositif, la progestéronémie chute brutalement dans les 6 heures, permettant la maturation folliculaire, l'expression de l'œstrus dans les 48-72 heures et l'ovulation (DMV, 2009).

Tableau 25 : Principales molécules de progestérone/progestagènes chez les mammifères

Molécules et formes galéniques	Spécialité (laboratoire producteur) (DMV 2009)	Espèces couvertes par l'AMM
Dispositifs vaginaux de progestérone	PRID (Ceva) CIDR 1,38g (Pfizer)	Vache
Implants sous-cutanés de norgestomet	CRESTAR SO (Intervet-Schering Plough)	Vache
Eponges vaginales de flugestone	CHRONOGEST CR (Intervet-Schering Plough) SYNCHRO- PART (Ceva)	Brebis Brebis et chèvre
Solution orale d'altrenogest	REGUMATE (Intervet-Schering Plough) ALTRESYN (Ceva)	Jument Truie
Spirales vaginales de progestérone + œstradiol	PRIDOESTROL (Ceva)	Jument
Acétate de médroxyprogestérone (comprimés)  (comprimés et injectable) (suspension injectable)	CONTROLESTRIL (Omega pharma) HEBDO'PIL (Omega pharma) PERLUTEX (VetXX) SUPPRESTAL (Vetoquinol) DEPO-PROMONE (Pfizer) GYNECALM (Pfizer)	Chienne, chatte
Acétate de mégestrol	CANIPIL (Véto-centre) DERMA-CHAT (Novartis) FELIDERM (Véto-centre) MEGECAT (Vétoquinol) MEGEPIL chat (Omega pharma) OPOCHALEURS (Omega Pharma) PILUCALM (Novartis)	Chienne et chatte
Delmadinone	TARDAK (Pfizer)	Chienne et chatte <sup>69</sup>
Proligestone	DELVOSTERON (Intervet-Schering Plough)	Chienne et chatte

## **b. Agonistes et antagonistes de la GnRH**

Les analogues de la GnRH sont représentés par, d'une part des agonistes, qui stimulent la libération des gonadotropines, d'autre part des antagonistes qui inhibent cette même sécrétion. Dans le cas des agonistes en administration chronique, la réponse des cellules gonadotropes de l'hypophyse se décompose en une première phase de stimulation de la sécrétion de LH, cohérente avec le rôle d'agoniste, et en une deuxième phase de désensibilisation avec une modification des modalités de la sécrétion de LH qui est fonction de l'espèce concernée. Cette désensibilisation de l'hypophyse consiste en une absence de réaction des cellules gonadotropes aux sécrétions hypothalamiques de GnRH. Les raisons de cette désensibilisation sont complexes et apparaissent être la combinaison de modifications des interactions entre les agonistes de la GnRH et leur récepteur et de saturation des seconds messagers intracellulaires aboutissant la sécrétion des gonadotrophines. Dans le cas des antagonistes, ces analogues établissent une compétition avec l'hormone naturelle pour l'occupation des récepteurs à la GnRH. Une administration de ceux-ci entraîne une diminution immédiate de la libération de LH et, de façon moins constante, de FSH en fonction des espèces (Kessler, 2001). Ainsi, un traitement à base de GnRH au-delà d'une semaine perturbe le développement folliculaire chez la vache et provoque une concentration en progestérone très basse.

## **2. Facteurs non hormonaux**

Plusieurs facteurs inhibent l'ovulation comme différentes affections pathologiques, l'alimentation, la photopériode. Par ailleurs, comme il a déjà été évoqué auparavant, on rappelle que la sénilité provoque une diminution de l'activité ovarienne.

### **a. Xénobiotiques**

L'absence d'ovulation peut être iatrogène : liée à l'administration d'androgènes, de glucocorticoïdes ou d'antifongiques comme la griséofulvine et le kétoconazole qui inhibent le métabolisme du cholestérol (Fontbonne, 2008).

## **b. Maladies**

Lors de kystes lutéaux, il y a production de progestérone pendant plusieurs mois, la femelle est en œstrus prolongé. La concentration de LH est suffisante pour amorcer la lutéinisation mais reste insuffisante pour déclencher une ovulation (Carrière *et al.*, 2009).

Les tumeurs de la granulosa provoquent un hyperœstrus avec une sécrétion de progestérone prédominante. Notamment, chez la vache, les tumeurs de la granulosa entraînent une hypertrophie ovarienne supérieure à 10 cm : la vache reste en œstrus ou devient nymphomane (Carrière *et al.*, 2009).

Parmi les causes d'absence d'ovulation, différentes affections récurrentes sont décrites comme l'insuffisance rénale, l'hypothyroïdie chez la chienne (Fontbonne, 2008). Des répercussions sur l'appareil reproducteur existent dans 9 % des cas de chiennes hypothyroïdiennes (Johnston *et al.*, 2001). Il semblerait que l'absence d'ovulation soit plutôt liée à une auto-immunité ovarienne associée avec une endocrinopathie auto-immunitaire. D'autres maladies diverses peuvent perturber l'ovulation, et notamment chez la chienne : débilité, troubles hépatiques, hyper/hypoadrénocorticisme, insuffisance hypophysaire du berger allemand...

Chez un tiers des vaches, l'administration d'endotoxines d'*E. coli* 3-4h avant le pic de LH provoque une augmentation de l'intervalle œstrus-ovulation associée à une diminution et un retard du pic de LH. Notamment, une augmentation de la concentration en cortisol et en N-acetyl-b-D-glucosaminidase (NAGase), marqueur de l'inflammation et de la souffrance des cellules épithéliales mammaires, a été observée 12-24 heures après l'administration de l'endotoxine. Ainsi, l'augmentation de cortisol et de NAGase entraînant la sécrétion de cytokines supprime les sécrétions de GnRH et de LH (Lavon *et al.*, 2008).

## **c. Facteurs sociaux**

Chez certains primates, la femelle dominante interagit avec les autres femelles grâce à ses phéromones et inhibe la sécrétion de gonadotropines en bloquant leurs ovulations (Barrett *et al.*, 1990). L'ovulation des femelles subordonnées chez les macaques est aussi bloquée par les taux élevés de cortisol induits par le harcèlement exercé par les femelles dominantes (Driancourt, 2001).

#### **d. Stress**

Le stress en stimulant la synthèse de corticoïdes par les glandes surrénales, diminue les sécrétions de GnRH et LH. Chez la truie, l'administration d'ACTH, qui augmente la sécrétion de cortisol, interfère avec l'ovulation en décalant ou supprimant le pic de LH.

Autre exemple, un entraînement physique intensif chez les chiens de race Greyhound peut inhiber la cyclicité ovarienne. Enfin chez la vache, pendant les saisons chaudes (>25 °C) en raison du stress thermique, les ovulations échouent dans environ 4 fois plus de cas qu'au cours des autres saisons (Lopez-Gatius *et al.*, 2005).

#### **e. Alimentation**

Particulièrement chez la vache, le déficit énergétique post-partum perturbe l'ovulation. Un fort taux de cellules dans le lait avec un mauvais état corporel sont associés à une diminution du nombre d'ovulations. Pourtant, un taux de cellules élevé dans le lait seul ou un mauvais état corporel seul n'a pas d'influence sur l'ovulation. Ainsi, l'effet synergique de ces effets stressants perturbe l'ovulation (Morris *et al.*, 2009).

La majorité des mammifères présente des difficultés à s'alimenter en quantité suffisante au début de la lactation ; par exemple, chez la vache laitière, l'équilibre énergétique est très souvent négatif jusqu'à 100 jours post-partum. La période post-partum correspond à une très forte augmentation des besoins nutritionnels liée à la lactation. Or l'alimentation des vaches allaitantes pendant la période hivernale de gestation est souvent sous-optimale. Le statut métabolique de ces vaches ne permet alors pas la reprise du fonctionnement cyclique ovarien. Il existe en effet une corrélation négative entre la durée de l'intervalle vêlage/retour en œstrus et la quantité de tissu adipeux de la femelle au moment de la parturition. Cette période du post-partum est caractérisée par un bilan énergétique négatif, une diminution des concentrations sériques en insuline, IGF-1 et glucose, une diminution de la fréquence des décharges de LH. L'échec de l'ovulation du follicule dominant de la première vague folliculaire post-partum est associé à une augmentation de la concentration en acides gras non estérifiés et en corps cétoniques dans le plasma, à une accumulation de triglycérides dans le foie pendant les trois premières semaines de lactation (Monget *et al.*, 2001).

Au niveau ovarien, le profil de croissance des gros follicules à antrum n'est pas ou peu modifié par un déficit énergétique, même si les teneurs en gonadotropines sont insuffisantes pour leur permettre d'ovuler. Une carence énergétique sévère peut par contre aboutir à une diminution de la taille maximale des follicules, ceux-ci ne dépassant pas 5 mm dans les cas extrêmes (Monget *et al.*, 2001).

Après la maîtrise du moment de l'ovulation, il est nécessaire de maîtriser le nombre d'ovulations pour pouvoir améliorer les performances reproductrices.

## **VI. Maîtrise du nombre d'ovulations**

Le nombre d'ovulations peut être maîtrisé par des facteurs génétiques mais aussi grâce à des traitements de superovulation.

### **1. Génétique**

Dans plusieurs espèces, la sélection génétique a permis d'obtenir des races à fort taux d'ovulation car l'héritabilité de ce caractère est élevée. Notamment, chez la truie, l'héritabilité du taux d'ovulation est de 40%. Une augmentation de 3,5 corps jaunes par ovulation a été observée sur seulement 5 générations de sélection dans cette espèce (Knox, 2005). En effet, l'utilisation de très grands fichiers nationaux de contrôle des performances des truies a permis d'identifier des animaux hyperprolifiques puis de diffuser leurs gènes par insémination artificielle.

Chez la brebis, il existe également plusieurs races hyperprolifiques. Leur étude a permis de mettre en évidence que le fort taux d'ovulation était lié à plusieurs mutations sur différents gènes selon la race. La première mutation mise en évidence est la mutation Boorola située dans le domaine intracellulaire du récepteur BMPR-IB (Bone Morphogenetic Protein Receptor, type IB). Deux autres mutations portent sur 3 gènes de facteurs de croissance de la famille Bone Morphogenetic Protein (BMP) : BMP15 (GDF9B), GDF9 (tableau 26).

Les BMP appartiennent à la superfamille du TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor, beta) (Mulsant, 2005). Différentes protéines de la famille des BMP sont exprimées dans le follicule ovarien, principalement par l'ovocyte et la granulosa (Mc Natty et al, 2005). Le taux d'ovulation accru, observé chez les brebis hétérozygotes pour les mutations GDF9 ou BMP15, reste peu expliqué. Il semblerait que ces facteurs diminuent la réponse des cellules folliculaires à la FSH, par inhibition de la synthèse du récepteur de la FSH (Otsaka et al, 2001). Ces deux protéines seraient ainsi indispensables au développement folliculaire à des stades précoces de celui-ci, puis freineraient la différenciation hormono-dépendante (Mc Natty *et al.*, 2005). Pour le gène BMPR-IB, il a été montré que la mutation de celui-ci diminue *in vitro* la sensibilité cellulaire à des BMP (Fabre *et al.*, 2003).

Tableau 26 : Mutations ovines ayant un impact sur le taux d'ovulation (Mulsant, 2005).

Locus	Chromosome	Gène	Mutations	Nom courant de la mutation	Races dans lesquelles elle est présente
FecX	X	<i>BMP15</i>	V31D	Inverdale	Romney
			Q23stop	Hanna	Romney
			S99I	Belclare	Belclare, Cambridge
			Stop	Galway	Belclare, Cambridge
			C53Y		Lacaune
FecG	5	<i>GDF9</i>	S77F	High Fertility	Belclare, Cambridge
FecB	6	<i>BMPR-IB</i>	Q249R	Booroola	Mérinos, Garole, Javanaise, Han
FecL	11				Lacaune
FecX2	X			Woodlands	Coopworth

es mutations ont été recherchées dans d'autres espèces animales, mais l'importance relative de chaque élément de la famille des BMP dans la fonction ovarienne diffère d'une espèce à l'autre, liée aux rôles multiples de ces facteurs de croissance. De façon tout à fait paradoxale, alors que la perte de fonction partielle d'un des deux gènes *BMP15* et *BMPR-IB* respectivement chez les hétérozygotes Inverdale et chez les homozygotes et hétérozygotes Booroola aboutit à une augmentation du nombre d'ovulations, leur inactivation complète aboutit à une stérilité chez les brebis porteuses de la mutation Inverdale à l'état homozygote. De plus, les souris *bmp15* *-/-*, à la différence des brebis homozygotes pour la mutation Inverdale, sont fertiles et ne présentent qu'une légère diminution du nombre de petits par portée (tableau 27). Enfin des femmes porteuses d'une mutation de *BMP15* à l'état hétérozygote sont stériles (Mulsant, 2005). Ainsi, l'effet des mutations est différent voire même inverse selon l'espèce et selon qu'elles sont présentes à l'état homo ou hétérozygote

Tableau 27 : Comparaison des effets des mutations naturelles ovines (m) et des inactivations de gènes de la souris (KO) sur le taux d'ovulation des femelles

Espèces	Génotypes	GDF9	BMP15	BMPR-IB
Mouton	+/m	+2	+1	+1,5
	m/m	0	0	+3
Souris	+/KO	-	=	=
	KO/KO	0	-	=*

*Signification des abréviations : +1 : taux d'ovulation augmenté d'une unité par rapport aux témoins ; = : pas d'effet ; - : taux d'ovulation diminué ; 0 : pas d'ovulation ; \* : femelles à taux d'ovulation normal, mais quasi-stériles pour d'autres raisons.*

Chez la vache, des loci à effets quantitatifs (QTL=Quantitative Trait Locus) ont été mis en évidence sur différents chromosomes mais aucune mutation causale n'a encore été identifiée (tableau 28). Plusieurs QTL ont été révélés sur les chromosomes 5, 7 et 19. Chaque QTL peut expliquer 6 à 16 % des variations des taux d'ovulation. Un modèle incluant les 4 QTL décrit environ 32 % des variations des taux d'ovulation (Kirkpatrick *et al.*, 2000).

Tableau 28 : Loci à effets quantitatifs (QTL) ayant un effet sur le taux d'ovulation chez la vache (Kirkpatrick *et al.*, 2000).

**Table 2.** Estimates of ovulation rate QTL effect.

Chromosome	Location from centromere (cM)	Contrast <sup>a</sup>	QTL effect (breeding value)
5	107	Haplotype 1 vs. other	0.083 ± 0.016
		Haplotype 2 vs. other	-0.072 ± 0.019
7	5	Haplotype 1 vs. other	0.042 ± 0.018
		Haplotype 2 vs. other	-0.036 ± 0.019
7	57	Haplotype 1 vs. other	0.060 ± 0.019
		Haplotype 2 vs. other	-0.031 ± 0.022
19	65	Haplotype 1 vs. other	0.103 ± 0.018
		Haplotype 2 vs. other	-0.017 ± 0.022

<sup>a</sup> Estimates are from a simple linear regression model with the contrast shown. For the contrast of haplotype 1 versus other, "other" includes the effect of haplotype 2 and all haplotypes not inherited from the patriarch. The converse is true for the contrast of haplotype 2 versus other. For Chr 7, QTL effects are for the given QTL after first accounting for the effects of haplotype 1 at the other Chr 7 QTL location.

## **2 Superovulation médicamenteuse**

La superovulation est utilisée notamment dans les programmes de transplantation embryonnaire et permet la dissémination d'un génotype femelle.

Actuellement, deux traitements permettent d'obtenir une superovulation : l'injection de gonadotropines et l'immunisation anti-hormones. L'objectif de la superovulation est de supprimer la sélection et la dominance lors de la folliculogénèse, afin d'augmenter le nombre de follicules dominants et donc le nombre d'ovulations.

### **a. Gonadotropines**

L'administration en début de phase folliculaire d'hormones gonadotropes (eCG/hCG, LH, FSH) provoque une superovulation chez un grand nombre d'espèces (tableaux 29 et 30). Il est ainsi possible d'observer des taux moyens d'ovulation de 15 chez la brebis, 20 chez la vache, 35 chez la truie et la lapine (Driancourt, 2001) et 2,8 chez la jument (Squires *et al.*, 2006).

L'apport de gonadotropines exogènes permet donc de dépasser les mécanismes de contrôle naturel du taux d'ovulation en supprimant le phénomène de dominance. Il entraîne une diminution de la taille des follicules au recrutement, une réduction du taux d'atrésie des follicules lors de la sélection et une diminution de la taille des follicules lors de l'ovulation (Driancourt *et al.*, 2001). Le niveau de réponse ovarienne est lié au nombre et à la taille respective des follicules présents sur l'ovaire au moment de la stimulation (Chemineau *et al.*, 2001).

Chez la vache, le traitement de superovulation à base de FSH est effectué pendant la phase lutéale entre J8 et J12 après les chaleurs. Avec ce traitement, on obtient de 0 à 20 ovulations avec une moyenne de 8 à 10 (Pursey et Bello, 2007). Chez la brebis et la chèvre l'injection d'hormones gonadotropes est pratiquée à la fin d'un traitement progestatif.

Chez la jument, les traitements de superovulation sont mis en place en phase folliculaire. Ils sont à base de FSH porcine ou d'eCG mais ne sont pas très efficaces, alors que le traitement à base d'ePE (equine Pituitary Extract ; contenant 6-10 % de LH et 2-4 % de FSH) permet d'obtenir de 2,3 à 3,9 ovulations par jument. Enfin, les mêmes résultats sont obtenus avec des traitements à base de eFSH (equine FSH). Les injections de GnRH permettent aussi d'obtenir des ovulations multiples (Squires et al, 2006). Néanmoins l'augmentation du taux d'ovulation obtenue chez la jument reste très limitée et les traitements sont onéreux et difficiles à réaliser (injections répétées 1-2 fois/jour à partir de la fin du diœstrus pour les traitements à base d'eCG et FSH porcine). La situation est encore plus difficile chez la chienne, qui ne répond pas ou mal aux traitements hormonaux de superovulation classiquement utilisés (FSH ou eCG) (Chastant-Maillard et al, 2006)

Chez la femme, les anti-œstrogènes seuls puis associés avec les gonadotropines ont d'abord été utilisés pour obtenir une induction plurifolliculaire dans le cadre de la fécondation in vitro, mais ils provoquent dans 10 à 20 % des cycles une lutéinisation précoce. L'utilisation des agonistes de la GnRH permet de supprimer ce risque d'apparition spontanée du pic de LH. Dès lors, l'association d'un agoniste (ou antagoniste) de la GnRH et d'hormones gonadotropes est devenue le traitement de choix pour la superovulation chez la femme (Driancourt *et al.*, 2001).

Tableau 29 : Traitements de stimulation ovarienne utilisés pour la superovulation (Driancourt, 2001).

Espèces	Contrôle du cycle ovarien	Moment de début de la stimulation	FSH			Apport de LH	
			Nb inj (2/j)	Dose (µg/animal)	Répartition des doses	Dose (µg/animal)	Répartition des doses
Vache	Prostaglandines (injection IM)	J8-J13 du cycle	8	340-600	Décroissante	45-500 selon les races	décroissante
Brebis et chèvre	Progestagènes (éponge vaginale)	48 h avant retrait éponge	6	225-280	Décroissante	225-280	décroissante

Tableau 30 : Description des gonadotropines utilisées pour la superovulation chez certains mammifères (DMV, 2009).

Espèces	Molécules	Nom déposé	Doses
Vache	pFSH/pLH	STIMUFOL (Merial)	500 microg de pFSH, 2 inj/j pendant 4 jours
Vache, brebis	Gonadotropine sérique chorionique (PMSG)	SYNCRO-PART PMSG (Ceva)	400-600 UI au moment du retrait du PRID
Truie	Gonadotropine sérique chorionique	PG 600 (Intervet-Schering Plough)	5 ml, dose unique
Vache, brebis, chèvre	Gonadotrophine sérique chorionique	CHRONO-GEST PMSG (Intervet-Schering Plough)	Protocole CRESTAR : dose de 300-400 UI lors du retrait de l'implant de progestagène

Le principal facteur limitant de ces traitements est l'état de la population folliculaire au début de la stimulation gonadotrope (présence d'un follicule dominant, nombre de follicules > 2 mm ; Saumande, 1995). Actuellement, de nombreuses recherches sont tournées vers l'hormone anti-Müllérienne (AMH=Anti-Müllerian Hormone) par l'évaluation de la réponse à la superovulation. En effet, l'AMH est sécrétée par les cellules de la granulosa des petits follicules non-atrétiques de 3 à 7 mm de diamètre et est donc un marqueur de la réserve des follicules ovariens. Or l'initiation d'un traitement de superovulation avec la présence concomitante de nombreux follicules antraux permet une bonne réponse ovulatoire. La concentration d'AMH plasmatique, stable sur plusieurs mois, permet de déterminer le nombre de follicules capables de répondre à une stimulation des gonadotropines et capable de se développer à un stade pré-ovulatoire chez la femme, la souris et la vache (Rico *et al.*, 2009).

Une fois le niveau de réponse maximale obtenu, l'administration de doses plus fortes d'hormones gonadotropes entraîne une réduction du nombre d'ovulations, en interférant surtout avec les mécanismes ovulatoires (Driancourt *et al.*, 2001). En effet, une dose élevée de gonadotropines provoque une stimulation excessive de l'ovaire : les follicules n'ovulent plus et se lutéinisent avec formation possible de kystes folliculaires. En ce qui concerne la répétition des traitements, la répétabilité des traitements de superovulation est très élevée chez les brebis mais particulièrement faible (13%) chez les vaches (Malhi *et al.*, 2008). Lorsque le traitement de superovulation est répétée toutes les 6 semaines, quelques vaches maintiennent leur niveau de réponse pendant 2 ans, mais le niveau moyen de réponse diminue avec le nombre de traitements. Chez la vache, il n'a pas été possible de mettre en évidence l'apparition d'anticorps, mais le changement d'hormone (pFSH à la place de eCG) restaure une réponse égale à celle du premier traitement. Chez la chèvre, des anticorps anti-pFSH ont été détectés après des traitements répétés ; une corrélation négative assez forte existe alors entre titre d'anticorps et réponse ovarienne (Chemineau *et al.*, 2001).

### **b. Immunisation active ou passive**

L'immunisation active contre l'inhibine double le taux d'ovulation chez la jument et est aussi utilisée chez la truie et la brebis. En effet, l'inhibine, secrétée par le follicule dominant supprime la sécrétion de FSH. La présence d'anticorps anti-inhibine provoque une diminution de la biodisponibilité en inhibine et donc l'augmentation du taux de FSH (Mc Cue *et al.*, 1993). Il existe aussi une technique d'immunisation passive, consistant en l'injection de sérum de juments hyperimmunisées. Les taux d'ovulation moyen obtenus lors de traitements d'immunisation active et passive sont respectivement  $1,3 \pm 0,2$  et  $1,6 \pm 0,2$ . Ce traitement est de l'ordre expérimental actuellement mais semble prometteur avec un traitement réalisé seulement toutes les 3 semaines chez la jument (Tibary, 2005).

L'immunisation contre l'androstenedione inactive l'androstenedione endogène et permet de stimuler le nombre d'ovulations chez la brebis et la truie. Avec ce traitement, une augmentation de 0 à 47 % du taux d'ovulation est observée chez la brebis (Keisler, 2007) mais pas chez la vache (Driancourt *et al.*, 2001).

Cependant, le traitement de superovulation peut échouer chez la plupart des mammifères à cause de variations intra et interindividuelles, provoquant des follicules non ovulatoires et une compétence ovocytaire réduite. Un tiers des vaches produisent peu ou pas d'embryon suite à un traitement de superovulation (Saumande, 1995). Chez la jument, le traitement de superovulation est davantage perturbé du fait de la structure anatomique unique de l'ovaire. Les follicules se développent dans le cortex ovarien mais ovulent seulement dans la zone délimitée de la fosse ovulatoire.



# CONCLUSION

L'ovulation, répondant au pic ovulatoire de LH secrété par l'hypophyse, est un phénomène complexe impliquant un grand nombre de compartiments cellulaires : reprise de la maturation de l'ovocyte, expansion du cumulus, rupture du pôle apical du follicule et restructuration tissulaire associée à la différenciation cellulaire nécessaire à la formation du corps jaune. Face à la complexité du phénomène ponctuel qu'est l'ovulation, il existe de grandes variations selon l'espèce, l'influence de facteurs physiologiques endogènes mais aussi de facteurs environnementaux.

La maîtrise du moment de l'ovulation est d'une importance croissante en élevage pour plusieurs espèces. Il est utile de contrôler l'ovulation, notamment chez les vaches modernes chez lesquelles les ovulations sont de plus en plus étalées, lors d'insémination avec de la semence dont la durée de vie est faible, telle que la semence sexée, en plein développement. Chez la jument, la problématique est de contrôler le moment de l'ovulation en vue d'une saillie par un étalon hébergé à de grandes distances ou de réussir une superovulation efficace. Chez la chienne, il s'agit de raccourcir l'interœstrus et prévoir le moment de l'insémination artificielle. Enfin chez la chèvre, l'objectif est d'optimiser la superovulation et de limiter l'immobilisation pour pouvoir répéter les traitements.

Ainsi, les travaux de recherche récents permettent de mieux comprendre la physiologie de l'ovulation et de découvrir de nouveaux facteurs exploitables en thérapeutique. Les recherches sur kiss peptin représentent actuellement une voie très prometteuse.



# BIBLIOGRAPHIE

ACOSTA TJ, MIYAMOTO A (2004). Vascular control of ovarian function : ovulation, corpus luteum formation and regression. *Animal Reproduction Science*, **82-83**, 127-140.

BAKER TG (1982). Oogenesis and ovulation. *In* : AUSTIN CR, SHORT RV. Reproduction in mammals. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge, University Press, 17-45.

BALTHAZART J, FABRE-NYS C (2001). Le comportement sexuel. THIBAUT C. LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 611-637.

BELSTRA BA, FLOWERS WL, SEE T (2004). Factors affecting temporal relationships between estrus and ovulation in commercial sow farms. *Animal Reproduction Science*, **84**, 377-394.

BERGFELT DR, ADAMS GP (2007). Ovulation and corpus luteum development. *In* : SAMER JC, PYCOCK, MCKINNON AO. Current Therapy in Equine Reproduction. Philadelphia, WB Saunders, 1-13.

BLEACH EC, GLENCROSS RG, KNIGHT PG (2004). Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*, **127**, 621-629

BLOCH A, FOLMAN Y, KAIM M, ROTH Z, BRAW-TAL R, WOLFENSON D (2006). Endocrine alterations associated with extended time interval between estrus and ovulation in high-yield dairy cows. *Journal Dairy Science*. **89**, 4694-4702.

BONNES G, DESCLAUDE J, DROGOUL C, GADOUD R, JUSSIAU R, LE LOC'H A, MONTMEAS L, ROBIN G (2005). Reproduction des animaux d'élevage, 2<sup>ème</sup> édition, Dijon, Educagri éditions.

BRADECAMP EA (2007). Estrous synchronization. *In* : SAMER JC, PYCOCK, MC KINNON AO. Current Therapy in Equine Reproduction. Philadelphia, WB Saunders, 22-25.

BRIANT C, SCHNEIDER J, GUILLAUME D, OTTOGALLI M, DUCHAMP G, BRUNEAU B, CARATY A (2006). Kisspeptin induces ovulation in cycling Welsh pony mares. *Animal Reproduction Science*, **94**, 217–219.

BRISTOL-GOULD S, WODDRUFF TK (2006). Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*). *Theriogenology*, **66**, 5–13.

BUTLER WR (2005). Inhibition of ovulation in the postpartum cow and the lactating sow. *Livestock Production Science*, **98**, 5–12

BYSTED BV, DIELEMAN SJ, HYTTEL P, GREVE T (2001). Embryonic developmental stages in relation to the LH peak in dogs. *Journal of Reproduction and Fertility*, **57**, supplement, 181-187.

CARNEVALE EM (2008). The mare model for follicular maturation and reproductive aging in the woman. *Theriogenology*, **69**, 23–30.

CARRIERE PD, GNEMMI G, DESCOTEAUX L, MATSUI M, MIYAMOTO A, COLLOTON J (2009). Ovaire bovin. *In* : Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants. Paris, éditions Med'com, 38-59.

CHAFFAUX S, BAZILE C (2001). La reproduction du chat et du chien. *In* : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 816-839.

CHASTANT-MAILLARD S, FOURNIER R, REMMY D (2005). Actualités sur le cycle de la vache. *Le Point vétérinaire n°spécia*, **36** : Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie, 10-15.

CHASTANT-MAILLARD S, FONTBONNE A, MARSELOO N, VIARIS DE LESEGNO C, THOUMIRE S, REYNAUD K (2005). Reproduction assistée chez le chien. *Le Point vétérinaire*, 259, 46-49.

CHEMINEAU P, COGNIE Y, THIMONIER J (2001). La maîtrise de la reproduction des mammifères domestiques. *In* : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 792-815.

CLEMENT F (2001). Gestion de la jument, guide pratique. 3è édition, Paris, les Haras nationaux.

CLERO D (2009). Détermination du moment de l'ovulation : évaluation de la fiabilité de l'ovulstart<sup>ND</sup> chez la chienne Beagle. Thèse Méd. Vét. Alfort, n°92.

CUNNINGHAM G (2002). Reproductive cycles. *In* : Textbook of veterinary physiology. 3ème édition, WB Saunders Company, 389-397.

DAVIDSON AP, BAKER TW (2009). Reproductive Ultrasound of the Bitch and Queen. *Topics in Companion Animal Medicine*, **24**, n° 2, 55-63.

DAVIES MOREL MCG, NEWCOMBE JR (2008). The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity : Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation in the mare. *Animal Reproduction Science*, **109**, 189–199.

DAVIES MOREL MCG, NEWCOMBE JR, SWINDLEHURST JC (2005). The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology*, **63**, 2482–2493.

DAWSON LJ (2007). Manipulating the estrous cycle in a doe. *In* : YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 537-539.

DE GIER J, KOOISTRA HS, DJAJADININGRAT-LAANEN SC, DIELEMAN SJ, OKKENS AC (2006). Differential regulation of the secretion of Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone around the time of ovulation in the bitch. *Theriogenology*, **66**, 1419–1422.

DELOUIS C, HOUDEBINE LM, RICHARD P (2001). La lactation. *In* : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 580-610.

DRIANCOURT MA, LEVASSEUR MC (2001). Cycles oestriens et cycles menstruels. *In* : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 680-698.

DRIANCOURT MA, GOUGEON A, MONNIAUX D, ROYERE D, THIBAUT C (2001). Folliculogénèse et ovulation. *In* : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 316-347.

ENGLAND GCW, RUSSO M, FREEMAN SL (2009). Follicular dynamics, ovulation and conception rates in bitches. *Reproduction in Domestic Animals*, **44** (Suppl. 2), 53–58.

EVANS ECO (2003). Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reproduction in Domestic Animals*, **38**, 240–246.

FABRE S, PIERRE A, PISSELET C, MULSANT P, LECERF F, POHL J, MONGET P, MONNIAUX D (2003). The Booroola mutation in sheep is associated with an alteration of the bone morphogenetic protein receptor-IB functionality. *Journal of Endocrinology*, **177**, 435-444.

FIKE KE, KOJIMA FN, LINDSEY BR, BERGFELD EGM, QUINTAL-FRANCO JA, MELVIN EJ, ZANELLA EL, WEHRMAN ME, KINDER JE (2004). Regulation of frequency of LH pulses by magnitude of acute change in circulating concentration of progesterone of female cattle. *Animal Reproduction Science*, **84**, 279-291.

FISHER AD, MORTON R, DEMPSEY JMA, HENSHALL JM, HILL JR (2008). Evaluation of a new approach for the estimation of the time of the LH surge in dairy cows using vaginal temperature and electrodeless conductivity measurements. *Theriogenology*, **70**, 1065–1074.

FONTBONNE A (2008). L'infertilité chez la chienne. Polycopié de reproduction animale, ENV Alfort, CERCA, 51p.

GASTAL EL, SILVA LA, GASTAL MO, EVANS MJ (2006). Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Animal Reproduction Science*, **94**, 186–190.

GELEZ H, FABRE-NYS C (2004). The “male effect” in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Hormones and Behavior*, **46**, 257– 271.

GINTHER OJ (1992). Reproductive biology of the mare : basic and applied aspects. Cross Plains, Equiservia Publishing, 218p.

GINTHER OJ, GASTAL EL, RODRIGUES BL, GASTAL MO, BEG MA (2008). Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. *Theriogenology*, **69**, 583–590.

GONZALEZ-BULNES A, DIAZ-DELFA C, URRUTIA B, CARRIZOSA JA, LOPEZ-SEBASTIAN AL (2004). Ultrasonographic screening of the ovulatory process in goats. *Small Ruminant Research*, **52**, 165–168.

GOODMAN M (2002). Demystifying Ovulation Timing. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, **17**, n° 3, 97-103.

HAN L, MAO DG, ZHANG DK, LIANG AX, FANG M, MOAEEN-UD-DIN M, YANG LG (2008). Development and evaluation of a novel DNA vaccine expressing inhibin (1–32) fragment for improving the fertility in rats and sheep. *Animal Reproduction Science*, **109**, 251–265.

HASE M, HORI T, KAWAKAMI E, TSUITSUI T (2000). Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis system in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, **62**, 243-248.

HAYER P, GUNZEL-APEL AR, LUERSSSEN D, HOPPEN HO (1993). Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl*, **47**, 93-100.

HOWARD JG, BARONE MA, DONOGHUE AM, WILDT DE (1992). The effect of pre-ovulatory anesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cat. *Journal of Reproduction and Fertility*, **96**, 175-186.

HUNTER MG, ROBINSON RS, MANN GE, WEBB R. (2004). Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Animal Reproduction Science*, **82**, 461–477.

HYLAN D, GIRALDO AM, CARTER JA, GENTRY GT, BONDIOLI KR, GODKE RA (2009). Sex ratio of bovine embryos and calves originating from the left and the right ovaries. *Biology of reproduction*, **81**, 933-938.

JAISSWAL RS, SINGH J, MARSHALL L, ADAMS GP (2009). Repeatability of 2-wave and 3-wave patterns of ovarian follicular development during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*, **72**, 81-90.

JEFFCOATE I (1998). Physiology and endocrinology of reproduction in female dogs. *In* : SIMPSON G, ENGLAND G, HARVEY M. Manual of small animal reproduction and neonatology. Cheltenham, British Small Animal Veterinary Association, 1-11.

JOHNSTON SD, KUSTRITZ MVR, OLSON PNS (2001). Canine and feline theriogenology. Philadelphia, WB Saunders, 592p.

KARSCH FJ, BOWEN JM, CARATY A, EVANS NP, MOENTER SM (1997). Gonadotropin-Releasing Hormone requirements for ovulation. *Biology of Reproduction*, **56**, 303-309.

KAWASHIMA C, KIDA K, SCHWEIGERT FJ, MIYAMOTO A (2009). Relationship between plasma beta-carotene concentrations during the peripartum period and ovulation in the first follicular wave postpartum in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, **111**, 105–111.

KEISLER DH (2007). Sheep breeding strategies. In : YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 649-660.

KIRKPATRICK BW, BYLA BM, GREGORY KE. (2000). Mapping quantitative trait loci for bovine ovulation rate. *Mammalian Genome*, **11**, 136–139.

KNOX RV (2005). Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig. *Domestic Animal Endocrinology*, **29**, 385–397.

KNOX RV, WILSON WD. (2007). Induction of estrus and control of the estrous cycles in swine. In YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 757-764.

KUTZLER MA (2005). Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology*, **64**, 766-775.

LAVON Y, LEITNER G, GOSHEN T, BRAW-TAL R, JACOBY S, WOLFENSON D (2008). Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. *Theriogenology*, **70**, 956–967.

- LOPEZ-GATIUS F, SANTOLARIA P, YÁNIZ J, RUTLLANT J, LÓPEZ-BÉJAR M (2002). Factors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology*, **57**, 1251-61.
- LOPEZ-GATIUS F, LOPEZ-BEJAR M, FENECH M, HUNTER RHF (2005). Ovulation failure and double ovulations in dairy cattle : risk factors and effects. *Theriogenology*, **63**, 1298–1307.
- LOPEZ H, BUNCH TD, SHIPKA MP (2002). Estrogen concentrations in milk at oestrus and ovulation in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, **72**, 37–46.
- MALANDAIN E, RAULT D, FROMENT E, BAUDON S, BEGON D, CHASTANT-MAILLARD S. (2006). Croissance folliculaire et ovulation chez la chatte. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire France*, **159** (2), 113-120.
- MALHI PS, ADAMS GP, MAPLETOFT RJ, SINGH J (2008). Superovulatory response in a bovine model of reproductive aging. *Animal Reproduction Science*, **109**, 100–109.
- MALPAUX B (2001). Environnement et rythmes de reproduction. In : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 698-724.
- MARSELOO N, FONTBONNE A, RIVIERE S, LEBLANC B, RAULT D, BIOURGE V, CHASTANT-MAILLARD S (2004). Comparison of ovarian ultrasonography with hormonal parameters for the determination of the time of ovulation in bitches. In : Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Canine and Feline Reproduction, Sao Paulo, 4-6 aout 2004, 75-77.
- MATSUI M, MIYAMOTO A (2009). Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow. *The Veterinary Journal*, **181**, 232–240.

- MATSUI M, TAKATSU Y, KUMANO Y, KUMANO S, MATSUMOTO H. (2004). Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **320**, 383–388.
- MC CUE PM, HUGHES JR, LASLEY BL (1993). Effect on ovulation rate of passive immunization of mares against inhibin. *Equine Vet J*, **15**, 103-106.
- MC DOUGALL K, HAY MA, GOODROWE KL, GARTLEY CJ, KING WA (1997). Changes in number of follicles and of oocytes of prepubertal, peripubertal and mature bitches. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, **51**, 25-31.
- MC NATTY KP, SMITH P, MOORE LG, READER K, LUN S, HANRAHAN JP, GROOME NP, LAITINEN M, RITVOS O, JUENGEL JL (2005). Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **234**, 57–66.
- MONGET P, ETIENNE M, ROSETTA L (2001). Métabolisme énergétique et reproduction. *In* : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l’homme. Paris, Ellipses, 749-769.
- MONTGOMERY GW, GALLOWAY S, DAVIS GH, MCNATTY KP (2001). Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction*, **121**, 843–852.
- MONNIAUX D, HUET C, BESNARD N, CLEMENT F, BOSCH M, PISSELET C, MONGET P, MARIANA JC (1997). Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, **51**, 3-23.
- MONNIAUX D, CARATY A, CLEMENT F, DALBIES-TRAN R, DUPONT J, FABRE S, GERARD N, MERMILLOD P, MONGET P, UZBEKOVA S (2009). Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Productions Animales*, **22** (2), 1-18.

MOORE RK, EROCKSON GF, SHIMASAKI S (2004). Are BMP-15 and GDF-9 primary determinants of ovulation quota in mammals? *Trends in Endocrinology and Metabolism*, **150** 356-361.

MORRIS MJ, WALKER SL, JONES DN, ROUTLY JE, SMITH RF, DOBSON H (2009). Influence of somatic cell count, body condition and lameness on follicular growth and ovulation in dairy cows. *Theriogenology*, **71**, 801–806

MOSHER MD, OTTOBRE JS, HAIBEL GK, ZARTMAN DL (1990). Estrual rise in body temperature in the bovine : the relationship with ovulation. *Animal Reproduction Science*, **23**, 99-107.

MULSANT P (2005). Régulation du taux d'ovulation chez les mammifères femelles : exemple des gènes de prolificité chez les ovins. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire France*, **158**, (4), 519-524.

NICOLINO M, FOREST MG (2001). La puberté. In : THIBAUT C, LEVASSEUR MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, Ellipses, 655-679.

NOAKES DE (2001). Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In : NOAKES DE, PARKINSON TJ, ENGLAND CWE. Arthur's Veterinary reproduction and obstetrics, 8<sup>ème</sup> ed, London, WB Saunders, 1-57.

OTSAKA F, YAMAMOTO S, ERICKSON GF, SHIMASAKI S (2001). Bone morphogenetic protein-15 inhibits Follicle Stimulating Hormone action by suppressing receptor expression. *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 11387-11382.

PELICAN KM, WIDT DE, OTTINGER M, HOWARD JG. (2008). Priming with progestin, but not GnRH antagonist, induces a consistent endocrine response to exogenous gonadotropins in induced and spontaneously ovulating cats. *Domestic Animal Endocrinology*, **34**, 160–175.

PETERS AR, MAWHINNEY I, DREW SB, WARD SJ, WARREN MJ, GORDON PJ (1999). Development of GnRH and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows. *Veterinary Record*, **145**, 516-521.

PURSLEY JR, BELLO NM (2007). Ovulation synchronization strategies in dairy cattle using PGFalpha and GnRH. *In* : YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 286-293.

RAWLINGS NC, BARTLEWSKI PA (2007). Clinical reproductive physiology of ewes. *In* : YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 642-648.

REKWOT PI, OGWU D, OYEDIPE EO, SEKONI VO (2001). The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, **65**, 157-170.

REYNAUD K (2003). Le dialogue ovocyte-granulosa au cours de la folliculogénèse. *Médecine thérapeutique et endocrinologie*, **5**, n°2, 85-93.

REYNAUD K, FONTBONNE A, MARSELOO N, VIARIS DE LESEGNO C, THOUMIRE S, CHASTANT-MAILLARD S (2005). Maturation ovocytaire, fécondation et développement embryonnaire chez la chienne. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire France*, **158**, n°2, 167-172.

REYNAUD K, FONTBONNE A, MARSELOO N, VIARIS DE LESEGNO C, SAINT-DIZIER M, CHASTANT-MAILLARD S (2006). In vivo canine oocyte maturation, fertilization and early embryogenesis : a review. *Theriogenology*, **66**, 1685-1693.

RICO C, FABRE S, MEDIGUE C, DI CLEMENTE N, CLEMENT F, BONTOUX M, TOUZE JL, DUPONT M, BRIANT E, BECKERS JF, MONNIAUX D (2009). AMH is an endocrine marker of ovarian gonadotropin responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of Reproduction*, **80**, 50-59.

ROELOFS JB, VAN EERDENBURG FJCM, SOEDE N M, KEMP B (2005). Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology*, **63**, 1366–1377.

ROELOFS JB, VAN EERDENBURG FJCM, HAZELEGER W, SOEDE NM, KEMP B. (2006). Relationship between progesterone concentrations in milk and blood and time of ovulation in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, **91**, 337–343.

ROMAN E, RICCI AG, FALETTI AG (2005). Leptin enhances ovulation and attenuates the effects produced by food restriction. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **242**, 33–41.

ROMANO JE, FERNANDEZ ABELLA D (1997). Effect of service on duration of oestrus and ovulation in dairy goat. *Animal Reproduction Science*, **47**, 107-112.

RUBION S (2000). Physiologie de la reproduction chez la jument. Application à l'insémination artificielle. Thèse Médecine Vétérinaire, Nantes, n°65.

SAFRANSKI TJ, COX NM (2007). Clinical reproductive physiology and endocrinology of sows: mating management. In YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 738-748.

SAMPER JC (2008). Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. *Theriogenology*, **70**, 445–447.

SAMPER JC, PYCOCK JF (2007). The normal uterus in estrus. In : SAMER JC, PYCOCK JF, MCKINNON AO. Current Therapy in Equine Reproduction. Philadelphia, WB Saunders, 32-35.

SAUMANDE J (1995). La production d'embryons chez les bovins : quelles voies de recherches pour augmenter l'efficacité des traitements de superovulation ? *INRA Productions Animales*, **8** (4), 275-283.

SAUMANDE J, HUMBLLOT P (2005). The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. *Animal Reproduction Science*, **85**, 171–182.

SCHNEIDER F, TOMEK W, GRÜNDKER C (2006). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *Theriogenology*, **66**, 691–709.

SHIMAZU T, TSUITSUI T, MURAO I, ORIMA H (1990). Incidence for transuterine migration of embryos in the dog. *Journal of Veterinary Medical Science*, **52**, 1273-1275.

SOEDE NM, HAZELEGER W, BROOS J, KEMP B (2002). Vaginal temperature is not related to the time of ovulation in sows. *Animal Reproduction Science*, **72**, 37–46.

SOUZA AH, VIECHNIESKI S, LIMA FA, SILVA FF, ARAU'JO R, BO GA, WILTBANK MC, BARUSELLI PS (2009). Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology*, **72**, 10–21.

SPAIN JN, LUCY MC, HARDIN DK (2007). Effects of nutrition on reproduction in dairy cattle. *In* : YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 442-449.

STABENFELDT GH, DAVIDSON AP (2002). Reproductive cycles. *In* : CUNNINGHAM JG. Textbook of veterinary physiology. 3th ed. Philadelphia, WB Saunders, 389-398.

STEVENSON JS (2007). Clinical reproductive physiology of the cow. *In* : YOUNGQUIST RS, THRELFALL WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2ème ed. Philadelphia, Saunders, 258-269.

STEVENSON JS (2007). Factors influencing upfront single and multiple ovulation incidence, progesterone, and luteolysis before a timed insemination resynchronization protocol. *Journal Dairy of Science*, **90**, 5542-51.

TIBARY A (2005). Superovulation, manipulation des gamètes et fécondation assistée. In : TIBARY A, BAKKOURY M. Reproduction équine. Tome III : Biotechnologies appliquées. Rabat, Actes éditions, 247-400.

TIRET L (2005). Physiologie de l'appareil reproducteur. Polycopié de physiologie et thérapeutique, ENVA, Unité pédagogique de physiologie, 25-80.

VARGAS AJ, BEMARDI AL, WENTZ I, NETO GB, BORTOLOZZO FP (2006). Time of ovulation and reproductive performance over three parities after treatment of primiparous sows with PG600. *Theriogenology*, **66**, 2017–2023.

VERDONCK E (2006). Intérêt de l'échographie Doppler pour le pronostic de l'ovulation chez la jument. Thèse Médecine Vétérinaire n°15, Alfort. 2006

VERSTEGEN JP (1998). Physiology and endocrinology of reproductive in female cats. In : SIMPSON G, ENGLAND G, HARVEY M. Manual of small animal reproduction and neonatology. Cheltenham, British Small Animal Veterinary Association, 11-17.

WILTBANK M, LOPEZ H, SARTORI R, SANGSRIVATONG S, GÜMEN A (2006). Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, **65**, 17-29.

WOLFENSON D, INBAR G, ROTH Z (2004). Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology*, **66**, 1042-1055.

YAVAS Y, WALTON JD (2000). Induction of ovulation in post-partum suckled beef cows : a review. *Theriogenology*, **54**, 1-23.