

L'ovulation chez les mammifères

INRA Prod. Anim.,
2019, 32 (3), 445-460

Flavie DEROUIN-TOCHON¹, Massimiliano BELTRAMO¹, Caroline DECOURT¹, Renaud FLEUROT¹, Nadine GÉRARD¹,
Caroline PINET-CHARVET², Stéphanie MARTINET¹, Vincent ROBERT¹, Catherine TARAGNAT¹, Yves TILLET¹, Anne DUITTOZ¹

¹PRC, CNRS, IFCE, INRA, Université de Tours, 37380, Nouzilly, France

²Université de Poitiers, Faculté de Pharmacie, 3 rue de la Milétrie, 86000, Poitiers, France

Courriel : anne.duittoz@inra.fr

■ La maîtrise du moment de l'ovulation chez les mammifères d'élevage permet d'améliorer la fertilité, la gestion des mises bas, mais les méthodes actuelles sont basées sur l'utilisation de fortes doses d'hormones. Cette revue présente de nouveaux paradigmes pour maîtriser le moment de l'ovulation, respectueux de la physiologie de l'animal, sans supplémentation hormonale basés sur la connaissance des mécanismes physiologiques.

Introduction

L'ovulation est l'émission du gamète femelle. Ce phénomène est précédé quelques jours avant par un comportement spécifique : le comportement d'œstrus qu'on résume souvent par le terme « œstrus ». Selon les espèces, le comportement d'œstrus peut se poursuivre quelques heures après l'ovulation. Pendant la phase d'œstrus, la femelle développe une série de comportement pour attirer les mâles et elle accepte l'accouplement. Le terme d'œstrus dérive du nom grec « οιστροξ » désignant les œstres, diptères de la famille des œstridés qui infligent des morsures au bétail l'été. Les femelles en œstrus montrent un comportement qui est similaire à celui des animaux en présence d'une grande quantité d'œstres ou de taons : agacement, fouaillage de la queue, etc. Le terme d'œstrus a été utilisé la première fois pour décrire la période du cycle où se déroule l'ovulation par Walter Heape dans son ouvrage dédié aux différents types de cycles reproducteurs chez les mammifères (Heape, 1900). Heape définissait l'œstrus, en miroir du rut chez le mâle, comme « *the special period of sexual desire of the female* ». Les autres phases du cycle se définissent par rapport à

l'œstrus : le pro-œstrus (orthographié également proœstrus) et le post-œstrus qu'on appelle maintenant metœstrus.

Le proœstrus correspond à la phase folliculaire pendant laquelle une ou plusieurs vagues de follicules croissent et par la suite dégénèrent (atrésie) lorsque le ou les follicules destinés à continuer leur croissance (follicules dominants) sont sélectionnés. Durant le proœstrus, les follicules sécrètent des œstrogènes mais en quantité insuffisante pour induire le comportement sexuel. Plusieurs vagues folliculaires peuvent se succéder durant cette phase. Le metœstrus correspond à la phase lutéale au cours de laquelle les cellules folliculaires se transforment en cellules lutéales (lutéinisation), forment le corps jaune et sécrètent de la progestérone. La phase d'œstrus correspond à la phase du comportement sexuel qui s'exprime quand les taux d'œstrogènes circulants sont élevés lorsque le ou les follicules dominants sont en croissance terminale. Au moment de l'ovulation les cellules de la granulosa se transforment en cellules lutéales et perdent leur capacité de sécréter des œstrogènes. La chute des œstrogènes plasmatiques s'accompagne de l'arrêt du comportement sexuel chez certaines espèces et donc du refus du mâle. La connaissance

du moment précis de l'ovulation permet d'augmenter les chances de fécondation lors de l'utilisation de l'In-sémination Artificielle (IA), particulièrement lors d'utilisation de semence cryoconservée car les spermatozoïdes ont une période de fécondance plus courte.

Dans cette revue, nous décrivons les mécanismes conduisant à l'ovulation en nous basant sur les études les plus récentes qui abordent les mécanismes intimes de régulation physiologique. Bien connaître ces bases biologiques permet d'envisager de nouveaux paradigmes pour l'induction de l'ovulation chez les mammifères.

1. Deux types d'ovulation chez les mammifères

On distingue deux types d'ovulation chez les mammifères domestiques : l'ovulation spontanée et l'ovulation provoquée. L'ovulation spontanée est déclenchée au cours de la période d'œstrus que la femelle soit en présence de mâles ou non. C'est le cas de la plupart des mammifères d'élevage. Dans le cas de l'ovulation provoquée, celle-ci n'intervient que lorsque la

Encadré 1. Deux modes d'ovulations chez les mammifères.**Ovulation spontanée**

Truie (*Sus scrofa*), Vache (*Bos taurus*),
Brebis (*Ovis aries*), Souris (*Mus musculus*),
Macaque (*Macaca mulata*),
Chienne (*Canis vulgaris*)

Ovulation provoquée

Dromadaire (*Camelus dromedarius*),
Lapine (*Oryctolagus cuniculus*),
Alpaga (*Vicugna pacos*), Musaraigne (*Suncus murinus*),
Rhinoceros (*Diceros bicornis*)

Chez les espèces à ovulation induite, le premier mâle qui s'accouple avec la femelle fécondera l'ovocyte (espèce mono-ovulante) ou la majorité des ovocytes (espèce poly-ovulante). Chez les espèces à ovulation spontanée, c'est le mâle qui s'accouple avec la femelle au temps t le plus proche de l'ovulation qui fécondera l'ovocyte ou la majorité des ovocytes. Mais les mâles ne peuvent pas prédire le moment de l'ovulation avec précision, il est probable que leurs spermatozoïdes entrent en compétition spermatique avec les spermatozoïdes des autres mâles qui l'auront précédé ou succédé (Soulsbury, 2010). On s'attend ainsi à observer un niveau plus élevé de compétition entre mâles (par exemple compétition spermatique) chez les espèces à ovulation spontanée que chez les espèces à ovulation provoquée. La capacité des mâles à monopoliser la paternité dépend de plusieurs facteurs qui ont été bien démontrés comme l'existence de phénomènes de synchronisation de l'œstrus chez les femelles, la structure familiale et l'existence d'association mâle-femelle. Chez les mâles d'espèces à ovulation spontanée, l'association intermittente mâle-femelle est corrélée à une perte de monopolisation de la paternité, ce qui n'est pas le cas pour les mâles d'espèces à ovulation provoquée. Ainsi, le mode d'ovulation apparaît comme une stratégie évolutive de l'espèce permettant une meilleure monopolisation parentale des mâles (Soulsbury, 2010). Les raisons pour lesquelles certaines espèces ont évolué vers l'un ou l'autre mode d'ovulation, ne sont cependant pas très claires. un certain nombre d'espèces à ovulation provoquée vivent en groupe et avec des associations mâle-femelle. Le mode d'ovulation provoquée permet de diminuer le niveau de compétition spermatique et donc de compétition entre mâles, mais les facteurs responsables de la stratégie évolutive ne sont pas connus. L'ovulation provoquée apporte aussi un bénéfice pour la femelle qui peut choisir le mâle fécondant sur la base du niveau de stimulation lors de l'accouplement (Soulsbury, 2010).

femelle s'accouple avec le mâle. Ainsi la durée de la phase d'œstrus peut être très variable, et ne s'arrête que lorsque la femelle s'accouple. C'est le cas chez la lapine, la chatte, et des femelles de certaines espèces de camélidés comme le dromadaire, le lama et l'alpaga.

L'existence de deux modalités de déclenchement de l'ovulation chez les mammifères peut être discutée sous l'angle de l'écologie comportementale et de l'évolution. Les différentes stratégies évolutives empruntées par les espèces, reposent essentiellement sur l'optimisation de la production d'une descendance viable présentant une bonne survie. Dans ce cadre, différents éléments tels que, le climat, la disponibilité de ressources alimentaires de qualité ou encore les comportements

sociaux des espèces, influencent de nombreux paramètres relatifs à la fonction de reproduction (encadré 1).

■ 1.1. Ovulation spontanée

Il est classiquement admis que l'ovulation est la conséquence d'une décharge d'hormone lutéinisante (LH) sécrétée par l'hypophyse. Au moment de l'ovulation, la concentration plasmatique de LH atteint des valeurs très élevées, on parle de pic pré-ovulatoire de LH. Par exemple chez la brebis, la concentration de LH varie de 2 à 8 ng/mL alors qu'au cours du pic préovulatoire elle peut atteindre 30 à 60 ng/mL. Toujours chez la brebis, la durée du pic préovulatoire est d'environ 12 heures (Caraty *et al.*, 1998). L'ovulation intervient 24-36 heures après le maximum

du pic de LH (Driancourt *et al.*, 2014). Chez la truie, le pic de LH dure environ 24 heures et l'ovulation intervient 24-64 heures après le début du pic de LH (Martinat-Botté *et al.*, 1997). Chez la vache, le pic de LH dure 12 à 45 heures selon la race et le statut physiologique (Wiltbank et Pursley, 2014), l'ovulation intervient dans les 24 à 30 heures après le maximum du pic de LH (Saumande et Humblot, 2005). Une exception, la jument, pour laquelle le pic de LH dure plusieurs jours et dont le maximum est atteint 24 heures après l'ovulation (Noden *et al.*, 1975).

■ 1.2. Ovulation provoquée

Plusieurs espèces de mammifères domestiques ont une ovulation provoquée : la chatte, la lapine et certains

camélidés. L'hypothèse de l'origine nerveuse du réflexe d'ovulation avait été renforcée par l'observation de nombreuses terminaisons nerveuses autour des follicules et par la présence de fibres musculaires dans la couche fibreuse chez la lapine. Cependant, la LH induit l'ovulation chez la lapine et il a été alors conclu que le réflexe conduisant à l'ovulation impliquait un facteur hypothalamique qui entraînait la sécrétion hypophysaire de la LH. Chez l'alpaga, le lama et le dromadaire, l'ovulation est aussi induite par le coït, mais c'est un facteur présent dans le liquide séminal du mâle, l'« *Ovulation Inducing Factor* » (OIF), qui est impliqué. L'OIF injecté par voie intramusculaire ou intra-utérine à des femelles alpaga induit un pic de LH qui démarre deux heures après l'injection, l'ovulation intervient 24 à 30 heures après (Tanco *et al.*, 2011). L'OIF a été identifié comme une protéine majeure du plasma séminal d'alpaga : le β -nerve growth factor (β -NGF) (Kershaw-Young *et al.*, 2012).

Ainsi, que ce soit pour les mammifères à ovulation spontanée ou les mammifères à ovulation provoquée par l'accouplement, le pic de LH hypophysaire joue un rôle majeur dans le déclenchement de l'ovulation.

2. Régulations physiologiques de l'ovulation

■ 2.1. Mécanismes ovariens

L'ovulation est un processus complexe au cours duquel sont induits à la fois la reprise de méiose de l'ovocyte, l'expansion du cumulus, la rupture du pôle apical du follicule, et la différenciation des cellules de la granulosa et de la thèque menant à la formation du corps jaune. Au cours d'un cycle normal, tous ces événements doivent être coordonnés pour aboutir à la production d'un ovocyte mature et fécondable, et d'un corps jaune capable d'assurer le début de gestation.

Une cascade d'événements mène à l'ovulation, mais l'initiateur est le pic de LH. Au niveau du ou des follicules destinés à ovuler, la LH induit un accrois-

sement du diamètre folliculaire, qui est dû à l'accumulation de liquide folliculaire, associé à un amincissement de la paroi folliculaire composée des cellules de la granulosa et de la thèque.

a. Changements fonctionnels des cellules folliculaires

Seuls les follicules qui expriment une grande quantité de récepteurs de la LH à la surface des cellules de granulosa sont capables d'ovuler en réponse au pic préovulatoire de la LH (tableau 1). La LH se fixe sur ses récepteurs au niveau des cellules folliculaires qui répondent à ce signal par la régulation de l'expression de plusieurs (figure 1). La fixation de la LH sur son récepteur augmente les

taux intracellulaires d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et d'inositol tri-phosphate (Piquette *et al.*, 1991), mais cette dernière voie ne serait néanmoins qu'une voie potentialisatrice (figure 1), activée seulement en présence de forte concentration hormonale. Ainsi activée par l'AMPc, la Protéine Kinase A (PKA) induit une cascade de phosphorylation et d'activation de facteurs de transcription (CREB, SP1) qui vont inhiber, ou activer l'expression de gènes-cibles codant pour des enzymes de la stéroïdogénèse. Ainsi, dans les heures suivant l'augmentation circulante de la LH, les taux sériques d'œstrogènes et d'androgènes s'effondrent, alors que le taux de progesterone augmente considérablement. En

Figure 1. Mécanismes ovariens conduisant à l'ovulation.

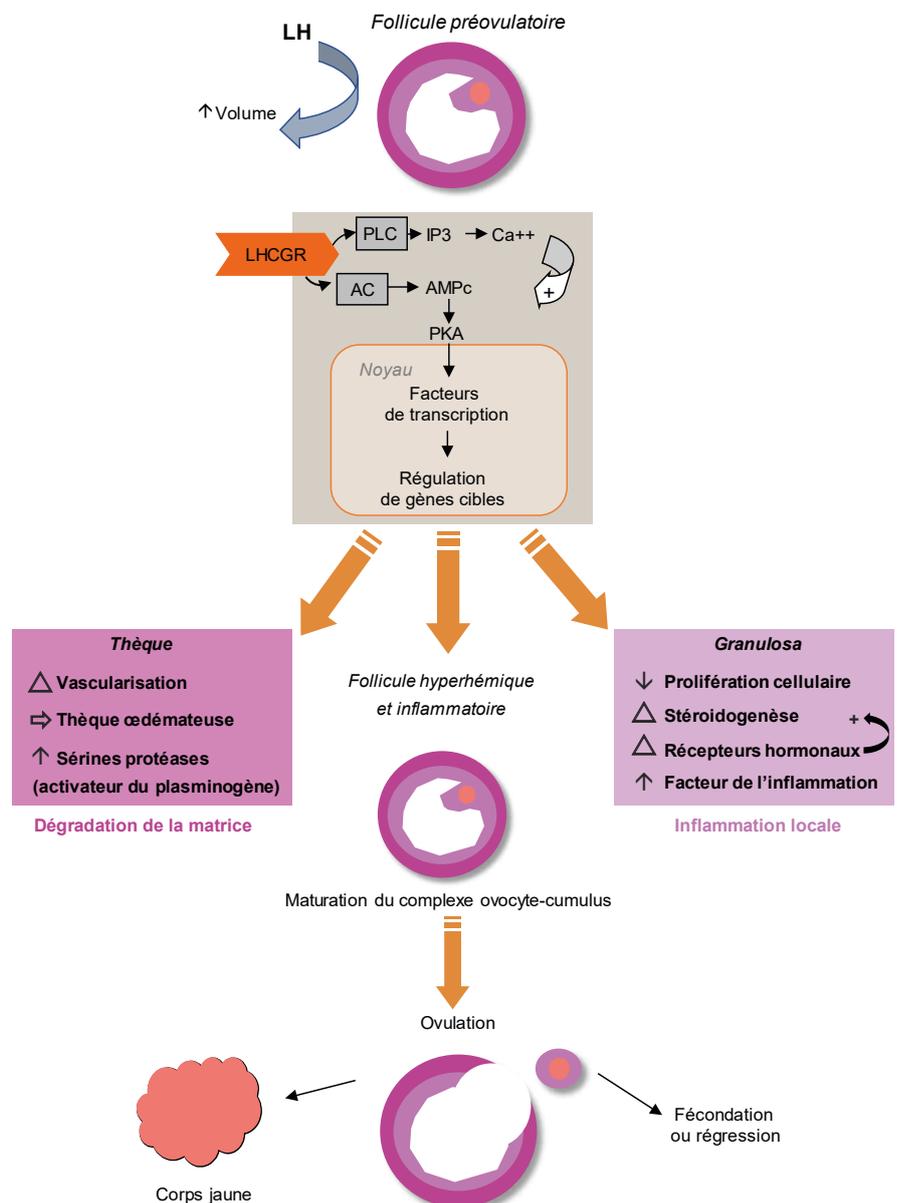


Tableau 1. Diamètres folliculaires et acquisition de la sensibilité à la LH.

Espèce	Acquisition des récepteurs de LH sur la granulosa (diamètre en mm)	Diamètre à l'ovulation (diamètre en mm)
Rate	0,5	0,6 à 0,8
Brebis	3 à 3,5	6 à 7
Truie	5	7 à 11
Vache	9	10 à 20
Jument	15	45
Femme	10 à 12	20

réponse à une production accrue de monoxyde d'azote (NO ; activité vasodilatatrice) la thèque devient œdémateuse et hyperhémique, augmentant le flux sanguin du follicule préovulatoire et la perméabilité vasculaire. Simultanément, les cellules de la granulosa perdent leurs récepteurs de la FSH, tandis que l'expression des récepteurs de la LH diminue de façon transitoire. Chez le rat, cette « reprogrammation » des cellules folliculaires dure environ sept heures (Richards et Hedin, 1988).

b. La rupture de la paroi folliculaire

Le processus d'ovulation est associé à une réaction de type inflammatoire. La synthèse ovarienne de cytokines inflammatoires (IL, $TNF\alpha$), de prostaglandines et de cortisol (à action anti-inflammatoire) s'accroît dans le follicule préovulatoire au moment de l'ovulation chez la souris, la ratte, la lapine, la truie, la vache, la jument et la femme. L'interleukine 1 (IL-1) est capable d'induire la rupture du follicule *ex vivo*, sur des ovaires perfusés de ratte et de lapine (Brännström *et al.*, 1993 ; Takehara *et al.*, 1994) et *in vivo* chez la jument après injection intrafolliculaire de follicules dominants (Martoriati *et al.*, 2003).

Le mécanisme d'action des cytokines dans la maturation préovulatoire est probablement similaire à celui observé au cours d'une inflammation. En particulier elles stimulent la production de prostaglandines, NO, et l'activité d'enzymes protéolytiques. De plus, elles sont

capables de moduler la stéroïdogenèse et interviendraient aussi dans la maturation du complexe ovocyte-cumulus chez la lapine et la jument (Gérard *et al.*, 2004).

La rupture de la paroi folliculaire et l'expulsion de l'ovocyte dans l'oviducte nécessitent l'action d'enzymes protéolytiques dégradant la matrice extracellulaire. La production locale d'activateur du plasminogène, de plasmine et de collagénases (métalloprotéases MMP1 et MMP2) augmente considérablement. L'activateur du plasminogène transforme le plasminogène en plasmine, qui elle-même activerait certaines collagénases (Beers *et al.*, 1975). L'augmentation préovulatoire de la concentration intra-folliculaire de la progestérone stimule la synthèse et l'activité de deux autres protéases ADAMTS1 et CTSL1, qui viennent participer à la protéolyse. En parallèle, l'activité d'inhibiteurs de sérines protéases (SERPIN) et les inhibiteurs des métalloprotéases matricielles (TIMP1 et TIMP2) augmente. L'expression de ces métalloprotéases et des TIMP est régulée par les stéroïdes et les prostaglandines. Ainsi, l'expression de protéases et d'anti-protéases dans le follicule préovulatoire permet la régulation temporelle et spatiale de l'activité protéolytique avant la rupture (Curry et Smith, 2006).

c. La maturation du complexe ovocyte-cumulus

En réponse au pic préovulatoire de la LH, l'ovocyte, bloqué au stade de prophase de 1^{re} division méiotique, entre

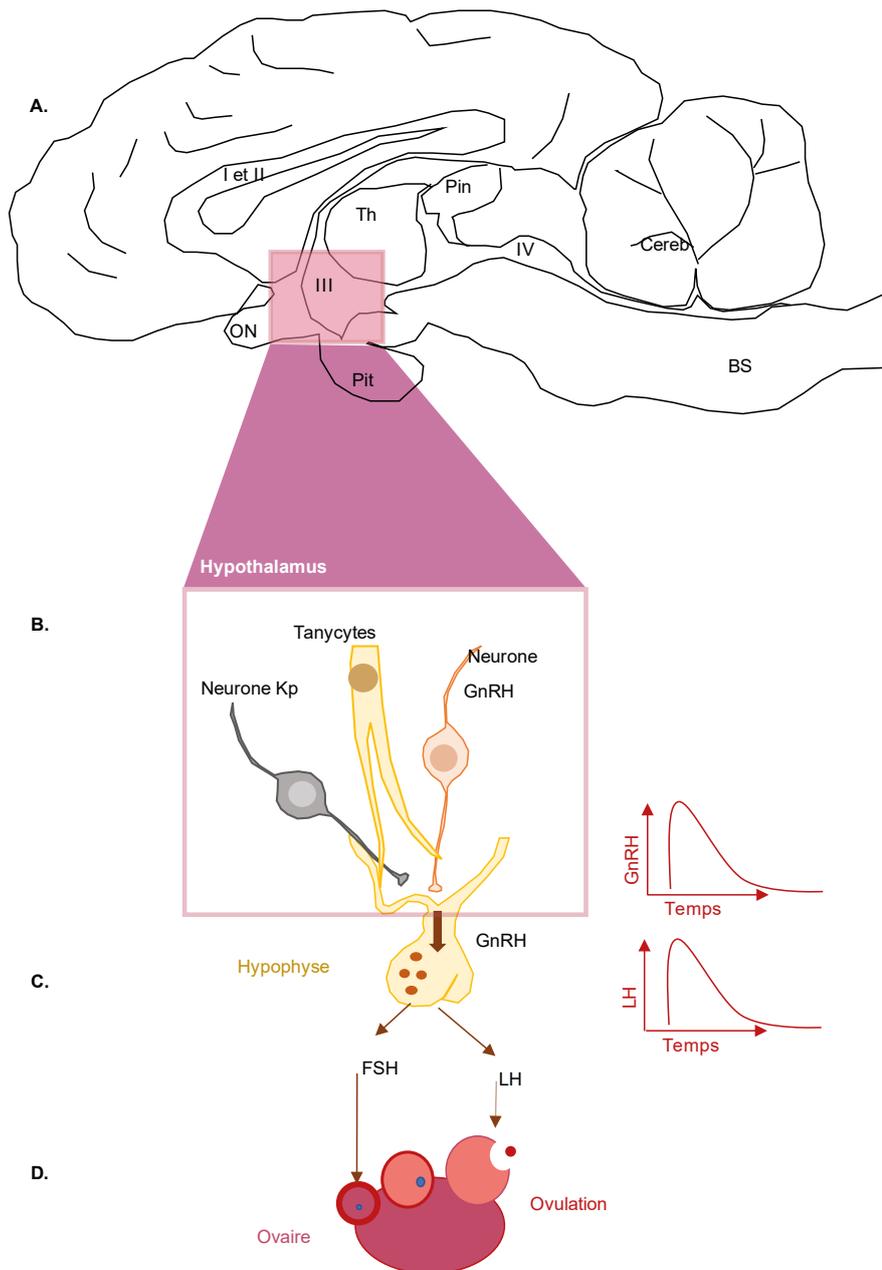
en phase de maturation en reprenant sa méiose. Ce stade appelé GVBD (germinal vesicle break down) est visualisé par la rupture de la membrane nucléaire. L'ovocyte évolue, dans la plupart des espèces mammaliennes jusqu'en métaphase de 2^e division méiotique, stade auquel l'ovocyte reste bloqué jusqu'à la fécondation. Les mécanismes moléculaires de la maturation ovocytaire nucléaire et cytoplasmiques sont complexes et ils ne seront pas abordés dans le cadre de cette revue. La LH induit l'expansion du cumulus, phénomène nécessaire à la maturation méiotique et l'acquisition de la compétence au développement de l'ovocyte. Au moment de la rupture du follicule préovulatoire, le liquide folliculaire est expulsé entraînant le complexe ovocyte-cumulus qui est capté par le pavillon de l'oviducte.

■ 2.2. Mécanismes hypophysaires

La croissance folliculaire et l'ovulation dépendent des hormones gonadotropes ou gonadotropines, FSH et LH, sécrétées par les cellules gonadotropes de l'hypophyse. La synthèse et la libération de la LH et de la FSH sont dépendantes d'une interaction complexe de multiples signaux endocrines et paracrines.

a. Rôle de la GnRH « Gonadotropin Releasing Hormone »

La synthèse et la libération des deux hormones gonadotropes LH et FSH sont sous la dépendance de la neurohormone hypothalamique, la GnRH (voir chapitre 2.3.a). Son rôle a été bien établi par l'utilisation d'antagonistes de GnRH (Brooks *et al.*, 1993) ou d'anticorps anti-GnRH (Caraty *et al.*, 1984 ; Molter-Gérard *et al.*, 1999). Ces traitements induisent une suppression immédiate de la libération de la LH, la disparition du pic préovulatoire et le blocage de l'ovulation. La GnRH est libérée sous forme pulsatile par les neurones et elle atteint l'hypophyse via le système sanguin porte hypothalamo-hypophysaire (figure 2) Elle induit à son tour une libération pulsatile des hormones gonadotropes. La fréquence des pulses de GnRH varie

Figure 2. Axe hypothalamo-hypophysio-ovarien.

A. Représentation schématique d'une coupe sagittale de cerveau de brebis, le cadre rouge délimite l'hypothalamus. I et II : ventricules latéraux, III : 3^e ventricule, IV : 4^e ventricule, ON : nerfs optiques, Pit : hypophyse, Th : thalamus, Pin : glande pinéale, Cereb : cervelet, BS : tronc cérébral.

B. Représentation schématique des acteurs hypothalamiques régulant la reproduction : neurones à GnRH, neurones à Kp et tanocytes. Les tanocytes sont des cellules gliales bordant le 3^e ventricule, elles possèdent aussi des propriétés de cellules souches neurales.

C. Représentation schématique de l'hypophyse qui sécrète LH et FSH sous l'action de GnRH.

D. Représentation schématique de l'ovaire présentant un follicule pré-ovulatoire qui ovule sous l'action du pic de LH.

au cours du cycle œstral (figure 3) : chez la brebis, elle est de l'ordre d'un pulse/heure au cours de la phase folliculaire puis devient continue au cours de la période précédant l'ovulation. À l'issue de l'ovulation, cette fréquence devient basse avec une valeur d'un pulse toutes les six heures durant la

phase lutéale chez la brebis (figure 3). La fréquence des pulses conditionne la libération des hormones gonadotropes. Une fréquence élevée favorise la libération de la LH, une fréquence faible favorise la production de la FSH (figure 3) (Dalkin *et al.*, 1989). Au cours du pic préovulatoire

de la LH on observe un pic de FSH de moindre amplitude (figure 3) qui permet le recrutement de follicules pour le cycle suivant. Alors que la synthèse et la libération de la LH sont intimement dépendantes de celle de la GnRH, celles de la FSH impliquent d'autres molécules (voir § 2.2.d).

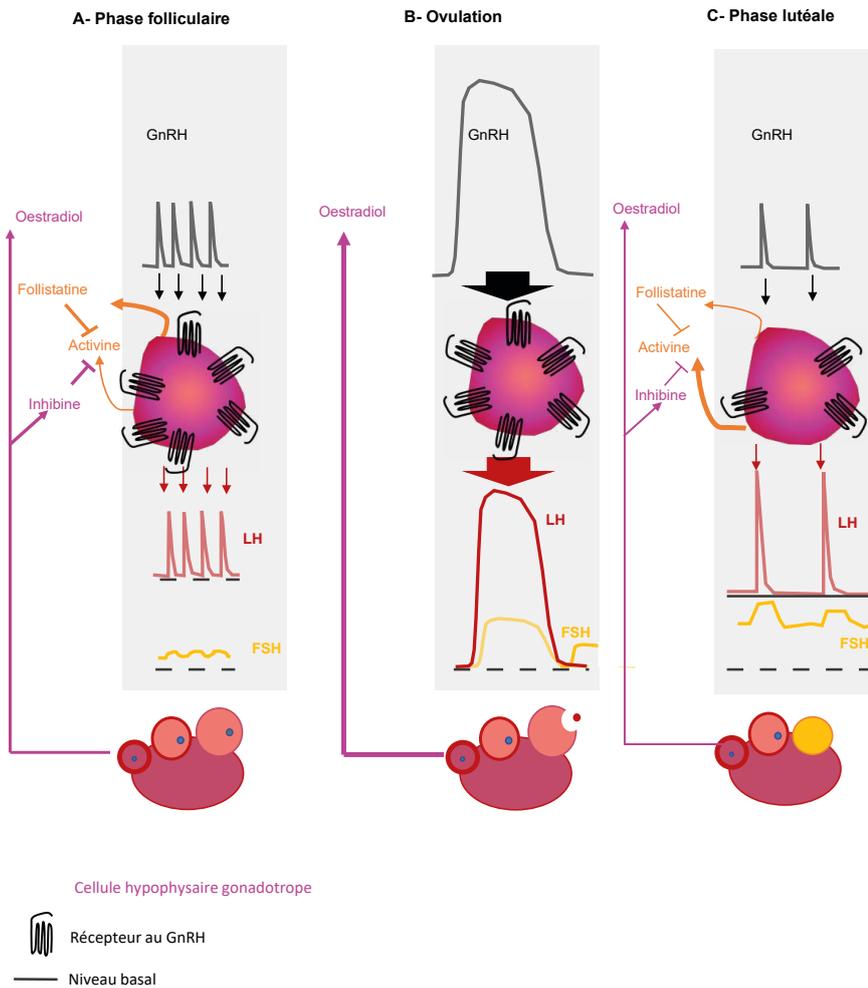
b. La GnRH agit via un récepteur spécifique

La GnRH agit au niveau hypophysaire via un récepteur spécifique (GnRH-R) situé à la surface des cellules gonadotropes. GnRH-R appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G. La liaison de la GnRH à son récepteur initie une cascade de signalisation intracellulaire qui fait intervenir plusieurs protéines dont l'activation induit la transcription des gènes codant pour la LH et la FSH et/ou la libération de ces hormones. L'importance du GnRH-R est mise en lumière dans les cas d'hypogonadismes induits par des mutations présentes sur le gène du GnRH-R inactivant sa fonctionnalité (Chevrier *et al.*, 2011). Le nombre de récepteurs GnRH-R à la surface des cellules gonadotropes varie en fonction de la fréquence des pulses de GnRH. Des fréquences élevées augmentent le nombre de récepteurs alors que des fréquences faibles le diminue (Katt *et al.*, 1985). Des voies de signalisation intracellulaire différentes seraient activées en fonction du nombre de récepteurs, et donc de la fréquence des pulses, conduisant ainsi à une expression différentielle des sous-unités LH β et FSH β et à la libération de LH et FSH (Stamatiades et Kaiser, 2018).

c. Le rôle essentiel de l'œstradiol

En début de phase folliculaire, les concentrations circulantes d'hormones stéroïdiennes, majoritairement le 17- β -œstradiol ou œstradiol (E2), produites par les follicules restent faibles. L'E2 exerce alors un rétrocontrôle négatif sur le complexe hypothalamo-hypophysaire en inhibant la sécrétion de la GnRH. En fin de phase folliculaire, la concentration d'E2 s'élève jusqu'à atteindre une valeur critique à partir de laquelle le rétrocontrôle devient positif, générant le pic préovulatoire de la LH, qui provoque l'ovulation.

Figure 3. Représentation schématique des régulations de la synthèse et de la sécrétion des hormones gonadotropes LH et FSH durant la phase folliculaire (A.), l'ovulation (B.) et la phase lutéale (C.).



d. Les autres facteurs de régulation de la sécrétion des hormones gonadotropes

À côté du rôle majeur joué par la GnRH et l'oestradiol, d'autres facteurs sont susceptibles de moduler la synthèse et la sécrétion des hormones gonadotropes. Les facteurs de croissance de la famille du « *Transforming Growth Factor β* » (TGF- β), en particulier l'inhibine et l'activine, modulent la synthèse et la libération de la FSH (figure 3). L'inhibine B, produite par les cellules de la granulosa inhibe la sécrétion de la FSH en fin de phase folliculaire. Cette action est essentielle pour la sélection du ou des follicule(s) dominant(s). Pendant la phase lutéale, les corps jaunes sécrètent de l'inhibine A qui réduit la libération de FSH permettant ainsi d'éviter une maturation précoce des follicules. Par ailleurs, la synthèse de FSH est étroitement dépendante de l'activine, produite

dans l'hypophyse. L'absence de ce facteur conduit à une diminution drastique des concentrations de FSH alors que l'injection massive d'activine induit un raccourcissement du cycle œstral et une augmentation des follicules à antrum avec superovulation prématurée (Erickson *et al.*, 1995). L'action de l'activine est modulée par une protéine de liaison, la follistatine mais également par l'inhibine qui l'empêche de se fixer à ses récepteurs. Une fréquence lente des pulses de GnRH favorise la synthèse et la libération d'activine (Dalkin *et al.*, 1999).

■ 2.3. Mécanismes hypothalamiques

Que l'ovulation soit provoquée ou spontanée, elle est déclenchée par le pic de la LH initié par un pic de sécrétion de la GnRH.

a. La GnRH chef d'orchestre du déclenchement de l'ovulation

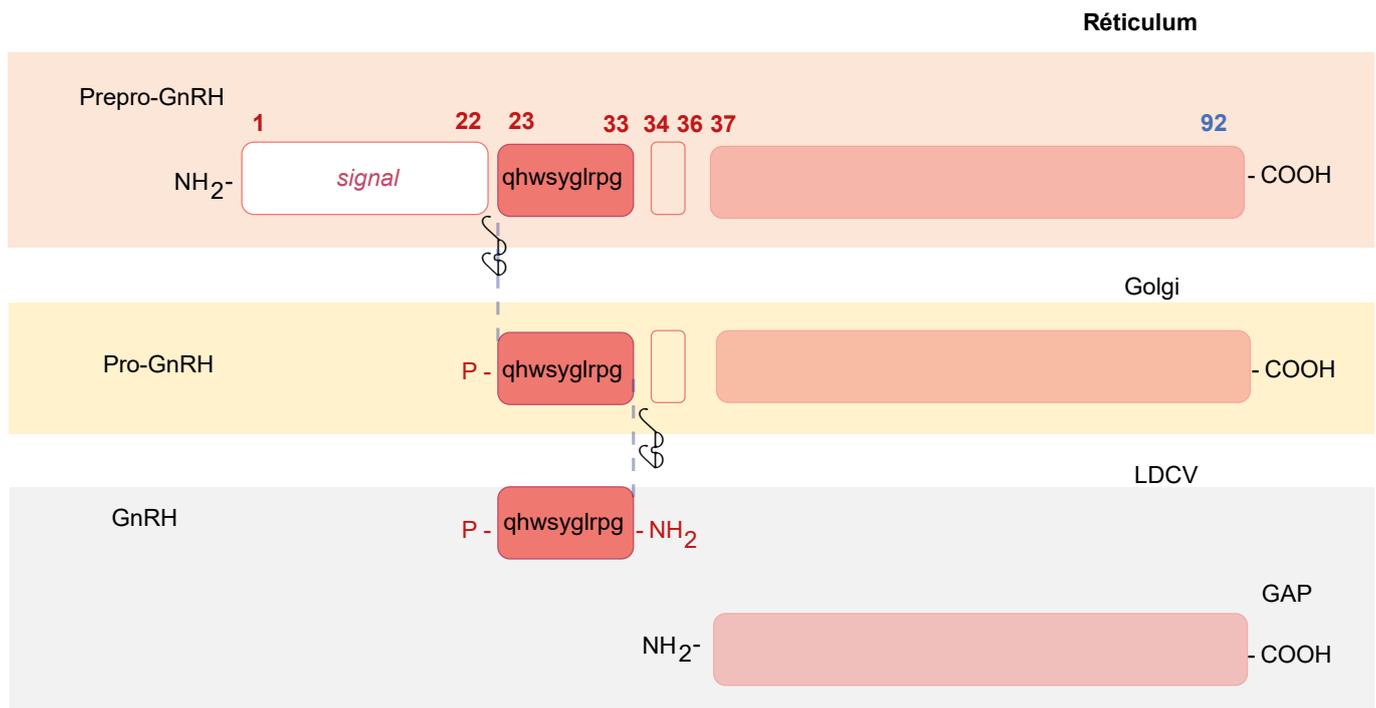
La GnRH est une neuro-hormone peptidique de dix acides aminés dont la séquence est très conservée chez les mammifères (pour revue voir Duittoz et Prévot, 2014). Cette hormone a une conformation particulière en forme de fer à cheval qui est importante pour la liaison avec son récepteur et pour accomplir son activité biologique. La GnRH subit deux modifications post traductionnelles : la cyclisation de la glutamine N-terminale en pyro-glutamine et l'amidation de l'acide glutamique C-terminal (figure 4). Ces deux modifications post traductionnelles empêchent l'action des exopeptidases mais ce peptide reste néanmoins sensible aux endopeptidases capables de le dégrader rapidement. Ainsi la demie vie de la GnRH est inférieure à cinq minutes et sa sécrétion en faible quantité rend sa détection dans le sang périphérique impossible. Les neurones à GnRH se répartissent de façon particulière au sein des structures cérébrales, ils forment un continuum hypothalamique avec une répartition diffuse de l'Aire Pré-Optique (APO) à l'Hypothalamus Ventro-Médian (HVM) (Wray, 2010). Les neurones à GnRH projettent la majorité de leurs axones dans l'éminence médiane (EM), au voisinage des capillaires du système porte hypothalamo-hypophysaire (Duittoz et Prévot, 2014) (figure 5).

En période d'œstrus les fortes concentrations d'E2 induisent le pic de sécrétion de la GnRH qui conduit au pic préovulatoire de LH (Clarke *et al.*, 1989; Moenter *et al.*, 1991) mais les neurones à GnRH n'expriment pas le récepteur α aux œstrogènes impliqué dans le rétrocontrôle positif, cet effet est donc médié par un système intermédiaire.

b. Rôle de la kisspeptine dans le déclenchement de l'ovulation spontanée

La traduction du gène *KISS-1* donne un pré-pro-peptide qui est par la suite coupé en différents peptides allant de 54 acides aminés pour le plus long, à 10 acides aminés pour le plus court. L'ensemble de ces peptides est généralement connu sous le nom

Figure 4. Schéma de synthèse du GnRH.



P = pyro-glutamine ; GAP = « GnRH Associated peptide » ; LDCV = « Large Dense Core Vesicles ».

de kisspeptine (Kp) (figure 6). Le rôle essentiel de la Kp dans le contrôle de la reproduction a été découvert grâce à l'étude de mutations dans le gène *KISS1R* codant le récepteur GPR54, induisant une perte de fonction associée à un hypogonadisme-hypogonadotrope chez des patients infertiles (de Roux *et al.*, 2003). L'administration de Kp chez la brebis entraîne la sécrétion de la GnRH et des gonadotropines LH et FSH (Caraty *et al.*, 2007). La Kp agit directement sur les neurones à GnRH, dont la majorité exprime le récepteur GPR54 et produit une augmentation de leur activité électrique (Messenger *et al.*, 2005). La Kp est sécrétée par deux populations de neurones distinctes localisées l'une dans le noyau arqué (ArcN) et l'autre dans l'APO chez la brebis ou l'aire antéroventrale périventriculaire (AVPV) chez les rongeurs. Les neurones Kp de l'APO/AVPV présentent un dimorphisme sexuel marqué. Chez les mâles on observe que très peu de corps cellulaires dans l'APO/AVPV alors que chez les femelles cette région est riche en neurones exprimant la Kp. Les somas des neurones à GnRH sont majoritairement contactés par les neurones à Kp de l'APO alors que les fibres des neurones à GnRH dans l'EM sont majoritairement contactées par les neurones à Kp des

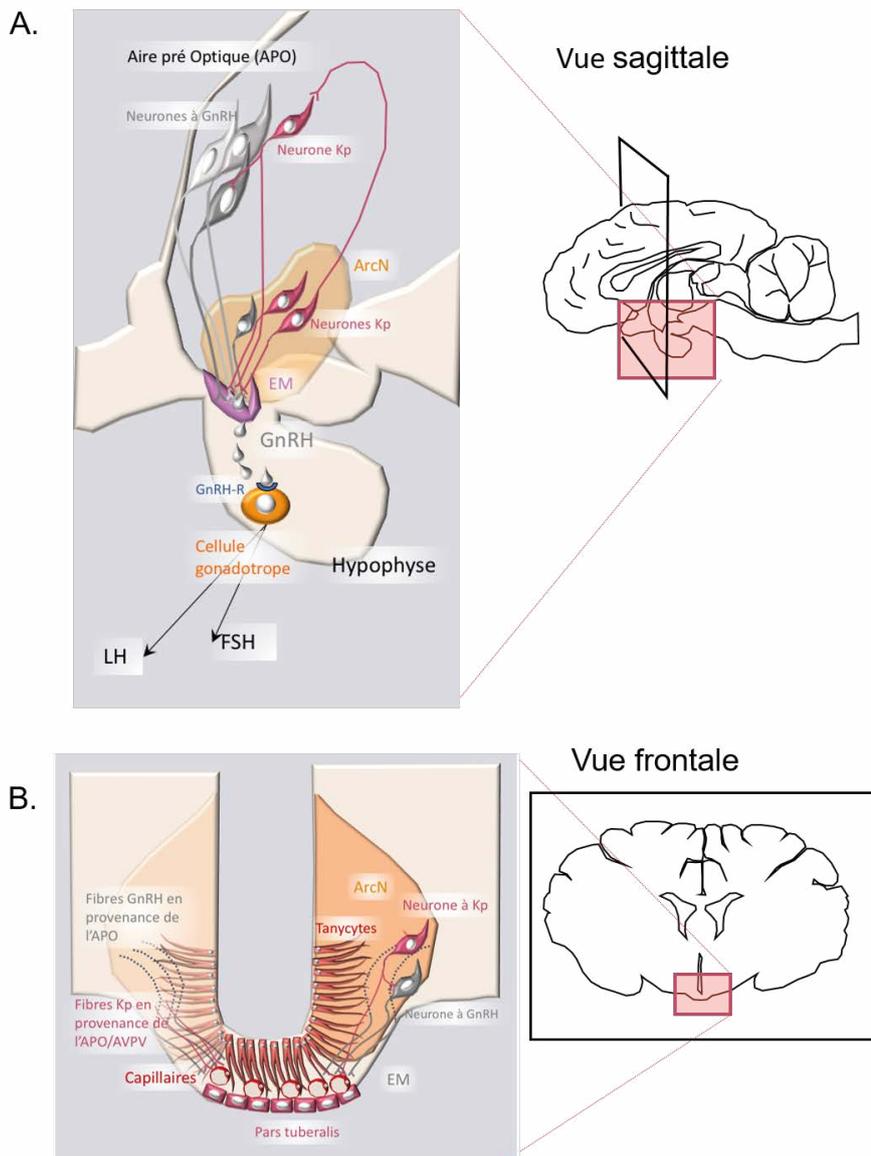
ArcN (Caraty et de Roux, 2014). Les deux populations des neurones à Kp expriment le récepteur α aux œstrogènes, les neurones de l'AVPV/APO assureraient ainsi la transmission du rétrocontrôle positif de l'E2 (Franceschini *et al.*, 2006 ; Smith, 2008).

c. Influence de la photopériode

L'un des signaux environnementaux exerçant un contrôle majeur sur la sécrétion de GnRH est la photopériode. La photopériode désigne les variations de la durée du jour au cours d'une année. Elle sous-tend l'alternance de phase d'activité sexuelle et de repos sexuel chez les espèces dites saisonnées (par exemple, mouton, chèvre, cheval). Ce repère temporel permettant à ces espèces d'anticiper la période de l'année favorable au développement d'un jeune.

Le message lumineux associé à la photopériode est capté par la rétine et transmis par voie nerveuse à la glande pinéale. En absence de lumière, la glande pinéale sécrète la mélatonine, cette sécrétion est inhibée en présence de lumière par la voie nerveuse en provenance de la rétine. La mélatonine n'agit pas directement sur les neurones à GnRH puisque ceux-ci ne possèdent pas le récepteur à la mélatonine de

type 1 (MT1 impliqué dans le contrôle de l'activité de reproduction par les jours longs) (Migaud *et al.*, 2016). Le mécanisme précis de la transmission du message de la mélatonine aux neurones à GnRH n'est pas encore clairement établi. Néanmoins, certains acteurs cruciaux semblent se dégager. La mélatonine module notamment les concentrations locales des hormones thyroïdiennes via un contrôle des déiodinases, enzymes assurant la conversion de l'hormone thyroïdienne thyroxine (T4). Les déiodinases II (Dio II) et III (Dio III) sont respectivement responsables de la conversion de la T4 dans sa forme active triiodo thyronine (T3) ou en des formes inactives diiodo thyronine (T2) et reverse T3 (rT3) (Dardente *et al.*, 2014). Or, les expressions de Dio II et Dio III varient en fonction de la période de l'année. Chez la brebis, Dio II est plus exprimée en saison de reproduction et Dio III en saison de repos sexuel. Ces variations dans l'expression des déiodinase sont elles-mêmes sous la dépendance des variations de la « Thyroid Stimulating Hormone » (TSH) exprimée localement dans la *pars tuberalis* de l'hypophyse. La sécrétion de TSH est connue pour être directement sous la dépendance de la mélatonine dont le récepteur MT1 est fortement exprimé au niveau de la

Figure 5. Neuroanatomie des neurones à GnRH et à Kisspeptine (Kp).

ArcN = noyaux arqués.

pars tuberalis. Deux questions majeures restent cependant sans réponse. La première est quelle est l'importance physiologique véritable de ce mécanisme ? En effet, la voie TSH/deiodinase/T3 induite par les jours longs est présente non seulement chez les animaux qui se reproduisent en jours longs (par exemple, hamster, caille...) mais aussi chez les animaux qui se reproduisent en jours courts (par exemple, mouton) et chez les animaux non saisonnés (par exemple, souris). La deuxième question est comment les variations locales de T3 dans l'hypothalamus mediobasal contrôlent la sécrétion de GnRH ? Plusieurs études soulignent le rôle de populations de neurones exprimant des peptides de type RF-amide : le

noyau arqué avec les neurones Kp et l'hypothalamus ventromédian et dorsomédian où on trouve des neurones exprimant le RFRP-3 (connu aussi sous le nom de « gonadotropin-inhibitory hormone », GnIH) (Dardente et al., 2014). Les neurones Kp pourraient ainsi représenter un lien entre les variations des taux d'hormone thyroïdienne et le fonctionnement de l'axe reproducteur. La T3 agirait en bloquant le dialogue œstrogènes/Kp essentiel pour la sécrétion de GnRH (Dardente, 2011 ; figure 7).

d. Importance de l'environnement glial

Les neurones à GnRH sont en étroite association avec les tanycytes, un type de cellules gliales particulier qui

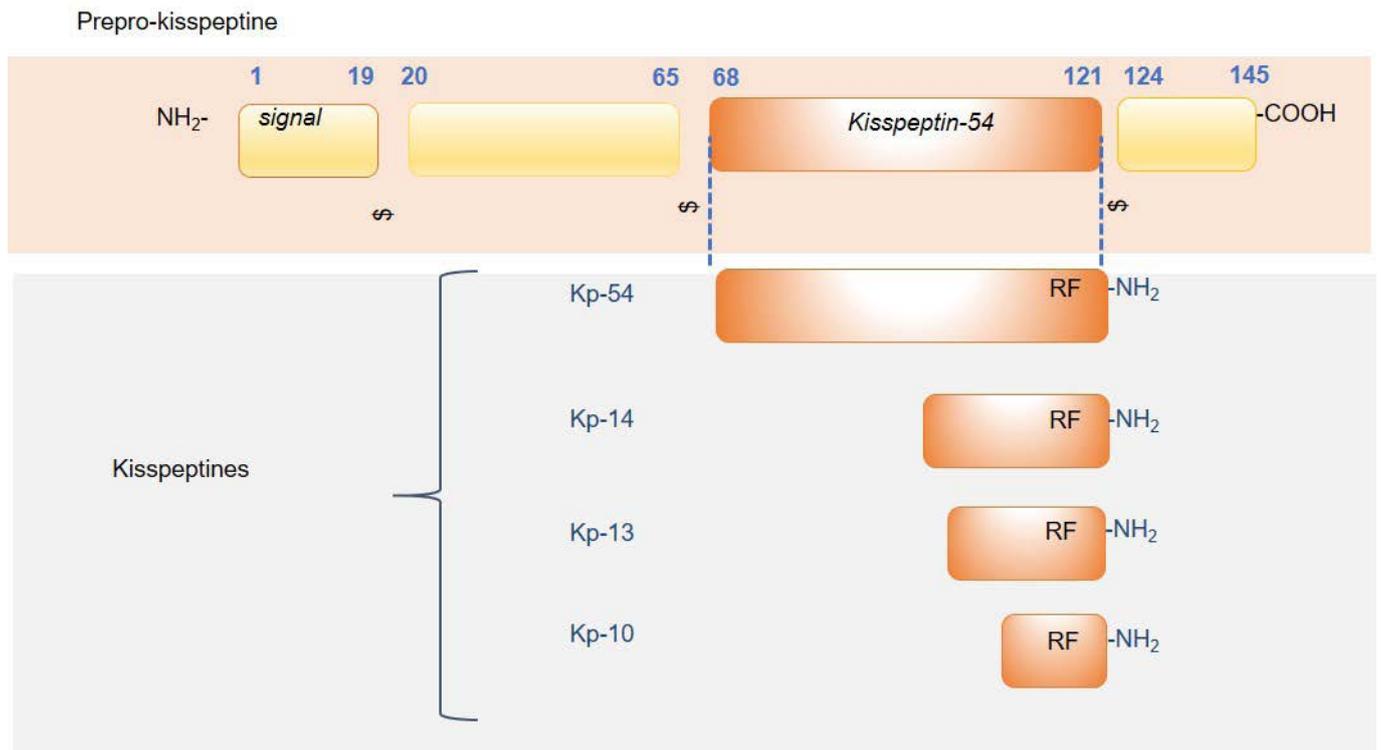
borde le troisième ventricule et l'éminence médiane. Les tanycytes subissent des changements structuraux au cours du cycle ovarien, en particulier, ils rétractent leurs prolongements ou pieds tanycytaires permettant un contact direct des terminaisons axonales des neurones à GnRH avec les vaisseaux sanguins du système porte hypothalamo-hypophysaire ce qui favoriserait la diffusion de la GnRH dans le sang (Prévoit et al., 1999). Ces changements dans la morphologie des tanycytes dépendent de la production de monoxyde d'azote (NO) par les cellules endothéliales (de Seranno et al., 2010). L'E2 entraîne la rétractation des prolongements des tanycytes notamment en stimulant l'expression d'eNOS (endothelial nitrite oxyde synthase) dans les cellules endothéliales. Par ailleurs, l'E2 agit aussi directement sur les tanycytes en stimulant l'expression des cyclooxygénases COX-1 et COX-2, stimulant la production et la sécrétion de la prostaglandine E2 (PGE2) qui stimule l'activité électrique des neurones à GnRH (Clasadonte et al., 2011). D'autres facteurs comme, les neurégulines et le Transforming Growth Factor α (TGF- α) via leurs récepteurs erbB1 et erbB2 présents sur les tanycytes, stimulent l'expression des COX et la production de PGE2 (Prévoit et al., 2010).

Les cellules gliales du microenvironnement des neurones à GnRH sont couplées entre elles via des jonctions gap. Le blocage de la communication par les jonctions gap entre cellules gliales provoque une importante diminution de la sécrétion pulsatile de la GnRH suggérant qu'à l'état basal la communication via des jonctions gap des cellules gliales est indispensable pour une sécrétion adéquate de GnRH. (Pinet-Charvet et al., 2016).

e. Rôle du « beta Nerve Growth Factor » dans l'ovulation

Chez certains mammifères à ovulation provoquée comme le lama, l'alpaga et le dromadaire, l'ovulation est déclenchée par un facteur présent dans le plasma séminal : l'OIF (voir pour revue Adams et al., 2016). Chez les alpagas, l'administration d'OIF (1 mg équivalent β -NGF) par voie intramusculaire provoque l'ovulation par un mécanisme

Figure 6. Schéma de synthèse de la kisspeptine.



impliquant la sécrétion de la GnRH (Silva *et al.*, 2011). D'autres études, suggèrent que l'OIF est aussi présent chez des espèces de rente à ovulation spontanée. En effet, l'injection intramusculaire de plasma séminal de taureau, d'étalon et de verrat à des femelles lama, provoquent l'ovulation de celles-ci dans respectivement 26, 29 et 18 % des cas, suggérant que le plasma séminal de ces espèces contient aussi des molécules ayant une activité de type OIF (Bogle *et al.*, 2011).

L'analyse protéomique du plasma séminal d'alpaga a permis d'identifier la nature chimique de l'OIF qui correspond au « *β-Nerve Growth Factor* » (β -NGF) (Kershaw-Young *et al.*, 2012, Ratto *et al.*, 2012). Le β -NGF est une neurotrophine identifiée par Rita Levi-Montalcini (prix Nobel de Physiologie en 1986). Le β -NGF a deux types de récepteurs, TrkA et P75^{NTR}. Le β -NGF joue un rôle dans la survie, la prolifération et la différenciation des neurones (pour revue Levi-Montalcini *et al.*, 1996).

Tout comme la Kp, le β -NGF pourrait jouer son rôle dans l'induction de l'ovulation en stimulant la sécrétion de la GnRH. En support de cette hypothèse,

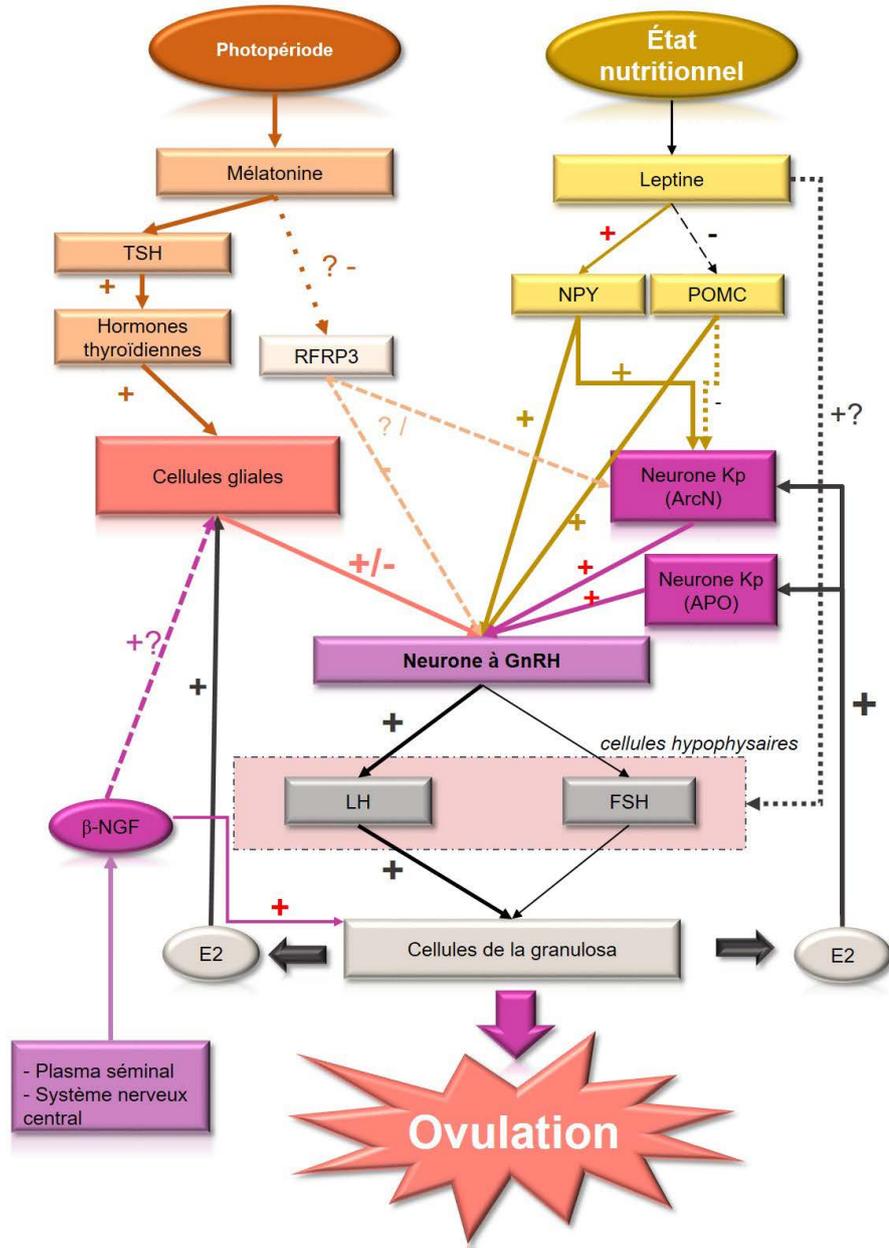
des études *in vitro* réalisées sur des neurones à GnRH de souris en culture primaire montrent que le β -NGF est capable d'induire une augmentation de l'activité électrique des neurones à GnRH (Pinet-Charvet et Duittoz, 2015).

f. Rôle de la leptine

L'état corporel et métabolique joue aussi un rôle dans la sécrétion de la GnRH et dans l'induction de l'ovulation. De nombreuses études mettent aujourd'hui en évidence que la fertilité est étroitement liée à l'état nutritionnel de l'organisme (Dupont *et al.*, 2014). Cela fait plus de 50 ans que l'on connaît le lien entre le poids et l'état corporel et le déclenchement de la puberté chez la génisse ou bien la fertilité post-partum chez la vache, pour revue (D'Occhio *et al.*, 2019). Nombreux sont les facteurs métaboliques qui ont été mis en évidence pour influencer soit directement les follicules ovariens ou indirectement *via* la régulation de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique. Deux acteurs principaux sont de nature hormonale et ont été découverts durant les 20 dernières années, la leptine qui est sécrétée par le tissu adipeux et la ghréline qui est sécrétée par l'estomac.

L'information sur l'état des réserves lipidiques d'un individu est médiée principalement par la leptine. Cette hormone est connue pour agir sur les gonades et les cellules hypophysaires. Elle semble aussi jouer un rôle sur la sécrétion de la GnRH mais de façon indirecte. Les neurones à GnRH n'exprimant pas le récepteur à la leptine, elle pourrait agir *via* les neurones à Kp. En effet les neurones à Kp expriment le récepteur à la leptine (Backholer *et al.*, 2010; Hausman *et al.*, 2012). D'autres neurones peuvent jouer ce rôle, chez la brebis et les rongeurs, les neurones à Neuropeptide Y (NPY) de l'ArcN établissent des contacts synaptiques sur les corps cellulaires de neurones à GnRH (Norgren et Lehman, 1989; Tillet *et al.*, 1989). Le NPY peut avoir des effets stimulateurs ou inhibiteurs sur l'activité des neurones à GnRH, respectivement *via* les récepteurs Y4 et Y1, (Roa et Herbison, 2012). Ces neurones à NPY expriment des récepteurs à la leptine et sont impliqués dans le contrôle de la balance énergétique (Baskin *et al.*, 1999) (figure 7). La ghréline est sécrétée par l'estomac agit sur l'hypothalamus, sa sécrétion induit la sensation de faim. Elle agit directement sur les neurones à GnRH en diminuant leur activité (Farkas *et al.*, 2013).

Figure 7. Schéma général de la régulation de l'axe gonadotrope.



■ 2.4. Maîtrise de l'ovulation

Nous ne traiterons pas ici de la détection du moment de l'ovulation mais nous focaliserons sur les méthodes utilisées pour l'induction de l'ovulation chez différentes espèces ainsi que sur des pistes de développement de nouveaux paradigmes.

a. Méthodes actuelles

On peut distinguer deux grandes méthodes selon la cible des substances utilisées : ovaire et complexe hypothalamo-hypophysaire (figure 8).

b. Action au niveau ovarien

Physiologiquement, la LH qui provoque l'ovulation en favorisant la rupture de la paroi du follicule par des mécanismes cellulaires et moléculaires décrits ci-dessus. Cependant la LH a une demi-vie plasmatique courte (moins de deux heures, sauf chez la jument). La LH n'est donc pas utilisée en pratique. Cependant il existe dans les espèces humaine et équine, des hormones placentaires à activité LH, l'hCG (« human Chorionic Gonadotropin ») et l'eCG (« equine Chorionic Gonadotropin »). L'hCG est produite par les cellules trophoblastiques, ses modifications post-traductionnelles lui confèrent une

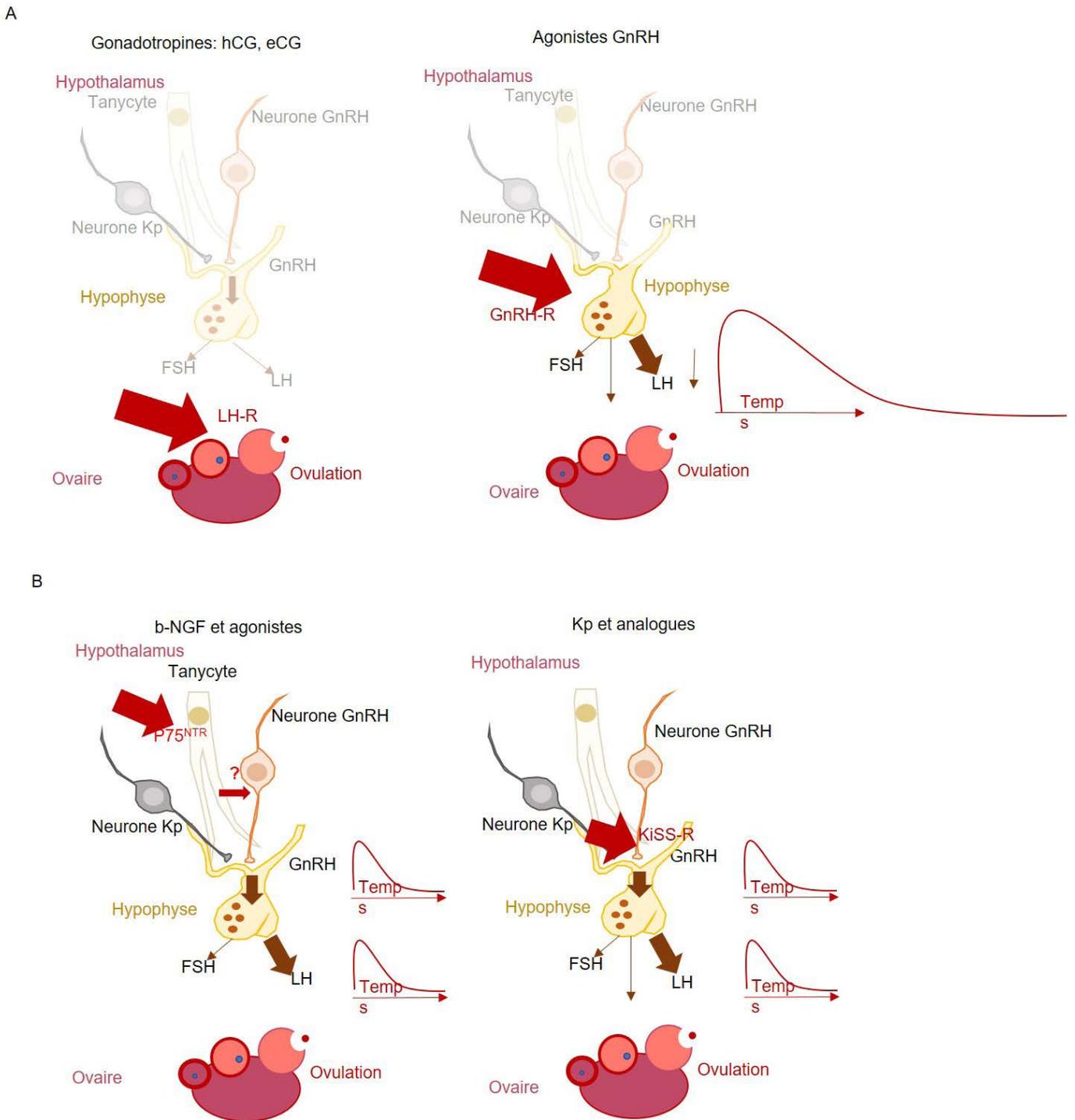
demi-vie longue entre 24 et 48 heures. Ainsi l'hCG a fait l'objet d'une autorisation de mise sur le marché pour l'induction de l'ovulation chez les mammifères d'élevage (équins, bovins, ovins, caprins, porcins, chiens et chats) sous le nom de Chorulon®. Cependant l'hCG n'a pas la même séquence que la LH des espèces concernées et de ce fait l'organisme va développer des anticorps qui vont bloquer l'activité de l'hCG lors de réutilisation. Par ailleurs, l'hCG induit une hyperstimulation ovarienne qui n'est pas physiologique. L'eCG a une activité LH chez la jument mais elle présente une activité de type FSH chez les autres espèces. Elle est utilisée sous son ancien nom, PMSG (« Pregnant Mare Serum Gonadotropin », e.g. Chrono Gest®) pour stimuler la croissance folliculaire après une synchronisation des femelles par des progestagènes (fluorogestone e.g. Synchropart®). L'ovulation intervient spontanément suite au développement de follicules préovulatoires. Cette méthode est utilisée lors de monte naturelle ou d'IA en semence fraîche principalement chez les petits ruminants. L'utilisation de l'eCG pose le même problème que ce d'hCG, à savoir des injections répétées favorisent l'apparition d'anticorps et l'inefficacité de stimulation ultérieure. Par ailleurs, le mode de production de l'eCG qui implique la saignée de juments gestantes que l'on fait avorter, soulève des problèmes éthiques qui ont récemment fait écho dans les médias européens. En ce qui concerne l'hCG, elle est purifiée à partir d'urine de femmes enceintes et ne pose pas de problèmes éthiques particuliers.

c. Action au niveau hypothalamo-hypophysaire

• Agonistes GnRH

Les agonistes de la GnRH vont agir sur les récepteurs GnRH exprimés par les cellules gonadotropes et induire la sécrétion de LH et de FSH. Cette stimulation peut entraîner une sécrétion très importante de la LH car les stocks de LH dans l'hypophyse sont largement supérieurs à la quantité de LH mobilisée lors d'un phénomène de stimulation physiologique par la GnRH endogène. Les agonistes de la GnRH sont des dérivés peptidiques de

Figure 8. Méthodes actuellement utilisées pour la maîtrise de l'ovulation (A) et nouveaux paradigmes (B).



A. Principes des méthodes actuelles. Les gonadotropines hCG ou eCG agissent directement sur le follicule dominant pour induire l'ovulation. Les agonistes GnRH agissent sur l'hypophyse en stimulant la sécrétion de LH.

B. Nouveaux paradigmes. Le β -NGF agit au niveau hypothalamique en amont des neurones à GnRH par un mécanisme encore inconnu. La Kp agit au niveau hypothalamique en stimulant les neurones à GnRH.

la GnRH modifiés de manière à prolonger la demi-vie plasmatique. Parmi ces composés, seuls deux ont une AMM vétérinaire en France, la deslorelin (Ovuplant®) et la buséreline (Receptal®). La structure chimique de ces agonistes étant basée sur la chaîne d'acides

aminés de la GnRH, la probabilité qu'ils induisent une réaction immunitaire est très faible et d'ailleurs aucun effet de ce type a été rapporté dans la littérature. Ces composés doivent être utilisés avec précaution, car si leur durée d'action est trop longue, on assiste à

une désensibilisation de l'hypophyse qui ne répondra plus à la GnRH endogène. Si à la suite d'une induction de l'ovulation par la pose d'un implant de deslorelin, l'insémination n'est pas suivie de fécondation, on assistera alors à un allongement du cycle suivant. La

deslorelin sous forme d'implant est d'ailleurs utilisée pour induire un état d'anœstrus chez les génisses afin de les synchroniser (Padula, 2005), mais aussi chez le chien et l'étalon pour obtenir une castration chimique. Dans l'espèce humaine, la goséreline, la triptoréline et la leucoproréline, trois agonistes GnRH sont utilisées par voie injectable ou orale pour induire une castration chimique et la baisse des taux d'oestrogènes circulants dans le traitement d'appoint des tumeurs du sein oestrogéno-dépendantes. Ainsi, l'utilisation des agonistes GnRH pour induire l'ovulation peut être délicate : une dose trop importante, ou une libération prolongée de durée trop longue, peut aboutir à un effet contraire à celui recherché.

• Œstrogènes

L'administration d'une forte dose d'E2 induit l'ovulation. Le mécanisme implique à la fois un effet au niveau hypothalamique et au niveau hypophysaire. L'E2 à forte dose exerce un rétrocontrôle positif sur l'hypothalamus et aboutit à la sécrétion massive de la GnRH. Il exerce un rétrocontrôle positif sur l'hypophyse en potentialisant la sécrétion de la LH. Malheureusement, l'utilisation d'E2 ou d'analogues pose de nombreux problèmes pour l'environnement. En effet, les analogues utilisés sont peu dégradables dans l'organisme et sont éliminés sous forme active. Ils s'accumulent dans les eaux de surface et ne sont pas forcément éliminés dans les usines de retraitement de l'eau. La contamination œstrogénique des cours d'eau est un problème environnemental majeur. L'utilisation d'œstrogènes pour la maîtrise de la reproduction est interdite en Europe depuis 2003 (Directive 2003/74/CE du Parlement européen). Néanmoins leur utilisation hors Europe se développe, en particulier dans des protocoles sans détection de chaleur et d'IA programmée (Torres-Júnior *et al.*, 2014).

■ 2.5 Nouveaux paradigmes pour la maîtrise de l'ovulation

Les méthodes d'induction de l'ovulation actuelles utilisent des mécanismes en aval du contrôle principal de

l'ovulation situé dans l'hypothalamus. Ces méthodes bien qu'étant efficaces, posent différents problèmes qui ont été décrits plus haut. Dans la recherche de nouvelles méthodes d'induction de l'ovulation, les objectifs à atteindre sont les suivants : recherche d'une stimulation physiologique évitant l'hyperstimulation ovarienne et/ou hypophysaire, facilité d'utilisation (une seule administration), robustesse de l'effet d'induction, absence d'impacts négatifs sur l'environnement, la santé et le bien-être de l'animal. Nous ne prendrons en considération que deux possibilités qui nous semblent particulièrement intéressantes et qui ciblent l'étage hypothalamique (figure 8).

a. Stimulation de la sécrétion de GnRH par la Kp

Chez les espèces à ovulation spontanée, le moment de l'ovulation est déclenché par une stimulation des neurones à GnRH par la Kp. Dans des protocoles de fécondation *in vitro* la Kp54 a été utilisée avec succès pour induire la maturation des oocytes lors de l'utilisation d'un protocole standard de superovulation (Jayasena *et al.*, 2014). Les études sur les animaux d'élevage ont pour le moment focalisé sur la brebis avec des résultats prometteurs. Pendant la saison de repos sexuelle une perfusion de Kp10 d'une durée égale ou supérieure à 24 heures est capable de réactiver l'axe hypothalamo-hypophyse-gonade et de déclencher une ovulation (Caraty *et al.*, 2007). Plus récemment nous avons développé un analogue de la Kp10, appelé C6, avec un profil pharmacologique amélioré (Beltramo *et al.*, 2015). Une seule injection intramusculaire de C6 est capable, suite à un prétraitement avec un analogue de la progestérone, d'induire des pics pré-ovulatoire de LH et des ovulations fertiles chez la brebis (Decourt *et al.*, 2016a). Ces résultats confirment qu'il est possible de maîtriser la reproduction en agissant directement sur les neurones à GnRH avec des analogues de la Kp.

b. Stimulation de la sécrétion de GnRH par le β -NGF

Chez les camélidés, espèces à ovulation provoquée, le β -NGF est l'élément déclencheur de l'ovulation. Néanmoins il semble que le β -NGF soit aussi capable

d'induire l'ovulation chez les mammifères à ovulation spontanée. Ainsi, l'administration de plasma séminal d'alpaga à des souris prépubères dans un protocole de stimulation ovarienne permet d'induire l'ovulation (Bogle *et al.*, 2011). Le β -NGF augmente la sécrétion de la LH et améliore le fonctionnement du corps jaune chez les bovins (Tribulo *et al.*, 2015). Chez une autre espèce à ovulation provoquée, le lapin, des travaux récents montrent la coexistence de deux mécanismes (Maranesi *et al.*, 2018). Le premier implique le β -NGF du plasma séminal et le second suppose la production de β -NGF par l'utérus, ce dernier agirait sur les fibres sensibles viscérales qui expriment le récepteur TrkA, et qui enverraient un signal, pour l'instant non identifié, à l'hypothalamus. Bien que les mécanismes impliqués dans les effets du β -NGF sur l'ovulation ne soient pas encore éclaircis, les résultats montrent l'intérêt de poursuivre cette piste. Par ailleurs, un point important pour pouvoir continuer l'exploration du potentiel du β -NGF pour maîtriser la reproduction en élevage, sera la création d'agoniste de synthèse de petite taille qui permettront de rendre économiquement faisable l'utilisation de cette stratégie. Les premiers pas dans cette direction ont été fait par exemple avec la synthèse de petites molécules comme le LM11A-31 (Massa *et al.*, 2006) et le BNN27 (Pediaditakis *et al.*, 2016).

Conclusion

Les mécanismes du déclenchement de l'ovulation sont universels chez les mammifères, ils impliquent la sécrétion de la neurohormone GnRH qui va stimuler la sécrétion de LH qui conduit à l'ovulation du ou des follicules dominants. Cependant, les mécanismes qui déterminent le moment de l'ovulation, c'est-à-dire ceux qui contrôlent l'augmentation de la sécrétion de GnRH, sont complexes et différent entre les espèces en particulier selon le mode d'ovulation : spontanée ou provoquée. Les méthodes actuelles d'induction de l'ovulation agissent en aval de l'étage hypothalamique et ciblent, soit directement l'ovaire comme lors de l'utilisation d'hCG ou d'eCG, ou bien

l'hypophyse avec l'utilisation d'agonistes GnRH. Outre les problèmes de développement d'anticorps suite à l'utilisation de gonadotropines hétérologues, les hormones gonadotropes et les agonistes GnRH entraînent une stimulation supra-physiologique de l'ovaire ou de l'hypophyse. Par ailleurs, dans le cas de l'eCG, le mode de production de cette hormone par des juments gestantes pose des problèmes éthiques relayés par des associations de

défense des animaux et par les *media* européens. Les nouveaux paradigmes pour le déclenchement de l'ovulation ciblent l'étage hypothalamique et la régulation de l'activité des neurones à GnRH, permettant le déclenchement physiologique de l'ovulation. Le C6, un agoniste de la Kp, permet l'induction de l'ovulation chez les petits ruminants après une seule administration. Plusieurs avantages potentiels seraient liés à son utilisation : absence

d'hyperstimulation, utilisation d'une dose faible générant peu ou pas de résidus libérés dans l'environnement, manque d'activité après ingestion qui est la voie classique de contamination des perturbateurs endocriniens. En ce qui concerne le β -NGF, la littérature scientifique est moins abondante, mais il offre de belles perspectives chez des espèces pour lesquelles la Kp n'est pas ou est moins efficace, comme dans le cas de la jument.

Références

- Adams G.P., Ratto M.H., Silva M.E., Carrasco R.A., 2016. Ovulation-inducing factor (OIF/NGF) in seminal plasma: a review and update. *Reprod. Domest. Anim.*, 51, Suppl 2, 4-17.
- Backholer K., Smith J., Rao A., Pereira A., Iqbal J., Ogawa S., Li Q., Clarke I., 2010. Kisspeptin Cells in the Ewe Brain Respond to Leptin and Communicate with Neuropeptide Y and Proopiomelanocortin Cells. *Endocrinol.*, 151, 2233-2243.
- Baskin D.G., Hahn T.M., Schwartz M.W., 1999. Leptin sensitive neurons in the hypothalamus. *Horm. Metab. Res.*, 31, 345-350.
- Beers W.H., Strickland S., Reich E., 1975. Ovarian plasminogen activator: relationship to ovulation and hormonal regulation. *Cell*, 6, 387-394.
- Beltramo M., Robert V., Galibert M., Madinier J.-B., Marceau P., Dardente H., Decourt C., De Roux N., Lomet D., Delmas A.F., Caraty A., Aucagne V., 2015. Rational design of triazololipeptides analogs of kisspeptin inducing a long-lasting increase of gonadotropins. *J. Med. Chem.*, 58, 3459-3470.
- Bogle O.A., Ratto M.H., Adams G.P., 2011. Evidence for the conservation of biological activity of ovulation-inducing factor in seminal plasma. *Reprod.*, 142, 277-283.
- Brännström M., Wang L., Norman R.J., 1993. Ovulatory effect of interleukin-1 beta on the perfused rat ovary. *Endocrinol.*, 132, 399-404.
- Brooks J., Struthers W.J., McNeilly A.S., 1993. GnRH-dependent and -independent components of FSH secretion after acute treatment of anoestrous ewes with ovine follicular fluid and a GnRH antagonist. *J. Reprod. Fertil.*, 98, 591-595.
- Caraty A., de Roux N., 2014. Kisspeptines et contrôle de la libération de GnRH. In : *La reproduction animale et humaine*. Saint-Dizier M., Chastant-Maillard S. (Ed). Quae Édition, Paris, France, 171p.
- Caraty A., Martin G.B., Montgomery, G., 1984. A new method for studying pituitary responsiveness in vivo using pulses of LH-RH analogue in ewes passively immunized against native LH-RH. *Reprod. Nut. Dev.*, 24, 439-448.
- Caraty A., Fabre-Nys C., Delaleu B., Locatelli A., Bruneau G., Karsch F.J., Herbison A., 1998. Evidence that the mediobasal hypothalamus is the primary site of action of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinol.*, 139, 1752-1760.
- Caraty A., Smith J.T., Lomet D., Ben Saïd S., Morrissey A., Cognie J., Doughton B., Baril G., Briant C., Clarke I.J., 2007. Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinol.*, 148, 5258-5267.
- Chevrier L., Guimiot F., de Roux N., 2011. GnRH receptor mutations in isolated gonadotropin deficiency. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 346, 21-28.
- Clarke I.J., Cummins J.T., Jenkin M., Phillips D.J., 1989. The estrogen-induced surge of LH requires a "signal" pattern of gonadotrophin-releasing hormone input to the pituitary gland in the ewe. *J. Endocrinol.*, 122, 127-134.
- Clasadonte J., Poulain P., Hanchate N.K., Corfas G., Ojeda S.R., Prevot V., 2011. Prostaglandin E2 release from astrocytes triggers gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neuron firing via EP2 receptor activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 108, 16104-16109.
- Curry T.E., Smith M.F., 2006. Impact of extracellular matrix remodeling on ovulation and the folliculo-luteal transition. *Sem. Reprod. Med.*, 24, 228-241.
- Dalkin A.C., Haisenleder D.J., Ortolano G.A., Ellis T.R., Marshall J.C., 1989. The frequency of gonadotropin-releasing-hormone stimulation differentially regulates gonadotropin subunit messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology*, 125, 917-924.
- Dalkin A.C., Haisenleder D.J., Gilrain J.T., Aylor K., Yasin M., Marshall J.C., 1999. Gonadotropin-releasing hormone regulation of gonadotropin subunit gene expression in female rats: actions on follicle-stimulating hormone beta messenger ribonucleic acid (mRNA) involve differential expression of pituitary activin (beta-B) and follistatin mRNAs. *Endocrinol.*, 14, 903-908.
- Dardente H., 2011. Melatonin-dependent timing of seasonal reproduction by the pars tuberalis: Pivotal Roles for Long Daylengths and Thyroid Hormones. *J. Neuroendocrinol.*, 24, 249-266.
- Dardente H., Hazlerigg, D., Ebling, F., 2014. Thyroid hormone and seasonal rhythmicity. *Front. Endocrinology*, 5, 1-11.
- Decourt C., Robert V., Anger K., Galibert M., Madinier J., Liu X., Dardente H., Lomet D., Delmas A., Caraty A., Herbison A., Anderson G., Aucagne V., Beltramo M., 2016. A synthetic kisspeptin analog that triggers ovulation and advances puberty. *Sci. Rep.*, 6, 1-10.
- de Roux N., Genin E., Carel J.C., Matsuda F., Chaussain J.L., Milgrom E., 2003. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 100, 10972-10976.
- de Seranno S., d'Anglemont de Tassigny X., Estrella C., Loyens A., Kasparov S., Leroy D., Ojeda S.R., Beauvillain J.C., Prevot V., 2010. Role of Estradiol in the Dynamic Control of Tanycyte Plasticity Mediated by Vascular Endothelial Cells in the Median Eminence. *Endocrinol.*, 151, 1760-1772.
- D'Occhio M.J., Baruselli P.S., Campanile G., 2019. Influence of nutrition, body condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review. *Theriogenology*, 125, 277-284.
- Driancourt M.A., Fréret S., Saint-Dizier M., 2014. Les cycles oestriens. In : *La reproduction animale et humaine*. Saint-Dizier M., Chastant-Maillard S. (Eds). Quae Édition, 219p.
- Duittoz A., Prévot V., 2014. GnRH, structure développement des neurones à GnRH, neuroanatomie et sécrétion. In : *La reproduction animale et humaine*. Saint-Dizier M., Chastant-Maillard S. (Ed). Quae Édition, Paris, France, 149p.
- Dupont J., Froment P., Uzbekova S., Elis S., Guillaume D., Maillard V., 2014. Les interactions entre métabolisme et reproduction. In : *La reproduction animale et humaine*. Saint-Dizier M., Chastant-Maillard S. (Ed), Quae Édition, Paris, France, 475p.
- Erickson G.F., Kokka, S., Rivier, C., 1995. Activin causes premature superovulation. *Endocrinology*, 136, 4804-4813.
- Farkas I., Vastagh C., Sárvári M., Liposits Z., 2013. Ghrelin decreases firing activity of Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Neurons in an Estrous

- Cycle and Endocannabinoid Signaling Dependent Manner. *PLoS ONE*, 8, e78178.
- Franceschini I., Lomet D., Cateau M., Delsol G., Tillet Y., Caraty A., 2006. Kisspeptin immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate nucleus co-express estrogen receptor alpha. *Neurosci. Lett.*, 401, 225-230.
- Gérard N., Caillaud M., Martoriati A., Goudet G., Lalmanach, A.C., 2004. The interleukin-1 system and female reproduction. *J. Endocrinol.*, 180, 203-212.
- Hausman G.J., Barb C.R., Lents C.A., 2012. Leptin and reproductive function. *Biochimie*, 94, 2075-2081.
- Heape W., 1900. The "sexual season" of mammals and the relation of the "prooestrus" to menstruation. *Q.J. Microsc. Sci.*, 44, 11-70.
- Jayasena C., Abbara A., Comninos A., Nijher G., Chrisopoulos G., Narayanaswamy S., Izzi-Engbeaya C., Sridharan M., Mason A., Warwick J., Ashby D., Ghatel M.A., Bloom S.R., Carby A., Trew G.H., Dhillon W.S., 2014. Kisspeptin-54 triggers egg maturation in women undergoing in vitro fertilisation. *J. Clin. Invest.*, 124, 3667-3677.
- Katt J.A., Duncan J.A., Herbon L., Barkan A., Marshall J.C., 1985. The frequency of gonadotropin-releasing hormone stimulation determines the number of pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors. *Endocrinology*, 116, 2113-2115.
- Kershaw-Young C.M., Druart X., Vaughan, J., Maxwell, W.M.C., 2012. β -Nerve growth factor is a major component of alpaca seminal plasma and induces ovulation in female alpacas. *Reprod. Fert. Dev.*, 24, 1093-1097.
- Levi-Montalcini R., Skaper S.D., Dal Toso R., Petrelli L., Leon A., 1996. Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokine. *Trends in Neurosci.*, 19, 514-520.
- Maranesi M., Petrucci L., Leonardi L., Piro F., Rebollar P.G., Millán P., Cocci P., Vullo C., Gonzales-Mariscal A.M.G., Boiti C., Zerani, M., 2018. New insights on a NGF-mediated pathway to induce ovulation in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Biol. Reprod.*, 98, 634-643.
- Martinat-Botté F., Forgerit Y., Maurel M.-C., Corbé H., Bernelas D., Mercat M.J., Guilloué P., Terqui M., 1997. Etude des moments d'ovulation et d'insémination chez la truie et leurs conséquences sur la taille de la portée en élevage. *Journées de recherche porcine en France*, 29, 103-108.
- Martoriati A., Duchamp G., Gérard N., 2003. In vivo effect of epidermal growth factor, interleukin-1beta, and interleukin-1RA on equine preovulatory follicles. *Biol. Reprod.*, 68, 1748-1754.
- Massa S.M., Xie Y., Yang T., Harrington A.W., Kim M.L., Yoon S.O., Kraemer R., Moore L.A., Hempstead B.L., Longo F.M., 2006. Small, nonpeptide p75NTR ligands induce survival signaling and inhibit proNGF-induced death. *J. Neurosci.*, 26, 5288-5300.
- Messenger S., Chatzidaki E.E., Ma D., Hendrick A.G., Zahn D., Dixon J., Thresher R.R., Malinge I., Lomet D., Carlton M.B., Colledge W.H., Caraty A., Aparicio S.A.J.R., 2005. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 1761-1766.
- Migaud M., Dardente H., Keller M., Batailler M., Meurisse M., Pillon D., 2016. Le contrôle neuroendocrinien de la reproduction chez les mammifères. *INRA Prod. Anim.* 29, 255-266.
- Moenter S.M., Caraty A., Locatelli A., Karsch F.J., 1991. Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge. *Endocrinology*, 129, 1175-1182.
- Molter-Gérard C., Fontaine J., Guérin S., Taragnat C., 1999. Differential regulation of the gonadotropin storage pattern by gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in the ewe. *Biol. Reprod.*, 60, 1224-1230.
- Noden P.A., Oxender W.D., Hafs H.D., 1975. The cycle of oestrus, ovulation and plasma levels of hormones in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, 23, 189-192.
- Norgren R.B., Lehman M.N., 1989. A double-label pre-embedding immunoperoxidase technique for electron microscopy using diaminobenzidine and tetramethylbenzidine as markers. *J. Histochem. Cytochem.*, 37, 1283-1289.
- Padula A., 2005. GnRH analogues--agonists and antagonists. *Anim. Reprod. Sci.*, 88, 115-126.
- Pediaditakis I., Kourgiantaki A., Prousis K.C., Potamitis C., Xanthopoulos, K.P., Zervou M., Calogeropoulou T., Charalampopoulos I., Gravanis A., 2016. BNN27, a 17-spiroepoxy steroid derivative, interacts with and activates p75 neurotrophin receptor, rescuing cerebellar granule neurons from Apoptosis. *Front. Pharmacol.*, 7, 512.
- Pinet-Charvet C., Duittoz A., 2015. beta-NGF regulates GnRH neuronal activity. Abstract Joint Meeting BSN and SNE, Lille, France, p25.
- Pinet-Charvet C., Geller S., Desroziers E., Ottogalli M., Lomet D., Georgelin C., Tillet Y., Franceschini I., Vaudin P., Duittoz A., 2016. GnRH episodic secretion is altered by pharmacological blockade of gap junctions: Possible involvement of glial cells. *Endocrinology*, 157, 304-322.
- Piquette G.N., Lapolt P.S., Oikawa, M., Hsueh A.J.W., 1991. Regulation of Luteinizing Hormone Receptor Messenger Ribonucleic Acid Levels by Gonadotropins, Growth Factors, and Gonadotropin-Releasing Hormone in Cultured Rat Granulosa Cells. *Endocrinol.*, 128, 2449-2456.
- Prévoit V., Croix D., Bouret S., Dutoit S., Tramu G., Stefano G.B., Beauvillain J.C., 1999. Definitive evidence for the existence of morphological plasticity in the external zone of the median eminence during the rat estrous cycle: implication of neuro-glio-endothelial interactions in gonadotropin-releasing hormone release. *Neurosci.*, 94, 809-819.
- Prévoit V., Hanchate N.K., Bellefontaine N., Sharif A., Parkash J., Estrella C., Allet C., de Seranno V., Campagne C., d'Anglemont de Tassigny X., Baroncini M., 2010. Function-related structural plasticity of the GnRH system: a role for neuronal-glia-endothelial interactions. *Front. Neuroendocrinol.*, 31, 241-258.
- Ratto M.H., Leduc Y.A., Valderrama X.P., van Straaten K.E., Delbaere L.T.J., Pierson R.A., Adams G.P., 2012. The nerve of ovulation-inducing factor in semen. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 109, 15042-15047.
- Richards J.S., Hedin L., 1988. Molecular Aspects of Hormone Action in Ovarian Follicular Development, Ovulation, and Luteinization. *Ann. Rev. Physiol.*, 50, 441-463.
- Roa J., Herbison A.E., 2012. Direct Regulation of GnRH Neuron Excitability by Arcuate Nucleus POMC and NPY Neuron Neuropeptides in Female Mice. *Endocrinology*, 153, 5587-5599.
- Saumande J., Humblot P., 2005. The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. *Anim. Reprod. Sci.*, 85, 171-182.
- Silva M.E., Smulders J.P., Guerra M., Valderrama X.P., Letelier C., Adams G.P., Ratto M.H., 2011. Cetrorelix suppresses the preovulatory LH surge and ovulation induced by ovulation-inducing factor (OIF) present in llama seminal plasma. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 9, 74-83.
- Smith J.T., 2008. Kisspeptin signaling in the brain: steroid regulation in the rodent and ewe. *Brain Res. Rev.*, 57, 288-298.
- Soulsbury C.D., 2010. Ovulation mode modifies paternity monopolization in mammals. *Biol. Lett.*, 6, 39-41.
- Stamatiades G.A., Kaiser U.B., 2018. Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: Signaling and gene expression. *Mol. Cell Endocrinol.*, 463, 131-141.
- Takehara Y., Dharmarajan A. M., Kaufman G., Wallach, E.E., 1994. Effect of interleukin-1 beta on ovulation in the in vitro perfused rabbit ovary. *Endocrinol.*, 134, 1788-1793.
- Tanco V.M., Ratto M.H., Lazzarotto M., Adams G.P., 2011. Dose-response of female llamas to ovulation-inducing factor from seminal plasma. *Biol. Reprod.*, 85, 452-456.
- Tillet Y., Caldani M., Batailler M., 1989. Anatomical relationships of monoaminergic and neuropeptide Y-containing fibres with luteinizing hormone-releasing hormone systems in the preoptic area of the sheep brain: immunohistochemical studies. *J. Chem. Neuroanat.*, 2, 319-326.
- Torres-Júnior J.R.S., Penteado L., Sales J.N.S., Sá Filho M.F., Ayres H., Baruselli P.S., 2014. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled Bos indicus beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 151, 9-14.
- Tribulo P., Bogle O., Mapletoft R.J., Adams G.P., 2015. Bioactivity of ovulation inducing factor (or nerve growth factor) in bovine seminal plasma and its effects on ovarian function in cattle. *Theriogenology*, 83, 1394-1401.
- Wiltbank M.C., Pursley J.R., 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*, 81, 170-185.
- Wray S., 2010. From nose to brain: development of gonadotropin-releasing hormone-1 neurones. *J. Neuroendocrinol.*, 22, 743-753.

Résumé

Le déclenchement de l'ovulation peut se faire selon deux modes chez les mammifères : spontané et provoqué. L'ovulation spontanée intervient au cours du cycle œstral sous l'effet de facteurs internes hormonaux. L'ovulation provoquée est déclenchée par l'accouplement avec un mâle. Dans les deux cas, c'est une augmentation de la sécrétion de GnRH qui conduit à l'augmentation de LH qui provoque l'ovulation. Les facteurs qui conduisent à l'augmentation de sécrétion de GnRH sont différents selon les deux modalités : principalement la kisspeptine (ovulation spontanée) et le β -NGF (ovulation provoquée). Les protocoles d'induction de l'ovulation actuels reposent sur une action directe sur l'ovaire, grâce à l'utilisation de gonadotropines hétérologues, ou bien par une action sur l'hypophyse grâce aux agonistes du GnRH. Ces protocoles présentent différents inconvénients : perte d'efficacité dans le temps, stimulation supra-physiologique qui peut être délétère, problème éthique posé par l'obtention de certaines molécules. De nouveaux paradigmes d'induction de l'ovulation ciblant l'hypothalamus, et favorisant un déclenchement physiologique de l'ovulation sans supplémentation en hormones sont en cours de développement. Cette revue a pour objectif de présenter au lecteur les mécanismes intimes impliqués dans la régulation et le déclenchement de l'ovulation ainsi que deux approches nouvelles respectueuses de la physiologie de l'animal et de l'environnement.

Abstract

Ovulation in mammals

The triggering of ovulation in mammals can be done according to two modes: spontaneous and provoked. Spontaneous ovulation occurs during the estrous cycle as a result of internal endocrine factors. Induced ovulation is triggered by mating. In both cases, it is the increase in GnRH secretion that leads to an increase in LH that causes ovulation. The factors involved in the stimulation of GnRH secretion are different according to the two modalities, mainly kisspeptin for spontaneous ovulators and β -NGF for provoked ovulators. Current protocols used to induce ovulation rely on a direct action on the ovary, through the use of heterologous gonadotropins, or by an action on the pituitary gland with GnRH agonists. These protocols present different disadvantages: loss of activity with time, supra-physiological stimulation, ethic questioning about the production of some of these products. New paradigms for triggering ovulation by targeting the hypothalamus, respectful of animal welfare and the environment are presented in this review. This review aims to introduce the reader to the cellular and molecular mechanisms involved in the regulation and triggering of ovulation as well as two new approaches that are being developed and that are respectful of the animal and of its environment.

DEROUIN-TOCHON F., BELTRAMO M., DECOURT C., FLEUROT R., GÉRARD N., PINET-CHARVET C., MARTINET S., ROBERT V., TARAGNAT C., TILLET Y., DUITTOZ A., 2019. L'ovulation chez les mammifères. INRA Prod. Anim., 32, 445-460.

<https://doi.org/10.20870/productions-animales.2019.32.3.2583>

