Une augmentation de l'apport alimentaire en acides gras de type oméga 3 ne modifie pas la qualité des ovocytes et embryons produits par OPU/FIV chez des génisses Holstein An increase in dietary n-3 fatty acids does not improve embryo quality after OPU-IVF in Holstein heifers

SAINT-DIZIER M. (1, 2), GRIMARD B. (2, 3), JOLY C. (4), HUMBLOT P. (4), PONTER A.A. (2, 3)

- (1) AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, 75 231 Paris CEDEX 05
- (2) INRA UMR Biologie du Développement et Reproduction, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas
- (3) Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Généra de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort CEDEX
- (4) Union Nationale des Coopératives d'Elevage et d'Insémination Animale, 13 rue Jouet, 94700 Maisons-Alfort

### INTRODUCTION

La mortalité embryonnaire précoce est une cause majeure d'infertilité chez les vaches Holstein. Une augmentation de l'apport alimentaire en acides gras poly-insaturés (AGPI) de type oméga 3 a été proposée pour augmenter la fertilité des vaches laitières (Mattos et al., 2000). Cependant, les résultats sont contrastés et les mécanismes d'action sont encore mal connus (Petit et al., 2008). La prostaglandine E2 (PGE<sub>2</sub>) est synthétisée à partir d'un AGPI de type oméga 6, l'acide arachidonique, sous l'action de deux cyclooxygénases (COX-1 et COX-2) et de trois PGE synthases (mPGES-1, -2, cPGES). La PGE2 semble avoir un rôle important pour le développement du blastocyste et l'établissement de la gestation chez les bovins (Arosh et al., 2004; Marei et al., 2009). L'objectif de notre étude était d'explorer les effets d'une augmentation des apports alimentaires en AGPI de type oméga 3 sur : 1) le nombre et la qualité des embryons produits par ovum pick-up (OPU) et fécondation in vitro (FIV), 2) les profils d'expression embryonnaire des enzymes de synthèse de la PGE<sub>2</sub>.

#### 1. MATERIEL ET METHODES

# 1.1. Animaux

Dix-huit génisses Prim'Holstein (16-20 mois) ont été séparées en 2 lots 7 semaines avant le début des OPU et ont été alimentées avec une ration composée de foin (67% MS) et d'un concentré (33% MS) à base de graines de lin extrudées (riche en acide  $\alpha$ -linolénique (26,7 g/kg MSI) ; lot oméga 3, n=9) ou à base de graines de soja extrudées (riche en acide linoléique (25,5 g/kg MSI), lot oméga 6, n=9). Des prises de sang ont été effectuées une fois par semaine et le profil en acides gras du plasma a été mesuré par chromatographie en phase gazeuse.

# 1.2. Production et évaluation des embryons

Les ovocytes ont été collectés 2 fois par semaine pendant 6 semaines par OPU sans traitement de superovulation. Les ovocytes issus d'un OPU sur 2 ont été fécondés *in vitro* (J0), les autres ovocytes ayant été utilisés pour d'autres expériences. Le nombre d'embryons clivés a été compté à J2. A J7, le stade et la qualité morphologique (grade 1 = excellent; grade 2 = bon; grade 3 = moyen) des embryons ont été notés

# 1.3. Mesure de l'expression des enzymes de synthèse de la PGE<sub>2</sub> dans les embryons

Les ARN messagers (ARN<sub>m</sub>) des enzymes COX-1, COX-2, mPGES-1, mPGES-2 et cPGES ont été mesurés par RT-PCR quantitative dans des pools de 3 embryons aux stades morula ou blastocyste issus des lots oméga 3 ou oméga 6. Les niveaux d'expression ont été rapportés au niveau d'un ARN<sub>m</sub> exogène (luciférase).

### 1.4. Analyse statistique

Les taux de développement, les stades et qualités des embryons ont été comparés par un test du chi2. Les niveaux d'expression normalisés des  $\mathsf{ARN}_\mathsf{m}$  ont été comparés par un test t de Student.

## 2. RESULTATS

Le traitement a modifié les proportions d'acide  $\alpha$ -linolénique (lot oméga 6 : 3,2 ± 0,3%  $\nu$ s. lot oméga 3 : 6,6 ± 0,3%;

P<0,001) et d'acide linoléique (lot oméga  $6:25.9\pm0.5\%$  vs. lot oméga  $3:19.4\pm0.5\%$ ; P<0,001) dans le plasma.

L'apport en AGPI de type oméga 3 n'a pas modifié le nombre d'ovocytes obtenus par génisse et par session d'OPU (5,3  $\pm$  1,0  $\nu$ s 5,7  $\pm$  1,0 pour le lot oméga 6), ni le nombre d'embryons produits par génisse et par OPU/FIV à J7 (1,1  $\pm$  0,3  $\nu$ s 0,9  $\pm$  0,3 pour le lot oméga 6).

L'apport en AGPI de type oméga 3 n'a pas modifié les taux de clivage et de développement des embryons (tableau 1).

**Tableau 1**: Taux de clivage, taux de développement et stades des embryons en fonction de l'apport alimentaire

	Oméga 6	Oméga 3
Taux de clivage à J2 (%)	74,7	73,0
(nb embryons J2/nb ovocytes	(168/225)	(165/226)
inséminés)		
Taux de développement à J7 (%)	25,6	35,2
(nb embryons J7/nb embryons J2)	(43/168)	(58/165)
Morulas (%)	16,3	8,6
Jeunes blastocystes (%)	20,9	19,0
Blastocystes (%)	37,2	46,6
Blastocystes épanouis (%)	27,9	25,9

L'apport en AGPI de type oméga 3 n'a pas modifié la qualité morphologique des embryons à J7 (Tableau 2).

**Tableau 2** : Taux d'embryons selon leur qualité morphologique en fonction de l'apport alimentaire

	Oméga 6	Oméga 3
Embryons grades 1 et 2 (%)	62,8 (27/43)	75,9 (44/58)
Embryons grade 3 (%)	37,2 (16/43)	24,1 (14/58)

Enfin, parmi les enzymes de synthèse de la PGE<sub>2</sub>, seuls les ARN<sub>m</sub> de COX-2 et de mPGES-1 ont été détectés par qRT-PCR dans les embryons à J7 (n=10 pools de 3 embryons analysés dans chaque lot). De plus, l'apport en AGPI de type oméga 3 n'a pas modifié l'expression relative de COX-2 (16,1  $\pm$  5,2 vs 15,5  $\pm$  3,9 pour le lot oméga 6) et de mPGES-1 (41,5  $\pm$  11,5 vs 23,4  $\pm$  4,8 pour le lot oméga 6) dans ces embryons.

### 3. DISCUSSION ET CONCLUSION

L'enrichissement de la ration en AGPI de type oméga 3 n'a pas amélioré significativement le nombre et le taux de clivage des ovocytes après OPU/FIV mais tend à augmenter le taux de développement et la qualité morphologique des embryons. Nos résultats mettent en évidence une voie de synthèse (COX-2/mPGES-1) de la PGE2 dans l'embryon bovin aux stades morula et blastocyste. Ces données pourraient être utiles pour mieux caractériser les embryons produits par OPU/FIV.

Les auteurs remercient Valorex-Prodex pour la fourniture des concentrés et Christine Ficheux pour son assistance technique. Cette étude a été soutenue par le programme Agenae/Genanimal.

Arosh JA, Banu SK, Chapdelaine P & Fortier MA, 2004. Endocrinology 145:5280-93; Marei WF, Wathes DC & Fouladi-Nashta AA, 2009. Bio. Reprod. 81:1064-72; Mattos R, Staples CR & Thatcher WW, 2000. Rev. Reprod.5:38-45; Petit HV, Cavalieri FB, Santos GT, Morgan J & Sharpe P, 2008. J Dairy Sci. 91:1766-90.