

Le métabolisme des lipides dans l'ovaire : les modèles animaux au service de la gynécologie ?

Metabolism of lipids in the ovary: animal models at the service of gynecology?

Sébastien Elis
Philippe Monget
Svetlana Uzbekova

Biologie intégrative de l'ovaire (Bingo),
Inra, physiologie de la reproduction et des
comportements,
Nouzilly,
France
<philippe.monget@inra.fr>

Résumé. La reproduction femelle requiert un apport énergétique minimum. Lorsqu'il n'est pas atteint (sous-nutrition/activité physique intense), la fertilité de la femme est altérée. Des études ont déjà souligné l'importance du métabolisme énergétique, notamment glucidique, dans le fonctionnement ovarien chez la femme. En revanche, l'importance du métabolisme lipidique au niveau ovarien reste peu décrite. Des données issues de modèles animaux d'expérimentation ou d'élevage permettent cependant d'approfondir nos connaissances et de renseigner les impacts du métabolisme lipidique sur les cellules folliculaires ovariennes, sur la fertilité des animaux et sur la production d'embryons. Cette revue s'attachera à décrire les différences, en termes de métabolisme lipidique, existant entre les différents types cellulaires de l'ovaire (germinal/somatique), puis elle abordera les effets, favorables et défavorables, de la supplémentation en acides gras et définira le rôle de protection de l'ovocyte, notamment vis-à-vis de la lipotoxicité, joué par les cellules du cumulus.

Mots clés : ovaire, métabolisme lipidique, acides gras, oxydation des acides gras, ovocytes, cellules du cumulus

Abstract. Female reproduction has energetic needs. When the energetic supply does not reach the energetic requirements (under-nutrition / intense physical activity), female fertility is altered. Studies have already highlighted the importance of energetic metabolism, especially carbohydrate metabolism, in the ovarian functioning in women. On the contrary, the importance of lipid metabolism is still poorly described. Data emerging from both lab and farm animal models enables to acquire knowledge on lipid metabolism impacts on ovarian follicular cells, on animal fertility and on embryo production. This review will endeavor to describe differences, in terms of lipid metabolism, existing between several ovarian cell types (germ / somatic), it will also address the effects, both favorable and unfavorable, of fatty acid supplementation and will define the protective role of cumulus cells towards the oocyte, regarding lipotoxicity.

Key words: ovary, lipid metabolism, fatty acids, fatty acid oxydation, oocytes, cumulus cells

Les lipides dans l'ovaire : la granulosa et le cumulus ne sont pas comme l'ovocyte

La reproduction femelle requiert un apport énergétique minimum. Ainsi, si la partition énergétique n'est pas équilibrée, et qu'elle se trouve intégralement dédiée au métabolisme basal pour assurer les fonctions vitales (cas de la sous-nutrition), ou allouée à une dépense musculaire élevée (cas des sportives de haut niveau), la fertilité de la femme est altérée. La fonction de reproduction est donc étroitement dépendante du métabolisme énergétique, notam-

ment glucidique. Il existe peu de données sur l'importance du métabolisme des lipides dans le développement folliculaire ovarien ou la maturation de l'ovocyte chez la femme. Pourtant, chez les animaux de laboratoire et d'élevage, de nombreuses situations « naturelles » (début de lactation chez la vache laitière) ou expérimentales (supplémentation *in vivo* ou *in vitro* en acides gras) mettent en évidence l'importance, peu connue, de ce métabolisme dans la production d'ovocytes et d'embryons de qualité, et dans la fertilité en général. Un certain nombre d'études se sont en particulier focalisées, récemment, sur

Médecine
de la **Reproduction**

Tirés à part : P. Monget

le métabolisme lipidique (grâce notamment aux possibilités d'analyses de lipidomique par spectrométrie de masse) dans le fonctionnement ovarien. Cette revue se focalisera sur le métabolisme lipidique, notamment celui des acides gras, et ses effets au niveau des cellules folliculaires ovariennes : granulosa, cumulus et ovocyte. Le métabolisme du cholestérol et son rôle dans les sécrétions de stéroïdes ne seront pas abordés ici.

Les lipides dans l'ovaire

Chez les mammifères, le coût énergétique de la reproduction des femelles est essentiellement lié à la grossesse/gestation puis, surtout, à la lactation. Pourtant, la maturation méiotique même et la production d'un ovocyte mature sont impossibles si le métabolisme énergétique n'est pas optimal, probablement pour préserver la survie de la future mère qui, si elle n'a pas de réserves énergétiques – et donc adipeuses – suffisantes, mettrait en danger sa propre vie au moment où il faudra nourrir son ou ses petits. L'ovocyte, en couplage physique et

métabolique avec les cellules de cumulus qui l'entourent, est capable d'utiliser différents substrats énergétiques tels que les glucides, les acides aminés mais aussi les lipides. Les gouttelettes lipidiques, composées de choline esters, de triglycérides et de protéines, sont les réserves de lipides neutres présentes dans tous les tissus ovariens [1], qui s'accumulent dans les cellules folliculaires de la granulosa et de la thèque (*figure 1*). Les lipides stockés dans les gouttelettes lipidiques de l'ovocyte et des cellules de cumulus sont utilisés au cours de la maturation de l'ovocyte et du développement précoce de l'embryon (*figure 2*). L'oxydation des acides gras est une source importante d'énergie pour l'ovocyte, et beaucoup de gènes impliqués dans l'oxydation des acides gras sont donc régulés au moment du pic d'hormone lutéinisante (LH), pendant la maturation *in vivo* [2].

Par ailleurs, des analyses d'imagerie réalisées par spectrométrie de masse (*mass spectrometry imaging* et MALDI [pour *matrix-assisted laser desorption/ionisation*]) sur des coupes d'ovaires de porc ont permis de décrire la distribution spatiale de plus de 150 espèces lipidiques en fonction des compartiments ovariens (*figure 3*). Ce profil

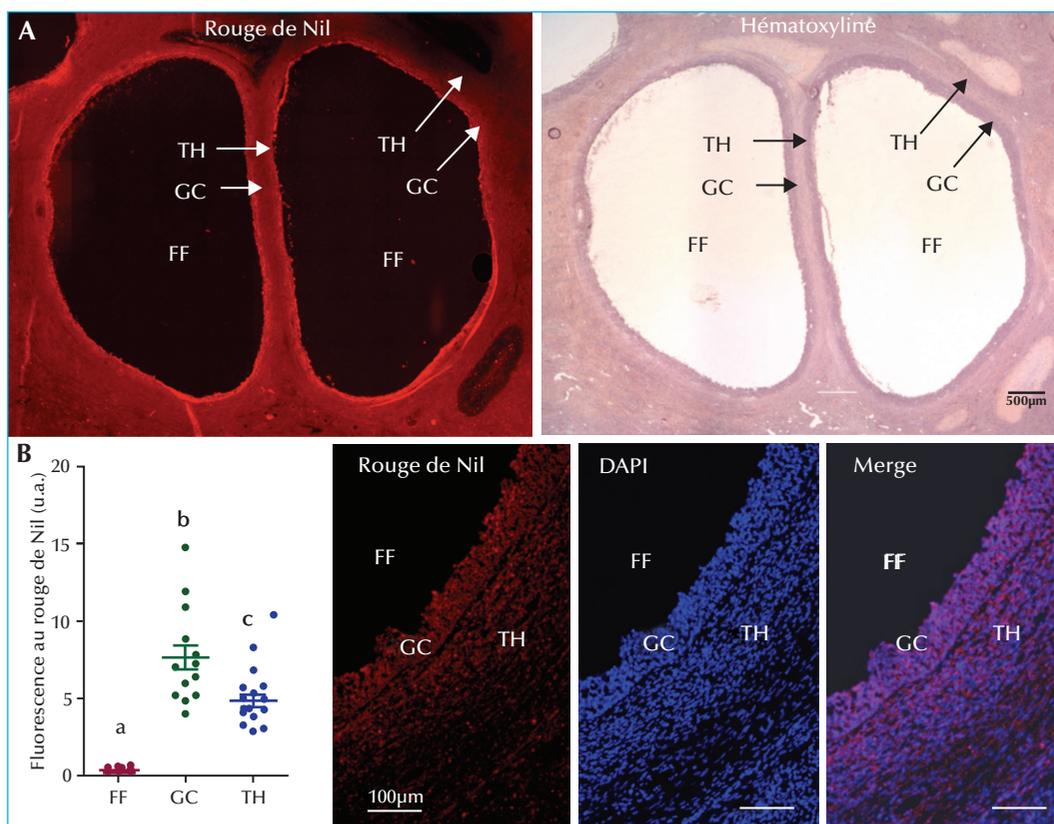


Figure 1. Détection et quantification, après coloration par le rouge de Nil des lipides totaux neutres dans les compartiments de follicules ovariens bovins. **(A)** Fluorescence avec rouge de Nil (image gauche) et coloration par l'hématoxyline (image droite) d'une section d'ovaire. **(B)** Quantification de la fluorescence par rouge de Nil dans le liquide folliculaire (FF), les cellules de granulosa (GC) et de la thèque (TH) dans 15 follicules antraux d'une taille moyenne de 5,5 mm [1].

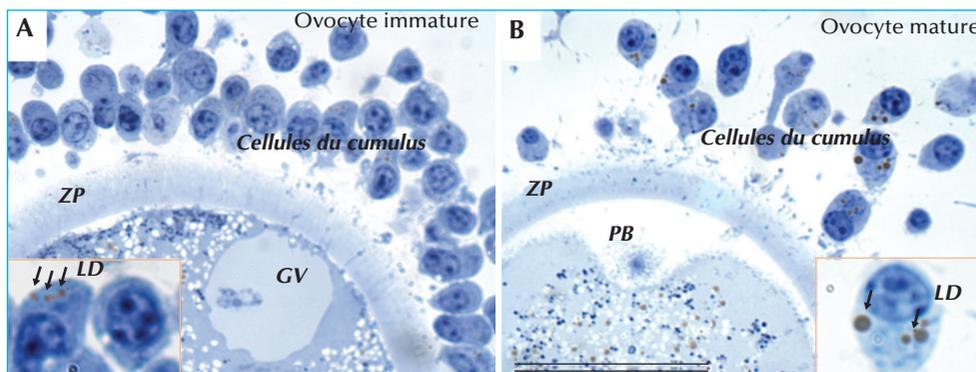


Figure 2. Analyse par microscopie électronique de complexes ovocyte-cumulus bovins avant (A) et après (B) maturation *in vitro*. Les gouttelettes lipidiques (LD) des cellules de cumulus sont indiquées par les flèches (images zoomées). Barre d'échelle : 50 µm. GV : vésicule germinale, PB : globule polaire, ZP : zona pellucida [11].

des lipides permet de discriminer la thèque, les cellules de la granulosa, le liquide folliculaire et le complexe ovocyte-cumulus [3]. L'imagerie moléculaire couplée avec l'analyse séparée par MALDI-TOF (pour *time of flight*) des différentes cellules folliculaires et du liquide folliculaire, réalisés sur l'ovaire bovin, et l'identification de ces

molécules, ont permis de créer la liste et la cartographie des lipides présents dans les différents compartiments folliculaires [1]. Ces résultats ont été complétés par une étude d'expression des gènes impliqués dans le métabolisme des lipides dans ces différents compartiments. Cette observation a notamment montré, chez la truie, une

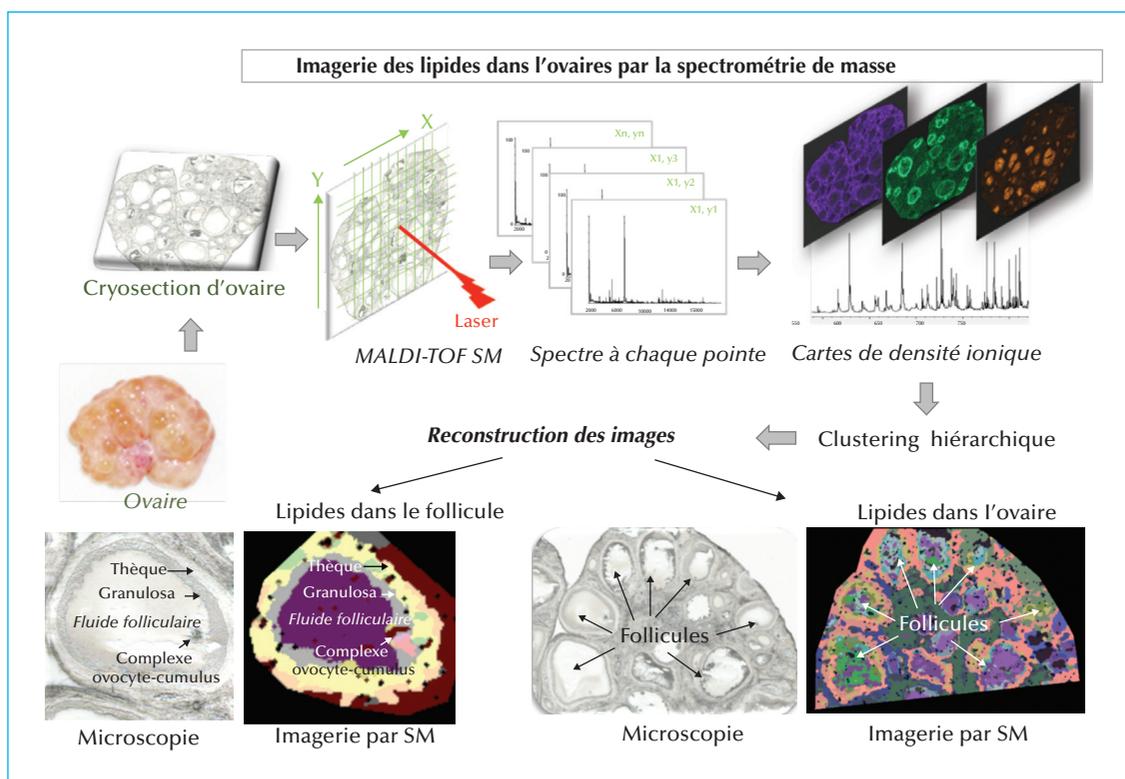


Figure 3. Cartographie des lipides dans l'ovaire porcine par imagerie moléculaire réalisée par spectrométrie de masse MALDI-TOF (IMS). La morphologie de l'ovaire et du follicule est reconstituée à partir des cartes ioniques d'une certaine quantité de lipides obtenus par imagerie des lipides par l'IMS sur une coupe d'ovaire porcine et segmentés par le traitement statistique des spectres. Une même couleur à l'intérieur de la coupe signifie que le contenu lipidique de ces structures est similaire [3].

surexpression de *cluster determinant 36* (CD36) (transport d'acides gras), de l'acétylcoenzyme A carboxylase (Acaca) (synthèse d'acide gras) et de périlipine 2 (*Plin2*) (gouttelette lipidique : stockage d'acides gras) dans l'ovocyte, par rapport aux cellules de la thèque, de la granulosa et du cumulus, ainsi qu'une surexpression de la carnitine palmitoyl transférase 1a (*CPT1a*) (impliqué dans l'oxydation des acides gras et donc la production d'adénosine triphosphate [ATP]) dans la thèque ou la granulosa par rapport à l'ovocyte [3]. Chez la vache, l'analyse transcriptomique des cellules ovariennes a confirmé la différence d'expression des gènes du métabolisme des acides gras et de la stéroïdogenèse entre les différents types cellulaires, suggérant des rôles distincts dans le maintien de l'homéostasie énergétique du follicule [1].

Chez la vache, l'analyse du contenu lipidique par spectrométrie de masse (*desorption electrospray ionization mass spectrometry*) est en outre suffisant pour discriminer l'ovocyte immature de l'ovocyte mûré *in vitro* [4]. De la même manière, il est possible de discriminer les blastocystes produits *in vitro* et *in vivo* à leurs signatures lipidiques. L'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras confirme ces différences entre ovocytes immature et mûré *in vitro* (*ACAT1*, *FASN* et *SCAP*) ou entre blastocystes *in vivo* et *in vitro* (*FASN*, *SCAP*, *SREBP1*). Le nombre de vésicules et de gouttelettes lipidiques observables dans l'ovocyte peut d'ailleurs être corrélé avec son état de maturation

cytoplasmique, et donc avec sa compétence au développement [5].

Outre la distinction entre compartiments ovariens ou entre blastocystes produits *in vitro* et *in vivo*, l'analyse des profils lipidiques permet de comparer différentes espèces. En effet, les analyses de lipides réalisées par MALDI-MS (pour *mass spectrometry*), basées notamment sur la comparaison des phosphatidylcholines, des sphingomyélines et des triacylglycérols, sont capables de discriminer les ovocytes et les embryons de cinq espèces différentes (humain, bovin, ovin, poisson et insecte) (*figure 4*) [6]. Ces différences de profils lipidiques montrent que le métabolisme lipidique au sein des gonades varie d'une espèce à l'autre.

Ces observations sont confirmées par les mesures de lipides totaux au sein des ovocytes de différentes espèces. En effet, la quantité d'acides gras contenue dans un ovocyte de porc est d'environ 161 ng, alors qu'elle n'est que de 63 ng chez la vache et de 89 ng chez la brebis [7]. Parmi les vingt-quatre acides gras détectés dans ces ovocytes, les acides palmitique (16:0; 25-35 %, m/m), stéarique (18:0; 14-16%) et oléique (18:1n-9; 22-26%) sont les trois prédominants dans ces trois espèces. Les acides gras saturés (AGS) représentent en moyenne 45-55 % des acides gras (m/m) et sont plus abondants que les acides gras mono- (AGMI : 27-34 %) ou polyinsaturés (AGPI : 11-21 %). Parmi les AGPI, ceux de la série n-6, à savoir les acides linoléique (18:2n-6; 5-8%, m/m) et arachidonique (20:4n-6; 1-3%), sont les plus abondants.

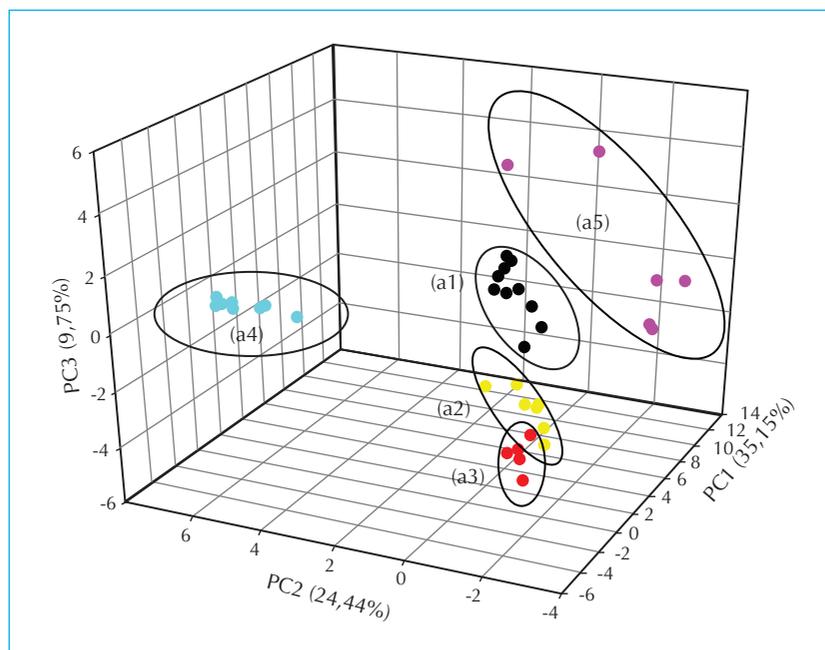


Figure 4. Analyse en composantes principales de données de profils lipidiques obtenus par MALDI à partir d'embryons et d'ovocytes individuels de cinq espèces différentes (a1) ovocytes humains (*Homo sapiens*) (N = 10), (a2) ovocytes ovins (*Ovis aries*) (N = 6), (a3) ovocytes bovins (*Bos taurus*) (N = 6), (a4) ovocytes de poisson (*Mugil spp.*) oocytes (N = 9), et (a5) œufs d'insecte (*Solenopsis spp.*) (N = 6) [6].

Les phospholipides représentent 25 % des acides gras dans les trois espèces. Concernant les acides gras piégés dans la fraction triglycérides, l'ovocyte porcine en contiendrait 74 ng, contre 23-25 ng dans les ovocytes de ruminant. Ces différences entre espèces pourraient être en rapport avec des différences de sensibilité des embryons au froid, à la culture et à la cryopréservation [7]. Le profil lipidique de l'ovocyte étant ainsi jugé susceptible de modifier la qualité de l'embryon ou sa résistance à la cryopréservation, la supplémentation des vaches donneuses d'embryons est envisagée comme un levier d'action possible. En effet, la supplémentation en acide linoléique conjugué (ALC), par comparaison avec une supplémentation en acide stéarique, modifie non seulement la composition en lipides du plasma et du liquide folliculaire, mais aussi celle de l'ovocyte après maturation *in vitro*, dont la teneur en acide palmitique augmente en cas de supplémentation alimentaire en acide stéarique de la vache donneuse [8].

Le métabolisme des lipides dans l'ovaire

Toute altération du métabolisme énergétique, source d'ATP, est susceptible de perturber une ou plusieurs fonctions biologiques. La production d'ATP passe par une oxydation, c'est-à-dire la rupture de liaisons carbone dans les glucides ou les lipides, et un « emprunt » d'électrons. Or, toute altération du métabolisme lipidique nuit au bon déroulement de la maturation de l'ovocyte. Ainsi, chez la souris, un blocage pharmacologique de l'oxydation des acides gras (par étomoxir, C75, malonyl-coenzyme A ou mercaptoacétate) inhibe l'induction de la méiose par la FSH ou par un activateur de l'AMPK (pour *AMP-activated protein kinase*) [9, 10]. La maturation ovocytaire, ainsi que la prolifération cellulaire et la sécrétion de progestérone des cellules de granulosa, sont elles aussi inhibées, chez la vache, par les bloqueurs de l'oxydation des acides gras [11, 12]. Il est également possible d'affecter l'oxydation des acides gras en utilisant des agonistes du PPAR (pour *peroxisome proliferator-activated receptor*), ce qui conduit à une dégradation de la qualité des embryons murins [13]. Au contraire, la stimulation de l'oxydation des acides gras, via un apport de L-carnitine dans le milieu de maturation, augmente la compétence au développement de l'ovocyte et le taux de clivage chez la souris [14, 15]. La L-carnitine est l'élément limitant de l'oxydation des acides gras ; il est le cofacteur permettant le passage des membranes de la mitochondrie par les acides gras et donc leur transformation en ATP. L'optimisation de l'oxydation des acides gras au cours de la maturation *in vitro* semble être un moyen d'améliorer la qualité des embryons produits [2].

De plus, l'importance de l'oxydation des acides gras est différente selon les espèces [16]. En effet, la dépendance au métabolisme lipidique au cours de la maturation ovocytaire semble corrélée à la teneur en acides gras de

l'ovocyte. Pour des espèces dont l'ovocyte contient un niveau modéré de lipides, comme la souris, le métabolisme glucidique semble être capable de pallier l'inhibition de l'oxydation des acides gras. Au contraire, chez des espèces dont l'ovocyte contient un niveau élevé de lipides, comme le porc, la dépendance au métabolisme lipidique semble être très élevée, et toute inhibition, même partielle, de l'oxydation des acides gras suffit à bloquer la maturation ovocytaire. Enfin, les espèces dont l'ovocyte contient un niveau intermédiaire de lipides, comme la vache (ce pourrait être le cas également de la femme et de la brebis), présentent également une dépendance intermédiaire au métabolisme des acides gras.

Par ailleurs, le couplage métabolique entre les cellules du cumulus et l'ovocyte est important en termes de métabolisme, les échanges moléculaires entre ces cellules et avec l'environnement folliculaire jouant un rôle crucial pour assurer un apport énergétique suffisant à l'ovocyte, via la mobilisation et le métabolisme des acides gras (figure 5). Les cellules du cumulus et l'ovocyte expriment de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme lipidique [11, 17] :

- FAS (pour *fatty acid synthase*) : lipogénèse,
- lipase hormonosensible (HSL) : lipolyse,
- carnitine palmitoyl transférase 1b (CPT1b) : oxydation des acides gras,
- CD36 : transport des acides gras.

Ainsi l'expression de vingt-deux gènes impliqués dans le métabolisme lipidique est-elle augmentée dans les cellules du cumulus durant la maturation *in vitro* chez la vache : *FAS*, *ACACA*, *CPT1b*, *Plin2*, et *FABP3* (pour *FA binding protein 3*) [11]. Lorsque ce couplage est perturbé, le métabolisme lipidique est altéré. Ainsi, la distribution des gouttelettes lipidiques dans l'ovocyte dénudé est différente de ce qu'elle est dans l'ovocyte entouré de cumulus. Les ovocytes dénudés contiennent par ailleurs moins de lipides. Les cellules du cumulus pourraient influencer l'ovocyte en orientant la consommation des nutriments via la régulation de la synthèse d'acides gras et de la lipolyse pour produire l'énergie nécessaire à la maturation [17]. Ainsi, la présence ou non de cellules de cumulus autour de l'ovocyte affecte l'efficacité des inhibiteurs de l'oxydation des acides gras [11], et donc leur toxicité. Aussi ce compartiment semble-t-il exercer un rôle protecteur vis-à-vis de l'ovocyte, à l'encontre des perturbations métaboliques périphériques.

Effets de la supplémentation en acides gras

La supplémentation en acides gras du milieu de culture des ovocytes au cours de la maturation ovocytaire ou des animaux semble être un moyen d'influencer la qualité des

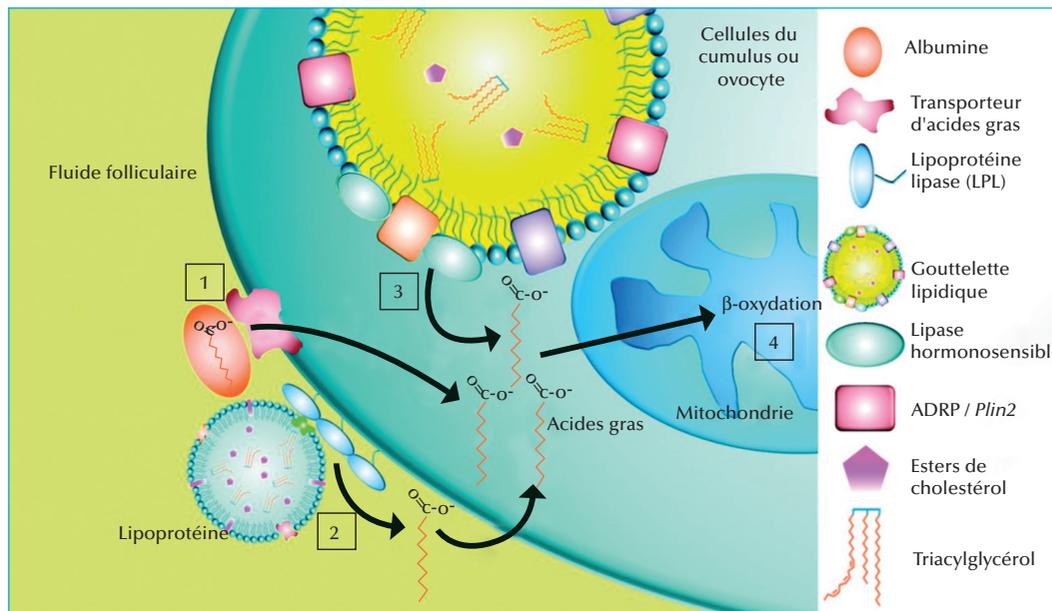


Figure 5. Schéma des mécanismes proposés pour la mobilisation et le catabolisme des acides gras libres (AGL) dans le complexe cumulus-ovocytes. **(1)** Les AGL du liquide folliculaire sont liés à l'albumine et pénètrent probablement dans les cellules via des transporteurs d'acides gras ou diffusent directement par la bicouche lipidique. Cependant, les mécanismes exacts ne sont pas connus. **(2)** La mobilisation du triacylglycérol à partir de lipoprotéines dans le liquide folliculaire peut se produire via des AGL libérés de la lipoprotéine par des lipases extracellulaires, qui sont ensuite disponibles pour l'absorption cellulaire. **(3)** Les triacylglycérols intracellulaires des cellules de cumulus et des ovocytes sont stockés dans les gouttelettes lipidiques entourées de protéines d'enveloppe, notamment la périlipine 2 (Plin2). Lors de l'activation, les protéines des gouttelettes lipidiques facilitent l'hydrolyse des triacylglycérols par la lipase et la libération des AGL. **(4)** Les AGL intracellulaires générés via le transport ou la lipolyse sont ensuite disponibles pour le métabolisme de l'ATP via la β -oxydation dans les mitochondries [2].

embryons produits. Les résultats ci-dessous permettent donc soit d'envisager un levier d'amélioration de la qualité des embryons produits, soit d'étudier l'impact négatif de situations physiologiques affectant le métabolisme des lipides.

Chez la vache, le bilan énergétique très négatif consécutif à la mise en place de la lactation (entre 70 et 90 kg de masse corporelle perdue chez les vaches laitières hautes productrices pendant les premières semaines de lactation !) entraîne une augmentation des acides gras circulants (> 500 μ M d'acides gras libres plasmatique). Des taux du même ordre sont également observés, chez l'homme, dans des désordres métaboliques tels que l'obésité ou le diabète de type 2, où l'hyperlipidémie est associée à une diminution de la fertilité. Un niveau d'acides gras libres plus faible en début de lactation (et donc une perte moindre de poids corporel) semble être relié à une reprise de cyclicité plus rapide chez la vache laitière [18]. En revanche, en réponse à une exposition à de fortes doses d'acides gras libres *in vitro*, des modifications épigénétiques des ovocytes et des embryons apparaissent, ce qui modifie également le profil d'expression de certains gènes et la compétence au développement des blastocystes bovins ainsi obtenus [19-22]. Au contraire, une diminution du contenu lipidique de l'embryon entraîne

une augmentation du taux de blastocystes, de leur activité mitochondriale et de leur cryotolérance [23].

La composition de ces acides gras est également importante, puisqu'un niveau plus élevé en acides gras insaturés, sur l'ensemble des acides gras libres, est corrélé avec un ratio œstradiol/progestérone plus faible chez la vache [18]. La supplémentation en acides gras saturés diminue le taux de blastocystes *in vitro* ainsi que l'expression des gènes reliés à l'apoptose, au stress oxydant et au métabolisme oxydatif (e.g., augmentation de *GPX1* et de *GAPDH* dans l'ovocyte, diminution de *GAPDH*, de *GPX1*, de *G6PD* et de *LDHA* dans les cumulus). Un taux élevé d'acides gras saturés diminue le nombre de cellules dans les blastocystes, augmente le pourcentage de cellules apoptotiques et dérégule les gènes *DNMT3A*, *IGF2R* et *SLC2A1*, diminue la consommation de pyruvate et de glucose des embryons, augmente leur consommation de lactate et accentue le métabolisme des acides aminés [24-26]. Les embryons adaptent donc des stratégies métaboliques spécifiques de compensation, afin de survivre dans un environnement « défavorable ».

Au contraire, une supplémentation en acides gras insaturés n'altère pas la qualité des blastocystes bovins [25-27], voire l'améliore. Certains acides gras insaturés comme l'acide oléique peuvent même restaurer la qualité

d'ovocytes exposés à des niveaux élevés d'acides palmitique et stéarique, deux acides gras libres saturés, notamment en augmentant la quantité de lipides stockés dans les gouttelettes lipidiques [28]. L'acide oléique est également décrit comme un biomarqueur de survie des blastomères et des embryons bovins cryopréservés [29]. En plus d'être une source d'énergie importante, il a un rôle structural et métabolique et augmente la production d'œstradiol des complexes ovocyte-cumulus *in vitro* ainsi que celle des cellules de granulosa, tout en inhibant la prolifération cellulaire des cellules de granulosa bovines et humaines. L'acide oléique contribuerait à un développement normal de l'ovocyte et de l'embryon avant implantation, via des mécanismes impliquant la partition métabolique des acides gras, les changements structuraux de l'organisation de la membrane, la diminution du stress oxydant et la régulation des voies de signalisation intracellulaire [29].

Dans la famille des AGPI, ceux en n-3 ont été particulièrement étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la reproduction. En effet, l'addition d'acide α -linoléique dans un milieu de maturation comprenant un niveau élevé d'acides gras libres permet de restaurer la qualité des blastocystes bovins, notamment en améliorant la viabilité des cellules du cumulus [27]. De plus, la supplémentation du milieu de maturation en AGPI n-3 à chaîne longue, comme l'acide docosahexaénoïque, à un niveau modéré (1 μ M), permet d'augmenter le taux de clivage et de blastocystes bovins et tend à améliorer le nombre de cellules des blastocystes. Ces changements ne seraient pas accompagnés de modifications de l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme lipidique et découleraient en partie de l'activation du récepteur FFAR4 (pour *free fatty acid receptor 4*), présent dans le complexe ovocyte-cumulus [30, 31].

Les AGPI n-3 exercent de nombreux rôles physiologiques via des récepteurs ou des modifications de la composition des membranes (e.g., raft lipidiques). Ils permettent aussi la synthèse de médiateurs de l'inflammation comme les résolvines, les protectines et les maresines, qui pourraient jouer un rôle dans les effets physiologiques observés [32, 33]. Une supplémentation alimentaire en AGPI n-3 affecte plusieurs paramètres de la reproduction, et notamment augmente le taux de gestation chez la vache, diminue la mortalité embryonnaire précoce, entraîne une augmentation de la taille des follicules préovulatoires et du nombre de petits follicules, et améliore la production d'embryons de bonne qualité [34, 35]. Un des mécanismes mis en avant est la diminution de la concentration de la prostaglandine F 2α (compétition entre les AGPI n-3 et l'acide arachidonique pour produire les prostaglandines de série 3 et 2, respectivement), ce qui conduit à une augmentation de la sécrétion de progestérone par le corps jaune et faciliterait ainsi la survie embryonnaire et l'implantation [36].

Rôle du cumulus

Le couplage métabolique entre l'ovocyte et le cumulus joue un rôle important dans la protection de l'ovocyte vis-à-vis de la lipotoxicité de l'environnement folliculaire. Ainsi, un épisode de restriction alimentaire conduit à une lipolyse importante, qui elle-même mène à une augmentation rapide des acides gras libres plasmatiques, avec pour conséquence une forte augmentation de la teneur de lipides neutres dans les cellules du cumulus ; cela alors que le niveau de lipides de l'ovocyte reste inchangé. Dans cette situation, la qualité de l'ovocyte et sa capacité à donner un embryon se trouvent conservées. Ces résultats suggèrent que la combinaison d'une forte internalisation des lipides dans les cellules du cumulus, et d'un niveau élevé d'acide oléique dans le fluide folliculaire permet d'inhiber les effets délétères des acides gras saturés au niveau de l'ovocyte [37]. Comme évoqué ci-dessus, le cumulus semble « protéger » l'ovocyte d'altérations métaboliques périphériques.

De la même manière, la supplémentation en acides gras libres *in vitro* dans le milieu de maturation entraîne également une augmentation dose-dépendante du stockage de lipides dans les cellules de cumulus, et une augmentation de Plin2, un marqueur des gouttelettes lipidiques. Les acides gras supplémentés sont stockés sous forme de triglycérides (augmentation, d'un facteur allant de 3 à 6, du contenu en triglycérides des cellules du cumulus). L'acide palmitique induit la formation de céramides, impliquées dans l'apoptose ; il induit aussi la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'activation de la caspase 3 et la détérioration des mitochondries, menant à une dégénération de la couche de cellules du cumulus. Ces résultats montrent une fois de plus que le cumulus joue un rôle de barrière pour protéger l'ovocyte des effets lipotoxiques induits *in vitro*. Cette fonction de protection serait importante pour la compétence au développement de l'ovocyte [38]. L'enzyme SCD (pour *stearoyl-CoA desaturase*) permet la conversion des acides gras saturés en mono-insaturés ; son expression est élevée dans les cellules du cumulus, alors qu'elle est faible dans l'ovocyte bovin [39]. Ce mécanisme de conversion via la SCD fait partie des moyens qu'utilisent les cellules du cumulus pour réagir aux conditions lipotoxiques : les cellules du cumulus « détournent » notamment l'acide stéarique en le convertissant en acide oléique, non toxique pour l'ovocyte bovin [39]. La composition en lipides des cellules du cumulus pourrait d'ailleurs servir de critères de qualité des ovocytes pour la fécondation *in vitro* chez la femme. En effet, la phosphatidylcholine est, chez la femme, augmentée dans les cellules de cumulus dont l'ovocyte permettra la gestation, alors que la phosphatidyléthanolamine, la phosphatidylsérine et le phosphatidylinositol le sont dans les cellules du cumulus dont l'ovocyte n'ira pas à la gestation [40].

Mise en perspectives

Les perspectives de ces travaux sont de deux ordres au moins : évolutive et clinique.

- D'un point de vue évolutif : pour rappel, les ovocytes de mammifères contiennent peu de lipides, en particulier si on les compare aux œufs des ovipares, des oiseaux et des poissons, chez lesquels le stockage des lipides est crucial pour nourrir la progéniture à venir. Il est donc intéressant d'étudier ce métabolisme lipidique dans les ovaires de mammifères, afin d'élucider s'il n'existe pas des résidus évolutifs des contraintes qui s'exercent sur des espèces avec lesquelles nous avons des ancêtres communs.
- D'un point de vue clinique : nous savons que la fertilité de la femme est altérée chez les femmes dont le statut métabolique n'est pas optimal, c'est-à-dire trop minces, voire maigres, ou au contraire présentant un surpoids, avec une résistance à l'insuline éventuelle et un diabète de type 2. Dans les deux cas, il est vraisemblable que les altérations de la fertilité sont en parties sous-tendues par des mécanismes intraovariens qui concernent le métabolisme des lipides.

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Bertavello P, Teixeira-Gomes A-P, Seyer A, et al. Lipid identification and transcriptional analysis of controlling enzymes in bovine ovarian follicle. *Int J Mol Sci* 2018 ; 19 : 3261.
2. Dunning KR, Russell DL, Robker RL. Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and beta-oxidation. *Reproduction* 2014 ; 148 : R15-27.
3. Uzbekova S, Elis S, Teixeira-Gomes AP, Desmarchais A, Maillard V, Labas V. MALDI mass spectrometry imaging of lipids and gene expression reveals differences in fatty acid metabolism between follicular compartments in porcine ovaries. *Biology (Basel)* 2015 ; 4 : 216-36.
4. Gonzalez-Serrano AF, Pirro V, Ferreira CR, et al. Desorption electrospray ionization mass spectrometry reveals lipid metabolism of individual oocytes and embryos. *PLoS One* 2013 ; 8 : e74981.
5. Reader KL, Stanton JL, Juengel JL. The role of oocyte organelles in determining developmental competence. *Biology (Basel)* 2017 ; 6 : E35.
6. Ferreira CR, Saraiva SA, Catharino RR, et al. Single embryo and oocyte lipid fingerprinting by mass spectrometry. *J Lipid Res* 2010 ; 51 : 1218-27.
7. McEvoy TG, Coull GD, Broadbent PJ, Hutchinson JS, Speake BK. Fatty acid composition of lipids in immature cattle, pig and sheep oocytes with intact zona pellucida. *J Reprod Fertil* 2000 ; 118 : 163-170.
8. Gonzalez-Serrano AF, Ferreira CR, Pirro V, et al. Effects of long-term dietary supplementation with conjugated linoleic acid on bovine oocyte lipid profile. *Reprod Fertil Dev* 2015 ; . doi: 10.1071/RD14352. [Epub ahead of print].
9. Downs SM, Mosey JL, Klinger J. Fatty acid oxidation and meiotic resumption in mouse oocytes. *Mol Reprod Dev* 2009 ; 76 : 844-53.
10. Valsangkar D, Downs SM. A requirement for fatty acid oxidation in the hormone-induced meiotic maturation of mouse oocytes. *Biol Reprod* 2013 ; 89(2) : 43.
11. Sanchez-Lazo L, Brisard D, Elis S, et al. Fatty acid synthesis and oxidation in cumulus cells support oocyte maturation in bovine. *Mol Endocrinol* 2014 ; 28 : 1502-21.
12. Elis S, Desmarchais A, Maillard V, Uzbekova S, Monget P, Dupont J. Cell proliferation and progesterone synthesis depend on lipid metabolism in bovine granulosa cells. *Theriogenology* 2015 ; 83 : 840-53.
13. Dunning KR, Anastasi MR, Zhang VJ, Russell DL, Robker RL. Regulation of fatty acid oxidation in mouse cumulus-oocyte complexes during maturation and modulation by PPAR agonists. *PLoS One* 2014 ; 9 : e87327.
14. Dunning KR, Cashman K, Russell DL, Thompson JG, Norman RJ, Robker RL. Beta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development. *Biol Reprod* 2010 ; 83 : 909-18.
15. Dunning KR, Robker RL. Promoting lipid utilization with L-carnitine to improve oocyte quality. *Anim Reprod Sci* 2012 ; 134 : 69-75.
16. Paczkowski M, Silva E, Schoolcraft WB, Krisner RL. Comparative importance of fatty acid beta-oxidation to nuclear maturation, gene expression, and glucose metabolism in mouse, bovine, and porcine cumulus oocyte complexes. *Biol Reprod* 2013 ; 88(111) : 1-11.
17. Auclair S, Uzbekov R, Elis S, et al. Absence of cumulus cells during *in vitro* maturation affects lipid metabolism in bovine oocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013 ; 304 : E599-613.
18. Aardema H, Gadella BM, Van de Lest CH, et al. Free fatty acid levels in fluid of dominant follicles at the preferred insemination time in dairy cows are not affected by early postpartum fatty acid stress. *J Dairy Sci* 2015 ; 98(4) : 2322-36.
19. Desmet KLJ, Van Hoeck V, Gagné D, et al. Exposure of bovine oocytes and embryos to elevated non-esterified fatty acid concentrations: integration of epigenetic and transcriptomic signatures in resultant blastocysts. *BMC Genomics* 2016 ; 17 : 1004.
20. Leroy JL, Vanholder T, Mateusen B, et al. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes *in vitro*. *Reproduction* 2005 ; 130 : 485-95.
21. Leroy JLMR, Van Hoeck V, Clemente M, et al. The effect of nutritionally induced hyperlipidaemia on *in vitro* bovine embryo quality. *Hum Reprod* 2010 ; 25 : 768-78.
22. Leroy J, Sturmey RG, Van Hoeck V, De Bie J, McKeegan PJ, Bols PEJ. Dietary fat supplementation and the consequences for oocyte and embryo quality: hype or significant benefit for dairy cow reproduction? *Reprod Domest Anim* 2014 ; 49 : 353-61.
23. Mesalam A, Kong R, Khan I, et al. Effect of charcoal:dextran stripped fetal bovine serum on *in vitro* development of bovine embryos. *Reprod Biol* 2017 ; 17 : 312-9.

- 24.** Van Hoeck V, Sturmey RG, Bermejo-Alvarez P, *et al.* Elevated non-esterified fatty acid concentrations during bovine oocyte maturation compromise early embryo physiology. *PLoS One* 2011 ; 6 : e23183.
- 25.** Van Hoeck V, Leroy JL, Arias-Alvarez M, *et al.* Oocyte developmental failure in response to elevated non-esterified fatty acid concentrations: mechanistic insights. *Reproduction* 2013 ; 145 (1) : 33-44.
- 26.** Marei WFA, Alvarez MA, Van Hoeck V, Gutierrez-Adan A, Bols PEJ, Leroy J. Effect of nutritionally induced hyperlipidaemia on *in vitro* bovine embryo quality depends on the type of major fatty acid in the diet. *Reprod Fertil Dev* 2017 ; 29 : 1856-67.
- 27.** Marei WFA, De Bie J, Mohey-Elsaeed O, Wydooghe E, Bols PEJ, Leroy J. Alpha-linolenic acid protects the developmental capacity of bovine cumulus-oocyte complexes matured under lipotoxic conditions *in vitro*. *Biol Reprod* 2017 ; 96 : 1181-96.
- 28.** Aardema H, Vos PL, Lolicato F, *et al.* Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. *Biol Reprod* 2011 ; 85 : 62-9.
- 29.** Fayezi S, Leroy JLMR, Ghaffari Novin M, Darabi M. Oleic acid in the modulation of oocyte and preimplantation embryo development. *Zygote* 2017 ; 26 : 1-13.
- 30.** Oseikria M, Elis S, Maillard V, Corbin E, Uzbekova S. N-3 polyunsaturated fatty acid DHA during IVM affected oocyte developmental competence in cattle. *Theriogenology* 2016 ; 85 : 1625-34.
- 31.** Elis S, Oseikria M, Vitorino Carvalho A, *et al.* Docosahexaenoic acid mechanisms of action on the bovine oocyte-cumulus complex. *J Ovarian Res* 2017 ; 10 : 74.
- 32.** Calder PC. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *J Nutr* 2012 ; 142 : 592S-9S.
- 33.** Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 2015 ; 1851 : 469-84.
- 34.** Elis S, Freret S, Desmarchais A, *et al.* Effect of a long chain n-3 PUFA-enriched diet on production and reproduction variables in Holstein dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2016 ; 164 : 121-32.
- 35.** Moallem U. Invited review: roles of dietary n-3 fatty acids in performance, milk fat composition, and reproductive and immune systems in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2018 ; 101(10) : 8641-61.
- 36.** Mattos R, Staples CR, Arteché A, *et al.* The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF2alpha, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *J Dairy Sci* 2004 ; 87 : 921-32.
- 37.** Aardema H, Lolicato F, Van de Lest CHA, *et al.* Bovine cumulus cells protect maturing oocytes from increased fatty acid levels by massive intracellular lipid storage. *Biol Reprod* 2013 ; 88(164) : 1-15.
- 38.** Lolicato F, Brouwers JF, De Lest CH, *et al.* The cumulus cell layer protects the bovine maturing oocyte against fatty acid-induced lipotoxicity. *Biol Reprod* 2015 ; 92 : 16.
- 39.** Aardema H, Van Tol HTA, Wubbolts RW, Brouwers JFHM, Gadella BM, Roelen BAJ. Stearoyl-CoA desaturase activity in bovine cumulus cells protects the oocyte against saturated fatty acid stress. *Biol Reprod* 2017 ; 96 : 982-92.
- 40.** Montani DA, Cordeiro FB, Regiani T, *et al.* The follicular microenvironment as a predictor of pregnancy: MALDI-TOF MS lipid profile in cumulus cells. *J Assist Reprod Genet* 2012 ; 29 : 1289-97.