

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de  
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université  
A.MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département des Sciences Biologiques de l'environnement  
Laboratoire Laboratoires Associé en Ecosystèmes Marins et Aquacoles

**THÈSE**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE**  
**DOCTORAT**

**Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Biodiversité, Santé et Environnement**

**Présentée par**  
**KHALED AMEL**

*Thème*

**Exploitation de l'impact du stress oxydatif et de l'état  
corporel sur les performances de reproduction bovine.**

**Soutenue le : 14/12/2020**

**Devant le Jury composé de :**

**Nom et Prénom**

**Grade**

**Mr AYAD ABDELHANINE**  
**Mr IGUEROUDA MOKRANE**  
**Mr BELLIK YUVA**  
**Mr BENHENIA KARIM**

**Professeur** Univ. de Béjaïa  
**Professeur** Univ. de Béjaïa  
**MCA** Univ. de Bordj Bou Arreridj  
**MRA** CRBt. Constantine

**Président**  
**Rapporteur**  
**Examineur**  
**Examineur**

**Année Universitaire : 2019/2020**

# Remerciements

---

## Remerciements

*Avant tous, je remercie dieu le plus puissant de m'avoir aidé et m'as donné du courage et de la patience pour mener à terme cette thèse.*

*Mes sincères remerciements vont aux membres de mon jury : Mr AYAD Abdelhanine, Mr BELLIK Yuva et Mr BENHENIA Karim, vous me faites l'honneur et le plaisir d'accepter à juger ce travail. Soyez assurés de mon profond respect et de ma gratitude.*

*A Mr IGUEROUADA MOKRANE, mon directeur de thèse, pour avoir encadré cette thèse. Je vous remercie particulièrement pour votre rigueur scientifique, votre exigence, votre disponibilité et vos encouragements en me faisant partager votre expérience et vos connaissances scientifiques depuis la licence. C'était un honneur pour moi de travailler avec vous et sous votre direction. Toutes mes reconnaissances pour vous. MERCI.*

*J'exprime ma gratitude à Mr BELLIK JUBA, pour sa contribution, son encouragement, sa disponibilité et son aide infini dans la réalisation de ce travail. Vraiment le mot merci ne suffit pas pour exprimer ma gratitude.*

*J'adresse tous mes remerciements et toute ma reconnaissance à Mr BOUDJELLABA SOFIANE ET Mr IDRES TAKFARINAS de m'avoir accueilli dans leurs laboratoire de recherche et d'avoir sacrifié leurs temps pour m'aider à la réalisation de mon échantillonnage à Alger ainsi qu'à tous l'ensemble de l'école national vétérinaire d'Alger.*

*Je remercie beaucoup toute l'équipe de l'abattoir des eucalyptus à Alger.*

*Je remercie Mr NAIT MOULOUE MOUHAMED, mon enseignant et mon encadreur durant mon master, vous m'avez appris la patience, l'humilité et la méthode de travail simple et efficace. Vous êtes un exemple d'un formateur complet et rare pas seulement d'ordre scientifique mais surtout humain. Merci.*

*Je remercie toute l'équipe du laboratoire Associé en Ecosystème Marins et Aquacoles pour leurs aides et leurs soutiens dans les moments difficiles, pour leurs amitiés, pour tous les moments qu'on a vécu ensemble, en particulier Mme AHLAM l'ingénieur du laboratoire et mon collègue Mr KHELLOUF ALAEDDINE, vous étiez ma deuxième famille.*

*A tous mes enseignants de l'université A. Mira de Bejaïa.*

## Remerciements

---

*Une pensée spéciale et chaleureuse pour mes parents ;*

*A papa, Tu m'as appris que le travail est un trésor. Tu es toujours là, tu m'encourages et me soutiens quelques soient les difficultés. Ce travail est aussi le tien. Merci beaucoup PAPA.*

*A maman, tu m'as nourri de ton lait et ta sueur. Tes prières, tes conseils, ton affection et ta compréhension sont toujours pour moi des piliers fondamentaux. Voici aujourd'hui un fruit de ta patience et des sacrifices consentis. Merci MAMAN chérie.*

*A mon mari, NADJIB, tu as été toujours à mes côté, merci pour ton soutien et ton encouragement infini pour arrivé jusqu'au bout de cette thèse. Sans toi je ne serais pas surement arrivé ici.*

*A mon fils ADEM-YAIL, mon prince que j'aime plus que tous dans ce monde, merci pour ton sourire qui me donne toujours la force de continuer malgré toutes les difficultés, que dieu te garde pour nous.*

*Un grand merci pour ma sœur SIHAM et son mari TOUFIK qui m'ont accueilli chez eux pendant toute la période de stage à Alger. Et sans oublié les deux princesse IMANE ET LINA.*

*A ma sœur la plus chère, SAMIA qui m'a soutenu sans cesse durant tout mon parcours et son mari ABD EL MALEK.*

*A ma sœur LAMIA et son mari ALLAOUA et leurs petite princesse ANFALE.*

*A ma petite sœur bien aimé MERIEM et mon petit frère mon prince MEROUANE.*

*Merci pour vos prières et votre soutien sans faille. Que l'esprit d'amour règne toujours autour de nous.*

*A ma belle famille ; mes belles sœurs, mes beaux frères et leurs familles, en particulier ma belle mère ZOULIKHA, et ma belle sœur NOURIA.*

*A mes cousins, cousines et toute la famille KHALED.*

*A mes oncles, tantes, et toute la famille ZERARGA.*

## Liste des abréviations

---

ABTS: Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGNE : Acides gras non-estérifiés.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AGMI : Acides gras mono-insaturés.

ARNm : Acide ribonucléique messenger.

ATP : Adénosine-Tri-phosphate.

BCS : Note d'état corporel (Body condition score).

BEN : Bilan énergétique négatif.

bFGF : Facteur de croissance basique des fibroblastes.

BMP : Protéine osseuse morphogénétique.

CAT : Catalase.

EDTA: Acide éthylènediaminetétraacétique.

EGF: Epidermal Growth Factor.

ERN : Espèces réactives de l'azote.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

FAS : Synthèse des acides gras (Fatty acids synthase)

FD : Follicule dominant.

FIV : Fécondation in vitro.

FSH : Hormone folliculostimulante.

GH : Hormone de croissance.

GnRH : Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires.

GPX : Glutathion peroxydase.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Glutathion

GSSG : Disulfure de glutathion.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène.

HO<sup>•</sup> : Radical hydroxyle.

IA : Insémination artificielle.

IGF: Insulin-like growth factors.

IGF-I: Facteur de croissance de l'insuline- I.

IGF-II: Facteur de croissance de l'insuline II.

## Liste des abréviations

---

ITEB : Institut Technique de l'Elevage Bovin.  
LDL : Lipoprotéine de faible densité.  
LH: Hormone lutéinisante.  
MDA : Malondialdéhyde.  
NADP<sup>+</sup>: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxydase.  
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.  
NEC : Note d'état corporel.  
O<sub>2</sub><sup>-°</sup>: Anion superoxyde.  
PGE : Prostaglandine E.  
PGF : Prostaglandine F.  
PGF2 $\alpha$  : Prostaglandine F2 $\alpha$ .  
RMF : Rupture des membranes fœtales.  
RO2<sup>°</sup>: Radical alkoxyde.  
ROOH: Hydroperoxyde.  
SAT: Statut antioxydant total.  
SO: Stress oxydatif.  
SOD: Superoxyde dismutase.  
SOPK : Syndrome des ovaires polykystique.  
T3/T4 : Hormone thyroïdiennes.  
TBA : Acide Thiobarbutirique  
TBARS: Substances réactive à l'acide thiobarbutirique.  
TCA : Acide Trichloroacétique  
TGF  $\beta$  : Facteur de croissance transformant.  
 $\alpha$ -TocH : Alphas-tocophérol.

## Liste des figures

---

Figure 1 : Chronologie du développement folliculaire.....	6
Figure 2 : le cycle œstral de la vache.....	10
Figure 3 : Interactions entre hypothalamus, hypophyse, ovaire et utérus au cours du cycle œstral .....	12
Figure 4: Diagramme récapitulatif des effets directs et indirects du bilan énergétique négatif sur la fonction de l'appareil reproducteur .....	18
Figure 5 : Système de notation de l'état corporel développé par Ferguson et al. ....	25
Figure 6 : Représentation schématique des mécanismes possibles par lesquels la nutrition pourrait affecter la fonction des follicules ovariens... ..	29
Figure 7 : représentation schématique du stress oxydatif .....	32
Figure 8 : Schéma représentant les différents moyens de défenses enzymatiques et non-enzymatiques contre les radicaux libres.....	38
Figure 9 : Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène.....	40
Figure 10 : Matrice de vache collectée après abattage .....	45
Figure 11 : Echographie des ovaires.....	46
Figure 12 : Collecte du liquide folliculaire.....	47
Figure 13 : Collecte des cellules oviductales... ..	47
Figure 14 : Collecte du liquide utérin... ..	48
Figure 15 : Effet du BCS (1, 2, 3, 4) sur le nombre de follicules.....	51
Figure 16: Effet du BCS (1, 2, 3, 4) sur le statut antioxydant total au niveau des cellules oviductales (A), liquide utérin (B), liquide folliculaire (C), ovaires (D), et du sérum (E).....	52
Figure 17 : Effet du BCS sur l'activité enzymatique de la catalase au niveau des cellules oviductales ( A), liquide utérin (B), liquide folliculaire (C), ovaires (D), et du sérum (E).....	54
Figure 18 : Effet du BCS sur la peroxydation lipidique au niveau des cellules oviductales ( A), liquide utérin (B), liquide folliculaire (C), ovaires (D), et du sérum (E).....	56

## Lises des tableaux

---

Tableau 1 : Données sur la reproduction de la vache .....	8
Tableau 2 : Durée des différentes phases du cycle sexuel de la vache.....	9
Tableau 3: Principaux critères d'appréciation de l'état corporel des vaches laitières	
Prim'Holstein .....	28
Tableau 4 : Espèces réactives oxygénées .....	34
Tableau 5 : Espèces réactives azotées .....	34

# Sommaire

---

## Sommaire

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : physiologie de l'appareil reproducteur de la vache.....</b>	<b>4</b>
1.1.Ovogenèse.....	4
1.2.Folliculogenèse.....	4
1.3.Formation du corps jaune.....	7
1.4.Le cycle œstral de la vache .....	7
1.4.1. Les différentes phases du cycle.....	8
1.4.2. Régulation hormonal du cycle œstral.....	10
<b>Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction.....</b>	<b>13</b>
2.1. Le statut énergétique dans la reproduction.....	13
2.2. Effet du bilan énergétique sur les performances de reproduction.....	18
2.2.1. Involution utérine.....	18
2.2.2. Reprise de la cyclicité et de l'œstrus.....	20
2.2.3. Détection des chaleurs.....	21
2.2.4. Fécondation et conception.....	22
2.2.5. Développement ovocytaire et embryonnaire.....	23
2.3. Estimation de la note d'état corporel.....	24
2.3.1. Critères de notation de l'état corporel.....	24
2.4. Importance et influence de l'état corporel sur la reproduction.....	29
<b>Chapitre 3 : le stress oxydatif.....</b>	<b>32</b>
3. Le stress oxydatif.....	32
3.1. Les radicaux libres.....	32
3.2.Sources des radicaux libres.....	32
3.2.1. Principaux radicaux libres.....	34
3.3.Les antioxydants.....	35
3.3.1. Le système antioxydant enzymatique.....	35
3.3.2. Le système antioxydant non-enzymatique.....	37
3.4.Les cibles moléculaires des radicaux libres.....	39

# Sommaire

---

3.4.1. La peroxydation lipidique.....	39
3.4.2. Oxydation des protéines.....	39
3.4.3. Dommage de l'ADN.....	39
3.5.Evaluation du stress oxydatif.....	40
3.5.1. Détermination directe des radicaux libres.....	40
3.5.2. Détermination indirectes des radicaux libres.....	41
3.5.2.1.Marqueurs de la peroxydation lipidique.....	41
3.5.2.2.Marqueurs de l'oxydation des protéines.....	41
3.5.2.3.Marqueurs de l'oxydation des acides nucléiques.....	42
3.6.Place actuelle du stress oxydatif dans la reproduction.....	42
<b>Chapitre 4 : Matériels et méthodes.....</b>	<b>45</b>
4.1.Récupération des matrices.....	45
4.2.Prélèvement du sang et préparation du plasma.....	45
4.3.Calcul du nombre des follicules et collecte du liquide folliculaire, des cellules oviductales, des ovaires et du liquide utérin.....	46
4.3.1. Nombre de follicule .....	46
4.3.2. Le liquide folliculaire.....	46
4.3.3. Les cellules oviductales.....	47
4.3.4. Le liquide utérin.....	47
4.3.5. Les ovaires.....	48
4.4.Mesure de l'activité antioxydante.....	48
4.4.1. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase.....	48
4.4.2. Statut antioxydant total.....	49
4.4.3. Evaluation de la peroxydation lipidiques ; dosage des TBARS.....	49
4.5.Analyse statistique.....	50
<b>Chapitre 5 : Résultats et discussion.....</b>	<b>51</b>
5.1. Résultats.....	51
5.1.1. Effet du BCS sur le nombre de follicule.....	51
5.1.2. Effet du BCS sur le statut antioxydant total (STA).....	51
5.1.3. Effet du BCS sur l'activité enzymatique de la catalase.....	54
5.1.4. Effet du BCS sur la peroxydation lipidique.....	56

# Sommaire

---

5.2. Discussion.....	58
Conclusion.....	67

## Introduction

---

La sélection animale a largement augmenté le potentiel de production des animaux et a transformé les vaches laitières en de vraies machines à produire. Le premier facteur de la production laitière est certainement l'alimentation, ainsi la composition du lait et la quantité produite sont étroitement liées à ce qui est offert aux vaches.

Cependant, de nombreux facteurs ont une part déterminante dans cette production (Roche. 2006), à savoir : le patrimoine génétique, la conduite d'élevage, le logement, la maîtrise sanitaire, sont autant d'éléments apportant leur contribution à une production optimale, néanmoins ils restent intimement liés aux performances de reproduction. Cette dernière est l'événement majeur sans lequel la vache ne peut donner naissance à son veau et par lequel ne peut initier sa lactation.

Aujourd'hui, la reproduction de la vache laitière connaît des dysfonctionnements majeurs malgré l'amélioration des connaissances concernant le déroulement du cycle œstral, les moyens de maîtrise thérapeutique tels que les protocoles de synchronisation des chaleurs, et les divers progrès zootechniques (Disenhaus et Grimard, 2005).

La réussite de la reproduction est une suite d'événements où la vache doit être cyclée, exprimer des chaleurs et être détectées, inséminée au bon moment, produire un ovocyte fécondable, l'utérus doit pouvoir accueillir l'embryon, lui permettre de s'implanter et de survivre durant toute la gestation (Lucy.2000).

Ainsi, l'efficacité de la reproduction est un facteur majeur affectant l'efficacité productive et économique de la production de viande et du lait. Pour maintenir la santé, la fonction de reproduction et la capacité de production, les vaches doivent disposer de réserves corporelles suffisantes, en particulier les vaches laitières (Torre et al, 2014).

Dans ce contexte, il a été démontré que la note d'état corporel (BCS) est associé à la fois phénotypiquement (Buckley et al. 2003) et génétiquement (Berry et al. 2003a) aux performances de reproduction. L'évaluation du BCS est un moyen efficace pour mesurer la quantité d'énergie métabolique stockée sous forme de graisse et de muscles sous-cutanés chez un animal (Wildman et al. 1982; Wagner et al. 1988; Edmonson et al. 1989 ; Houghton et al. 1990). Plusieurs auteurs recommandent d'évaluer le BCS car il reflète l'état nutritionnel (Short et al. 1990; Arregu'in et al. 1997), chez le bœuf (Rae et al. 1996) et les vaches laitières (Wildman et al. 1982 ; Edmonson et al. 1989).

## Introduction

---

La note d'état corporel peut constituer un trait indicateur efficace pour la sélection visant à réduire l'incidence des maladies, notamment le suivi des variations de l'état corporel considérées comme indicateur du statut énergétique des vaches (Wildman et al. 1982).

La relation entre le BCS et l'incidence des maladies métaboliques a été déjà décrite (Gearhart., 1990). L'état nutritionnel et la lactation sont les principaux facteurs influant sur la durée de l'ancœstrus postpartum chez les bovins (Short et Adams, 1988; Randel, 1990). Un certain nombre d'auteurs ont souligné les effets du BCS sur le vêlage et son influence sur la lactation, la santé et la fertilité chez les vaches laitières à forte production (Gearhart et al. 1990; Ruegg et al. 1992; Waltner et al. 1993; Ruegg et Milton, 1995; Heuer et al.1999).

Lorsque les vaches ont de faibles réserves d'énergie corporelle, elles risquent davantage de souffrir de maladies, de troubles métaboliques, d'échec de la reproduction et de la production de lait (Edmonson et al. 1989). Les vaches laitières ayant des réserves de graisse excessives au moment du vêlage risquent davantage de produire moins de lait et de souffrir de troubles de la santé et de la reproduction ; les génisses laitières présentant un excès de BCS ont des difficultés à être gestantes ainsi que des troubles du développement de la glande mammaire entraînant une baisse de productivité (Morrow, 1976; Fronk et al., 1980; Boisclair et al., 1986; Gearhart et al., 1990).

Les facteurs nutritionnels peuvent agir directement ou indirectement à l'aide de certaines hormones du métabolisme sur le développement folliculaire, la qualité ovocytaire ainsi que sur le développement embryonnaire. La période de transition, d'environ 4 semaines avant et 4 semaines après vêlage, est particulièrement importante pour la santé et la performance ultérieure des vaches laitières, qui sont exposées à des changements physiologiques sévères et au stress métabolique lié au déficit énergétique et à une forte production laitière (Grummer, 1993; Goff et Horst, 1997; Drackley, 1999), ceci engendre une augmentation des besoins en oxygène, ce qui entraîne à son tour l'augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène (Rizzo et al.2013).

Le stress oxydatif survient dans un organisme vivant lorsque la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dépasse la capacité du système antioxydant (Sies, 1991). La production excessive des radicaux libres peut endommager les macromolécules, y compris les lipides, les protéines, les polysaccharides et l'ADN, et

## Introduction

---

endommager ainsi les cellules et avoir des effets néfastes sur le fonctionnement métabolique. Ceci entraîne des lésions cellulaires et une susceptibilité croissante à divers troubles de santé, notamment le dysfonctionnement immunitaire, le sepsis, la mammite, l'acidose, la cétose, l'entérite, la pneumonie et d'autres maladies (Sordillo et Aitken, 2009 ; Celi, 2011).

Le stress oxydatif peut entraîner des modifications des fonctions physiologiques et métaboliques importantes. Chez la vache laitière, l'étiologie de certaines maladies et des troubles de reproduction sont une implication du stress oxydatif au cours de la période de transition (Harrison et al, 1984 ; Smith et al, 1984 ; Gröhnet et al, 1989, Lomba, 1996). Chez la femme, plusieurs études ont établi un lien entre l'infertilité et l'augmentation des niveaux de stress oxydatif dans les divers macro et microenvironnements critiques du corps, dont les différents liquides biologiques et les différents organes qui manifeste dans le processus de reproduction (Oral et al, 2006).

Cependant, chez les bovins il existe peu d'informations sur la relation entre le statut oxydatif et le BCS. Ainsi, dans le cadre du présent travail nous nous sommes fixés comme objectif l'étude de l'impact du BCS sur le statut oxydatif dans les différents compartiments du tractus génital de la vache.

Dans notre étude le BCS des vaches a été évalué avant abattage et les notes ont été attribuées de 1 à 4 à l'aide d'un vétérinaire, puis les matrices ont été récupérées juste après et les différents tissus à étudier ont été collectés. Le nombre de follicules a été estimé par échographie des ovaires. Nous avons également évalué le statut oxydatif dans le sérum, le liquide folliculaire, le liquide utérins, les cellules oviductales et les ovaires en explorant trois marqueurs biochimiques du stress oxydatif qui sont le statut antioxydant total (SAT), l'activité enzymatique de la catalase (CAT) et la peroxydation lipidique (test TBARS).

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache

---

## 1. Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache

### 1.1. Ovogenèse

Chez la vache, l'ovogenèse, débutée lors du développement embryonnaire, sera arrêtée à la prophase méiotique, laissant les ovocytes primaires entourés de cellules folliculeuses. Le nombre de ces follicules primordiaux est 235000 à la naissance chez la vache (Mailot et al. 2001), il diminuera avec l'âge par dégénérescence. Au cours de la succession des cycles, certains ovocytes iront jusqu'à la maturation et la ponte ovulaire, tandis que la majorité dégénérera dans les follicules atrésiques.

Seulement quelques centaines d'ovocytes primordiaux achèveront ainsi la première division de la méiose pour évoluer en ovocyte secondaire avec émission du premier globule polaire, suivie de la seconde division méiotique. C'est au stade métaphase de cette division qu'a lieu l'ovulation, et la maturation finale se déroulera lors de la fécondation, avec émission du second globule polaire (Bosio. 2006).

### 1.2. Folliculogenèse

La folliculogenèse est un phénomène continu avec succession des différentes étapes du développement du follicule. Ce dernier est une structure endocrine temporaire, depuis le moment où il sort de la réserve constituée lors du développement embryonnaire, jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation. (Voir figure 1).

A partir de la puberté, chaque jour, environ 80 follicules primordiaux (diamètre 30  $\mu\text{m}$ ) débutent leur croissance par multiplication des cellules folliculaires et développement de l'ovocyte (Fieni et al. 1995 ; Mialot et al. 2001). Cette croissance aboutit successivement aux stades de follicule primaire, secondaire puis tertiaire, à partir duquel commence la différenciation de l'antrum. Au cours de cette croissance, les follicules acquièrent également des récepteurs les rendant potentiellement capables de répondre à une stimulation gonadotrope : récepteurs à LH pour les cellules de la thèque interne et récepteurs à FSH pour les cellules de la granulosa (Ennuyer. 2000 ; Fieni et al. 1995).

La maturation qui s'ensuit et qui ne concerne que quelques centaines de follicules pour toute la période de la vie génitale, est communément décrite par les concepts de recrutement, sélection et dominance. Elle est sous l'influence des gonadotrophines puis l'émergence d'un ou de plusieurs follicules ovulatoires.

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache

---

Le recrutement est l'entrée en croissance terminale d'un groupe de follicules gonadodépendants. La sélection est l'émergence parmi les follicules recrutés. La taille folliculaire au moment de la sélection correspond globalement à la taille où apparaissent les récepteurs à LH sur la granulosa (massifs de cellules folliculaires). Enfin, la dominance correspond à l'amorce de la régression des autres follicules recrutés et au blocage du recrutement d'autres follicules.

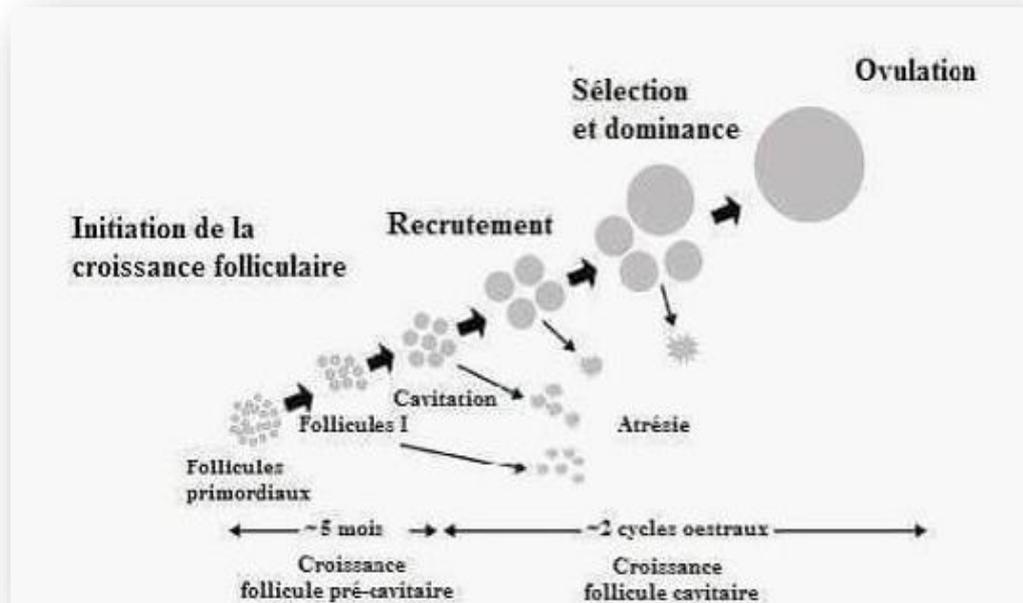
Avant la phase de recrutement, le développement folliculaire est très lent puisque le stade précavitaire n'est atteint qu'après 200 jours (Ennuyer. 2000 ; Fieni et al. 1995). Au cours de cette période, l'ovocyte passe de 20 à 120  $\mu\text{m}$  et s'entoure de la membrane pellucide. Les follicules dont la taille est supérieure à 5 mm sont recrutables, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles aux gonadotrophines. Après recrutement, la croissance folliculaire est extrêmement rapide (environ 1.5 mm/jour), essentiellement par gonflement de l'antrum.

Le moment de la sélection est difficile à déterminer chez la vache en raison de l'existence de vagues folliculaires qui entraînent la juxtaposition de phénomènes de régression et de recrutement. Chaque vague de croissance dure chez la vache une dizaine de jours (2 vagues par cycles) ou environ six jours (3 vagues par cycles). Plus précisément, les vagues débutent à J2, J8 et J14 pour des cycles à 3 vagues (J0 correspondant à l'ovulation) : c'est le cas le plus fréquents chez la génisse. Elles apparaissent à J2 et J11 pour des cycles à 2 vagues, essentiellement chez les vaches adultes (Ennuyer. 2000).

Pour chacune de ces vagues, qui surviennent au hasard entre les deux ovaires, un follicule grossit beaucoup plus que les autres. C'est ce follicule dominant qui sera susceptible d'ovuler si sa phase de maturité correspond à la lyse du corps jaune du cycle précédent. Ce follicule ovulatoire se caractérise par une taille maximum de 16 à 20 mm (des follicules de 8 à 10 mm peuvent toutefois ovuler), un nombre de cellules de la granulosa maximum ainsi qu'une atresie systématique des follicules de taille immédiatement inférieure.

La croissance terminale du follicule préovulatoire, qui se déroule pendant la phase folliculaire, est explosive, de l'ordre de 5 à 6 mm par jour (Fieni et al. 1995). Le follicule ovulera si le corps jaune du cycle précédent a régressé. En général, un seul follicule ovule par cycle ; la fréquence des ovulations multiples est de 3 à 6% chez la vach. (Bosio. 2006.)

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache



**Figure 1** : Chronologie du développement folliculaire chez la vache (Webb et al. 1999).

## ➤ Le liquide folliculaire

Le liquide folliculaire participe aux étapes finales de la maturation de l'ovocyte. Il contrôle avant, l'ovulation, les dernières modifications transcriptionnelles qui permettront à l'embryon d'effectuer ses synthèses protéiques au cours des premières divisions de segmentation. Le liquide folliculaire peut également protéger l'ensemble ovocyte cumulus contre les enzymes protéolytiques qui attaquent la couche de collagène de la paroi du follicule au moment de l'ovulation. Son rôle réel est finalement commun, il est présent sur le site de fécondation en parallèle avec la capacitation des spermatozoïdes dans l'oviducte, il a en outre un rôle dans le transport de l'ovocyte de l'ovaire à l'oviducte lors de l'ovulation (Hansen et al. 1991).

Diverses études réalisées chez des mammifères démontrent clairement que le liquide folliculaire contient des composants essentiels à la maturation et à la fécondation des ovocytes et des molécules liées à la prolifération et à la différenciation des cellules folliculaires (Gérard et al. 2002, Pinero-Sagredo et al. 2010) et qui induisent l'hyperactivation et la réaction acrosomique des spermatozoïdes (Zhu et al. 1994).

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache

---

Des études antérieures ont examiné la concentration des espèces réactives de l'oxygène (Oyawoye et al.2003, Das et al.2006) et d'autres biomarqueur (Wallace et al.2012) et ont tenté de corrélérer la biochimie du liquide folliculaire avec la compétence développementale des ovocytes et de l'embryon avec un succès variable.

Des taux élevés de vitamine C dans la sécrétion folliculaire (Pascut et al. 1970) et d'hypotaurine (Meizl *et al*, 1980) ont un rôle important dans la protection des gamètes et de l'embryon contre les phénomènes d'oxydation. Les acides aminés sont présents naturellement dans le liquide folliculaire et seraient également nécessaires pour la bonne réalisation des étapes précédant le développement embryonnaire (maturation folliculaire, ovulation et fécondation) (Waston. 2000). Parmi les différents acides aminés ; la taurine et l'hypotaurine sont des composés importants pour la survie et la capacitation du sperme, le processus de fertilisation et le développement embryonnaire. Ils sont présents dans les sécrétions génitales, l'hypotaurine aurait des effets protecteurs sur les dommages causés par le stress oxydatifs (Guerin et al, 1995).

## 1.3. Formation du corps jaune

Immédiatement après l'ovulation débute la phase lutéale. Ainsi, tout follicule rompu étant le siège de remaniements cytologiques et biochimiques qui conduisent à la formation du corps jaune. Cet organite contient des grandes cellules issues de la granulosa et des petites provenant de la thèque interne. En fin de croissance, il atteint un diamètre minimal de 20 mm (Mialot. 2001). Il sécrète essentiellement la progestérone, mais aussi des œstrogènes.

L'évolution du corps jaune chez la vache se réalise en trois temps : une période de croissance de 4 à 5 jours, au cours de laquelle il est insensible aux prostaglandines ; un temps de maintien d'activité pendant 8 à 10 jours, enfin, s'il n'y a pas eu de fécondation, une période de lutéolyse est observée macroscopiquement à partir du 17<sup>ème</sup> -18<sup>ème</sup> jours du cycle, aboutissant à la formation d'un reliquat ovarien appelé le corps blanc (Fieni et al. 1995).

## 1.4. Le cycle œstral de la vache

La vache appartient aux espèces à cycle continu, c'est-à-dire des cycles sans interruption et se succèdent toute l'année. La durée du cycle peut aller de 15 à 25 jours, avec une succession de plusieurs (2 ou 3) vagues folliculaires ; les variations

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache

dépendent de l'âge mais aussi de la race, de la saison et des conditions d'entretien de l'animal (Derivaux. 1971).

Par définition, les vaches sont en œstrus (ou chaleurs) quand elles acceptent la monte (en se tenant immobiles) par un taureau ou d'autres vaches. Cet œstrus dur en moyenne 12-15 heures (Derivaux. 1971), ainsi l'activité de l'ovaire est mise en évidence par l'apparition d'un comportement d'œstrus, celui-ci permettant de caractériser le début d'un cycle œstral.

Les données relatives à la reproduction de la vache sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 1** : Données sur la reproduction de la vache

Propriété	Donnée	Référence
Age de la puberté	6-7 mois	(Driancourt et al. 1991)
Saison sexuelle	Toute l'année	(Driancourt et al., 1991)
Type d'ovulation	Spontanée	(Derivaux, 1971)
Type de cycle	Polyœstrus	(Driancourt et al. 1991)
Moment de l'ovulation	10-12 heures après la fin de l'œstrus	(Driancourt et al. 1991)
Moment de l'implantation	35 jours	(DERIVAUX, 1971)
Durée de gestation	280 jours (210-360)	(Driancourt et al. 1991)
Nombre de veaux par portée	1 1-2	(Driancourt et al. 1991) (Mc donald, 1969)

## 1.4.1. Les différentes phases du cycle

Le cycle œstral de la femelle bovine est classiquement divisé en quatre périodes (voir figure 2) : (Marien. 1993)

- Le proœstrus : c'est une phase au cours de laquelle on assiste d'une part à la régression du corps jaune du cycle précédent et d'autre part au développement du follicule préovulatoire, c'est une phase d'imprégnation œstrogénique.

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache

- L'œstrus : phase d'acceptation du mâle, elle se traduit par des signes majeurs et mineurs, c'est une période de fin de maturation et ovulation ; c'est une phase d'imprégnation œstrogénique maximale.
- Le postœstrus ou métœstrus : cette phase correspond d'une part à l'ovulation et d'autre part à la formation et au fonctionnement du corps jaune ; c'est une phase d'imprégnation progestéronique.
- Le diœstrus : cette phase correspond au fonctionnement du corps jaune et sa lutéolyse ; c'est une phase d'imprégnation progestéronique.

Les durées des différentes phases du cycle sexuel de la vache sont regroupées dans le tableau 2 :

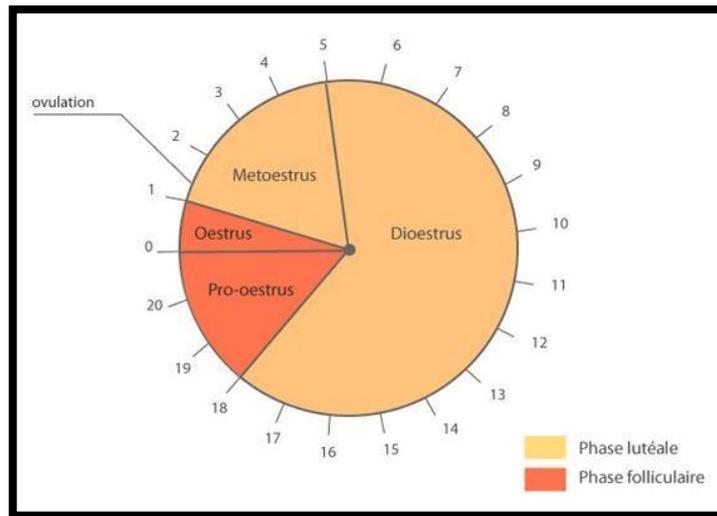
**Tableau 2 :** Durée des différentes phases du cycle sexuel de la vache.

<b>Proœstrus (jours)</b>	<b>Œstrus (heures)</b>	<b>Métœstrus (jours)</b>	<b>Diœstrus (jours)</b>
3-4 (Mc donald, 1969)	19 (Mc donald, 1969)	2 (Mc donald, 1969)	15 (Mc donald, 1969)

L'évolution cyclique comprend deux phases distinctes (voir figure 2) :

- La phase folliculaire ; œstrogénique qui se traduit cliniquement par la présence d'un écoulement muqueux de plus en plus abondant et filant, et qui correspond à la maturation des follicules de De Graaf.
- La phase lutéale ; progestéronique, qui s'étend au cours de l'activité du corps jaunes cyclique ; d'un écoulement muco-sanguinolent, d'une absence de sécrétions muqueuses et d'une consistance flasque des cornes utérine.

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache



**Figure 2 :** Le cycle œstral de la vache (**Reprologie.com**).

## 1.4.2. Régulation hormonale du cycle œstral

Le coupable du cycle œstral chez les vaches laitières est l'ovulation du follicule dominant (FD) avec des signes bien manifestés d'œstrus qui permettent une insémination et une gestation réussies. La physiologie du cycle sexuel est complexe et fait intervenir le système nerveux central (axe hypothalamo-hypophysaire) et l'appareil génital (ovaire et utérus) (Bruyas. 1991). Les interactions entre ces organes au cours d'un cycle sont représentées sur la figure 3.

L'initiateur et le régulateur fondamental de la fonction reproductrice est la GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone ou gonadolibérine*). Cette hormone est synthétisée et libérée par les neurones hypothalamiques, et se lie aux récepteurs spécifiques situés sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse, ce qui provoque la synthèse et la libération des gonadotrophines, FSH et LH (Fieni et al. 1995).

Au cours du metœstrus, après les 48 premières heures suivant l'œstrus, un développement du corps jaune et une augmentation du taux de sécrétion de la progestérone est observé, ainsi qu'une diminution des concentrations d'œstradiol. Il en résulte une augmentation progressive de la FSH responsable du développement des follicules qui ont un diamètre supérieur à 4mm au cours de la première vague de croissance folliculaire (Thibault et Levasseur. 2001).

Cependant, un follicule (généralement le plus grand de la vague) développe des quantités accrues de récepteurs LH, ainsi, ce follicule est sélectionné pour continuer à

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache

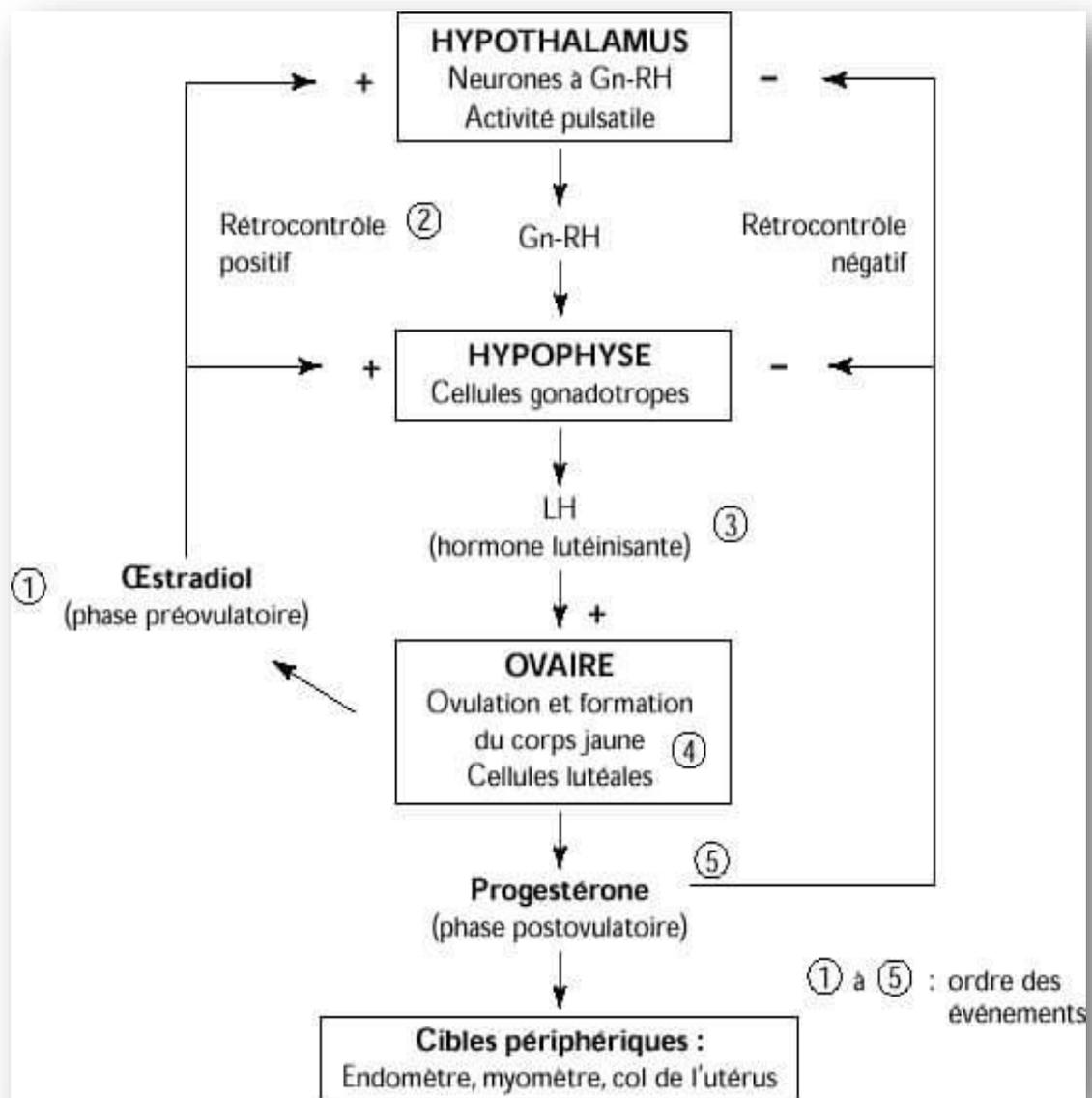
---

croître malgré la baisse des concentrations systémiques de FSH, ce qui empêche le développement d'autres follicules non sélectionnés de la vague (Ennuyer, 2000). La maturation du follicule dominant (FD) est maintenant associée à la fréquence d'impulsion de LH et de FSH à laquelle il est exposé, et par production de facteurs locaux, notamment les IGF (Sartori et al. 2004).

Le corps jaune néoformé se développe sous l'influence trophique de LH et de la prolactine, d'origine hypophysaire, il sécrète à la fois de la progestérone et de l'œstradiol, à l'origine d'un rétrocontrôle négatif marqué sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Lorsque la fréquence est d'un pic par heure, l'ovulation peut avoir lieu lors de la levée de l'inhibition de la progestérone sur la production de GnRH, à la suite de la lyse du corps jaune du cycle précédent (Ennuyer, 2000).

Le follicule dominant, libéré de l'imprégnation progestéronique peut ainsi poursuivre sa croissance sous l'effet de la libération de la FSH, il en résulte une synthèse maximale d'œstradiol, l'apparition d'un œstrus, une libération cyclique de LH puis l'ovulation (Whittier. 1993).

# Chapitre 1 : Physiologie de l'appareil reproducteur de la vache



**Figure 3 :** Récapitulatif du contrôle hormonal du cycle ovarien (Roche et al. 2007)

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

L'impact de la nutrition sur la reproduction est reconnu depuis longtemps, Aristote a écrit que la nutrition était le facteur environnemental le plus important dans le contrôle de la conception, actuellement, les effets de la nutrition sur la reproduction vont dans le même sens, les animaux en mauvaise condition, ou perdant de poids ont généralement des performances reproductives non satisfaisantes, cela est le résultat des stratégies alimentaires inadéquates et déséquilibrés. Après le vêlage, la vache dirige en priorité l'énergie consommée vers la production, et en second lieu vers la reprise de la condition de chair. C'est seulement une fois que la vache aura la capacité de faire face à ces besoins que le processus de reproduction sera initié. (Brisson, 2003).

### 2.1. Le statut énergétique dans la reproduction

La faible fertilité de la vache moderne est multifactorielle, impliquant une amélioration génétique, une nutrition inadéquate, une mauvaise gestion de la reproduction, une augmentation de l'incidence des maladies et l'entretiens des vaches. (Lucy, 2001). L'impact relatifs de ces divers facteurs sur l'infertilité n'est pas bien expliqué et compris. Il est généralement clair qu'il existe des interactions entre ces facteurs avec différentes contributions de chaque facteur individuel dans les élevages en fonction de la stratégie de gestion agricole spécifique. Il devient de plus en plus clair qu'une bonne gestion de la reproduction dépend d'une nutrition adéquate optimale de la vache dont les besoins nutritifs varient en fonction de l'état physiologique et des besoins nutritionnels spécifiques pour prévenir les troubles métaboliques (Boland et al. 2001 ; Overton et Waldron, 2004).

Chez les ruminants comme chez les autres mammifères, les altérations de l'énergie et du métabolisme des protéines en relation avec les variations du régime alimentaire peuvent influencer les fonctions reproductives à différents niveaux de l'axe gonadotropique. Par exemple, chez les vaches laitières, l'équilibre énergétique post-partum affecte le nombre de follicules, leur taux de croissance et de développement, et la taille du follicule ovulatoire (Lucy et al. 1991a; Boland et al. 2001). Chez cette espèce, le bilan énergétique négatif (BEN) est un facteur de risque important qui peut également atténuer la fréquence des pulsations LH (Butler, 2003) et est responsable d'une cyclicité post-partum tardive (Beam et Butler, 1999).

Cependant, il existe des preuves qui indiquent que les effets nutritionnels sur le recrutement et la croissance des follicules est faite principalement par le billet des

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

signaux métaboliques directs à l'ovaire qui varient avec l'état métabolique (Lucy, 2003, Webb et al. 2004). Chez les moutons, une augmentation de la teneur énergétique du régime alimentaire pendant quelques jours avant la reproduction durant la phase lutéale tardive améliore le taux d'ovulation (Downing et Scaramuzzi, 1991).

### **Effet hormonal**

De nombreux facteurs interdépendants sont impliqués dans les effets nutritionnels sur la fertilité chez les ruminants. Ces facteurs sont les nutriments eux-mêmes (acides gras, glucose et acides aminés) et les signaux hormonaux provenant de divers tissus périphériques ; l'insuline (pancréas), les IGF-I (foie), l'hormone de croissance (GH) (hypophyse), hormones thyroïdiennes (T3 / T4) et les adipokines (tissu adipeux) telles que la leptine, l'adiponectine et la résistine. L'augmentation de la production laitière est associée à un bilan énergétique négatif en début de lactation et à une fertilité réduite chez les bovins (Jorritsma et al. 2003, Brun-Lafleur et al. 2013).

Les follicules apparus devant un bilan énergétique négatif ont une croissance réduite et produisent moins d'œstradiol et nécessitent donc plus de temps et une taille plus importante pour atteindre un taux de sécrétion d'œstradiol capable de déclencher la poussée de LH et l'ovulation (Beam et Butler, 1999). Il a été suggéré que les effets néfastes du bilan énergétique négatif sur la fonction ovarienne sont exercés par une diminution de la pulsativité de la LH et une diminution des concentrations des IGF-I, d'insuline et de glucose (Beam et Butler, 1999). La lipomobilisation qui distingue ce problème, due au faible taux plasmatique d'insuline et à la concentration élevée de GH (hormone de croissance), est à la base de l'augmentation des acides gras non estérifiés (AGNE) dans le sang. Leurs métabolites ont un effet toxique direct sur les follicules avec l'induction de l'apoptose, de la nécrose et de l'arrêt du développement des cellules du cumulus (Jorritsma et al. 2004; Friggens, 2003). L'ovocyte est la structure qui souffre le plus des modifications des besoins en énergie du corps, au début du développement, la barrière hémato-ovocytaire est très perméable et l'ovocyte est presque directement en contact avec la circulation sanguine. La perméabilité de cette barrière semble augmenter lorsque les follicules sont au stade pré-ovulatoire, mais à cette étape, les métabolites sanguins sont capables de pénétrer facilement dans le liquide folliculaire et d'agir directement sur l'ovocyte (Fernandez et al. 2006).

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

Au stade pré-vêlage, des faibles taux plasmatiques de leptine peuvent être considérés comme marqueur pour mettre en évidence une première ovulation post-partum retardée et une durée plus longue de l'intervalle de conception au vêlage. À ce stade, la concentration de leptine est directement liée au BCS de la vache et peut indiquer la quantité de tissu adipeux disponible pour la lipomobilisation (Wathes et al. 2007). Le bilan énergétique négatif est capable de modifier négativement l'activité ovarienne également par d'autres voies métaboliques.

L'insuline plasmatique, les IGF-1 et la diminution de la leptine ont des effets directs tels que la diminution de la sensibilité ovarienne aux gonadotrophines hypophysaires, et des effets indirects sur le développement folliculaire, tels que la fréquence de sécrétion des pulses plus basses de la LH hypophysaire. L'insuline a un effet positif sur la sensibilité ovarienne aux gonadotrophines, ce qui permet un meilleur recrutement des petits follicules et le développement du follicule dominant. (Rossi et al. 2008). Au cours de la première semaine après le vêlage il y a une forte diminution des taux plasmatiques d'IGF-1 et cette baisse influe directement sur plusieurs paramètres de reproduction comme la durée du vêlage à la première ovulation et aux intervalles de conception. L'IGF-1 est essentiel pour améliorer l'activité des gonadotrophines sur les structures ovariennes et pour stimuler la prolifération cellulaire et la stéroïdogenèse folliculaire (Wathes et al. 2007). Contrairement à l'IGF-1, les faibles taux plasmatiques d'insuline n'ont pas montré d'influence forte sur la prolifération des cellules folliculaires, mais peuvent participer à la régulation de la production d'œstrogènes en cas de diminution importante de l'énergie (Wathes et al. 2007), en particulier, ce dernier peut entraîner des niveaux inférieurs de 40 à 50% lors du bilan énergétique négatif au cours des deux premières semaines suivant le vêlage et peut refléter la même concentration moléculaire dans le liquide folliculaire (Fenwick et al. 2008; Fitzpatrick et al. 2007).

### **Effet du glucose et des acides gras**

La concentration du glucose dans le sang au cours d'un bilan énergétique négatif est considérablement réduite. Cependant, le glucose sanguin des vaches est physiologiquement bas en raison de la réduction de l'absorption ruminale du glucose après une fermentation presque complète en acide propionique, ceci influence directement la concentration de glucose dans le liquide folliculaire (Lopez et al. 2003; Martin et al. 2008). Bien que le follicule soit capable de contrôler les fluctuations de

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

la disponibilité du glucose, il en résulte généralement des concentrations dans le liquide folliculaire supérieures à celles observées dans le sang, au niveau intrafolliculaire les concentrations de glucose diminuent également autour de la mise-bas (Leroy et al. 2004). Il a été démontré que le glucose est essentiel pour une maturation adéquate des ovocytes, affectant l'expansion des cumulus, la maturation nucléaire, le clivage et le développement des blastocystes. Bien que l'ovocyte n'utilise pas directement le glucose comme source d'énergie, il doit être facilement disponible pour les cellules du cumulus pour la glycolyse afin de fournir du pyruvate et du lactate, substrats préférés des ovocytes pour la production d'ATP (Cetica et al. 2002). Par conséquent, il est possible que l'hypoglycémie au début de la lactation compromette la compétence des ovocytes chez les vaches laitières.

La réduction de la fertilité associée à un faible apport en nutriments et à un BEN est, au moins en partie, induite par les effets néfastes sur l'immunité et la santé post-partum. L'exposition *in vitro* des cellules immunitaires à des AGNE à des concentrations comparables à celles observées chez les vaches laitières fortes productrices en post-partum, s'est avérée néfaste (Lacetera et al, 2004). Les effets utérins du bilan énergétique négatif sont identifiés, tels qu'une involution utérine retardée après le vêlage (30 à 40 jours) et une incidence majeure d'endométrite de troupeau. Ces faits, sont responsables d'un fort retard dans la reprise des fonctions reproductives normales après le vêlage, et qui sont dus à une altération de l'expression de certains gènes liés au BEN qui régulent la réponse immunitaire du système reproducteur et à la remise en état de la taille utérine normale (Boland et al. 2001). Le bilan énergétique négatif est le principal facteur nutritionnel réduisant l'efficacité de la reproduction des vaches laitières.

Cependant, une lipolyse accrue de la graisse corporelle se produit également pendant les périodes de BEN, entraînant une augmentation des concentrations sanguines d'AGNE (Rukkwamsuk et al. 2000). Chez les bovins, des concentrations accrues des AGNE dans le sang aient été reflétées dans le microenvironnement folliculaire ovarien. (Leroy et al. 2005). Ainsi, dans l'ensemble, les AGNE peuvent affecter la croissance et la fertilité folliculaires en agissant directement sur les différentes cellules ovariennes, y compris l'ovocyte dans le follicule en croissance, et également sur le développement de l'ovocyte fécondé. Une étude récente a montré que l'exposition des ovocytes en maturation à des concentrations élevées des AGNE avait un impact négatif sur la fertilité, non seulement par la réduction de la capacité

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

de développement de l'ovocyte mais aussi par la qualité, la viabilité et la capacité métabolique des embryons précoces (Van Hoeck et al. 2011). Il a été suggéré que ces effets négatifs des AGNE sur l'embryon pourraient être une conséquence de la déstabilisation du métabolisme par modification de l'expression de certains gènes du métabolisme ; gènes REDOX et gène FAS (Fatty acid synthase) en particulier de la  $\beta$ -oxydation mitochondriale des acides gras dans l'ovocyte (Van Hoeck et al. 2013). Il a été démontré que les cellules du cumulus bovines sont capables de protéger les ovocytes en cours de maturation contre les effets néfastes potentiels de l'augmentation des concentrations locales en acides gras par le stockage intracellulaire des lipides (Aardema et al. 2013).

D'après Overton et al, (2017), un indice d'activité hépatique inférieur présente plus de troubles de santé après la mise-bas et donc de mauvaises performances de reproduction (Overton et al, 2017). Une importante mobilisation des AGNE chez la vache laitière est associée à un stress oxydatif qui peut conduire à une inhibition de la voie de transduction du signal d'insuline dans le foie et les tissus périphériques conduisant à une stéatose hépatique et donc endommager les hépatocytes (Xu et al, 2014).

Chez la vache laitière, une alimentation enrichie en acides gras à longue chaîne augmente le nombre de follicules moyens (6 à 9 mm) et le diamètre du follicule pré-ovulatoire (Lucy et al. 1991b). Ces effets positifs des acides gras à longue chaîne sur la taille du follicule dominant ont été confirmés par plusieurs études (Mattos et al. 2000; Robinson et al. 2002; Ambrose et al. 2006; Bilby et al. 2006). De plus, différents effets ont été observés sur la croissance folliculaire entre les acides gras mono-insaturés (AGMI) et les acides gras polyinsaturés (AGPI): les AGPI favorisent davantage la croissance folliculaire que les AGMI (Bilby et al. 2006). Chez les vaches laitières, les régimes enrichis en acides gras (à la fois les AGMI et les AGPI) augmentaient considérablement la concentration de cholestérol dans le plasma, le liquide folliculaire et le corps jaune (Staples et al. 1998).

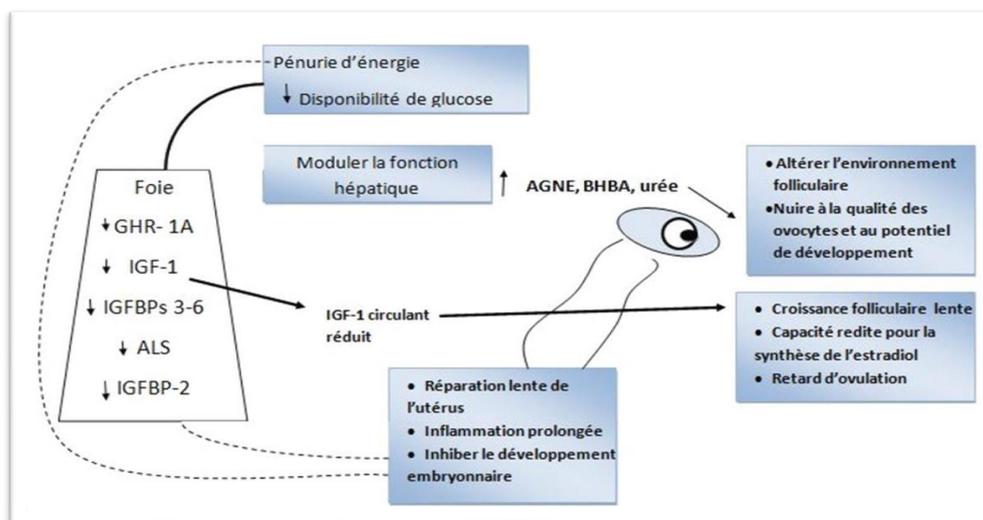
Il est bien connu que le cholestérol est le précurseur de la synthèse de progestérone par les cellules ovariennes. Ainsi, une fertilité plus élevée chez les bovins nourris avec des régimes enrichis en AGPI peut être associée à une augmentation des concentrations circulantes de progestérone dans les phases lutéales, à la fois avant et après l'insémination artificielle. Plusieurs revues ont indiqué que les suppléments alimentaires contenant de la graisse influent sur la reproduction des

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

vaches, notamment sur la croissance folliculaire et la production de stéroïdes, la maturation des ovocytes et le développement de l'embryon (Wathes et al. 2007; Santos et al. 2008; Thatcher et al. 2011).

### Effet des antioxydants

Outre les modifications du bilan énergétique, les concentrations sanguines d'antioxydants tels que le  $\beta$  - carotène et les vitamines A et E ( $\alpha$ -tocophérol) sont également régulées temporellement et diminuent autour de la parturition (Goff et al. 2002). Étant donné que ces composés jouent un rôle important dans la fonction immunitaire, de faibles concentrations de ces vitamines ont été associées à une susceptibilité accrue aux maladies et, potentiellement, à une baisse de la fertilité chez les vaches laitières. La concentration du bêta-carotène et, surtout, la vitamine E est moins présente chez les vaches qui n'ont pas expulsé leur placenta (rétention placentaire) que chez les vaches en bonne santé (LeBlanc et al. 2004). Pour chaque augmentation de 1  $\mu\text{g}$  / ml de vitamine E au cours de la semaine précédant la parturition, le risque de rétention du placenta a diminué de 21%. De plus, la baisse des concentrations circulantes de  $\beta$ -carotène, de vitamine A et de vitamine E associée à la parturition est plus accentuée chez les vaches ayant développé une mammite au cours des 30 premiers jours après vêlage que chez les vaches en bonne santé (LeBlanc et al. 2004). Au cours de la dernière semaine avant vêlage, une augmentation de 100 ng/ml de la concentration de vitamine A est associée à une diminution de 60% du risque de mammite clinique (LeBlanc et al. 2004).



**Figure 4:** Diagramme récapitulatif des effets directs et indirects du bilan énergétique négatif sur la fonction de l'appareil reproducteur (Whates et al. 2007 modifié).

### 2.2. Effet du bilan énergétique sur les performances de reproduction

#### 2.2.1. Involution utérine

Après le vêlage, la taille et le poids de l'utérus diminuent rapidement en raison de la vasoconstriction et de la réduction de la taille des cotylédons (Gier et Marion, 1968). Il y a dissolution et décollement des couches superficielles des cotylédons avec augmentation de la production de débris cellulaires et de fluides. La majeure partie de la couche nécrotique est retirée au bout de 10 à 14 jours (Gier et Marion, 1968). Les contractions péristaltiques de l'utérus se poursuivent pendant les premiers jours, probablement sous l'influence de la prostaglandine PGF<sub>2</sub> qui reste élevée, mais diminue au cours des 20 jours suivant le vêlage (Lindell et Kindahl, 1982). Des modifications du col de l'utérus entraînent une diminution de la taille et du diamètre du col utérin d'environ 15 cm après le vêlage à 9–11, 7–8 et 5–6 cm aux jours 10, 20 et 60 après le vêlage (Gier et Marion, 1968). L'involution physique, c'est-à-dire le retour à la taille normale avant la grossesse, s'achève 30 à 40 jours après le vêlage. L'endomètre risque de ne pas permettre un développement embryonnaire normal et la reconnaissance maternelle de la grossesse avant 60 jours environ après le vêlage. Les principaux facteurs qui influent sur la progression de l'involution sont la rétention placentaire, la dystocie et la survenue de troubles métaboliques telle que la fièvre vitulaire (Gier et Marion, 1968; Morrow et al. 1966).

La santé utérine post-partum joue un rôle central dans la détermination de l'efficacité de la reproduction des troupeaux laitiers. Les infections locales post-partum de l'utérus retardent l'involution utérine, provoquent une inflammation de l'endomètre, peuvent retarder la première ovulation post-partum, réduire le taux de conception depuis la première insémination et augmenter le risque de réforme pour stérilité (Sheldon, 2004). Les problèmes utérins peuvent également avoir un effet négatif sur la consommation de matière sèche chez les vaches, nuire au bien-être et provoquer un stress, entraînant probablement une sécrétion élevée de cortisol (Wischnal et al. 2001).

L'involution utérine s'accompagne de plusieurs pathologies telles que l'endométrite et la rétention placentaire. La rétention des membranes fœtales est due à toute interférence avec le détachement normal des cotylédons de la caroncule, ce qui empêche son expulsion dans les 12 heures suivant le vêlage. Les enzymes impliquées

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

dans le remodelage des tissus, telles que les collagénases et les protéases, jouent un rôle important de concert avec les contractions du myomètre au début de la période du post-partum. La diminution de la fonction des neutrophiles, qui se manifeste par une diminution de l'attraction placentaire, est considérée comme une cause primaire (Kimura et al. 2002). Un stress métabolique accru pourrait être impliqué dans la synthèse réduite du cortisol, de l'œstradiol et de la prostaglandine PGE et PGF avant la mise-bas chez des vaches atteintes de rétention des membranes fœtales (RMF) (Wischrall et al. 2001). Les RMF retardent l'involution utérine, prédisposent les vaches à l'endométrite ou à la métrite et réduisent la fertilité (Gröhn et Rajala-Schultz, 2000; Maizon et al. 2004).

La nutrition joue un rôle important en provoquant la RMF, les facteurs impliqués sont: un BCS élevé au vêlage, des carences alimentaires en vitamines A, D et E et des carences en sélénium, en iode et peut-être en zinc (Gupta et al. 2004; Han et Kim, 2005). L'hypocalcémie est également un facteur de risque clé pour la RMF (Houe et al. 2001). Ainsi, le maintien d'une physiologie utérine normale grâce à une bonne gestion nutritionnelle pendant les périodes sèches et de transition est important pour réduire l'incidence de la RMF, facteur de risque important pour l'endométrite dont la présence a un effet négatif sur la reproduction (Sheldon, 2004).

### 2.2.2. Reprise de la cyclicité et de l'œstrus :

Après le vêlage, les effets rétroactifs des fortes concentrations de stéroïdes en fin de gestation sur l'hormone gonadotropines (GnRH) sont supprimés. Ceci est suivi par une augmentation des concentrations de FSH pendant 3 à 5 jours entre les jours 7 et 14 après vêlage. L'augmentation de la FSH entraîne l'émergence de la première vague folliculaire post-partum (Savio et al. 1990a). Des changements métaboliques importants sont associés à la parturition et au début de la lactation. Cette période est cruciale pour le BEN notamment au début du post-partum et qui induit des changements métaboliques importants, qui ont un impact négatif sur l'efficacité de la reproduction (Jorritsma et al. 2003). La capacité de chaque vache à s'adapter physiologiquement à ces changements métaboliques et à limiter la quantité de mobilisation des tissus corporels a une influence importante sur la fertilité inhérente de la vache (Jorritsma et al. 2003).

Après le vêlage, les concentrations de l'hormone de croissance (GH) augmentent, ce qui induit une lipolyse et inhibe la sensibilité des tissus périphériques

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

à l'insuline. L'augmentation de la GH induit un état catabolique et entraîne une perte de BCS et du poids des vaches (Lucy, 2003). Il y a aussi une diminution des récepteurs de GH dans le foie, ce qui entraîne une baisse des concentrations d'IGF-I malgré l'augmentation des concentrations de GH au début du post-partum (Vandehaar et al. 1995; Lucy, 2001). Cette baisse des IGF-I est un indicateur important de l'état nutritionnel de l'axe hypothalamo-hypophysaire-ovarien au début du post-partum.

Les facteurs clés permettant de déterminer si le premier follicule dominant ovule ou non sont: la taille du FD, la fréquence des pulls LH à laquelle il est exposé et les concentrations systémiques d'IGF-I. Les vaches peuvent avoir deux, trois ou quatre vagues folliculaires au cours des cycles œstraux qui se reproduisent au début du postpartum (Savio et al. 1990a; Sartori et al. 2004). Certains facteurs régulant la fréquence des impulsions de LH, tels que la concentration de progestérone, peuvent affecter la durée de la dominance des FD séquentiels qui se développent au cours de la phase lutéale du cycle œstral. Ainsi, les concentrations plus faibles de progestérone peuvent permettre une augmentation subtile de la fréquence des impulsions de LH et permettre au FD de continuer à croître plutôt que de subir une atresie, empêchant ainsi le développement d'une troisième vague folliculaire. Le nombre de vagues folliculaires affectera la durée de dominance du FD et, en général, plus la durée de dominance du follicule pré-ovulatoire sera courte, plus le taux de conception de l'insémination artificielle (IA) sera élevé. (Austin et al. 1999). Ainsi, la nutrition, en modifiant les taux métaboliques de la progestérone, peut affecter le nombre de vagues folliculaires par cycle, et donc, indirectement, les taux de conception.

Les facteurs qui influent sur l'ovulation du premier cycle post-partum sont le BCS, le rendement, la saison de parité et la maladie (Beam et Butler, 1997; Stagg et al. 1998). Le BCS au vêlage, à l'insémination et la perte de BCS après le vêlage peuvent augmenter le pourcentage des vaches non cycliques à la fin de la période d'attente volontaire. (Santos et al. 2009). Les vaches qui mettent bas dans un BCS (<2,5) sont plus susceptibles d'avoir une période d'œstrus prolongée en raison, probablement, d'une fréquence de pulls basse de LH et d'une réduction subséquente des concentrations d'œstradiol inefficaces pour induire un pic de LH puis une ovulation. Les vaches ayant un faible BCS après vêlage présentent un petit diamètre du FD, des concentrations d'insuline et d'IGF-I réduites et une faible fréquence de pulls de LH. Ceci, à son tour, signifie que ces vaches sont plus susceptibles d'être abattues pour infertilité.

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

### 2.2.3. Détection des chaleurs :

L'efficacité de la détection de l'œstrus chez les vaches au niveau d'une exploitation bovine est variable mais souvent faible (Stevenson, 2001). Cela constitue un obstacle majeur à la réalisation de l'IA et d'avoir des taux élevés de conception. Le problème est dû à la courte durée de l'œstrus et exacerbé par l'apparition de comportements œstraux de faible intensité. L'intensité de l'expression de l'œstrus est affectée par le logement d'élevage, la surface du plancher, le rendement, la boiterie et le nombre de vaches dans l'œstrus regroupé (Diskin et Sreenan, 2000). Les températures ambiantes élevées provoquant un stress thermique entraînent une léthargie physique et réduisent l'efficacité de la détection des chaleurs chez les vaches (Peralta et al. 2005). Le moment optimal pour inséminer les vaches est de 4 à 12 heures après l'observation de l'œstrus (Dransfield et al. 1998), car la vache ovule généralement 24 à 28 h après le début de l'œstrus. L'ovulation est induite par le feedback positif de l'œstradiol sur la sécrétion de GnRH, ce qui entraîne les pulls de LH / FSH pré-ovulatoire puis l'ovulation. Ainsi, l'atténuation de l'augmentation de l'œstradiol le jour de l'œstrus pourrait influencer sur le moment de la pulsation de LH / FSH, et donc sur le moment de l'ovulation. Cela pourrait potentiellement affecter le moment optimal pour inséminer les vaches avec des concentrations réduites d'œstradiol le jour de l'œstrus. La réduction aigüe du plan nutritionnel des génisses atténué à la fois l'augmentation progressive de l'œstradiol et l'ampleur des pulls de LH (Mackey et al. 1999). Il existe une relation significative entre les concentrations maximales d'œstradiol en præstrus et la réduction des taux de gestation chez les génisses présentant une augmentation atténuée de l'œstradiol. Cela met encore une fois en évidence que la nutrition peut affecter indirectement les concentrations d'œstradiol le jour de l'œstrus, ce qui peut également influencer sur la durée et l'intensité du comportement de l'œstrus et peut-être aussi sur la fertilité en modifiant le moment de l'ovulation chez la vache.

### 2.2.4. Fécondation et conception :

Le moment optimal pour inséminer la vache est de 12 à 18 h avant l'ovulation avec du sperme viable, frais ou congelé. La durée de vie fertile des spermatozoïdes de taureau est de 24 à 30 h (Dalton et al. 2001), mais la durée de vie viable de l'ovocyte ovulé est de seulement 6 à 12 h (Gordon, 1996). L'élevage de génisses qui est basé sur des signes secondaires d'œstrus, tels que le détecteur des chaleurs déclenchés, les

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

signes comportementaux non permanents basés sur le port du menton ou la palpation rectale, entraîne une réduction significative des taux de conception (Donovan et al. 2003). Les vaches qui développent une hypocalcémie, une cétose, une acidose ou un abomasum déplacé peuvent présenter un taux de conception inférieur au premier service et nécessitent plus d'inséminations par gestation ou prendre plus de temps après la mise bas pour devenir gestante (LeBlanc et al. 2002; Kim et Kang, 2003; Gilbert et al. 2005). Ces maladies métaboliques sont des facteurs de risque clés pour le développement de problèmes gynécologiques pendant ou après la parturition et au début du post-partum pendant la période critique de l'involution utérine.

Plusieurs études montrent que le retard de la conception peut être lié à une maladie subclinique, à des conditions environnementales et sociales stressantes, ainsi qu'au stress nutritionnel (López-Gatiús et al. 2005).

Ainsi, il est clair qu'une gestion nutritionnelle inadéquate de la vache pendant la période sèche et après le vêlage a un impact négatif important sur le taux de conception, les services par conception et l'intervalle entre vêlages et conception. Ces effets de la nutrition se manifestent par différents mécanismes, notamment par les changements de BCS, l'incidence accrue de maladies métaboliques, la précipitation des profils métaboliques anormaux, l'incidence accrue de problèmes gynécologiques et leurs effets néfastes sur l'utérus, ainsi que les profils anormaux de cytokines et d'endotoxines produites qui peut agir localement ou systématiquement sur l'embryon en développement.

L'apport en matière sèche et le bilan énergétique pendant la période sèche et la période de transition après le vêlage ont une influence cruciale sur la santé du troupeau, la productivité et la reproductivité. Ils affectent les paramètres endocriniens, les hormones métaboliques et leurs concentrations qui entraînent par la suite des problèmes lors de la mise bas ou après la mise bas (Grummer et al. 2004).

Les vaches sur-conditionnées ont une incidence accrue de problèmes avant et après parturition (Zula et al. 2002b; Lacetera et al. 2005). Cependant, il est de plus en plus évident que les augmentations massives de BCS, suivies de pertes subites de celui-ci au début du post-partum ne sont pas bien tolérées par la vache. Les vaches sur-conditionnées perdent plus de BCS après vêlage (Zula et al. 2002b; Jorritsma et al. 2003).

En conséquence, il est plus important de conditionner la physiologie et le métabolisme de la vache à une modération des modifications de BEN et à une perte

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

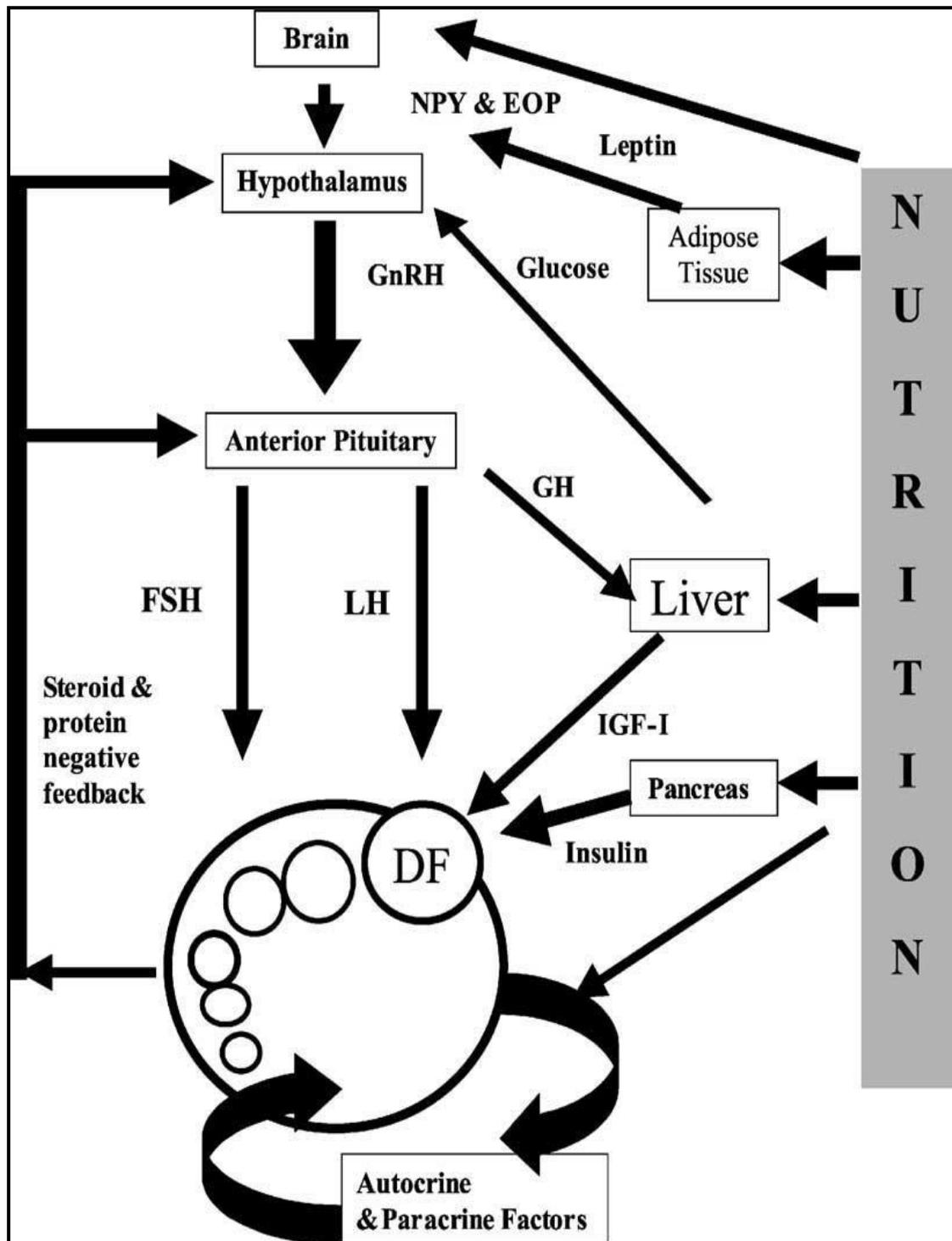
minimale de BCS (<0,5 unité) afin d'atténuer les modifications massives des métabolites et des hormones métaboliques survenant au début du post-partum. Ainsi, minimiser les changements de BCS avant et après le vêlage, le maintien d'une fonction optimale du rumen et les stratégies de prévention visant à prévenir les troubles métaboliques sont des objectifs de gestion clés, associés à l'amélioration du confort des vaches et à la réduction du stress, afin d'améliorer la santé, la productivité et la capacité de reproduction des vaches laitières. En outre, il est de plus en plus important d'atteindre les taux élevés de gestation des troupeaux en consommant des régimes riches en fibres au début de la période sèche afin de minimiser le gain de BCS et de maintenir une variation de 0,5 unité (Overton et Waldron, 2004).

### 2.2.5. Développement ovocytaire et embryonnaire :

L'augmentation de la mortalité embryonnaire est l'une des principales raisons de la réduction des taux de conception chez les vaches laitières (Sartori et al. 2004). Cet effet peut se manifester dès le cinquième jour après l'IA. Il n'est pas encore clair si cette perte accrue est due à l'ovulation d'un ovocyte incompetent pouvant être fécondé mais incapable de se développer ou due à une réduction du développement embryonnaire à la suite d'aberrations environnementales oviducto-utérines.

Il est clair que des concentrations élevées de progestérone sont réduites par un apport élevé en matière sèche (Sangsritavong et al. 2002) et que la perte d'embryons est accrue chez les vaches présentant des concentrations réduites en progestérone 4 ou 7 jours après l'insémination, en partie à cause de la présence de concentrations réduites d'interféron (Mann et al. 2006; Stronge et al. 2005).

Ainsi, il apparaît que la compétence des ovocytes et la survie des embryons seront compromises. La nutrition est également impliquée dans la compétence des ovocytes car, pendant le BEN, les niveaux d'acides gras non estérifiés sont élevés, ce qui peut compromettre la capacité de développement des ovocytes au début de la période postpartum (Leroy et al. 2005).



**Figure 5** : Représentation schématique des mécanismes possibles par lesquels la nutrition pourrait affecter la fonction des follicules ovariens. (NPY: neuropeptide Y; EOP: peptide opioïde endogène) (Diskin et al. 2003).

### 2.3. Estimation de la note d'état corporel :

L'état énergétique d'un animal est très difficile à approuver, car l'évaluation de la valeur énergétique de la ration est insuffisante et les quantités ingérées varient beaucoup entre les individus, surtout pendant le post-partum, et particulièrement pour les fourrages. La notation de l'état corporel, qui évalue l'état de la couverture grasseuse des vaches, est la méthode la plus fréquemment utilisée. Elle présente l'avantage de son faible coût et sa facilité de mise en œuvre. Son interprétation est devenue plus fiable par rapport à celle de la pesée, rendue délicate par les variations de poids des réservoirs digestifs et utérins. (WOLTER, 1992), cette technique peut être complémentaire des dosages chimiques.

La notation de l'état corporel s'est développée au cours des quarante dernières années pour fournir aux éleveurs et aux vétérinaires un outil concret d'usage et crédible, permettant une estimation fiable de l'état d'engraissement. Cet indicatif du bilan énergétique n'est pas utilisé uniquement dans la conduite des élevages et l'évaluation du système nutritionnel du troupeau, mais de plus dans de nombreuses investigations pour évaluer ses relations avec les paramètres de production et de reproduction.

L'attribution d'une telle note exige une disposition des critères les plus objectifs possibles. Plusieurs grilles se sont développées surtout selon les races. L'équivalence entre chacune d'elles est assez facile puisque les repères anatomiques étudiés pour l'affectation de la note sont assez identiques.

#### 2.3.1. Critères de notation de l'état corporel :

Jusque dans les années 1970, aucun moyen simple d'évaluation des réserves énergétiques n'était disponible (Roche et al. 2004). Un premier système de notation de l'état corporel a initialement été développé par Jefferis en 1961, pour les brebis (Jefferis, 1961). Il s'agissait d'évaluer l'état d'engraissement de celles-ci par palpation des épines dorsales et des processus transverses des vertèbres lombaires. La notation s'effectuait sur une échelle de 0 à 5, 0 étant la limite viable et 5 étant attribuée à un animal très gras (Edmonson et al. 1989).

Ce système a été adapté pour la notation des vaches à viande par Lowman *et al.* en 1976, cité par Edmonson (Edmonson et al. 1989). Ceux-ci ont ajouté à la première échelle un système à demi-point étalant la notation sur 11 points mais aussi la palpation de l'attache de queue (Edmonson et al. 1989 ; Ruegg, 1991). Dans le

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

même temps, Mulvany, cité par Edmonson (Edmonson et al, 1989), a de nouveau modifié cette échelle pour l'adapter aux vaches laitières. Il a introduit la notion de note globale, résultante de la note de l'attache de queue et de la note « lombaire » (Edmonson et al. 1989).

La couverture grasseuse de 4 points anatomiques arrière (base de la queue, tubérosité ischiatique, détroit caudal et ligne du dos), et 2 points latéraux (pointe de la hanche, apophyses transverses et épineuse) est évaluée visuellement grâce à des grilles de notation comme celle établie par l'ITEB (BAZIN, 1984). À chaque critère anatomique est attribuée une note de 0 (vache cachectique) à 5 (vache très grasse) ; la moyenne de ces 6 notes donne une note globale, dont la précision est évaluée en demi-point. Un point de note correspond à environ 20-25 Kg de lipides chez un animal de 600 Kg. C'est le système de notation qu'on a utilisé dans notre étude (voir figure 6).

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

**Tableau 3:** Principaux critères d'appréciation de l'état corporel des vaches laitières Prim'Holstein (**BAZIN, 1984**).

Note	Note arrière				Note flanc	
	Pointe des fesses	Ligament sacro-tubérale	Détroit caudal	Epine dorsal	Pointe de la hanche	Apophyses vertébrales
<b>5</b>	Invisible	Invisible	Comblé	Invisible (dos plat)		
<b>4</b>	Peu invisible	Peu visible	Presque comblé	A peine Visible		Epineuses repérables
<b>3</b>	Couverte	Bien visible	Limites plantes	Visible couverte		Epineuses repérables
<b>2</b>	Non Couverte	Légèrement Couverte	Légèrement creusé	Ligne Marquée	Crête Invisible	Transverses à angle vif
<b>1</b>		En lame	Profond	Ligne irrégulière	Crête visible	Transverses séparées
<b>0</b>		Très saillant	Très creusé	Corps Vertébral Apparent		

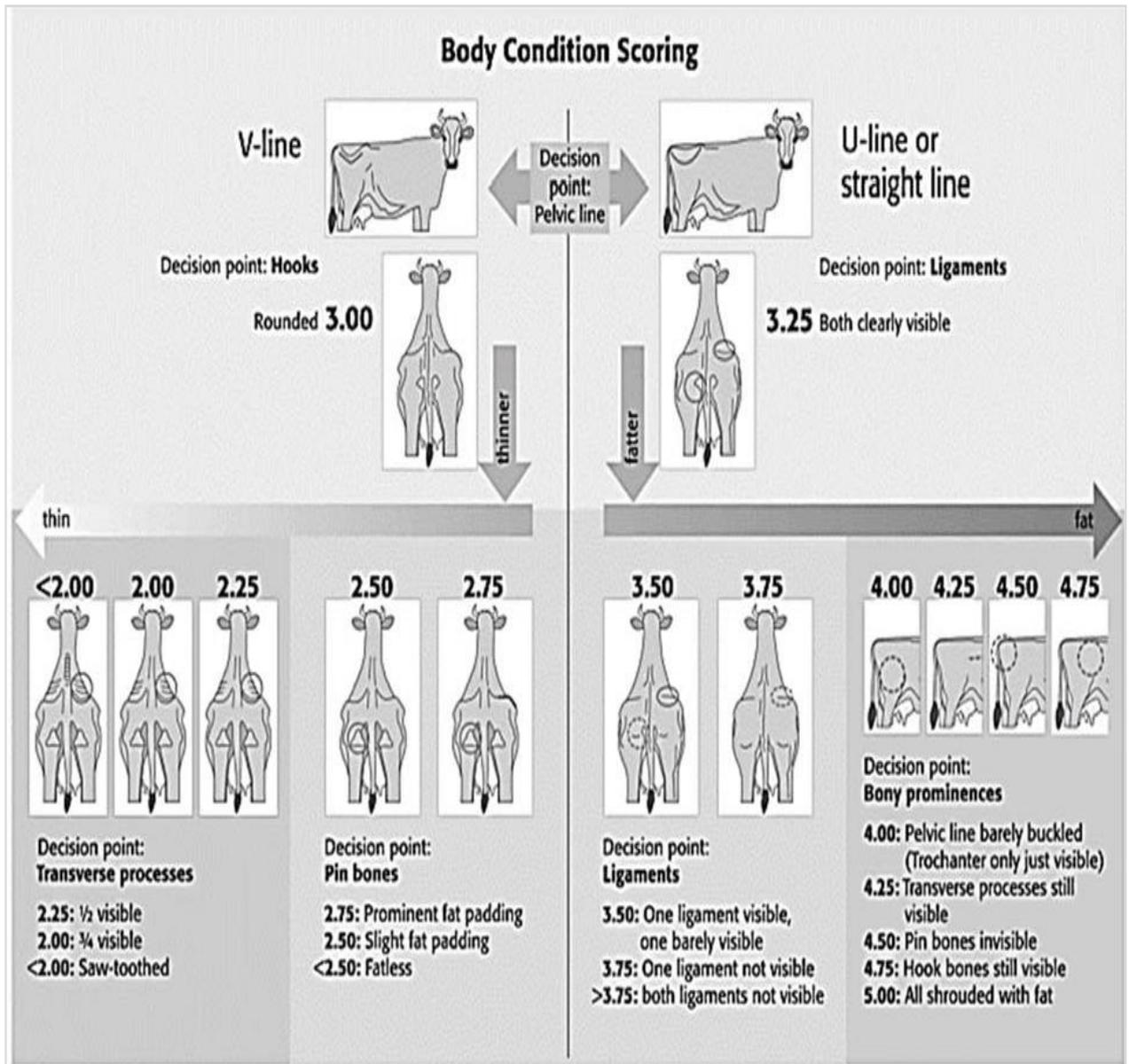


Figure 6 : Système de notation de l'état corporel développé par Ferguson et al. (1994) modifié (Isensee et al. 2014).

### 2.4. Importance et influence de l'état corporel sur la reproduction :

L'évaluation de l'état corporel des bovins laitiers peut être un moyen précis pour évaluer l'efficacité des systèmes alimentaires et estimer indirectement le bilan énergétique des vaches. La note d'état corporel est variable tout au long du cycle de lactation et correspond aux altérations du bilan énergétique de la vache (Grummer et al. 2004). A titre d'exemple, les besoins en énergie pour la production de lait en début de la lactation et allant ensuite jusqu'au pic de lactation dépassent souvent l'énergie

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

disponible issue de l'alimentation quotidienne. En conséquence, les réserves en matières grasses de l'organisme sont mobilisées pour compenser l'insuffisance en énergie nécessaire afin de satisfaire la demande pour la production laitière et la dégradation de l'état des bovins laitiers. Des réserves de graisse corporelle suffisantes peuvent servir à la production de lait et préserver la santé pendant la période du BEN.

Plusieurs études ont associé l'état corporel des vaches à la fertilité (Gillund et al. 2001; Buckley et al. 2003) mais aussi à la santé de l'animal. (Roche et Berry, 2006). En début de lactation, le bilan énergétique est positivement associé aux performances de reproduction des vaches laitières (Butler, 2003). L'intensité et la durée du bilan énergétique négatif peuvent être estimées à l'aide des variations de la note d'état corporel (BCS). Les vaches qui ont perdu plus de condition physique au cours des 65 premiers jours post-partum sont plus susceptibles d'être anovulaires, avec moins de gestation par IA et le risque d'avortement après le premier post-partum (Santos et al. 2009).

Une diminution de 0,5 point de BCS entre la période sèche et les premières semaines de lactation (période de transition) coïncide avec une perte de 10% du taux de conception (Butler, 2003), et une diminution d'un point de BCS au moment de la première insémination après la mise bas, peut réduire l'efficacité de la reproduction de la vache de 17 à 38%. (Butler, 2006; Schneider, 2004; Wathes et al. 2007). Par conséquent, l'intervalle entre le vêlage et la conception peut augmenter de 120 à 130 jours, et il a été démontré qu'avec un BCS optimal ou élevé (BCS 2,75-3,25) pendant le moment des chaleurs et immédiatement après le vêlage, il existe une plus grande tendance à exprimer correctement un œstrus par rapport aux vaches présentant une mauvaise condition physique. (Roche et al. 2007).

Outre la forte influence de BCS sur la durée de l'anœstrus après le vêlage, une diminution de l'état corporel pendant la période de transition peut également influencer sur le taux de gestation. Les vaches qui ont un faible BCS (<2,5) pendant la mise-bas sont plus susceptibles d'avoir une période d'anœstrus prolongée dû, vraisemblablement, à une basse fréquence de pulse de LH et une réduction des concentrations d'œstradiol, ce qui reste inefficace pour induire un pic de LH puis l'ovulation. Les vaches ayant un faible BCS après vêlage ont un diamètre réduit du follicule dominant, des concentrations d'insuline et d'IGF-I réduites et une basse fréquence de pulse de LH.

Les données actuelles suggèrent que les vaches devraient vêler dans un BCS

## Chapitre 2 : Alimentation et nutrition dans la reproduction

---

de 2,75–3 et ne pas perdre plus de 0,5 unité de BCS entre le vêlage et le premier service (Overton et Waldron, 2004) plutôt que des vaches ayant un BCS plus élevées 3–3,5 (Buckley et al. 2003). Les vaches qui perdent  $\geq 1$  unité de BCS ont un intervalle post-partum plus long jusqu'à la première ovulation. Par conséquent, la surveillance du BCS du vêlage au premier service est un aspect important d'une bonne gestion de la reproduction.

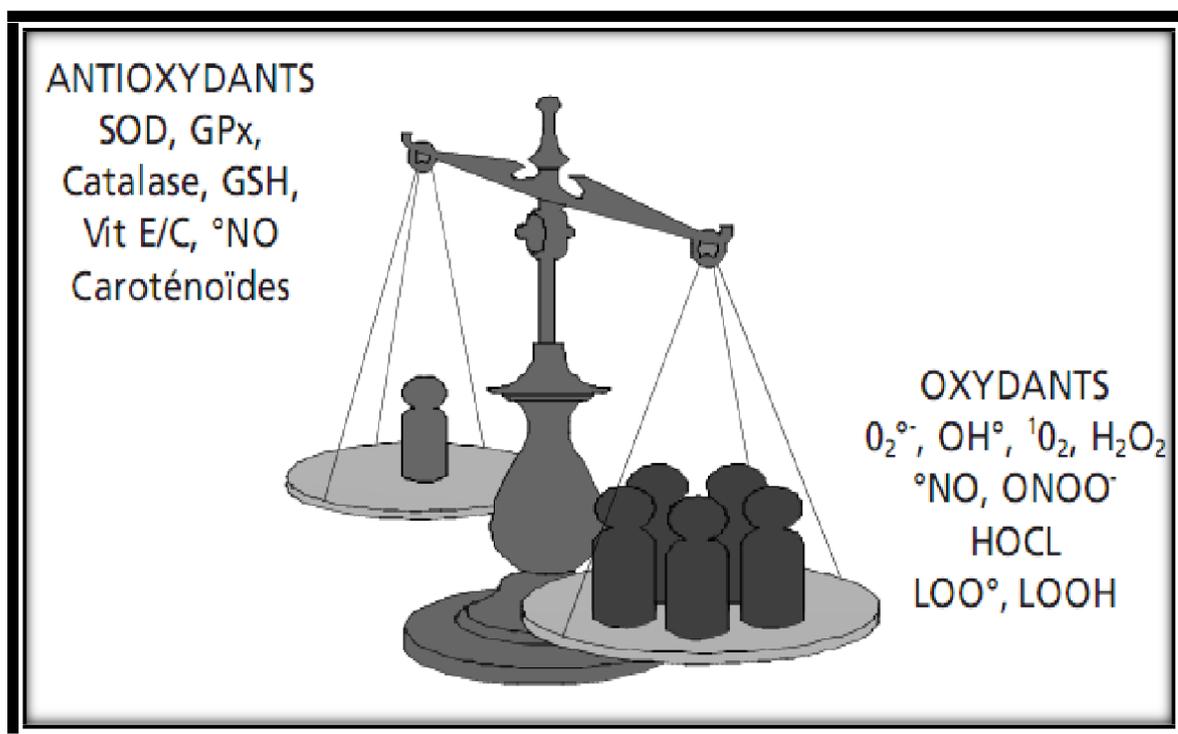
Ainsi, minimiser les changements de BCS avant et après le vêlage, le maintien d'une fonction optimale du rumen et les stratégies de prévention visant à prévenir les troubles métaboliques sont des objectifs clés dans la conduite des élevages, associés à l'amélioration du confort des vaches et à la réduction du stress afin d'améliorer la santé, la productivité et la reproductivité des vaches laitières à haut rendement. En outre, il est de plus en plus important d'atteindre des taux de BCS élevés et de maintenir le changement du BCS à 0,5 unité au début de la période sèche pour atteindre des taux élevés de conception et de grossesse dans le troupeau (Overton et Waldron, 2004).

Par conséquent, les vaches forte productrices doivent faire l'objet d'une gestion nutritionnelle afin d'éviter tous déficit du BEN après le vêlage. Une administration adéquate du calcium pendant la période péri-partum et des apports suffisants en vitamines et en minéraux appropriés, en particulier du sélénium, de l'iode et des vitamines A, D et E aident les vaches à maintenir leur santé, leur bien-être et leur statut reproducteur (Miller et al, 1993). Pour éviter la perte de BCS, les stratégies actuelles consistent à maintenir les vaches à un BCS allant de 2,75 à 3,00 au vêlage, et maintenir le fonctionnement normal du rumen.

### 3. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif dans les systèmes biologiques est la conséquence d'un déséquilibre entre le système pro-oxydant et le système antioxydant (Al-Gubory et al. 2010). Ce ratio peut être altéré soit par un excès de pro-oxydation ou une faible activité antioxydante ou bien les deux au même temps (Burton et Jauniaux, 2010). Lorsque la production des radicaux libre augmente elle commence à montrer des effets nocifs sur des structures cellulaires importantes comme les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Wu et al. 2013). Plusieurs pathologies ont été expliquées comme l'une des conséquences du stress oxydatif tels que l'hypertension, le diabète, les maladies cardiovasculaires, les maladies neuro-dégénératives et les cancers (Soory, 2010 ; De Marchi et al. 2013).

L'énergie issue de l'ATP est essentielle pour toutes les fonctions, les mitochondries sont les principaux sites de production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont principalement formés lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons et qui a pour but de produire de l'énergie (Liu et Keefe, 2000).



**Figure 7** : Représentation schématique du stress oxydatif (Morena et al. 2002).

### 3.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une substance chimique générée par des molécules à base d'oxygène et d'azote, hyperactive, instable et hautement réactive avec les différentes molécules de l'organisme. Ces molécules possèdent un électron non apparié et sont ainsi en constante recherche d'électrons qu'ils trouvent au niveau des molécules voisines afin de se stabiliser et suite à la perte de leurs électrons ces molécules donneuses deviennent à leurs tours instables et sont converties en espèces radicalaires (Burton et Jauniaux, 2010).

### 3.2. Sources des radicaux libres

La production des radicaux libres peut être d'origine endogène ou exogène ; les processus physiologiques et métaboliques qui utilisent l'oxygène comme substrat, tels que les réactions oxygénase et les réactions de transfert d'électrons, créent de grandes quantités des radicaux libres (Chandra et al. 2009). La plupart des radicaux libres sont produits lorsque les électrons fuient de la chaîne respiratoire mitochondriale, également appelée chaîne de transport d'électrons (Fuji et al. 2005). D'autres sources des radicaux libres comprennent les réactions de détoxifications médiées par le cytochrome P-450 et les activités de l'enzyme nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase (Burton et Jauniaux. 2010). Les radicaux libres peuvent également avoir une origine exogène tels que : les radiations, les métaux toxiques, les fumées de combustion, les médicaments, les solvants, etc (Yoong et Woodside, 2001).

#### 3.2.1. Principaux radicaux libres

Les ERO et les ERN sont les termes décrivant collectivement les radicaux libres (Pham-Huy et al. 2008). Les tableaux 4 et I regroupent les principales espèces radicalaires et non radicalaires (Hadjigogos, 2003). Les espèces oxygénées et azotées non radicalaires exhibent également une action oxydante et peuvent être facilement converties en espèces radicalaires. (Hadjigogos, 2003).

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

**Tableau 4 :** Espèces réactives oxygénées (Hadjigogos, 2003).

Radicaux		Non radicaux	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Radical hydroxyle	$OH^{\cdot}$	Acide hypochloreux	$HOCl^a$
Radical peroxyde	$ROO^{\cdot}$	Ozone	$O_3$
Radical alkoxyde	$RO^{\cdot}$	Oxygène singulet	$^1O_2$
Hydroperoxyde	$HOO^{\cdot}$	Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot b}$

- a et b peuvent être également appelés respectivement « espèce réactive chlorée » et « espèce réactive azotée ».

**Tableau 5 :** Espèces réactives azotées (Hadjigogos, 2003).

Radicaux		Non radicaux	
Radical oxyde nitrique	$NO^{\cdot}$	Acide nitreux	$HNO_2$
Dioxyde d'azote	$NOO^{\cdot}$	Tetroxyde de diazote	$N_2O_4$
		Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot}$
		Alkyl peroxynitrite	$ROONO$
		Cation nitrosyle	$NO^+$
		Trioxyde de diazote	$N_2O_3$
		Ion nitronium(nitryl)	$NOO^+$
		Acide peroxynitreux	$ONOOH$
		Anion nitrosyle	$NO^{\cdot-}$
		Chlorure nitrique	$NO_2Cl$

### 3.3. Les antioxydants

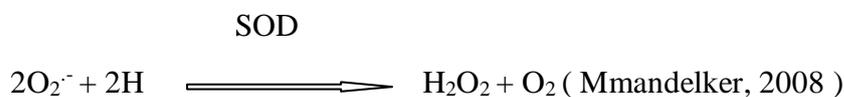
Ce sont des substances qui piègent et détoxifient l'excès des radicaux libres, ce qui contribue à maintenir l'équilibre oxydants/antioxydants dans le corps. Il existe deux systèmes d'antioxydant : enzymatique et non enzymatique.

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

### 3.3.1. Le système antioxydant enzymatique

#### Superoxyde dismutase

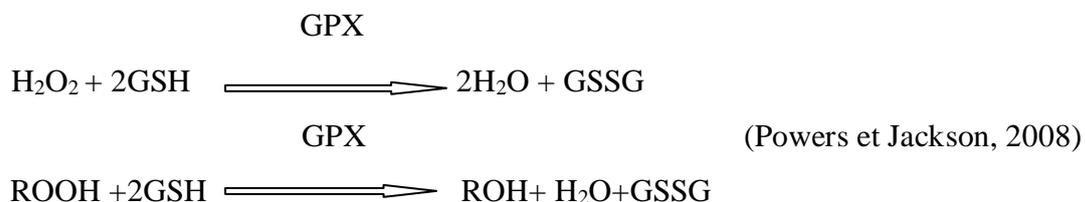
La SOD est une enzyme antioxydante primaire très importante, elle catalyse la dismutation de l'anion Superoxyde ( $O_2^-$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique ; une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn- SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD) (Kaynar et al, 2005). Il est avéré également que la Cu/Zn-SOD se présente dans l'espace intermembranaire (Okado-Matsumoto et Eridovich, 2001; Sturz et al. 2001).



#### Glutathion peroxydase (GPX) et réductase (GR):

Le glutathion peroxydase (GPX) catalyse la réaction de transformation des peroxydes d'hydrogènes  $H_2O_2$  et lipidiques ROOH respectivement en eau et alcool ROH. Cette réaction dispose d'une molécule antioxydante non enzymatique qui est le glutathion sous sa forme réduite GSH. En effet la forme réduite du glutathion (GSH) est le régulateur majeur du redox intracellulaire et se trouve en abondance dans les cellules (Meister et Anderson, 1983).

Le glutathion se comporte comme un capteur direct des radicaux libres, un cosubstrat pour l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase, cofacteur de plusieurs enzymes, et forme des conjugués dans des réactions d'endo- et d'xénobiotiques (Gregus et al. 1996).

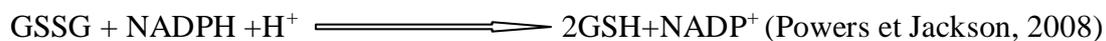


La glutathion réductase (GR), quant à elle, sa mission est de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH utilisé comme donneur d'électrons.

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

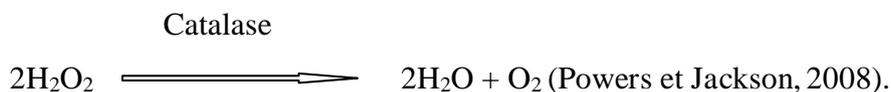
---

En effet, la concentration cellulaire en glutathion est limitée, il est nécessaire de la réduire constamment pour que la GPX maintienne sa fonction. Ces deux enzymes sont présentes dans les mitochondries et le cytosol.



### La catalase

La catalase est présente dans un grand nombre de tissus mais particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges et en plus faible quantité dans le cytosol. Parmi les enzymes connues c'est l'une des plus efficaces. Elle catabolise le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  en eau et en dioxygène, pour lequel elle a une moins forte affinité que la GPX (Matés et al. 1999).



### 3.3.2. Le système antioxydant non-enzymatique

#### La vitamine C

La vitamine C (ou acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle majeur dans la régénération de la vitamine E oxydée (Chen et al, 2000).

#### La vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , avec une activité antioxydante variable. L'alphatocophérol ( $\alpha$ -TocH) est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Il est admis que les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et que, sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs (Carr et al. 2000).

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

---

Pendant l'initiation de la peroxydation lipidique, l' $\alpha$ -TocH, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi l'attaque radicalaire, et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (Khalil, 2002).

### **Les caroténoïdes**

Sont également des molécules liposolubles produites par les organismes photo-autotrophes et qui sont normalement acquis par l'alimentation. Ils sont capables de réagir avec les radicaux libres de trois manières : par le transfert d'électron, d'hydrogène ou la liaison avec le radical. Ils sont également capables de régénérer la vitamine E et sont eux-mêmes régénérés par la vitamine C (Hermes-Lima, 2005).

### **Le glutathion**

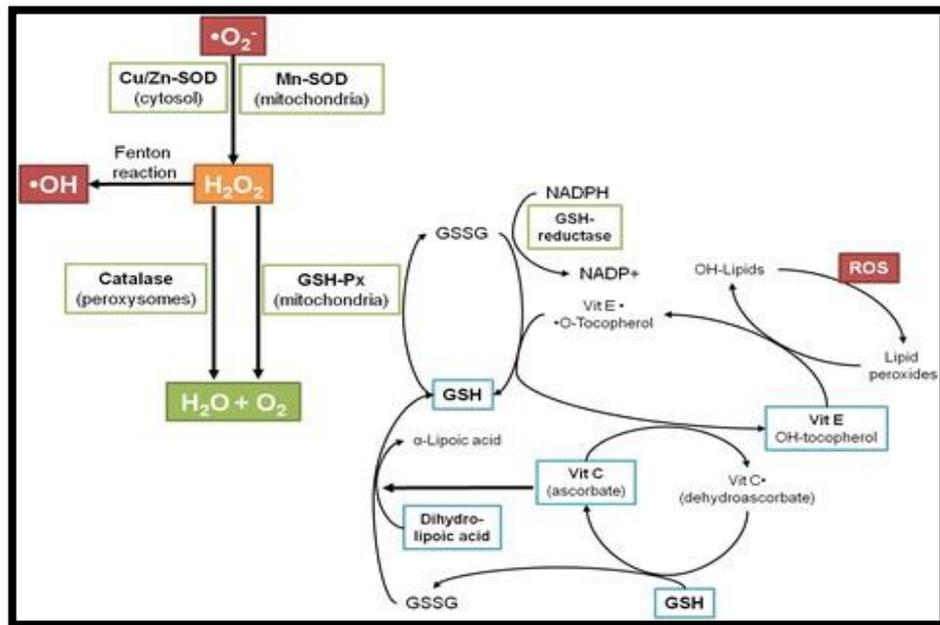
Le glutathion (GSH sous sa forme réduite) est un tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine. Il est particulièrement important car c'est le substrat de plusieurs enzymes antioxydantes (Halliwell et Gutteridge, 1999). Il peut également régénérer la vitamine E et réagir avec les radicaux HO et O<sub>2</sub>- directement et ainsi casser la chaîne d'oxydation (Hermes -Lima, 2005).

### **Le sélénium**

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E. Cet effet antioxydant est principale dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti vieillissement, attribués au sélénium (Wolters et al. 2005).

### **Le zinc**

Cet oligo-élément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines antioxydantes comme les métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols des protéines. Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Mezzetti et al. 1998).



**Figure 8 :** Schéma représentant les différents moyens de défense enzymatiques et non-enzymatiques contre les radicaux libres (Belge, 2016)

### 3.4. Les cibles moléculaires des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent réagir avec tous organismes cellulaires et entraîner des dommages biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, telles la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et des mutations de l'ADN. Ces altérations peuvent conduire à la perte de fonction et d'intégrité voire à la mort cellulaire notamment par l'intermédiaire de l'apoptose.

#### 3.4.1. La peroxydation lipidique

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés sont très sensibles à l'oxydation en raison de leurs degrés d'insaturation élevés (Hulberth, 2005 ; Pamplona et al. 2000). La peroxydation lipidique provoque une diminution de la fluidité et de la perméabilité des membranes (Hong et al, 2004). Quand la perméabilité au calcium augmente, la fixation aux récepteurs est altérée et cela peut mener à l'apoptose si les dommages sont importants (McMichael, 2007). Comme la peroxydation lipidique est une oxydation qui se manifeste en chaîne, elle

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

---

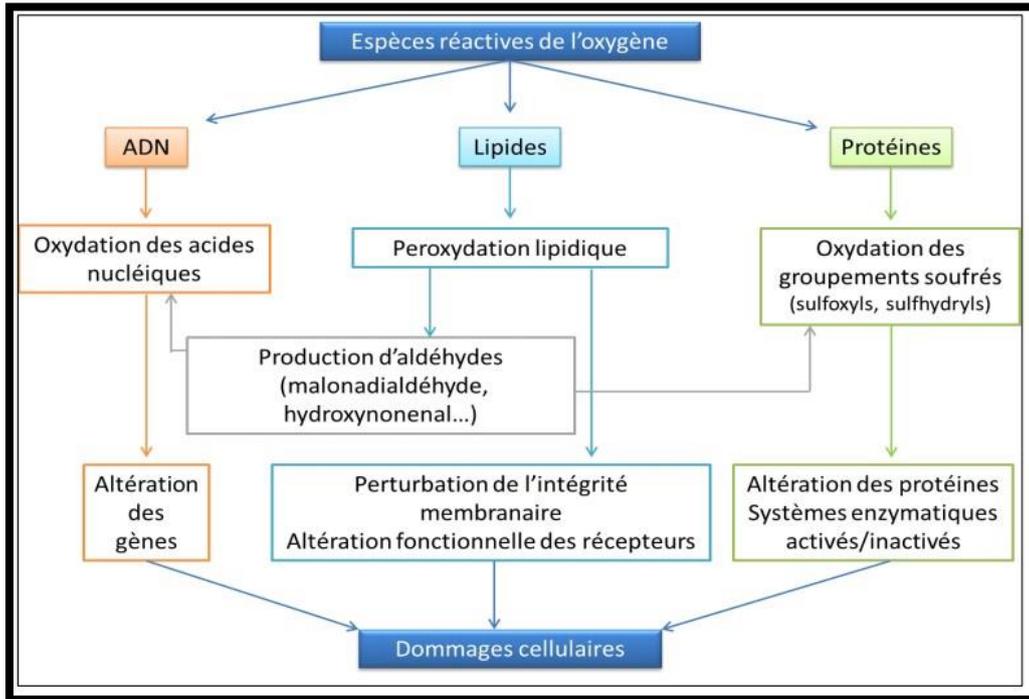
fournit une grande variété de produits qui peuvent altérer les protéines et l'ADN (Marnett, 1999). Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique ; le Malondialdéhyde (MDA) qui est le produit final de la celle-ci et utilisé comme marqueur de la peroxydation lipidique.

### 3.4.2. Oxydation des protéines

Les protéines comme toute molécule sont aussi capables d'être oxydées par les ERO. Cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine (Levine, 2002). Les cations métalliques tels que le  $\text{Ca}^{2+}$  et le  $\text{Fe}^{2+}$  sont deux principaux éléments qui habituellement influencent le phénomène d'oxydation des protéines, et peuvent être classées en deux catégories : celles qui cassent les liaisons peptidiques et celles qui induit des modifications de produits issus de la peroxydation lipidique. Les ERO provoquent aussi une dénaturation des protéines ; altération des groupements thiols, formation de pont disulfures, accentuation du caractère hydrophobe d'où agrégation des protéines qui les rend plus résistantes à la protéolyse physiologique (Grandjean, 2005).

### 3.4.3. Dommage de l'ADN

De la cellule, il existe deux type d'ADN ; l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial, ce dernier est la cible préférée des oxydations des ERO du fait de sa proximité directe de l'une des principales sources des ERO cellulaire qui est la chaîne respiratoire mitochondriale. Les altérations de l'ADN sont essentiellement causées par le radical hydroxyl  $\text{HO}^\circ$  qui réagissent en différentes actions: modification de base azoté, destruction de la liaison entre la base et le désoxyribose, destruction des désoxyriboses responsable d'une cassure de brin et formation de pontages avec des protéines ou avec des dérivés d'oxydation lipidique (Grandjean, 2005).



**Figure 9 :** Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Poisson. 2013).

### 3.5. Evaluation du statut oxydatif

#### 3.5.1. Détermination directe des radicaux libres

La quantification directe des radicaux libres est un biomarqueur précieux et promoteur qui peut refléter le processus d'une maladie. Cependant, compte tenu de la demi-vie courte de ces espèces, leur mesure dans les systèmes biologiques est une tâche complexe. Plusieurs méthodes ont été mise en évidence telles que la résonance paramagnétique électronique, la spectroscopie électromagnétique et les techniques chimique de spectrométrie de masse (Dikalov et Harrison, 2014 ; Elbim et Lizard, 2009).

#### 3.5.2. Détermination indirecte des radicaux libres

En plus de la mesure directe de la production des radicaux libres, différentes méthodes mesurent des marqueurs stables qui peuvent refléter un stress oxydatif systémique ou spécifique aux tissus. Ces molécules sont modifiées par l'interaction avec les radicaux libre dans les microenvironnements (Knasmuller et al. 2008). Les lipides, les protéines et l'ADN sont des molécules qui sont altérées plusieurs radicaux libres *in vivo*. Certaines de ces altérations sont connues pour avoir un effet direct sur la fonction des molécules cibles, mais d'autres modifications reflètent uniquement

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

---

l'intensité local du stress oxydatif. Ceci rend difficile l'investigation clinique de plusieurs marqueurs du stress oxydatif puisque la signification fonctionnelle ou le rôle causal des modifications oxydatives sur les fonctions biologiques est une caractéristique clé de la validité d'un biomarqueur.

### 3.5.2.1. Marqueurs de la peroxydation lipidique

Le produit final de l'oxydation lipidique est un marqueur largement utilisé pour la détermination du stress oxydatif. Les acides gras polyinsaturés sont principalement la première cible des radicaux libres (Negre-Salvayre et al. 2010), ainsi il se produit généralement une réaction en chaîne dans laquelle un radical hydroxyl  $\text{OH}^\circ$  capte un atome d'hydrogène sur un carbone insaturé générant alors une molécule d'eau. L'acide gras possède un électron célibataire capable d'interagir avec le dioxygène, formant ainsi des peroxydes lipidiques en chaîne. Ces derniers sont instables et se décomposent en une série de sous-produits complexes notamment des composés carbonylés très réactifs comme le Malondialdéhyde (MDA), le produit final de la peroxydation lipidique (Valko et al. 2006).

### 3.5.2.2. Marqueurs de l'oxydation des protéines

Les protéines représentent une large cible des radicaux libres générés dans des conditions normales ou de stress oxydatif, particulièrement celles qui portent un groupe sulfhydryles. Plusieurs acides aminés peuvent subir des modifications oxydatives avec formation de pont disulfures notamment de la cystéine et la méthionine et aussi l'hydroxylation des groupes aromatiques (Stadtman, 2006 ; Davies, 2016).

La détermination de l'oxydation des protéines a une signification biologique et une bonne pertinence clinique. Un profil spécifique de protéines oxydées peut être formé à la suite des différentes maladies notamment liées à l'âge (Vanhooren et al. 2015 ; Hohn et al. 2013). Le dosage de l'oxydation des protéines peut être détecté dans des échantillons de sang et d'urine, mais sa détermination dans des échantillons de cellules spécifiques peut donner des révélations plus précises. Plusieurs méthodes ont été développées pour la détection des différents types de modifications protéiques. Cependant, la pertinence biologique et chimique de l'oxydation des protéines en tant que biomarqueur est encore limitée par la disponibilité d'une méthodologie capable

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

---

d'identifier et de quantifier les altérations oxydatives spécifiques des protéines (Hawkins et al. 2009).

### 3.5.2.3. Marqueurs de l'oxydation des acides nucléiques

L'oxydation des composants de l'ADN par les radicaux libres est la principale source des dommages induit à l'ADN entraînant plusieurs types de modifications comme l'oxydation des nucléotides, la rupture des brins, la perte de bases et la formation d'adduits (Wiseman et Halliwell, 1996 ; Dizdaroglu et al. 2002). Le radical HO<sup>°</sup> peut réagir avec toutes les bases puriques et pyrimidiques, ainsi qu'avec le squelette désoxyribose générant divers produits dont le plus courant est le 8oxoguanine qui est le marqueur le plus fréquemment évalué lors de l'oxydation de l'ADN (Cadet et al. 2003).

Des dommages indirects peuvent être le résultat de la peroxydation des lipides qui génère des aldéhydes mutagènes formants des adduits sur les bases de l'ADN (Beckman et Ames, 1998). L'attaque radicalaire des protéines qui entrent en contact avec l'ADN pour le protéger (histone) ou pour le lire (enzyme et facteurs de la réplication ou de transcription), entraîne des pontages des protéines ou des adduits sur les bases. Les lésions non récupérées vont perturber les mécanismes de réplication de l'ADN et entraîner soit des erreurs de lecture et de synthèse par des ADN polymérase translésionnelles infidèles aboutissant à une mutation ponctuelle dans le génome ou impossibilité de copie de l'ADN qui aboutira à la mise en route de mort programmée des cellules par l'apoptose (Favier, 2003).

### 3.6. Place actuelle du stress oxydatif dans la reproduction

La définition du stress oxydant se réfère à une rupture de l'équilibre homéostatique normalement maintenu entre la production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et la défense antioxydante de l'organisme. Il s'agit donc d'une perturbation dans l'équilibre pro-oxydant/antioxydant en faveur de la formation des espèces réactives conduisant à des dommages potentiels sur les cellules, les tissus et l'ADN (Agrwal et al. 2006). La reproduction est une fonction essentielle qui nécessite une importante demande en énergie satisfaite par une augmentation globale du métabolisme (Nilsson, 2002), et comme une augmentation du métabolisme est associée à une augmentation de la production des radicaux libres et donc à un stress

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

---

métabolique, l'activité de reproduction pourrait être associée à une susceptibilité au stress oxydant. Cependant, très peu d'études ont été menées à ce sujet mais qui ont mis en relation stress oxydant et reproduction et l'ont associé à plusieurs pathologies (Jackson et al. 2005 ; Sharma et al. 2010).

Les espèces réactives de l'oxygène ont été impliquées dans plus de 100 maladies (Gibson et Huang, 2004). Au niveau de l'appareil reproducteur de la femme les ERO ont un rôle physiologique et pathologique. Des études menées sur des animaux et même chez la femme ont prouvé que les ERO sont présents dans l'appareil reproducteur féminin ; au niveau des ovaires (Behrman et al, 2001 ; Jozwik et al, 1999), l'oviducte (El Moustassim et al,1999), et les embryons (Guerin et al, 2001). Ils sont impliqués dans leurs fonctions telles que la maturation des ovocytes, la stéroïdogenèse ovarienne, le développement folliculaire, le corps jaune et la lutéolyse (Behrman et al, 2001 ; Sabatini et al, 1999 ; Ishikawa et al, 1993).

Il a été constaté que des niveaux élevés des radicaux libres dans la cavité péritonéale et les trompes de Fallope rendent ces environnements inappropriés pour les ovocytes, les spermatozoïdes, et les embryons affectant ainsi la fécondation et l'implantation (Benjamin et al, 2012). De plus, un stress oxydatif au cours du deuxième trimestre de grossesse est associé avec une restriction de la croissance fœtale (Min et al, 2006 ; Min et al, 2009). Le stress oxydatif est exploré comme étant un marqueur très répondu dans les études concernant les problèmes d'une infertilité inexplicée ainsi qu'il est incriminé dans un effet nocif sur les biotechnologies de reproduction (Oral et al. 2006 ; Polack et al. 2001).

Les procédures et les techniques de procréation assistée ne peuvent pas assurer complètement les conditions physiologiques retrouvées *in vivo*. En effet, les gamètes utilisés dans ces techniques sont plus exposés aux effets néfastes du stress oxydatif, ce qui peut altérer les résultats (Lampiao, 2012). Une réduction significative du potentiel mitochondrial a été révélée dans les ovocytes humains résultant des changements dans le statut redox de la cellule en raison de la cryopréservation (Chen et al, 2012).

La supplémentation en antioxydants joue un rôle très important, notamment pendant les premières semaines de lactation, où les vaches développent une balance énergétique négative qui conduit à un stress métabolique. Selon une étude menée dans ce sens, les chercheurs ont montré que l'ajout d'un mélange de plantes naturelles antioxydantes dans l'alimentation, (extrait de thé vert et curcuma), est capable de

## Chapitre 3 : Le stress oxydatif

---

supprimer le stress du réticulum endoplasmique dans le foie et améliorer la fonction hépatique chez les vaches laitières (Winkler at al, 2015).

### 4. Matériel et méthodes

#### 4.1. Récupération des matrices

Notre étude a été effectuée sur les matrices de 58 vaches sélectionnées et classées selon leur état corporel (BCS) qui a été déterminé avant abattage par un vétérinaire sur une échelle allant de 1 à 5 selon la méthode décrite par Fergusson et al (1994) (voir figure 5, chapitre 2). Les vaches dont le BCS  $>3$  ont été considérées comme ayant un BCS faible et celles qui ont un BCS  $<3$  ont été considérées comme ayant un BCS élevé, et celles dont le BCS est intermédiaire ( $=2$ ) ont été considérées comme ayant un BCS moyen. Les tractus génitaux des vaches étudiées ont été récupérés après abattage au niveau de l'abattoir d'Alger après avoir obtenu une autorisation d'accès par le Département d'Agriculture, Inspection Vétérinaire de la wilaya d'Alger, puis les matrices ont été transportées au laboratoire dans une glacière maintenue à 4°C (Figure10).



**Figure 10 :** Matrice de vache collectée après abattage.

#### 4.2. Prélèvement du sang et préparation du plasma

Les prélèvements sanguins ont été réalisés avant abattage sur des tubes héparinés, le sang est ensuite centrifugé à 5000g pendant 10 minutes, le plasma est récupéré et conservé à - 20°C jusqu'à utilisation.

### 4.3. Calcul du nombre des follicules et collecte du liquide folliculaire, des cellules oviductales, des ovaires et du liquide utérin

Tous les échantillons ont été récupérés entre 1 à 5 heures après abattage et le nombre de follicules a été déterminé par échographie des ovaires.

#### 4.3.1. Nombre de follicules

L'échographie des ovaires est réalisée pour obtenir le nombre de follicules existants. (Figure 11). Les ovaires sont plongés dans un bain d'eau à température ambiante et une échographie est réalisée (Aksu et al. 2015).



**Figure 11 :** Echographie des ovaires.

#### 4.3.2. Le liquide folliculaire

Le liquide folliculaire est aspiré de chaque follicule par une seringue d'insuline vue la taille et le volume réduit du liquide folliculaire (Figure 12). Les échantillons sont ensuite mis dans la glace jusqu'à centrifugation à 5400g pendant 5 minutes afin d'éliminer les débris sanguins et cellulaires, le surnageant a été collecté puis conservé à -20°C jusqu'à utilisation (Hennet et al. 2013)



**Figure 12 :** Collecte du liquide folliculaire.

### 4.3.3. Les cellules oviductales

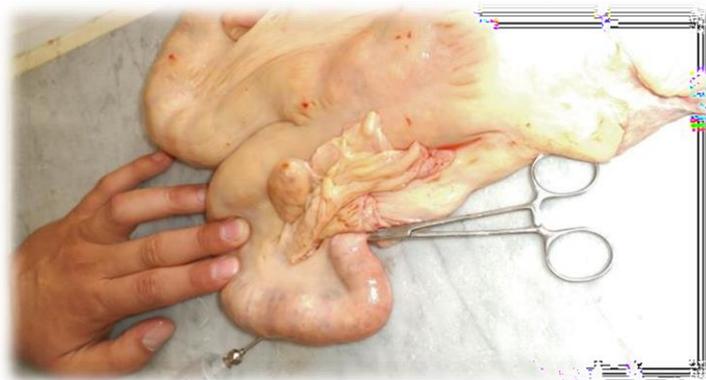
Les oviductes ont été séparés des ovaires et les tissus conjonctifs qui les enveloppent qui sont éliminés. Les cellules épithéliales ont été récupérées dans des tubes en plastique par la méthode du rinçage où chaque oviducte a été rincé avec 1 ml de solution physiologique (NaCl 0.9%). (Lapointe et al, 1998). Les cellules récupérées ont été lysées dans 3 volumes d'eau distillée, puis centrifugées pendant 10 minutes à 5000g, le surnageant a été récupéré et conservé à -20°C pour une utilisation ultérieure (figure 13).



**Figure 13 :** Collecte des cellules oviductales.

### 4.3.4. Le liquide utérin

Il a été collecté à partir de l'utérus par rinçage avec 10ml de solution physiologique (NaCl 0.9%) puis conservé à -20°C jusqu'à utilisation (Figure 14). (Garrett et al. 1988)



**Figure 14 :** Collecte du liquide utérin.

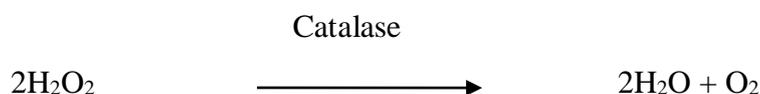
### 4.3.5. Les ovaires

Les ovaires ont été broyés dans un mixeur, l'homogénat a été lysé avec l'eau distillée puis centrifugé à 14000rpm (8765g) pendant 15 minutes pour obtenir un surnageant qui a été conservé à -20°C jusqu'à utilisation.

### 4.4. Mesure de l'activité antioxydante

#### 4.4.1. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase

La catalase est présente dans un grand nombre de tissus, cet enzyme intervient dans la défense contre le stress oxydant en favorisant l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), toxique pour la cellule, en eau et oxygène. L'activité enzymatique de la catalase a été évaluée selon la méthode de Aebi (1984) dont le principe est basé sur la disparition du  $H_2O_2$  en présence de la source enzymatique à 25°C selon la réaction suivante :



Pour ce dosage ; on ajoute à 20 $\mu$ l de chaque échantillon 1225 $\mu$ l d'un tampon phosphate et la réaction a été déclenchée par l'ajout de 765 $\mu$ l de  $H_2O_2$  (54mM). Le blanc contient 20 $\mu$ l de l'échantillon et 1980 $\mu$ l du tampon phosphate (50Mm, pH 7.0). La dégradation du  $H_2O_2$  a été enregistrée à 240nm et à 25°C après 60 secondes. Une unité de l'activité de la catalase est définie comme l'activité nécessaire à la dégradation de 1 $\mu$ mol du peroxyde d'hydrogène par minute. Un coefficient d'extinction de 43.6 (mol/l)<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> a été utilisé pour calculer l'activité enzymatique de la catalase définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour catalyser la

## Chapitre 4 : Matériel et méthodes

---

décomposition de 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  par minute. L'activité de la catalase a été exprimée en termes d'1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  consommée/min/ml.

### 4.4.2. Statut antioxydant total

Le statut antioxydant total est l'une des techniques d'analyse les plus utilisées pour évaluer la capacité antioxydante contre les radicaux libres. Le test a été effectué selon la méthode décrite par Re et al ;( 1999) basée sur la décoloration du radical libre ABTS (2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)). L'ABTS est solubilisé dans l'eau distillée à une concentration de 7mM. Le radical cation ( $\text{ABTS}^{\circ+}$ ) est produit en faisant réagir la solution d'ABTS avec du persulfate de potassium à une concentration finale de 2.45mM. Le mélange a été laissé au repos, à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 à 16 heures avant l'utilisation. Dans notre étude, la solution  $\text{ABTS}^{\circ+}$  a été diluée avec du tampon phosphate, pH 7,04 à une absorbance de  $0.70 \pm 0.02$  à 734 nm. Après addition de 1ml de la solution ABTS à 10 $\mu\text{l}$  de chaque échantillon, la lecture a été prise 6 minutes après le mélange initial. La décoloration de l'ABTS a été calculée et exprimé en pourcentage d'inhibition selon la loi suivante :

$$\% \text{ Scavenger de l'ABTS} = \frac{(\text{AT} - \text{AE})}{\text{AT}} \times 100$$

AT : absorbance du témoin.

AE : absorbance de l'échantillon

### 4.4.3. Evaluation de la peroxidation lipidiques

L'évaluation de la peroxidation lipidique a été mesurée en identifiant la concentration des MDA (Malondialdehyde) qui est le produit final de celle-ci. La mesure des aldéhydes est basée essentiellement sur leurs réactions avec l'acide thiobarbutirique sous le nom de «Substances réagissant avec l'acide thiobarbutirique (TBARS) ». Le principe de ce dosage est basé sur la condensation du MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbutirique. La réaction entraine la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide 2-thiobarbutirique et qui peut être mesuré par spectrophotomètre d'absorption à 530nm (Stoks et al, 1971).Une suspension de cellules (1ml) est déprotéinisée par l'ajout de 0.5ml de TCA à 30%, puis incubée à 0°C pendant 120 minutes, suivie d'une centrifugation à 2500g pendant 10 min à 4°C. A 1ml de surnageant a été ajouté 0.25ml de TBA à 1% (dissoute dans 0.05mol/l de NaOH) et 0.075 ml d'EDTA (0.1mol/l) puis chauffé à 95°C pendant 15 minutes suivi d'un refroidissement. L'absorbance du produit coloré (TBARP) a été mesurée à 535nm.

## Chapitre 4 : Matériel et méthodes

---

### **4.5. Analyse statistique**

Toutes les expérimentations réalisées dans notre travail ont été répétées 3 fois. L'analyse statistique a été effectuée et calculée par le logiciel Statview 4.02 software (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA.USA).

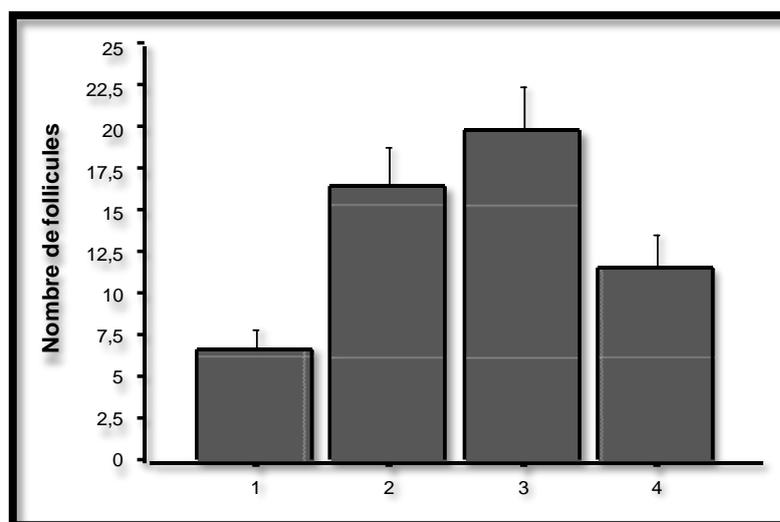
### 1. Résultats et Discussion

#### 5.1. Résultats

Les résultats actuels ont révélé une relation entre le BCS avec le nombre de follicules et avec le statut oxydatif dans l'appareil reproducteur liée vraisemblablement à un faible potentiel en antioxydants conséquence d'un BCS élevé ou faible. Ceci est probablement dû à une accumulation des radicaux libres ou un épuisement des défenses antioxydantes ou bien la combinaison des deux.

##### 5.1.1. Effet du BCS sur le nombre des follicules

Le nombre de follicules détecté par échographie des ovaires des vaches en fonction de leurs BCS est représenté sur la figure 15. Les résultats montrent que les vaches ayant un BCS de 2 et 3 présentent le plus grand nombre de follicules ( $19.87 \pm 2.76$ ) et ( $16.50 \pm 2.56$ ) respectivement, tandis que le plus faible nombre de follicule est observé chez les vaches ayant un BCS de 1 ( $6.75 \pm 1.39$ ) et 4 ( $11.66 \pm 2.10$ ).



**Figure 15 :** Effet du BCS (1, 2, 3, 4) sur le nombre de follicules.

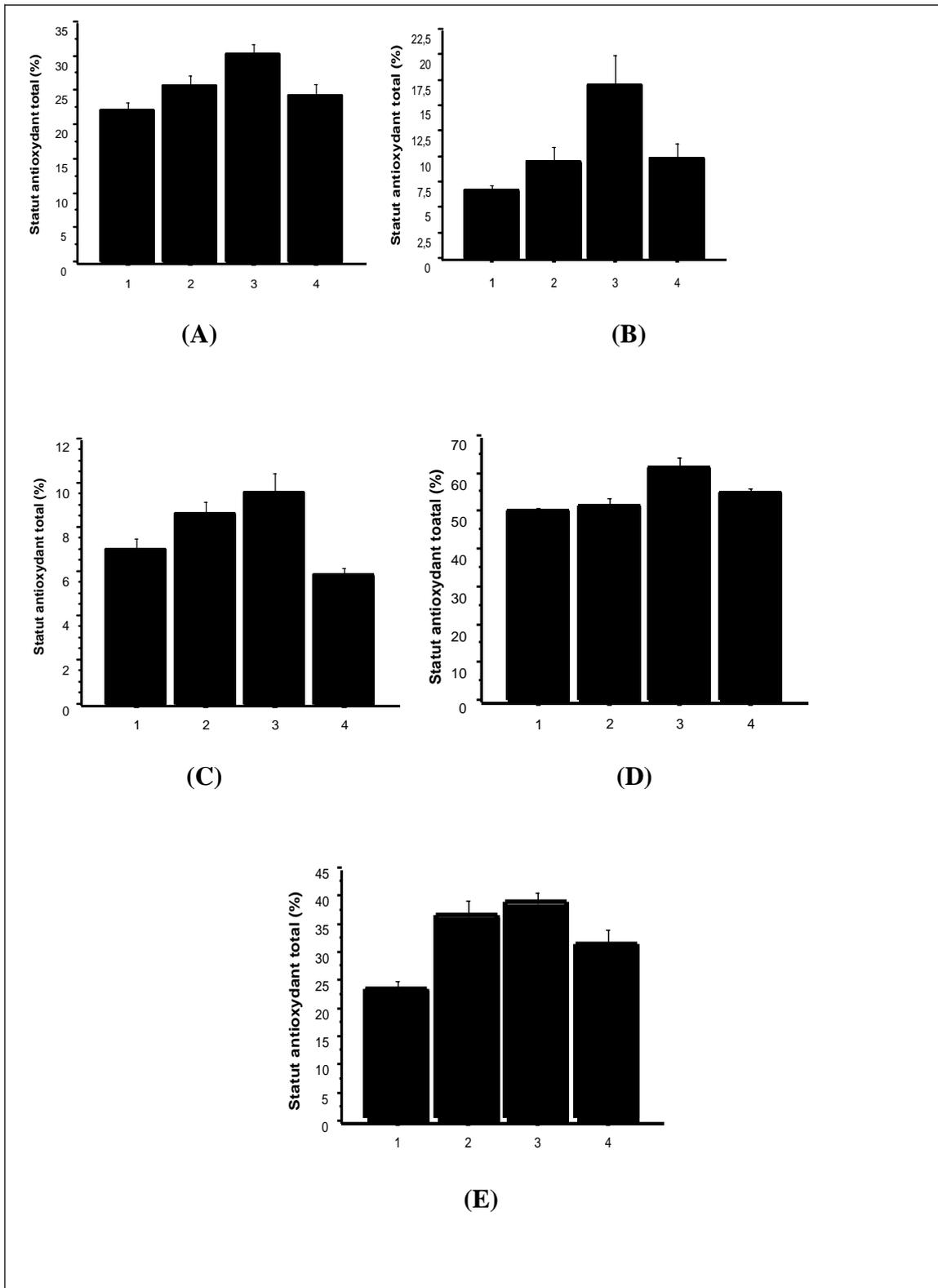
##### 5.1.2. Effet du BCS sur le statut antioxydant total (SAT)

Le statut antioxydant total permet d'évaluer de manière globale la capacité antioxydante au sein des échantillons biologiques car le test à l'avantage de prendre en considération l'interaction des différents composés antioxydants à savoir les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques de ces échantillons (Niki 2010).

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

La figure 16 illustre les résultats de l'activité anti-radicalaire exprimés en pourcentage d'inhibition de l'ABTS. Nous pouvons constater que le statut antioxydant total du liquide oviductal (A), du liquide utérin (B), du liquide folliculaire (C), des ovaires (D), et du sérum (E) sont significativement plus élevés ( $P < 0.05$ ) chez les vaches ayant un BCS 3. Les vaches ayant un BCS 1 et 4 présentaient le statut antioxydant le plus faible dans tous les tissus analysés. Les valeurs intermédiaires ont été observées chez les vaches avec un BCS 2.



**Figure 16:** Effet du BCS (1, 2, 3, 4) sur le statut antioxydant total au niveau des cellules oviductales ( A), liquide utérin (B), liquide folliculaire (C), ovaires (D), et du sérum (E).

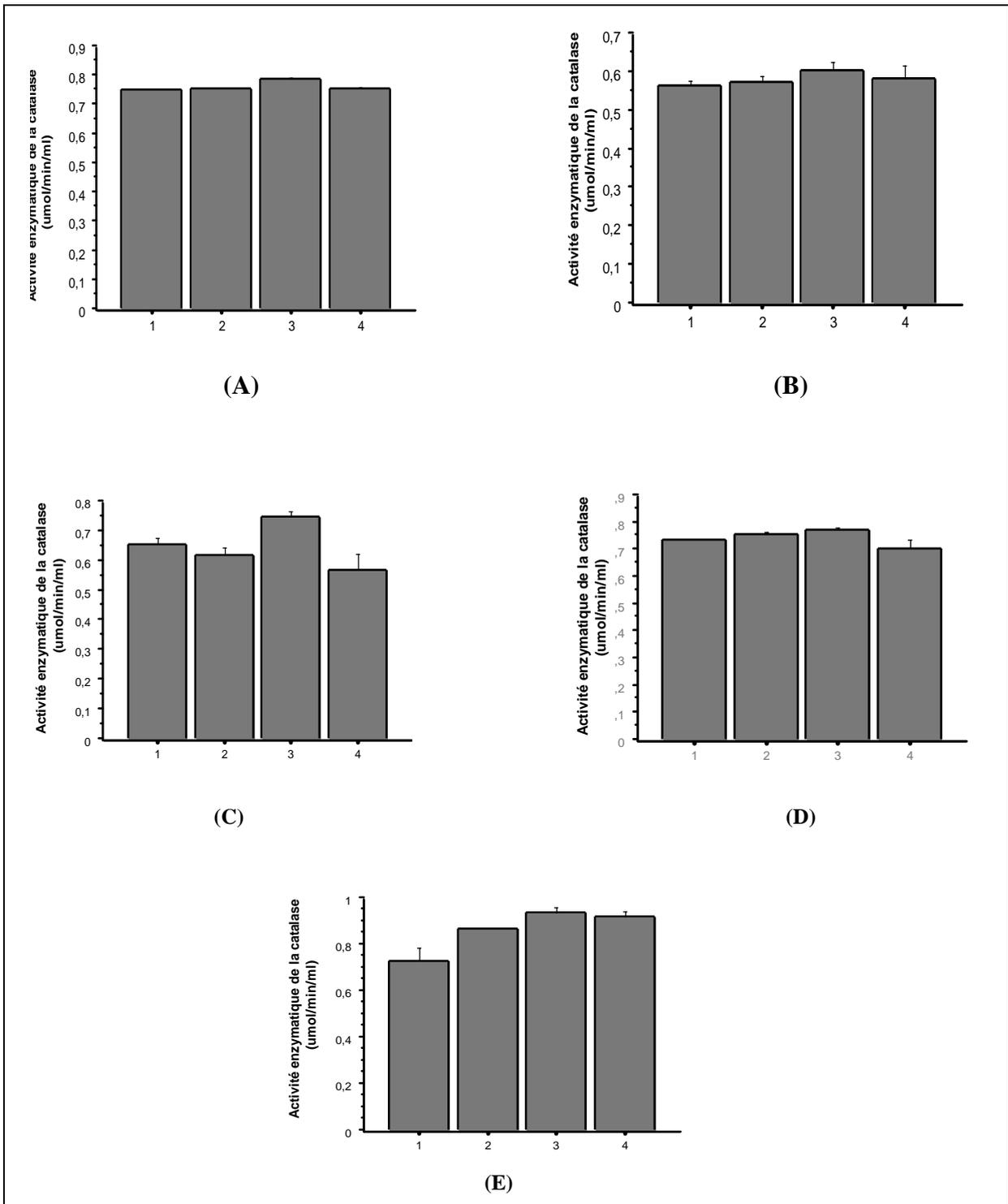
## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

### 5.1.3. Effet du BCS sur l'activité enzymatique de la catalase

La catalase est une enzyme importante du système de défense antioxydant contre le stress oxydatif, elle catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en oxygène et en eau. La figure 17 montre les résultats de l'activité de la catalase dans le liquide oviductal (A), le liquide utérin (B), les ovaires (C), et le sérum (panneau E) en fonction du BCS. L'activité la plus élevée a été enregistrée dans les échantillons de vaches ayant un BCS de 3. Les vaches avec BCS 4 présentaient l'activité la plus faible, en particulier dans le liquide folliculaire et les ovaires. Dans les échantillons du sérum, les vaches ayant un BCS 1 présentaient l'activité la plus faible.

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion



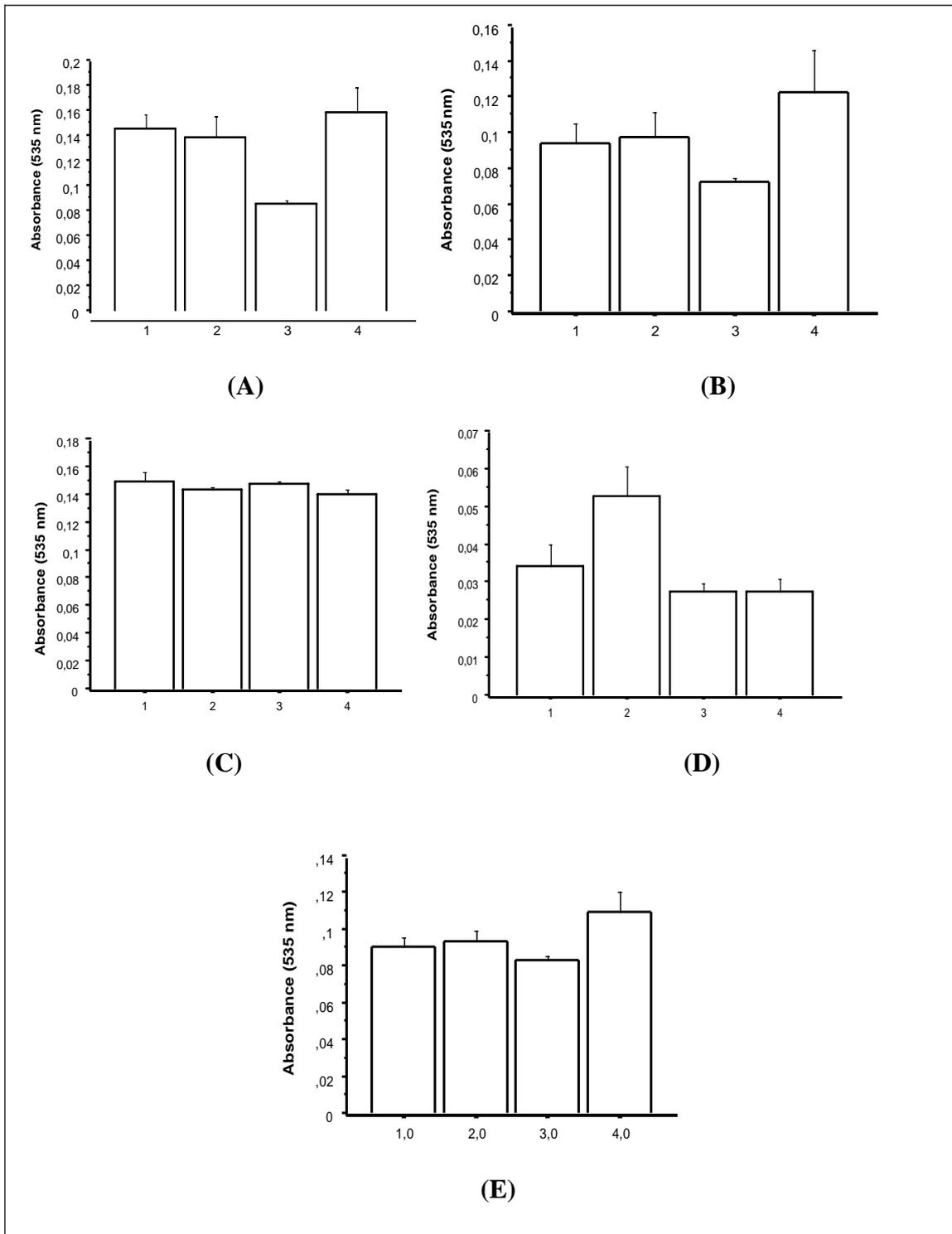
**Figure17 :** effet du BCS sur l'activité enzymatique de la catalase (cellules oviductal A), (liquide utérin B), (liquide folliculaire C), (ovaires D), (sérum E).

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

### 5.1.4. Effet du BCS sur la peroxydation lipidique

Le test TBARS est probablement le test le plus ancien et le plus utilisé pour mesurer le taux du Malondialdéhyde (MDA), le produit final de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés (Dasgupta et al. 2014). L'analyse des données présentées sur la figure 18 montrent que le liquide oviductal (A), le liquide utérin (B), les ovaires (D) et le sérum (E), la peroxydation lipidique la plus faible a été observée chez les vaches ayant un BCS 3. Cependant, le liquide folliculaire ne présentait aucune différence significative de la peroxydation lipidique selon le BCS.



**Figure 18 :** Effet du BCS sur la peroxydation lipidique au niveau des cellules oviductales ( A), liquide utérin (B), liquide folliculaire (C), ovaires (D), et du sérum (E).

### 5.2. Discussion

L'état nutritionnel, évalué à l'aide du BCS, reflète les réserves corporelles disponibles pour le métabolisme de base, la croissance, la lactation et l'activité reproductrice (Wright et al. 1987). La relation étroite entre la reproduction et l'état nutritionnel chez les bovins a été bien établie (Galina et Arthur, 1989b).

Le BCS au cours de la période de reproduction est d'une importance capitale. En effet, une augmentation du taux de mobilisation des réserves corporelles a des conséquences néfastes sur la santé et la fertilité, et par conséquent, sur les performances reproductives, entre autres le taux de conception (Colazo et Kastelic, 2012).

Chez l'espèce humaine, des études sur la physiopathologie de l'infertilité inexplicée ont montré que le stress oxydatif pouvait être impliqué comme facteur sous-jacent (Wang et al. 1997, Polak et al. 2001). En effet, une production excessive des ERO peut neutraliser le système de défense antioxydant naturel du corps créant ainsi un environnement inadapté aux réactions physiologiques normales chez la femme (Al-Gubory et al. 2010).

Plusieurs études ont établi un lien entre l'infertilité féminine et une augmentation du stress oxydatif dans les micros et macro-environnements critiques du corps. Particulièrement, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent contribuer à la relative infériorité de la qualité de l'ovocyte au cours des procédures des biotechnologies de reproduction *in vitro* chez la femme (Combelles et al. 2009).

Cependant, à notre connaissance, aucun travail n'avait étudié l'impact du BCS, en particulier l'impact des valeurs anormales, sur le statut oxydatif au niveau du tractus génital de la vache. L'importance de l'évaluation du stress oxydatif dans l'appareil reproducteur des vaches réside dans la compréhension des métabolites du processus oxydatif participant dans plusieurs processus cellulaires conduisant à l'altération du processus de reproduction et de fertilité des bovins. Des connaissances supplémentaires à ce sujet pourraient être utilisées pour développer des stratégies afin d'améliorer la fertilité chez l'espèce bovine.

Dans notre étude nous avons effectué des échographies pour calculer le nombre de follicules dans les deux ovaires de chaque matrice selon son BCS et afin de répondre à la question : « est-ce que les paramètres du stress oxydatif sont influencés par le statut de l'état corporel, nous avons évalué le statut oxydatif dans

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

l'appareil reproducteur des vaches de différentes BCS. Les concentrations des Malon-di-aldéhydes (MDA), produit final de la peroxydation lipidique, le statut antioxydant total (SAT), et l'activité enzymatique de la catalase ont été évalués comme marqueurs du stress oxydatif.

Les résultats de l'échographie des ovaires montrent que la relation entre le BCS et le nombre de follicules est intimement liée. En effet, il a été établi que la nutrition agit à différents niveaux du système qui contrôle la reproduction et que le système nerveux central est capable de détecter des modifications de la disponibilité de plusieurs composés métaboliques qui conditionne la sécrétion de GnRH et des gonadotrophines qui peuvent diminuer en fonction du changement du métabolisme (Butler. 2000).

Au cours du cycle œstral, les nouvelles vagues de développement folliculaire sont précédées par une augmentation maximale des concentrations de FSH qui sont responsables de l'initiation de la croissance des follicules ovariens (Adam et al. 1993). Il est également connu que la nutrition et le BCS affectent la croissance et les paramètres folliculaires dans l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien (Diskin et al. 2003). Cela indique que le BCS peut également affecter le nombre de follicules dans l'ovaire.

Selon une étude menée par Haresign (1981) qui a suggéré qu'un apport alimentaire élevé pouvait agir sur les dernières phases du développement folliculaire en réduisant l'atresie des follicules de 2-3 mm. Des augmentations similaires du nombre de follicules ont été observées lorsque les bovins (Guttierez et al. 1997) et les ovins (Joyce et al. 1998) sont traités avec l'hormone de croissance exogène, ceci indique une interaction entre la nutrition, l'hormone de croissance (GH) et l'insuline. En effet, un faible apport alimentaire entraîne une diminution du nombre de follicules et de la réponse à la superovulation (O'Callaghan et al. 2000). De plus, le traitement des vaches laitières avec l'hormone de croissance (GH) augmente le nombre de follicules de petite et moyenne tailles (Gong et al. 1993).

Au niveau des ovaires, nos résultats montrent que les vaches ayant un BCS normal (note3) ont un statut antioxydant total et une activité enzymatique de la catalase plus élevés avec de faibles concentrations de TBARS par rapport aux vaches ayant un BCS anormal (<3 ou >3). Ces résultats sont similaires à ceux de Bernabucci et al

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

(2005), qui ont démontré que les vaches ayant un BCS élevé sont plus exposées au stress oxydatif. Chez les bovins, un déficit énergétique ou une suralimentation exercent un effet négatif sur la production d'embryons avec des vaches superovulées (Sartori et al. 2007, Santos et al. 2008b). D même, un excès de lipides dans les ovocytes a été associé à une subfertilité (Bage et al. 2007).

Chez les animaux d'élevage, le stress thermique, les déséquilibres alimentaires et les infections bactériennes peuvent augmenter la production de radicaux libres et le stress oxydatif (Celi et Gabai, 2015).

Des études ont montré la relation entre l'obésité et le stress oxydatif chez l'Homme. En effet, l'obésité, l'augmentation de l'indice de masse corporelle et la perte subite de poids ont été associées à une augmentation du stress oxydatif (Chan et al. 2002 ; Ozata et al. 2002 ; Morrow, 2003). Certains chercheurs ont constaté une augmentation des ERO et une diminution des antioxydants chez les hommes et les femmes obèses et qui serait liée à la résistance à l'insuline (Higdon et Frei, 2003 ; Keaney et al. 2003).

Des études ont mis en évidence le lien entre la nutrition et la qualité de l'ovocyte (Boland et al. 2001 ; Fouladi-Nashta et al. 2007). En médecine humaine particulièrement, une relation entre l'obésité, le diabète et la pathologie de l'ovaire a été établie en démontrant une association entre l'insulino-résistance et le syndrome des ovaires polykystique (SOPK) qui touche entre 6 à 10% des femmes en âge de procréer (Puder et Pralong, 2009). Ce syndrome, qui conduit à une baisse de fertilité, est une dérégulation du métabolisme associé à un déséquilibre des hormones de reproduction. De plus les femmes atteintes de SOPK ont de multiples anomalies lipidiques, y compris une augmentation des acides gras non estérifié (AGNE) et du cholestérol plasmatique, des problèmes qui sont aussi fréquemment associés à une réduction de la fertilité *post- partum* chez la vache laitières haute productrice (Leroy et al. 2005 ; Trottier et al. 2012).

Chez les bovins, des études de cryoconservation ont montré que la composition en acides gras est un indicateur important de la qualité ovocytaire (Zeron et al. 2001), et un certains nombre de travaux indiquait que l'addition d'acides gras non estérifiés dans les milieux de culture peut retarder la maturation ovocytaire et par conséquent la fécondation et le développement embryonnaire (Jorristma et al. 2004).

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

Des études récentes menées sur des ovocytes murins ont montré qu'un stress oxydatif déclenche une cascade de plusieurs événements associés au vieillissement des ovocytes et que l'un des changements liés au vieillissement provoqué par le stress oxydatif est le dysfonctionnement mitochondrial (Lord et Aitken, 2013). La fonction mitochondriale produit la majorité de l'énergie de l'ovocyte sous forme d'ATP, chez la femme une perturbation de l'activité mitochondriale et le stress oxydatif observée en cas d'obésité est évoqué pour expliquer l'altération de la qualité ovocytaire (Grindler et Moley, 2013). Chez la souris, une nutrition surabondante peut produire un environnement de reproduction défavorable, entraînant une modification du métabolisme de l'ovocyte et un ralentissement du développement de l'embryon (Igosheva et al. 2010).

Chez l'homme, il a été rapporté que le stress oxydatif joue un rôle dans la physiologie de la fonction ovarienne. En effet, différents chercheurs ont découvert que les ERO sont impliqués dans la folliculogénèse, la maturation du follicule, l'ovulation et la fonction du corps lutéal (Tamate et al. 1995; Sugino et al. 1996; Jozwik et al. 1999; Sabatini et al. 1999). Dans ce sens, Polak et al, ont trouvé que les concentrations en antioxydants chez les patientes qui présentent une infertilité inexplicée est significativement basse par rapport aux femmes fertiles (polak et al. 2001).

Dans le liquide folliculaire, les vaches ayant un BCS normal (3) ont le statut antioxydant total et une activité de la catalase toujours élevés avec de faibles concentrations de TBARS. Le liquide folliculaire est un microenvironnement capital qui joue un rôle essentiel dans le développement des ovocytes. L'ovocyte est maintenu avec les composants du liquide folliculaire pendant la maturation. C'est un produit des sécrétions des cellules de la granulosa et de la thèque qui entourent la paroi folliculaire.

La composition biochimique du liquide folliculaire comprend des protéines, des sucres, des espèces réactives de l'oxygène, des antioxydants et des hormones. Ainsi, il est fort probable que certaines caractéristiques biochimiques du liquide folliculaire jouent un rôle critique dans la qualité de l'ovocyte et sur le potentiel ultérieur de fécondation et de développement d'embryons.

Maintenir l'équilibre entre les ERO et les antioxydants peut jouer un rôle important dans le processus de reproduction tels que la folliculogénèse. Des études suggèrent que les ERO et les antioxydants pourrait être des facteurs influençant la

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

folliculogénèse y compris le phénomène d'atrésie folliculaire (Valdez et al. 2005; Zhang et al. 2006). Kazemi et al (2014) ont rapporté que la durée de l'infertilité est fortement associée à une diminution de la défense antioxydante dans l'environnement folliculaire. Le statut oxydant-antioxydant du liquide folliculaire et ses effets sur l'ovocyte et les résultats de la FIV à fait l'objet de plusieurs études (Revelli et al. 2009).

De nombreux rapport ont tenté de caractériser les ERO et les antioxydants dans le liquide folliculaire en relation avec la qualité de l'ovocyte, la formation d'embryons et les résultats de la FIV. Les ovocytes se développant dans un liquide folliculaire de capacité antioxydante accrue pourraient être plus susceptibles d'être fécondés que ceux présentant des niveaux d'antioxydants plus faibles. Aussi, dans une étude menée sur des femmes subissant une FIV, des auteurs ont rapporté que les ovocytes avec un liquide folliculaire contenant des taux de SAT élevés entraînaient des taux de grossesse plus élevés (Pasqualotto et al. 2004). En outre, dans autre un rapport, Pasqualotto et al (2009) montrent que des taux plus élevés de CAT et de SOD dans le liquide folliculaire sont corrélés à de meilleurs taux de fécondation et de clivage chez les patients subissant une FIV. Cliniquement, le 8-hydroxy-2-désoxyguanosine, un marqueur important du stress oxydatif dans les cellules de la granulosa, a montré une corrélation négative avec la qualité de l'embryon après la FIV (Seino et al. 2002).

Certaines preuves expérimentales confirment un lien entre les radicaux libres dans le liquide folliculaire et la qualité de l'ovocyte. En effet, une étude a montré une corrélation positive entre les concentrations élevées des ERO et les taux de gestation (Attaran et al. 2000). De même, un autre marqueur du SO, la peroxydation lipidique, est corrélé aux taux de gestation, mais aucune relation significative n'a été détectée entre celle-ci et la maturité de l'ovocyte, la fécondation et la qualité de l'embryon (Pasqualotto et al. 2004). Sur la base des propriétés d'oxydation du liquide folliculaire, un seuil de stress oxydatif peut être lié aux nombres d'ovocytes matures et aux taux de clivage (Wiener-Megnazi et al. 2004), et un taux élevé des radicaux libres dans le liquide folliculaire est corrélé à une mauvaise qualité des ovocytes et à une diminution de la formation d'embryons (Das et al. 2006).

Il est intéressant de noter que les concentrations de SAT détectées dans les fluides folliculaires humains sont significativement augmentées avec la fertilisation mais réduites de manière significative avec la viabilité des embryons (Oyawoye et al.

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

2003). Des taux de SAT élevés seraient un marqueur des follicules matures conduisant à la croissance d'ovocytes de haute qualité. L'effet bénéfique du liquide folliculaire contre les dommages oxydatifs peut être en partie dû à une activité élevée des isoenzymes de la SOD, qui agissent comme des capteurs importants des radicaux libres. Dans ce sens, une étude chez le porc a proposé une relation entre une activité accrue de la SOD dans le fluide folliculaire et une maturation cytoplasmique accrue de l'ovocyte (Tatemoto et al. 2004).

Les changements alimentaires entraînent une modification immédiate et rapide de toute une gamme d'agents humoraux métaboliques, notamment le glucose et l'insuline. Les modifications de l'insuline sont étroitement liées aux modifications des concentrations de l'IGF-I et l'IGF-II. Ces ligands sont présents dans divers tissus, y compris dans le liquide folliculaire. Ils sont susceptibles d'avoir des actions endocriniennes, paracrines et autocrines en réponse à des modifications de la nutrition (Monget et Martin, 1997).

En *post-partum* chez les vaches laitières, l'ampleur du déficit énergétique influence la croissance folliculaire (Beam et al. 1999) et chez les femmes obèses le nombre de cellules apoptotiques formées dans le follicule est plus élevé que chez les femmes qui ont un poids normal (Visler et al. 2010). En particulier la vitamine A joue un rôle potentiel dans le développement folliculaire et les cellules épithéliales dépendent des quantités importantes de vitamines A pour une différenciation cellulaire normale (Roberts et Sporn, 1984). Schweigert et al (1986) ont rapporté que la concentration intra- folliculaire de vitamine A est responsable de la taille des follicules et que la concentration la plus élevée se retrouve dans le plus large follicule.

Britt (1994) suppose que les follicules développés pendant la période d'un bilan énergétique négatif en *post-partum* peuvent être affectés par des modifications métaboliques défavorables et pourraient contenir un ovocyte mal développé. De même, un approvisionnement en énergie à court terme est directement impliqué dans la croissance folliculaire, les bovins dont l'apport alimentaire est limité modifie les caractéristiques de croissance folliculaire (Murphy et al. 1991 ; Rhodes et al. 1995). Dans ce sens, il a été montré que des taux élevés des AGNE sont toxiques pour la croissance et la fonction des cellules de la granulosa bovine (Vanholder et al. 2005) et humaines (Mu et al. 2001) *in vitro*.

L'oviducte bovin est un organe actif et dynamique et constitue le meilleur environnement pour le transport et la capacitation des spermatozoïdes, la maturation

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

de l'ovocyte, la fécondation et le développement embryonnaire précoce (Ellington, 1991 ; Walter, 1995). L'importance d'un environnement oviductal optimal pour la fécondation est de mieux en mieux comprise, en particulier pour protéger les embryons précoces ou les gamètes mâles des dommages causés par le stress oxydatif via la production de fluide oviductal (Cheong et al. 2009 ; Guérin et al. 2001 ; Arganaraz et al. 2012).

Des concentrations élevées de ERO dans ces environnements peuvent avoir des effets déterminants sur les spermatozoïdes, les interactions ovocytes-spermatozoïdes et les embryons dans la trompe de Fallope. (Agarwal et al. 2003). Il est bien établi depuis longtemps que les cellules épithéliales oviductales améliorent les fonctions des spermatozoïdes en milieu de culture (Aitken et al. 2006; Suarez, 2008). En effet, Huang et al. (2013), ont montré que les protéines de la membrane cellulaire épithéliale de l'oviducte se lient préférentiellement aux spermatozoïdes humains non capacisés.

Les actions protectrices des protéines de la membrane cellulaire oviductale sur le stress oxydatif des spermatozoïdes nécessitent des contacts directs des deux types de cellules. Les preuves actuelles suggèrent que l'interaction est médiée par des ligands glucidiques spécifiques à l'espèce (Suarez, 2002), impliquant du fucose chez les bovins (Lefebvre et al. 1997), des structures complexes de mannose chez les porcs (Green et al. 2001), du galactose chez les chevaux (Dobrinski et al. 1996) et de l'acide sialique chez le hamster (DeMott et al. 1995).

Aussi, chez l'homme, les interactions spermatozoïdes-cellules oviductales protègent les spermatozoïdes des dommages oxydatifs et préservent la motilité et l'intégrité de l'ADN en renforçant les défenses antioxydantes endogènes et en réduisant les niveaux de ROS intracellulaires (Huang et al. 2013).

Lors de l'exploration du statut antioxydant total et de l'activité enzymatique de la catalase, les valeurs étaient significativement plus élevées chez les vaches présentant un BCS normal (3) et les taux du TBARS étaient simultanément plus faibles. Ceci révélait un meilleur microenvironnement par rapport aux vaches ayant un BCS anormal.

Après le vêlage, avant l'involution utérine, une vache ne pourra pas concevoir avant que son système reproducteur soit suffisamment rétabli pour supporter une autre gestation. La santé utérine *post-partum* joue un rôle central dans la détermination de l'efficacité de la reproduction des troupeaux laitiers pour soutenir le

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

développement de l'embryon avant l'implantation. Les infections locales *post-partum* de l'utérus retardent l'involution utérine, provoquent une inflammation de l'endomètre, peuvent retarder l'intervalle entre la première insémination en *post-partum*, réduire le taux de conception jusqu'à la première insémination et augmenter le risque de réforme à cause de la stérilité (Sheldon et Dobson, 2004).

Les problèmes utérins peuvent également avoir un effet négatif sur la consommation de la matière sèche par les vaches, nuire au bien-être et accentuer le stress, entraînant probablement une sécrétion élevée de cortisol (Wischnal et al. 2001). Chez les ruminants, l'état redox et le stress oxydatif dans l'endomètre ou l'environnement utérin n'est pas bien connu. Une étude récente a montré que l'activité des enzymes antioxydantes telles que GPx et SOD2 chez le mouton est régulée avec des concentrations élevées au cours de la gestation dans l'endomètre (Al-Gubory et al. 2014). Selon les auteurs, l'augmentation des enzymes antioxydantes entre le jour 16 et le jour 21 de la gestation est une réponse de survie pendant la période de transition vers la période post-implantation, qui reste important pour prévenir une éventuelle attaque oxydative en début de gestation (Al-Gubory et al. 2014). Yoon et al (2014) ont montré qu'un excès d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) réduit le taux de développement des embryons et augmentait le nombre de cellules apoptotiques d'embryons cultivés *in vitro*, probablement en raison d'un stress lié au réticulum endoplasmique.

Dans les résultats du présent travail, le statut oxydatif dans le sérum des vaches avec un BCS normal est meilleur comparativement aux vaches avec un BCS faible ou élevé. Un certain nombre de phénomènes chimiques et physiques peuvent initier une oxydation qui se déroule en permanence en présence de substrats appropriés jusqu'à ce qu'un mécanisme de défense bloquant apparaisse. De nombreux substrats sériques tels que l'oxygène, les acides gras polyinsaturés, les phospholipides et le cholestérol sont ciblés par l'oxydation.

Il a été déjà signalé que les vaches en transition présentant un BCS élevé perdent plus de poids et de conditions physiques que les vaches maigres (Treacher et al. 1986). Il a été particulièrement rapporté qu'un BCS élevé et une perte importante de celui-ci sont liés à la concentration des AGNE dans le sérum (Rukkamsuk et al. 1998) et éventuellement à l'incidence de troubles métaboliques (Cameron et al. 1998 ; Studer, 1998 ; Brukley et al. 2003). Des études antérieures ont montré des corrélations positives entre un BCS élevé et les concentrations plasmatiques des

## Chapitre 5 : Résultats et Discussion

---

AGNE et l'incidence accrue des problèmes de santé chez la vache laitière comme la perte rapide du BCS pendant la période *peri-partum* (Brukley et al. 2003 ; Gearhart et al. 1990 ; Kim et Suh, 2003 ; Morrow et al. 1979).

Dans une étude menée par Burnabucci et al (2005) qui ont établi l'association entre le BCS, la mobilisation des lipides (AGNE) et le déséquilibre du stress oxydatif, ils ont suggéré que le statut énergétique des vaches sur-conditionnées est lié au statut oxydatif au cours de la période *peri-partum* et que les vaches ayant des concentrations plasmatiques élevées en AGNE ont des taux plasmatiques élevés en radicaux libres.

De même, O'Boyle et al (2006) ont révélé un potentiel antioxydant faible dans les globules blancs des vaches ayant un BCS élevé par rapport à celles ayant un BCS normal. Dandona et al (2004) ont supposé deux mécanismes qui pourraient être impliqués dans la liaison entre l'obésité et le stress oxydatif ; premièrement, l'apport excessif des macronutriments et deuxièmement, l'augmentation de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires par le tissu adipeux chez les individus obèses.

Le taux plasmatique des radicaux libres est considéré comme un bon indicateur de stress oxydatif (Miller et al. 1993). Les TBARS plasmatiques ont été choisis parce qu'ils représentent le nombre de produits finaux de la peroxydation lipidique, y compris le Malondialdéhyde. Par conséquent, la mesure des TBARS est indicative de la peroxydation lipidique. Lorsque les TBARS sont mesurés dans le plasma, le test est considéré comme un marqueur spécifique de la peroxydation des lipides (Armstrong et Browne, 1994).

Dans plusieurs études, la majorité des protocoles de maturation *in vitro* sont basées sur des milieux de culture enrichis en sérum (Luvoni et al. 2005 ; Oh et al. 2005) dans lesquels les effets bénéfiques exact du sérum sont inconnus et dans la plupart des cas imprévisibles (Bolamba et al. 2002 ; Lee et al. 2007b). Les résultats de notre travail peuvent être exploités dans le choix du sérum approprié au milieu de culture des ovocytes.

## Conclusion

---

### **Conclusion :**

L'amélioration des performances de reproduction nécessite des techniques à mettre en œuvre et à maîtriser tout au long du cycle physiologique de l'animal. Le déficit énergétique est responsable d'une manière significative dans l'altération de ces performances.

La reproduction est un enchaînement de plusieurs événements qui peuvent être altérés suite à des perturbations à différents niveaux, et les conséquences se faisant ressentir aussi bien au niveau sanitaire, économique que zootechnique. La maîtrise de ces équilibres nécessite de mettre en œuvre des moyens concrets d'appréciation des facteurs de risques. De nombreux outils de suivi se sont développés, et la notation de l'état corporel reste une des options les plus indiquées.

C'est dans ce sens que s'est inscrit notre travail qui consiste à explorer l'état corporel des vaches, tout en explorant les relations existantes entre différents embonpoints et le statut oxydatif des différents organes intimement liés au processus de reproduction. Les résultats obtenus montrent clairement une relation étroite révélée notamment par un faible nombre de follicules aussi bien chez vaches maigres que grasses.

Aussi un meilleur statut oxydatif est observé dans tous les tissus étudiés incluant, les cellules oviductales, le liquide folliculaire, les ovaires, le liquide utérin et le sérum chez les vaches ayant un BCS normal. Cet effet a été observé dans tous les marqueurs du stress oxydatif incluant : le statut antioxydant total (SAT), l'activité enzymatique de la catalase (CAT) et la peroxydation lipidique (TBARS).

Chez les ruminants, la fertilité est un paramètre clé de la rentabilité des agriculteurs. Un état nutritionnel positif et une bonne santé métabolique sont associés à une reproduction réussie et contribuent à garantir une fertilité élevée. Le BCS connu pour être un élément déterminant à prendre en compte dans le but d'améliorer les performances de reproduction, est montré ici, en plus d'être un bon indicateur des performances zootechniques, comme bon révélateur du statut oxydatif des différents organes de l'appareil reproducteur femelle et du sérum.

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure qu'il existe une relation étroite entre l'état corporel et le stress oxydatif et que l'état d'embonpoint normal, avec une notre de BCS de 3, est le plus indiqué pour réduire les effets néfastes du stress oxydatif. Les vaches grasses et maigres sont en effet, celles qui expriment le plus les

## Conclusion

---

altérations les plus importantes. Les mécanismes d'action de l'état corporel sur le stress oxydatif méritent d'être exploré plus profondément, plus particulièrement en ce qui concerne les résultats de fertilité après insémination artificielle, de même que l'intérêt de l'enrichissement des rations alimentaires par des antioxydants.

## Références

- Aardema H, Lolicato F, Van de Lest CH, Brouwers JF, Vaandrager AB, van Tol HT, Roelen BA, Vos PL, Helms JB, Gadella BM. 2013. Bovine cumulus cells protect maturing oocytes from increased fatty acid levels by massive intracellular lipid storage. *Biology of Reproduction*. 88: 164.
- Adams G, Matted R, Kastelic R, Ko J, Ginther O. 1993. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J Reprod Fertil*. 94:177-188.
- Aebi H. Catalase in Vitro. 1984. *Methods Enzymol*. 105:121-126.
- Agarwal A, Said Tamer M, Bedaiwy Mohamed A, Banerjee J, Alvarez JG. 2006. Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertil Steril*. 86; 503-12.
- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Modern trends role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. 2003. *Fertil Steril*. 79(4): 829-843. doi: 10.1016/S0015-0282(02)04948-8.
- Aitken RJ, Baker MA. 2006. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Mol Cell Endocrinol*. 250: 66–69.
- Aksu EH, Kandemir FM, Kiliç K, Akman O, Ömür AD, Uçar Ö. 2015. Arginase activity of ovarian structures in cows of Brown Swiss and its crossbreeds. *Vet. Arhiv*. 85: 261-271.
- Al-Gubory K, Fowler PA, Garrel C. 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol*. 42:1634-1650.
- Al-Gubory KH, Arianmanesh M, Garrel C, Bhattacharya S, Cash P, Fowler PA. 2014. Proteomic analysis of the sheep caruncular and intercaruncular endometrium reveals changes in functional proteins crucial for the establishment of pregnancy. *Reproduction*. 147:599–614.
- Ambrose DJ, Kastelic JP, Corbett R, Pitney PA, Petit HV, Small JA, Zalkovic, P. 2006. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in alpha-linolenic acid. *Journal of Dairy Science*. 89: 3066 3074.
- Arganaraz ME, Apichela SA, Miceli DC. LEFT Y2 expression and localization in rat oviduct during early pregnancy. 2012. *Zygote*. 20(1):53-60.
- Armstrong D, Browne R. 1994. The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds related to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. *Adv. Exp. Med. Biol*. 366:43–58.

- Attaran M, Pasqualotto E, Falcone T, Goldberg JM, Miller KF, Agarwal A, Sharma RK. The effect of follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of in vitro fertilization. *Int J Fertil Womens Med.* 2000. 45:314–20. PubMed: 11092702
- Austin E.J. Mihm M. Ryan MP. Williams DH. Roche J.F. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 77: 2219–2226.
- Bage R, Awasthi H, Saravia F, Rodriguez-Martinez H. 2007. Excessive lipid contents in immature oocytes from repeat breeder dairy heifers. *Reprod Domest Anim.* 42(2):67.
- Bazin S. 1984. Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches Pie-Noires. Paris (France): ITEB-RNED, 31 p.
- Beam S.W, Butler W.R. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56 :133–142.
- Beam SW, Butler, WR. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement.* 54: 411–424.
- Beckman K, Ames B. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews.* 78: 547–581.
- Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S. 2001. Oxidative stress and the ovary. *J Soc Gynecol Investig.* 8:S40-42.
- Belge EK. 2016. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/Nutrition Journal. 15: 71. Doi: 10.1186 / s12937-016-0186-5.
- Benjamin D, Sharma RK, Moazzam A, Agarwal A. 2012. Methods for the detection of ROS in human sperm samples. *Studies on men's health and fertility. Humana. New York.* pp 257–274.
- Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. 2005. *J Dairy Sci.* 88(6): 2017-2026. doi:10.3168/jds.S0022-0302 (05)72878-2.
- Bilby TR, Block J, Do Amaral BC, Sa Filho O, Silvestre FT, Hansen PJ, Staples CR, Thatcher WW. 2006. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. *Journal of Dairy Science.* 89: 3891–3903.

- Bolamba D, Russ KD, Olson MA, Sandler JL, Durrant BS. 2002. In vitro maturation of bitch oocytes from advanced preantral follicles in synthetic oviduct fluid medium: serum is not essential. *Theriogenology* 58 1689–1703. (doi:10.1016/S0093-691X(02)01080-4)
- Boland MP, Lonergan P & O’Callaghan D. 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 55 1323–1340.
- Bosio, L. (2006). Relations entre la fertilité et évolution de l’état corporel chez la vache laitière. Thèse de doctorat, Université CLAUDE BERNARD, LYON I (médecine-pharmacie).
- Brisson J. 2003. Nutrition, alimentation et reproduction. Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec.
- Britt JH. 1994. Follicular development and fertility: potential impacts of negative energy balance. In *Proceedings of the National Reproduction Symposium*, pp 103–112. Ed. ER Jordan. Pittsburgh. PA. USA.
- Brun-Lafleur L, Cutullic E, Faverdin P, Delaby L, Disenhaus C. 2013. An individual reproduction model sensitive to milk yield and body condition in Holstein dairy cows. *Animal*. 7: 1332–43.
- Bruyas. 1991. Cycle œstral et détection des chaleurs. *depeche vet., supplement*. 19:9-14.
- Buckley F, O’Sullivan K, Mee JF, Evans RD, Dillon P. 2003. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calving Holstein-Friesians. *Journal of Dairy Science*. 86: 92308–2319.
- Burton GJ, Jauniaux E. 2010. Oxidative Stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 25: 287–299.
- Butler W. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*. 60-61: 449-457.
- Butler WR. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science* 83: 211–218.
- Butler WR. 2006. Relationships of negative energy balance with fertility. *Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop*. pp. 51-60.
- Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat JL. 2003. Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutation Research*, vol. 531. no. 1-2. pp. 5–23.

- Cameron REB, Dyk PB, Herdt TH, Kaneene JB, Miller R, Bucholtz HF, Liesman JS, VanDehaar MJ, Emery RS. 1998. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displacement abomasums in high producing dairy herds. *J. Dairy Sci.* 81:132–139.
- Carr AC, Zhu BZ, Frei B. 2000. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res.* vol 7(5): 349-354.
- Celi P, Gabai G. 2015. Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: the role of protein oxidation. *Front Vet Sci.* 2:1-13.
- Cetica P, Pintos L, Dalvit G, Beconi M. 2002. Activity of key enzymes involved in glucose and triglyceride catabolism during bovine oocyte maturation *in vitro*. *Reproduction.* 124: 675-681.
- Chan JC, Cheung JC, Stchouwer CD, Emeis JJ, Tong PC, Ko GT, Yudkin JS. 2002. The central role of obesity-associated dyslipidaemia, endothelial activation and cytokines in the metabolic syndrome? An analysis by structural equation modeling. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 26: 994–1008.
- Chandra A, Surti N, Kesavan S, Agarwal A. 2009. Significance of oxidative stress in human reproduction. *Arch Med.* 5: 528–542.
- Chen C, Han S, Liu W, Wang Y, Huang G. 2012. Effect of vitrification on mitochondrial membrane potential in human metaphase II oocytes. *J Assist Reprod Genet.* 29:1045–50.
- Chen K, Suh J, Carr AC, Morrow JD, Zeind J, Frei B. 2000. Vitamin C suppresses oxidative lipid damage *in vivo*, even in the presence of iron overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* vol 279(6),. p.E1406-1412.
- Cheong AWY, Lee Y, Liu W, Yeung WSB, Lee K. 2009. Oviductal microsomal epoxide hydrolase ( EPHX1 ) reduces reactive oxygen species (ROS) level and enhances preimplantation mouse embryo development. *Biollogy Reprod.* 81:126-132. doi:10.1095/biolreprod.108.071449.
- Combelles CM, Gupta S, Agarwal A. 2009. Could oxidative stress influence the *in-vitro* maturation of oocytes? *Reprod Biomed Online.* 18(6):864-880.
- Dalton JC, Nadir S, Bame JH, Noftsinger M, Nebel RL, Saacke, RG. 2001. Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertilization rate, and embryo quality in nonlactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 84: 2413–2418.
- Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. 2004. Inflammation: the link between insulin resistance, and obesity and diabetes. *Trends Immunol.*25: 4–7.

- Das S, Chattopadhyay R, Ghosh S, et al. 2006. Reactive oxygen species level in follicular fluid – embryo quality marker in IVF? *Human Reproduction*. 21:2403–2407.
- Davies MJ. 2016. Protein oxidation and peroxidation. *The Biochemical Journal*. vol. 473. no. 7. pp. 805–825.
- DeMarchi E, Baldassari F, Bononi A, Wieckowski MR, Pinton P. 2013. Oxidative stress in cardiovascular diseases and obesity: role of p66shc and protein kinase C. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013: 1–11.
- DeMott RP, Lefebvre R, Suarez SS. 1995. Carbohydrates mediate the adherence of hamster sperm to oviductal epithelium. *Biol. Reprod*. 52: 1395-1403.
- Derivaux J. 1971. *Reproduction chez les animaux domestiques tome II, le mâle : insémination artificielle*, Liège, Edition Derouaux.-175p.
- Dikalov SI, Harrison DG. 2014. Methods for detection of mitochondrial and cellular reactive oxygen species. *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 20, no. 2, pp. 372–382.
- Disenhaus C, Grimard B, Trou G, Delaby L. 2005. De la vache au système : s'adapter aux différents objectifs de reproduction en élevage laitier? *Renc. Rech. Ruminants*. 12: 125-135.
- Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan J. 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormone and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci*. 78:345-370.
- Diskin MG, Sreenan JM. 2000. Expression and detection of oestrus in cattle. *Reprod. Nutr. Dev*. 40: 481–491.
- Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. 2002. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology & Medicine*. vol. 32. no. 11. pp. 1102–1115.
- Dobrinski I, Igotz GG, Thomas PGA, Ball BA. 1996. Role of equine spermatozoa to uterine tubal (oviductal) epithelial cells in vitro. *An. J. Vet. Res*. 57: 1635-1639.
- Donovan GA, Bennett LF, Springer FS. 2003. Factors associated with first service conception in artificially inseminated nulliparous Holstein heifers. *Theriogenology*. 60: 67–75.
- Downing JA, Scaramuzzi RJ. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 43: 209 227.

- Drackley JK. 1999. Biology of dairy cows during the transition period. *J. Dairy Sci.* 82: 2259–2273.
- Dransfield MBG, Nebel RL, Pearson, RE, Warnick LD. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 81: 1874–1882.
- Driancourt MA, Gougeon A, Royere D, Thibault C. 1991. La fonction ovarienne. In, Thibault C, Levasseur MC. 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA, ELLIPSES, 768.
- Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. 1989. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 72: 68-78.
- El Mouatassim S, Guerin P, Menezo Y. 1999. Expression of genes encoding antioxidant enzymes in human and mouse oocytes during the final stages of maturation. *Mol Hum Reprod.* 5:720-725.
- Elbim C, Lizard G. 2009. Flow cytometric investigation of neutrophil oxidative burst and apoptosis in physiological and pathological situations. *Cytometry. Part a.* vol. 75. no. 6. Pp: 475–481.
- Ellington J. 1991. The bovine oviduct and its role in reproduction. *Cornell Vet.* 81:313- 328.
- Ennuyer M. 2000. Les vagues folliculaires chez la vache. Applications pratiques à la maîtrise de la reproduction. *Point Vétérinaire.* 31 (209) : 377-383.
- Favier A. 2003. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108– 115.
- Fenwick MA, Fitzpatrick R, Llewellyn S, Kenny DA, Patton J, Murphy JJ, Wathes DC. 2008. Negative energy balance in dairy cows is associated with specific changes in IGF-binding protein expression in the oviduct. *Reproduction* vol. 135. pp. 63-75.
- Ferguson J, Galligan D, Thomsen N. 1994 Principal descriptors of body condition in Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci.* 77: 2695.
- Fernandez R, Martini AC, Navarro VM, Castellano JM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena-Sempere M. 2006. Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Molecular and Cellular Endocrinology* vol. 254-255. pp. 127-132.
- Fieni F, Tainturier D, Bruyas, JF, Battu I. 1995. Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache. *Bull GTV.* 4 : 35-49.

- Fitzpatrick R, Llewellyn S, Kenny DA, Murphy JJ, Scaramuzzi RJ, Wathes DC. 2007. Effect of negative energy balance on the insulin-like growth factor system in pre-recruitment ovarian follicles of post partum dairy cows. *Reproduction*.133: 627-639.
- Fouladi-Nashta AA, Gutierrez CG, Gong JG, et al. 2007. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction*. 77:9–17.
- Friggens NC. 2003. Body lipid reserves and the reproductive cycle: towards a better understanding" *Livestock Production Science*. 83: 219-236.
- Fujii J, Iuchi Y, Okada F. 2005. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*. 3:43.
- Galina C, Arthur G. 1989 Review of cattle reproduction in the tropics. 3. Puerperium. *Anim. Breed. Abstr*. 57: 889-910.
- Garrett JE, Geisert RD, Zavy MT, Morgan GL. 1998. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J Reprod Fert*. 84: 437-446.
- Gearhart MA, Curtis CR, Erb HN, Smith RD, Sniffen CJ, Chase LE, Cooper D. 1990. Relationship of changes in condition score to cow health in Holstein. *J. Dairy Sci*. 73: 3132–3140.
- Gérard N, Loiseau S, Duchamp G, Seguin F. 2002. Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H-NMR). *Reproduction*. 124: 241–248.
- Gibson GE, Huang HM. 2004. Mitochondrial enzymes and endoplasmic reticulum calcium stores as targets of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *J Bioenerg Biomembr* 2004. 36:335-340.
- Gier HT, Marion GB. 1968. Uterus of the cow after parturition: involutinal changes. *Am. J. Vet. Res*. 29: 83–96.
- Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64, 1879–1888.
- Gillund P, Reksen O, Grohn YT & Karlberg K 2001 Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84 1390–1396.

- Goff JP, Horst RL. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* 80:1260–1268.
- Goff JP, Kimura K, Horst RL. 2002. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and  $\beta$ -carotene at parturition. *J Dairy Sci.* 85: 1427- 1436.
- Gong JG, Bramley TA, Webb R. 1993. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J. Reprod Fertil.* 97: 247–254.
- Gordon I. 1996. *Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes.* Cab International.
- Gregus Z, Fekete T, Halaszy E, Klassen CD. 1996. Lipoic acid impairs glycine conjugation of benzoic acid and renal excretion of benzoylglycine. *Drug Metab Dispos.* 24: 682-688.
- Grindler NM, Moley KH. 2013. Maternal obesity, infertility and mitochondrial dysfunction: potential mechanisms emerging from mouse model systems. *Mol. Hum. Reprod.* 8: 486-494.
- Gröhn, YT, Rajala-Schultz PJ. 2000. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60/61: 605–614.
- Grummer R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3882–3896.
- Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 20: 447–470.
- Guerin P, El Moutassim S, Menezo Y. 2001. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update.* 7:175-189.
- Guerin P, Gallois E, Croteau S, Revol N, Maurin F, Guillaud J, Menezo Y. 1995. Techniques de récolte et aminogrammes des liquides tubaire et folliculaire chez les femelles domestiques. *Revue de Médecine Vétérinaire.* 146: 805-814.
- Gupta S, Gupta HK, Soni J. 2004. Effect of vitamin E and selenium supplementation on concentrations of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxides and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. *Theriogenology.* 64: 1273–1286.

- Gutierrez CG, Oldham J, Bramley TA, Gong JG, Campbell BK and Webb R. 1997. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *Journal of Animal Science*. 75: 1876–1884.
- Halliwell B, Gutteridge JM. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third edition. Oxford University Press, Midsomer Norton, Avon, England.
- Han YK, Kim IH. 2005. Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *J. Vet. Sci*. 6: 53–59.
- Hansen C, Srikandakumar A, Downey BR. 1991. Presence of follicular fluid in the porcine oviduct and its contribution to the acrosme reaction. *Molecular Reproduction and Development*. 30: 148-153.
- Haresign W. 1981. The influence of nutrition on reproduction in the ewe. I. Effects on ovulation rate, follicle development and luteinizing hormone release. *Animal Production*. 32: 197–202.
- Hawkins CL, Morgan PE, Davies MJ. 2009. Quantification of protein modification by oxidants. *Free Radical Biology & Medicine*. vol. 46.no. 8. Pp: 965–988.
- Hennet ML, Yu HY, Combelles CM. 2013. Follicular fluid hydrogenperoxide and lipid hydroperoxide in bovine antral follicles of various size, atresia, and dominance status. *J Assist Reprod Genet*. 30: 333–340.
- Hermes-Lima M. 2005. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals, In K. B. Storey (Ed.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. Hoboken, NJ: Wiley-Liss. 319-368.
- Higdon JV, Frei B. 2003. Obesity and oxidative stress. A direct link to CVD? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 23:365–367.
- Hohn A, König J, Grune T. 2013. Protein oxidation in aging and the removal of oxidized proteins. *Journal of Proteomics*. vol. 92. pp. 132–159.
- Houe H, Østergaard S, Thilising-Hansen T, Jørgensen RJ, Larsen T, Sørensen JT, Agger JF, Blom JY. 2001. Milk fever and subclinical hypocalcaemia—an evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta Vet. Scand*. 42: 1–29.
- Huang V, Zhao W, Lee C, Lee C, Lam K, Ko J, et al. 2013. Cell membrane proteins from oviductal epithelial cell line protect human spermatozoa from oxidative damage. *Fertil Steril*. 99: 1444–52.

- Isensee A, Leiber F, Bieber A, Spengler A, Ivemeyer S, Maurer V, Klocke P. 2014. Comparison of a classical with a highly formularized body condition scoring system for dairy cattle. *Animal* 8:1971-7. doi:10.1017/S1751731114001888.
- Igosheva N, Abramov AY, Poston L, et al. 2010. Maternal diet-induced obesity alters mitochondrial activity and redox status in mouse oocytes and zygotes. *PLoS ONE*. 5(4):e10074. doi:10.1371/journal.pone.0010074.
- Ishikawa M. 1993. Oxygen radicals-superoxide dismutase system and reproduction medicine. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 45:842-848.
- Jackson LW, Schisterman EF, Dey-Rao R, Browne R, Armstrong D. 2005. Oxidative stress and endometriosis. *Hum Reprod*. 20:2014–2020.
- Jefferies BC. 1961. Body condition scoring and its use in management. 1961. *Tasmanian J. Agric. Min. Agric*. 32: p. 1-9.
- Jones B. 2013. Neurodegenerative disease: Oxidative stress in cells near amyloid plaques linked to neuronal death. *Nature Reviews Neurology*. 9: 300.
- Jorritsma R, Cesar ML, Hermans JT, Kruitwagen CL, Vos PL, Kruip TA. 2004. Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cells and developmental potential of oocytes *in vitro*. *Anim. Reprod. Sci*. 81: 225-235.
- Jorritsma R, Wensinga T, Kruip TA, Vos PL, Noordhuizen JP. 2003. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Vet. Res*. 34: 11–26.
- Joyce IM, Khalid M, Haresign W. 1998. Growth hormone priming as an adjunct treatment in the superovulatory protocols in the ewe alters follicle development but has no effect on ovulation rate. *Theriogenology*. 50: 873–884.
- Jozwik M, Wolczynski S, Szamatowicz M. 1999. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod*. 5:409-413.
- Kaynar H, Meral M, Turhan H, Keles M, Celik G, Akcay F. 2005. Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*. vol 28; 227(2). P.133-9.
- Kazemi A, Ramezanzadeh F, Nasr Esfahani MH, Saboor-Yaraghi AA, Nejat S, Rahimi-Foroshani A. 2014. Relationship between energy expenditure related factors and oxidative stress in follicular fluid. *Int J Fertil Steril*. 8(2):175-182.

- Keaney JF, Larson MG, Vasan RS, Wilson PWF, Lipinska IL, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ. 2003. Obesity and systemic oxidative stress. Clinical correlates of oxidative stress in the Farmingham study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23: 434–439.
- Khalil A. 2002. Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin e against atherosclerosis. *Can J Physiol Pharmacol.* vol 80(7). p. 662 -669.
- Kim IH, Kang HG. 2003. Risk factors for postpartum endometritis and the effect of endometritis on reproductive performance in dairy cows in Korea. *J. Reprod. Dev.* 49, 485–491.
- Kim IH, Suh GH. 2003. Effect of the amount of body condition score loss from the dry to the near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in holstein dairy cows. *Theriogenology.* 60: p. 1445-1456.
- Kimura K, Goff JP, Kehrli ME, Reinhardt TA. 2002. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85: 544–550.
- Knasmuller S, Nersesyan A, Misik M et al. 2008. Use of conventional and -omics based methods for health claims of dietary antioxidants: a critical overview. *The British Journal of Nutrition*, vol. 99, E Supplement 1. pp. ES3–E52.
- Lacetera N, Scalia D, Franci O, Bernabucci U, Ronchi B, Nardone A. 2004. Short communication: effects of non-esterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 87:1012-1014.
- Lacetera N, Scalia D, Franci O, Bernabucci U, Ronchi B, Pirazzi D, Nardone A. 2005. Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *J. Dairy Sc.* 88: 2010–2016.
- Lampiao F. 2012. Free radicals generation in an in vitro fertilization setting and how to minimize them. *World J Obstet Gynecol.* 1:29–34.
- Lapointe S, Sullivan R, Sirard MA. 1998. Binding of a bovine oviductal fluid catalase to mammalian spermatozoa. *Biol Reprod.* 58: 747-53.
- LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH. 2002. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2223–2236.

- LeBlanc SJ, Herdt TH, Seymour WM, Duffield TF, Leslie KE. 2004. Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J Dairy Sci.* 87: 609-619.
- Lee SR, Kim BS, Kim JW, Kim MO, Kim SH, Yoo DH, Shin MJ, Park YS, Lee S, Park YB et al. 2007b. In vitro maturation, in vitro fertilization and embryonic development of canine oocytes. *Zygote.* 15: 347–353.
- Lefebvre R, Lo MC, Suarez SS. 1997. Bovine sperm binding to oviductal epithelium involves fucose recognition. *Biol. Reprod.* 56: 1198-1204.
- Leroy JL, Vanholder T, Mateusen B, Christophe A, Opsomer G, de Kruif A, Genicot G, Van Soom A. 2005. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction.* 130: 485-495.
- Leroy JLMR, Vanholder T, Delanghe JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PEJ, Dewulf J, de Kruif A. 2004. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. *Theriogenology.* 62: 1131-1143.
- Lindell JO, Kindahl H. 1982. Postpartum release of prostaglandin F<sub>2</sub> and uterine involution in the cow. *Theriogenology.* 17: 237–245.
- Liu L, Trimarchi JR, Keefe DL. 2000. Involvement of mitochondria in oxidative stress-induced cell death in mouse zygotes. *Biol Reprod.* 62: 1745–1753.
- López-Gatiús F, Garc’ía-Ispuerto I, Santolaria P, Y’aniz J, Nogareda C, L’opez-Bejar M. 2005. Screening for high fertility in high-producing dairy cows. *Theriogenology.* 65: 1678–1689.
- López-Gautius F, Yaniz J, Madriles-Helm D. 2003. Effects of body condition score and score change on the reproductive performance of dairy cows: a metaanalysis. *Theriogenology.* vol. 59. pp. 801-812.
- Lord T, Aitken RJ. 20013. Oxidative stress and ageing of the post-ovulatory oocyte. *Reproduction.* 146:217-227. Doi: 10.1530/REP-13-0111.
- Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW, Bolt DJ. 1991b. Effect of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows on plasma prostaglandin F<sub>2</sub> alpha, luteinizing hormone, and follicular growth. *Journal of Dairy Science.* 74: 483–489.
- Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW. 1991a. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 74: 473–482.

- Lucy MC. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84: 1277–1293.
- Lucy MC. 2003. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction (Cambridge, England) Supplement* 61: 415–427.
- Luvoni gc, Chigioni s, Allievie e, Macis d. 2005. Factors involved invivoand in vitromaturation of canine oocytes. *theriogenology.* 63: 41-59.
- Mackey DR, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. 1999. Effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol. Reprod.* 61 : 1601–1607.
- Maizon DO, Oltenacu PA, Gröhn YT, Strawderman RL, Emanuelson U. 2004. Effects of diseases on reproductive performance in Swedish red and white dairy cattle. *Preventive Vet. Med.* 66: 113–126.
- Mandelker L. 2008. Introduction to oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Vet Clin North Am small Anim Pract.* 38: 1-30.
- Mann GE, Fray MD, Lamming GE. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- $\gamma$  production in the cow. *Vet. J.* 171 : 500–503.
- Marien D. 1993. La dynamique folliculaire chez les bovins .Apports du suivi échographique. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon, 139.
- Martin B, Golden E, Carlson OD, Egan JM, Mattson MP, Maudsley S. 2008. Caloric restriction: Impact upon pituitary function and reproduction. *Ageing Research Reviews* vol. 7. pp. 209-224.
- Matés JM, perez-gomez C, Nunez de castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* vol 32(8), p.595-603.
- Mattos R, Staples CR, Thatcher WW. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction.* 5: 38–45.
- Mcdonald LE. 1969. *Veterinary endocrinology and reproduction.* Volume 1. Lea and Fibiger, Philadelphia. 1960, 460.
- Meister A, Anderson ME. 1983. *Glutathione Anim Rev Biochem* 52: 711-760.
- Meizel S, Lui CW, Working PK, Mrsny RJ. 1980. Taurine and hypotaurine: their effects on motility, capacitation and acrosome reaction of hamster sperm *in vitro* and their presence in sperm reproductive tract fluids of several mammals. *Development Growth and Differentiation.* 2: 483-494.

- Mialot JP, Constant F, Chastant-maillard S, Ponter AA, Grimard B. 2001. La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications Journées Européennes de la Société Française de Buiatrie. Paris. 163-168.
- Miller J.K, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC. 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy Sci.* 76: 2812–2823.
- Min J et al. 2006. Paraoxonase gene polymorphism and vitamin levels during pregnancy: relationship with maternal oxidative stress and neonatal birthweights. *Reprod Toxicol.* 22(3):418–424.
- Min J et al. 2009. Effect of oxidative stress on birth sizes: consideration of window from mid pregnancy to delivery. *Placenta.* 30(5):418–423.
- Monget P, Martin GB. 1997. Involvement of insulin-like growth factors in the interactions between nutrition and reproduction in female mammals. *Human Reproduction* 12 Supplement. 1: 33–52.
- Morrow DA, Hillman D, Dade AW, Kitchen H. 1979. Clinical investigation of a dairy herd with the fat cow syndrome. *J.A.V.M.A.* 174: 161-167.
- Morrow DA, Roberts SJ, McEntee K, Gray HG. 1966. Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 149 : 1596–1609.
- Morrow JD. 2003. Is oxidant stress a connection between obesity and atherosclerosis? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23: 368– 370.
- Mu Y-M, Yanase T, Nishi Y, Tanaka A, Saito M, Jin C-H, Mukasa C, Okabe T, Nomura M, Goto K, Nawata H. 2001. Saturated FFAs, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis in human granulosa cells. *Endocrinology.* 142: 3590–3597.
- Murphy MG, Enright WJ, Crowe MA, McConnell K, Spicer LJ, Boland MP and Roche JF. 1991. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility.* 92: 333–338.
- Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V et al. 2010. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radical Research.* vol. 44. pp. 1125–1171.
- Niki E. 2010. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine.* 49: 503–515.
- Nilsson JA. 2002. Metabolic consequences of hard work. *P Roy Soc Lond B Bio* 269, 1735- 1739.

- O'Boyle N, Corl CM, Gandy JC, Sordillo LM. 2006. Relationship of body condition score and oxidant stress to tumor necrosis factor expression in dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 113: 297-304.
- O'Callaghan D, Yaakub H, Hyttel P, Spicer LJ, Boland MP. 2000. Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *J Reprod Fertil.* 118: 303–313.
- Oh HJ, Fibrianto YH, Kim MK, Jang G, Hossein MS, Kim HJ, Kang SK, Lee BC, Hwang WS. 2005. Effects of canine serum collected from dogs at different estrous cycle stages on in vitro nuclear maturation of canine oocytes. *Zygote.* 13: 227–232. (doi:10.1017/S0967199405003242)
- Okado-Matsumoto A, Fridovich I. 2001. Subcellular distribution of superoxide dismutase (SOD) in rat liver: Cu-Zn-SOD in mitochondria. *J Biol. Chem* 276: 38388-38393.
- Overton TR, McArt JAA, Nydam DV. 2017. A 100-year Review. Metabolic health indicators and management of dairy cattle. *J Dairy Sci* 100(12): 10398-10417.
- Overton TR, Waldron MR. 2004. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J. Dairy Sci.* 87 : E105–E119.
- Oyawoye O, Abdel Gadir A, Garner A, et al. 2003. Antioxidants and reactive oxygen species in follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome. *Human Reproduction.* 18: 2270– 2274.
- Ozata M, Mergen M, Oktenly C, Aydin A, Sanisoglu SY, Bolu E, M, Yilmaz MI, Sayal A, Isimer A, Ozdemir IC. 2002. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin. Biochem.* 35: 627–631.
- Pascut T, Suteanu M, Lunca H. 1970. Concentration de la vitamine C dans le liquide folliculaire normal pendant les différentes phase du cycle oestral et dans le liquide des kystes ovariens (folliculaires et lutéiniques), ainsi que dans le sang des mêmes vaches. *Recueils de médecine Vétérinaire.* 146 : 1021-1029.
- Pasqualotto E, Agarwal A, Sharma R, et al. 2004. Effect of oxidativestress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. *Fertil Steril.* 81: 973-976.
- Pasqualotto E, Lara L, Salvador M, Sobreiro B, Borges E, Pasqualotto F. 2009. The role of enzymatic antioxidants detected in the follicular fluid and semen of infertile couples undergoing assisted reproduction. *Hum Fertil.* 12: 166-171.

- Peralta OA, Pearson RE, Nebel RL. 2005. Comparison of three estrus detection stems during summer in a large commercial dairy herd. *Anim. Reprod. Sci.* 87: 59–72.
- Pinero-Sagredo E, Nunes S, de los Santos MJ, Celda B, Esteve V. 2010. Metabolic profile of human follicular fluid. *NMR in Biomedicine.* 23 :485–495.
- Poisson C. 2013. Role du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Page 417 in *Ecole doctorale : Pharmacologie e Toxicologie. Vol. Doctorat. Université Paris-sud 11 France.*
- Polak G, Koziol-Montewka M, Gogacz M, Blaszkowska I, Kotarski J. 2001. Total antioxidant status of peritoneal fluid in infertile women. *Eur J Obs Gynecol Reprod Biol.* 94: 261-263.
- Powers SK, Jackson MJ. 2008. Exercise-induced oxidative stress cellular mechanism and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 88: 1243-1276.
- Powers SK, Nelson WB, Hudson MB. 2011. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radical Biology and Medicine.* 51: 942–945.
- Puder J, Pralong F. 2009. Syndrome des ovaires polykystiques et resistance à l'insuline. *Rev.Med. Suisse.* 5: 779-782.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 26: 1231–1237.
- Revelli A, Delle Piane L, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P. 2009. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reprod Biol Endocrinol.* 7: 40.
- Rhodes FM, Fitzpatrick LA, Entwistle KW, De'ath G. 1995. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *Journal of Reproduction and Fertility.* 104: 41–49.
- Rizzo A, Pantaleo M, Mutinati M, Minoia G, Trisolini C, Ceci E, Sciorsci RL. 2013. Blood and milk oxidative status after administration of different antioxidants during early postpartum in dairy cows. *Res. Vet Sci.* 95: 1171-1174. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.07.016.
- Roberts AB, Sporn MB. 1984. Cellular biology and biochemistry of the retinoids. In *The Retinoids*, pp. 209-286. Eds M. B. Sporn, A. B. Roberts & D. S. Goodman. Academic Press, New York.

- Robinson RS, Pushpakumara PG, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DR, Wathes DC. 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*. 124 : 119–131.
- Roche JR, Berry DP. 2006. Periparturient climatic, animal and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *Journal of Dairy Science*. 89: 2775–2783.
- Roche JR, Dillon PG, Stockdale CR, Baumgard LH, Vanbaale MJ. 2004. Relationships among international body condition scoring systems. *J Dairy Sci*. 87: p. 3076-3079.
- Roche JR, Macdonald KA, Burke CR, Lee JM, Berry DP. 2007. Associations among body condition score, body weight and reproductive performance in seasonal-calving dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. vol. 90, pp. 376-391.
- Rossi F, Righi F, Romanelli S, Quarantelli A. 2008. Reproductive efficiency of dairy cows under negative energy balance conditions. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma* 28 : 173-180.
- Ruegg PL. 1991. Body condition scoring in dairy cows: Relationships with production, reproduction, nutrition and health. *The Compendium North America Edition*. 13 (8): p. 1309-1313.
- Rukkwamsuk T, Geelen MJ, Kruip TA, Wensing T .2000. Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. *Journal of Dairy Science* 83 :52–59.
- Rukkwamsuk T, Wensing T, Geelen MJH. 1998. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci*. 81: 2904–2911.
- Sabatini L, Wilson C, Lower A, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. 1999. Superoxide dismutase activity in human follicular fluid after controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 72:1027-1034.
- Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, Armentano LE, Wiltbank MC. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol in dairy cattle. *J. Dairy Sci*. 85: 2831–2842.
- Santos JE, Bilby TR, Thatcher WW, Staples CR, Silvestre FT. 2008. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 43: 2: 23–30.
- Santos JEP, Cerri RLA, Sartori R. 2008. Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology*. 69: 88-97.

- Santos JEP, Rutigliano HM, Sá Filho MF. 2009. Risk factors for resumption of postpartum cyclicity and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 110: 207-221.
- Sartori R, Bastos MR, Mollo MR, Martins AC. 2007. Influence of feed intake on embryo production in cattle. *Acta Sci Vet.* 35: 874-878.
- Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci.* 87: 905–920.
- Savio JD, Boland MP, Roche JF. 1990a. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil.* 88: 581–591.
- Sayre LM, Perry G, Smith MA. 2008. Oxidative stress and neurotoxicity. *Chemistry Research in Toxicology.* 21: 172–188.
- Schneider JE. 2004. Energy balance and reproduction. *Physiology and Behaviour.* 81: 289-317.
- Schweigert FJ, Lutterbach A, Rambeck WA, Zucker H. 1986. Vitamin A and  $\beta$ -carotene concentrations in bovine follicular fluid in relationship to follicle size. *J. vet. Med A.* 33: 360-364.
- Seino T, Saito H, Kaneko T, Takahashi T, Kawachiya S, Kurachi H. 2002. Eight-hydroxy-2'-deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization embryo transfer program. *Fertil Steril.* 77: 1184–90.
- Sharma I, Dhaliwal LK, Saha SC, Sangwan S, Dhawan V. 2010. Role of 8-isoprostaglandin F<sub>2</sub>alpha and 25-hydroxycholesterol in the pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 94: 63–70.
- Sheldon IM, Dobson H. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 82–83: 295–306.
- Sheldon IM. 2004. The postpartum uterus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 20: 569–591.
- Soory M. 2010. Oxidative stress induced mechanisms in the progression of periodontal diseases and cancer: A common approach to redox homeostasis. *Cancers.* 2: 670–692.
- Stadtman ER. 2006. Protein oxidation and aging. *Free Radical Research*, vol. 40 (12) pp. 1250–1258.

- Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. 1998. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biol Reprod.* 59: 777–783.
- Staples CR, Burke JM, Thatcher. WW. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science.* 81:856–871.
- Stevenson JS. 2001. A review of oestrous behaviour and detection in dairy cows. *British Society of Animal Science. BSAS Occ. Pub No. 26:* 43–62.
- Stocks J, Dormandy TL. 1971. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Haematol.* 20: 95-111.
- Stronge AJH, Sreenan JM, Diskin MG, Mee JF, Kenny DA, Morris DG. 2005. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology.* 64: 1212–1224.
- Studer, E. 1998. A veterinary perspective of on-farm evaluation of nutrition and reproduction. *J Dairy Sci.* 81:872–876.
- Suarez SS. 2002. Formation of reservoir of sperm in the oviduct. *Reproduction in Domestic Animals.* 37, 3: 140-143.
- Suarez SS. 2008. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *International Journal of Developmental Biology.* 52, 5-6: 455-462.
- Sugino N, Takiguchi S, Ono M et al. 1996. Nitric oxide concentrations in the follicular fluid and apoptosis of granulosa cells in human follicles. *Human Reproduction.* 11: 2484–2487.
- Tamate K, Sengoku, Ishikawa M. 1995. The role of superoxide dismutase in the human ovary and fallopian tube. *J Obstet Gynaecol.* 21:401-409.
- Tatemoto H, Muto N, Sunagawa I, et al. 2004. Protection of porcine oocytes against cell damage caused by oxidative stress during in-vitro maturation: role of superoxide dismutase activity in porcine follicular fluid. *Biology of Reproduction.* 71: 1150–1157. [PubMed: 15175235]
- Thatcher W, Santos JE, Staples CR. 2011. Dietary manipulations to improve embryonic survival in cattle. *Theriogenology.* 76: 1619–1631.
- Thibault C, Levasseur MC. (2001). *La Reproduction chez les mammifère et l'homme.* Nouv. éd. ent. ref. ed. Paris: INRA : Ellipses,928 p. de pl.
- Treacher RJ, Reid IM, Roberts CJ. 1986. Effect of body condition at calving on the health and performance of dairy cows. *Anim. Prod.* 43: 1–6.

- Trottier A, Battista MC, Geller DH, Moreau B, Carpentier AC, Simoneau-Roy J, Baillargeon JP. 2012. Adipose tissue insulin resistance in peripubertal girls with first-degree family history of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 98: 1627-1634.
- Valdez KE, Cuneo SP, Turzillo AM. 2005. Regulation of apoptosis in the atresia of dominant bovine follicles of the first follicular wave following ovulation. *Reproduction*. 130: 71–81. [PubMed: 15985633]
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160: 1–40.
- Van Hoeck V, Leroy JL, Arias Alvarez M, Rizos D, Gutierrez-Adan A, Schnorbusch K, Bols PE, Leese HJ, Sturmey RG. 2013. Oocyte developmental failure in response to elevated nonesterified fatty acid concentrations: mechanistic insights. *Reproduction*. 145: 33–44.
- Van Hoeck V, Sturmey RG, Bermejo-Alvarez P, Rizos D, Gutierrez-Adan A, Leese HJ, Bols PE, Leroy JL. 2011. Elevated non-esterified fatty acid concentrations during bovine oocyte maturation compromise early embryo physiology. *PLoS One*. 6: e23183.
- Vandehaar MJ, Sharma BK, Fogwell RL. 1995. Effect of dietary energy restriction on the expression of insulin-like growth factor-I in liver and corpus luteum of heifers. *J Dairy Sci*. 78: 832–841.
- Vanholder T, Leroy JLMR, Vansoom A, Opsomer G, Maes D, Coryn M, de Kruif A. 2005. Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro. *Animal Reproduction Science*. 87: 33–44.
- Vanhooren V, Navarrete Santos A, Voutetakis K et al. 2015. Protein modification and maintenance systems as biomarkers of ageing,” *Mechanisms of Ageing and Development*. 151: 71–84.
- Visler C, Hueller H, Nowicki M, Hmeidani FA, Blumenauer V, Spänhel-Broowski K. 2010. The variable expression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) and signs of autophagy and apoptosis in freshly harvested human granulosa cells depend on gonadotropin dose, age, and body weight. *Fertil Steril*. 93(8): 2706-2715.
- Wallace M, Cottell E, Gibney MJ, McAuliffe FM, Wingfield M, Brennan L. 2012. An investigation into the relationship between the metabolic profile of follicular fluid, oocyte developmental potential, and implantation outcome. *Fertility and Sterility*. 97: 1078–1084.

- Walter I. 1995. Culture of bovine oviduct epithelial cells, BOEC. *Anat Rec.* 243: 347-356.
- Wang Y, Sharma RK, Falcone T, Jeffrey G, Agarwal A. 1997. Importance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. *Fertil Steril.* 68(5): 826-830.
- Waston AJ, De Souse P, Caveney A, Barcrof LC, Natale D, Urquhart J, Westhusin ME. 2000. Impact of bovine oocyte maturation media on oocyte transcript levels, blastocyst development, cell number, and apoptosis. *Biology of Reproduction.* 62: 355-364.
- Wathes DC, Abayasekara DR, Aitken RJ. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of Reproduction.* 77: 190–201.
- Wathes DC, Fenwick M, Cheng Z, Bourne N, Llewellyn S, Morris DG, Kenny D, Murphy J, Fitzpatrick R. 2007. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology.* 68: 232-241.
- Webb R, Campbell BK, Garverick HA, Gong JG, Gutierrez CG, Armstrong DG. 1999. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *J Reprod Fertil Suppl.* 54: 33-48.
- Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Armstrong DG. 2004. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science* 82: E63–E74.
- Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, Armstrong DG. 2003. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reprod Suppl.* 61: 71-90.
- Wiener-Megnazi Z, Vardi L, Lissak A, et al. 2004. Oxidative stress indices in follicular fluid as measured by the thermochemiluminescence assay correlate with outcome parameters in in-vitro fertilization. *Fertility and Sterility.* 82,3: 1171–1176. [PubMed: 15474091]
- Winkler A, Gessner DK, Koch C, Romberg FJ, Dusel G, Herzog E, Most E, Eder K. 2015. Effects of a plant product consisting of green tea and curcuma extract on milk production and the expression of hepatic genes involved in endoplasmic stress response and inflammation in dairy cows. *Arch. Anim. Nutr.* 69:425–441. doi: 10.1080/1745039X.2015.1093873.
- Whittier JC. (1993). *Reproductive Anatomy and Physiology of the Cow.* [http://extension.missouri.edu/xplor/agguides/ansci/g\\_02015 .htm](http://extension.missouri.edu/xplor/agguides/ansci/g_02015.htm).

- Wischral A, Verreschi ITN, Lima SB, Hayashi LF, Barnabe RC. 2001. Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim Reprod Sci.* 67: 181–188.
- Wiseman H, Halliwell B. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *The Biochemical Journal*, vol. 313, Part 1, pp. 17–29.
- Wolter R. 1992. Alimentation de la vache laitière. Paris : France Agricole, 223 p. In, Poncet J. 2002. Etude des facteurs de risque de l'infertilité dans les élevages bovins laitiers de l'Ile de la réunion : influence de l'alimentation sur la reproduction. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Alimentation.
- Wolters M, Hermann S, Golf S, Katz N, Hahn A. 2005. Selenium and antioxidant vitamin status of elderly German women. *Eur J Clin Nutr.* Vol 24.
- Wright IA, Rhind SM, Russel AJF, Whyte TK, McBean AJ, McMillen SR. 1987. Effects of body condition, food intake and temporary calf separation on the duration of the post-partum anoestrus period and associated LH, FSH and prolactin concentrations in beef cows. *Anim Prod.* 45: 395-402.
- Xu C, Shu X, Cheng B, Wang H, Zhang Y, Jun B. 2014. Investigation on the relationship of insulin resistance and ketosis in dairy cows. *Journal of veterinary science and technology.* 05(02): 1-4.
- Yoon SB, Choi SA, Sim BW, Kim JS, Mun SE, Jeong PS, et al. 2014. Developmental competence of bovine early embryos depends on the coupled response between oxidative and endoplasmic reticulum stress. *Biol Reprod.* 90: 104.
- Young IS, Woodside JV. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology.* 54: 176–186.
- Zeron Y, Ocheretny A, Kedar O, Borochoy A, Sklan D, Arav A. 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction.* 121: 447-454.
- Zhang X, Li XH, Ma X, Wang ZH, Lu S, Guo YL. 2006. Redox-induced apoptosis of human oocytes in resting follicles in vitro. *J Soc Gynecol Investig.* 13: 451–8.
- Zhu J, Barrait CLR, Lippes J, Cooke JD. 1994. The sequential effects of human cervical mucus, oviductal fluid, and follicular fluid on sperm function. *Fertility and Sterility.* 61: 1129-1135.

- Zula VC, Sawamukai Y, Nakada K, Kida K, Moriyoshi M. 2002b. Relationship among insulin-like growth factor-I blood metabolites and postpartum ovarian function in dairy cows. *J Vet Med Sci.* 64: 879–885.

*Original Scientific Article***IMPACT OF BODY CONDITION SCORE ON OXIDATIVE STRESS STATUS  
IN COW'S REPRODUCTIVE TRACT**

Amel Khaled<sup>1</sup>, Sofiane Boudjellaba<sup>2</sup>, Takfarinas Idres<sup>2</sup>, Yuva Bellik<sup>3</sup>,  
Mohammed Nait Mouloud<sup>1</sup>, Mokrane Iguer-Ouada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Associated Laboratory in Marine Ecosystems and Aquaculture, Faculty of Life and Nature Sciences,, University of Bejaia, 06000 Bejaia, Algeria*

<sup>2</sup>*Higher National Veterinary School of Algiers, 16000, Alger, Algeria*

<sup>3</sup>*Department of Biology, Faculty of Life and Nature Sciences, Mohamed El Bachir El Ibrahimi University, Bordj Bou Arreridj, 34000, Algeria*

Received 17 October 2019; Received in revised form 8 April 2020; Accepted 25 May 2020

**ABSTRACT**

It is well known in cattle that reproductive disorders are intimately associated with low or high body condition score (BCS). However, little is known concerning the relationship between BCS and oxidative stress, particularly in the reproductive tract. Thus, the aim of the present study was to investigate the oxidative stress biomarkers according to cows BCS values in the plasma, ovaries, oviductal, follicular and uterine fluids. The study was conducted on 58 cows classified in four classes (1, 2, 3 and 4) of BCS varying from 1-1.5, 2-2.5, 3-3.5 and 4-4.5, respectively. The genital tracts and plasma were collected from slaughtered cows and processed within 5h after slaughtering. The number of ovarian follicles was measured using ultrasonography and the oxidative stress was assessed by considering total antioxidant status (TAS), catalase activity (CAT), and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS). The results showed that follicles number was significantly affected by BCS; cows with medium BCS (3) presented higher number of follicles than cows with low or high BCS (<3 or >3). Overall, BCS affects significantly the oxidative stress status at different levels of the reproductive tract. Cows with medium BCS (3) showed the best oxidative status than those with low or high values (BCS <3 or >3). In conclusion, the current results suggest that reproductive disorders observed in cows with low or high BCS values could be mediated through oxidative stress affecting consequently the reproductive tract and finally compromising fertility outputs.

**Key words:** BCS, oxidative status, follicles number, reproductive tract, reproduction

**INTRODUCTION**

Body condition score (BCS), reflecting the nutritional status in beef and dairy cows, has been extensively considered as a valuable practical tool in herd management. BCS is significantly related to metabolic status, productive and reproductive performances (1). BCS measures, by visual inspection and/or palpation, the amount of

metabolic energy stored as subcutaneous fat (2). In dairy cows particularly, BCS has been widely used as a practical method in nutrition management (3) and remains significantly associated with incidence of metabolic disorders (4). The importance of BCS in fertility has also been reported (4).

Insufficient intake of energy has been associated with poor reproduction performance in cows with various health problems (5). In this respect, Staggs et al. (6) reported that lower luteinizing hormone (LH) pulse frequency induces prolonged anestrus period in cows that calved with low BCS (<2.5). Similarly, it is shown that cows could be pregnant only with BCS of 2.75-3 and not losing more than 0.5 of BCS unit between calving and first service (7).

On the other hand, excessive body energy reserves can cause several health problems, (reproductive failure, obese and older heifers at puberty that present difficulties during pregnancy)

*Corresponding author:* Dr. Yuva Bellik

*E-mail address:* y.bellik@univ-bba.dz

*Present address:* Department of Biology, Faculty of Life and Nature Sciences, Mohamed El Bachir El Ibrahimi University, Bordj Bou Arreridj, 34000, Algeria

*Phone:* +213 541 760 499

**Copyright:** © 2020 Bellik Y. This is an open-access article published under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

**Available Online First:** 2 July 2020

<https://doi.org/10.2478/macvetrev-2020-0021>

as well as disorders in the development of the mammary gland. As well, excessive fat reserves in dairy cows have been associated with a greater risk of a lowered milk yield and metabolic disorders (4).

There is considerable evidence to support that oxidative stress contributes to a number of health disorders. Excessive reactive oxygen species (ROS) might damage macromolecules including lipids, proteins, polysaccharides and DNA, leading to cell injury, and increased susceptibility to a variety of health disorders including immune dysfunction, sepsis, mastitis, acidosis, ketosis, enteritis, pneumonia, and other diseases (8). Nevertheless, in cattle, there is real scarce information regarding the association between the oxidative status and BCS. Therefore, the aim of the present study was to investigate the impact of BCS on oxidative status at different levels of the reproductive tract.

## MATERIAL AND METHODS

### *Chemicals*

The following reagents: sodium chlorid, trichloroacetic acid, potassium dihydrogen phosphate, dipotassium hydrogen phosphate, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid diamonium salt), potassium persulfate, hydrogen peroxide, TBA (thiobarbituric acid), sodium hydroxide (NaOH), ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) were obtained from commercial suppliers and used without further purification.

### *Animals*

A total of 58 cows were selected for this study and classified according to their body condition score (BCS). BCS were assigned by experienced veterinarian using a five-point scale method (scale of 1 to 5) as described previously (9). On the basis of the individual values, four BCS classes were considered: 1 (1-1.5), 2 (2-2.5), 3 (3-3.5) and 4 (4-4.5).

### *Preparation of plasma and isolation of bovine erythrocytes*

Blood samples were collected into heparinized tubes from cows before slaughtering. Blood was centrifuged at 5000g for 10 minutes to separate plasma. Plasma was stored at -20 °C for late use.

### *Collection of follicular fluid, oviductal fluid, ovaries and uterine fluid*

The genital tracts of the studied cows were obtained from slaughterhouse. The tracts were transported to the laboratory in a cooler (4 °C). All samples were collected and processed within 1 hour after slaughtering.

Morphology of the corpus luteum was assessed for each individual cow to estimate the stage of the estrous cycle and the follicles number was determined using an ultrasonography.

### *Follicular fluid*

Follicular fluid was aspirated from each follicle with an insulin syringe, due to the low volume of removed follicular fluid from the different follicles of the two ovaries. Samples were kept on ice until centrifugation for 5 minutes at 5400g to remove blood cells. The clear supernatants were aliquoted and stored at -20 °C until use.

### *Oviductal fluid*

Oviducts were separated from the ovaries and the enveloping connective tissues were removed. Oviductal epithelial cells were recovered in plastic tubes by flushing method; each oviduct was flushed with 1ml of physiological solution (0.9% NaCl). The cells were lysed in three volumes of distilled water, and then centrifuged at 5000g for 10 minutes; the supernatants were collected and stored at -20 °C until use.

### *Uterine fluid*

The fluid was collected by flushing the uterine cavity with 10 ml of 0.9% NaCl. The fluid was aliquoted and stored at -20 °C.

### *Ovaries homogenate*

The ovaries were homogenized using a blender. The homogenate was lysed in distilled water, and lysate was centrifuged at 5000g for 15 minutes to obtain the supernatant which was used as a whole cell extract.

### *Measurement of antioxidant activity*

Three biochemical markers of oxidative stress were measured including total antioxidant status (TAS), catalase activity (CAT), and the level of lipid peroxidation (TBARS). These biomarkers were measured in the ovaries, oviductal and uterine fluids, follicular fluid and plasma.

### Catalase activity

Catalase activity was determined using the method of Aebi (10) by measuring the degradation rate of  $H_2O_2$ . Briefly, 20  $\mu$ l of tissue sample were incubated with 1250  $\mu$ l of PBS then 730  $\mu$ l of  $H_2O_2$  (50 mmol/l) were added. The decrease in absorbance at 240 nm was measured. Catalase activity was expressed in terms of lmoles of  $H_2O_2$  consumed/min/ml.

### Total antioxidant status

The antioxidant status of tissue samples was evaluated according to the method of Re et al. (11). This assay is based on the inhibition of the absorbance of the free radical cation from ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) by antioxidants. Briefly, ABTS was dissolved in deionized water to make a 7 mM concentration solution. ABTS was incubated with 2.45 mM potassium persulfate in order to produce the free radical cation ( $ABTS^{+}$ ) and the mixture was allowed to stand in the dark at room temperature for 12–16 h before use. For our study, the  $ABTS^{+}$  solution was diluted to an absorbance of 0.7 ( $\pm 0.02$ ) at 734 nm. A volume of 10  $\mu$ l of each tissue sample was added of 2 ml of diluted  $ABTS^{+}$  solution. The absorbance reading was taken exactly 6 min after initial mixing. All experiments were carried out in triplicate. Radical scavenging activity was expressed as the percentage of inhibition.

### Measurement of lipid peroxidation

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were determined following the method of Stocks and Dormandy (12). Tissue samples were deproteinised by adding trichloroacetic acid (0.5 ml of 30% TCA) and subsequently incubated at 0 °C for 120 min. The mixture was centrifuged at 2500g for 10 minutes at 4 °C and a portion of the supernatant (1 ml) was mixed with thiobarbituric acid (0.25 ml of 1% TBA dissolved in 0.05 mol/l of NaOH) and EDTA (0.075 ml of 0.1 mol/l EDTA) and heated at 95 °C for 15 min then immediately cooled under tap water. The absorbance of the supernatant was determined at 535 nm against a blank that contained all the reagents minus the biological sample. The concentration of TBARS was expressed in absorbance units.

### Statistical analysis

All experiments were carried out in triplicate and the data are given as means  $\pm$  S.E. Calculation of

means, S.E, and statistical analysis were performed using Statview 4.02 software (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA, USA). Values of each parameter were expressed as the mean  $\pm$  S.E. Variables used for comparison purposes were the BCS classes. Differences between treatments were assessed using a one-way ANOVA, followed by posthoc Fisher's test. Values were considered significant when  $P < 0.05$ .

## RESULTS

### Follicles number

Follicles number detected by ultrasonography according to BCS values is given in Fig. 1. Cows having BCS 3 and 2 presented the maximum number of follicles with values of  $19.87 \pm 2.76$  and  $16.50 \pm 2.56$ , respectively. In contrast, cows having BCS 1 and 4 showed the lowest follicles number with values of  $6.75 \pm 1.39$  and  $11.66 \pm 2.10$ , respectively.

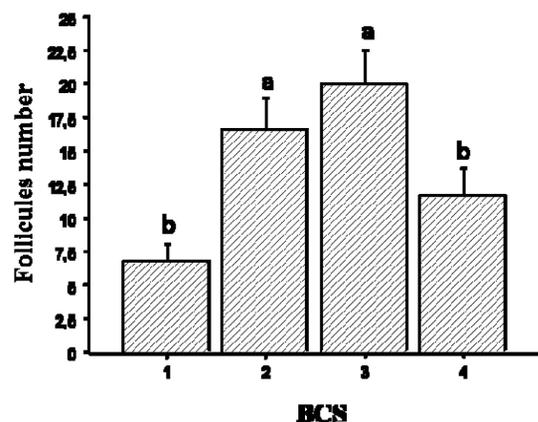
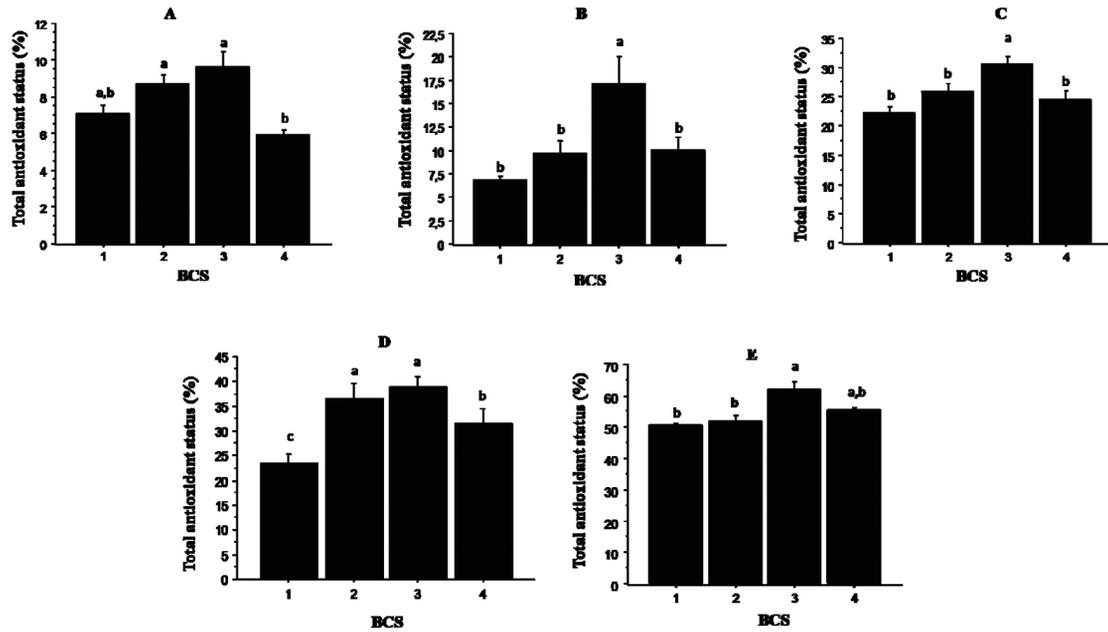


Figure 1. Follicles number measured ultrasonographically in relation to body condition score (BCS). Values are represented as mean  $\pm$  S.E. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ )

### Total antioxidant status

Fig. 2. illustrates the results of the antiradical activity expressed as a percentage inhibition of ABTS. It was found that the total antioxidant status of the oviductal fluid (panel A), uterine fluid (panel B), follicular fluid (panel C), ovaries (panel D) and plasma (panel E) were significantly higher ( $P < 0.05$ ) in cows with BCS 3. Cows with BCS 1 and 4 presented the lowest total antioxidant status in all the analyzed tissues. The intermediate values were observed in cows with BCS 2.



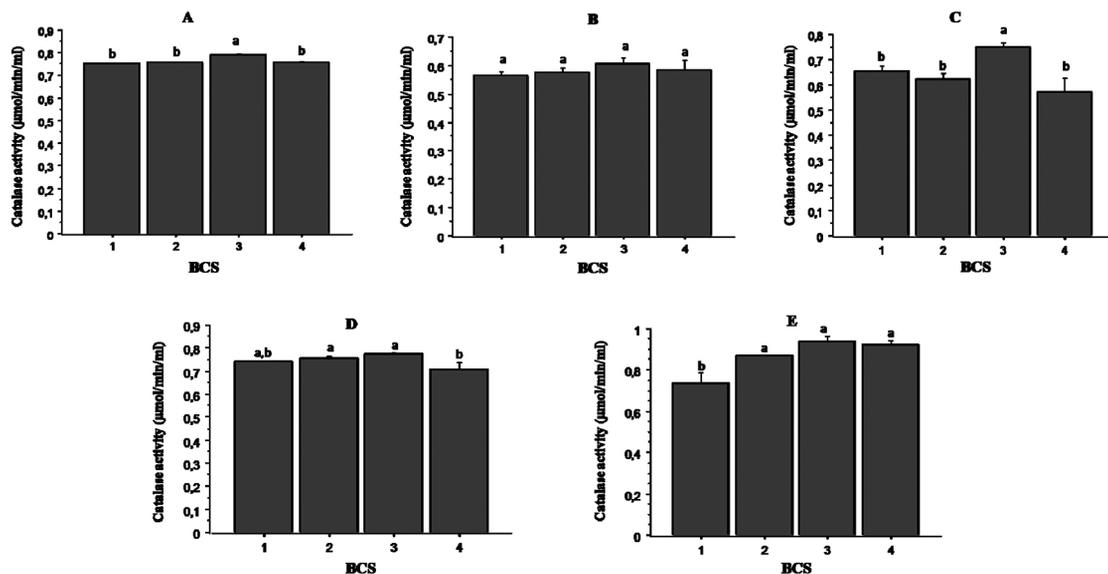
**Figure 2.** Relationship between total antioxidant status and BCS in oviductal fluid (panel A), uterine fluid (panel B), follicular fluid (panel C), ovaries (panel D) and plasma (panel E). Values are represented as mean ± S.E. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ )

*Catalase activity*

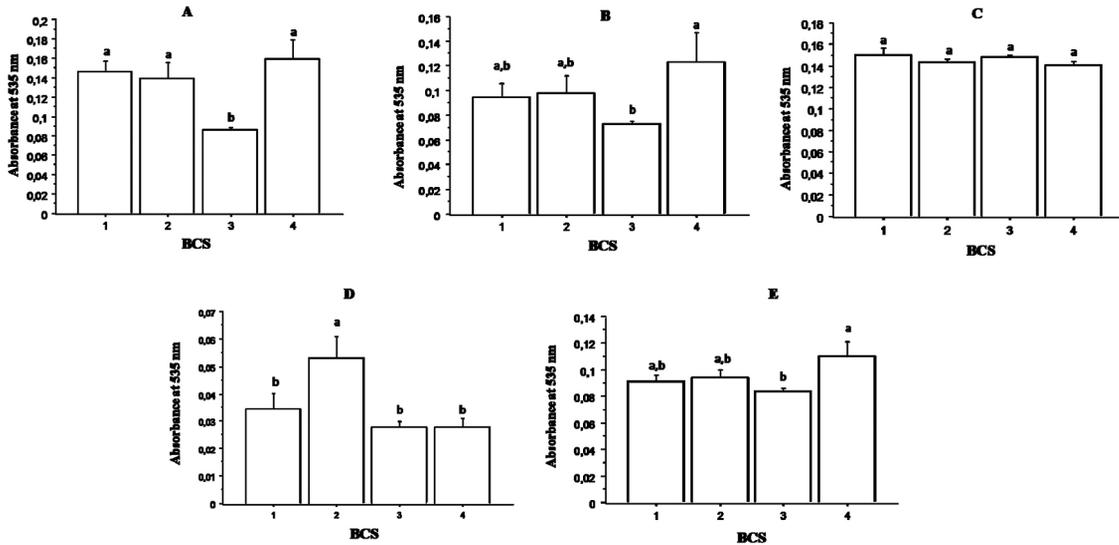
Catalase is an important enzyme in the antioxidant defense system protecting animals from oxidative stress. It catalyzes the conversion of the hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) into oxygen and water.

Fig. 3. shows the results of catalase activity in oviductal fluid (panel A), uterine fluid (panel B),

follicular fluid (panel C), ovaries (panel D) and plasma (panel E) according to BCS. The highest activity was recorded in samples from cows with BCS 3, while cows having BCS 4 presented the lowest catalase activity, particularly in the follicular fluids and ovaries. In the plasma samples, cows with BCS 1 showed the lowest activity.



**Figure 3.** Relationship between catalase activity and BCS in oviductal fluid (panel A), uterine fluid (panel B), follicular fluid (panel C), ovaries (panel D) and plasma (panel E). Values are represented as mean ± S.E. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ )



**Figure 4.** Relationship between TBARS and BCS in oviductal fluid (panel A), uterine fluid (panel B), follicular fluid (panel C), ovaries (panel D) and plasma (panel E). Values are represented as mean  $\pm$  S.E. Different letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ )

#### Lipid peroxidation

The data are shown in Fig. 4. No significant differences in lipid peroxidation were observed in the Follicular fluid (panel C) among the cows having different BCS. However, concerning the other analyzed samples (oviductal fluid (panel A), uterine fluid (panel B), ovaries (panel D) and plasma (panel E), the lowest lipid peroxidation was observed in cows having BCS 3.

#### DISCUSSION

The nutritional status, evaluated through BCS, reflects the body reserves available for basic metabolism, growth, lactation and reproductive activity (13). The existence of relationship between reproductive performances and BCS in cattle has been well established (14). However, to our knowledge no previous reports have investigated the impact of BCS, especially the impact of the low or high values, on the oxidative status in the reproductive tract.

In humans, studies on the pathophysiology of unexplained infertility have incriminated oxidative stress as an underlying factor (15) and it has been shown that ROS may contribute to the relative inferiority of oocyte quality during *in vitro* assisted reproductive technologies (16). In fact, excessive ROS production are known to overpower the body's natural antioxidant defense system, creating

an environment unsuitable for normal female physiology (17).

In dairy cows, assessing oxidative status in reproductive tract merit investigation since the metabolites of the oxidative stress participate in several procreation processes. Analyzing the oxidative stress in situations of altered body score condition could offer real opportunities to understand underlying mechanisms affecting cow fertility.

In the present study, we determined the number of follicles according to body condition score. Furthermore, components of the primary antioxidant defense system as well as indicator for oxidative damage in the reproductive tract were also evaluated.

The results of ultrasonography showed that the number of follicles is significantly affected by body condition score (BCS). Cows with low or high BCS ( $<3$  or  $>3$ ) showed less follicles than those with BCS 3. Similar results are reported previously in rat with a significant decrease in follicles number in relation to limited nutritional exposure (18). In human, suboptimal oocyte quality was reported in obese women (19).

Because nutrition acts at different levels of the system that controls reproduction, it also affects the pattern of secretion of GnRH and the gonadotropins in situations of under-nutrition (20). Diskin et al. (21) demonstrated that dietary restriction reduced dominant follicle growth rate and adversely affected the size and ovulatory fate of the dominant follicle.

The current results revealed an obvious relationship between BCS and oxidative stress in reproductive tract. It was found that ovaries in cows with BCS 3 presented the highest levels of TAS and CAT with subsequent low concentrations of TBARS compared to cows with low or high BCS.

These findings are consistent with those of Bernabucci et al. (22) who demonstrated that dairy cows with high BCS losses are more sensitive to oxidative stress. Importantly, it is well accepted that overfeeding or underfeeding the donor cows may influence oocyte quality and consequently the success of embryo transfer (23). In addition, the impaired oocyte quality has been associated with excessive lipid content leading to infertility (24). In mouse, similarly, it has been found that maternal diet status of obese female alters oocyte competence and developing embryo (25). In murine oocytes, oxidative stress may be the initiator of ageing and has the capacity to affect mitochondrial function (26). In human, Polak et al. (15) found a significant depletion of antioxidants in patients with unexplained infertility than in fertile women.

In the follicular fluid, both total antioxidant status and catalase activity were significantly higher in cows with medium BCS (3). Follicular fluid is an important microenvironment that plays a crucial role in the development and maturation of oocytes. In human, the oxidant-antioxidant state of the follicular fluid and its effects on oocyte has been largely investigated (27). It is reported that oocyte developing within a follicular fluid of enhanced antioxidant capacity might be more fertile than ones with lower levels of antioxidant (28). Similarly, in women undergoing *in vitro* fertilization (IVF), it was found that oocytes with follicular fluid containing increased total antioxidants levels resulted in higher pregnancy rates (29). As well, it has been demonstrated that follicular fluid containing higher levels of catalase and superoxide dismutase showed better fertilization and cleavage rates in patients undergoing IVF (30). In the other hand, Kazemi et al. (31) reported that the duration of infertility was strongly associated with decreased antioxidant defense in women follicular environment.

In the current study a perfect similarity was observed concerning the oxidative status between the ovaries and the oviductal fluid. In both tissues total antioxidant status and catalase activity were significantly higher in cows with medium BCS.

Oviduct is an active and dynamic organ which provides an adequate environment for sperm

transport and capacitation, oocyte maturation, fertilization and early embryonic development (32). The modification of oviductal conditions may affect the embryonic developmental competence (33). In fact, oviductal environment is the specific and responsible region for the success of fertilization process (34), particularly; that the oviduct provides the nutrients for complete balance of antioxidants for oocyte survival (35). On contrary, increased levels of ROS have been implicated in embryonic arrest and poor fertility outcomes (36).

When exploring total antioxidant status and catalase activity in uterus, values were significantly higher in cows with medium BCS (3) revealing consequently a better micro-environment compared to cows with low or high BCS. It is well established that a cow cannot conceive after calving until its reproductive tract has recovered sufficiently to support another pregnancy. However, the redox status and oxidative stress in the endometrium is still poorly defined. A recent study showed that activity of antioxidants enzymes was up regulated during pregnancy in the endometrium of a normal sheep (37). According to the authors the increase of antioxidant enzymes between the days 16 and 21 is important to prevent a possible oxidative damage in early pregnancy. Yoon et al. (38) showed that excessive ROS reduced the embryo development rate and increased the number of apoptotic cells in embryos cultured *in vitro*.

The oxidative status in plasma samples was better in cows with medium BCS than in cows with low or high BCS. Investigating the oxidative status in plasma is fundamentally important to assess a physiologically altered state, to detect adverse nutritional condition or an increased disease situation. Many substrates in plasma including oxygen, polyunsaturated fatty acids, phospholipids, cholesterol are targeted by oxidation. Several studies reported positive correlations between high BCS, plasma non-esterified fatty acid (NEFA) levels, and increased incidence of health problems in dairy cattle as a consequence of accelerated BCS drop during the periparturient period (1, 4, 39). Interestingly, Bernabucci et al. (22) studied the association between BCS, lipid mobilization (NEFA) and the oxidative stress imbalance; they found that cows with elevated plasma NEFA levels presented higher plasma levels of reactive oxygen metabolites and lower levels of antioxidants.

## CONCLUSION

The nutritional status in cattle, reflected by BCS, is an important factor affecting reproductive function and plays a pivotal role in determining fertility. The current study demonstrated that both follicles number and oxidative stress biomarkers are significantly affected by BCS. It was shown particularly that oxidative stress is associated with low or high BCS values including cows with high (>3) and low (<3) values. These findings support that oxidative stress is probably a key factor underlying the different diseases associated with altered nutritional status.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to acknowledge the Ministry of higher Education and Scientific Research (MESRS) and the General Direction for Scientific Research and Technological Development (DGRSDT) for financial support.

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

AK carried out the experimental work and wrote the manuscript, SB, TI, and MNM conducted the experimental work, YB conducted the experimental work, completed preparation and correction of the article, and submission procedure, MI designed the experimental work and corrected the manuscript

## REFERENCES

- Buckley, F., O'Sullivan, K., Mee, J.F., Evans, R.D., Dillon, P. (2003). Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. *J Dairy Sci.* 86 (7): 2308-2319.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73823-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73823-5)
- Houghton, P.L., Lemenager, R.P., Moss, G.E., Hendrix, K.S. (1990). Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *J Anim Sci.* 68 (5): 1428-1437.  
<https://doi.org/10.2527/1990.6851447x>  
PMid:2365655
- Gillund, P., Reksen, O., Gröhn, Y., Karlberg, K. (2001). Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *J Dairy Sci.* 84 (6): 1390-1396.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70170-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70170-1)
- Gearhart, M., Curtis, C., Erb, H., et al. (1990). Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J Dairy Sci.* 73 (11): 3132-3140.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)79002-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)79002-9)
- Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T., Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 72 (1): 68-78.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0)
- Stagg, K., Spicer, L., Roche, J.F., Diskin, M.G. (1998). Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotrophin, and metabolic changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biol Reprod.* 59 (4): 777-783.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod59.4.777>  
PMid:9746725
- Overton, T.R., Waldron, M.R. (2004). Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *J Dairy Sci.* 87 (Suppl): 105-119.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70066-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70066-1)
- Celi, P. (2011). Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 33 (2): 233-240.  
<https://doi.org/10.3109/08923973.2010.514917>  
PMid:20849293
- Ferguson, J., Galligan D., Thomsen, N. (1994). Principal descriptors of body condition in Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci.* 77 (9): 2695-2703.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77212-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77212-X)
- Aebi, H. (1984). Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121-126.  
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 26 (9-10): 1231-1237.  
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Stocks, J., Dormandy, T.L. (1971). The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Haematol.* 20 (1): 95-111.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1971.tb00790.x>  
PMid:5540044

13. Wright, I.A., Rhind, S.M., Russel, A.J.F., Whyte, T.K., McBean, A.J., McMillen, S.R. (1987). Effects of body condition, food intake and temporary calf separation on the duration of the post-partum anoestrus period and associated LH, FSH and prolactin concentrations in beef cows. *Anim Prod.* 45 (3): 395-402.  
<https://doi.org/10.1017/S0003356100002889>
14. Galina, C., Arthur, G. (1989). Review of cattle reproduction in the tropics. 3. Puerperium. In: *Anim. Breed. Abstr.* 57, 889-910.
15. Polak, G., Koziol-Montewka, M., Gogacz, M., Blaszkowska, I., Kotarski, J. (2001). Total antioxidant status of peritoneal fluid in infertile women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 94 (2): 261-263.  
[https://doi.org/10.1016/S0301-2115\(00\)00352-3](https://doi.org/10.1016/S0301-2115(00)00352-3)
16. Combelles, C.M., Gupta, S., Agarwal, A. (2009). Could oxidative stress influence the in-vitro maturation of oocytes?. *Reprod Biomed Online.* 18 (6): 864-880.  
[https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60038-7](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60038-7)
17. Al-Gubory, K., Fowler, P.A., Garrel, C. (2010). The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol.* 42 (10): 1634-1650.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.06.001>  
PMid:20601089
18. Bernal, A., Vickers, M., Hampton, M., Poynton, R., Sloboda, D. (2010). Maternal undernutrition significantly impacts ovarian follicle number and increases ovarian oxidative stress in adult rat offspring. *PLoS One.* 5 (12): 155-158.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015558>  
PMid:21179452 PMCID:PMC3001490
19. Anderson, K., Nisenblat, V., Norman, R. (2010). Lifestyle factors in people seeking infertility treatment. *Aust N Z J Obs Gynaecol.* 50(1): 8-20.  
<https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.2009.01119.x>  
PMid:20218991
20. Butler, W. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.* 60-61, 449-457.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00076-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00076-2)
21. Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F., Sreenan, J. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormone and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci.* 78 (3-4): 345-370.  
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00099-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00099-X)
22. Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A. (2005). Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 88 (6): 2017-2026.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72878-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72878-2)
23. Santos, J.E.P., Cerri, R.L.A., Sartori, R. (2008). Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology.* 69 (1): 88-97.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.010>  
PMid:17959235
24. Bage, R., Awasthi, H., Saravia, F., Rodriguez-Martinez, H. (2007). Excessive lipid contents in immature oocytes from repeat breeder dairy heifers. *Reprod Domest Anim.* 42(2): 67.
25. Igosheva, N., Abramov, A.Y., Poston, L., et al. (2010). Maternal diet-induced obesity alters mitochondrial activity and redox status in mouse oocytes and zygotes. *PLoS One.* 5 (4): e10074.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010074>  
PMid:20404917 PMCID:PMC2852405
26. Lord, T., Aitken, R.J. (2013). Oxidative stress and ageing of the post-ovulatory oocyte. *Reproduction.* 146 (6), R217-R227.  
<https://doi.org/10.1530/REP-13-0111>  
PMid:23950493
27. Revelli, A., Piane, L.D., Casano, S., Molinari, E., Massobrio, M., Rinaudo, P. (2009) Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reprod Biol Endocrinol.* 7 (40): 874-878.  
<https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-40>  
PMid:19413899 PMCID:PMC2685803
28. Gupta, S., Choi, A., Yu, H.Y., et al. (2011). Fluctuations in total antioxidant capacity, catalase activity, and hydrogen peroxide levels of follicular fluid during bovine folliculogenesis. *Reprod Fertil Dev.* 23 (5): 673-680.  
<https://doi.org/10.1071/RD10270>  
PMid:21635816 PMCID:PMC3235527
29. Pasqualotto, E., Agarwal, A., Sharma, R., et al. (2004). Effect of oxidative stress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. *Fertil Steril.* 81 (4): 973-976.  
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.11.021>  
PMid:15066450
30. Pasqualotto, E., Lara, L., Salvador, M., Sobreiro, B., Borges, E., Pasqualotto, F. (2009). The role of enzymatic antioxidants detected in the follicular fluid and semen of infertile couples undergoing assisted reproduction. *Hum Fertil.* 12 (3): 166-171.  
<https://doi.org/10.1080/14647270903207941>  
PMid:19925327
31. Kazemi, A., Ramezanzadeh, F., Nasr Esfahani, M.H., Saboor-Yaraghi, A.A., Nejat, S., Rahimi-Foroshani, A. (2014). Relationship between energy expenditure related factors and oxidative stress in follicular fluid. *Int J Fertil Steril.* 8 (2): 175-182.

32. Walter I. (1995). Culture of bovine oviduct epithelial cells (BOEC). *Anat Rec.* 243 (3), 347-356.  
<https://doi.org/10.1002/ar.1092430309>  
PMid:8579254
33. Murray, M., De Souza, M., Messinger, S. (1995). Oviduct during early pregnancy: hormonal regulation and interactions with the fertilized ovum. *Microsc Res Tech.* 31 (6): 497-506.  
<https://doi.org/10.1002/jemt.1070310606>  
PMid:8527850
34. Arganaraz, M.E., Apichela, S.A., Miceli, D.C. (2012). LEFTY2 expression and localization in rat oviduct during early pregnancy. *Zygote.* 20 (1): 53-60.  
<https://doi.org/10.1017/S0967199410000602>  
PMid:21205391
35. Cheong, A.W.Y., Lee, Y., Liu, W., Yeung, W.S.B., Lee, K. (2009). Oviductal microsomal epoxide hydrolase (EPHX1) reduces reactive oxygen species (ROS) level and enhances preimplantation mouse embryo development. *Biol Reprod.* 81 (1): 126-132.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.071449>  
PMid:19321813
36. Agarwal, A., Saleh, R.A., Bedaiwy, M.A. (2003). Modern trends role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril.* 79 (4): 829-843.  
[https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)04948-8](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)04948-8)
37. Al-Gubory, K.H., Arianmanesh, M., Garrel, C., Bhattacharya, S., Cash, P., Fowler, P.A. (2014). Proteomic analysis of the sheep caruncular and intercaruncular endometrium reveals changes in functional proteins crucial for the establishment of pregnancy. *Reproduction.* 147 (5): 599-614.  
<https://doi.org/10.1530/REP-13-0600>  
PMid:24446454
38. Yoon, S., Choi, S., Sim, B., et al. (2014). Developmental competence of bovine early embryos depends on the coupled response between oxidative and endoplasmic reticulum stress. *Biol Reprod.* 90 (5): 104.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.113480>  
PMid:24695629
39. Kim, I.H., Suh, G.H. (2003). Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Theriogenology.* 60(8): 1445-1456.  
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00135-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00135-3)

## Résumé :

La notation de l'état corporel s'est avérée un outil fiable et simple d'utilisation pour évaluer les réserves énergétiques et adipeuses d'un animal. En effet compte tenu de la dégradation des performances de reproduction, l'approche collective des facteurs d'élevage est rendue nécessaire. L'étude des variations de la note de l'état corporel s'avère un excellent estimateur de la conduite nutritionnelle du troupeau.

Les travaux menés au cours de cette thèse se sont articulés autour de l'étude de l'effet de l'état corporel sur le statut oxydatif chez les bovins. Le sérum a été récupéré après centrifugation du sang prélevé des vaches avant abattage. Le liquide folliculaire et utérin, les ovaires, les cellules oviductales ont été récupérées à partir des matrices de vache après abattage. L'évaluation du statut oxydatif a été évaluée à l'aide de trois tests : le statut antioxydant total, l'activité enzymatique de la catalase et la peroxydation lipidique. L'étude statistique a été effectuée par le logiciel Statview 4.02 software (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA, USA). Le nombre de follicules a été estimé par échographie des ovaires. Les résultats obtenus ont montré que l'état corporel affecte le nombre de follicules et le statut oxydatif et que les vaches avec BCS (3) présentent le meilleur statut oxydatif et le nombre de follicules le plus élevé.

**Mots clé :** sérum, liquide folliculaire, liquide utérin, ovaires, cellule oviductale, état corporel, statut oxydatif.

## Abstract

Body condition scoring has proven to be a reliable and easy tool to use for assessing the energy and fat reserves of an animal. Indeed, given the deterioration of reproductive performance, the collective approach of breeding factors is made necessary. The study of changes in the body condition score is an excellent estimator of the herd's nutritional behavior.

The work carried out during this thesis focused on the study of the effect of body condition on oxidative status in cattle. The serum was recovered after centrifugation of the blood taken from the cows before slaughter. Follicular and uterine fluid, ovaries, oviductal cells were recovered from the cow after slaughter. Oxidative status assessment was assessed using three tests: total antioxidant status, catalase enzymatic activity, and lipid peroxidation. The statistical study was performed by Statview 4.02 software (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA, USA). The number of follicles was estimated by ultrasonography of ovaries. The results obtained showed that the body condition affects the number of follicles and the oxidative status and cows with BCS (3) have the best oxidative status and the highest number of follicles.

**Key words:** plasma, follicular fluid, uterine fluid, ovaries, oviductal cells, body condition, oxidative status.

## ملخص

ثبت تسجيل حالة الجسم أنه أداة موثوقة وسهلة الاستخدام لتقييم الطاقة والدهون في الحيوانات. في الواقع، في ضوء تدهور الوظيفة التكاثرية، فإن النهج الجماعي لعوامل التكاثر ضروري. دراسة التغيرات في درجة حالة الجسم هي مقدار ممتاز للسلوك الغذائي للقطيع. ركزت الأعمال المنجزة خلال هذه الأطروحة على دراسة تأثير حالة الجسم على الحالة المؤكسدة في الماشية. تم استرداد المصل بعد الطرد المركزي من الدم المأخوذ من الأبقار قبل الذبح. تم الاستخلاص السائل الجريبي والرحمي والمبييض وخلايا قناة المبيض بعد ذبح البقرة. تم تقييم الحالة المؤكسدة باستخدام ثلاثة اختبارات: حالة مضادات الأكسدة، النشاط الأنزيمي للكاتالاز، وأكسدة الدهون. تم إجراء الدراسة الإحصائية بواسطة برنامج Statview 4.02 (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA, USA).

تم تقدير عدد الجريبات بالموجات فوق الصوتية للمبييضين. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن حالة الجسم تؤثر على عدد الجريبات وحالة الأكسدة و الأبقار مع حالة الجسم (3) لديها أفضل حالة تأكسد وأكبر عدد من الجريبات.

**الكلمات الأساسية :** البلازما، السائل الجريبي، السائل الرحمي، المبايض، خلايا قناة المبيض، حالة الجسم، الحالة المؤكسدة.