

N° d'ordre : .....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

People's Democratic Republic of Algeria

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministry of Higher Education and Scientific Research



معهد العلوم البيطرية  
Institute of Veterinary  
Sciences

جامعة البليدة 1  
University Blida-1



Mémoire de Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes  
au niveau de l'ovaire chez la vache au cours du cycle œstral**

Présenté par

**DAOUDI Naima**

**DELLECI Manal**

Soutenu le 06/07/2023

**Présenté devant le jury :**

<b>Présidente :</b>	HADDOUM M.	MAA	ISV. USDBlida-1
<b>Examineur :</b>	HARKAT S.	MCA	ISV. USDBlida-1
<b>Promotrice :</b>	BOUKENAOUI-FERROUK N.	MCA	ISV. USDBlida-1
<b>Co-Promoteur :</b>	FERROUK M.	MCA	ISV. USDBlida-1

Année universitaire 2022/2023

**DAOUDI Naima et DELLECI Manal**

Université de Blida- 1 / Institut des Sciences Vétérinaires

Promotrice : Dr. BOUKENAOUI-FERROUK N.

Co-promoteur : Dr. FERROUK M.

## **Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau de l'ovaire chez la vache au cours du cycle œstral**

### **Résumé :**

Les androgènes ovariens agissent localement pour moduler la fonction folliculaire et lutéale chez diverses espèces. Le but de notre étude est l'immunolocalisation des récepteurs aux androgènes (AR) au niveau de l'ovaire, au cours du cycle œstral, chez la vache. Les ovaires obtenus de la vache mature « *Bos taurus* » ont été récoltés au niveau de l'abattoir d'Eucalyptus puis immédiatement fixés dans la solution de formol dilué à 10% dans le PBS, des coupes ont été réalisées et utilisées pour l'analyse immunohistochimique durant la période du 02 Mai au 15 Juin. Les résultats obtenus ont montré que les récepteurs aux androgènes sont localisés au niveau du cytoplasme: 1/ des différents compartiments de l'ovaire et à différents stades des follicules ainsi que les ovocytes et des corps jaunes ; 2/ de l'endothélium des vaisseaux sanguins et du stroma ovarien. Une faible intensité de marquage est observée dans les follicules préantraux (primordiaux et secondaires) par rapport aux follicules antraux. 3/des cellules luthéales des différents corps jaune pleins et cavitaires. En conclusion, les récepteurs aux androgènes ont un rôle important dans la folliculogénèse aux différents stades du cycle œstral chez les mammifères.

**Mots clés :** Ovaire, vache, immunohistochimie, récepteurs aux androgènes.

## *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu, le tout puissant, de nous avoir aidés et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.*

*Nous tenons beaucoup à remercier notre promotrice, Docteur Boukenaoui N. et la Co-promoteur, Docteur-Ferrouk M pour l'encouragement qu'ils nous ont donné ainsi que leur disponibilité, soutien, conseils et accompagnement sans relâche durant Notre travail. Leur expérience nous a énormément appris à parfaire notre esprit D'analyse et de recherche.*

*Nos remerciements vont au Docteur Haddoum..M. À pour nous avoir fait l'honneur de Présider le jury ainsi qu'au Docteur Harkat. S. À avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Un grand merci est adressé à tous nos enseignants, nous tenons à leur exprimer notre Reconnaissance pour tout ce qu'ils nous ont donné comme savoir et savoir-faire. A toutes les personnes qui nous ont aidé de près et de loin pour la réalisation de ce Travail.*

## Dédicaces

*A ma mère qui m'a portée dans son ventre pendant neuf mois, qui m'a amenée dans cette vie et m'a offert tant d'affection, d'amour et de soutien.*

*A mon père, qui m'a appris que la vie est un combat qui vaut la peine d'être vécu.*

*Grâce à dieu puis à vous qu'aujourd'hui, je vais cueillir le fruit de mes efforts.*

♥ «Que dieu vous garde pour nous » ♥

*A mes frères Mohamed, Mehamed, Miloud, Hamza, Ahmed.*

*A mes très chères sœurs Akila, Fouzia, Douaa.*

*A tous les membres de ma famille qui m'ont tant encouragée et soutenue  
particulièrement*

*Mes tantes: Samia, Soumia, Samia, Ikram et à tous mes neveux et nièces.*

♥Aux familles DAUDDI♥

*A ceux qui ont partagé avec moi le bonheur et le malheur loin de ma famille mes  
chères amies Achwak, Yasmine, Ahlem, Nouha, Rawan, Houda, Soso.*

*A tata Samia et mon frère Mehamed pour m'avoir considérée comme un membre de  
leur famille.*

♥Ma promotrice Madame Boukenaoui-Ferrouk N., pour m'avoir écoutée, conseillée  
et encadrée, pour sa pondération, son intérêt permanent et son extrême gentillesse.

*Je souhaite à d'autres la chance que j'ai eu d'être encadrée par elle♥*

*Mon binôme: ma sœur de cœur Manal, pour m'avoir supporté toutes mes crises de  
nerfs, pour toutes nos aventures et mésaventures qui nous ont bien fait comprendre,  
que ce qui nous ne tue pas nous rend plus fortes, maintenant nous sommes prêtes à  
tout affronter dans la vie.*

*A tous mes amis(e) et collègues.*

*A tous ceux qui me sont chers et A ceux qui ont cru en moi*

*Naima ♥*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à:*

*Ma très chère mère Assia, pour sa tendresse, sa douceur, sa sagesse, son soutien, pour m'avoir encouragée sans relâche dans mes études et particulièrement dans cette dernière aventure*

*Mon cher père Ahmed, pour avoir toujours été présent pour moi, pour m'avoir appris à donner le meilleur de moi-même et à ne jamais baisser les bras devant les difficultés♥*

*Mon amour de sœur Asmaa pour avoir supporté mon caractère, pour m'avoir toujours soutenue et encouragée ♥*

*A mon ange gardien Samy, sans son soutien et sa présence je n'aurais jamais pu continuer.*

*A mes petits frères et sœur d'amour que j'aime trop : Adel, Anes et Alyc que dieu vous garde pour moi*

*A celle qui a partagé avec moi le bonheur et le malheur loin de ma famille ma chère amie Souhila ♥*

*♥ Mon binôme: ma sœur de cœur Naima, pour m'avoir supporté ♥*

*Ma promotrice Madame Boukenaoui-Ferrouk N., pour m'avoir écoutée, conseillée et encadrée, pour sa pondération, son intérêt permanent et son extrême gentillesse.*

*A tous mes amis(e) et collègues.*

*♥Que tous ceux que j'ai oubliés de citer m'excusent! ♥*

*Manal ♥*

# **RESUMES**

## Résumé

Les androgènes ovariens agissent localement pour moduler la fonction folliculaire et lutéale chez diverses espèces. Le but de notre étude est l'immunolocalisation des récepteurs aux androgènes (RA) au niveau de l'ovaire, au cours du cycle œstral, chez la vache. Les ovaires obtenus de la vache mature « *Bos taurus* » ont été récoltés au niveau de l'abattoir d'Eucalyptus puis immédiatement fixés dans la solution de formol dilué à 10% dans le PBS, des coupes ont été réalisées et utilisées pour l'analyse immunohistochimique durant la période du 02 Mai au 15 Juin. Les résultats obtenus ont montré que les récepteurs aux androgènes sont localisés au niveau du cytoplasme: 1/ des différents compartiments de l'ovaire et à différents stades des follicules ainsi que les ovocytes et des corps jaunes ; 2/ de l'endothélium des vaisseaux sanguins et du stroma ovarien. Une faible intensité de marquage est observée dans les follicules préantraux (primordiaux et secondaires) par rapport aux follicules antraux. 3/des cellules luthéales des différents corps jaune pleins et cavitaires. En conclusion, les récepteurs aux androgènes ont un rôle important dans la folliculogénèse aux différents stades du cycle œstral chez les mammifères.

**Mots clés :** Ovaire, vache, immunohistochimie, récepteurs aux androgènes

## **Abstract**

Ovarian androgens act locally to modulate follicular and luteal function in various species. The purpose of our study is to immunolocalize androgen receptors (AR) in the ovary, during the estrus cycle, in cows. Ovaries obtained from mature *Bos taurus* cows were collected at the Eucalyptus slaughterhouse and immediately fixed in 10% formalin solution in PBS. Sections were made and used for immunohistochemical analysis between May 2nd and June 15th. The results obtained showed that the androgen receptors are located at the level of the cytoplasm: 1/ the different compartments of the ovary in different stages of the follicles as well as the oocytes and yellow bodies; 2/ endothelium of blood vessels and ovarian stroma. A low intensity of marking is observed in the pre-antral follicles (primary and secondary) compared to the antral follicles. 3/ luteal cells of different solid yellow bodies and cavities. In conclusion, androgen receptors play an important role in folliculogenesis at the various stages of the estrous cycle in mammals.

**Keywords:** *Ovary, cow, immunohistochemistry, androgen receptors*

## ملخص

تعمل الأندروجينات المبيضية محليًا على تعديل وظيفة المبيض والغدة الصفراء لدى مختلف أنواع الحيوانات. هدف دراستنا هو تحديد موقع مستقبلات الأندروجين (AR) في المبيض خلال دورة الأنثى للبقرة باستخدام تقنية التنسج المناعي. تم جمع المبايض من بقرة بالغة "Bos taurus" على مستوى مسلخ الكاليتوس وتم تثبيتها على الفور في محلول الفورمول المخفف بنسبة 10٪ في الـ PBS. تم إجراء شرائح واستخدامها للتحليل الكيميائي المناعي للانسجة في الفترة الممتدة بين 02 ماي الى 15 جوان. أظهرت النتائج أن مستقبلات الأندروجين موجودة في السيتوبلازما: (1) في مختلف أقسام المبيض وفي مراحل مختلفة للبويضات والأجسام الصفراء؛ (2) في الغشاء البطاني للأوعية الدموية والنسيج المبيضي. يلاحظ تلوينًا ضعيفًا في التلوين في الحويصلات الأنتروية (الأولية والثانوية) مقارنة بالحويصلات الأنتروية. (3) في الخلايا الصفراوية للأجسام الصفراء المختلفة الجسمًا لاصفر الممتلئ و المجوف. في الختام، للمستقبلات الأندروجينية دور هام في تكوين الحويصلات في مختلف مراحل الدورة الأنثوية للتدييات.

**الكلمات المفتاحية:** مبيض، بقرة، التنسج المناعي ، مستقبلات الأندروجين

# **SOMMAIRE**

# Sommaire

Résumé .....	7
Abstract.....	8
ملخص .....	9
LISTE DES FIGURES .....	14
LISTE DES ABRIVIATIONS .....	16
INTRODUCTION .....	2
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....	3
CHAPITRE I : CYCLE SEXUEL CHEZ LA VACHE .....	5
1. Cycle œstral chez la vache .....	5
1.1. Phases du cycle œstral .....	5
1.1.1 Pro-œstrus.....	5
1.1.2 Œstrus ou chaleur.....	6
1.1.3 Métœstrus.....	6
1.1.4 Dioestrus .....	6
2. Cycle ovarien chez la vache .....	7
2.1. Phase folliculaire .....	7
2.2. Phase lutéale .....	7
CHAPITRE II : HISTOLOGIE DE L'OVAIRE .....	10
1. Structure de l'ovaire .....	10
2. Structures ovariens.....	11
2.1. Follicules.....	11
2.1.3. Follicules secondaires .....	12
2.1.4. Follicules tertiaires ou de De Graaf.....	13
2.2. Corps jaune.....	13
Chapitre III : PHYSIOLOGIE DE L'OVAIRE.....	16
1. Développement des follicules ovariens.....	16
1.1. Ovogenèse.....	16
1.2. Folliculogénèse.....	16
1.2.1. Phase de multiplication .....	17
1.2.2. Phase de croissance.....	17
1.2.2.5. Follicule mur .....	19
1.2.3. Phase de maturation .....	19
2. Dynamique de la croissance folliculaire .....	20
2.1. Notion de vague de croissance folliculaire .....	20

2.1.1. Recrutement.....	20
2.1.2. Sélection .....	21
2.1.3. Dominance .....	21
2.1.4. Ovulation .....	21
2.1.5. Atrésie folliculaire.....	21
2. Régulation hormonale de l’ovaire .....	22
2.1. Mécanisme hormonale.....	22
2.2. Physiologie des androgènes au cours du cycle oestral .....	23
2.2.1. Structure des récepteurs d’androgènes .....	24
2.2.2. Localisation des récepteurs d’androgènes : .....	25
2.2.3. Rôles des récepteurs d’androgènes.....	25
PARTIE EXPERIMENTALE.....	26
MATERIEL ET METHODES .....	27
Model animal .....	28
1. Méthodes utilisées .....	28
1.1. Protocole d’immunohistochimie .....	28
• Première étape.....	28
• Deuxième étape .....	28
1.2. Etapes de la technique d’histologie.....	28
1.2.1. Fixation .....	28
1.1.2. Inclusion .....	29
1.1.2.1. Déshydratation et substitution (éclaircissement).....	29
1.1.2.2. Confection des blocs de paraffine .....	30
1.1.2.3. Réalisation et étalement des coupes .....	30
• Déparaffinage.....	31
• Hydratation .....	32
Etapes d’immunohistochimie.....	32
• Démasquage des sites antigéniques.....	32
• Blocage des peroxydases endogènes .....	32
• Blocage des sites non spécifiques.....	32
• Le chromogène.....	33
1.1.2.4. Montage des lames .....	34
1.1.2.5. Observation au microscope photonique .....	34
RESULTATS .....	36
1. Structures ovariens .....	37

2. Follicules ovariens en développement .....	38
2.1. Follicule pré-antraux.....	38
2.2. Follicules antraux.....	40
2.3. Follicule atrétique.....	41
3. Corps jaune .....	43
CONCLUSION .....	55
REFERENCES BIBLOGHRAPHIQUES .....	57
LES ANNEXES.....	1

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des différentes phases de cycle œstral (5).....	5
Figure 2 : Phases de cycle ovarien chez la vache: croissance folliculaire et évolution du corps jaune (13).....	8
Figure 3: Schéma d'une coupe transversale d'un ovaire (15).....	10
Figure 4 : Coupe histologique d'un follicule primordiale « 1 » et primaire « 2 ». Coloration H&E. G : x100 (20).....	11
Figure 5: Coupe histologique de follicule secondaire (28). Coloration H&E. G : x100.....	12
Figure 6 : Coupe histologique de follicule de De Graaf (20, 32).....	13
Figure 7 : Coupe histologique de corps jaune(33).Coloration H&E. G x100.....	14
Figure 8 : Coupe histologique des cellules de corps jaune (34). Coloration H&E. G x400.....	14
Figure 9 : Schéma représentatif d'un ovaire et de l'évolution d'un follicule (40). ....	17
Figure 10: Schéma représentatif de la structure des récepteurs d'androgènes (65). ....	24
Figure 11 : Schéma représentatif de localisation cellulaire des récepteurs d'androgènes(66).....	25
Figure 12: Vache « Bos taurus ». ....	28
Figure 13 : Prélèvement ovarien dans une cassette d'histologie.....	29
Figure 14 : Mise en place centrée du prélèvement ovarien dans le moule métallique (a) ; Remplissage du moule métallique par la paraffine liquide(b) ; Blocs de paraffine (c) (photo personnelle).....	30
Figure 15 : Microtome avec bloc paraffine (a) ; une lame silanisée (b) ; lame blanche (c) (photo personnel).....	31
Figure 16 : Batterie de déparaffinage et hydratation. ....	31
Figure 17: Dako-pen (a) ; entourage de lame (b) ; chambre humide (c) (photo personnelle). ....	32
Figure 18 : Fiche technique d'un anticorps primaire anti-récepteurs aux androgènes .....	33
Figure 19 : Montage des lames avec le liquide de montage « Eukitt».....	34
Figure 20 : Observation au microscope photonique (photo personnel).....	34
Figure 21 : Etapes de la technique d'immunohistochimie. ....	35
Figure 22: Immunolocalisation des AR au stroma ovarien. x100. En insère un contrôle négatif. ....	37
Figure 23 : Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau du stroma. ....	38
Figure 24 : Immunolocalisation des RA au niveau des vaisseaux sanguins a : x100 ; .....	38
Figure 25 : Histologies et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes des follicules ovariens préantraux. a, b, c : coloration H&E ; d, e, f : DAB. G x100. ....	39
Figure 26: Histologies et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes des follicules ovariens antraux. a : coloration H&E ; b : DAB. G x100 ; c : DAB x400.....	40
Figure 27: Histologies et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes des follicules ovariens atrétiques.(a, b) : coloration H&E, DAB : (c, d, e) G x100 et (f) G x400. ....	42
Figure 28 : Histologie (a, b, c, d) et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes (e, f, g, h) d'un corps jaune cavitaire. Coloration H&E (a, b) x100 ;(c) x400. DAB : (f, g) x100.(h) x400. ....	43
Figure 29 : Histologie (a, b, c, d) et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes (d, e, f) d'un corps jaune massif. Coloration H&E : (a, b) x100 ;(c) x400 ; DAB : (f, g) x100 ;(h) x400.....	45
Figure 30: Histologie et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes d'un corps jaune en régression. Coloration H&E : (a, b) et DAB : (c, d).G x400.....	46

Figure 31: Histologie et immunolocalisation d'un *corpus albicans* des récepteurs aux androgènes.  
Coloration H&E :(a) ; DAB : (b). G x100.....47

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1:** Durée des différentes phases de cycle sexuel de la vache (3).....6  
**Tableau 2 :** Diamètre des follicules ovariens chez la vache (38).....18

## LISTE DES ABRIVIATIONS

- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- AMPc** : Adénosine monophosphate cyclique.
- AR** : Récepteurs d'androgènes.
- ARNm** : Acide ribonucléique messenger.
- CE** : Cellules endothéliales.
- CG** : Cellules du granulosa.
- CL** : Cellules lutéales.
- CJ** : Corps jaune.
- CO** : Cumulus oophorus.
- COC** : Cumulus oophorus oocyte.
- CT** : Cellules de la thèque.
- FP** : Follicules primordiales.
- FS** : Follicules secondaires.
- GnRH** : Gonadotropin-releasing hormone.
- H&E** : Hématoxyline-éosine.
- LH** : Luteinizing hormone.
- MIS** : Meiosis inducing substance.
- MPF** : Meiosis promoting factor.
- OMI** : Oocyte Meiosis Inhibitor.
- PBS** : phosphate-buffered saline
- PGF2 $\alpha$**  : Prostaglandine F2 $\alpha$ .
- TC** : Tissu conjonctif.
- TE** : Thèque externe.
- Vs** : Vaisseau sanguin.
- ZP** : Zone pellucide.

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

Pendant le cycle œstral de la vache, il existe différentes phases caractérisées par des changements hormonaux et des modifications dans les structures reproductrices de la vache. Parmi les principaux acteurs hormonaux dans le cycle œstral de la vache sont les androgènes (1).

Les androgènes sont les hormones stéroïdiennes principalement représentées par la testostérone qui jouent un rôle important dans la régulation du cycle œstral chez les mammifères, y compris les vaches. .

Chez la femelle, les androgènes sont produits en petite quantité par les ovaires et les surrénales (1). Comprendre les mécanismes d'action des androgènes sur les ovaires, qu'il s'agisse de leur inhibition ou de leur stimulation, est crucial pour la recherche sur la fonction de reproduction et pour comprendre les mécanismes qui influencent la fertilité et l'infertilité (1).

Cependant, les androgènes exercent principalement leurs effets en se liant à un récepteur spécifique qui est exprimé dans la plupart des cellules. Il s'ensuit une activation de ce récepteur, ce qui déclenche les effets des androgènes dans l'organisme.

Le but de notre travail est de mettre en évidence par immunlocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau des ovaires au cours du cycle œstral chez la vache.

Notre travail comprend deux parties :

- Une partie bibliographique réservée à l'étude du cycle œstral et l'examen histologique et physiologique des ovaires.
- Une partie expérimentale comprenant la partie matériel et méthodes utilisés, des résultats qui sont discutés par rapport aux données bibliographiques. Enfin, une conclusion.

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE I :**  
**CYCLE SEXUEL CHEZ**  
**LA VACHE**

## CHAPITRE I : CYCLE SEXUEL CHEZ LA VACHE

### 1. Cycle œstral chez la vache

La durée du cycle œstral, qui correspond à la période entre deux œstrus, est en moyenne de 21 jours, mais peut varier entre 18 et 24 jours (2, 3, 4).

L'activité sexuelle chez les animaux débute à la puberté, qui survient lorsque l'animal atteint environ 40 à 45 % de son poids adulte, généralement entre 6 et 12 mois d'âge. La puberté peut varier en fonction de la race, les génisses des races laitières étant généralement plus précoces que celles des races allaitantes (4).

#### 1.1. Phases du cycle œstral

Le cycle œstral comprend quatre phases: pro-œstrus, œstrus, metoestrus et dioestrus (Figure 1).

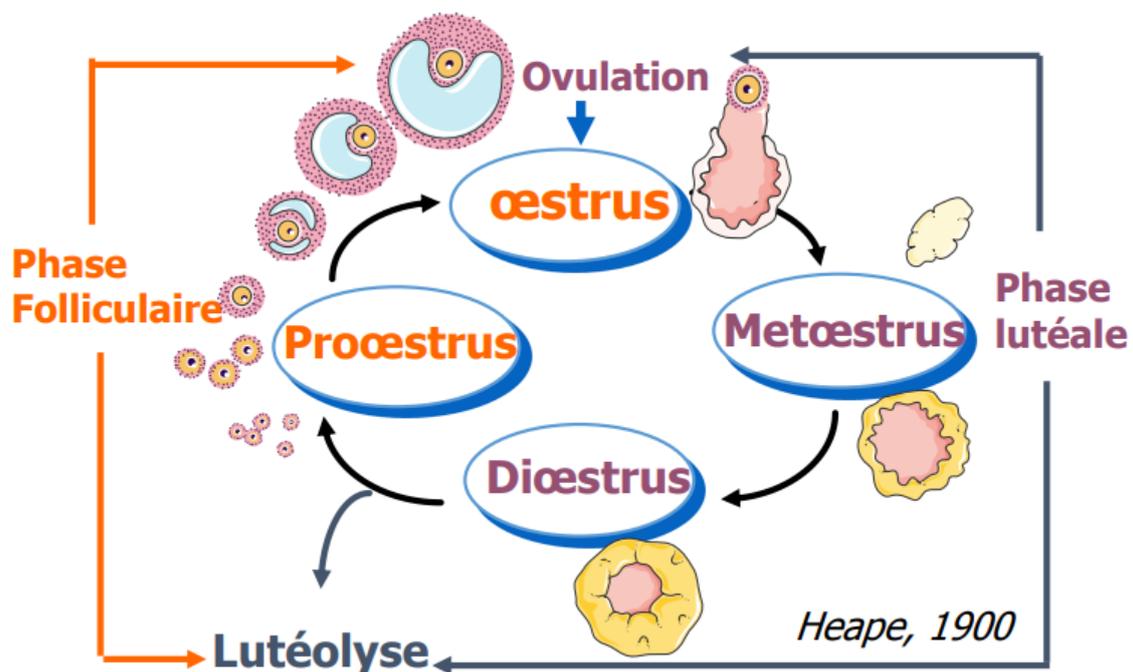


Figure 1 : Représentation schématique des différentes phases de cycle œstral (5).

##### 1.1.1 Pro-œstrus

Le pro-œstrus correspond à la période de transition entre la fin d'un cycle et le début du cycle suivant. Cette phase dure généralement de 1 à 3 jours selon les données du tableau 1 (jours 20 et 21 du cycle). Elle se caractérise par la dégénérescence du corps jaune

du cycle précédent et par la maturation finale du follicule qui marque le début du nouveau cycle (3, 4).

**Tableau 1:** Durée des différentes phases de cycle sexuel de la vache (3).

Espèce	Pro-œstrus	Œstrus	Métoœstrus	Dioœstrus	Durée de cycle	Moment de l'ovulation
Vache	2-3 j	12-18h	2 j	15 j	21 j	10-12h post-œstrus

### 1.1.2 Œstrus ou chaleur

L'œstrus correspond à la période de réceptivité sexuelle chez la vache, qui dure généralement de 12 à 18 heures (Tableau 1) et marque le premier jour d'un cycle. Pendant cette période, il y a une rupture folliculaire suivie de l'ovulation, ainsi qu'une sécrétion maximale d'estrogènes (6,7). Les glandes utérines, cervicales et vaginales produisent une grande quantité de mucus à consistance fluide(6).

### 1.1.3 Métoœstrus

Pendant le Métoœstrus, les cellules de la paroi interne du follicule après rupture, commencent à former le corps jaune. Cette phase dure généralement environ trois jours (jour 2 à 5 du cycle) selon les données du tableau 1 (3, 4).

### 1.1.4 Dioœstrus

Cette phase dure généralement de 12 à 15 jours selon les données du tableau 1, correspondant aux jours 6 à 18 du cycle. La durée de cette phase est la plus variable et détermine la durée totale du cycle, qui peut varier de 18 à 24 jours. Au début du cycle, certains follicules commencent leur développement, mais un seul follicule dominant émerge ensuite et croît pendant environ 11 à 12 jours, avant de régresser (8). Entre les jours 16 et 18 du cycle, en l'absence de fécondation, le corps jaune commence à régresser. Il devient sensible à la PGF2 $\alpha$ , ce qui entraîne la lutéolyse en une journée (4). Cependant, si l'ovule est fécondé, le corps jaune ne régresse pas et continue à produire de la progestérone, ce qui empêche le développement final des follicules et maintient ainsi la gestation (6).

Le diœstrus correspond à la période d'activité du corps jaune. Pendant cette phase, la femelle refuse le mâle et le col de l'utérus est fermé. Des conditions d'entretien, d'environnement ou de nutrition défavorables peuvent interférer avec le déroulement normal du cycle et entraîner soit une irrégularité, soit une suppression du cycle (6).

## **2. Cycle ovarien chez la vache**

Le cycle ovarien est défini comme la période de temps entre deux ovulations consécutives, et sa durée varie en fonction de l'espèce. Il se compose de deux phases distinctes (Figure 2) : la phase folliculaire et la phase lutéale. La phase folliculaire est caractérisée par le développement et la maturation des follicules, tandis que la phase lutéale correspond à la formation et à l'activité du corps jaune. Ces deux phases se succèdent dans un cycle régulier et jouent un rôle crucial dans la reproduction chez les animaux (9).

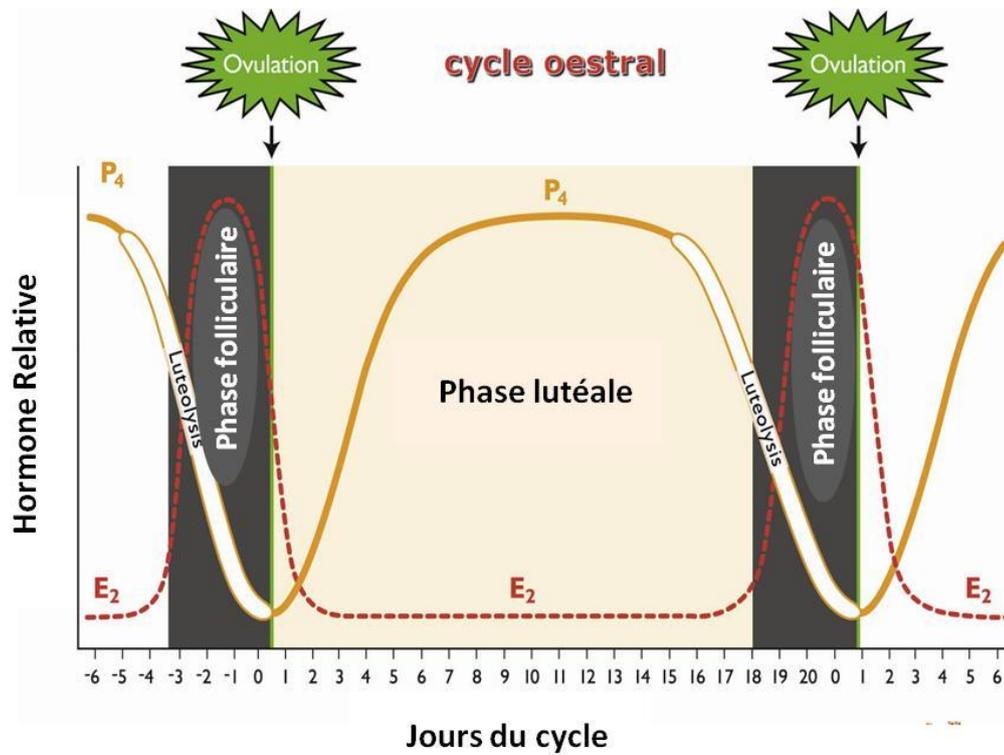
### **2.1. Phase folliculaire**

Elle est caractérisée par une forte production d'œstrogène ovarien (Figure 2). On signale à la fin de cette phase des manifestations comportementales rattachées classiquement à l'œstrus comme : un relèvement fréquent de la queue, reniflement et léchage de la vulve, appui et frottement du menton, une augmentation de la fréquence de miction et des beuglements. Parfois, on signale le chevauchement par une congénère (10,11). Le comportement le plus représentatif de l'œstrus reste l'acceptation de chevauchement (12).

### **2.2. Phase lutéale**

Cette phase est connue sous le nom de lutéogenèse et lutéotrophie (Figure 2). Elle commence immédiatement après l'ovulation et constitue la période la plus longue du cycle ovarien, avec une durée moyenne de 17 jours chez la vache. Au cours de cette phase lutéale, la production d'œstrogènes ovariens est réduite, tandis que la concentration de progestérone est élevée en raison de l'activité du corps jaune formé (10).

En cas de fécondation, le corps jaune persiste et joue un rôle crucial pendant la gestation. En revanche, en l'absence de gestation, le corps jaune subit une dégénérescence sous l'influence des  $PGF2\alpha$  sécrétées par l'utérus, se transformant ainsi en corps blanc (*corpus albicans*) (10).



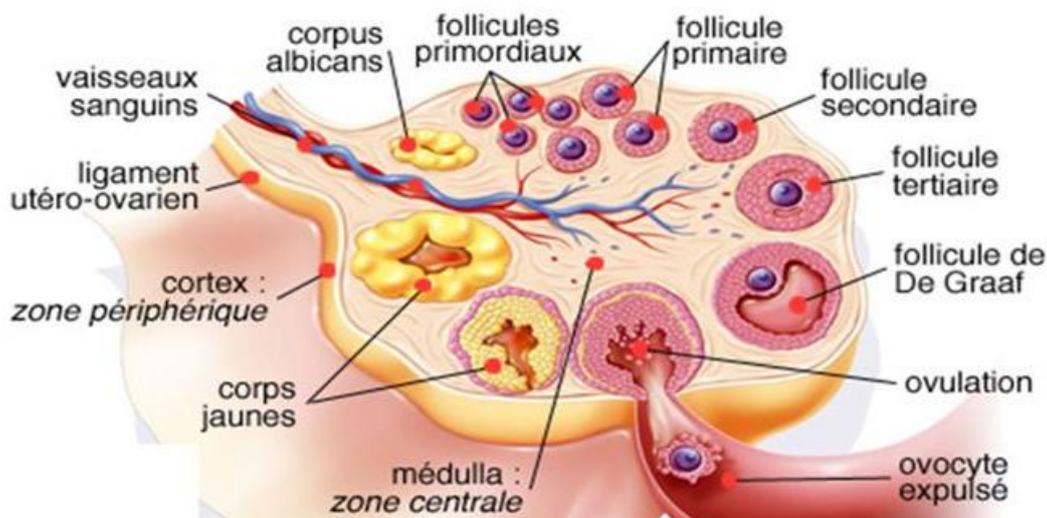
**Figure 2 :** Phases de cycle ovarien chez la vache: croissance folliculaire et évolution du corps jaune (13)

**Chapitre II :**  
**HISTOLOGIE DE L'OVAIRE**

## CHAPITRE II : HISTOLOGIE DE L'OVAIRE

### 1. Structure de l'ovaire

La structure de l'ovaire (Figure 3) se divise en trois régions distinctes : le cortex, la moelle et le hile. Le cortex ovarien abrite deux principaux types de cellules : les cellules folliculaires et les cellules stromales. On y trouve également la présence d'un corps jaune et des résidus de *corps albicans*. La moelle est constituée de vaisseaux sanguins et de nerfs, tandis que le hile renferme les principaux vaisseaux sanguins qui alimentent l'ovaire (14).



**Figure 3:** Schéma d'une coupe transversale d'un ovaire (15).

L'examen histologique des ovaires à différents stades du cycle œstral révèle, à partir de l'observation de toutes les coupes, que l'ovaire est divisé en deux zones distinctes : une zone corticale périphérique, également appelée cortex ovarien, et une zone centrale, connue sous le nom de médulla ovarienne. La surface de l'ovaire est recouverte d'une seule couche de cellules épithéliales aplaties. Juste en dessous de l'épithélium, on observe une couche de tissu conjonctif dense appelée *tunica albuginea* (16).

- Au niveau de la zone corticale, on peut observer la présence de follicules à différentes phases du développement folliculaire, ainsi que différents types de corps jaunes correspondant aux différents stades du cycle œstral. Toutes ces structures sont intégrées dans le stroma ovarien.

- Au niveau de la zone médullaire, on peut observer la présence d'un tissu conjonctif lâche, également appelé stroma ovarien, qui contient de nombreux vaisseaux sanguins tortueux à paroi épaisse (16).

## 2. Structures ovariens

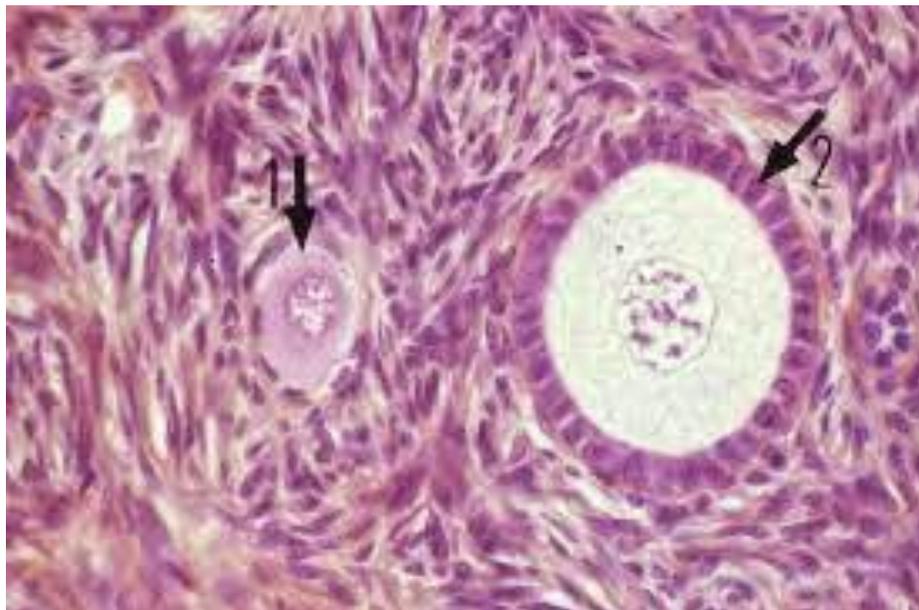
En fonction de leur développement, on peut diviser les organites ovariens en :

### 2.1. Follicules

Les follicules jouent un rôle essentiel dans le développement et la maturation du gamète femelle, l'ovocyte, au sein de l'ovaire. Leur croissance s'effectue à travers plusieurs stades distincts (Figure 4) : le stade primordial, le stade primaire, le stade secondaire, le stade tertiaire et enfin le stade de De Graaf.

#### 2.1.1. Follicules primordiaux

Ces follicules renferment tous des ovocytes qui sont dans un état d'arrêt de leur méiose (17). Ce type de follicule (Figure 4) se caractérise par la présence d'un ovocyte entouré d'une seule couche de cellules épithéliales aplaties appelées cellules de la pré-granulosa (18). La présence des cellules de la granulosa est essentielle pour la survie et la croissance de l'ovocyte (18, 19). Le follicule primordial est clairement séparé du stroma ovarien par une lame basale. Il est probable que ces cellules stromales mésenchymateuses soient à l'origine des cellules de la thèque.



**Figure 4** : Coupe histologique d'un follicule primordiale « 1 » et primaire « 2 ». Coloration H&E. G : x100 (20).

### 2.1.2. Follicules primaires

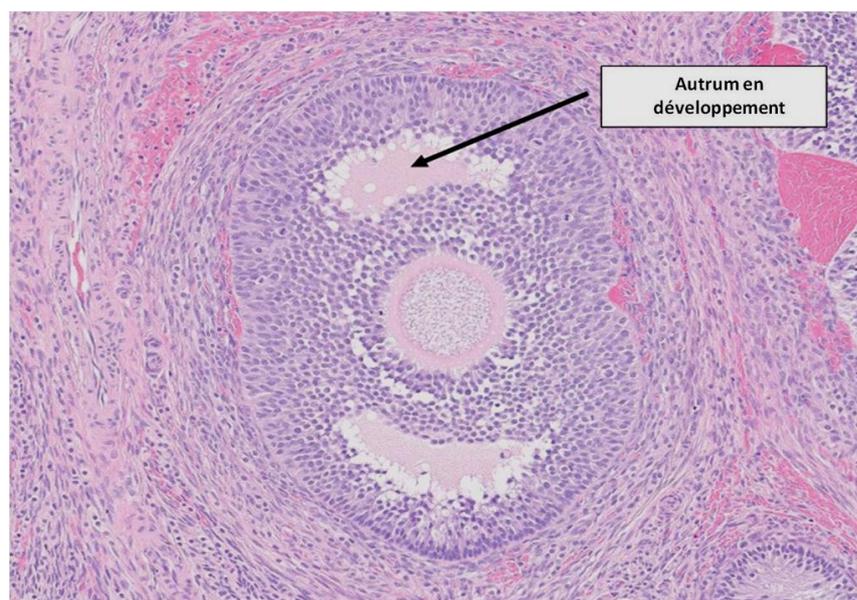
Les ovocytes des follicules primaires ne présentent pas de différence significative de volume par rapport à ceux du stade primordial. Ils mesurent environ 30  $\mu\text{m}$  de diamètre et sont entourés de cellules de la granulosa de forme cuboïdale (Figure 4) (21-23).

Les ovocytes commenceront à augmenter de volume seulement lorsqu'il y aura un nombre suffisant de cellules de la granulosa, soit environ 40 cellules chez les bovins (24). À ce stade, les cellules de la granulosa possèdent des sites de liaison pour la FSH (25).

Le diamètre folliculaire mesure environ 100  $\mu\text{m}$  à ce stade. Des changements importants se produisent lors du développement du follicule primaire, tels que la formation de jonctions communicantes et de desmosomes entre les cellules de la granulosa et l'ovocyte (26-27). On observe également le début de la formation de la zone pellucide qui entourera complètement l'ovocyte lorsque le follicule atteindra son stade préantral (24).

### 2.1.3. Follicules secondaires

Les follicules secondaires (Figure 5) présentent une activité intense de division mitotique, ce qui se traduit par la formation de plusieurs couches de cellules de la granulosa de forme cubique. L'ovocyte au centre du follicule devient également plus volumineux, avec un diamètre variant de 50 à 60  $\mu\text{m}$  (21-22). Lorsque le diamètre du follicule atteint environ 120  $\mu\text{m}$ , les cellules de la thèque deviennent clairement identifiables à la surface externe du follicule, favorisant ainsi le développement du réseau capillaire entourant l'ovocyte.

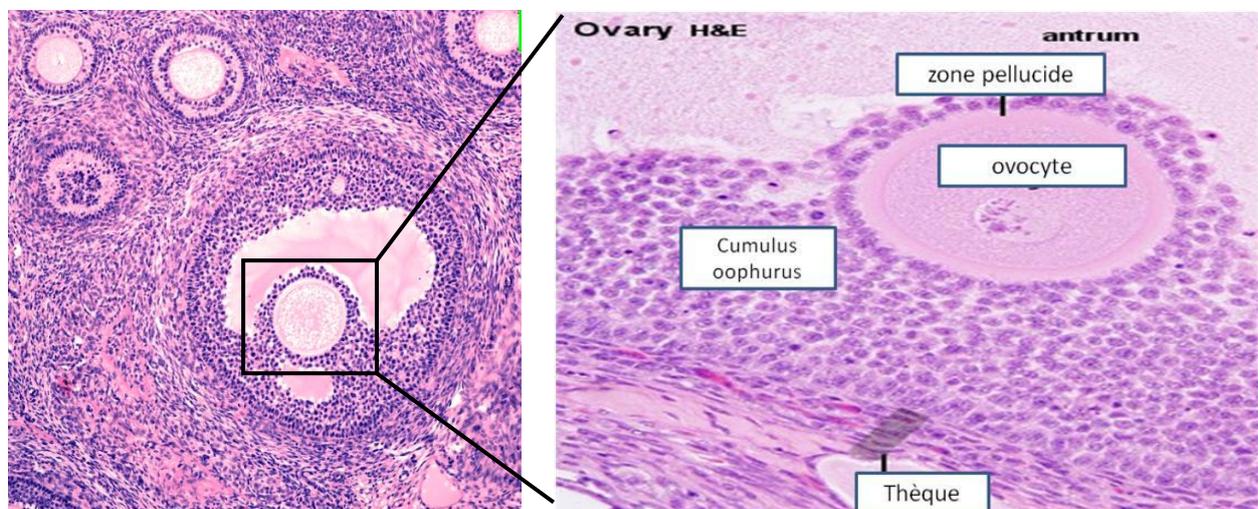


**Figure 5:** Coupe histologique de follicule secondaire (28). Coloration H&E. G : x100.

### 2.1.4. Follicules tertiaires ou de De Graaf

Les follicules secondaires évoluent en follicules tertiaires lorsque commence à se former une cavité à l'intérieur du follicule, appelée antrum. Cette cavité est remplie de liquide folliculaire contenant des exsudats du plasma sanguin et des produits sécrétés par les cellules folliculaires. Le stade tertiaire correspond à la phase de recrutement folliculaire. Chez les bovins, à ce stade, la taille de l'ovocyte atteint environ 115  $\mu\text{m}$  (29). Des prolongements des cellules de la couronne radiée s'invaginent à la surface de l'ovocyte, traversant la zone pellucide pour former des jonctions communicantes ou des jonctions gap (30, 31).

Au fur et à mesure que le follicule continue de croître, le nombre et la taille des jonctions communicantes augmentent (31). Cette association permet désormais l'échange de facteurs régulateurs de la maturation ovocytaire. Il y a également une modification de la structure des régulateurs de la maturation ovocytaire.



**Figure 6** : Coupe histologique de follicule de De Graaf (20, 32).

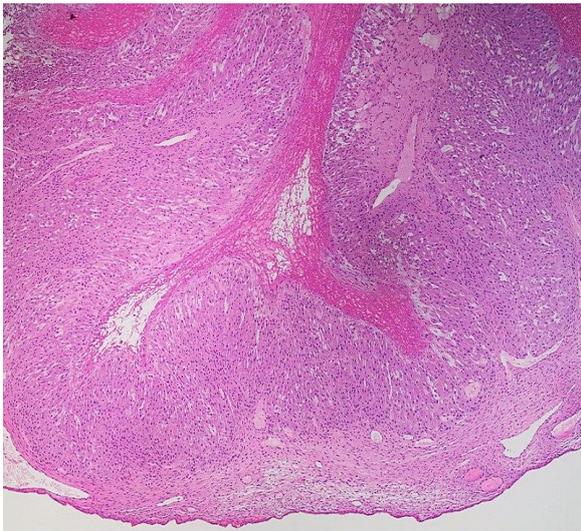
Coloration H&E. G x100, G x400.

## 2.2. Corps jaune

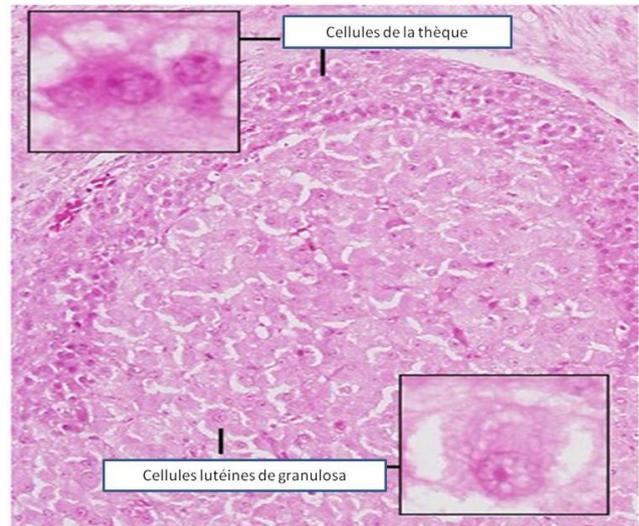
Lorsqu'on examine les différentes phases du cycle œstral d'un point de vue histologique, on se base sur le stade de développement du corps jaune observé. Les coupes histologiques des corps jaunes montrent la présence de deux types de cellules : les cellules stéroïdiennes, comprenant les grandes et les petites cellules lutéales, et les cellules non stéroïdiennes, telles que les fibroblastes, les cellules endothéliales et les lymphocytes (Figures 7 et 8).

- **Les grandes cellules lutéales** Les grandes cellules lutéales présentent une forme sphérique ou polyédrique, un cytoplasme volumineux et un noyau généralement circulaire situé au centre, souvent avec un nucléole distinct (16).
- **Les petites cellules lutéales** Les petites cellules lutéales se trouvent entre les grandes cellules lutéales. Elles se distinguent par leur forme irrégulière, leur noyau en forme de gobelet, leur cytoplasme plus petit et moins coloré que celui des grandes cellules lutéales.

Les fibroblastes sont de petites cellules caractérisées par un noyau de forme ovale. Ces cellules fibroblastiques sont observées de manière dispersée entre les cellules parenchymateuses (16).



**Figure 7** : Coupe histologique de corps jaune(33).Coloration H&E. G x100.



**Figure 8** : Coupe histologique des cellules de corps jaune (34). Coloration H&E. G x400.

**Chapitre III :**  
**PHYSIOLOGIE DE L'OVAIRE**

## **Chapitre III : PHYSIOLOGIE DE L'OVAIRE**

### **1. Développement des follicules ovariens**

C'est la résultante de trois évènements ovogénèse, folliculogénèse et ovulation.

#### **1.1. Ovogénèse**

L'ovogénèse se déroule pendant la vie intra-utérine et reprend de manière cyclique à la puberté. Elle débute lors du développement embryonnaire et se met en pause à la prophase méiotique, laissant les ovocytes I entourés de cellules folliculaires. Le nombre de ces follicules primordiaux est d'environ 235 000 à la naissance chez les vaches (35), et il diminue par dégénérescence avec l'âge. Au cours des cycles, certains ovocytes parviendront à maturité et seront ovulés, tandis que la majorité dégénérera en follicules atrétiques (8). Seules quelques centaines d'ovocytes I compléteront la première division de la méiose pour devenir des ovocytes II, accompagnés de l'émission du premier globule polaire, suivis de la seconde division méiotique. C'est à la métaphase de cette division qu'a lieu l'ovulation, et la fin de la méiose se déroulera lors de la fécondation, avec l'émission du second globule polaire (26).

#### **1.2. Folliculogénèse**

Le follicule est une structure en forme de sac formée par un amas de cellules mésodermiques qui entoure une cellule ou un groupe de cellules. La folliculogénèse débute pendant le développement fœtal, et des follicules antraux peuvent être observés dans les ovaires des fœtus bovins dès 5 mois de gestation.

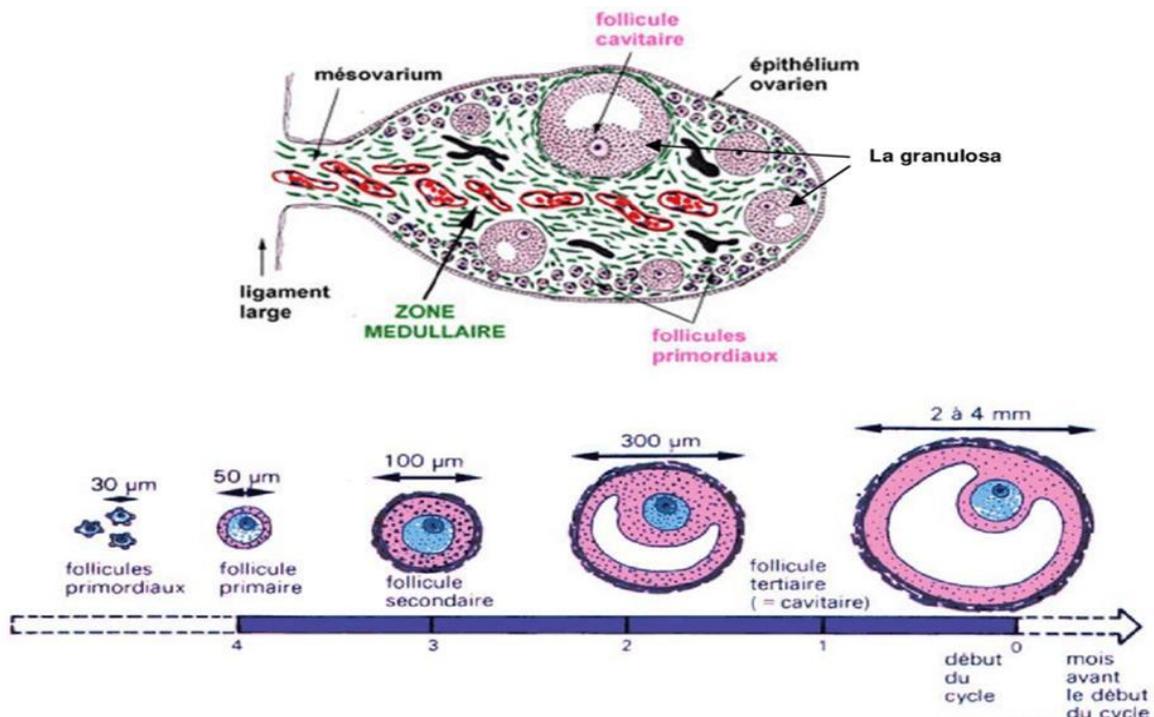
La folliculogénèse est un processus continu qui commence à partir de la réserve de follicules primordiaux et se poursuit jusqu'à l'ovulation, la dégénérescence (ou atrésie) étant le destin de plus de 99% des follicules en croissance (37). L'initiation de la croissance folliculaire se caractérise par l'augmentation du volume de l'ovocyte et la prolifération des cellules de la granulosa. Cette phase ne concerne que 10% du stock folliculaire, qui est estimé entre 150 000 et 235 000 chez la vache (38). La folliculogénèse implique des modifications tant au niveau du follicule lui-même qu'au niveau de l'ovocyte qu'il renferme (37). Elle se déroule en trois phases distinctes : la phase de multiplication, la phase de croissance et la phase de maturation.

### 1.2.1. Phase de multiplication

Les cellules germinales du fœtus bovin migrent vers la crête génitale et se développent en ovogonies. Entre le 60ème et le 170ème jour de gestation, ces ovogonies subissent une phase de multiplication (39). Au cours de cette période, un stock de 2 millions d'ovogonies est formé. Une fois la phase de multiplication terminée, les ovogonies entament une division méiotique qui est bloquée en prophase I. Elles se transforment ainsi en ovocytes primaires. L'induction de la méiose est supposée être contrôlée par un facteur appelé MIS (Meiosis Inducing Substance), synthétisé par les cellules mésenchymateuses de l'ovaire (40).

### 1.2.2. Phase de croissance

La phase de croissance folliculaire, qui représente seulement 10 % du stock folliculaire, se situe entre la libération du follicule de la réserve folliculaire et l'ovulation. Cette phase est particulièrement longue et variable selon les espèces (38). Le développement folliculaire est un processus continu comprenant les stades du follicule primordial, primaire et secondaire, formant les follicules préantraux, ainsi que les stades tertiaire et de De Graaf, représentant les follicules antraux (Figure 9) (41). Au cours de cette phase, les follicules acquièrent également des récepteurs leur permettant de répondre à une stimulation gonadotrope, tels que les récepteurs LH pour les cellules de la thèque interne et les récepteurs FSH pour les cellules de la granulosa (42).



**Figure 9** : Schéma représentatif d'un ovaire et de l'évolution d'un follicule (40).

### 1.2.2.1. Follicule primordiale

L'ovocyte I, qui occupe une position centrale, est entouré de quelques cellules folliculaires de type endothéliforme. Son diamètre moyen est de 40  $\mu\text{m}$  (Tableau 2). Généralement, il est situé à la périphérie de l'ovaire. L'ovocyte, quant à lui, présente un diamètre compris entre 20 et 35  $\mu\text{m}$  et reste bloqué au stade diplotène de la prophase de sa première division méiotique (ovocytes primaires) (43) en raison de l'action d'un polypeptide produit par les cellules de la granulosa des follicules primaires et secondaires, connu sous le nom d'OMI (Oocyte Meiosis Inhibitor).

**Tableau 2** : Diamètre des follicules ovariens chez la vache (38).

Follicules ovariens	Follicule primordiale ( $\mu\text{m}$ )	Follicule primaire ( $\mu\text{m}$ )	Follicule secondaire ( $\mu\text{m}$ )	Follicule tertiaire (mm)	Follicule de De graaf (mm)
Diamètre	40	60-80	200-400	2-3	3-4

### 1.2.2.2. Follicule primaire

Le follicule primaire se caractérise par l'augmentation du volume de l'ovocyte et la formation d'une couche régulière de cellules cubiques à sa surface. Pendant cette période, l'ovocyte synthétise et sécrète des glycoprotéines qui donnent naissance à une enveloppe hyaline poreuse appelée zone pellucide. La zone pellucide est principalement composée de trois glycoprotéines interconnectées en longs filaments : ZP1, ZP2 et ZP3. La glycoprotéine ZP3 est reconnue par les spermatozoïdes et déclenche la réaction acrosomique. La ZP2 joue un rôle lors de la fécondation en fixant temporairement la tête du spermatozoïde pendant qu'il traverse la zone pellucide. La ZP1, quant à elle, assure la stabilité de la zone pellucide jusqu'au stade blastocyste. Le diamètre du follicule primaire est compris entre 60 et 80  $\mu\text{m}$ , tandis que celui de l'ovocyte varie entre 30 et 40  $\mu\text{m}$ . (38).

### 1.2.2.3. Follicule secondaire

Au stade du follicule secondaire, l'ovocyte a atteint sa taille maximale. Il est entouré d'une zone pellucide bien différenciée et de deux ou trois couches de cellules cubiques formant la granulosa. Ces structures sont limitées à l'extérieur par la membrane basale qui s'est transformée en membrane de Slavjanski, composée de collagène de type IV, de fibronectine, de laminine et de protéohéparane sulfate. Le diamètre du follicule secondaire se situe entre 200 et 400  $\mu\text{m}$ , tandis que celui de l'ovocyte est d'environ 60  $\mu\text{m}$ . (38).

#### 1.2.2.4. Follicule tertiaire

Le follicule tertiaire, également connu sous le nom de follicule cavitaire, se caractérise par la formation de l'antrum. À ce stade, le follicule atteint une taille de 2 à 3 mm et l'ovocyte a un diamètre compris entre 100 et 130  $\mu\text{m}$  (38). L'antrum en développement permet la séparation des cellules de la granulosa en cellules du cumulus. Ces cellules se différencient ensuite en *corona radiata*, une couche entourant directement l'ovocyte et lui envoyant des prolongements fins. Les cellules du cumulus et de la *corona radiata* jouent un rôle essentiel dans la communication entre l'ovocyte et son environnement (45). Chez tous les mammifères, le follicule tertiaire est entouré, en plus de la membrane de *Slavjanski*, d'une double enveloppe constituée de la thèque interne et externe (38).

#### 1.2.2.5. Follicule mur

Le follicule mature, également appelé follicule de De Graaf, représente la phase finale du développement folliculaire. Seulement un follicule sur 1000 qui commence à se développer atteint cette phase (46). Les jonctions étroites entre les cellules de la granulosa et la corona radiata d'une part, et entre la *corona radiata* et l'ovocyte d'autre part, permettent la maturation coordonnée du follicule et de l'ovocyte (47). Chez la vache, il faut respectivement 30 et 42 jours pour qu'un follicule de 0,13 mm atteigne une taille de 3 à 4 mm, ce qui permet son identification par échographie et indique une taille pré-ovulatoire (41). L'augmentation progressive de la taille du follicule est principalement due à la formation de l'antrum et à l'accumulation de liquide antral plutôt qu'à une multiplication cellulaire. En effet, l'activité mitotique diminue progressivement pour laisser place à une différenciation cellulaire plus importante (41).

#### 1.2.3. Phase de maturation

La phase de maturation folliculaire concerne principalement l'ovocyte. Elle englobe un ensemble de modifications cytologiques et métaboliques qui permettent à l'ovocyte d'acquérir la capacité d'être reconnu et pénétré par le spermatozoïde, de former les pronucléus paternel et maternel, et de soutenir le début du développement embryonnaire. Cette phase est induite par le pic ovulatoire et implique des modifications nucléaires, cytoplasmiques et membranaires de l'ovocyte. Les facteurs appelés MPF (Meiotic Promoting Factor) ou MIS (Meiotic Inducing Substance), qui sont influencés par l'œstradiol et l'AMPc, jouent un rôle clé dans l'activation de l'ovocyte. Ils atteignent l'ovocyte par le biais de jonctions cellulaires appelées GAP-jonctions. L'activation des récepteurs à la LH

des cellules de la granulosa, qui se produit lors de la décharge ovulatoire, permet à l'ovocyte de reprendre sa méiose et de réaliser sa maturation cytoplasmique, qui est essentielle pour assurer le succès de la fécondation (38).

La maturation cytoplasmique de l'ovocyte se caractérise par la multiplication des mitochondries, le développement d'un appareil de Golgi bien développé, et la migration des granules corticaux vers la périphérie de l'ovocyte, juste sous la membrane plasmique. Ces granules contiennent une ovopéroxydase qui empêche la pénétration de spermatozoïdes supplémentaires lors de la fécondation, prévenant ainsi la polyspermie. Le cytoplasme de l'ovocyte est également le site de synthèse protéique importante, préparant l'ovocyte à une éventuelle fécondation et contribuant au développement précoce de l'embryon.

## **2. Dynamique de la croissance folliculaire**

Chez la vache, l'utilisation de l'échographie pour analyser la dynamique des follicules a fourni des informations précieuses sur ce processus (38). Il a été démontré que les follicules continuent de croître de manière continue tout au long du cycle sexuel, suivant un schéma de vagues successives.

### **2.1. Notion de vague de croissance folliculaire**

L'avènement de l'échographie (48-49) a permis de décrire de manière plus précise la cinétique de la croissance folliculaire et de confirmer la théorie des vagues folliculaires. Environ tous les 7 à 9 jours, une vague de croissance folliculaire commence avec l'émergence de plusieurs follicules d'un diamètre supérieur ou égal à 4 mm. Parmi ces follicules, un follicule dominant émergera après quelques jours (50).

Chez la vache, il est courant d'observer 2 à 3 vagues de croissance folliculaire au cours d'un cycle œstral. Le follicule ovulatoire provient généralement de la dernière vague folliculaire (49). Dans un cycle à 3 vagues, ces vagues commencent généralement aux jours 2, 9 et 16 du cycle œstral. Dans un cycle à 2 vagues, les vagues folliculaires apparaissent aux jours 2 et 11 du cycle œstral (49).

#### **2.1.1. Recrutement**

Le recrutement est le processus par lequel un certain nombre de follicules émergent de la réserve ovarienne de follicules antraux de 2 à 4 mm de diamètre et commencent à se développer très tôt pendant le cycle œstral (51). Ce processus est provoqué par une augmentation transitoire des taux de FSH (52).

### **2.1.2. Sélection**

La sélection est le processus par lequel un nombre caractéristique de follicules parmi ceux qui ont été recrutés parvient au stade pré-ovulatoire. L'atrésie, ou dégénérescence folliculaire, joue un rôle essentiel dans ce processus de sélection (53). La sélection du follicule dominant se produit environ 36 à 48 heures après le début du recrutement (54) et elle est associée à l'expression des récepteurs de LH. Le follicule sélectionné devient dominant car il est capable de répondre aux gonadotrophines (55).

### **2.1.3. Dominance**

La dominance folliculaire est à la fois morphologique et fonctionnelle. Elle est qualifiée de morphologique car elle est exercée par le follicule le plus gros présent sur l'un des deux ovaires, et de fonctionnelle car le follicule dominant est le seul capable de provoquer la régression des autres follicules en croissance, d'inhiber la croissance d'autres follicules et de subir l'ovulation dans un environnement hormonal approprié (56). C'est lors de la dernière vague folliculaire du cycle œstral que le follicule dominant poursuit sa croissance en réponse aux facteurs hormonaux responsables de l'ovulation et peut finalement ovuler (57).

### **2.1.4. Ovulation**

L'ovulation se produit généralement environ 30 heures après le pic de LH et se caractérise par des changements morphologiques, cytologiques et vasculaires importants. On observe un œdème au niveau de la thèque externe, le détachement des cellules de granulosa, ainsi que la sécrétion d'enzymes protéolytiques et d'acide hyaluronique par les cellules du *cumulus oophorus*. Tout cela conduit à la rupture du follicule et à l'expulsion de l'ovocyte (53, 58).

### **2.1.5. Atrésie folliculaire**

L'atrésie folliculaire se produit tout au long de la folliculogénèse et concerne plus de 99 % des follicules présents dans l'ovaire, jouant ainsi un rôle important dans la régulation du taux d'ovulation (59, 38). L'atrésie est régulée par un mécanisme de mort cellulaire programmée appelé apoptose. Dans les stades antraux, l'atrésie est souvent induite par une réduction de la FSH, qui est causée par les sécrétions d'œstradiol et d'inhibine par le follicule dominant. Au niveau cytologique, elle est identifiable chez les follicules primaires, secondaires et tertiaires par la présence de pycnose (condensation de la chromatine) (60) ou d'apoptose (corps apoptotiques) dans les cellules de la granulosa (61). Des processus dégénératifs tels que l'opacification peuvent également être observés dans l'ovocyte (61).

Sur le plan biochimique, cela s'accompagne d'une augmentation des concentrations d'enzymes lysosomiales et de glycosaminoglycanes, ainsi que d'une diminution des concentrations d'œstradiol. La granulosa se dissipe progressivement et le cumulus se désintègre, laissant l'ovocyte dégénéré comme la dernière cellule identifiable (59).

## **2. Régulation hormonale de l'ovaire**

Pendant le cycle œstral de la vache, plusieurs phases se caractérisent par des changements hormonaux et des modifications dans les structures reproductrices. Les principaux acteurs hormonaux impliqués dans le cycle œstral de la vache sont la LH (hormone lutéinisante), la FSH (hormone folliculo-stimulante), l'œstradiol, la progestérone et les androgènes (62).

L'hypothalamus synthétise et libère l'hormone GnRH (gonadotropin-releasing hormone), qui agit sur l'antéhypophyse. À son tour, l'antéhypophyse produit et libère la FSH et la LH.

La FSH joue un rôle dans le recrutement et le début de la croissance folliculaire. Elle stimule également la production d'œstradiol, une forme d'œstrogène (4).

La LH est responsable de la maturation folliculaire, de l'ovulation et de la formation du corps jaune. Le corps jaune produit de la progestérone, qui inhibe la synthèse de la GnRH par rétrocontrôle négatif, réduisant ainsi la libération de LH. Cela empêche l'ovulation de se produire. En fin de compte, si la gestation ne survient pas, les prostaglandines libérées par l'utérus entraînent la lyse du corps jaune (4).

### **2.1. Mécanisme hormonale**

La FSH stimule la conversion des androgènes en œstrogènes par le processus d'aromatisation et favorise l'expression des récepteurs à la LH par les cellules de la granulosa (4).

Les œstrogènes sécrétés par les follicules, en synergie avec la FSH, stimulent la croissance et le développement de la cavité antrale. Cela entraîne une augmentation continue du taux d'œstradiol, qui établit un rétrocontrôle positif sur l'hypothalamus (4).

La LH, en collaboration avec la FSH, stimule la production d'œstradiol et d'inhibine par les grands follicules (4).

Un taux élevé et constant d'œstradiol et d'inhibine conduit à une diminution de la FSH, qui est responsable de la sécrétion du follicule dominant. Ce follicule dominant devient dépendant de la LH. Il continue de croître en raison de sa propre sensibilité accrue à la LH

et à la FSH, ainsi que de la production de facteurs locaux tels que des facteurs similaires à l'insuline (4).

Si la libération de FSH est réduite, cela entraîne un déficit de croissance folliculaire, une déficience dans l'aromatase conduisant à une carence en œstrogènes et une accumulation d'androgènes. Dans l'ensemble, cela conduit à l'atrésie folliculaire (4).

La LH poursuit son action en favorisant la maturation du follicule dominant et la réalisation de l'ovulation. Ensuite, elle permet la transformation de la thèque interne et de la granulosa en corps jaune. Le corps jaune est composé de petites cellules et de grandes cellules. Les deux types cellulaires produisent de la progestérone au début de la phase lutéale. Ensuite, les grandes cellules se tournent vers la production de récepteurs à l'ocytocine au niveau de l'utérus. L'ocytocine produite se lie à ces récepteurs et entraîne la synthèse de prostaglandines, ce qui entraîne la lyse du corps jaune vers le 17<sup>e</sup> jour du cycle. La PGF2 $\alpha$  entraîne l'arrêt de la fonction du corps jaune, mais il persiste jusqu'au cycle suivant sous forme d'un corpus albicans (4).

La concentration de progestérone diminue, ce qui entraîne la levée du rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et une nouvelle libération d'hormones gonadotropes, permettant une nouvelle croissance folliculaire.

La production d'androgènes, principalement de la testostérone, est réalisée par les cellules interstitielles également appelées les cellules de la thèque dans les ovaires (63).

## 2.2. Physiologie des androgènes au cours du cycle oestral

Au cours du cycle œstral, les taux des androgènes varient en fonction de la phase du cycle :

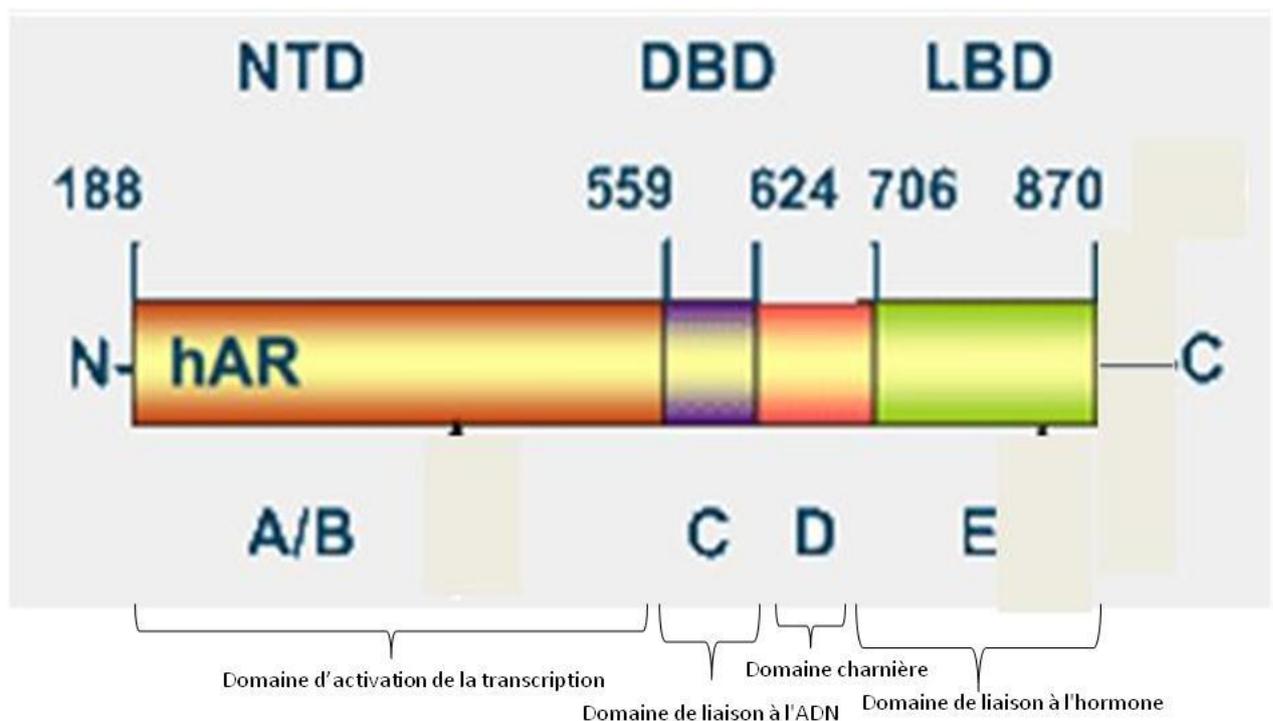
- **Proestrus** : Au début du pro-œstrus, les niveaux d'androgènes sont relativement bas. Cependant, les cellules de la thèque ovarienne produisent des androgènes, principalement la testostérone, en réponse à la stimulation par l'hormone lutéinisante (LH) émise par l'hypophyse (64). Ces androgènes contribuent à la maturation du follicule ovarien.
- **Œstrus** : Pendant l'œstrus (période de chaleur), les niveaux d'androgènes continuent d'augmenter. La testostérone stimule la libération de LH par l'hypophyse, ce qui déclenche l'ovulation. Les androgènes contribuent également à l'expression des comportements sexuels caractéristiques de l'œstrus.
- **Métoestrus** : Après l'ovulation, les niveaux d'androgènes diminuent rapidement. La formation du corps jaune dans l'ovaire stimule la production d'œstrogènes plutôt que d'androgènes (64).

- **Dioestrus** : Pendant le dioestrus, les niveaux d'androgènes restent relativement bas. Le corps jaune produit principalement de la progestérone, qui est essentielle pour soutenir la phase lutéale du cycle œstral.

Les androgènes agissent au niveau de leurs cellules cibles après à leurs récepteurs spécifique, récepteurs aux androgènes.

### 2.2.1. Structure des récepteurs d'androgènes

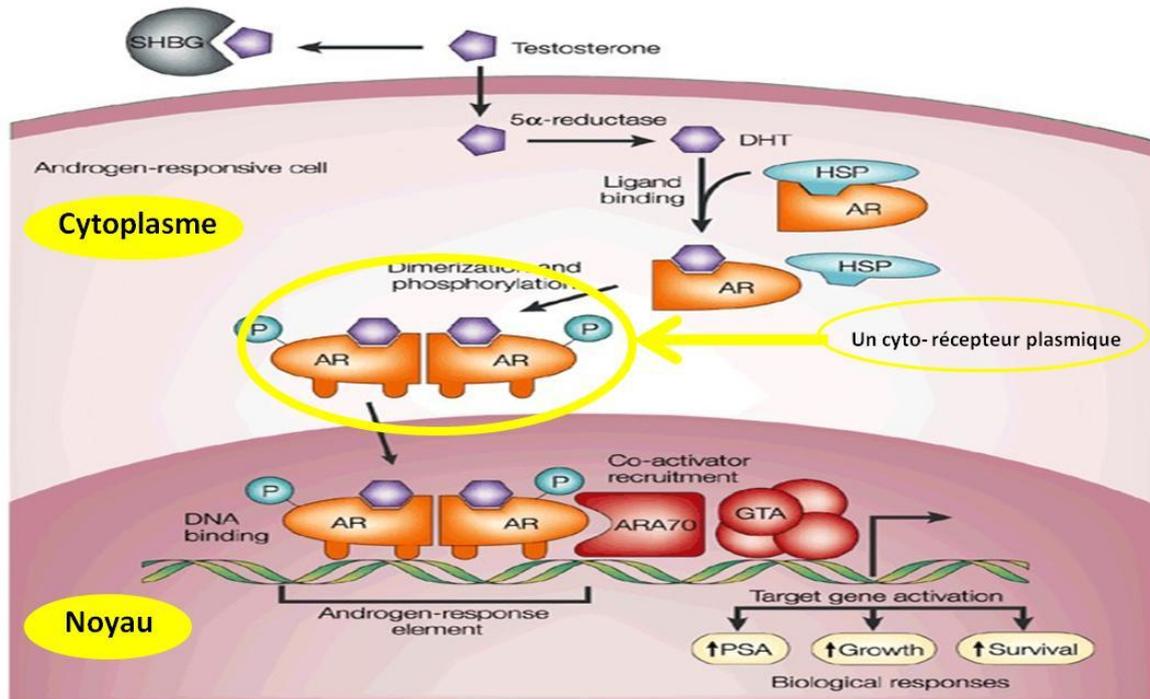
Les récepteurs d'androgènes sont des protéines localisés à l'intérieur des cellules et se lient aux androgènes. Les récepteurs d'androgènes sont constitués de quatre domaines fonctionnels : un domaine de liaison à l'ADN (Figure 10 : C), un domaine de liaison à l'hormone (Figure 10 : E), un domaine charnière (Figure 10 : D) et un domaine d'activation de la transcription (Figure 10 : A/B). Lorsque les androgènes se lient à leurs récepteurs spécifiques, ils modifient leur structure, ce qui leur permet de se lier à l'ADN et de réguler l'expression des gènes (65) comme les gènes impliqués dans la différenciation sexuelle, le développement des organes reproducteurs, la croissance musculaire, la production de sperme, et d'autres fonctions liées aux hormones sexuelles masculines.



**Figure 10:** Schéma représentatif de la structure des récepteurs d'androgènes (65).

### 2.2.2. Localisation des récepteurs d'androgènes :

Les récepteurs d'androgènes se trouvent dans le cytoplasme, et l'action des androgènes implique l'activation d'un cyto- récepteur plasmique qui migre dans le noyau pour réguler l'expression de gènes spécifiques, positivement ou négativement.



**Figure 11** : Schéma représentatif de localisation cellulaire des récepteurs d'androgènes(66).

### 2.2.3. Rôles des récepteurs d'androgènes

Les récepteurs aux androgènes permettent au corps de répondre de manière appropriée à ces hormones. Les récepteurs sont présents dans de nombreux tissus du corps, où ils se lient aux androgènes. Le complexe androgène-récepteur se lie ensuite à l'ADN et régule l'activité des gènes sensibles aux androgènes (67).

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

# **MATERIEL ET METHODES**

## Model animal

Trois tractus génitaux de vache, âgées de 3 à 10 ans, récoltées au niveau de l'abattoir de l'Eucalyptus ont été utilisés dans notre travail. Un examen général a été réalisé sur chaque animal avant son abattage afin de déterminer l'âge en se basant sur la dentition et l'état général. Après abattage, chaque tractus génital prélevé est placé dans un sac en plastique et identifié par un numéro d'ordre. Ensuite, les prélèvements sont transportés au laboratoire de LBRA.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de LBRA de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université Saad Dahleb, Blida1 durant la période du 02 Mai au 15 Juin.

### Systematique des bovins

- Prélèvement : Tractus génital
- Animal : Vache « *Bos taurus* »
- Age : 3 - 10 ans
- Lieu : Abattoir de l'Eucalyptus



**Figure 12:** Vache « *Bos taurus* ».

## 1. Méthodes utilisées

La méthode utilisée dans notre travail est l'immunohistochimie pour localiser les récepteurs aux androgènes au niveau des ovaires.

### 1.1. Protocole d'immunohistochimie

Le protocole d'immunohistochimie est divisé en deux étapes :

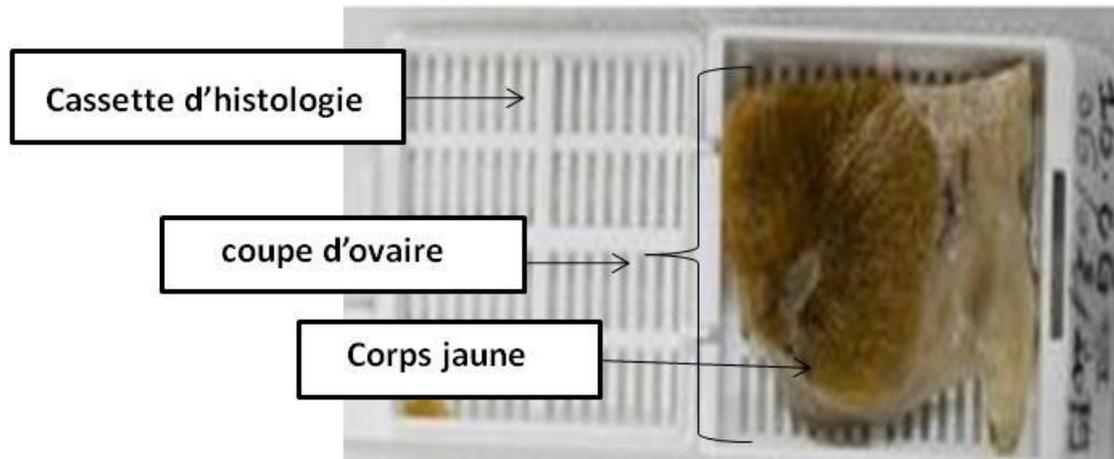
- **Première étape** : Préparation des ovaires par la technique d'histologie.
- **Deuxième étape** : immunohistochimie proprement dite.

### 1.2. Etapes de la technique d'histologie

#### 1.2.1. Fixation

Après examen macroscopique, les ovaires prélevés sont fixés dans une solution de formol dilué à 10% dans le PBS. Après 48 heures, on a réalisé une coupe transversale de l'ovaire avec une épaisseur de 3 mm. Cette dernière est placée dans des cassettes d'histologie en plastique portant les références d'identification de l'animal (Figure 11).

Cette fixation a pour but la conservation des structures tissulaires du prélèvement dans un état aussi proche que possible du vivant.



**Figure 13** : Prélèvement ovarien dans une cassette d'histologie.

### 1.1.2. Inclusion

#### 1.1.2.1. Déshydratation et substitution (éclaircissement)

Les prélèvements doivent être entièrement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. On procède à une double substitution car la paraffine n'est pas miscible dans l'alcool ; pour cela on remplace :

- L'eau par de l'alcool (déshydratation).
- L'alcool par le xylène (substitution).

Cette étape consiste à faire passer les cassettes renfermant les prélèvements dans des bains alcools à concentration croissante (allant de 70° à 100°) puis dans un solvant organique, le xylène. La durée dans chaque bain est la suivante :

- |                                     |                                  |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| 1. Bain n° 1 (Alcool 96°): 30 min.  | 6. Bain n°6 (Alcool 100°) : 1h.  |
| 2. Bain n° 2 (Alcool 96°) : 30 min. | 7. Bain n° 7 (Alcool 100°) : 1h. |
| 3. Bain n°3(Alcool 96°) : 30 min.   | 8. Bain n° 1 (Xylène) : 1h.      |
| 4. Bain n° 4 (Alcool 96°) : 30 min. | 9. Bain n° 2 (Xylène) : 1h.      |
| 5. Bain n° 5 (Alcool 96°) : 30 min. | 10. Bain n° 3 (Xylène) : 1h.     |

Les prélèvements déshydratés sont alors immergés dans différents bains de paraffine chauffée à 56° et placés dans une étuve. Cette température dépassant juste son point de fusion de la paraffine. La durée dans chaque bain de paraffine est la suivante :

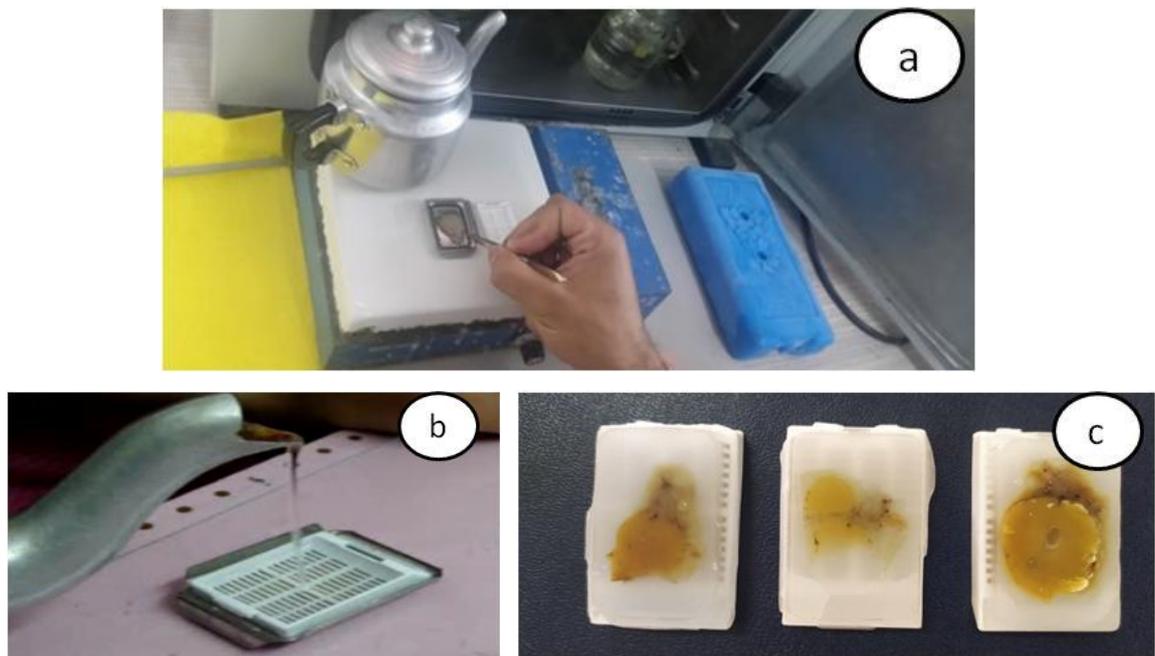
- Bain de paraffine n°1: 30 min.
- Bain de paraffine n° 2 : 30 min.

- Bain de paraffine n°3 : 1h.

### 1.1.2.2. Confection des blocs de paraffine

Avant de commencer cette étape, le matériel utilisé être placé dans une étuve à 56°. Les étapes de confection sont les suivantes (Figure 12) :

- Le prélèvement est centré au fond du moule métallique (Figure 12a).
- Après immobilisation du prélèvement la paraffine liquide est ajoutée dans le moule métallique (Figure 12b) après avoir couvrir l'ensemble par la cassette correspondante.
- Après refroidissement, sur plaque réfrigérée et solidification de la paraffine, le bloc de prélèvement est séparé du moule métallique (Figure 12c).



**Figure 14** : Mise en place centrée du prélèvement ovarien dans le moule métallique (a) ; Remplissage du moule métallique par la paraffine liquide(b) ; Blocs de paraffine (c) (photo personnelle).

### 1.1.2.3. Réalisation et étalement des coupes

Les coupes tissulaires d'une épaisseur de 5  $\mu\text{m}$  ont été effectuées à l'aide d'un microtome (Figure 13a).

Le ruban de paraffine contenant le prélèvement coupé est déposé dans un bain marie contenant de l'eau distillée préchauffée à 42°C pour enlever les plis ; puis à l'aide d'un scalpel, on a sélectionné les meilleures coupes flottantes. Ce dernier est récupéré sur une lame porte objet silanisée (Figure 13b). L'adhésion de la coupe de paraffine est réalisée sur une plaque chauffante (42°C). Après avoir couper l'ensemble des blocs de paraffine, les lames (Figure 13c) sont placées dans une étuve pendant 2 heures à 60°C pour permettre le séchage et une bonne adhésion des coupes.

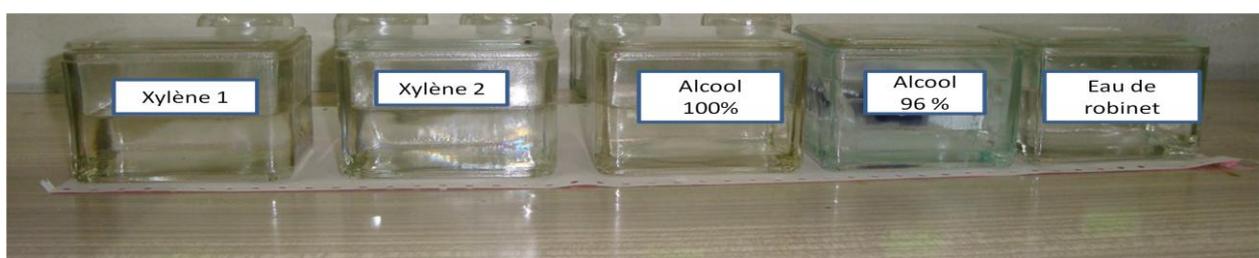


**Figure 15 :** Microtome avec bloc paraffine (a) ; une lame silanisée (b) ; lame blanche (c) (photo personnel).

Avant de commencer la technique d'immunohistochimie, les coupes de paraffine doivent être déparaffinées et hydratées comme suit :

- **Déparaffinage**

Le déparaffinage est effectué par passage des lames dans deux bains de xylène pendant 10 min. pour enlever la paraffine et poursuivre le reste des étapes d'immunohistochimie (Figure 14).



**Figure 16 :** Batterie de déparaffinage et hydratation.

- **Hydratation**

L'hydratation des coupes a consisté à faire passer les lames dans des bains d'alcools à concentration décroissante (100 et 96°) pour une durée de 5 minutes par bain. Le dernier bain d'hydratation est réalisé dans l'eau distillée jusqu'à disparition du trouble (Figure 14).

### Etapes d'immunohistochimie

Les coupes hydratées dans le PBS subissent les étapes suivantes:

- **Démasquage des sites antigéniques** avec une solution tampon citratée (pH = 6) par la chaleur en utilisant un bain marie.
- **Blocage des peroxydases endogènes** par une solution de peroxyde dihydrogène ( $H_2O_2$ ) à 3% dilue dans le PBS.
- Rinçage au PBS (2 fois pendant 5 min.).
- Les coupes sont entourées avec une résine hydrophobe (Dako-pen) (Figure 15a et 15b) et placées dans une chambre humide (Figure 15c) sur un agitateur va et vient.



**Figure 17:** Dako-pen (a) ; entourage de lame (b) ; chambre humide (c) (photo personnelle).

- **Blocage des sites non spécifiques** avec du sérum de cheval (réactif jaune du kit Vectastain) pendant 30 min. à température ambiante.
- On enlève l'excès du sérum de blocage par égouttage sur du papier absorbant.

- Incubation des coupes pendant une nuit à 4°C avec un **anticorps primaire anti-récepteurs aux androgènes** polyclonal (AR N-20 : sc – 816, Santa Cruz) (Figure 16), produit chez le lapin, dilué au 1/200. Sur certaines coupes qui vont servir de contrôles négatifs, l'anticorps primaire est remplacé par le sérum de cheval.



#### APPLICATIONS

AR (N-20) is recommended for detection of AR of mouse, rat and human origin by Western Blotting (starting dilution 1:200, dilution range 1:100-1:1000), immunoprecipitation [1-2 µg per 100-500 µg of total protein (1 ml of cell lysate)], immunofluorescence (starting dilution 1:50, dilution range 1:50-1:500), immunohistochemistry (including paraffin-embedded sections) (starting dilution 1:50, dilution range 1:50-1:500) and solid phase ELISA (starting dilution 1:30, dilution range 1:30-1:3000).

AR (N-20) is also recommended for detection of AR in additional species, including equine, canine, bovine and porcine.

Suitable for use as control antibody for AR siRNA (h): sc-29204, AR siRNA (m): sc-29203, AR shRNA Plasmid (h): sc-29204-SH, AR shRNA Plasmid (m): sc-29203-SH, AR shRNA (h) Lentiviral Particles: sc-29204-V and AR shRNA (m) Lentiviral Particles: sc-29203-V.

AR (N-20) X TransCruz antibody is recommended for Gel Supershift and ChIP applications.

Molecular Weight of AR: 110 kDa.

Positive Controls: T-47D cell lysate: sc-2293 or ZR-75-1 cell lysate: sc-2241.

**Figure 18** : Fiche technique d'un anticorps primaire anti-récepteurs aux androgènes

- Rinçage PBS (x2).
- Application d'un **anticorps secondaire anti-lapin biotinylé** (réactif bleu du kit Vectastain), produit chez le cheval, pendant 30 min à température ambiante.
- Rinçage PBS (x2).
- Application du **complexe Streptavidine-Peroxydase** (Réactifs gris du kit Vectastain) pendant 30 min à température ambiante.
- Rinçage PBS (x2).
- **Le chromogène** utilisé (DAB) est déposé sur les différentes coupes et le contrôle de l'immunomarquage est réalisé sous microscope photonique.
- Rinçage à l'eau distillée.
- Contre coloration à l'hématoxyline.

- Rinçage à l'eau du robinet (c'est le pH alcalin de l'eau du robinet qui fait bleuir l'hématoxyline).

#### 1.1.2.4. Montage des lames

Le montage entre lame et lamelle de la coupe histologique a été réalisé en utilisant le liquide de montage « Eukitt» (Figure 17).



**Figure 19 :** Montage des lames avec le liquide de montage « Eukitt»

#### 1.1.2.5. Observation au microscope photonique

Après séchage des lames à l'air libre, les lames sont observées au microscope photonique et des photos ont été prises à l'aide d'un appareil photo (Figure 18).

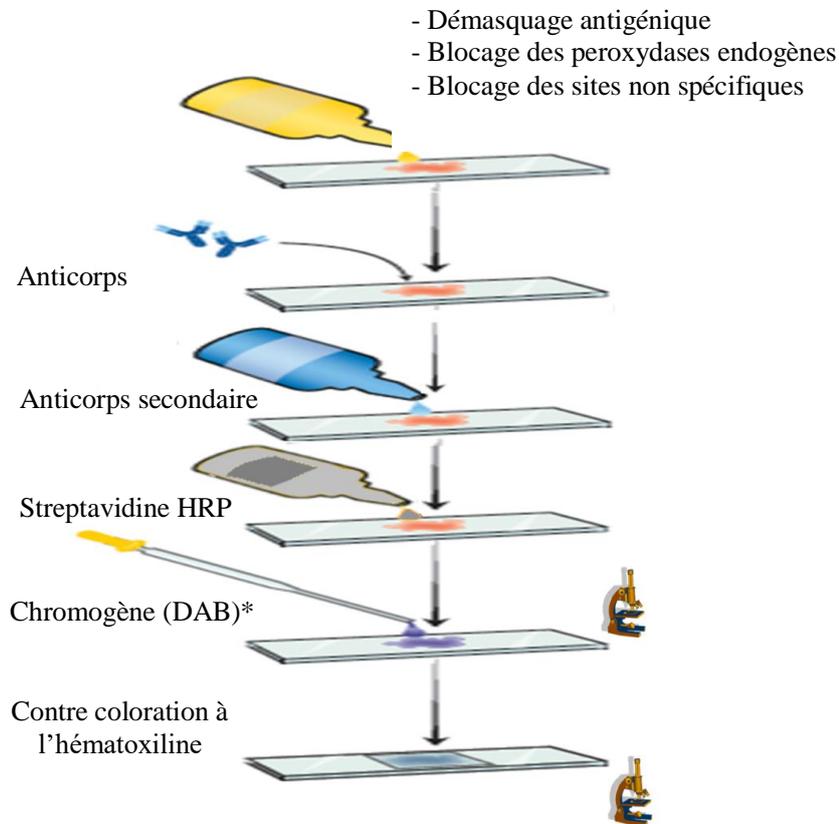


**Figure 20 :** Observation au microscope photonique (photo personnel).

#### Validité de la technique d'immunohistochimie

L'anticorps utilisé est validé par les contrôles négatifs insérés au cours du protocole d'immunohistochimie pour confirmer l'immunomarquage observé sur les prélèvements.

Les différentes étapes de la technique d'immunohistochimie sont présentées dans la figure 19.



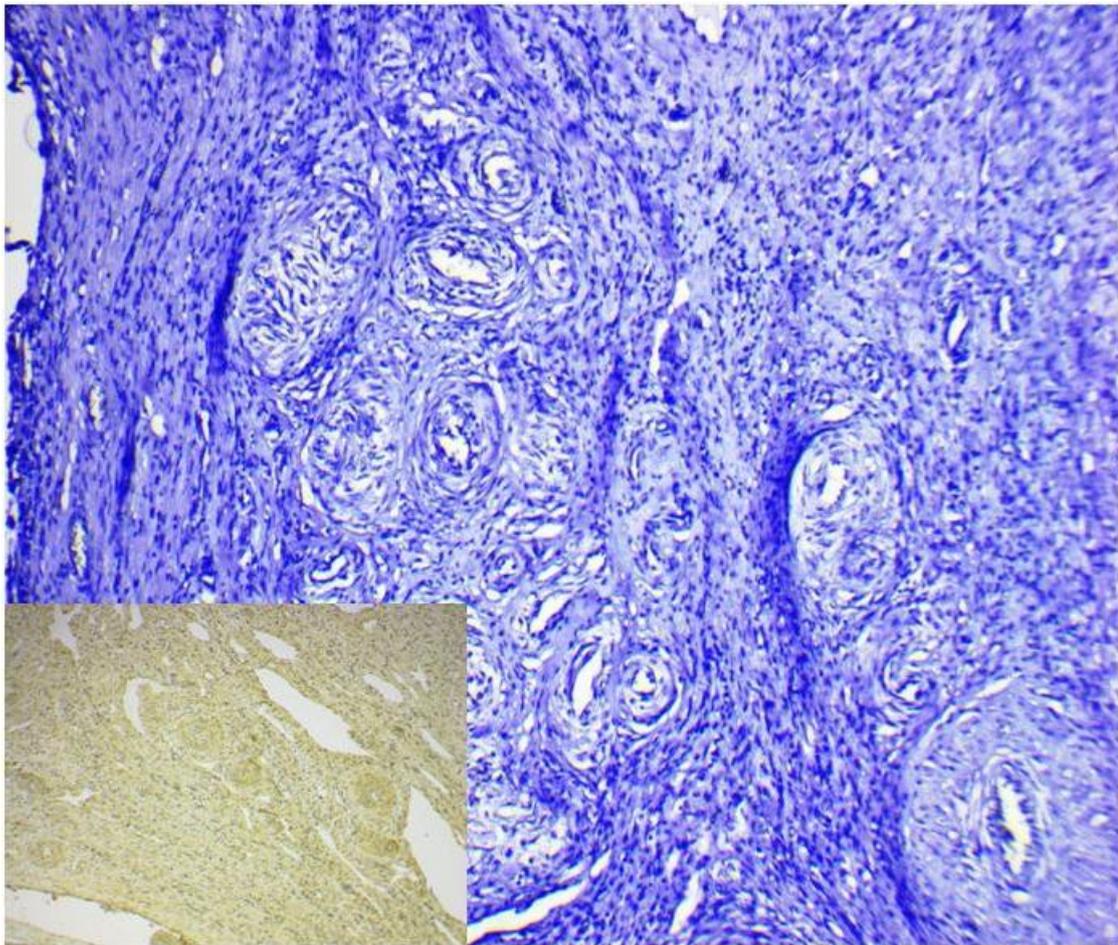
\* Surveiller l'intensité du marquage des tissus au

**Figure 21** : Etapes de la technique d'immunohistochimie.

# **RESULTATS**

## 1. Structures ovariens

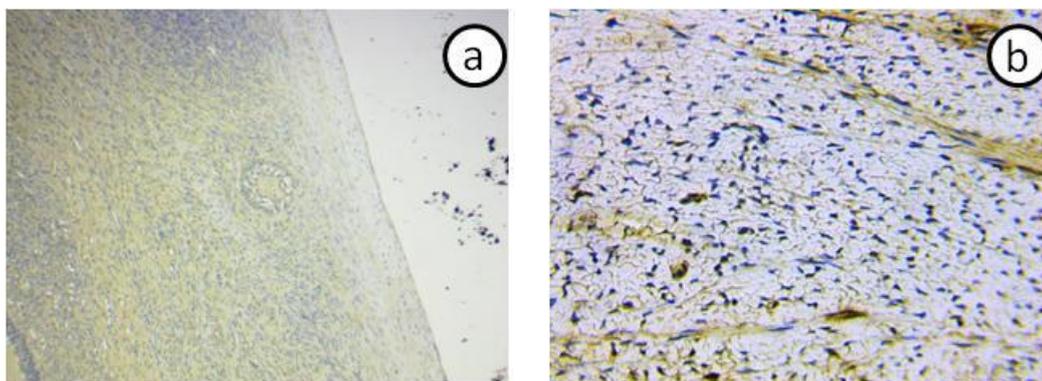
Les résultats de l'immunomarquage des récepteurs aux androgènes (RA) sont validés par le contrôle négatif (Figure 22 en insert) où il n'y a aucune expression des RA.



**Figure 22:** Immunolocalisation des AR au stroma ovarien. x100. En insère un contrôle négatif.

L'immunolocalisation des RA a été trouvée dans le cytoplasme de tous les compartiments cellulaires des structures ovariennes : les cellules folliculaires (Figure 23-30), les ovocytes et des corps jaunes.

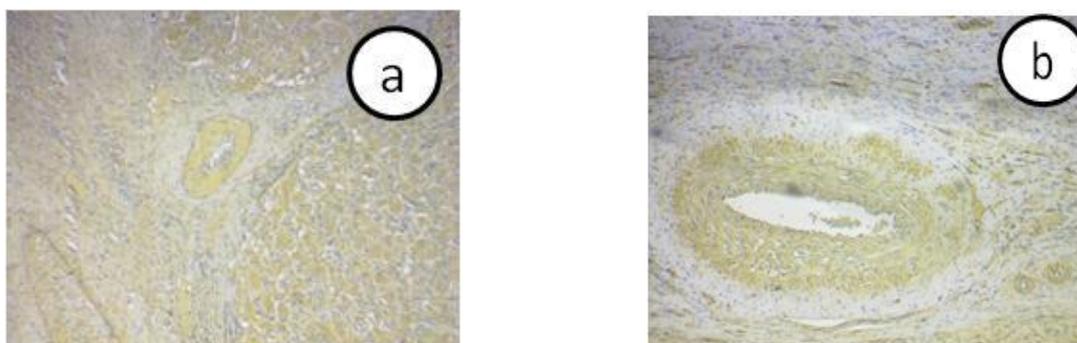
Dans le cortex ovarien, ces RA sont localisées dans les noyaux des cellules folliculaires et stromales (Figure 23) tandis que les cellules stromales entourant les follicules présentaient une faible coloration nucléaire pour AR.



**Figure 23** : Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau du stroma.

a: x100 ; b : x400.

L'immunoexpression des RA est également présente dans le cytoplasme de l'endothélium des vaisseaux sanguins du stroma ovarien (Figure 24).



**Figure 24** : Immunolocalisation des RA au niveau des vaisseaux sanguins a : x100 ;

b : x400.

Une intensité élevée des RA a été observée dans les ovocytes et dans le corps jaune. La positivité pour AR a été trouvée dans les cellules du noyau interstitiel et la coloration la plus forte a été observée dans les cellules de la thèque (Figures 25-27).

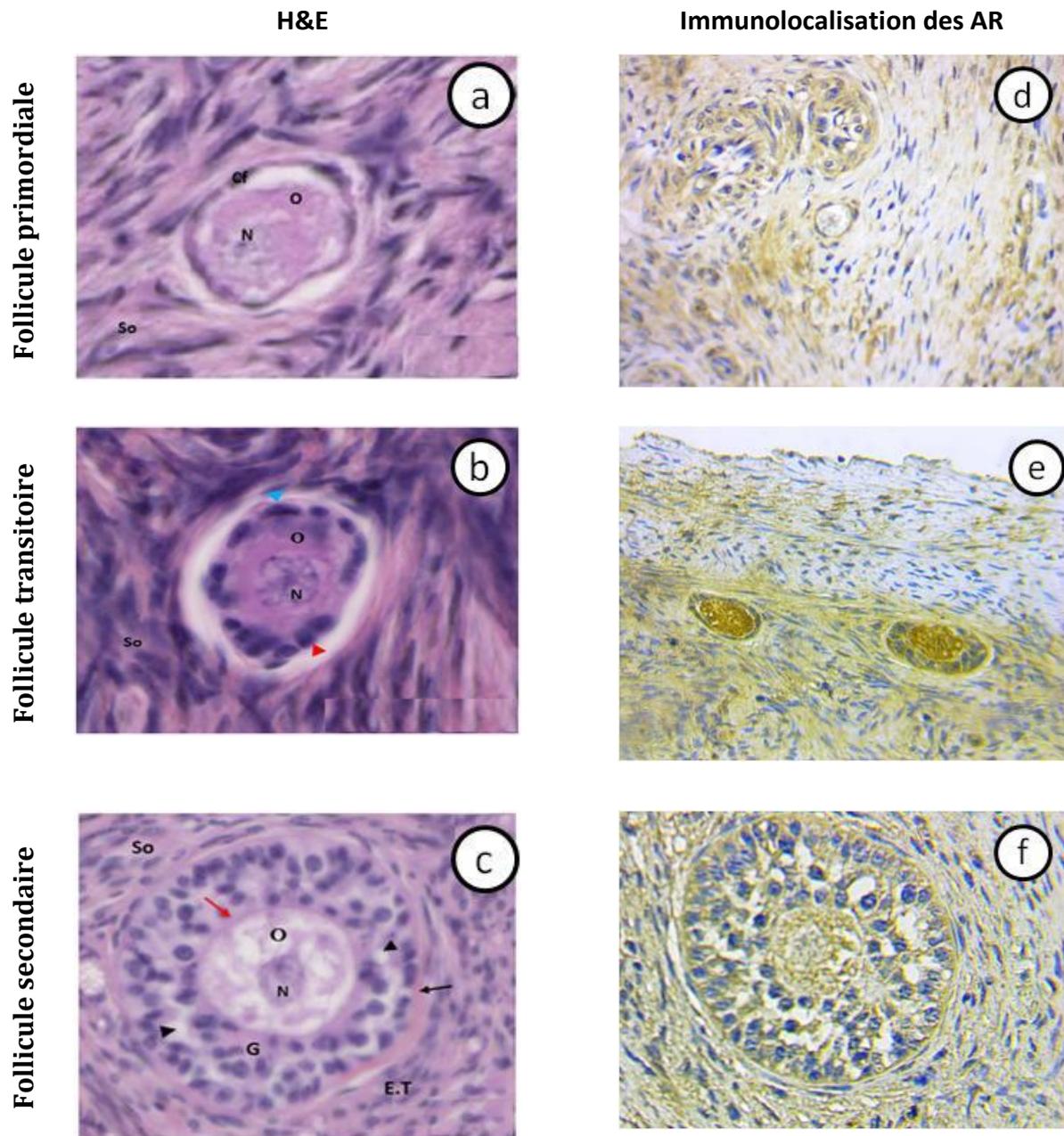
## 2. Follicules ovariens en développement

### 2.1. Follicule pré-antraux

Après coloration histologique standard, les coupes montrent des différents stades de follicules ovariens (Figures 25-27) observés au niveau du cortex des ovaires au microscope photonique.

L'immunolocalisation des RA a été observée dans les noyaux de tous les compartiments cellulaires des ovaires (Figures 25-27).

Une intensité de marquage très élevée est observée dans les cellules du stroma, tandis que dans les follicules pré-antraux montrent une faible intensité de marquage (Figure 25).



So : Stroma ovarien ; O : Ovocyte ; N : Noyau ; ▶ : Cellule folliculaire aplatie ; ▶ : cellule folliculaire cubique. G: Granulosa ; E.T: ébauche de thèque ; Ab: Albuginée ; E: Epithélium de surface de l'ovaire, ↗ : Corona radiata .

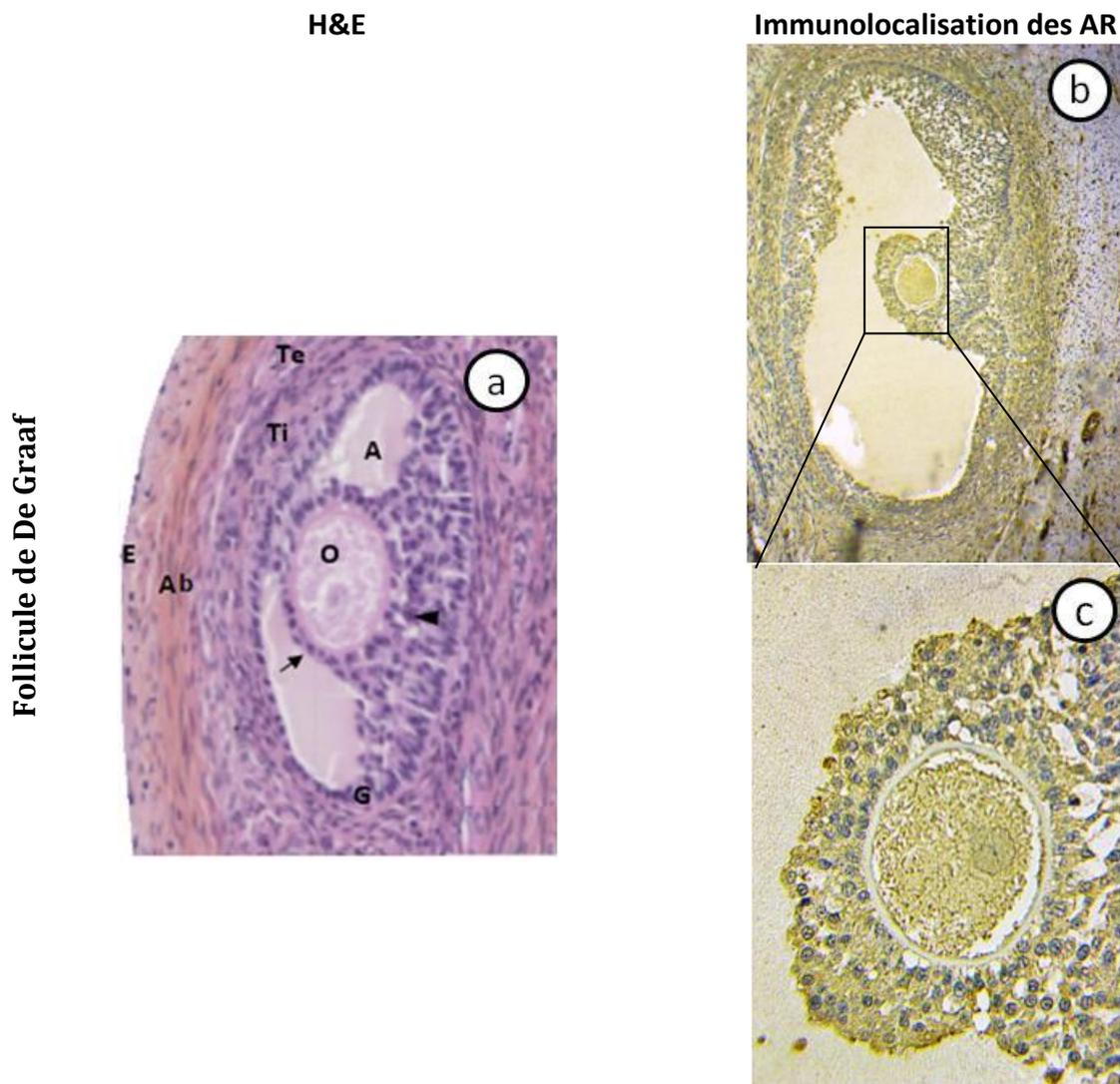
**Figure 25** : Histologies et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes des follicules ovariens préantraux. a, b, c : coloration H&E ; d, e, f : DAB. G x100.

Les résultats obtenus dans notre travail montrent que l'immunolocalisation des RA la plus faible a été observée dans les follicules immatures (primordiaux et secondaires) (Figure 25 d, f).

Les cellules de la granulosa et les cellules thécales des follicules secondaires (Figure 25 : f) présentaient une faible coloration nucléaire pour les AR.

## 2.2. Follicules antraux

Dans les cellules de la granulosa murale et du cumulus oophorus, ainsi que certaines cellules thécales des follicules antraux montrent un immunomarquage des RA (Figure 26).



**Figure 26:** Histologies et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes des follicules ovariens antraux. a : coloration H&E ; b : DAB. G x100 ; c : DAB x400.

Au niveau des follicules pré ovulatoires, des RA sont observés dans les cellules de la granulosa et des ovocytes (Figure 26 : c).

Dans les follicules dominants justes avant l'ovulation et après le pic de LH (Figure 26 : b). Les cellules de la granulosa présentaient une coloration nucléaire modérée pour AR. Les cellules thécales présentaient une coloration nucléaire modérée à forte pour AR, plus forts que celle des cellules de la granulosa (Figure 26 : c).

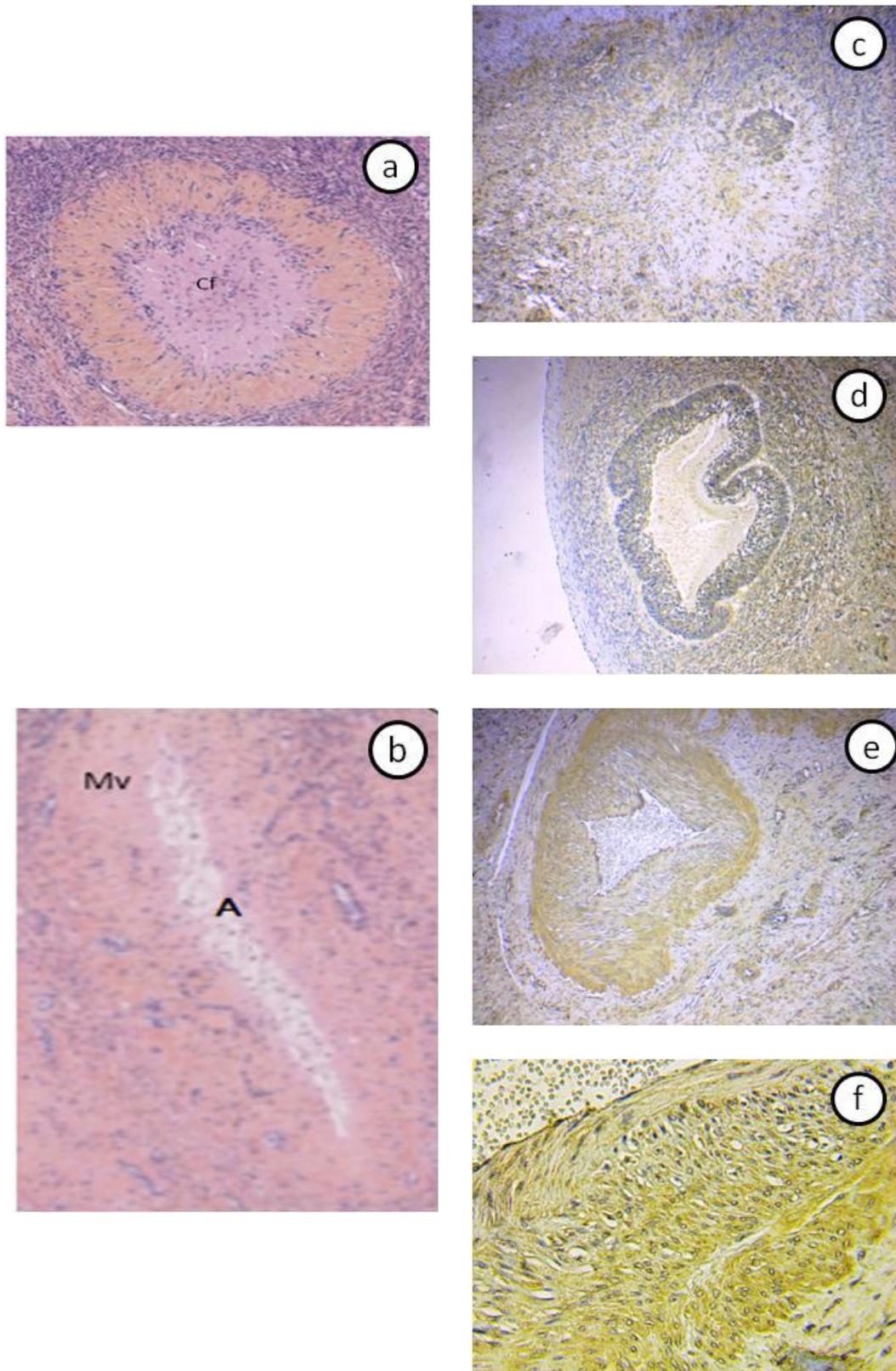
L'immunomarquage est positif dans les cellules de la thèque externe chez la vache (Figure 26).

### **2.3. Follicule atrétique**

Les cellules thécales des follicules atrétiques présentent une coloration nucléaire modérée pour RA, un peu plus forte que celle observée dans les follicules antraux non atrétiques (Figure 27).

**H&E**

**Immunolocalisation des AR**

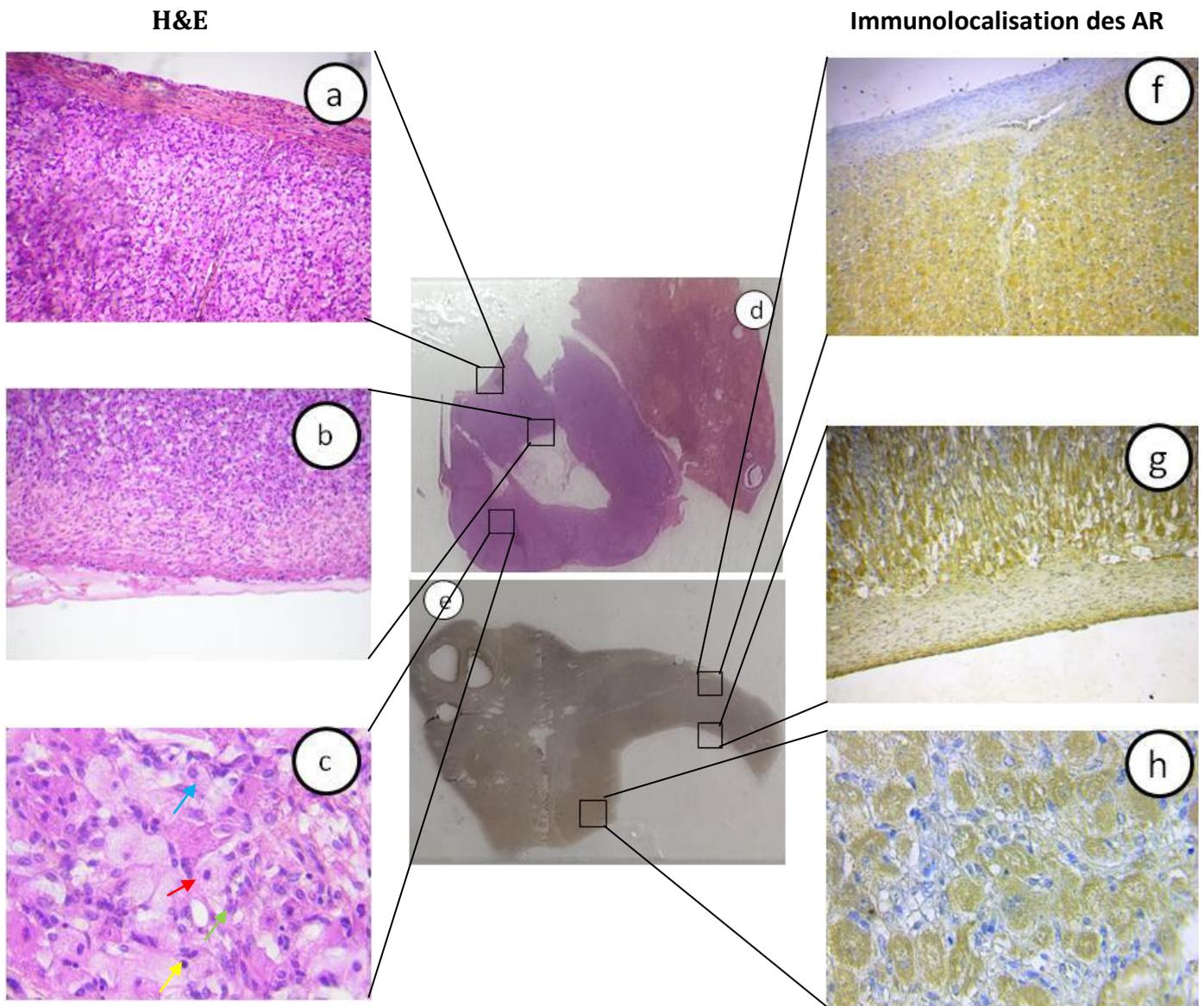


Mv : membrane vitrée ; A : cavité folliculaire ; Cf : Corpus fibrosum.

**Figure 27:** Histologies et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes des follicules ovariens atrétiques.(a, b) : coloration H&E, DAB : (c, d, e) G x100 et (f) G x400.

### 3. Corps jaune

L'examen des ovaires aux deux stades de contrôle du cycle a révélé une intensité de coloration différente dans chaque type de corps jaune cavitaire (Figure 28) ou massif (Figure 29).



Cv : Cavité ; CL : Cellules lutéales ; TE : Thèque externe ; ↗ : septa de tissus conjonctif ; ↘ : grande cellule lutéale ; ↙ : petite cellule lutéale ; ↗ : fibroblaste ; ↘ : lymphocyte.

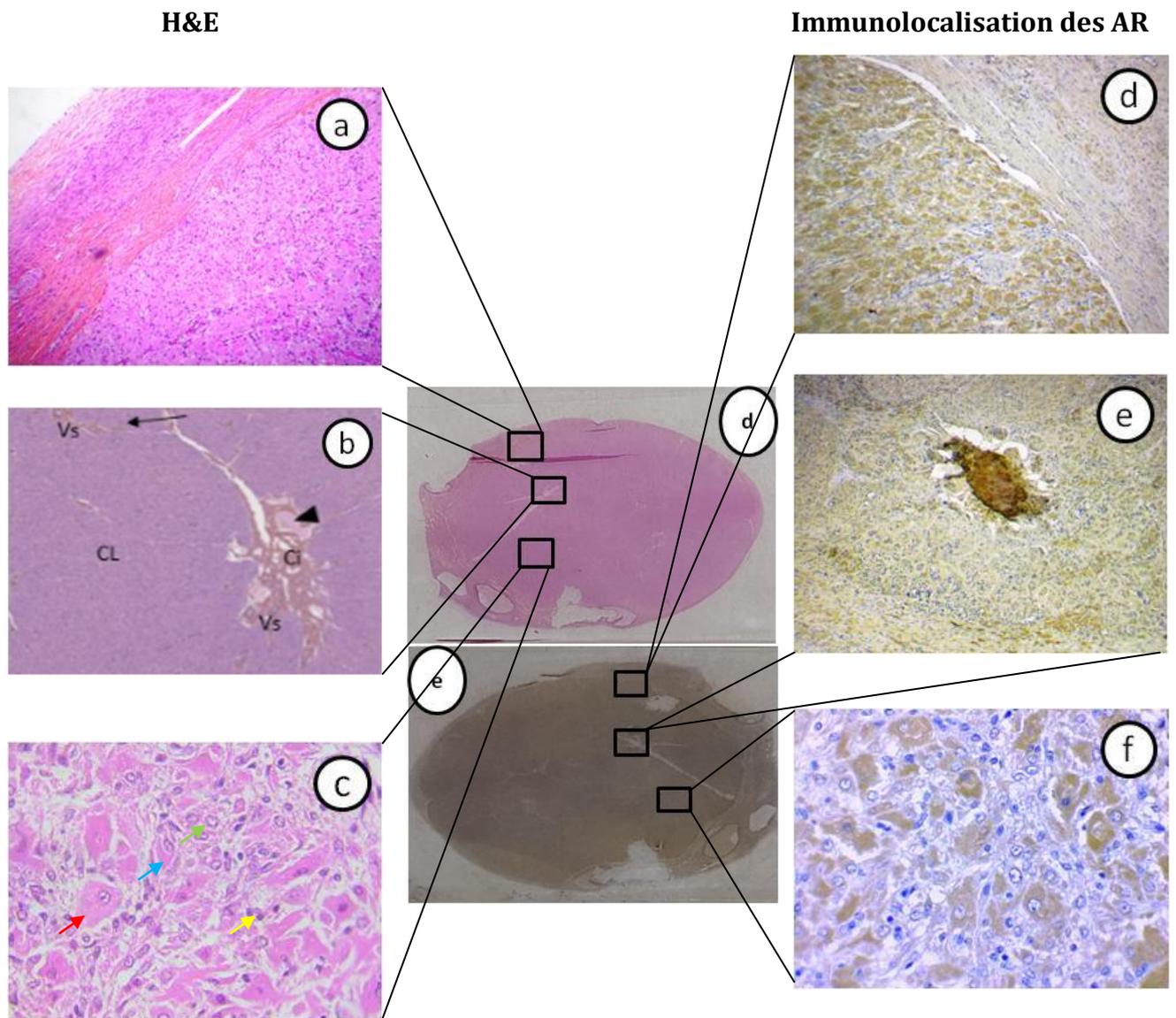
**Figure 28 :** Histologie (a, b, c, d) et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes (e, f, g, h) d'un corps jaune cavitaire. Coloration H&E (a, b) x100 ;(c) x400. DAB : (f, g) x100.(h) x400.

L'immunomarquage des RA dans les cellules lutéales dépendait de la fonctionnalité du CJ (72).

La réaction a été observée dans les noyaux et le cytoplasme de la plupart des cellules lutéales (Figures 28-30). Des RA sont présents dans le CJ au cours de leur développement.

Les cellules lutéales du corps jaune présentaient une coloration nucléaire modérée à forts pour RA (Figure 28). L'intensité de la coloration pour AR était la plus forte dans la phase lutéale précoce, juste après l'ovulation, et diminuait au fur et à mesure que la lutéinisation avançait.

Les récepteurs des androgènes culminaient pendant le métoestrus et atteignaient une valeur modérée pendant l'œstrus.



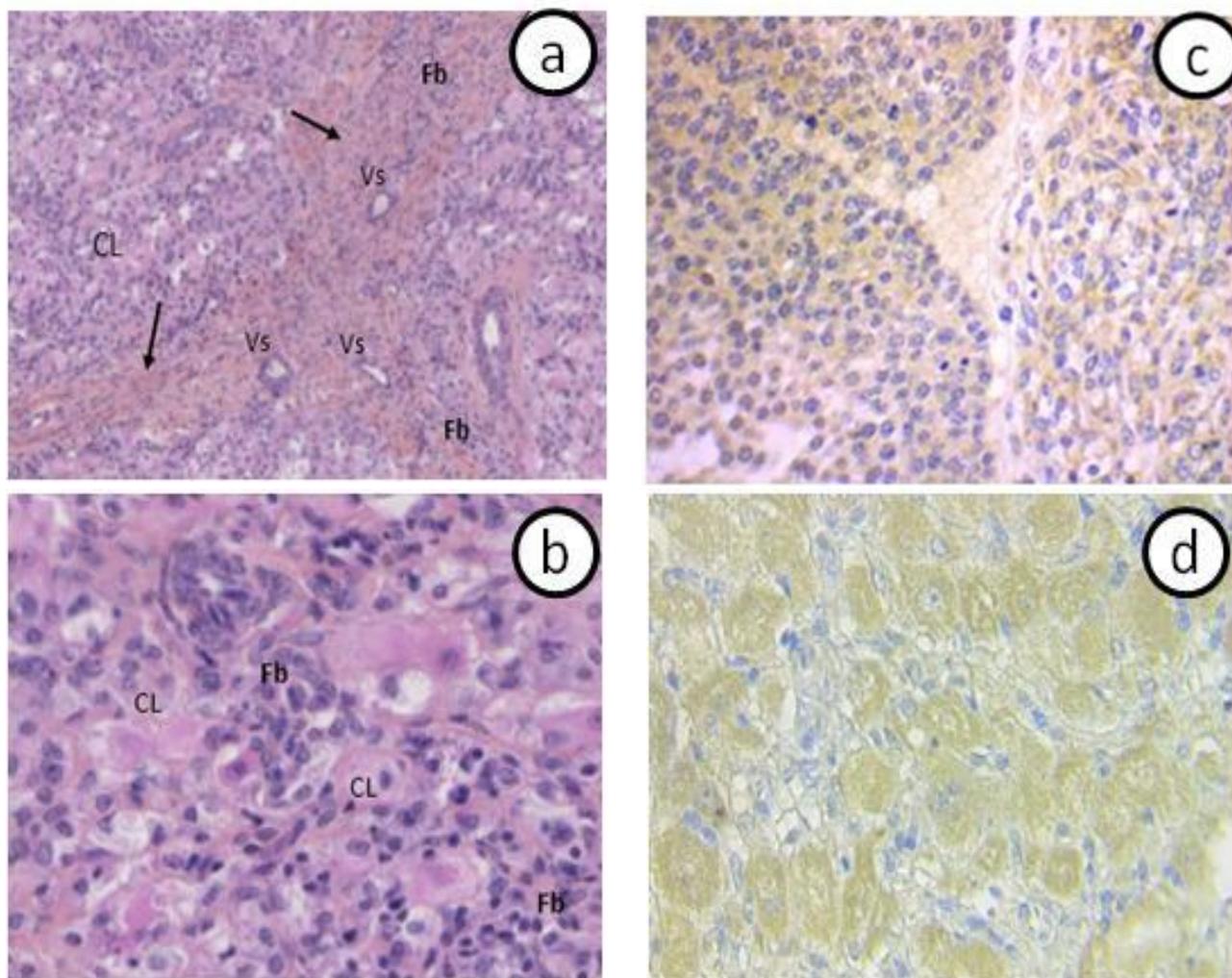
CL : Cellules lutéales ; F: Follicule ; Ci : zone de cicatrice ; TE : Thèque externe ;

Vs : vaisseaux sanguin ; ↗ septa ou cloison de tissus conjonctif ; ►résidus de liquide cavitaire ; ↗ : Grande cellule lutéale ; ↗ : petite cellule lutéale ; ↗ : fibroblaste ; ↗ ;lymphocyte

**Figure 29** : Histologie (a, b, c, d) et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes (d, e, f) d'un corps jaune massif. Coloration H&E : (a, b) x100 ;(c) x400 ; DAB : (f, g) x100 ;(h) x400.

**H&E**

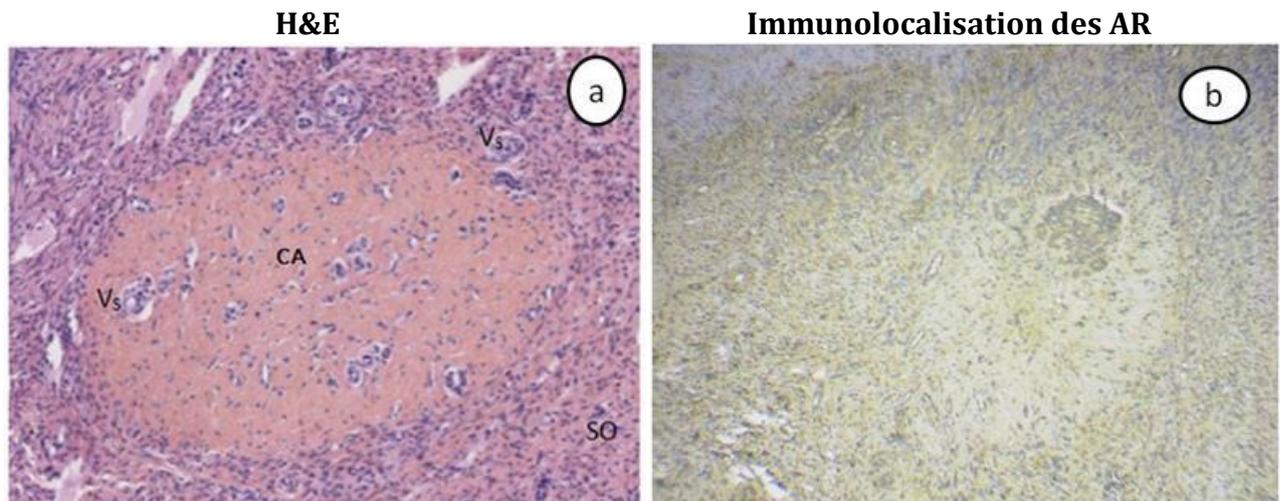
**Immunolocalisation des AR**



CL : Cellules lutéales ; Fb : fibroblastes ; Vs : vaisseaux sanguin ; ↗ : septa de tissus conjonctif.

**Figure 30:** Histologie et immunolocalisation des récepteurs aux androgènes d'un corps jaune en régression. Coloration H&E : (a, b) et DAB :(c, d).G x400.

Les résultats obtenus ont montré que les récepteurs aux androgènes étaient très faibles dans le corpus albicans (Figure 31).



CA : *Corpus albicans* ; Vs : vaisseaux sanguins ; SO : Stroma Ovarien.

**Figure 31:** Histologie et immunolocalisation d'un *corpus albicans* des récepteurs aux androgènes. Coloration H&E :(a) ; DAB : (b). G x100.

# **DISCUSSION**

## **Structures ovariens**

Dans notre étude, La comparaison mentionnée fait référence à des résultats similaires observés chez les femmes(77). Cela signifie que dans le cortex ovarien des femmes(77), tout comme chez les vaches, les RA sont localisés dans les noyaux des cellules folliculaires et stromales. De plus, les cellules stromales qui entourent les follicules chez les femmes(77) présentent également une faible coloration nucléaire pour les RA, ce qui suggère une similarité dans la localisation des RA entre les deux espèces. Cette comparaison renforce l'idée que certaines caractéristiques de l'ovaire et de la régulation hormonale peuvent être partagées entre les espèces, et offre ainsi des informations supplémentaires pour mieux comprendre le fonctionnement de l'ovaire chez les mammifères en général.

Il a été observé une intensité élevée des RA dans les ovocytes et les corps jaunes chez la vache. Cependant, des études menées sur la souris (73) ont montré des niveaux faibles de RA dans les ovocytes et les corps jaunes de cette espèce.

Cette différence d'expression des RA entre la vache et la souris (73) souligne les variations potentielles dans la régulation hormonale et les mécanismes de signalisation des androgènes dans les ovaires des différentes espèces. Ces résultats suggèrent que les voies de signalisation des androgènes peuvent être régulées de manière distincte dans les ovocytes et les corps jaunes en fonction de l'espèce.

Chez différentes espèces telles que l'écureuil (75), les primates (76) et la chatte (69), il a été observé que la couche de cellules de la thèque, le stroma, les régions de l'épithélium de surface de l'ovaire ainsi que les cellules de la granulosa à tous les stades de développement folliculaire présentaient une positivité pour les récepteurs aux androgènes (RA). De plus, les cellules du noyau interstitiel ont également montré une positivité pour les RA.

Ces résultats indiquent que les cellules des différentes composantes de l'ovaire chez ces espèces expriment les RA. Cela suggère que les androgènes peuvent avoir un rôle régulateur dans divers processus cellulaires au sein de l'ovaire, tels que le développement folliculaire, la fonction des cellules de la granulosa et les interactions entre les différentes couches cellulaires.

Dans notre étude, nous avons également observé une coloration intense des RA dans les cellules de la thèque, ce qui est cohérent avec les résultats précédemment rapportés chez les primates (76). Cette observation renforce la similarité entre nos résultats et ceux obtenus dans d'autres études, suggérant que les cellules de la thèque sont particulièrement sensibles aux androgènes dans différentes espèces.

La coloration intense des RA dans les cellules de la thèque suggère un rôle important des androgènes dans la régulation des fonctions spécifiques de ces cellules, telles que la production de facteurs de croissance et de signalisation nécessaires au développement folliculaire et à la maturation des follicules. Ces résultats soulignent l'importance des androgènes dans la physiologie ovarienne et la régulation des processus reproductifs chez les primates et suggèrent que des mécanismes similaires peuvent être présents chez d'autres espèces.

## **Follicules ovariens en développement**

### **Follicule pré-antraux**

L'immunolocalisation des RA a été observée dans les noyaux de tous les compartiments cellulaires des ovaires, ce qui est comparable aux résultats rapportés chez la chatte (69). Une intensité de marquage très élevée a été observée dans les cellules du stroma, tandis que les follicules pré-antraux ont montré une faible intensité de marquage, contrairement aux résultats rapportés chez la jument (72). Dans d'autres espèces, les RA sont principalement localisés dans les noyaux des cellules de la granulosa chez la truie (68) et chez la chèvre (74).

Ces observations soulignent la variabilité potentielle dans la distribution des RA dans les différentes espèces et soulèvent la question des différences fonctionnelles associées à ces variations. Les variations dans la localisation des RA peuvent refléter des adaptations spécifiques à chaque espèce en termes de régulation des voies de signalisation androgéniques dans l'ovaire.

Les résultats de notre étude indiquent que l'immunolocalisation des RA était plus faible dans les follicules immatures, tels que les follicules primordiaux et secondaires (Figure 25 d, f). Cela diffère des observations faites chez la truie (68) et chez la souris (73) où les follicules immatures présentent une intensité de marquage plus élevée.

Nous avons également constaté une faible coloration nucléaire des RA dans les cellules de la granulosa et les cellules de la thèque des follicules secondaires. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés chez la femme (77). Ces variations dans l'expression des RA dans les follicules immatures et les cellules de la granulosa peuvent refléter des différences spécifiques entre les espèces. Les mécanismes régulant la signalisation des androgènes dans ces cellules peuvent différer en fonction du contexte physiologique et des exigences spécifiques de chaque espèce.

### **Follicules antraux**

Nos résultats ont montré un immunomarquage des RA dans les cellules de la granulosa murale et du cumulus oophorus, ainsi que dans certaines cellules de la thèque des follicules antraux (Figure 26). Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés chez la truie (68). L'immunomarquage des RA dans les cellules de la granulosa et du cumulus oophorus suggère que ces cellules sont sensibles aux androgènes et peuvent être impliquées dans la réponse aux signaux androgéniques. Ces résultats renforcent l'idée que les androgènes jouent un rôle régulateur dans la fonction ovarienne et la maturation des follicules.

Dans notre étude, nous avons observé la présence de RA dans les cellules de la granulosa et les ovocytes des follicules pré-ovulatoires. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus chez la souris (73), où les RA sont absents des cellules de la granulosa et des ovocytes. Dans les follicules dominants justes avant l'ovulation et après le pic de LH, nous avons également constaté une coloration nucléaire modérée des RA dans les cellules de la granulosa. Les cellules de la thèque présentaient une coloration nucléaire modérée à forte des RA, plus intense que celle observée dans les cellules de la granulosa. Ces résultats diffèrent des observations faites chez la femme (77), où les cellules de la thèque externe ne présentaient pas de RA.

Il convient de noter que nos résultats indiquent également la présence de RA dans les cellules de la thèque externe chez la vache, tandis que ces cellules étaient dépourvues de RA chez la chèvre (74).

Les différences observées dans la présence et l'expression des RA entre les espèces peuvent être attribuées à plusieurs facteurs.

De plus, les différences peuvent être influencées par les caractéristiques physiologiques et reproductives propres à chaque espèce. Chaque espèce a des cycles reproducteurs spécifiques et des exigences particulières en termes de régulation hormonale et de développement folliculaire. Ces différences peuvent entraîner des variations dans l'expression et la distribution des RA dans les différentes cellules de l'ovaire. Les différences peuvent également être liées à des facteurs environnementaux et hormonaux spécifiques à chaque espèce. Les interactions complexes entre les hormones sexuelles, les facteurs de croissance, les cytokines et d'autres molécules peuvent influencer l'expression et la fonction des RA. Les variations dans l'environnement hormonal et les facteurs de régulation peuvent donc conduire à des différences dans l'expression des RA entre les espèces.

### **Follicule atrétique**

Dans notre étude, nous avons observé une coloration nucléaire modérée des RA dans les cellules thécales des follicules atrétiques, qui était légèrement plus intense que celle observée dans les follicules antraux non atrétiques. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés chez la femme (77), indiquant une expression similaire des RA dans les cellules thécales des follicules atrétiques entre les deux espèces.

Cependant, il convient de noter que chez la chèvre (74), les cellules thécales internes ont perdu l'expression des RA. Cette différence inter-espèces souligne les variations spécifiques à chaque espèce dans la régulation des voies de signalisation androgéniques. Ces différences peuvent être attribuées à des facteurs génétiques spécifiques à chaque espèce, à des mécanismes de régulation différentielle des RA dans les cellules thécales ou à des facteurs environnementaux et hormonaux spécifiques à chaque espèce.

### **Corps jaune**

Lors de notre examen des ovaires aux deux stades de contrôle du cycle, nous avons observé une différence d'intensité de coloration dans les différents types de corps jaune, qu'ils soient de type cavitaire ou massif, indépendamment du stade du cycle œstral. Ces résultats contrastent avec ceux obtenus chez les primates (76), où des variations d'intensité de coloration des corps jaunes ont été observées en fonction du stade du cycle.

Ces différences inter-espèces peuvent être attribuées à divers facteurs. Tout d'abord, il est possible que les mécanismes de régulation de la formation et de la fonction des corps jaunes diffèrent entre les espèces. Les interactions complexes entre les hormones, les facteurs de croissance et les récepteurs hormonaux et des facteurs environnementaux et hormonaux spécifiques peuvent varier d'une espèce à l'autre, entraînant ainsi des différences dans l'intensité de coloration des corps jaunes.

Il est important de noter que chaque espèce a des caractéristiques reproductives et hormonales spécifiques, ce qui peut entraîner des variations dans la formation et la régulation des corps jaunes. Par conséquent, il est nécessaire de considérer ces différences dans le contexte global de la physiologie ovarienne et de la fonction reproductrice de chaque espèce pour une interprétation précise des résultats.

L'immunomarquage des récepteurs aux androgènes (RA) dans les cellules lutéales du corps jaune dépend de la fonctionnalité du corps jaune lui-même. Cette observation met en évidence une relation entre l'activité hormonale du corps jaune et l'expression des RA. Les résultats obtenus montrent que l'immunomarquage des RA est présent dans les noyaux et le cytoplasme de la plupart des cellules lutéales, ce qui est similaire à ce qui a été rapporté chez la chatte (69) et le macaque (71). De plus, il a été constaté que les RA sont présents dans le corps jaune au cours de son développement, ce qui est comparable aux observations faites chez la chatte domestique (69) et la truie (68).

L'intensité de la coloration pour les RA dans les cellules lutéales du corps jaune varie en fonction du stade du cycle œstral. Plus précisément, l'intensité de la coloration est la plus forte dans la phase lutéale précoce, juste après l'ovulation, et diminue progressivement au fur et à mesure que la lutéinisation avance. Ces observations sont en accord avec ce qui a été rapporté chez la femme (77). Il est intéressant de noter que les récepteurs des androgènes culminent pendant le métoestrus et atteignent une valeur modérée pendant l'œstrus comme chez la brebis (70). En résumé, l'expression des récepteurs aux androgènes dans les cellules lutéales du corps jaune est étroitement liée à la fonctionnalité du corps jaune lui-même. Les variations d'intensité de coloration observées au cours du cycle œstral reflètent les changements hormonaux et les différentes phases du corps jaune. Ces observations mettent en évidence l'importance des RA dans la régulation des fonctions du corps jaune et de la reproduction chez les différentes espèces animales.

Les résultats de notre étude ont révélé une faible présence des récepteurs aux androgènes dans le corpus albicans, une structure présente dans les ovaires après la dégénérescence du corps jaune. Cette observation diffère de ce qui a été observé chez la souris (73), où une présence modérée à forte des récepteurs aux androgènes a été rapportée dans cette structure. De plus, il a été constaté que les récepteurs aux androgènes sont absents chez la femme (77) dans le corpus albicans. Ces variations d'expression des récepteurs aux androgènes dans le corpus albicans peuvent être attribuées à des différences entre les espèces et à des spécificités liées à chaque système reproducteur. Il est possible que la fonction du corpus albicans diffère d'une espèce à l'autre et que les récepteurs aux androgènes ne soient pas impliqués dans les processus de régulation observés chez certaines espèces.

# **CONCLUSION**

## CONCLUSION

L'immunolocalisation des récepteurs d'androgènes dans l'ovaire de la vache au cours du cycle œstral montre que ces récepteurs sont présents dans les cellules de la thèque interne de l'ovaire, où ils régulent la production d'androgènes tels que la testostérone. Les androgènes sont ensuite convertis en estradiol dans les cellules de la granulosa, qui contiennent également des RA et dans le corps jaune, où ils régulent la production de la progestérone. Les androgènes peuvent être produits localement dans le corps jaune et leur action par le RA peut stimuler la synthèse de la progestérone.

Les récepteurs d'androgènes ont un rôle important dans la régulation de la production d'hormones stéroïdes chez la vache. Ces résultats peuvent être utiles pour mieux comprendre la régulation de la fonction ovarienne chez la vache, ainsi que pour développer des traitements pour les troubles de la fertilité chez les bovins.

**REFEREENCES**  
**BIBLOGHRAPHIQUES**

1. Smith, J. D., Johnson, A. B., & Anderson, C. E.. Physiology of Androgens in the Estrous Cycle of Cows. *Journal of Animal Reproduction*. 2000. 42(3), 123-145.
2. Thibier M. Maîtrise de la reproduction, informatique et santé. 1982.
3. Wattiaux A M. Cycle œstral, Fécondation et développement embryonnaire, *Animal & dairy sciences*. Madison. 2000.
4. Pition. Cycle œstral, Fécondation et développement embryonnaire, *Agronomie, Animal & Dairy sciences*. Madison.2004.
5. Heape W. The "Sexual Season " of mammals and relation of the "prooestrus" to menstruation. *Q.J.Microsc*. 1900.Sci ,44. 11-70 p.
6. Derivaux J, Ectors F. Physiopathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire, Editions du Point Vétérinaire. Maisons-Alfort.France. . 1980. 71p.
7. Stevenson J S. Clinical Reproductive Physiology of the Cow In: Youngquist R.S and Threlfall W.R (eds). *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, Elsevier Saunders. St Louis.2007. 258-270.
8. Wattiaux A M. Détection des chaleurs, saillie naturelle et insémination artificielle. In *Reproduction et sélection génétique*, Babcock Institute. 2006. 1-4.
9. Bonnes. Le cycle œstral.2005.
10. Royal, Tainturier D , Freneyj. Mise au point sur les possibilités actuelles de détection des chaleurs chez la vache. *Rév. Méd vét*. 1982. 133. 305-314.
11. Ball P J H, Peters A R. *Reproduction in Cattle*. 3ème Edition Black well Publishing, Oxford. 2004. 242 p.
12. Thibier M. Quelques aspects de la maîtrise des cycles sexuels de la femelle chez les bovins, *Rec Méd vét*. 1976. 152(7-8).433-422.
13. Marie-christine Leborgne, Jean-Michel Tanguy. *Reproduction des animaux d'élevage*. 2ème Edition. Educagri.2005.75 p.
14. Williams CJ, Erickson GF, Feingold KR, Anwalt B, Blackman MR.. Morphologie and physiology of the ovary. *Endotext* [Internet]. MDText.com. Inc : South Dartmouth. (MA) : Jan 30,2012.
15. Anonyme. Paris. Mise à jour 8 novembre 2011. [www.arcagy.org/infocancer/](http://www.arcagy.org/infocancer/)
16. Labri Nawal, Rouab Meriem. Etude Échographique et histologique de l'ovaire au cours de cycle œstral chez la vache [Mémoire]. Blida (Algérie) : Institut des sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb. 2017. 35p.
17. Hunter. Oocyte maturation and ovum quality in pigs. *Rev Reprod*. 2000. 5 pp. 122-130.
18. Byskov, Lintern-Moore, J Anat. Follicle formation in the ovary : The role of the rete ovarii.1973. 116, pp. 207-17.
19. Piction, H.M. Activation of follicle development : The primordial follicle. *Endocrinology*.2001. 55 , pp. 1193-1210.
20. Ross M H et al. *Histology-Female Reproductive Système*. 3rd édition. The University of Western Australia.p.1998. 694, pp. 697-708.
21. Hyttel et al. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle *Theriogenology*.1997. 47, 23-32p.
22. Russe L. Oogenesis in cattle and sheep. *Biblio Anat*.1983. 24, pp. 77-92.
23. Van Wezel , Rodgers. Morphological characterization of bovine primordial follicles and their environment in vivo. *J Report Fertil*.1996. 55, pp. 1003-1011.
24. Braw-Tal, Yossefi. Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J Report Fertil* ; 1997.109, 165-71.
25. Morbeck D. E, Flowers W. L, Britt J. H. Response of porcine granulosa cells isolated from primary and secondary follicles to FSH, 8-bromo-cAMP and epidermal growth factor in vitro. *J Report Fertil* ; 1993. 99, pp. 577-584.

26. Albertini D.F, Anderson E. The appearance and structure of intercellular connections during the ontogeny of the rabbit ovarian follicle with particular reference to gap junctions. *The journal of Cell Biologie* ; 1974. 63. pp. 234-250.
27. Anderson E, Albertini D.F. Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary. *The Journal of Cell Biologie* ; 1976. 71, pp. 680-686.
28. Ryan J, Christopher P. *Veterinary Histology :Chapter 13 : Female Reproductive System.*2020.p 215.
29. Morbeck D. E, Esbenshade K. L, Flowers. W. L, and Britt, J. H. Kinetics of follicle growth in the prepubertal gilt. *Biol Reprod* ; 1992. 47. pp. 485-491.
30. Hyttel P, Grève T, Callesen H. Ultrastructural aspects of oocyte maturation and fertilization in cattle. *J Reprod Suppl* ; 1989. 38, pp. 35-47.
31. Larsen W.J, Wert S.E. Rôles of cell junctions in gametogenesis and in early Dembronic development. *Tissue & Cell* ; 1988. 20, pp. 809-848.
32. Ross M H et al. *Histology-Female Reproductive Système.* 3rd édition. The University of Western Australia.p.1998. 685.32. J. O'Shea, R. Rodgers, M. D'Occhio. *Biology.Journal of reproduction and fertility.*1989.
34. E. Skovorodin, S. Bogolyuk, G. Bazekin, A. Sharipov, R. Khokhlov. *Morphology and Histochemistry of the Corpus Luteum (CL) of Ovaries of Pregnant and Infertile Cows.*Medicine.2020.
35. Mialot J.P ; Constant F, Chastant-maillard S, Ponter AA, Grimard B. La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications. *J. Européennes de la Société Française de Buiatrie Paris* .2001 ; 163-168.
36. Thibault C ; Lévasseur M.C .la reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA ; Ellips. Paris. 2001. 928p.
37. Monniaux D ; Caraty A ; Clement F ; Dalbies-tran R ; Dupont J ; Fabre S ; Gerard N ; Mermillod P ; Monget P ; Uzbekova S . Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *Inra Prod. Anim.*2009. 22, 59-76.
38. Hanzen C.H ; Lourtie O ; Drion P.V. Le développement folliculaire chez la vache. *Aspects morphologiques et cinétiques.* *Ann. Méd. Vét.*2000. 144,223-235.
39. Wangji S.A ; Fortier M.S ; Siurand M.A .Differential reponse to gonadotrophines E2 in ovarian tissue during prenatal and postnatal development.*Biol,Reprod.*1992.46 ;1034-1041.
40. Westergard L ; Celleesen H ; Hyttel L. Meiosis inducing substances (MIS) in bovine .*Preovulatory follicules* .1985. 20,217-221.
41. Lussier J.G ; Matton P ; Dufour J.J. Growth rates of folliculs in ovary of the cow .*J Reprod.Fert.* 1987.81, 301-307.
42. Ennuyer M. Les vagues folliculaires chez la vache, application pratique à la *Reproduction.* *Le Point Vét.* 2000. 31,377-383.
43. Sirard M.A ; Florman H.M ; Leiberied rutledge M.L. Timing of nuclear progression and proteine syntesis necessary for meotic maturation of bovie oocyt.*Boil.Repord.*1989. 40, 1257-1283.
44. YanagimachiR. *The physiology of reproduction,* cir.nii.ac.jp.1994. 1 273-279
45. Stevenson B.R ; Paul B.L. The molicular constituents of in the cellular junction. *Cur.48 Opin. Cell. Biol.*1989. 884-891.
46. SaumandeJ. Folliculogenesis in ruminants. *Recueil de la médecine Vétérinaire ; France.*1991 ; 167(2-4) :205-218.
47. Drion P.V. Baeckers J.F ; Derkenne F ; Hanzen CH ; 2000. Le développement folliculaire chez la vache de mécanisme hormonal au cours du cycle et du post partum. *Ann. Méd. Vét ;* 2000. 144,385- 404.

48. Pierson R.A ; Kastelic J.P ; Ginther O.J .Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology*, 1988. 29, 3-20.
49. Ginther O.J ; Kastelic J.P ; Knopf L .Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.*1989. 20, 187-200.
50. Sirois J ; Fortune J.E. Ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. of Reprod*, 1988. 39, 308-317.
51. Picton H.M ; Tsonis C.G. FSH causes a time-dependent stimulation of preovulatory follicle growth in the absence of pulsatile LH secretion in ewes chronically treated with gonadotrophin-releasing hormone agonist. *J. Endocrinol*, 1990 ; 126, 297-307.
52. Fortune J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.*1994, 50, 225- 232.
53. Driancourt M.A . Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*, 1991 ; 35(1), 55-79.
54. Bao B ; Garverick H.A ; Smith G.W ; Smith M.F ; Salfen B.E ; Youngquists R.S 1997. Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biol. Reprod.*1997 ; 56, 1158-1168.
55. Bao B ; Garverick H.A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular. Waves a review. *J. Anim. Sci.* 1998 ; 76(7), 1903-921.
56. Gong J.G ; Bram L. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J. Reprod. Fert.*1993 ; 97,247-254.
57. Webb R ; Gong J.G ; Law A.S ; 1992. Control of ovarian function in cattle. *J. Reprod. Fert., Supp.* 1992. 45,141-156.
58. Thibault C ; Lévasseur M.C ; 2001. la reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA.Ellips, paris .2001, 928p.
59. Drion P.V., Beckers J.F., Ectors F.J., Hanzen C., Houtain J.Y., Lonergan P., 1996. Régulation de la croissance folliculaire et lutéale : Folliculogénèse et atresie. *Le Point Vét.*, 28, numéro spécial "Reproduction des ruminants".
60. Hirshfield A.N . Rescue of atretic follicles in vitro and in vivo. *Biol. Reprod* ;1989 ; 40, 181-190.
61. Hughes F.M., Gorospe W.C., 1991. Biochemical identification of apoptosis (programmed cell death) in granulosa cells: evidence for a potential mechanism underlying follicular atresia. *Endocrinology*, 129, 2415-2422.
62. Hanzen Ch et al ,Ovarian cysts in bovine species 2. Physiological reminders and etiopathogenesis, Janvier 2008,152(1):17-33.
63. Senger, P.011. Pathways to Pregnancy and Parturition (3rd edition). Current Conceptions Inc.
64. Pursley, J, Mee, M, Wiltbank, M. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology*.44(7), 915-923.
65. Adachi H et al. 2005 mars. Accumulation nucléaire et cytoplasmique généralisée de récepteurs androgènes mutants dans SBMA les patients. *Cerveau*. 128(Pt 3):659-70.
66. Feldman BJ, Feldman D The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer*. 2001. 1: 34-45.
67. Eileen T , Jun L , Eric X , Karsten M, Eu-leong Y. 2015. Androgen receptor: structure, role in prostate cancer and drug discovery , 36: 3-23.

68. Slomczyńska M et Tabarowski Z. *Journal of Animal Reproduction Science*, Localization of androgen receptor and cytochrome P450 aromatase in the follicle and corpus luteum of the porcine ovary. 31/01/2001, 65(1-2): 127- 134.
69. Amelkina O, Lina Zschockelt L, Johanna Painer a, Rodrigo Serra b, Francisco Villaespesa c, Eberhard Krause d, Katarina Jewgenow a, Beate C. Braun. Progesterone, estrogen, and androgen receptors in the corpus luteum of the domestic cat, Iberian lynx. December 2016. P 2107-2118.
70. Hongwei D et al. Expression of oestrogen receptor, androgen receptor and progesterone nuclear receptor in sheep uterus during the oestrous cycle. 12 June 2019. 54(10):1305-131.
71. Richard L et Diane M Duffy, BRIEF R. Receptors for sex steroids in the primate corpus luteum. 04/1995, 6(3):83-89.
72. Młodawska W et Grzesiak M et Kochan J et Nowak A. 2018. Intrafollicular level of steroid hormones and the expression of androgen receptor in the equine ovary at puberty.
73. Anesetti G et Chavez-Genaro R. 2016. 47(5).
74. Kassouri S et al. 2014. Immunolocalization of androgen receptor in the ovary of the bedouin goat (*Capra Hircus*) in non-breeding season.
75. Xiaonan Li et al. 2012. Immunoreactivities of androgen receptor, estrogen receptors, p450arom, p450c17 proteins in wild ground squirrels ovaries during the nonbreeding and breeding seasons.
76. Iain J et al. Identification of androgen receptor phosphorylation in the primate ovary in vivo, 7/2010, 140(1): 93-104.
77. Kiyoshige Horie et al. 1992. Human Reproduction Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression. vol. 7 no. 2 pp. 184-190.

# **LES ANNEXES**

# **ABSTRACT**

## **Introduction**

During the estrous cycle of the cow, there are different phases characterized by hormonal changes and modifications in the cow's reproductive structures. Among the main hormonal players in the cow's estrous cycle are the androgens.

Androgens are steroid hormones, mainly represented by testosterone, which play an important role in regulating the estrous cycle in mammals, including cows.

In the female, they are produced by the ovaries and adrenals in small quantities and knowledge of the mechanism of action of androgens on the ovaries, whether for their inhibition or stimulation, has played a major role in research into reproductive function, in order to determine the mechanisms influencing fertility and infertility .

But androgens mainly exert their effects by binding to and activating a specific receptor that is expressed in most cells.

The aim of our work is to demonstrate the immunolocalization of androgen receptors in the ovaries during the estrous cycle in cows, using immunohistochemistry.

Our work comprises two parts:

- A bibliographical section devoted to the study of the estrous cycle and the histological and physiological examination of the ovaries.
- An experimental part based on the immunohistochemistry technique.

## CHAPTER I: THE SEXUAL CYCLE IN COWS

### 1. ESTROUS CYCLE IN COWS

The estrous cycle is the period of time between two estrus, lasting 21 days on average, but varying between 18 and 24 days.

Sexual activity begins at puberty, when the animal is between 6 months and 1 year old and has reached 40 to 45% of its adult weight. This activity varies according to breed, with dairy heifers being more precocious than suckler heifers.

#### 2. Progression of the estrous cycle:

- **Pro-estrus:** Is the transition period between the end of one cycle and the beginning of the next.
- **Estrus (heat):** Is the period of sexual receptivity that lasts from eight to thirty hours and marks the first day of a cycle.
- **Metoestrus:** During this period, the follicle is ejected from the ovary into the oviduct (ovulation) 10 to 14 hours after the last signs of heat.
- **Dioestrus:** Lasts 12 to 15 days (days 6 to 18 of the cycle). The duration of this phase is the most variable and therefore determines the length of the cycle (from 18 to 24 days).

### 3. OVARIAN CYCLE IN COWS

The ovarian cycle can be defined as the interval between two successive ovulations at a characteristic duration for each species, it has two phases :

**Follicular phase:** It is characterized by high production of ovarian estrogen.

**Luteal phase:** This phase corresponds to luteogenesis and luteotrophy. The onset of this phase just after ovulation.

## CHAPTER II: HISTOLOGY OF THE OVARY

### 1. Structure of the ovary

The structure of the ovary is made up of three different regions: the cortex, the medulla and the hilum. The cortex of the ovary contains two main cell types, follicular cells

and stromal cells. The cortex also contains corpora lutea and remnants of corpus albicans. The medulla is composed of blood vessels and nerves, and the hilum contains the main blood vessels to the ovary.

## **2. Ovarian structures**

Depending on their evolution, ovarian structures can be divided into :

### **2.1. Follicles**

Follicles are the ovarian structure responsible for the development and maturation of the female gamete, the oocyte. Follicles undergo several stages of evolution (primordial, primary, secondary, tertiary and Graafian follicle).

### **2.2 .Corpus luteum**

Histologically, the different phases of the estrous cycle are determined by the stage of development of the corpus luteum observed. The corpora lutea observed on histological sections show two cell types: steroidal (large and small luteal cells) and non-steroidal (fibroblasts, endothelial cells and lymphocytes).

## **CHAPTER III: PHYSIOLOGY OF THE OVARY**

**1. Development process of oocyte production:** It is the result of three events: oogenesis, folliculogenesis and ovulation.

**1.1. Oogenesis:** begins during intrauterine life and resumes at puberty, with maturation of I oocytes surrounded by follicular cells. Only a few hundred I oocytes reach full maturation and emit a second polar globule during fertilization.

**1.2. Folliculogenesis:** is the process of developing follicles, the sac-like structures in the ovaries. It comprises three phases: multiplication, growth and maturation. The majority of growing follicles eventually degenerate, with only 10% reaching the stage of maturation and ovulation.

## **2. Dynamics of follicular growth:**

Follicular growth in the cow takes place in waves, with the emergence of several follicles, among which a dominant follicle develops. Oestrous cycles in the cow may comprise 2 to 3 follicular waves, with the ovulatory follicle usually originating from the last wave. The process involves recruitment, selection and dominance of follicles, leading to ovulation,

while follicular atresia regulates the rate of ovulation by eliminating the majority of follicles present in the ovary.

### **3. Hormonal regulation of the ovary:**

Hormonal regulation of the ovary during the estrous cycle of the cow involves several hormones such as LH, FSH, estradiol, progesterone and androgens. FSH and LH are produced by the anterior pituitary in response to GnRH produced by the hypothalamus. Androgens, mainly testosterone, are produced by ovarian theca cells and play a role in follicular maturation and the expression of sexual behavior. Androgen receptors bind to androgens and regulate gene expression in target cells.

### **4. Role of androgen receptors:**

Androgen receptors enable the body to respond appropriately to these hormones. Receptors are present in many body tissues, where they bind to androgens. The resulting androgen-receptor complex then binds to DNA and regulates the activity of androgen-sensitive genes. By activating or deactivating genes as required, the androgen receptor helps direct the development of sexual characteristics.

## **EXPERIMENTAL PART**

### **MATERIALS AND METHODS**

**1. Animal model:** 3 cow genital tracts, aged from 3 to 10 years, harvested at the Eucalyptus slaughterhouse were used in our work. A general examination was carried out on each animal before slaughter to determine age based on dentition and general condition. Samples were transported to the LBRA laboratory.

**2. Methods used:** The method used in our work is immunohistochemistry to localize androgen receptors in the ovaries.

**3. Immunohistochemistry protocol:** The immunohistochemistry protocol is divided into two stages:

- **Step 1:** Preparation of ovaries by histological technique (fixing, Inclusion, Dehydration and substitution, Production of kerosene blocks, Cutting and spreading, Blade assembly, Dewaxing, Hydration).

- **Step 2:** Immunohistochemistry proper (Unmasking antigenic sites, blocking endogenous peroxidases, blocking non-specific sites....)

**4. Photonic microscope observation:** After air-drying, the slides are observed under a photonic microscope.

**Validity of the immunohistochemistry technique :** The antibody used is validated by negative controls inserted during the immunohistochemistry protocol to confirm the immunostaining observed on the samples.

## RESULTS AND DISCUSSION

### 1. Ovarian structures

Androgen receptors are present in different cellular compartments of the cow ovary, including follicles, oocytes and corpora lutea. Receptor expression was not observed in negative control sections. In the ovarian cortex, receptor proteins were localized in the nuclei of follicular and stromal cells, and also in the cytoplasm of the endothelium of the blood vessels of the ovarian stroma, results similar to those found in women.

### 2. Developing ovarian follicles:

Androgen receptors are present in the various cell compartments, but with weaker staining in pre-antral follicles. Antral follicles show positive staining, while atretic follicles show moderate staining for androgen receptors.

### 3. Corpus luteum:

Results showed variations in AR staining and immunostaining between species, with differences between mare, cat, macaque, mouse and sow. Androgen receptors were present at all stages of the cycle, but varied in intensity. In the cat, receptors were highest during metestrus, while in the ewe, they were moderate during estrus. In the early luteal phase, AR coloration was strong, decreasing thereafter. Significant differences were observed in the expression of androgen receptors in the CJ between species and stages of the ovarian cycle.

## CONCLUSION

In conclusion, immunolocalization of androgen receptors in the cow ovary during the estrous cycle shows that these receptors are mainly present in active endocrine tissue, such as the ovaries. Androgen receptors are present in the cells of the inner theca of the ovary, where they regulate the production of androgens such as testosterone. Androgens are then converted to estradiol in the granulosa cells, which also contain androgen receptors, and in the cow's corpus luteum, where they regulate progesterone production. Androgens, such as testosterone, can be produced locally in the corpus luteum, and their action on androgen receptors can stimulate progesterone production.

Androgen receptors have an important role in regulating steroid hormone production in the cow, as well. These results may be useful for better understanding the regulation of ovarian function in the cow, as well as for developing treatments for fertility disorders in cattle.

**DAOUDI Naima et DELLECI Manal**

Université de Blida- 1 / Institut des Sciences Vétérinaires

Promotrice : Dr. BOUKENAOUI-FERROUK N.

Co-promoteur : Dr. FERROUK M.

## **Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau de l'ovaire chez la vache au cours du cycle œstral**

### **Résumé :**

Les androgènes ovariens agissent localement pour moduler la fonction folliculaire et lutéale chez diverses espèces. Le but de notre étude est l'immunolocalisation des récepteurs aux androgènes (AR) au niveau de l'ovaire, au cours du cycle œstral, chez la vache. Les ovaires obtenus de la vache mature « *Bos taurus* » ont été récoltés au niveau de l'abattoir d'Eucalyptus puis immédiatement fixés dans la solution de formol dilué à 10% dans le PBS, des coupes ont été réalisées et utilisées pour l'analyse immunohistochimique durant la période du 02 Mai au 15 Juin. Les résultats obtenus ont montré que les récepteurs aux androgènes sont localisés au niveau du cytoplasme: 1/ des différents compartiments de l'ovaire et à différents stades des follicules ainsi que les ovocytes et des corps jaunes ; 2/ de l'endothélium des vaisseaux sanguins et du stroma ovarien. Une faible intensité de marquage est observée dans les follicules préantraux (primordiaux et secondaires) par rapport aux follicules antraux. 3/des cellules luthéales des différents corps jaune pleins et cavitaires. En conclusion, les récepteurs aux androgènes ont un rôle important dans la folliculogénèse aux différents stades du cycle œstral chez les mammifères.

**Mots clés :** Ovaire, vache, immunohistochimie, récepteurs aux androgènes.