



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 14084](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/14084)

**To cite this version :**

Frein, Pierre. *Comparaison de la réponse en termes de sécrétion de progestérone et de dynamique ovarienne à la gonadoréline, à la léciréline et à la buséréline chez des génisses Prim'Holstein.*  
Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 82 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# COMPARAISON DE LA REPONSE EN TERMES DE SECRETION DE PROGESTERONE ET DE DYNAMIQUE OVARIENNE A LA GONADORELINE, A LA LECIRELINE ET A LA BUSERELINE CHEZ DES GENISSES PRIM'HOLSTEIN

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**FREIN Pierre**

Né, le 30 juin 1989 à SAINT MARTIN D'HERES (38)

---

**Directeur de thèse : Mme Nicole HAGEN**

---

## JURY

PRESIDENT :

**M. Jean PARINAUD**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

**Mme Nicole HAGEN**

**Mme Véronique GAYRARD**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

**M. Guillaume LHERMIE**

DMV au laboratoire VETOQUINOL



Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt  
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

**Directeur** : M. Alain MILON

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
- Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. MARTINEAU Guy, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. REGNIER Alain, *Physiopathologie oculaire*
- M. SAUTET Jean, *Anatomie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme HAGEN-PICARD, Nicole, *Pathologie de la reproduction*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. SANS Pierre, *Productions animales*
- Mme TRUMEL Catherine, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
- M. PICAVET Dominique, *Pathologie infectieuse*

**PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme MICHAUD Françoise, *Professeur d'Anglais*
- M SEVERAC Benoît, *Professeur d'Anglais*

**MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
- M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
- Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*

**MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
- Mme BENNIS-BRET Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme BOUHSIRA Emilie, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
- M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
- M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
- M. CUEVAS RAMOS Gabriel, *Chirurgie Equine*
- Mme DANIELS Héléne, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle DEVIERS Alexandra, *Anatomie-Imagerie*
- Mlle FERRAN Aude, *Physiologie*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle LAVOUE Rachel, *Médecine Interne*
- M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*
- Mme MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*
- Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*
- M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle PAUL Mathilde, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme PRADIER Sophie, *Médecine interne des équidés*
- M. RABOISSON Didier, *Productions animales (ruminants)*
- M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme WARET-SZKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

**MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS**

- M. BOURRET Vincent, *Microbiologie et infectiologie*
- M. DAHAN Julien, *Médecine Interne*
- Mme FERNANDEZ Laura, *Pathologie de la reproduction*
- M. HERRY Vincent, *Pathologie des ruminants*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

- Mme COSTES Laura, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. DOUET Jean-Yves, *Ophthalmologie*
- Mme LALLEMAND Elodie, *Chirurgie des Equidés*

## Remerciements

A notre jury de thèse,

**Monsieur le Professeur Jean Parinaud**

Professeur des Universités

*Laboratoire de Biologie de la Reproduction*

*Hôpital Paul de Viguier*

**Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.**

**Hommages respectueux.**

**Madame le Professeur Nicole Hagen-Picard**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Pathologie de la Reproduction*

**Qui a accepté d'encadrer ce travail et de me guider tout au long de sa réalisation. Pour son soutien, sa disponibilité et ses conseils tout au long de l'accomplissement de cette étude et de l'élaboration de ce manuscrit.**

**Sincères remerciements.**

**Madame Véronique Gayrard-Troy**

Professeur à L'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*

**Qui nous fait l'honneur de participer à notre jury de thèse. Pour son soutien, sa disponibilité et ses conseils tout au long de l'accomplissement de cette étude.**

**Au laboratoire Vétoquinol, qui a financé une partie de ce travail, pour m'avoir permis de réaliser cette étude, et tout particulièrement à Guillaume Lhermie pour son aide précieuse. Sincères remerciements.**

## Dédicaces

**A ma famille**, pour m'accepter tel que je suis.

**A mes parents**, à qui je dois énormément. Si j'en suis arrivé là c'est en grande partie grâce à vous, à votre amour, votre éducation, votre soutien et grâce à votre patience pour supporter parfois mon caractère... Je suis fier de ce que je suis devenu, des valeurs que vous m'avez apprises, de l'ouverture d'esprit au monde et la tolérance que vous m'avez inculquée. J'espère pouvoir former à mon tour une famille aussi aimante et équilibrée que la notre.

**A mon papa**, qui m'a toujours soutenu dans mes études, dans les bons comme dans les mauvais moments, qui m'a transmis sa rigueur et sa persévérance dans le travail. Si je suis vétérinaire aujourd'hui, tu y es pour beaucoup, merci.

**A ma maman**, qui a toujours su être là dans les bons comme dans les mauvais moments de la vie, qui m'a transmis sa générosité envers les gens et son sens de l'organisation. Si je suis entouré de personnes superbes aujourd'hui, tu y es pour beaucoup, merci.

Merci, je vous aime.

**A mon frère, Antoine**, avec qui à partir de toutes nos chamailleries d'enfants on a réussi à fonder une vraie relation fraternelle. Merci pour ton soutien, ton amour, tes conseils. Je suis fier de toi et de ton parcours, qui l'eut cru qu'un jour tu serais trilingue ;) Je suis heureux d'avoir encore plein de choses à vivre avec toi en commençant par la Corée mais aussi ton mariage avec ta super future femme, **Anna**. Je suis heureux que mon frère ait trouvé une femme aussi gentille, attentionnée, cultivée, ouverte d'esprit et qui le rend tout simplement heureux.

**A ma sœur, Gaëlle**, qui m'impressionne chaque jour un peu plus par sa force de caractère et sa détermination malgré son entourage très scientifique (oui papa et maman la biologie est une science ;)). Merci d'être telle que tu es, attentionnée avec ton grain de folie qui fait tout ton charme. J'espère de tout mon cœur que tu t'épanouiras au maximum dans ta branche professionnelle mais aussi en amour avec ton Normand, **Ronan**, qui partage ton grain de folie et possède une ouverture envers le monde et les personnes très agréable.

**A mes grand-parents**, qui m'ont transmis des valeurs très importantes de la vie et qui nous ont permis et nous permettent encore de vivre des moments inoubliables en famille. **A mamie Paulette**, le chamois des montagnes qui m'a transmis son amour du ski et tant d'autres choses. **A papi Paul**, ce très talentueux sculpteur qui m'a transmis l'amour du bois et tant d'autres choses. **A mamie Cécile**, un vrai cordon bleu qui m'a transmis l'amour de la cuisine et tant d'autres choses. **A papi Jacques**, ce très bon jardinier qui m'a transmis l'amour de la terre et des vaches et tant d'autres choses. Merci pour tout.

**A mes oncles, mes tantes et tous mes cousins, cousines**, merci pour tous ces innombrables moments passés avec vous, toujours dans la joie et la bonne humeur. Continuez et ne changez rien, en espérant continuer à vous voir tous encore très longtemps.

**A mes amis**, qui tiennent une place très importante dans mon cœur et ma vie.

**A mes Grenoblois**, avec qui j'ai grandi et j'ai gardé le lien malgré la distance.

**A Charlotte**, ma charlou qui a toujours été là dans les bons, et il y en a eu, et les mauvais moments. A tous ces supers souvenirs, à commencer par le papillon qui sortait un peu trop en passant par cette soirée champagne jacuzzi à la belle étoile ou cette fameuse soirée où les portables ont fini au congélateur. J'espère pouvoir venir te voir très vite au Mexique. Merci ma charlou.

**A Clément**, mon plus vieux copain, connu à la crèche, tant de souvenirs partagés. La vie avance tellement vite, déjà le baptême de ton fils **Mathis**, le plus beau des bébés, fait avec ta super femme **Laetitia**. Je suis heureux de vous connaître et de passer de supers moments à vos côtés.

**A Amine**, mimine, connu aussi à la crèche, toujours aussi agréable de parler avec toi, avec l'intelligence et la gentillesse qui te caractérisent.

**A Jules**, mon julus, le temps passe tellement vite, la prépa me paraît déjà tellement loin, Champo là où on a bien galéré mais qui nous a permis de nous rencontrer. Hâte de venir te voir dans ton nouveau chez toi, merci d'avoir fait le déplacement, ça me touche beaucoup. Hâte de reboire une bouteille dans les champs face au Mont Aiguille avec toi ;) Essaie de ne pas dormir sur un trottoir cette fois !!!

**A Gaspard**, mon gasparoux, qui me fait toujours autant rire, la sincérité de tes sentiments me plaît beaucoup, ton côté loveur et ta fashion attitude me font bien rire, vivement la prochaine soirée guitare au coin du feu à Herbeys ;)

**A Arthur**, ma tutur, mon conseiller en volley, bon ça a pas trop marché ;), toujours le mot pour rire, toujours là pour moi. J'ai parfois du mal à te suivre fac de bio, militaire, pompier, puis reprise des études, mais en tous les cas j'espère que tu va réussir à t'épanouir dans ta vie professionnelle, je suis fier de ton parcours. Mais surtout soit heureux en amour ;), avec ton bébé banane, **Noémie**.

**A Renaud**, mon pti Borlet, toujours agréable de parler avec toi, de passer des soirées improbables, comme lors de ta dernière venue à Toulouse entre brouette et panneau de rond point ;) Impressionné par ta volonté dans la course, je suis dégue de plus réussir à te suivre ;) J'espère encore faire des soirées folles avec toi.

**A Sylvain**, en souvenir de notre élevage d'escargots, merci pour toutes les supers soirées de retrouvailles que tu organises. Je viendrai très vite te voir dans ton nouveau pays.

**A Marush, Vio, Océ, Titia, Talie, Tomis, Danis, Ju, Mahia, Val, Charlotte, Justine, Quentin et tant d'autres**, merci pour tous les bons moments passés avec vous.



**A mes toulousains**, que j'aime tous, que de bonnes rencontres, de belles amitiés et de belles années passées à vos côtés.

**A Jeff**, une belle rencontre, une vraie amitié, un super coloc, de très bons moments passés avec toi. Merci pour ta gentillesse, ton humour, ces souvenirs. Vivement tous les bons moments à venir et mes futures victoires au tennis ;)

**A H**, un vrai ami, pas très net dans sa tête, c'est ça que j'aime, pour ta folie, pour ton décalage, pour toutes les histoires que l'on pourra raconter à nos enfants grâce à toi, pour tes chopes inattendues dans les deux sens, pour ces quatre années de colocs.

**A Lise**, de Champo à la fisti que de bons moments passés ensemble, entre balades à cheval, rando, ski, booms et ces deux années passés en coloc. Une vraie amitié, vivement nos futures sorties en montagne !

**Mes colocs de la Fisti**, merci pour ces 4 ans dans cette super maison, de supers souvenirs avec vous, en espérant pouvoir refaire des repas dans cette belle maison ensemble.

**A Momo**, ma petite haute savoyarde, avec le cœur dans la main, merci pour ta gentillesse mais aussi pour ton petit caractère ;) Ta réussite dans tout ce que tu entreprends m'impressionne, tu peux être fière de toi. Pour notre thèse passée ensemble.

**A Barbier**, le mec qui me fait mourir de rire dans toutes les situations mais encore plus en boom, en souvenir de ta danse à notre premier WEIEL, heureux de te connaître, d'être ton ami, à notre goût partagé pour la bière ;)

**A Morau**, une super rencontre, le plus gros lourd de canine, mon super trinôme de clinique, merci pour toutes tes « bonnes » blagues, pour ces supers week-ends dans ta maison, reviens nous vite du Nord avant de perdre ta connerie de Landais ;)

**A Marou**, ma supère co-voyageuse du Cameroun, à tous ces souvenirs si forts, une vraie découverte, à toutes nos discussions plus ou moins sobre, pour tous tes conseils, ton parcours m'impressionne, tu peux être fière de toi, une super amie.

**A Manou**, pour être notre maman, pour ton organisation, pour ta gentillesse, j'espère que vous serez heureux en Bretagne.

**A Malec**, pour nos balades aux bords du Touch, pour éviter que l'on complexe sur la chute de nos cheveux ;), pour ta lourdeur et ta gentillesse.

**A Chloé**, pour tous ces petits plats que tu nous fais, pour tous ces bons moments passés, pour ton petit caractère qui me fait bien rire ;)

**A Quentin**, pour ton ventre en avant en fin de boom, pour ton humour et ta lourdeur ;)

**A Hirsh**, notre jacky tunning à tous, pour ces supers souvenirs à la Tranche, à notre passion du whisky coca ;), pour ta gentillesse.

**A JB**, le fou des ppt, pour tes pétéchie post boom trop corsée, pour tous ces moments de rigolades, pour ton palmier au hand.

**A Adjo** (pour ton sourire à 1 million de dollars), **A Bambam** (pour ta folie et ton humour), **A Beber**, **A Yannis**, **A Christouche** (notre petite ricaine à tous), **A Max**, **A Sab** (pour ton naturel et ta gentillesse), **A Doidy**, **A Durand** (notre gros lourd du Nord et mon futur coloc), **A Giansetto**, **A Léna** (pour ta folie et ta gentillesse), **A Louise** (pour ce super groupe de clinique et pour Plumaugat the place to be), **A Marie L** (pour ce super groupe de clinique et pour ta bonne humeur permanente), **A Emilie**, **A Valoch** (notre mamie à tous), **A Baptiste** (le corrézien le plus drôle que je connaisse), **A Soph**, **A Nonne** (pour être encore plus lourd que mon coloc), **A Puech** (pour ces moments de cytobrushes), **A Clairou** (pour ta gentillesse et tes petits moments

de naïvetés qui nous font bien rire ;) **A Marie S, A Fanny** (pour ce nouvel an à Limoges et tant d'autres souvenirs), **A Paulette** (pour ta gentillesse et pour ta patience de nous supporter en soirée), **A Anaïs** (pour tous ce que tu as fait pour l'école).

**Aux vieux, A FX** (pour tes jeux du doigt à 4 h du mat), **A mes docs, A PP, A Raph, A Nico, A François, A Arthi, A Mél** (en mémoire de Shrek et Fiona), **A mes docs de week-end** (merci pour ce super week-end), **A Soia** (pour ton amour des raies manta et pour ta folie), **A Charrouin** (le pop corn le plus drôle que je connaisse), **A Anna** (la maman de tout l'ENVT, une des plus belles personnes de l'école, merci pour ta gentillesse, ton humour, ta folie, en souvenir de ce super nouvel an, à très vite j'espère), **A Mulach** (le plus moche ;) mais qui me fait bien rire), **A Rouloch et Zbik** (pour toutes nos discussions très philosophiques sur le balcon du cercle), **A Gozlan et Bastarau** (des lourds comme on les aime), **A Legros** (pour ta lourdeur et notre passion commune pour les santiags), **A Herry** (alforien, mais avec la lourdeur d'un toulousain).

**A Damas** (le meilleur des nantais, en souvenir de cette soirée bien lourde à Lisbonne, les rails du tramway doivent encore ce souvenir de notre passage, une super rencontre et amitié), **A Tristan** (le meilleur des alforiens, pour tous ces moments de rire, ces danses endiablées, ces soirées et ces discussions intéressantes, super rencontre et amitié).

**Aux jeunes, A Dudulle** (ma petite protégée, en souvenir de toutes ces danses en boom), **A Griff** (merci pour ta folie), **A Maud Pic** (ma DJ préférée, pour ta gentillesse et ta folie), **A Ruiz** (pour tous ces bons moments de Champo à l'ENVT).

**A mes poulots, A mes poulots de week end, A Barbouze, A Bati, A Bono, A JP, A Chaussende, A Loïse, A Derre, A Dorchies, A Dupont, A Sébi, A Lagarde, Thibault et Kevin** (prenez soin de la fisti et faites y vous de supers souvenirs), **A Isa**.

**A Delphine et Simon**, pour votre aide à la réalisation de cette thèse, dans la joie et la bonne humeur, merci à vous deux.

**A mes véto,**

**A l'équipe de Vizille**, pour m'avoir permis de m'initier à la médecine vétérinaire et me former au métier d'ASV, base essentielle pour être vétérinaire. **A Olivier**, ce premier vétérinaire belge rencontré qui m'a prouvé que là bas aussi on forme de bons véto ;) . Merci pour ta patience, pour la transmission de ton savoir et pour tes nombreux services rendus. Je te souhaite que de bonnes choses dans ta clinique avec ta nouvelle équipe et dans ta nouvelle maison perdue dans la montagne ;) . Merci pour tout.

**A l'équipe de Montembœuf et Roumazières, Jérôme, Jean-Baptiste, Mathieu et Stéphane**, pour ce super stage qui a confirmé mon attrait pour la rurale, pour ces supers moments de rigolades, ces supers apéros derrière la clinique, pour m'avoir fait confiance en m'offrant mon premier poste d'assistantat et pour recommencer avec mon premier poste de vétérinaire. J'ai hâte de venir travailler avec vous, pour la partie professionnelle mais aussi humaine. Merci pour tout.

**A l'équipe de Luzy, Baudoin, Franck, Philippe, Anthony et Marie**, pour ce super stage où j'ai appris énormément professionnellement et où j'ai rencontré des personnes superbes. J'ai aussi appris comment s'écrit brebis et que suivre Franck à l'apéro alors que l'on doit se lever le lendemain est risqué. Merci pour tout.



## Table des matières

Liste des figures .....	13
Liste des tableaux.....	13
Liste des principales abréviations utilisées .....	15

## **PARTIE I : PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET UTILISATION DES ANALOGUES DE LA GNRH..... 19**

<b>1. Rappels de physiologie de la reproduction chez les bovins femelles.....</b>	<b>19</b>
<b>1.1. Caractéristiques du cycle œstral .....</b>	<b>19</b>
<b>1.2. Bases hormonales .....</b>	<b>20</b>
1.2.1. L'hypothalamus et la GnRH .....	20
1.2.2. L'hypophyse, la LH et la FSH.....	21
1.2.3. La régulation du couple GnRH-LH.....	23
1.2.3.1. Par l'œstradiol .....	23
1.2.3.2. Par la progestérone .....	23
<b>1.3. Dynamique ovarienne.....</b>	<b>23</b>
1.3.1. Les follicules .....	24
1.3.2. Les vagues folliculaires du cycle ovarien.....	26
1.3.3. L'ovulation .....	28
1.3.4. Lutéogenèse, lutéotrophie et lutéolyse.....	29
<b>1.4. Expression comportementale de l'œstrus .....</b>	<b>31</b>
<b>2. Utilisations chez la vache des analogues commercialisés de la GnRH : la gonadoréline, la buséréline et la léciréline .....</b>	<b>33</b>
<b>2.1. Caractéristiques des molécules .....</b>	<b>33</b>
<b>2.2. Effets de la GnRH sur la production de LH .....</b>	<b>35</b>
2.2.1. En phase folliculaire.....	35
2.2.2. En phase lutéale.....	36
<b>2.3. Effets de la GnRH sur la production de progestérone et sur le corps jaune....</b>	<b>36</b>
2.3.1. En phase folliculaire.....	36
2.3.2. En phase lutéale.....	37
<b>2.4. Effets de la GnRH sur la dynamique folliculaire .....</b>	<b>39</b>
<b>2.5. Indications thérapeutiques de la GnRH incluses dans le RCP (Résumé des caractéristiques du Produit) .....</b>	<b>40</b>
2.5.1. Traitement des kystes folliculaires (toutes les molécules).....	40
2.5.2. Traitement en phase folliculaire pour les femelles à ovulation nulle ou retardée (toutes les molécules).....	41
2.5.3. Traitement de l'anœstrus <i>post-partum</i> (buséréline seulement) .....	42

<b>2.6. Utilisations hors RCP</b> .....	43
2.6.1. Synchronisation des chaleurs sur des femelles cyclées : le protocole GPG .....	43
2.6.2. Amélioration de la survie embryonnaire par la GnRH injectée 11 à 14 jours après l'IA .....	44

## **PARTIE II : MATERIELS ET METHODES**..... 45

<b>1. Animaux et conditions expérimentales</b> .....	45
1.1. Animaux.....	45
1.2. Logement et alimentation.....	46
1.3. Surveillance des vaches.....	46
1.4. Pathologies et traitements concomitants .....	46
<b>2. Protocole expérimental</b> .....	46
2.1. Analogues de la GnRH utilisés.....	46
2.2. Schéma expérimental.....	47
2.2.1. Habituation et pré-synchronisation des chaleurs .....	47
2.2.2. Constitution des groupes et définition des séquences.....	47
2.2.3. Schéma expérimental d'une période .....	48
2.2.4. Chronologie de l'étude expérimentale.....	49
2.3. Surveillance des chaleurs.....	49
2.4. Prélèvements sanguins et examens échographiques .....	49
2.5. Dosages hormonaux.....	51
<b>3. Base de données</b> .....	51
<b>4. Analyses statistiques</b> .....	52

## **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION** ..... 55

<b>1. Résultats</b> .....	55
1.1. Effet des différentes GnRH sur les concentrations plasmatiques en LH.....	55
1.2. Dynamique ovarienne.....	57
1.3. Progestérone.....	61
<b>2. Discussion</b> .....	66
2.1. Aspects méthodologiques .....	66
2.1.1. Excellence de l'étude.....	66
2.1.2. Pertinence de l'étude.....	67
2.2. Discussion des résultats.....	68
2.2.1. Dynamique ovarienne .....	68
2.2.2. Progestérone .....	70
2.3. Intérêts et perspectives de l'étude.....	72
Références bibliographiques .....	75

## Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique de l'axe hypothalamo-hypophysaire

Figure 2 : Représentation schématique du contrôle de la stéroïdogénèse par les hormones hypophysaires dans le follicule préovulatoire bovin

Figure 3 : Représentation schématique d'un follicule primordial

Figure 4 : Représentation schématique d'un follicule primaire

Figure 5 : Représentation schématique d'un follicule secondaire

Figure 6 : Représentation schématique d'un follicule de De Graaf

Figure 7 : Les vagues de croissance folliculaire et évolutions des concentrations de LH, œstradiol et progestérone au cours du cycle œstral chez la vache (d'après Roche 1996 et Martin 2013).

Figure 8 : Structure chimique de la molécule de GnRH naturelle (gonadolibérine) décapeptide

Figure 9 : Structure chimique de la molécule de Buséreline (analogue agoniste de la gonadolibérine), nonapeptide

Figure 10 : Structure chimique de la molécule de Léciréline (analogue agoniste de la gonadolibérine), nonapeptide

Figure 11 : Représentation schématique du protocole GPG ou Ovsynch

Figure 12 : Chronologie des différentes périodes et des étapes clés de l'étude

Figure 13 : Planning des prélèvements sanguins (PS) et des échographies ovariennes effectués au cours d'une période

Figure 14 : Evolution temporelle des concentrations plasmatiques de LH (ng/mL) après une administration intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose de 25 et de 50 µg et de 10 µg de buséreline chez une génisse représentative

Figure 15 : Perte de la dominance du follicule dominant par ovulation suite à l'injection de GnRH et apparition d'une structure lutéale secondaire, observées par échographie sur une génisse représentative

Figure 16 : Perte de la dominance du follicule dominant par lutéinisation suite à l'injection de GnRH, observée par échographie sur une génisse représentative

Figure 17 : Evolution temporelle des concentrations plasmatiques corrigées de progestérone après administration intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose 25 et 50 µg et de 10 µg de buséreline chez 12 génisses Prim'Holstein

Figure 18 : Evolution temporelle des moyennes des concentrations plasmatiques corrigées de progestérone après administration intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose 25 et 50 µg et de 10 µg de buséreline pour 12 génisses Prim'Holstein

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumé des principales caractéristiques des cycles ovariens à 2 et 3 vagues chez la vache (d'après Picard-Hagen et al., 2008)

Tableau 2 : Synthèse bibliographique des valeurs moyennes des concentrations plasmatiques maximales de LH au pic préovulatoire, selon la catégorie d'animaux et le type de cycle (ovulation spontanée ou induite)

Tableau 3 : Caractéristiques de l'évolution des concentrations plasmatiques de progestérone au cours du cycle œstral chez la vache

Tableau 4 : Taux d'ovulation suite à l'injection de 100 µg de gonadoréline (diacétate tétrahydrate) sur des génisses allaitantes en fonction du moment de l'administration de GnRH au cours du cycle (d'après Colazo et al., 2008 ; Alkins et al., 2008)

Tableau 5 : Caractéristiques des animaux (identification, âge, poids et GMQ) au cours de l'étude

Tableau 6 : Molécule, nom déposé, fabricant, posologie, volume injecté et voie d'administration des traitements analogues de la GnRH utilisés dans l'étude

Tableau 7 : Plan expérimental en carré latin et répartition des génisses et des traitements à la GnRH en fonction des périodes et des séquences de l'étude

Tableau 8 : Valeurs moyennes et écart-type des concentrations plasmatiques maximales en LH ( $C_{max_{LH}}$ ), de leur temps d'occurrence ( $T_{max_{LH}}$ ) et leur aire sous la courbe ( $AUC_{LHD0D4}$ ), obtenus après l'injection intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose de 25 et de 50 µg et de 10 µg de buséréline chez des génisses Prim'Holstein (Les valeurs d'une même colonne, présentant des exposants différents sont significativement différentes)

Tableau 9 : Devenir du follicule dominant, suivi par échographie après une injection intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose de 25 et de 50 µg et de 10 µg de buséréline chez 12 génisses (Les valeurs d'une même colonne, présentant des exposant différents sont significativement différentes), entre parenthèses le nombre de génisses

Tableau 10 : Devenir du follicule dominant suivi par échographie, suite à une injection de GnRH en fonction de la concentration plasmatique de progestérone à l'administration de GnRH (5,37 ng/mL, valeur médiane des 46 valeurs de concentrations de progestérone au moment de l'injection de GnRH)

Tableau 11 : Devenir du follicule dominant suivi par échographie, suite à une injection de GnRH, en fonction de l'AUC de LH obtenue

Tableau 12 : Devenir du follicule dominant suivi par échographie, suite à une injection de GnRH, en fonction de la concentration plasmatique maximale de LH atteinte lors du pic de LH induit

Tableau 13 : Délai entre l'injection de GnRH et la disparition de la dominance du follicule dominant selon la GnRH utilisée, la concentration plasmatique de progestérone lors de l'injection, l'AUC de LH obtenue et la concentration plasmatique maximale de LH lors du pic de LH induit

Tableau 14 : Démarrage d'une nouvelle vague folliculaire selon la GnRH utilisée, la concentration plasmatique de progestérone lors de l'injection, l'AUC de LH obtenue, la concentration plasmatique maximale de LH lors du pic de LH induit et l'évolution du follicule dominant

Tableau 15 : Valeurs moyennes et écart-types des différences de progestéronémie entre J4 et J0 post administration intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose 25 µg et 50 µg et de 10 µg de buséréline pour 12 génisses Prim'Holstein

Tableau 16 : Différence de progestéronémie entre J4 et J0 en fonction de la concentration plasmatique de progestérone lors de l'injection, l'AUC de LH, la concentration plasmatique maximale de LH lors du pic de LH, l'évolution du follicule, l'apparition d'une structure lutéale secondaire, le diamètre du follicule dominant à l'ovulation et le jour d'apparition de la structure lutéale secondaire

Tableau 17 : Jour moyen de détection échographique de la structure lutéale secondaire et écart-type selon les périodes

Tableau 18 : Synthèse bibliographique des valeurs de concentration de progestérone et leur augmentation des jours 6 à 10 et des jours 7 à 11 d'un cycle

Tableau 19 : Synthèse bibliographique des valeurs de concentration de progestérone et leur augmentation des jours 0 à 3 d'un cycle physiologique

## **Liste des principales abréviations utilisées**

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique

AUC : Area Under the Curve (aire sous la courbe)

CJ : Corps Jaune

ET : Ecart-Type

FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante

GMQ : Gain Moyen Quotidien

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone

IA : Insémination Artificielle

IM : Intramusculaire

IV : Intraveineuse

LH : Luteinizing Hormone : hormone lutéinisante

PGF2 $\alpha$  : Prostaglandine F2 alpha

PS : Prélèvement Sanguin

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit





La reproduction bovine est actuellement un axe important de recherche en médecine vétérinaire. En effet, la sélection génétique, orientée pendant de nombreuses années uniquement vers la production laitière, a eu un effet délétère sur la fertilité des vaches. La maîtrise de la reproduction constitue donc un objectif prioritaire pour la réussite économique de l'élevage.

La GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone) est identifiée comme ayant un rôle clef dans le contrôle de la reproduction, ce qui a conduit à la synthèse de nombreux agonistes de la GnRH dont trois sont commercialisés en France : la gonadoréline (Cystoréline®), la buséréline (Réceptal®) et la léciréline (Reproréline®). La compréhension des mécanismes endocriniens de contrôle de la dynamique ovarienne est un point crucial pour déterminer les indications zootechniques et thérapeutiques de ces agonistes.

Dans cette optique, la comparaison des effets biologiques des différents analogues de la GnRH disponibles en France est essentielle pour rationaliser leur utilisation. Or, à notre connaissance, il n'existe pas d'étude *in vivo* qui ait comparé les effets de la gonadoréline, la buséréline et la léciréline. C'est dans ce contexte que notre étude a eu comme objectif de comparer la réponse à ces trois GnRH en termes de sécrétion de LH (abordée dans la thèse de Merle, 2014) et en termes de sécrétion de progestérone et de dynamique ovarienne (évolution du follicule dominant, apparition d'une structure lutéale secondaire et démarrage d'une nouvelle vague folliculaire). Cette étude avait également comme objectif de tester l'effet de la léciréline à dose deux fois moins élevée que celle recommandée dans le dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché.

Dans une première partie, les éléments de physiologie de la reproduction de la vache, indispensables à la compréhension de l'effet des analogues de la GnRH, seront rappelés, ainsi que leurs différentes applications zootechniques et thérapeutiques et leurs effets sur la sécrétion hormonale et la dynamique ovarienne. L'étude expérimentale sera présentée selon un plan classique. Les matériels et méthodes seront exposés dans une deuxième partie, puis les résultats seront présentés et discutés dans une troisième partie.



# **PARTIE I: PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET UTILISATION DES ANALOGUES DE LA GNRH**

## **1. Rappels de physiologie de la reproduction chez les bovins femelles**

La compréhension de la physiologie de la reproduction des bovins femelles permet d'actionner des leviers pour la contrôler. La reproduction est un axe essentiel en élevage bovin et son contrôle permet ainsi d'améliorer considérablement les résultats zootechniques d'un élevage.

### **1.1. Caractéristiques du cycle œstral**

Les vaches ont un cycle sexuel œstral comportant quatre périodes (pro-œstrus, œstrus, metœstrus et dioœstrus). L'œstrus est défini comme la période d'acceptation du chevauchement. Les vaches présentent un cycle de type polyœstrus non saisonnier, c'est-à-dire que le cycle se répète tout le long de l'année sans anœstrus saisonnier, si aucun événement physiologique, comme l'anœstrus de gestation, de lactation ou pathologique n'intervient. Les cycles débutent à la puberté, atteinte en moyenne à l'âge de 6 à 18 mois, et se manifestent tout au long de la vie.

Le cycle peut être décrit à partir d'une autre terminologie qui divise le cycle en deux phases : la phase folliculaire et la phase lutéale. J0 est généralement défini comme le jour de l'ovulation.

Au niveau ovarien, la phase folliculaire est celle du développement du follicule ovulatoire et de l'ovulation. Elle comprend :

- le proœstrus qui dure environ 3 jours (J-3 à J-1) qui comprend la régression du corps jaune du cycle précédent (voir I. 1.3.4.3.) et la croissance terminale du follicule dominant. Ce dernier produit de plus en plus d'œstradiol sous l'effet de l'augmentation de la fréquence des pulses de LH, passant d'un pulse de moyenne amplitude toutes les 3 heures à environ un pulse par heure (Rahe et al., 1980). Cette augmentation de la pulsativité de LH s'explique par la levée de l'inhibition de sécrétion de la GnRH par la progestérone (voir I. 1.3.4.3).
- l'œstrus dure de 5 à 18 heures en moyenne (J-1) et est caractérisé par l'acceptation du mâle et le chevauchement, dus à l'augmentation des concentrations plasmatique en œstradiol (voir I. 1.3.2. et 1.3.3.). Contrairement aux autres mammifères domestiques, la vache n'ovule pas pendant cette phase, mais au début de la phase suivante (J0), une fois le comportement d'œstrus terminé.

Le passage à la phase lutéale est donc marqué par l'ovulation (J0) ayant lieu entre 6 et 10 heures après la fin de l'œstrus (Ginther et al., 2013). Chez la vache, l'ovulation, qui est caractérisée par l'expulsion de l'ovocyte hors du follicule, est spontanée, c'est-à-dire qu'elle n'est pas provoquée par l'accouplement mais par un stimulus hormonal.

Au niveau ovarien, la phase lutéale est celle du développement, du maintien puis de la régression du corps jaune. Elle comprend :

- Le metœstrus, qui correspond à la mise en place du corps jaune, dure 2 à 3 jours (J1 à J3).
- Le dicœstrus dure environ 14-15 jours (J4 à J19) et correspond à la fin de la croissance du corps jaune, à son maintien jusqu'à sa régression qui débute entre le 9<sup>ième</sup> et 12<sup>ième</sup> jour de cette phase (J13 à J16). Le corps jaune cesse de produire de la progestérone au 15<sup>ième</sup> jour de cette phase (J19).

Un cycle dure donc en moyenne 21 jours chez les vaches. S'il n'y a pas eu fécondation, les cycles se succèdent.

## **1.2. Bases hormonales**

L'activité sexuelle est contrôlée chez la vache pubère par l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.

### **1.2.1. L'hypothalamus et la GnRH**

L'hypothalamus est la région de l'encéphale localisée sous le thalamus. Il est constitué d'un amas de neurones dont les corps cellulaires constituent des noyaux hypothalamiques, au nombre de trois : antérieur, médian et postérieur (Figure 1). Ces derniers synthétisent des neurohormones, classées en deux grandes familles :

- les -RH (Releasing Hormone) favorisant la libération des hormones antéhypophysaires
- les -IH (Inhibiting Hormone) inhibant la libération des hormones antéhypophysaires

Nous nous intéresserons ici à la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone ou Gonadolibérine), qui stimule la libération hypophysaire de LH (Luteinising Hormone) et de FSH (Follicle Stimulating Hormone).

La GnRH est directement libérée dans les vaisseaux du système porte hypothalamo-hypophysaire. Ce dernier est constitué de capillaires qui relient l'hypothalamus, où des neurones y déversent des molécules de GnRH, à l'hypophyse (Figure 1). Ce système, en court-circuitant l'effet de dilution et de métabolisme, permet ainsi à la GnRH d'atteindre les cellules cibles sur l'adénohypophyse à des concentrations bien plus élevées que dans la circulation générale. De récentes études, ont montré qu'il existe aussi des récepteurs à la GnRH hors de l'adénohypophyse, notamment sur les follicules et corps jaunes des ovaires mais aussi dans la moelle épinière (Ramakrishnappa et al., 2001 ; Dolan et al., 2003 et Rizzo et al., 2011).

Expérimentalement, la mesure de la concentration de GnRH dans le sang porte hypothalamo-hypophysaire, a permis de montrer que la sécrétion de GnRH se fait de manière pulsatile. Chaque pulse (épisode de libération hormonale intense et bref) de GnRH disparaît du sang porte en moins de 5 minutes et provoque de façon instantanée un pulse de LH dans la

circulation générale. La GnRH module de façon moins directe la production de FSH, également modulée par des facteurs gonadiques et des facteurs externes.

La pulsatilité de la sécrétion de GnRH est déterminée par un système générateur de pulses, qui toutes les 15 à 30 minutes (rythme basal) provoque une libération de GnRH. Chaque neurone a une activité rythmique et la libération pour tous les neurones est synchrone. Cette méthode de signal est très efficace, en effet, un changement de fréquence d'un signal périodique est une méthode plus efficace pour envoyer une information qu'une variation d'amplitude d'un signal monotone. Cela évite un effet bruit de fond créé par d'autres hormones. Par exemple, une haute fréquence de pulses de GnRH favorise surtout la libération de LH alors qu'une basse fréquence de pulses de GnRH favorise plutôt une libération de FSH (Schneider et al., 2006). De plus, cette pulsatilité évite le phénomène de désensibilisation des récepteurs au GnRH.

### 1.2.2. L'hypophyse, la LH et la FSH

L'hypophyse est située dans la selle turcique, dépression osseuse, sous l'encéphale. C'est un organe bilobé, constitué de deux zones anatomiquement distinctes : une zone glandulaire, l'adénohypophyse et une zone nerveuse, la neurohypophyse (Figure 1).

L'adénohypophyse est une glande qui produit des substances libérées dans la circulation générale et qui à partir de cinq types différents de cellules produit six hormones différentes. Les cellules gonadotropes synthétisent les hormones gonadotropes : la LH (lutéotropine ou Luteinizing Hormone) et la FSH (follitropine ou Follicle-Stimulating Hormone).

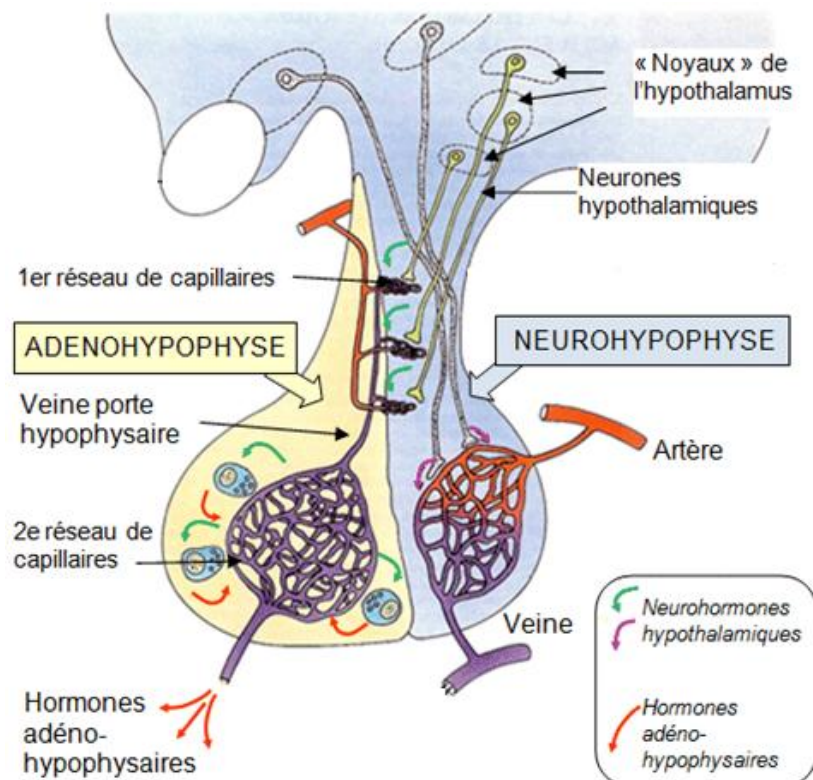


Figure 1 : Représentation schématique de l'axe hypothalamo-hypophysaire

Ces hormones sont des glycoprotéines constituées de deux sous-unités différentes. Elles sont libérées dans la circulation générale de façon pulsatile et ont une action courte sur les gonades, leur demi-vie étant de 30 minutes pour la LH et 2 à 4 heures pour la FSH.

Il existe une fréquence basale de pulses de LH et FSH d'amplitudes faibles, concomitants des pulses de GnRH, qui est d'environ un pulse toutes les 15 à 30 minutes. L'amplitude et la durée de ces pulses sont déterminées par la fréquence des pulses de GnRH. Un pic de grande amplitude et de durée élevée (comme le pic préovulatoire de LH) sera obtenu par la superposition des pulses d'hormones gonadotropes, due à l'augmentation de leur fréquence induite par l'augmentation de la fréquence des pulses de GnRH.

La LH et la FSH vont agir sur les ovaires en stimulant la stéroïdogénèse, en mobilisant le cholestérol qui est le précurseur des hormones stéroïdes, au niveau des cellules de la thèque et de la granulosa des follicules et des cellules lutéales du corps jaune.

L'action de FSH est restreinte aux cellules de la granulosa, seules à posséder des récepteurs FSH, présents à tous les stades de développement folliculaire. A l'opposé, la LH exerce son action sur les deux types de cellules folliculaires et sur le corps jaune par le biais de récepteurs à la LH dont la présence dépend du stade de développement.

La LH, en se liant à des récepteurs sur les cellules de la thèque, stimule la synthèse d'androgènes. La FSH, en se liant à des récepteurs des cellules de la granulosa, stimule la transformation en œstradiol des androgènes thécaux. Les cellules de la granulosa acquièrent les récepteurs à la LH, de façon retardée, sous l'effet de FSH.

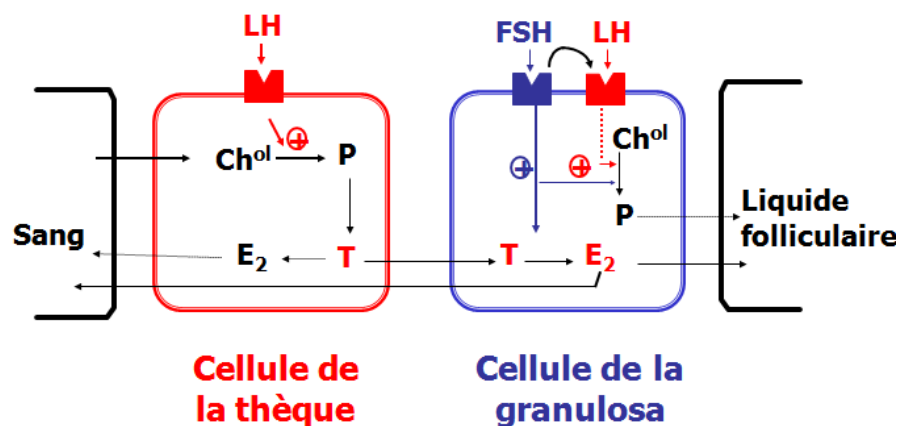


Figure 2 : Représentation schématique du contrôle de la stéroïdogénèse par les hormones hypophysaires dans le follicule préovulatoire bovin (Ch<sup>ol</sup> : cholestérol, E<sub>2</sub> : œstradiol, P : progestérone, T : testostérone)

### 1.2.3. La régulation du couple GnRH-LH

#### 1.2.3.1. Par l'œstradiol

D'une façon générale l'œstradiol induit un **rétrocontrôle négatif** sur la production de GnRH. Au cours du cycle, l'œstradiol est produit par les follicules en croissance sous l'action de pulses de LH, et donc de pulses de GnRH, de faibles amplitudes mais de fréquences élevées. L'œstradiol produit inhibe la fréquence des pulses de GnRH.

Autour du pic préovulatoire de LH, le rétrocontrôle de l'œstradiol est modifié. En effet, lors du pro-œstrus, une progestéronémie basse associée à une grande taille du follicule préovulatoire qui sécrète de l'œstradiol, au dessus d'un certain seuil de concentration, induit un **rétrocontrôle positif** sur l'hypothalamus (Schneider et al., 2006), augmentant ainsi la fréquence des pulses de GnRH, par le biais de neuro-hormones. Cette œstradiolémie élevée induit aussi une sensibilisation de l'hypophyse à la GnRH (Kowase et al., 2007). En effet, la densité de récepteurs à GnRH sur l'hypophyse augmente à partir du 18<sup>ième</sup> jour du cycle œstral de la vache, stimulée par la GnRH elle-même et par l'œstradiol (Schneider et al., 2006). Ainsi ces deux mécanismes induisent un pulse de LH de grande amplitude et s'étalant sur environ 10 heures (Ginther et al., 2013).

#### 1.2.3.2. Par la progestérone

La fréquence des pulses de GnRH (et donc de LH) est diminuée par la progestérone qui se fixe à ses récepteurs hypothalamiques (Rajamahendran et al., 1998 ; Schneider et al., 2006). De plus, la progestérone exerce un effet inhibiteur sur la synthèse d'œstradiol par les follicules en croissance (Dias et al., 2010).

Enfin d'autres hormones telles que le cortisol ou la leptine (Schneider et al., 2006) et des facteurs externes à l'axe gonadotrope tels que le stress, une croissance insuffisante, un état corporel insuffisant ou encore des stimuli olfactifs sont capables de moduler l'activité ovarienne par le biais du contrôle de la fréquence de la pulsativité de GnRH chez la vache (Shephard et al., 2014).

La GnRH est donc le chef d'orchestre du contrôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien chez la vache, qui régule en particulier la croissance folliculaire et le cycle ovarien.

## 1.3. Dynamique ovarienne

Les ovaires sont des glandes paires. L'ovaire est constitué d'une médulla centrale et d'un cortex périphérique qui est le siège de l'activité folliculaire. Dès la vie fœtale, le stock de follicules primordiaux contenant les ovocytes I bloqués au stade prophase de la première division de méiose est formé. A la naissance, le nombre de follicules primordiaux s'élève à environ 133 000 (Erickson, 1966). Ce stock reste stable jusqu'à la puberté, puis le nombre de follicules primordiaux décline progressivement tout au long de la vie de la vache.



### 1.3.1. Les follicules

Le follicule en croissance passe par différents stades morphologiques, dont une phase d'accroissement de la taille de l'ovocyte accompagnée d'une prolifération des cellules somatiques qui l'entourent.

Le plus petit follicule observé est le follicule primordial constitué de l'ovocyte entouré d'une couche de cellules folliculeuses, ébauche de la granulosa.

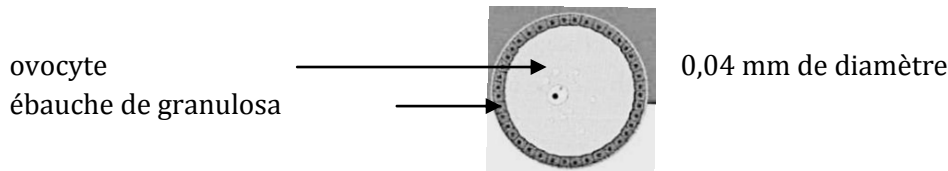


Figure 3 : Représentation schématique d'un follicule primordial

Les cellules folliculeuses prolifèrent pour former d'abord un épithélium cubique monostratifié puis une structure pluristratifiée : la granulosa. L'assise cellulaire la plus interne, bordant l'ovocyte, prend le nom de corona radiata. Une couche mucoprotéique formée conjointement par l'ovocyte et les cellules de la corona radiata, se met en place dans l'interstice entre ces deux derniers, formant ainsi la zone pellucide. A ce stade, le follicule est qualifié de follicule primaire.

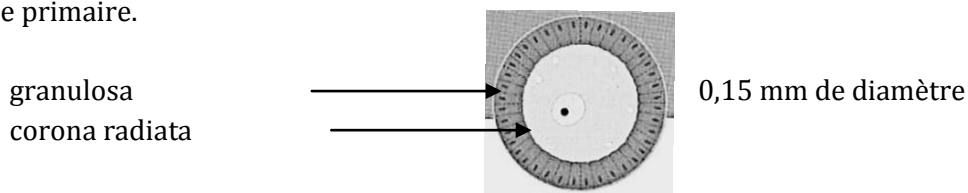


Figure 4 : Représentation schématique d'un follicule primaire

Les follicules primordiaux et primaires constituent le groupe des follicules préantraux (précavitaires).

Au cours de la phase de maturation, la prolifération des cellules de la granulosa se poursuit activement, augmentant le diamètre du follicule. Au sein de la granulosa, se creuse une cavité appelée antrum dans laquelle s'accumulent les produits de sécrétion des cellules folliculaires. A ce stade, le follicule prend le nom de follicule secondaire. La condensation des cellules périfolliculaires du stroma ovarien entraîne leur différenciation et forme ainsi la thèque constituée de la thèque interne et la thèque externe. Des vaisseaux sanguins colonisent les deux thèques, mais ne traversent pas la membrane basale séparant la thèque interne de la granulosa, laissant cette dernière avascularisée.

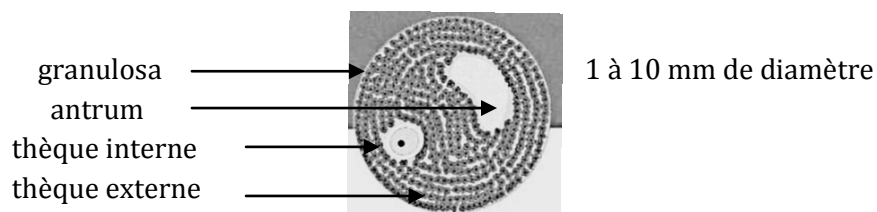
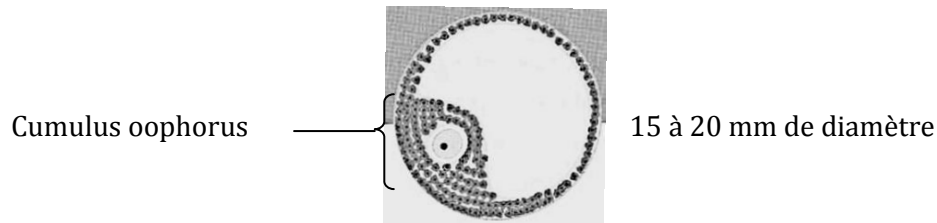


Figure 5 : Représentation schématique d'un follicule secondaire

Au cours des stades terminaux du développement folliculaire, le volume de l'antrum augmente de façon très importante et l'ovocyte est refoulé à un pôle de l'antrum, entouré de la zone pellucide et de quelques assises de cellules folliculeuses. L'ensemble, qui fait saillie dans l'antrum, porte le nom de cumulus oophorus. L'étape finale de la croissance folliculaire est le follicule préovulatoire ou follicule de De Graaf.



**Figure 6** : Représentation schématique d'un follicule de De Graaf

Les follicules secondaires et les follicules de De Graaf constituent le groupe des follicules antraux (cavitaires).

La croissance folliculaire est un processus continu qui débute durant la vie fœtale mais dépasse rarement le stade de follicule primaire. En effet, tous les follicules qui ont entamé leur croissance avant la puberté subissent une atrophie avant d'atteindre les stades terminaux. A la puberté, sous l'influence des gonadotropines hypophysaires, les cycles œstraux se succèdent et sont caractérisés par la folliculogénèse terminale, avec des follicules évoluant jusqu'au stade préovulatoire, c'est-à-dire susceptibles d'ovuler en réponse à un pic de LH. La folliculogénèse est un phénomène continu puisque chaque jour de 50 à 80 follicules primordiaux entrent en croissance chez la vache. La croissance des follicules préantraux est très lente, par contre le développement terminal des follicules (vague de croissance folliculaire) s'effectue en 7 à 10 jours. Ces follicules grossissent donc de façon exponentielle au cours du temps. Ainsi, l'ovulation lors d'un cycle œstral est le résultat d'un phénomène ayant débuté de nombreux cycles auparavant. En effet, le développement du follicule du stade primordial au stade pré-ovulatoire dure en moyenne 5 mois (Webb et al., 2004).

La croissance des follicules est régulée par différents facteurs ou hormones, ce qui permet de les classer en 4 groupes selon leur taille.

Les follicules de moins de 1 mm de diamètre sont capables de croître indépendamment des hormones gonadotropes (Adams et al., 2008).

Les follicules de moins de 4 mm de diamètre étaient anciennement considérés comme indépendants des hormones gonadotropes pour leur croissance (De Rensis et Peters, 1999). La croissance folliculaire basale est lente et est essentiellement contrôlée par des facteurs de croissance (comme l'Insuline like Growth Factor 1) et des facteurs endocriniens (comme l'insuline). Des récepteurs à la FSH ont été décrits en 2008 (Adams et al., 2008) sur les follicules de plus de 1 mm de diamètre dont la croissance est régulée par la FSH.

Les follicules compris entre 4 et 9 mm ont une croissance rapide, d'une durée de 6 et 10 jours (Knopf et al., 1989). Cette étape est strictement dépendante de la FSH (Ginther et al., 1996). Cette dernière joue un rôle déterminant dans la différenciation des cellules de la granulosa en stimulant l'activité de l'aromatase conduisant à une production accrue d'œstradiol.

Les follicules à partir de 10 mm acquièrent des récepteurs à LH et donc la capacité à ovuler (Sartori et al., 2001). La LH stimule la stéroïdogénèse dans les cellules de la thèque et entraîne la maturation terminale des cellules de la granulosa dans les follicules préovulatoires.

### **1.3.2. Les vagues folliculaires du cycle ovarien**

Chez la vache, la population de follicules ovulatoires se renouvelle au cours du cycle par une succession de croissance et de régression folliculaires appelées « vagues ». On observe deux à trois vagues de croissances folliculaires au cours du cycle œstral chez la vache, durant chacune de 6 à 11 jours (Ginther et al., 1989). Tout le long de la vie de la vache (que la femelle soit pré pubère, cyclée, durant les premiers mois de gestation ou en post-partum) et quelle que soit la phase du cycle œstral (folliculaire ou lutéale) le développement folliculaire évolue par vagues (voir figure 7). L'atrésie folliculaire, qui entraîne la régression puis la disparition du follicule, est le devenir de la majorité des follicules. En effet, plus de 99,9% des follicules en croissance vont entrer en atrésie (régression du follicule par apoptose).

Chaque vague comprend trois phases de développement folliculaire, définies grâce à l'échographie ovarienne :

- la phase de recrutement, au cours de laquelle en moyenne 24 follicules secondaires (de 8 à 41) (Ginther et al., 1996) voient leur diamètre augmenté sur les deux ovaires, mesurant au départ environ 3 à 4 mm de diamètre. Cette phase dure 2 à 3 jours quelle que soit la durée de la vague folliculaire (Ginther et al., 1989). Le nombre de follicules recrutés à chaque vague varie beaucoup d'un individu à l'autre, mais est répétable pour une même vache au cours de sa vie (Adams et al., 2008).

Le recrutement folliculaire est stimulé par une augmentation transitoire de la concentration de FSH (Ginther et al., 1996) .

- la phase de sélection ou déviation débute lorsque l'un des follicules recrutés atteint 8,5 à 9 mm (Ginther et al., 1996), seuil à partir duquel il acquiert le premier récepteur à la LH. Le plus souvent, un seul follicule est sélectionné, plus rarement deux. A partir de ce moment, la croissance de ce ou ces follicule(s) s'accélère, et il est (ils sont) appelé(s) follicule(s) dominant(s). Cette phase dure 1 à 2 jours en moyenne.

Les follicules sélectionnés produisent de plus en plus d'œstradiol au cours de leur croissance terminale. Cette hormone exerce un rétrocontrôle négatif conduisant à une diminution de la fréquence des pulses de FSH (Ginther et al., 1996). La concentration en FSH n'est alors plus suffisante pour induire le recrutement folliculaire qui est alors stoppé.

- la phase de dominance correspond à la croissance du follicule dominant (un seul le plus souvent). Seul le follicule ayant acquis des récepteurs à LH au niveau de la granulosa continue à croître malgré la diminution des pulses de FSH. La production d'œstradiol est stimulée par la LH. La liaison de la LH sur les récepteurs de la thèque induit la formation d'AMPc activant l'aromatase. La formation d'AMPc permet également la synthèse de récepteurs à LH. La concentration d'œstradiol continue

donc d'augmenter et d'entraîner une diminution de la concentration de FSH (Ginther et al., 1996). Les autres follicules recrutés plus petits et FSH-dépendant entrent en atresie. Cette phase dure 4 à 5 jours.

Le devenir du follicule dominant dépend du contexte hormonal. Il peut soit ovuler soit évoluer vers l'atresie (voir I. 1.3.3.). A la fin d'une vague, la disparition du follicule dominant, quel que soit son devenir, permet le redémarrage d'une nouvelle vague folliculaire.

La majorité des cycles œstraux, plus de 95 %, comptent 2 ou 3 vagues folliculaires. La durée du cycle œstral varie de 18 à 21 jours pour les cycles à 2 vagues et de 21 à 25 jours pour les cycles à 3 vagues. Des études montrent que la première vague est identique pour les cycles à 2 et 3 vagues (Ginther et al., 1989) alors que d'autres auteurs ont observé une période de dominance de la première vague 3 jours plus longue pour les cycles à 2 vagues (Adams et al., 2008) comparativement à ceux à 3 vagues. Ginther et al. (1989) ont montré que le follicule dominant de la première vague finit sa croissance à 6,2 jours du cycle en moyenne pour les cycles à 2 vagues et à 6,5 jours pour les cycles à 3 vagues. La proportion de cycle à 2 ou 3 vagues est variable selon les études pour les génisses Prim'Holstein : certains montrent que les génisses ont plus de cycles à 2 vagues (9 génisses sur 10, Knopft et al., 1989 ; 20 cycles sur 24 soit 83 %, Ginther et al., 1989) alors que d'autres montrent que les génisses ont plus de cycles à 3 vagues (7 génisses sur 10 pour Fortune et al., 1988). En revanche, il semble que pour une même vache il existe une répétabilité de la dynamique folliculaire : 70 % des cycles suivent le même schéma folliculaire (Adams et al., 2008).

Le tableau 1 décrit les principales caractéristiques des cycles folliculaires à 2 ou 3 vagues (avec J0 le jour de l'ovulation).

	Cycle à 2 vagues	Cycles à 3 vagues
Jours d'émergence des vagues (J du cycle)	0-2 9-12	0-3 8-10 15-16
Jours de présence d'un follicule dominant (j du cycle)	4 à 8 15 à 21	4 à 10 13 à 16 18 à 25
Age moyen du follicule ovulatoire (j entre émergence et ovulation)	7-11	5-7
Durée de la dominance (j)	4-6	2-4
Diamètre du follicule préovulatoire (mm)	13-17	12-16
Régression du CJ (j du cycle)	16-17	18-19
Durée moyenne du cycle (j)	18-21	21-25

**Tableau 1** : Résumé des principales caractéristiques des cycles ovariens à 2 et 3 vagues chez la vache (d'après Picard-Hagen et al., 2008)

### 1.3.3. L'ovulation

L'ovulation correspond à la rupture d'un (plus rarement de plusieurs) follicule(s), mesurant au moins 10 mm (Sartori et al., 2001), permettant la libération d'un ovocyte fécondable, après émission du deuxième globule polaire. Elle définit le passage de la phase folliculaire à la phase lutéale.

Le follicule préovulatoire croît de 0,56 mm par 8h du 3,5 au 2<sup>ième</sup> jour avant l'ovulation, puis atteint une phase de plateau de 24 à 16 avant l'ovulation où sa taille est stable puis son diamètre diminue jusqu'à l'ovulation après le pic préovulatoire de LH (Ginther et al., 2013).

L'ovulation est déclenchée, d'un point de vue hormonal, par l'élévation brutale et prolongée de la concentration portale de GnRH (Karsh et al., 1997), conduisant à une décharge de LH sur une durée de 10 heures pour des cycles naturels (Ginther et al., 2013), précédant de 24 heures l'ovulation (voir figure 7). La stimulation du pic préovulatoire de LH est associée à un environnement hormonal caractérisé par une concentration plasmatique d'œstradiol élevée et une concentration plasmatique de progestérone inférieure à 1 ng/mL.

La décharge ovulante de LH induit à la fois la rupture du follicule, l'ovulation et la maturation de l'ovocyte (reprise de la méiose). La rupture du follicule est due premièrement à un effet mécanique : augmentation de la pression intra folliculaire suite à un appel d'eau dû à la présence d'acide hyaluronique sécrété sous l'action de la FSH et de la LH par les cellules du cumulus oophorus et deuxièmement à un effet chimique : digestion enzymatique de l'apex du follicule entraînant une dissociation des faisceaux de fibres de collagène de la thèque externe et un détachement des cellules de la granulosa de la lame basale.

La concentration maximale de LH au pic préovulatoire varie selon les études et les méthodes de dosage. En 2013, Martin a effectué une revue, à partir de 22 études publiées entre 1973 et 2010, compilant 40 profils de LH chez des vaches et des génisses, de différentes races et avec des chaleurs naturelles ou induites (Martin et al., 2013). La concentration plasmatique de LH maximale moyenne au pic préovulatoire a été de 10,5 ng/mL. Cette valeur varie en fonction des individus, de la race, de l'âge des animaux et des conditions expérimentales.

Le tableau 2 regroupe les valeurs moyennes de concentrations maximales de LH observées chez des génisses ou des vaches de race Prim'Holstein, suite à des chaleurs naturelles ou induites (Merle, 2014) et pour tout type de production et des chaleurs spontanées ou induites (Martin et al., 2013).

Animaux	Type de cycle	Moyenne des concentrations plasmatiques maximales de LH (ng/mL) du pic préovulatoire	Nombre d'études utilisées (nombre d'animaux au total)
Génisses	Cycle naturel	13,65	2 (19)
	Ovulation induite	13,08	5 (75)
Vaches adultes	Ovulation induite	10,77	4 (78)
Génisses et vaches adultes	Ovulation naturelle et induite	10,5	20 (plus de 170)

**Tableau 2 :** Synthèse bibliographique des valeurs moyennes des concentrations plasmatiques maximales de LH au pic préovulatoire, selon la catégorie d'animaux et le type de cycle (ovulation spontanée ou induite)

Les concentrations maximales de LH précédant une ovulation naturelle ou induite pharmacologiquement ne diffèrent pas chez les génisses Prim'Holstein. Les concentrations maximales de LH précédant une ovulation induite chez les vaches adultes sont légèrement inférieures à celles des génisses mais du même ordre de grandeur (10,8 pour 13,7 et 13,1 ng/mL).

#### **1.3.4. Lutéogenèse, lutéotrophie et lutéolyse**

Le corps jaune est un organite ovarien endocrine transitoire, formé à partir des cellules du follicule qui a ovulé. La rythmicité des événements cellulaires ovariens dépend de l'état du corps jaune. Les différentes étapes de l'évolution du corps jaune sont la lutéogenèse, la lutéotrophie et la lutéolyse qui sont comprises dans la phase lutéale.

##### *1.3.4.1. La phase de croissance ou lutéogenèse*

La formation du corps jaune est initiée post-ovulation, au cours du metœstrus, par des remaniements morphologiques et fonctionnels des cellules de la thèque et de la granulosa. On observe une angiogenèse intense de la granulosa à partir des vaisseaux qui irriguaient la thèque. Cela est rendu possible par une désorganisation de la lame basale qui séparait les cellules de la thèque de celles de la granulosa. Un caillot sanguin se met en place dans la cavité folliculaire, ce qui donne l'aspect caractéristique au corps jaune hémorragique. De plus, on note une prolifération et une différenciation (lutéinisation) des cellules de la thèque et de la granulosa (Twagiramungu et al., 1995). Les cellules de la granulosa se différencient en grandes cellules lutéales. Ces cellules ne subissent pas de mitose, ce qui explique que l'on retrouve le même nombre de cellules de la granulosa dans le follicule préovulatoire que de grandes cellules lutéales dans le corps jaune en formation (Schmitt et al., 1996b). Les grandes cellules lutéales sont responsables de 80 % de la production de progestérone au cours de la phase lutéale (Davis et al., 2003). Ces dernières produisent la progestérone de façon LH-dépendante mais produisent également de l'ocytocine. Elles sont les seules à présenter des récepteurs à la PGF2 $\alpha$  et sont donc les plus sensibles à la lutéolyse (Twagirmungu et al., 1995). Les cellules de la thèque se différencient en petites cellules lutéales et sont le siège de nombreuses mitoses (Schmitt et al., 1996b). Ces dernières produisent uniquement de la progestérone et cela sous l'effet de la LH.

##### *1.3.4.2. La phase de maintien ou lutéotrophie*

Cette phase coïncide avec le début du diœstrus, au cours duquel le corps jaune continue de croître, sécrète de la progestérone et se maintient. La progestérone exerce son rétrocontrôle négatif sur la fréquence des pulses de GnRH et donc sur les pulses de LH, dont la fréquence à cette période est d'environ 1 pulse toutes les 4-5 heures avec une grande amplitude (Hannan et al., 2010). Chaque pulse de LH entraîne une augmentation de la concentration plasmatique de progestérone avec 10 minutes de décalage (Hannan et al., 2010). La LH augmente la production de progestérone par le corps jaune en favorisant l'entrée du cholestérol dans les mitochondries des cellules lutéales (Ginther et al., 2012). De plus, la LH a un effet lutéotrope sur le corps jaune en favorisant la différenciation des petites cellules lutéales en grandes cellules lutéales (Davis et

al., 2003), ce qui augmente donc sa taille. Le corps jaune est sensible à la LH durant toutes les phases de son développement, excepté la lutéolyse (Davis et al., 2003).

#### *1.3.4.3. La phase de régression du corps jaune ou lutéolyse*

La lutéolyse est une période pendant laquelle le corps jaune régresse conduisant à une concentration plasmatique en progestérone inférieure à 1 ng/mL (Ginther et al., 2013). La concentration en progestérone diminue dès le jour 13 du cycle mais cette baisse n'est significative qu'à partir du quinzième au seizième jour (Hannan et al., 2010 ; Meier et al., 2009 et Martin et al., 2013), soit 6 jours avant l'ovulation. La lutéolyse survient par apoptose des cellules lutéales due à la fixation sur le corps jaune de prostaglandines F2 alpha (PGF2 $\alpha$ ) sécrétées de façon pulsatile par l'endomètre utérin (pulses de plusieurs heures, pendant 2 à 3 jours) sous l'action de l'ocytocine (Ginther et al., 2012 et Luck, 1989). Lors de la lutéogenèse et la lutéotrophie, la progestérone inhibe à la fois la synthèse des récepteurs endométriaux transmembranaires à l'ocytocine et la synthèse de ses propres récepteurs. La diminution du nombre de récepteurs à la progestérone dans l'endomètre utérin induit un phénomène de désensibilisation de l'endomètre à l'action de la progestérone, qui permet d'induire une augmentation de la synthèse des récepteurs à l'ocytocine (par diminution du rétrocontrôle négatif) en fin de diœstrus. L'ocytocine, produite par la neurohypophyse et par les grandes cellules lutéales (voir I. 1.3.4.1.), en se fixant sur ses récepteurs endométriaux, stimule la synthèse de PGF2 $\alpha$  qui initie alors la lutéolyse.

La régression du corps jaune est très rapide d'un point de vue fonctionnel. Elle est initiée en moins de 24 heures et est considérée comme complète quand la concentration plasmatique en progestérone est inférieure à 1 ng/mL, soit en 4 à 5 jours. D'un point de vue morphologique, cette phase est plus longue car le corps jaune en régression persiste jusqu'au 3<sup>ème</sup> jour du cycle suivant et le corps blanc ainsi formé persiste plusieurs cycles, sans production de progestérone.

Ainsi, lors de la lutéolyse, on observe un arrêt de la production de progestérone par le corps jaune ce qui entraîne une baisse de la progestéronémie. Cette baisse entraîne une augmentation de la fréquence des pulses de GnRH et donc des pulses de LH qui induisent alors la maturation folliculaire et la sécrétion d'œstradiol. L'œstradiol a un rôle stimulateur sur la synthèse de récepteurs endométriaux à l'ocytocine ce qui permet de stimuler la libération de PGF2 $\alpha$  par l'endomètre. De plus, il existe une boucle de rétroaction positive de la PGF2 $\alpha$  sur la sécrétion d'ocytocine d'origine lutéale, ce qui a pour effet d'amplifier la libération de PGF2 $\alpha$ . Un nouveau cycle peut alors reprendre.

#### *1.3.4.4. Evolution de la progestéronémie au cours de la phase lutéale*

Les profils de concentration plasmatique de progestérone au cours du cycle diffèrent selon les études, les femelles, les méthodes de dosages et la longueur du cycle. En 2013, Martin et al. ont effectué une méta-analyse sur 20 études réalisées entre 1973 et 2010, comprenant des vaches et des génisses de différentes races, dont les chaleurs étaient naturelles ou induites (voir figure 7). Le profil décrit est caractérisé par une concentration plasmatique en progestérone qui dépasse le seuil de 1 ng/mL le 3,5<sup>ème</sup> jour du cycle en moyenne, qui atteint une concentration maximale le 14<sup>ème</sup> jour à une valeur de 5,5 ng/mL, puis qui diminue à partir du 17<sup>ème</sup> jour pour passer sous le seuil de 1 ng/mL le 20<sup>ème</sup> jour.

Le tableau 3 regroupe différentes caractéristiques de l'évolution de la concentration plasmatique en progestérone au cours du cycle chez la vache.

Référence bibliographique	Jour de dépassement du seuil 1 ng/mL	Concentration maximale (ng/mL) // jour correspondant	Premier jour de diminution significative de concentration	Jour de passage sous le seuil de 1 ng/mL
Martin et al., 2013	J3,5	5,5 // J14	J17	J20
Meier et al., 2009	J3 - J4	6 - 7 // J12 à J45	J15	J17 à J19
Hannan et al., 2010	J2	9 // J13	J 15	

**Tableau 3 :** Caractéristiques de l'évolution des concentrations plasmatiques de progestérone au cours du cycle œstral chez la vache

#### 1.4. Expression comportementale de l'œstrus

L'intensité de l'expression comportementale de l'œstrus varie en fonction de plusieurs critères. Les génisses ont une expression comportementale de l'œstrus plus intense que les multipares. Des températures élevées, des productions laitières importantes, un sol glissant, des boiteries sont des facteurs qui diminuent l'expression des chaleurs. Par ailleurs, il a été montré que les vaches dont le pic de LH a été induit par l'injection de GnRH ont des comportements d'œstrus moins marqués (Lucy and Stevenson, 1986), ce qui pourrait s'expliquer par des concentrations en œstradiol plus faibles lors d'un pic de LH induit par l'injection de GnRH que lors du pic préovulatoire spontané.

La détection de l'œstrus est très importante en élevage bovin pour déterminer le moment optimal pour réaliser l'insémination artificielle. Les chaleurs peuvent être détectées grâce à des signes que l'on peut classer en deux groupes :

- les signes non spécifiques : chevauchement des congénères, reniflement de la vulve, position tête-bêche, menton d'une vache posé sur la croupe d'une autre, cajolement, flehmen, activité locomotrice importante, meuglements fréquents, diminution de l'appétit et de la production de lait
- les signes spécifiques : acceptation du chevauchement (ou immobilisation), glaires vaginaux translucides qui deviennent séro-sanguinolents après l'œstrus.

La détection de l'œstrus repose avant tout sur l'observation de ces comportements. Cependant, en raison de comportement frustré et sur une durée relativement courte et également du manque de disponibilité des éleveurs, des méthodes d'aides à la détection des chaleurs ont été développées. Des podomètres permettent de noter l'activité locomotrice d'une vache, cependant cette information n'est pas très sensible (environ de 70 %, Chanwallon et al., 2012) et peu précise (augmentation de l'activité locomotrice de J-1 à J+1). Elle ne permet pas de s'affranchir de l'observation des vaches. Des marqueurs de chevauchement, positionnés sur la croupe des vaches peuvent être utilisés. Certains (Estroprotect<sup>TM</sup>, par exemple) reposent sur un changement de couleur lors du frottement consécutif au chevauchement. Des tentatives répétées de chevauchement sans acceptation peuvent faire changer la couleur du dispositif et diminuent donc la spécificité de ce dispositif. De nombreux autres dispositifs pour aider à la détection de l'œstrus existent mais aucun ne permet de s'affranchir totalement de l'observation humaine.

Pour s'affranchir de la détection des chaleurs, des programmes de synchronisation des chaleurs sont développés, en particulier en Amérique du Nord. Ils reposent sur des protocoles associant la GnRH et la prostaglandine (GPG ou Ovsynch) ou sur des progestagènes.



La figure 7 présente un schéma récapitulatif des différentes phases du cycle œstral ainsi que l'évolution des concentrations hormonales :

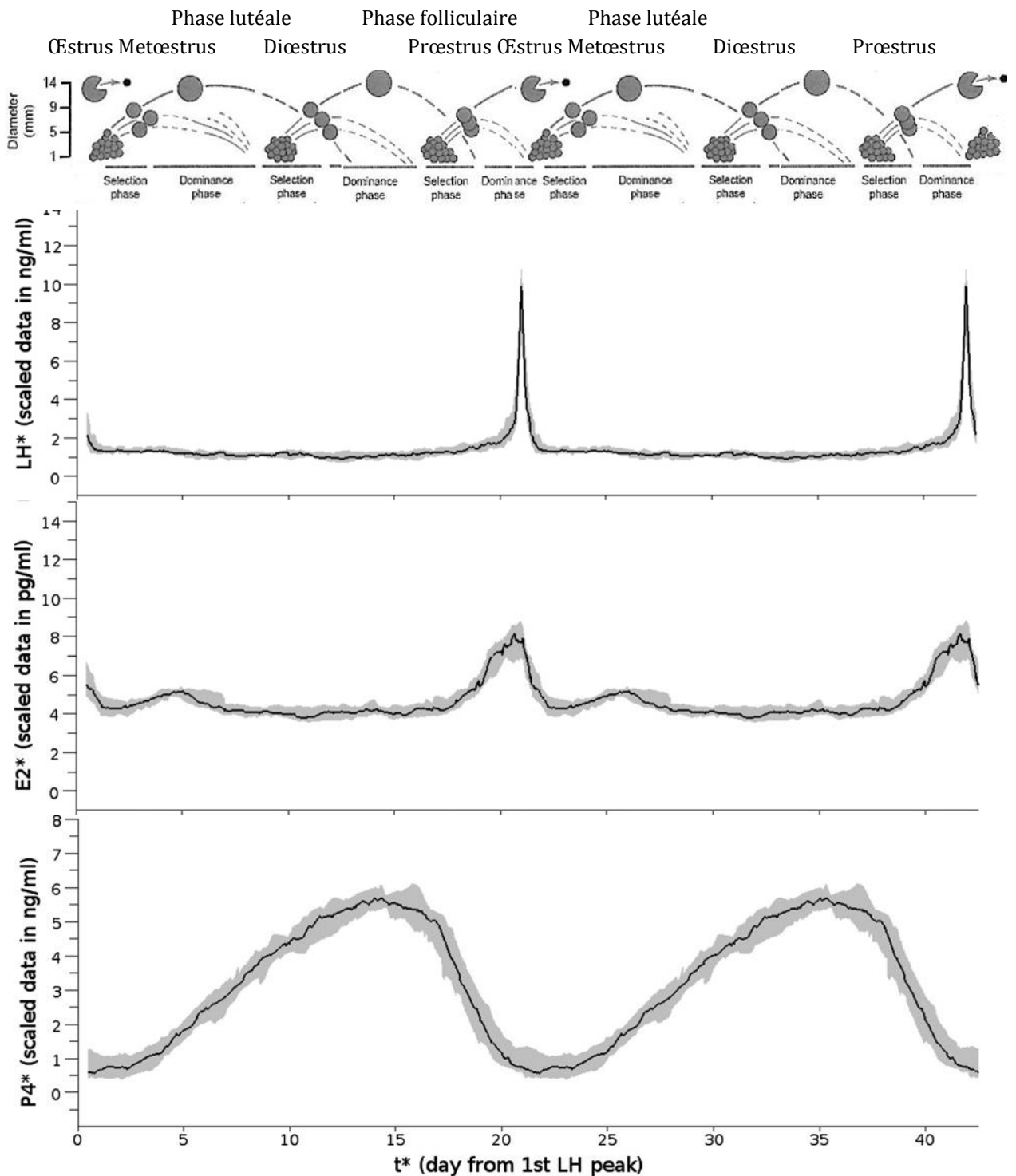


Figure 7 : Les vagues de croissance folliculaire et évolutions des concentrations de LH, œstradiol et progestérone au cours du cycle œstral chez la vache (d'après Roche 1996 et Martin 2013).

## 2. Utilisations chez la vache des analogues commercialisés de la GnRH : la gonadoréline, la buséréline et la léciréline

### 2.1. Caractéristiques des molécules

La gonadoréline, la buséréline et la léciréline sont des agonistes de la GnRH naturelle (gonadolibérine). La séquence des acides aminés de la molécule naturelle est bien conservée entre les différentes espèces d'animaux où elle a été décrite (Schneider et al., 2006) : une longueur de 10 acides aminés, avec les acides aminés en positions 1 à 4 et 9 à 10 conservés, alors que les acides aminés en positions 5, 7 et 8 sont modifiés en fonction des espèces (Robert et al., 1989). La gonadolibérine est décrite comme identique chez les bovins, les ovins, les porcins, les primates, le chien et l'homme (Beattie, 1982). Elle présente un temps de demi-vie apparent court, de l'ordre de 5 minutes (Kessler, 2001). La figure 8 représente la chaîne d'acides aminés de la GnRH naturelle.

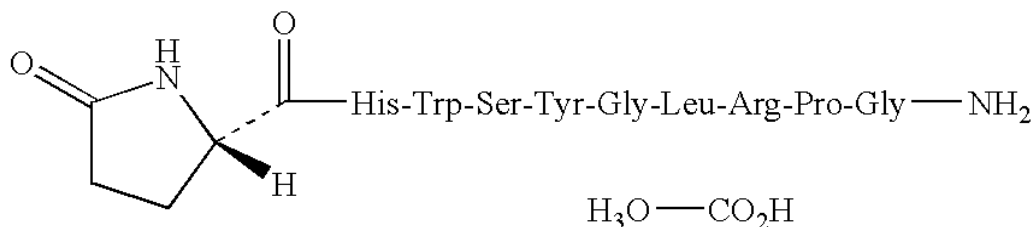


Figure 8 : Structure chimique de la molécule de GnRH naturelle (gonadolibérine) décapeptide

L'arginine en position 8 est responsable d'une part importante de l'affinité de cette molécule à son récepteur (Millar et al., 1989). De même, une substitution de la trypsine en position 3 engendre une baisse d'affinité de la molécule à son récepteur.

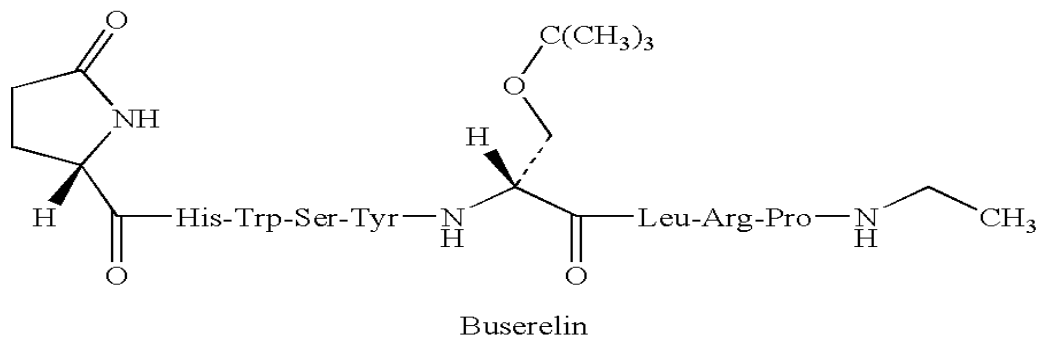
La glycine en position 6 est le site majeur de dégradation enzymatique responsable de la perte d'activité de la molécule. Cette caractéristique a été largement utilisée pour produire des analogues de synthèse, plus précisément des agonistes de cette molécule dans le but d'augmenter son temps de demi-vie. Parmi ces molécules, on distingue des agonistes, caractérisés par une affinité élevée pour le récepteur à la molécule naturelle et par leur capacité à induire un effet similaire à la molécule naturelle suite à leur liaison au récepteur.

La modification de la glycine en position 6 et la suppression de la glycine en position N terminale sont les deux principaux remaniements ayant conduit à la synthèse de la majorité des agonistes nonapeptides de la gonadolibérine. Ces deux changements augmentent l'affinité de la molécule et diminuent la dégradation enzymatique par rapport au décapeptide naturel (Fujino et al., 1972 ; Monahan et al., 1973 et Nestor et al., 1984).

La gonadoréline est un analogue de synthèse agoniste, décapeptide identique à la molécule naturelle (voir figure 8), utilisée sous forme de diacétate ou de diacétate tétrahydrate. Elle est commercialisée par le laboratoire CEVA Santé Animale, sous le nom de Cystoréline®, sous forme de diacétate tétrahydrate, à la posologie unique de 100 µg, soit 2 mL. L'AMM a été

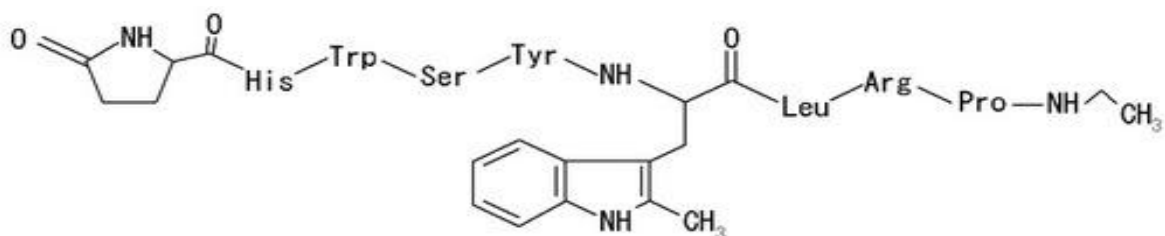
obtenue en 1981, pour la voie IM (intramusculaire) seulement. Dans 1 mL de solution il y a 50 µg de gonadoréline et 15 mg d'alcool benzylique. Le temps de demi-vie apparent est estimé à 5 minutes chez l'homme (Kessler, 2001).

La buséréline est un analogue de synthèse agoniste, nonapeptide, utilisée sous forme d'acétate. Elle diffère de la gonadolibérine par le fait que la glycine est remplacée par la sérine D-tertiaire en position 6 et par un groupement éthylamide en position 10 (voir figure 9). Elle est commercialisée par le laboratoire MSD, sous le nom de Réceptal®, à la posologie de 10 µg pour l'induction de l'ovulation, soit 2,5 mL et de 20 µg pour le traitement des kystes folliculaires et de l'anœstrus post partum, soit 5 mL. L'AMM a été obtenue en 1982. L'injection se fait généralement par voie IM, mais les voies IV (intraveineuse) et SC (sous-cutanée) peuvent être utilisées ponctuellement. Un mL de solution contient 4 ng de buséréline et 20 mg d'alcool benzylique. Le temps de demi-vie est estimé à 80 minutes chez l'homme (Kessler, 2001). La figure 9 représente la structure chimique de la buséréline.



**Figure 9 :** Structure chimique de la molécule de Buséréline (analogue agoniste de la gonadolibérine), nonapeptide

La léciréline est un analogue de synthèse agoniste, nonapeptide, utilisée sous forme d'acétate. Elle diffère par le fait que la glycine est remplacée par la leucine D-tertiaire en position 6 et par un éthylamide en position 10 (voir figure 10). Elle est commercialisée par le laboratoire Vétoquinol sous le nom de Reproréline®, à la posologie de 50 µg pour l'induction de l'ovulation, soit 2 mL et 100 µg pour le traitement des kystes folliculaires, soit 4 mL. L'AMM a été obtenue en 2004. L'injection se fait par voie IM seulement. Un mL de solution contient 25 ng de léciréline et 20 mg d'alcool benzylique. La figure 10 représente la chaîne d'acides aminés de la léciréline.



**Figure 10 :** Structure chimique de la molécule de Léciréline (analogue agoniste de la gonadolibérine), nonapeptide

## 2.2. Effets de la GnRH sur la production de LH

### 2.2.1. En phase folliculaire

Différentes études (Lucy and Stevenson, 1986 ; Rosenberg et al., 1991 ; Kaim et al., 2003 et Haughian et al., 2004 ; Merle, 2004) ont évalué le pic de LH après une injection de 10 µg de buséréline ou de 100 µg de gonadoréline en phase folliculaire (doses AMM pour l'induction de l'ovulation). Les valeurs de concentrations maximales de LH varient de 9,7 à 101 ng/mL et sont atteintes 1 à 2 heures après l'injection de GnRH et la durée d'augmentation des concentrations de LH s'étalent sur 5,5 à 10 heures.

Les variations importantes du pic de LH sont liées à la phase du cycle où la molécule est injectée :

- Injection avant le pic de LH spontané : moyenne de 20,55 ng/mL (36 vaches), atteinte environ 2 heures après l'injection de GnRH, s'étalant sur 5,5 heures environ
- Injection pendant le pic de LH spontané : moyenne de 101 ng/mL (2 vaches seulement), s'étalant sur 10h
- Injection après le pic de LH spontané : moyenne de 9,7 ng/mL (18 vaches), s'étalant jusqu'à 10 heures

Ainsi, si cette injection est réalisée avant ou pendant le pic spontané de LH, les valeurs atteintes sont supérieures à 13 ng/mL (valeur de concentration physiologique au pic de LH, voir I. 1.3.3.), et ce pic permet d'induire une ovulation. De plus, si l'injection est réalisée avant le pic de LH, alors l'intervalle moyen observé entre l'œstrus et le pic de LH est raccourci (Kaim et al., 2003).

En revanche, si cette injection est trop tardive, le pic de concentration plasmatique de LH induit est plus faible. Cela peut s'expliquer par une possible désensibilisation de l'hypophyse à l'effet de la GnRH dans les 48 heures qui suivent une première libération de GnRH (Chenault et al., 1990).

Plusieurs études ont comparé l'évolution des concentrations de LH après une injection de GnRH lors de la phase folliculaire (progestéronémie basse) ou lors de la phase lutéale (progestéronémie élevée). En période lutéale, on obtient une concentration maximale moyenne de LH au pic de 15 ng/mL, atteint 2 heures après injection de 100 µg de gonadoréline. Alors qu'en période folliculaire la concentration maximale moyenne de LH au pic est 30 ng/mL, atteint 2 heures après une injection de 100 µg de gonadoréline (Dias et al., 2010). Cela met en évidence que la chute de concentration en progestérone autour de l'œstrus permet une levée de l'effet inhibiteur de la progestérone sur la libération de LH en réponse au GnRH.

De façon générale, une injection de GnRH au cours de la phase folliculaire (contexte de concentration basse en progestérone) induit un pic de LH avec un délai de 2 heures et s'étalant sur 6 à 7 heures alors qu'un pic de LH spontané dans un même contexte s'étale sur 10 à 12 heures. Il en résulte une valeur de l'AUC de la concentration de LH supérieure pour les pics préovulatoires spontanés par rapport aux pics de LH induits (Kaltenbach et al., 1974).

### **2.2.2. En phase lutéale**

La synthèse bibliographique des différentes études évaluant le pic de LH après une administration de 100 µg de gonadoréline (dose AMM pour l'induction de l'ovulation) en phase lutéale indique les concentrations maximales au moment du pic de LH suivantes :

- de 6,6 ng/mL atteintes 1 à 2 heures après la GnRH administrée entre les jours 5 et 7 du cycle (Bentley et al., 1998),
- de 6,6 ng/mL atteintes 1 à 2 heures après la GnRH administrée entre les jours 6 et 7 du cycle (Martinez et al., 2003), le pic de LH s'étalant sur 4 à 6 heures,
- de 19 à 23 ng/mL atteintes 30 minutes à 2 heures après la GnRH administrée le 7<sup>ème</sup> jour du cycle (Souza et al., 1998), le pic de LH s'étalant sur 4 à 6 heures.

Ainsi, les concentrations maximales du pic de LH induit par la GnRH sont en moyenne de 9 ng/mL, soit une valeur légèrement inférieure aux concentrations maximales du pic de LH physiologique. En outre, la durée du pic de LH induit en phase lutéale est de 4 à 6 heures, ce qui est largement inférieure à la durée du pic préovulatoire spontané (10 à 12 heures). Ce résultat est en accord avec le fait que la libération de LH est négativement corrélée avec la concentration plasmatique en progestérone au moment de l'injection de GnRH (Kaltenbach et al., 1974). En effet, la concentration plasmatique en progestérone est plus élevée au cours de la phase lutéale que lors de la phase folliculaire.

Cette valeur de 9 ng/mL est similaire à la valeur observée après une injection de GnRH en phase folliculaire qui suit le pic préovulatoire de LH, mais inférieure aux valeurs observées pour une injection de GnRH en phase folliculaire réalisée avant ou pendant le pic préovulatoire.

La réponse en termes de sécrétion de LH à une injection de GnRH en phase lutéale est dépendante de la dose (Palasz et al., 1989) et atteint un plateau de réponse maximale (Kaltenbach et al., 1974). De plus, cette réponse en termes de LH dépend également de la molécule et de sa puissance. Ainsi, la buséréline permet d'obtenir le même niveau de libération de LH avec une dose 50 à 70 fois plus petite que la gonadoréline (Nawito et al., 1977). La réponse en termes de LH peut varier en fonction du sel de la molécule, comme par exemple l'acétate, le diacétate tétrahydrate et l'hydrochloride pour la gonadoréline (Souza et al., 1998).

## **2.3. Effets de la GnRH sur la production de progestérone et sur le corps jaune**

### **2.3.1. En phase folliculaire**

Les différentes études évaluant la formation du corps jaune et donc la production de progestérone induite par une injection de GnRH en phase folliculaire, montrent des résultats contradictoires.

Ainsi, la production de progestérone par un corps jaune formé suite à l'injection de GnRH (100 µg de gonadoréline, 72 heures la dernière de deux injections de PGF2α) est plus faible en comparaison à la production par un corps jaune mature formé après une ovulation spontanée (Lucy and Stevenson, 1986). Segwagwe (2002) a montré sur 14 vaches Prim'Holstein, que l'injection de GnRH en phase folliculaire conduisait à l'apparition différée d'un corps jaune, de taille plus réduite à 10 jours du cycle, ainsi qu'une production en progestérone inférieure au jour

9 du cycle (3,6 ng/mL vs 5 ng/mL). En outre, la vitesse d'augmentation de la concentration plasmatique en progestérone est plus faible du jour 3 à 9 du cycle (0,87 vs 1,22 ng/mL/j) comparativement à celle d'un corps jaune formé sans induction de l'ovulation par la GnRH.

A l'inverse, d'autres études mettent en évidence une production de progestérone supérieure par les corps jaunes induits suite à une injection de GnRH par rapport aux corps jaunes apparus après ovulation naturelle. En effet, Kaim et al. (2003) ont montré que l'injection de GnRH (250 µg, 3 heures après le premier signe d'œstrus) permettait au corps jaune induit de produire autant de progestérone entre les jours 0 et 11 du cycle et plus entre les jours 11 et 16 du cycle (comprenant la période critique pour le maintien de la gestation) qu'un corps jaune formé après une ovulation naturelle.

Ces résultats divergents s'expliquent par le moment de l'injection de GnRH au cours de la phase folliculaire. En effet, Lucy et Stevenson (1986) ont montré que la production de progestérone par un corps jaune induit par une injection de GnRH ayant lieu avant ou pendant le pic-préovulatoire, était plus faible et augmentait plus lentement par rapport à la production de progestérone d'un corps jaune formé après une injection de GnRH réalisée après le pic préovulatoire ou spontanément, sans injection de GnRH. De la même façon, Lee et al. (1985) ont montré qu'un pic préovulatoire de LH d'amplitude modérée a conduit à la formation d'un corps jaune produisant des niveaux de progestérone proches des valeurs physiologiques, alors qu'un pic de LH de forte ou à l'inverse de faible amplitude a conduit à la formation d'un corps jaune sécrétant moins de progestérone que physiologiquement.

De plus, la taille du follicule dominant au moment de l'injection est aussi un facteur de variation. En effet, Atkins et al. (2008) ont montré que la production de progestérone est plus faible les 12 premiers jours du cycle après l'ovulation de follicules de taille inférieure à 11 mm de diamètre (concentration de progestérone au 12<sup>ième</sup> jour du cycle : 2,5-3 ng/mL) comparée à des follicules de taille supérieure à 11 mm (concentration de progestérone au 12<sup>ième</sup> jour du cycle : 4-4,5 ng/mL). Selon le moment de l'injection de GnRH au cours de la phase folliculaire, la taille du follicule dominant varie, ce qui peut donc expliquer la variabilité de la réponse en termes de production de progestérone.

### **2.3.2. En phase lutéale**

Le corps jaune formé après une ovulation spontanée en phase folliculaire sera appelé corps jaune primaire et le corps jaune formé suite à l'ovulation induite par la GnRH sera appelé corps jaune secondaire.

Une injection de GnRH au cours de la phase lutéale modifie la production de progestérone à différents niveaux.

Au cours des 90 minutes qui suivent une injection de GnRH en phase lutéale, est observée une augmentation transitoire de la concentration de progestérone (Macmillan et al., 1985). Cette augmentation peut être expliquée par une action directe de la GnRH sur des récepteurs se trouvant sur le corps jaune primaire et par action de la LH, produite suite à l'injection de GnRH, sur le corps jaune.

Au cours des premières 24 heures qui suivent une injection de GnRH aux jours 6, 9 ou 16, la progestéronémie diminue transitoirement (Macmillan et al., 1985). Cette diminution pourrait

s'expliquer par une désensibilisation de l'hypophyse et du corps jaune primaire à l'action de la GnRH et à une désensibilisation du corps jaune primaire à l'action de la LH.

Après les premières 24 heures qui suivent l'injection, plusieurs évolutions des concentrations de progestérone sont observées. Dans certaines études, la production de progestérone est identique à celle d'un cycle physiologique (Twagiramungu et al., 1995), alors que dans d'autres études, la production de progestérone augmente et est supérieure à celle d'un cycle physiologique. Ainsi, Macmillan et al. (1985) ont observé une concentration en progestérone supérieure du 13<sup>ième</sup> au 15<sup>ième</sup> jour du cycle par rapport à un cycle physiologique, après une administration de GnRH au jour 3, 6 ou 9. Cette augmentation de la progestéronémie induite par la GnRH administrée pendant la phase lutéale a également été observée par Schmitt et al. (1986b) ainsi que Davis et al. (2003). Plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'augmentation de progestérone induite par la GnRH : action lutéotrope de la LH sur le corps jaune primaire, action de la LH sur la différenciation des petites cellules lutéales en grandes cellules lutéales (qui produisent plus de progestérone, Twagiramungu et al., 1995) et production d'un corps jaune secondaire issu de l'éventuelle ovulation induite par l'injection de GnRH. La contribution de ces différents mécanismes dans l'augmentation de la concentration de progestérone en réponse à la GnRH, est difficile à déterminer (Twagiramungu et al., 1994 ; Schmitt et al., 1996a). Cependant, avec un modèle d'ablation chirurgicale du corps jaune secondaire induit par une administration de buséréline, Schmitt et al. (1996b) ont montré que l'augmentation de la progestérone était due à la production du corps jaune secondaire, au moins au jour 13 du cycle.

Une injection de GnRH lors de la phase lutéale modifie la longueur de la phase lutéale.

Elle peut la diminuer (Kesler et al., 1978). Ce raccourcissement peut s'expliquer par la différenciation de petites cellules lutéales en grandes cellules lutéales en réponse à la LH (Twagiramungu et al., 1995), porteuses de récepteurs à la PGF2 $\alpha$  et rendent donc le corps jaune plus sensible à une lutéolyse précoce (Howard et Britt, 1990 et Mee et al., 1993).

A l'inverse, la GnRH peut rallonger la phase lutéale (Macmillan et al., 1985 ; Lajili et al., 1991 ; Davis et al., 2003). Les grandes et petites cellules lutéales ont 4 stades d'évolutions, de 1 (différenciation) à 4 (régression). Selon Schmitt et al. (1996b) une injection de GnRH au jour 5 du cycle n'induit pas une augmentation de la proportion de grandes cellules lutéales dans le corps jaune primaire mais engendre une plus grande proportion de petites et grandes cellules lutéales en stade 1 et 2 dans le corps jaune primaire comparativement à celles d'un cycle physiologique. L'injection de GnRH entrainerait donc un retard d'évolution des cellules lutéales par rapport à leur stade, ce qui pourrait expliquer une plus longue phase lutéale. De plus, la formation d'un corps jaune secondaire, riche en cellules lutéales au stade 1 (Schmitt et al., 1996b), peut aussi expliquer l'allongement de la phase lutéale suite à une injection de GnRH.

En résumé, injecté en phase lutéale, la GnRH exerce un effet lutéotrope (augmentation de la production de progestérone par effet de la LH et de la GnRH sur le corps jaune primaire et par la formation d'un corps jaune secondaire), un effet antilutéolytique (lutéinisation des follicules présents sur l'ovaire faisant chuter la concentration d'œstradiol et limitant ainsi l'apparition des récepteurs endométriaux à l'ocytocine, elle-même responsable de la synthèse de PFG2 $\alpha$ ). Et enfin, la GnRH a également soit un effet lutéoprotecteur (retard dans l'évolution des cellules lutéales par rapport à leur stade) ou alors un effet anti-lutéoprotecteur (augmentation de la proportion de grandes cellules lutéales plus sensibles à la lutéolyse) selon les hypothèses.

## 2.4. Effets de la GnRH sur la dynamique folliculaire

La GnRH administrée en présence d'un follicule dominant permet d'induire l'ovulation et de démarrer une nouvelle vague folliculaire. Ce suivi de la dynamique folliculaire a été possible grâce au développement de l'échographie transrectale en gynécologie vétérinaire.

Les effets de GnRH dépendent de :

- la dose de GnRH utilisée (Macmillan et al., 2003). Cependant, un taux d'ovulation similaire est observé pour une dose de 100 ou 200 µg de gonadoréline sur 32 génisses allaitantes, suggérant que la dose de 100 µg permet d'obtenir l'effet maximal (Dias et al., 2010).
- la molécule de GnRH utilisée (Bentley et al., 1988 ; Martinez et al., 2003).
- la concentration plasmatique en progestérone au moment de l'injection de GnRH (Dias et al., 2010). En effet, Twagiramungu et al. (1994b) ont montré que suite à une injection de 8 ng de buséréline sur des vaches allaitantes entre le jour 6 et le jour 21 du cycle, que l'ovulation peut survenir si la concentration plasmatique en progestérone est inférieure à 4 ng/mL au moment de l'injection mais n'est pas observée pour des concentrations supérieures à 8 ng/mL. De même, Colazo et al. (2008) ont montré que suite à l'injection de 100 µg de gonadoréline sur des génisses allaitantes, 9 sur 10 ont ovulé dans le groupe présentant une concentration en progestérone de 3,0 ng/mL au moment de l'injection contre 3 sur 10 pour les femelles présentant une concentration de 5,7 ng/mL.
- du moment de l'administration de GnRH au cours du cycle. Le tableau 4 regroupe les taux d'ovulation observés par Colazo et al. (2008) et Alkins et al. (2008) après une injection de 100 µg de gonadoréline (diacétate tétrahydrate) à différents jours du cycle, sur des génisses allaitantes. Le taux d'ovulation induite par la GnRH est plus élevé entre J3 et J6 et entre J15 et J18. Cette première période de J3 à J6 correspond à une période où la concentration en progestérone (effet inhibiteur) n'est pas encore à son maximum et à la phase de dominance du follicule issu de la première vague folliculaire. La deuxième période de J15 à J18, correspond à une période où la concentration en progestérone commence à diminuer après la lutéolyse et où on observe une dominance du follicule préovulatoire, à la fois pour les femelles à 2 et 3 vagues folliculaires.

Jour injection	J2	J3	J5	J6	J9	J10	J15	J18
Taux ovulation	0 % (0/21)	90 % (8/9)	95 % (20/21)	55 % (5/9)	22 % (2/9)	21 % (4/19)	67 % (14/21)	39 % (7/18)

**Tableau 4 :** Taux d'ovulation suite à l'injection de 100 µg de gonadoréline (diacétate tétrahydrate) sur des génisses allaitantes en fonction du moment de l'administration de GnRH au cours du cycle (d'après Colazo et al., 2008 ; Alkins et al., 2008)

- du stade de développement du follicule dominant. En effet, une injection de GnRH en présence d'un follicule dominant induit son ovulation ou sa lutéinisation ou alors ne modifie pas son devenir si le follicule dominant a déjà amorcé son atresie (Twagiramungu et al., 1995).



Une injection de GnRH en phase lutéale entraîne sur la population des follicules (Twagiramungu et al., 1994a ; Macmillan and Thatcher, 1991 et Thatcher et al., 1993) :

- une diminution du nombre de follicules compris entre 1,6 et 3,7 mm trois jours après l'injection puis une augmentation six jours après,
- une augmentation du nombre de follicules compris entre 4 et 9 mm trois et six jours après l'injection,
- une diminution du nombre de follicules de taille supérieure à 8,5 mm trois jours après l'injection et une augmentation de la proportion de follicules atrophiques et lutéinisés.

Si une nouvelle vague folliculaire est observée après la GnRH, elle démarre entre 1,4 et 2 jours après l'injection de GnRH (Bentley et al., 1988 ; Martinez et al., 2003 et Twagiramungu et al., 1995).

## **2.5. Indications thérapeutiques de la GnRH incluses dans le RCP (Résumé des caractéristiques du Produit)**

### **2.5.1. Traitement des kystes folliculaires (toutes les molécules)**

Kittok et al. (1973) ont été les premiers à rapporter l'efficacité de la GnRH pour traiter les kystes folliculaires. Ils ont injecté 100 µg de GnRH (3 fois à 120 min d'intervalles), à 5 vaches Holstein présentant des kystes folliculaires et toutes sont revenues en chaleur dans les 20 à 24 jours post traitement. Cependant, l'efficacité de la GnRH dans les traitements des kystes folliculaires varie en fonction des études. Ces divergences pourraient s'expliquer par une définition d'un kyste folliculaire variable selon les auteurs, par des méthodes diagnostiques non standardisées et un protocole de traitement et des critères de guérison variable.

Un kyste folliculaire est défini comme une structure folliculaire à paroi mince ayant un diamètre supérieur ou égal à 25 mm, et persistant pendant 7 à 10 jours en l'absence de corps jaune (Garverick, 1997). Il faut ajouter à cette définition que les kystes folliculaires entraînent des comportements d'œstrus anormaux et de l'infertilité (Tebble et al., 2001). L'incidence de cette pathologie ovarienne atteint 10 à 40 % des vaches. En outre, en fonction du délai post-partum, 40 à 50 % et jusqu'à 70% des kystes peuvent disparaître spontanément, en l'absence de traitement.

Toutefois, selon les études, la taille du kyste peut varier de 17 (Silvia et al., 2002) à 25 mm et le critère d'absence de corps jaune n'est pas toujours indiqué. L'apparition de l'échographie transrectale a été une aide précieuse pour le diagnostic des kystes folliculaires (Peters, 2005). Elle a permis de différencier les kystes folliculaires des kystes lutéaux, qui présentent une paroi lutéinisée de plus de 3 mm d'épaisseur et qui sont généralement sensibles à la PGF<sub>2α</sub>.

L'étiologie est encore mal connue. Cependant, un déficit énergétique en postpartum, en particulier chez les vaches hautes productrices pourrait conduire à une sécrétion de LH insuffisante pour induire l'ovulation du follicule dominant, conduisant à la formation du kyste. D'autres causes génétiques, des facteurs environnementaux, comme le stress pourraient inhiber la libération de la GnRH et/ou de la LH (Peters, 2005). D'un point de vue physiopathologie, le

kyste folliculaire se comporte comme un follicule dominant, il empêche donc le recrutement d'autres follicules et l'émergence d'une nouvelle vague de croissance folliculaire. La GnRH est donc utilisée afin de permettre le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire en provoquant la lutéinisation ou la disparition du kyste, ce qui conduit à une augmentation de la concentration de progestérone (Cantley et al., 1975). Schmitt et al. (1996c), ont montré que la fertilité de l'ovocyte provenant du follicule issu de la nouvelle vague est supérieure à celle du follicule persistant.

La découverte de l'expression de récepteurs à GnRH sur les follicules, les corps jaunes et sur la moelle épinière a amené Rizzo et al. (2011) à comparer deux voies d'administration, par voie épidurale (hors AMM) et par voie intramusculaire (AMM) de la GnRH (léciréline) pour traiter les kystes. La voie épidurale est plus efficace que la voie intramusculaire (taux d'observation de l'œstrus et taux de gestation après deux IA de 75 et 93 % pour la voie épidurale contre 57 et 76 % pour la voie IM).

Ces résultats n'ont pas encore d'application sur le terrain mais suggèrent que la voie épidurale pourrait améliorer l'efficacité du traitement à la GnRH et pas seulement sur les kystes folliculaires, mais aussi pour l'induction de l'ovulation au moment de l'IA.

### **2.5.2. Traitement en phase folliculaire pour les femelles à ovulation nulle ou retardée (toutes les molécules)**

L'utilisation indiquée dans le RCP du traitement GnRH en période folliculaire est d'induire l'ovulation et ce dans un délai de 2 jours environ, chez les vaches à ovulation nulle ou retardée. En effet, une sécrétion de LH insuffisante conduisant à une ovulation retardée et/ou à une insuffisance de sécrétion de progestérone, est mise en cause chez les vaches « repeat breeder » (vaches non gravides ayant eu au moins 3 IA non fécondantes, à chaleur régulière, Thatcher et al., 1993).

Toutefois, le bénéfice du traitement de GnRH en phase folliculaire, pour augmenter le taux de conception n'est pas clair. Morgan et Lean (1993) ont réalisé une méta-analyse regroupant 19 010 vaches à l'aide de 27 publications. Ils ont montré que le taux de gestation après traitement à la GnRH le jour de l'IA était augmenté de 12.5 % pour toutes les vaches confondues et jusqu'à 22.5 % chez les vaches « repeat breeder ». Cependant, la revue de Hanzen *et al.* (1996) présente un bilan plus mitigé qui ne permet pas de conclure sur l'intérêt d'une administration systématique de GnRH au moment l'IA. D'autres études ont montré un intérêt de l'injection de GnRH en phase folliculaire sur le taux de conception mais limité à certaines catégories d'animaux et à certaines conditions. Kaim et al. (2003) ont montré une efficacité sur les femelles avec une note d'état corporel insuffisante, sur les primipares et en été. Dans l'étude de Shepard et al. (2014), l'efficacité de la GnRH est observée sur les vaches ayant un taux protéique supérieur à 37,5 g/L ou pour les vaches ayant un taux protéique compris entre 30 et 35 g/L mais étant à plus de 40 jours du vêlage précédent. Enfin Weaver et al. (1988) ont démontré un intérêt économique à traiter les vaches dès la première IA si le taux de conception de l'élevage est inférieur à 45 % ou alors à partir de la 2<sup>ème</sup> IA pour les élevages présentant un taux de conception supérieur à 60 %.

Ces résultats non univoques peuvent être expliqués par la variation du moment de l'injection de GnRH au cours de la phase folliculaire, donc par rapport au pic de LH et du délai de l'IA par rapport à l'œstrus et à l'injection de GnRH. En effet, d'après Lucy et Stevenson (1986), le taux de conception est augmenté si l'injection de GnRH est réalisée après ou en même temps que le pic préovulatoire de LH, en d'autres termes l'injection de GnRH ne doit pas induire le pic de LH trop précocement en phase folliculaire.

Plusieurs études montrent que la réussite du traitement est maximale quand la GnRH est administrée lors de la détection de l'œstrus (3 heures après la détection de l'œstrus) associée à une IA plus de 4 heures et moins 30 heures après l'œstrus (Mee et al., 1990 ; Rosenberg et al., 1991 et Kaim et al., 2003). La durée de l'œstrus étant de 5 à 18 heures en moyenne et se terminant 10 heures avant l'ovulation (Ginther et al., 2013), l'œstrus débute 15 à 28 heures avant l'ovulation. Le pic de LH survenant 24 heures avant l'ovulation et durant 10 heures en moyenne, il commence 29 heures avant l'ovulation, soit 1 heure avant les œstrus les plus précoces. L'injection de GnRH suite à la détection de l'œstrus permet d'injecter pendant ou après le pic préovulatoire de LH, moment le plus favorable vis-à-vis du taux de conception (Lucy et Stevenson, 1986).

### **2.5.3. Traitement de l'anœstrus *post-partum* (buséreline seulement)**

L'anœstrus *post-partum* se caractérise par une absence ou une insuffisance de la pulsativité de la sécrétion de GnRH. La période d'anœstrus *post-partum* est physiologique, l'allaitement ou la présence d'un veau retarde la reprise de l'activité ovarienne. Chez la vache laitière, le premier follicule dominant apparaît 5 à 39 jours après la mise bas. Il ovule dans 74 % du temps ou alors il persiste et peut conduire à la formation d'un kyste ovarien (voir I. 2.5.1.). La première ovulation est rarement accompagnée de comportement de chaleurs en raison d'une désensibilisation du système nerveux central liée à une exposition prolongée aux œstrogènes en fin de gestation. La période *post-partum* est caractérisée par un déficit énergétique chez les vaches laitières (surtout les plus hautes productrices). Un déficit trop prononcé entraîne une diminution de l'insulinémie, de l'IGF1 et de la glycémie et une augmentation des acides gras non estérifiés et des corps cétoniques. Il en résulte une diminution de la fréquence des pulses de LH induisant une moins bonne croissance des follicules de grande taille.

Ainsi, si cet anœstrus *post-partum* se prolonge, une injection de GnRH pourrait stimuler la folliculogénèse, à partir du moment où l'hypophyse redevient sensible à cette hormone (7 - 10 jours *post-partum* chez la vache laitière) (Irvin *et al.*, 1981) et présente une production de LH suffisante. Les résultats d'essais cliniques sont cependant décevants, que ce soit pour une administration unique ou répétée de GnRH (Peters *et al.*, 1985). Beckett et Lean (1997) ont réalisé une méta-analyse à partir de 12 études qui a permis de mettre en évidence une réduction du temps avant le premier œstrus après le vêlage de 4,5 jours en moyenne chez les femelles qui ont reçu la GnRH, sans augmentation des performances de reproduction.

## 2.6. Utilisations hors RCP

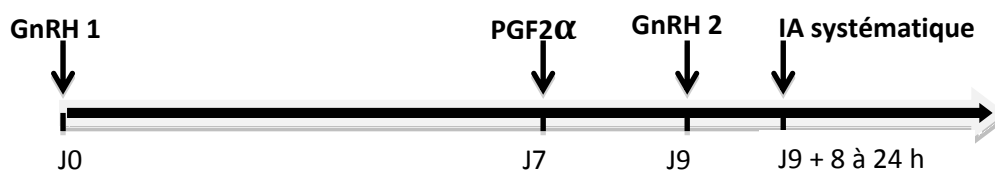
### 2.6.1. Synchronisation des chaleurs sur des femelles cyclées : le protocole GPG

Le protocole prostaglandine F2 alpha (2 injections de PGF2 $\alpha$  à 10 ou 14 jours d'intervalle), induit un délai de venue en chaleur variable (2 à 5 jours). Le protocole GPG, encore appelé OvSynch, utilisé largement et essentiellement en Amérique du Nord, a été mis en place pour contrôler à la fois la vague de croissance folliculaire et la phase lutéale, afin d'augmenter la précision dans la survenue des chaleurs et d'induire l'ovulation pour inséminer à un moment prédéterminé.

Il est composé de trois injections (Figure 11) :

- une première injection de GnRH pour synchroniser le développement folliculaire : elle induit l'ovulation du follicule dominant (si celui-ci est présent au moment de l'injection). La perte de dominance permet l'émergence d'une nouvelle vague de croissance folliculaire environ deux jours post injection. Si aucun follicule dominant n'était présent sur l'ovaire au moment de l'injection, la vague folliculaire se poursuit.
- 7 jours plus tard, une injection de PGF2 $\alpha$  permet d'induire la lutéolyse d'un éventuel corps jaune et de l'éventuelle structure lutéale secondaire formée s'il y a eu ovulation à la première injection de GnRH. A ce stade, un follicule dominant est présent (issu de la nouvelle vague folliculaire ou de la poursuite de la vague folliculaire présente lors de la première GnRH) et continue sa croissance dans un environnement hormonal caractérisé par des concentrations en progestérone basses.
- 48 à 60 heures plus tard, la seconde injection de GnRH avance le pic de LH d'environ 20 heures, et l'amplifie. L'ovulation survient environ 26 heures après cette injection (Silcox *et al.*, 1995).

On réalise, 8 à 24 heures après la seconde GnRH, une insémination systématique, c'est-à-dire sans observation des chaleurs (intérêt majeur en élevage laitier).



**Figure 11 :** Représentation schématique du protocole GPG ou Ovsynch

Le protocole GPG constitue une méthode intéressante pour synchroniser l'œstrus et pratiquer l'insémination systématique mais ne permet pas d'augmenter le taux de conception (Twagiramungu *et al.* 1992). Jemmeson (2000) a montré que ce protocole est plus intéressant que les deux injections de prostaglandines à 14 jours d'intervalle (protocole classique) dans les élevages où la détection des chaleurs est déficiente, dans le cas inverse il serait moins efficace, et plus cher. De plus ce protocole présente des limites : son efficacité est moindre chez la génisse (Pursley *et al.*, 1997) et environ 6 % des vaches laitières viennent en chaleur avant l'administration de PGF2 $\alpha$  (Vasconcelos *et al.*, 1999).

Différents critères d'optimisation de l'efficacité du protocole GPG en termes de taux de conception ont été décrits par Bello et al. (2006) et Atkins et al. (2008). Une première injection de GnRH dans les 10 premiers jours du cycle permet d'augmenter la taille du follicule lors de la seconde GnRH, ce qui augmente le taux d'ovulation. C'est la raison pour laquelle le traitement OvSynch est souvent utilisé en Amérique du Nord après une présynchronisation, de façon à réaliser la première GnRH du protocole GPG en présence d'un follicule dominant. De plus, une concentration plasmatique en progestérone élevée lors de la PGF2 $\alpha$  permet d'augmenter le taux de fertilité. Il en est de même pour la concentration en œstradiol lors de l'injection de la seconde GnRH. Enfin, une taille du follicule proche de 16 mm lors de la seconde GnRH permet d'obtenir une meilleure fertilité à l'œstrus induit.

### **2.6.2. Amélioration de la survie embryonnaire par la GnRH injectée 11 à 14 jours après l'IA**

Les insuffisances lutéales, c'est-à-dire des concentrations de progestérone suboptimales et une augmentation trop lente des concentrations, sont de plus en plus observées chez les vaches laitières fortes productrices en raison notamment d'un métabolisme hépatique important. Après une insémination artificielle fécondante, environ 25 % des échecs de gestations sont dus à une mortalité embryonnaire précoce (dans les trois premières semaines, Peters, 1996), qui pourrait être expliquée en partie par une insuffisance lutéale.

Les thérapeutiques hormonales visant à soutenir une structure lutéale après l'IA pour prévenir la mortalité embryonnaire, reposent généralement sur une administration de GnRH entre 11 et 14 jours après l'IA. Cette période correspond à la reconnaissance maternelle de la gestation (voir I. 1.3.4.3), période critique pour le maintien de cette dernière. En effet, les effets lutéotrope, antilutéolytique et lutéoprotecteur d'une injection de GnRH en phase lutéale (voir I.2.3.2) pourraient permettre de prévenir une baisse de la concentration de progestérone trop précoce et de laisser ainsi plus de temps à l'embryon pour émettre son message antilutéolytique.

Toutefois, les essais cliniques évaluant l'efficacité d'un traitement GnRH entre 11 et 13 jours après l'IA donnent des résultats divergents. La méta-analyse de Peters (2000) montre à partir de 6 études que les vaches traitées présentent une augmentation du taux de gestation ( $OR = 1,33$ ).

Le gain de fertilité variable selon les études et modéré peut aussi s'expliquer par différentes causes de mortalité embryonnaire précoce, notamment génétiques ou infectieuses, sur lesquelles la GnRH n'est pas efficace. En outre, la part des mortalités embryonnaires précoces attribuables à une insuffisance lutéale est difficile à évaluer chez les bovins. En effet, la mortalité embryonnaire précoce n'est diagnostiquée qu'une fois le retour en chaleur observé, tout en étant très difficilement différenciable d'une simple insémination non fécondante sur le terrain.

## PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

Le premier objectif de l'étude était de comparer l'effet en termes de concentrations plasmatiques de LH d'une injection intramusculaire de trois molécules analogues de la GnRH naturelle (buséréline, gonadoréline et léciréline) à la dose indiquée dans le RCP pour l'induction de l'ovulation (abordé dans la thèse de Merle, 2014).

Le deuxième objectif de l'étude était d'évaluer l'évolution des organites ovariens en réponse à la GnRH grâce à un suivi échographique.

Le troisième objectif de l'étude était de comparer l'effet en termes de concentrations plasmatiques de progestérone d'une injection intramusculaire de trois molécules analogues de la GnRH naturelle (buséréline, gonadoréline et léciréline) à la dose indiquée dans le RCP pour l'induction de l'ovulation.

Enfin, cette étude avait aussi pour objectif de tester l'effet d'une demi-dose de léciréline sur ces paramètres.

### 1. Animaux et conditions expérimentales

#### 1.1. Animaux

Cette étude a été réalisée avec 12 génisses de race Prim'Holstein âgées de 15 à 23 mois en mai 2013 (début de l'étude), cyclées, provenant du même élevage : GAEC de l'AZEROU, M. Van de Peer, 11310 SAISSAC. L'étude s'est déroulée du mois de mai au mois de juillet 2013 à Toulouse (France), zone tempérée de l'hémisphère Nord. Elles étaient en bon état général, d'un poids compris entre 260 et 360 kg en mai 2013. Aucune pathologie de l'appareil génital n'a été décelée avant, pendant ou après la période de l'étude.

Le tableau 5 récapitule les caractéristiques des animaux : identification, âge, poids et GMQ (gain moyen quotidien) au cours de l'étude (M : moyenne, ET : écart-type).

	Identification de l'animal	Age (en mois) 05/2013	Poids (en kg) 28/05/13	Poids (en kg) 09/07/13	GMQ (en kg) sur la période
Groupe 1	8163 A	24.1	342	353	0.256
	8209 C	20.8	347	390	1
	8232 F	19.5	303	340	0.860
Moyenne ± ET		21.47±2,27	330.67±24.09	361±25.94	
Groupe 2	8233 G	19.5	328	367	0.907
	8236 I	19.3	360	386	0.605
	8245 K	17.3	293	334	0.953
Moyenne ± ET		18.7±1.22	327.00±33.51	362.33±26.31	
Groupe 3	8204 B	21.6	326	348	0.512
	8218 E	20.3	350	379	0.674
	8235 H	19.4	318	362	1.023
Moyenne ± ET		20.43±1.11	331.33±16.65	363±15.52	
Groupe 4	8216 D	20.3	350	379	0.674
	8241 J	18.1	331	367	0.837
	8247 L	17.2	262	305	1
Moyenne ± ET		18.53±1.59	314.3±6.31	350.33±39.72	

Tableau 5 : Caractéristiques des animaux (identification, âge, poids et GMQ) au cours de l'étude

## 1.2. Logement et alimentation

Les génisses ont été entretenues au pré et ont été rentrées au hangar de physiologie de l'ENVT (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse) pour la réalisation des mesures. Les conditions de température et d'hygrométrie dans le hangar correspondent à celles de l'extérieur et n'ont pas été contrôlées.

Les génisses ont été nourries avec du foin (5 kg de matière brute par génisse et par jour) et de la paille à volonté et ont reçu par jour 3 kg de concentré Brebilac® (RAGT, Plateau central, Rodez) contenant 18 % de protéines. L'eau a été distribuée à volonté.

## 1.3. Surveillance des vaches

L'état de santé des vaches a été vérifié quotidiennement par le zootechnicien lors de la distribution de l'aliment. Ces observations ont débuté trois jours avant l'administration de la première GnRH et ont été enregistrées quotidiennement jusqu'à la fin de l'expérimentation animale. Toute anomalie, ainsi que sa relation avec le traitement a été documentée.

## 1.4. Pathologies et traitements concomitants

Pathologies concomitantes : les vaches n'ont reçu aucun traitement dans le mois précédant l'étude et pendant l'étude, à l'exception de la génisse B, qui a présenté du 2 mai au 27 juillet 2013 un abcès ombilical suintant, traité localement par des rinçages quotidiens à la Vétédine Solution® diluée (polyvidone iodée 10 %). L'état général de cette génisse n'ayant pas été atteint, elle n'a pas été exclue de l'étude.

Déparasitage : toutes les génisses ont reçu une administration d'Ivomec® D (ivermectine et clorsulon, 10 mL par voie sous cutanée, Merial) et une supplémentation en oligoéléments au cours des deux jours suivant leur arrivée. Pendant l'étude, des administrations de 30 mL de Butox® 7,5 Pour-on (deltaméthrine, Intervet) ont été effectuées tous les mois.

## 2. Protocole expérimental

### 2.1. Analogues de la GnRH utilisés

Le Tableau 6 récapitule les traitements aux analogues de la GnRH utilisés.

Principe actif	Nom déposé	Laboratoire	Posologie	Volume	Voie
Acétate tétrahydrate de gonadoréline	Cystoréline®	CEVA Santé Animale	100 µg	2 mL	IM
Acétate de buséréline	Réceptal®	MSD	10 µg	2,5 mL	IM
Acétate de léciréline	Reproréline®	Vétoquinol	50 et 25 µg	1 et 2 mL	IM

Tableau 6 : Molécule, nom déposé, fabricant, posologie, volume injecté et voie d'administration des traitements analogues de la GnRH utilisés dans l'étude

## **2.2. Schéma expérimental**

### **2.2.1. Habituation et pré-synchronisation des chaleurs**

Les génisses ont été habituées à leur nouvel environnement pendant 11 jours après leur arrivée.

Afin de standardiser le statut physiologique des femelles, les traitements GnRH ont été réalisés systématiquement au jour 6 (7 traitements) ou 7 (38 traitements) du cycle, soit en présence d'un corps jaune mature et d'un follicule de plus de 10 mm de diamètre (fin de la première vague folliculaire).

Pour cela, avant la première période, un protocole de pré-synchronisation a été réalisé à l'aide d'un dispositif (PRID Delta® 1.55g, CEVA) à base de progestérone placé dans le vagin et laissé en place pendant 9 jours, associé à une administration intramusculaire de cloprosténol au 8<sup>ième</sup> jour (Estrumate®, 2 mL soit 0,5 mg, MSD) et d'eCG (Syncho-part®, CEVA) au 9<sup>ième</sup> jour. Après retrait du dispositif intra-vaginal, des follicules de plus de 10 mm de diamètre ont été observés par échographie transrectale dans les trois jours chez toutes les génisses, sauf la génisse L lors de la période 4 (cf infra).

### **2.2.2. Constitution des groupes et définition des séquences**

Cette étude s'est déroulée du 2 mai au 27 juillet 2013. Elle a été divisée en quatre périodes de 17 jours, durant lesquelles les génisses ont reçu les traitements suivants, par voie intramusculaire :

- 100 µg de gonadoréline soit 2 mL de Cystoréline®
- 10 µg de buséréline soit 2.5 mL de Réceptal®
- 50 µg de léciréline soit 2 mL de Reproréline®
- 25 µg de léciréline soit 1 mL de Reproréline®

Le plan expérimental de l'étude a été réalisé sous forme de carré latin, afin que toutes les vaches reçoivent tous les traitements (Tableau 7) et afin de s'affranchir en partie de l'effet « vache » (interindividuel). Pour cela, 4 groupes homogènes en poids de 3 génisses ont été constitués de manière aléatoire (Tableau 5).

Une séquence a été définie comme la succession ordonnée de 4 périodes (Tableau 7).

La génisse L n'a pas été vue en chaleur après l'administration de cloprosténol en fin de période 1 (voir II. 2.2.3.), ce qui n'a pas permis de déterminer le jour J0 du cycle ; elle n'a donc pas été traitée à la gonadoréline lors de la période 2 mais a été réintroduite dans l'étude pour la période 3.

Lors de l'échographie de contrôle du début de la période 4, cette même génisse L présentait un follicule de 7.8 mm de diamètre (moins de 10 mm), elle n'a donc pas été incluse dans la période 4 (voir II. 2.4.).



	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	
<b>Génisses A, C et F</b>	gonadoréline	Léciréline 25 µg	léciréline 50 µg	Buséréline	<b>Séquence 1</b>
<b>Génisses G, I et K</b>	léciréline 25 µg	buséréline	gonadoréline	Léciréline 50 µg	<b>Séquence 2</b>
<b>Génisses B, E et H</b>	buséréline	léciréline 50 µg	léciréline 25 µg	Gonadoréline	<b>Séquence 3</b>
<b>Génisses D, J et L</b>	léciréline 50 µg	gonadoréline	buséréline	Léciréline 25 µg	<b>Séquence 4</b>

Tableau 7 : Plan expérimental en carré latin et répartition des génisses et des traitements à la GnRH en fonction des périodes et des séquences de l'étude

### 2.2.3. Schéma expérimental d'une période

Une période a une durée de 17 jours. Elle se déroule comme suit (Figure 12) :

- Elle débute par l'observation du comportement de chaleurs chez les génisses. Le jour de début des chaleurs est noté pour chaque génisse et constitue le jour 0 de la période (D0)
- 5 et 6 jours après le début des chaleurs (D5 - 6), c'est à dire au moment optimal pour être en présence d'un gros follicule, on procède à une échographie transrectale des ovaires de toutes les génisses. Si un follicule de plus de 10 mm de diamètre est présent sur l'un des ovaires, la génisse est incluse dans l'étude.
- Le lendemain du jour de détection d'un follicule de plus de 10 mm de diamètre, la GnRH est administrée par voie intramusculaire, (voir II. 2.2.2.). Le jour d'administration de la GnRH est noté J0 (= D6 - D7).
- 7 jours plus tard (D13 - 14 ou J7), une injection intramusculaire de cloprostenol (Estrumate®, 2 mL, MSD, analogue de la PGF2α) permet de lyser le corps jaune et d'initier un nouveau cycle œstral.
- De nouvelles chaleurs sont observées 3 - 4 jours plus tard (D16 - 18 ou J10 - 11), et marquent le début de la période suivante. L'observation de celles-ci est une condition d'inclusion des génisses dans la période suivante.

## 2.2.4. Chronologie de l'étude expérimentale

Les 4 périodes se sont succédées dans le temps de manière ininterrompue. La Figure 12 schématise la chronologie de ces différentes périodes.

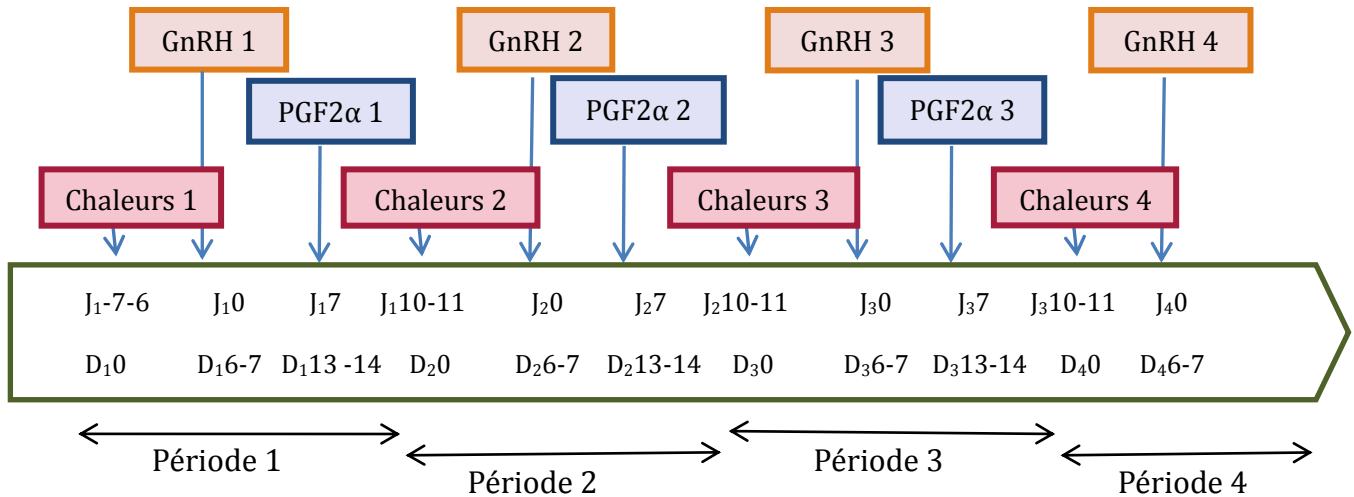


Figure 12 : Chronologie des différentes périodes et des étapes clés de l'étude

## 2.3. Surveillance des chaleurs

L'observation des chaleurs était le point de départ de chacune des périodes. Il a donc été porté une attention particulière à celles-ci, avec des observations de 20 min toutes les 2 à 4 heures pendant une période de 5 jours couvrant la période de plus forte probabilité d'expression des chaleurs (2 - 7 jours après l'administration de PGF2α). De plus, afin de maximiser les chances de détection, des marqueurs de chevauchement (Estrotec™) ont été placés sur la croupe des génisses avant chaque période, virant au rouge lorsque la génisse est chevauchée.

Le signe retenu comme marqueur du début des chaleurs a été l'acceptation du chevauchement par d'autres génisses, ou la coloration rouge du marqueur de chevauchement sur la croupe. En l'absence d'observation de ce signe, les chevauchements répétés par d'autres génisses, associées à la disparition du follicule préovulatoire, ont été pris comme repère de l'œstrus.

## 2.4. Prélèvements sanguins et examens échographiques

### Echographies transrectales des ovaires

Des échographies transrectales quotidiennes à l'aide de l'appareil Mylab One® (Hospimedi) et d'une sonde linéaire de 10 MHz ont été réalisées pendant 6 jours, de J-1 (afin de s'assurer de la présence d'un follicule de plus de 10 mm de diamètre) à J4 (afin d'observer les évolutions morphologiques au niveau ovarien) (figure 13).

## Prélèvements sanguins

Ces prélèvements sanguins de 2 à 4 mL ont été effectués dans des tubes héparinés en polypropylène de 4 mL, à la veine coccygienne ou jugulaire après nettoyage à l'alcool de la zone, à l'aide d'une aiguille 21 G montée sur un système Vacutainer®. Les échantillons sanguins ont été immédiatement placés dans de la glace, et centrifugés dans les 2 heures suivant le prélèvement à environ 3000 g à 5°C, pendant 10 min. Le plasma a été réparti dans deux fractions aliquotes de 0.5 mL dans des tubes Eppendorf® en polypropylène de 1.5 mL qui ont été conservés à - 20°C jusqu'au moment de la réalisation du dosage.

Des prélèvements sanguins pour le dosage de la LH ont été effectués à J0 :

- un avant l'injection de GnRH
- et aux temps 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h et 6 h après l'injection de GnRH

Des prélèvements sanguins pour le dosage de la progestérone ont été effectués de J0 à J4 :

- un avant l'injection de GnRH (J0)
- et aux jours J1, J2, J3 et J4

La Figure 13 présente schématiquement les examens échographiques et les prélèvements sanguins effectués au cours d'une période.

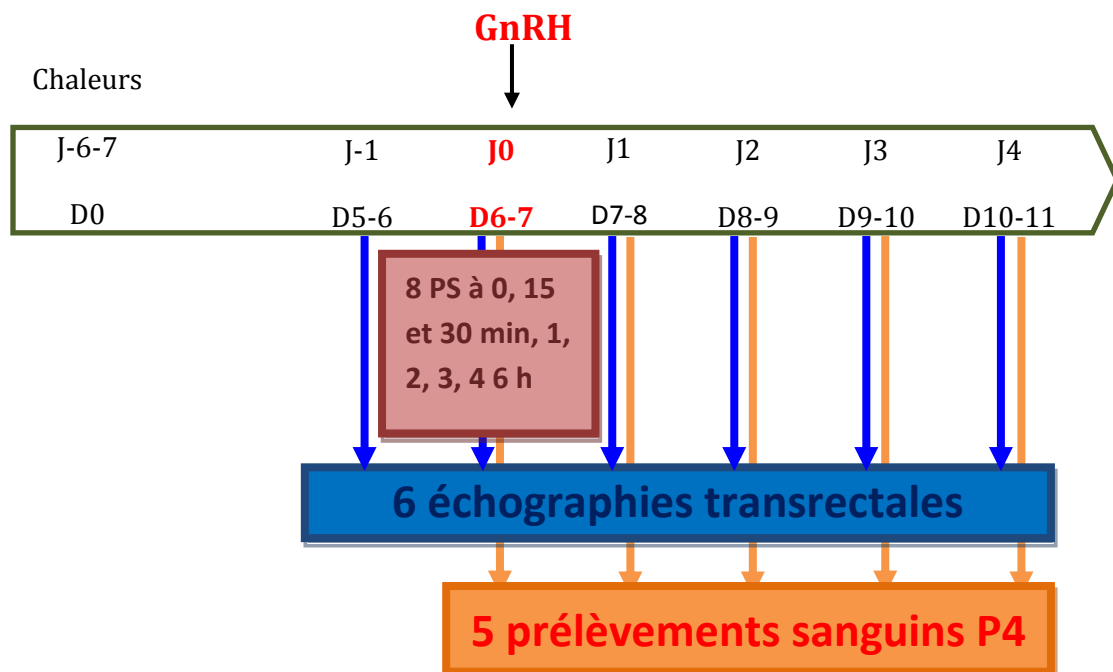


Figure 13: Planning des prélèvements sanguins (PS) et des échographies ovariennees effectués au cours d'une période

## 2.5. Dosages hormonaux

Les concentrations plasmatiques en LH ont été évaluées par dosage ELISA à partir de 10  $\mu$ L de plasma (kit LH Detect<sup>®</sup>, Repropharm, Nouzilly, France). Les moyennes des coefficients de variation intra et inter-dosage déterminées pour 3 niveaux de concentrations de LH (4 ; 7 et 12 ng/mL) ont été respectivement 19.4 %, 15.6 % et 11.3 %. La sensibilité du test était de 0.6 ng/mL.

Les concentrations plasmatiques en progestérone ont été évaluées par dosage ELISA à partir de 10  $\mu$ L de plasma (Ovuckeck<sup>®</sup> plasma, AES Laboratoire). Les moyennes des coefficients de variation intra et inter-dosage déterminés pour 3 niveaux de concentrations de progestérone (2,5 ; 8 et 12 ng/mL) ont été respectivement 17.1 %, 11.5 % et 9.9 %. La sensibilité du test était de 1 ng/mL.

## 3. Base de données

Les données suivantes ont été enregistrées, pour chaque traitement et chaque vache :

### Données échographiques :

- Diamètre du ou des follicules dominants observés (un follicule a été considéré comme dominant si son diamètre mesuré était supérieur à 10 mm)
- Disparition ou non du follicule dominant après traitement GnRH et jour de disparition le cas échéant
- Apparition ou non d'une structure lutéale à partir de l'évolution du follicule dominant et jour d'apparition le cas échéant
- Démarrage ou non d'une nouvelle vague folliculaire et jour de démarrage le cas échéant (une nouvelle vague folliculaire a été définie par la croissance de follicules dépassant 4 à 5 mm de diamètre)

### Analyse des concentrations plasmatiques de LH :

- Les concentrations plasmatiques de LH inférieures à 0.6 ng/mL (seuil de détection) ont été arbitrairement fixées à 0.3 ng/mL.
- Les valeurs de concentrations maximales ( $C_{\max_{LH}}$ ) et des temps d'occurrence de ces valeurs ( $T_{\max_{LH}}$ ) ont été déterminées à partir de chacun des profils de concentrations plasmatiques de LH.
- L'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques de LH ( $AUC_{LHD0-D4}$ ) a été calculée de  $t = 0$  (moment de l'administration de la GnRH) au temps d'occurrence de la dernière valeur quantifiée ( $t = 6$  h), en utilisant la méthode des trapèzes non linéaires.

#### Analyse des concentrations plasmatiques de progestérone :

- Afin de prendre en compte la variabilité intra et inter animal des niveaux de progestérone, au 6 ou 7<sup>ième</sup> jour du cycle, la concentration plasmatique de progestérone après l'administration de GnRH a été corrigée en soustrayant la concentration plasmatique au temps zéro (avant l'administration de GnRH).

L'ensemble de ces données ont permis de comparer les 4 traitements GnRH à la fois en termes de réponse hormonale et de dynamique ovarienne.

#### **4. Analyses statistiques**

Les données brutes concernant les concentrations hormonales et les diamètres des follicules dominants ont été enregistrées dans un tableur Microsoft Excel®.

Les données sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  ET (écart-type). Les analyses ont été effectuées sur le logiciel Systat® 12.0, en utilisant les modèles linéaires, complétées si nécessaire par le test *post hoc* de Tukey.

Une probabilité de  $p \leq 0,05$  indique qu'il y a une différence significative et une probabilité  $p \leq 0,1$  indique que la différence tend à être significative.

Pour s'assurer de l'homogénéité des différents groupes de génisses avant le début de chaque période de l'expérimentation, le diamètre des plus gros follicules, la concentration plasmatique basale en LH et progestérone ont été comparés à l'aide d'une analyse de variance à 2 facteurs avec la séquence, le traitement, l'interaction séquence-traitement et les vaches nichées dans la séquence comme effets fixes. Les concentrations hormonales ont été transformées (log base 10).

#### Données échographiques :

Les taux d'évolution du follicule dominant vers l'ovulation ou la lutéinisation en réponse aux administrations des différentes GnRH ont été comparés grâce à un test de régression linéaire avec la séquence, le traitement et leur interaction comme effets fixes.

Le jour d'émergence d'une nouvelle vague folliculaire a été comparé pour les 4 modalités de traitements GnRH avec une analyse de variance à 2 facteurs, avec la séquence, le traitement et leur interaction comme effets fixes.

### LH :

Les paramètres pharmacodynamiques de la réponse en terme de LH aux administrations de GnRH ( $C_{max_{LH}}$ ,  $T_{max_{LH}}$  et  $AUC_{LHD0-D4}$ ) ont été comparés grâce à une analyse de variance à 2 facteurs, avec la séquence, le traitement, l'interaction séquence-traitement comme effets fixes et les vaches nichées dans la séquence comme effet aléatoire. Lors d'interaction significative entre la séquence et le traitement, un test *post hoc* de Turkey a été réalisé pour comparer les traitements pour chaque séquence.

L' $AUC_{LHD0-D4}$ , le  $C_{max_{LH}}$  et le  $T_{max_{LH}}$  en réponse aux différents analogues de la GnRH ont été transformées (log base 10) pour garantir les conditions d'homogénéité de variances et de normalité.

### Progestérone :

Les paramètres pharmacodynamiques de la réponse en terme de progestérone aux administrations de GnRH ( $C_{max_{P4}}$ ,  $T_{max_{P4}}$  et  $AUC_{P4D0-D4}$ ) ont été comparés grâce à une analyse de variance à 2 facteurs, avec la séquence, le traitement, l'interaction séquence-traitement comme effets fixes et les vaches nichées dans la séquence comme effet aléatoire. Lors d'interaction significative entre la séquence et le traitement, un test *post hoc* de Turkey a été réalisé pour comparer les traitements pour chaque séquence.

L' $AUC_{P4D0-D4}$ , le  $C_{max_{P4}}$  et le  $T_{max_{P4}}$  en réponse aux différents analogues de la GnRH ont été transformées (log base 10) pour garantir les conditions d'homogénéité de variances et de normalité.



## PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Résultats

#### 1.1. Effet des différentes GnRH sur les concentrations plasmatiques en LH

Au total, 46 profils de concentrations de LH ont été évalués pour 12 ou 11 génisses et sur les 4 périodes (voir II. 2.2.2.). Les concentrations plasmatiques en LH avant l'administration des GnRH (à T0) étaient faibles ( $0.92 \pm 1.00$  ng/mL) et n'ont pas été différentes en fonction des traitements GnRH ou en fonction de la séquence d'administration (ANOVA, NS).

La Figure 14 présente les concentrations de LH après les différentes modalités de traitement GnRH chez une génisse représentative.

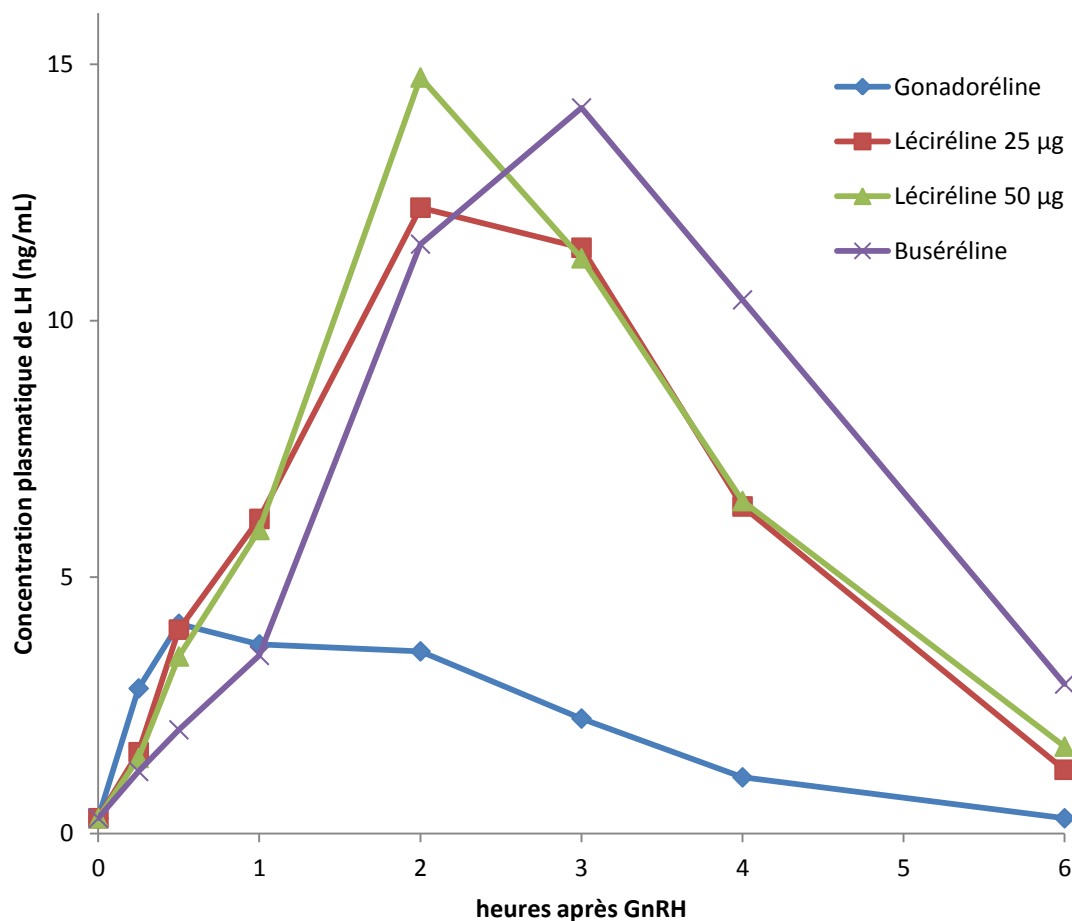


Figure 14: Evolution temporelle des concentrations plasmatiques de LH (ng/mL) après une administration intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose de 25 et de 50 µg et de 10 µg de buséréline chez une génisse représentative



La concentration plasmatique de LH augmente rapidement après l'administration de GnRH, pour atteindre une valeur maximale entre 1 et 2 heures après l'injection. Cette concentration décroît ensuite et revient à des valeurs basales au bout de 6 heures. La durée du pic de LH induit par la GnRH est plus courte que celle d'un pic préovulatoire physiologique (de 10 à 12 heures).

Les concentrations plasmatiques maximales moyennes en LH ( $C_{max_{LH}}$ ), leur temps d'occurrence ( $T_{max_{LH}}$ ) et leur aire sous la courbe moyenne, obtenus après l'injection intramusculaire des différentes GnRH, sont présentés dans le tableau 8.

GnRH, dose	$C_{max_{LH}}$ moyenne ±ET (ng/mL)	$T_{max_{LH}}$ moyen±ET (h)	$AUC_{LHD0D4}$ moyenne ±ET (ng/h.mL)	Nombre de génisse
Gonadoréline 100 µg	6.92±2.72	1.00±0.55 <sup>a</sup>	18.25±8.20	11
Léciréline 25 µg	16.86±7.63	2.09±0.30 <sup>b</sup>	49.73±19.33	11
Léciréline 50 µg	17.87±5.86	2.00±0.00 <sup>b</sup>	50.53±16.25	12
Buséréline 10 µg	16.43±5.70	2.25±0.45 <sup>b</sup>	47.69±11.14	12

Tableau 8 : Valeurs moyennes et écart-type des concentrations plasmatiques maximales en LH ( $C_{max_{LH}}$ ), de leur temps d'occurrence ( $T_{max_{LH}}$ ) et leur aire sous la courbe ( $AUC_{LHD0D4}$ ), obtenus après l'injection intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose de 25 et de 50 µg et de 10 µg de buséréline chez des génisses Prim'Holstein (Les valeurs d'une même colonne, présentant des exposants différents sont significativement différentes)

La  $C_{max_{LH}}$  après traitement à la gonadoréline est 2,5 fois plus faible qu'après les autres traitements. Cet effet est ou tend à être significatif pour la buséréline et la léciréline à la dose de 25 µg pour les séquences 1 à 3 et pour la léciréline à la dose 50 µg pour les séquences 1 et 3. En effet, il existe une **interaction entre le traitement et la séquence** : cette différence n'est pas observée pour la séquence 4. La génisse L ayant été exclue de deux périodes, le nombre de génisses pour cette séquence était alors trop limité pour avoir une puissance statistique suffisante.

La  $C_{max_{LH}}$  moyenne obtenue pour le traitement à la gonadoréline ( $6.15 \pm 2.74$  ng/mL) est inférieure au pic physiologique de 13 ng/mL en moyenne alors que la buséréline à la dose de 10 µg ainsi que les deux doses de léciréline, utilisées par voie IM, provoquent des  $C_{max_{LH}}$  similaires (ANOVA, NS) à celles observées lors du pic préovulatoire de LH.

Le  $T_{max_{LH}}$  est observé 1 heure plus tôt après l'administration de gonadoréline à la dose de 100 µg, autour d'1 heure après l'injection, comparativement à celui observé après l'administration de buséréline ou léciréline aux deux doses (ANOVA,  $p < 0.001$ ), autour de 2-3 heures après l'injection. Il n'y a pas eu d'effet séquence sur le  $T_{max_{LH}}$ , ni d'interaction entre le traitement et la séquence.

L' $AUC_{LHD0D4}$  moyenne après une injection intramusculaire de 100 µg de gonadoréline est significativement inférieure à celles obtenues après les autres traitements GnRH (ANOVA,  $p < 0.001$ ) pour les 3 premières séquences. En revanche pour la séquence 4, le nombre de génisses traitées à la gonadoréline était probablement trop faible pour avoir une puissance du test statistique suffisante pour montrer une différence significative. Les deux doses de léciréline et la dose de buséréline utilisées ont eu des effets comparables sur la sécrétion de LH ( $AUC_{LHD0D4}$ ) (ANOVA, NS).

## 1.2. Dynamique ovarienne

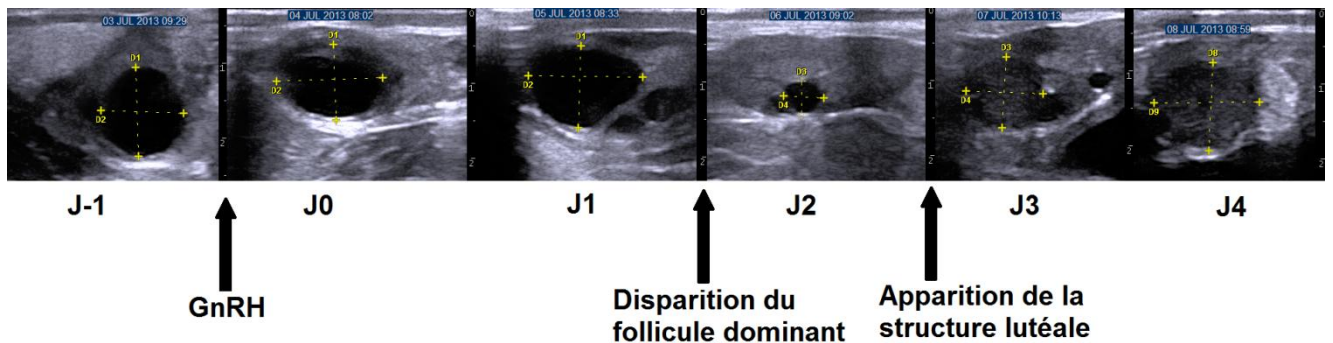
Avant administration des différentes GnRH, au jour 6 - 7 du cycle (D 6-7), les femelles incluses dans l'étude (n = 46 valeurs pour 12 ou 11 génisses sur les 4 périodes, voir II. 2.2.2.) présentaient un follicule dominant de plus de 10 mm de diamètre (moyenne  $\pm$  ET = 12.93  $\pm$  1.33 mm). La taille du follicule avant l'administration de GnRH n'a pas été différente en fonction des traitements GnRH ou en fonction de la séquence (ANOVA, NS).

### Follicule dominant :

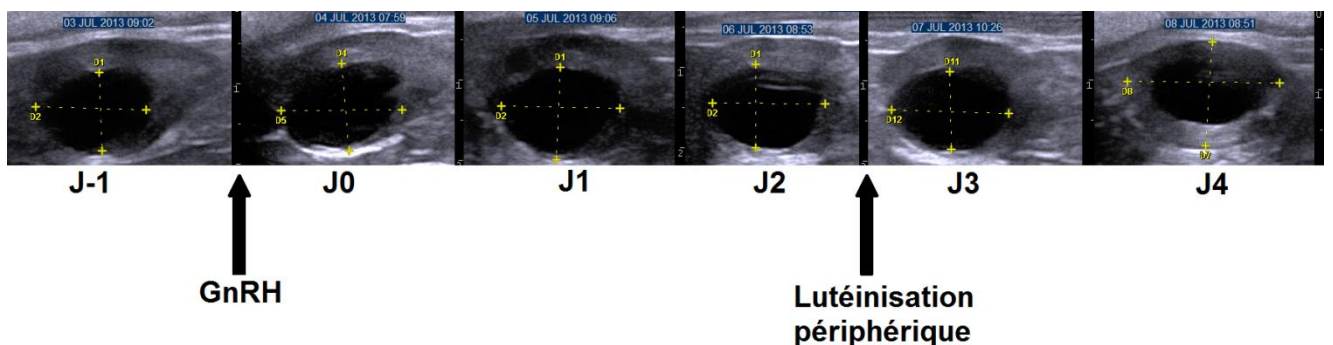
Trois évolutions du follicule dominant après le traitement GnRH ont été observées :

- disparition et donc fin de la dominance de ce dernier :
  - soit par ovulation (figure 15)
  - soit par lutéinisation (figure 16)
- persistance et donc maintien de sa dominance.

Dans le cadre de notre étude (avec l'objectif d'un protocole GPG), seule la persistance du follicule dominant sans lutéinisation a été considérée comme un échec du traitement. En effet cette persistance inhibe la reprise d'une nouvelle vague de croissance folliculaire.



**Figure 15 :** Perte de la dominance du follicule dominant par ovulation suite à l'injection de GnRH et apparition d'une structure lutéale secondaire, observées par échographie sur une génisse représentative



**Figure 16 :** Perte de la dominance du follicule dominant par lutéinisation suite à l'injection de GnRH, observée par échographie sur une génisse représentative

Le Tableau 9 présente les résultats échographiques obtenus selon la molécule injectée :

GnRH, dose	Nombre de génisses	Pourcentage de disparition du follicule dominant		Pourcentage de persistance du follicule dominant
		Avec ovulation	Avec lutéinisation	
Gonadoréline 100 µg	11	54,5 % <sup>a</sup> (6)	18,2 % (2)	27,3 % (3)
Léciréline 25 µg	11	81,8 % <sup>b</sup> (9)	0 % (0)	18,2 % (2)
Léciréline 50 µg	12	100 % <sup>b</sup> (12)	0 % (0)	0 % (0)
Buséréline 10 µg	12	100 % <sup>b</sup> (12)	0 % (0)	0 % (0)

**Tableau 9 :** Devenir du follicule dominant, suivi par échographie après une injection intramusculaire de 100 µg de gonadoréline, de léciréline à la dose de 25 et de 50 µg et de 10 µg de buséréline chez 12 génisses (Les valeurs d'une même colonne, présentant des exposant différents sont significativement différentes), entre parenthèses le nombre de génisses

La gonadoréline à la dose de 100 µg est moins efficace que la léciréline (aux doses de 50 ou 25 µg) et la buséréline à la dose de 10 µg pour induire l'ovulation ( $p < 0.01$ ). Cependant, seules 3 génisses sur 11 n'ont pas présenté de modification du follicule dominant après le traitement à la gonadoréline, qui correspond à un échec du traitement. Cette proportion n'est pas statistiquement différente de celles observées pour les autres traitements.

Pour essayer de comprendre les facteurs qui conduisent à la persistance du follicule dominant, ou à sa perte de dominance par ovulation ou lutéinisation, les caractéristiques suivantes (concentration de progestérone lors de l'injection de GnRH, AUC de LH induit et concentration maximale au pic de LH induit) des femelles ont été évaluées :

- la concentration en progestérone lors de l'injection de GnRH semble jouer un rôle dans la réponse du follicule dominant (tableau 10). En effet, sur 100 % (23 / 23) des génisses ayant une concentration en progestérone faible lors de l'injection de GnRH (inférieur à la valeur médiane, 5,37 ng/mL, des 46 concentrations de progestérone à D0) une perte de la dominance de leur follicule a été observée contre seulement 78 % (18/23) pour les génisses présentant une concentration de progestérone élevée. Il y a donc près de 22 % (5 / 23) des génisses avec une concentration en progestérone à D0 élevée qui ont présenté une persistance du follicule dominant, ce qui regroupe 100 % (5/5) des cas de persistance suite à l'injection d'une des trois molécules.

Concentration plasmatique en progestérone à D0	Nombre de génisses	Pourcentage de disparition du follicule dominant		Pourcentage de persistance du follicule dominant
		Avec ovulation	Avec lutéinisation	
Inférieur à 5,37 ng/mL	23	91,3 % (21)	8,7 % (2)	0 % (0)
Supérieur à 5,37 ng/mL	23	78,3 % (18)	0 % (0)	21,7 % (5)

**Tableau 10 :** Devenir du follicule dominant suivi par échographie, suite à une injection de GnRH en fonction de la concentration plasmatique de progestérone à l'administration de GnRH (5,37 ng/mL, valeur médiane des 46 valeurs de concentrations de progestérone au moment de l'injection de GnRH)

- une réponse en termes de LH plus importante (AUC du pic de LH élevée) semble favoriser l'ovulation du follicule dominant. En effet, chez 91 % (21 / 23) des vaches présentant une AUC supérieure à 36,75 ng/h.mL (valeur médiane des 46 AUC obtenues) le follicule dominant a ovulé, contre seulement 78 % (18 / 23) chez les vaches avec une AUC inférieure à cette valeur. Cependant, quelle que soit la valeur de l'AUC de LH, la perte de dominance a été similaire (21 /23 pour les AUC élevées et 20/23 pour les AUC faibles).

AUC de LH	Nombre de génisses	Pourcentage de disparition du follicule dominant		Pourcentage de persistance du follicule dominant
		Avec ovulation	Avec lutéinisation	
Inférieure à 36,75 ng/h.mL	23	78,3 % (18)	8,7 % (2)	13 % (3)
Supérieure à 36,75 ng/h.mL	23	91,3 % (21)	0 % (0)	8,7 % (2)

**Tableau 11 :** Devenir du follicule dominant suivi par échographie, suite à une injection de GnRH, en fonction de l'AUC de LH obtenue (36,75 ng/mL.h, valeur médiane des 46 AUC obtenues)

- un pic de LH inférieur à la valeur physiologique du pic préovulatoire (13 ng/mL) semble favoriser la persistance du follicule dominant. En effet, chez 16 % (4 / 25) des vaches présentant un pic de LH faible le follicule dominant a persisté, contre moins de 5 % (1 / 21) chez les vaches avec un pic de LH élevé.

Cmax au pic de LH	Nombre de génisses	Pourcentage de disparition du follicule dominant		Pourcentage de persistance du follicule dominant
		Avec ovulation	Avec lutéinisation	
Inférieure 13 ng/mL	25	76 % (19)	8 % (2)	16 % (4)
Supérieure à 13 ng/mL	21	95,2 % (20)	0 % (0)	4,8 % (1)

**Tableau 12 :** Devenir du follicule dominant suivi par échographie, suite à une injection de GnRH, en fonction de la concentration plasmatique maximale de LH atteinte lors du pic de LH induit (13 ng/mL valeur atteinte lors du pic de LH physiologique)

Le délai de perte de dominance du follicule a été analysé en fonction des caractéristiques des femelles et des traitements GnRH. Les critères suivants : léciréline à la dose de 50 µg, concentration initiale en progestérone faible, AUC de LH élevée et concentration maximale au pic de LH élevée, semblent favoriser une disparition plus précoce de la dominance du follicule dominant (entre 0 et 30 heures après l'injection de GnRH, tableau 13). Cependant, il existe une grande hétérogénéité du délai entre l'administration de GnRH et la disparition de la dominance du follicule dominant. Par ailleurs, le plan expérimental utilisé (échographies quotidiennes) ne nous a pas permis de déterminer précisément ce délai.

		Nombre de génisses	Temps (en heure) entre l'administration de GnRH et la disparition de la dominance du follicule		
			0-30	24-54	48-74
GnRH, dose	Gonadoréline 100 µg	6	16.7% (1)	83.3% (5)	0.0% (0)
	Léciréline 25 µg	10	0.0% (0)	90.0% (9)	10.0% (1)
	Léciréline 50 µg	13	23.1% (3)	69.2% (9)	7.7% (1)
	Buséréline 10 µg	12	8.3% (1)	91.7% (11)	0.0% (0)
Concentration plasmatique en progestérone à D0	Inférieure à 5,37 ng/mL	22	18.2% (4)	72.7% (16)	9.1% (2)
	Supérieure à 5,37 ng/mL	19	5.3% (1)	94.7% (18)	0.0% (0)
AUC en LH	Inférieure 36,75 ng/h.mL	18	5.6% (1)	88.9% (16)	5.6% (1)
	Supérieure à 36,75 ng/h.mL	23	17.4% (4)	78.3% (18)	4.3% (1)
Cmax au pic de LH	Inférieure 13 ng/mL	21	4.8% (1)	85.7% (18)	9.5% (2)
	Supérieure à 13 ng/mL	20	20.0% (4)	80.0% (16)	0.0% (0)

Tableau 13 : Délai entre l'injection de GnRH et la disparition de la dominance du follicule dominant selon la GnRH utilisée, la concentration plasmatique de progestérone lors de l'injection, l'AUC de LH obtenue et la concentration plasmatique maximale de LH lors du pic de LH induit

En outre, les caractéristiques des femelles (concentration initiale en progestérone, AUC de LH et concentration maximale de LH) ou le traitement GnRH n'ont pas eu d'influence sur le délai entre l'injection de GnRH et l'apparition de la structure lutéale secondaire et sur le délai entre la disparition de la dominance du follicule dominant et l'apparition de la structure lutéale secondaire.

#### Démarrage d'une nouvelle vague folliculaire :

Les caractéristiques des femelles et des traitements à la GnRH qui ont été suivis par le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire chez le pourcentage le plus élevé de vaches sont l'utilisation de Léciréline 50 µg et Buséréline 10 µg, une concentration plasmatique initiale en progestérone faible et une disparition du follicule dominant (Tableau 14). En revanche, l'AUC de LH et la concentration maximale de LH atteinte lors du pic de LH ne semblent pas avoir d'impact sur le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire. Il faut noter que 40 % (2 / 5) des cas de persistance du follicule dominant ont été suivis par le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire. En outre, il est possible que le suivi échographique durant 4 jours ait été insuffisant pour évaluer correctement ce critère.

		Nombre de génisses	Démarrage d'une nouvelle vague folliculaire	
			Oui	Non
GnRH, dose	Gonadoréline 100 µg	11	82% (9)	18% (2)
	Léciréline 25 µg	11	91% (10)	9% (1)
	Léciréline 50 µg	12	100% (12)	0% (0)
	Buséréline 10 µg	12	100% (12)	0% (0)
Concentration plasmatique en progestérone à D0	Inférieure à 5,37 ng/mL	23	100% (23)	0% (0)
	Supérieure à 5,37 ng/mL	23	87% (20)	13% (3)
AUC en LH	Inférieure 36,75 ng/h.mL	24	92% (22)	8% (2)
	Supérieure à 36,75 ng/h.mL	22	95% (21)	5% (1)
Cmax au pic de LH	Inférieure 13 ng/mL	25	92% (23)	8% (2)
	Supérieure à 13 ng/mL	21	95% (20)	5% (1)
Evolution du follicule dominant	Disparition par ovulation	39	100 % (39)	0 % (0)
	Disparition par lutéinisation	2	100 % (2)	0 % (0)
	Persistance	5	40 % (2)	60 % (3)

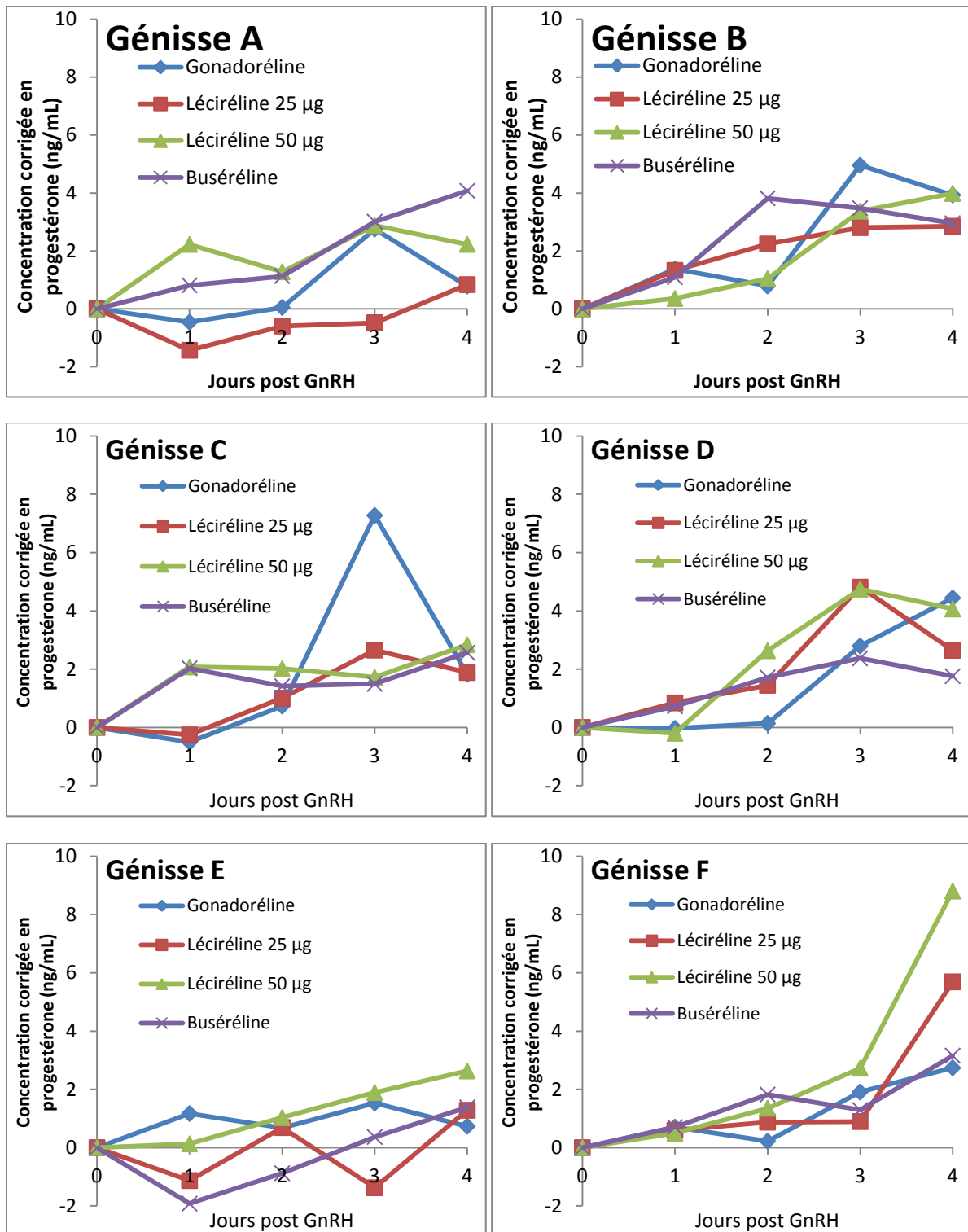
**Tableau 14 :** Démarrage d'une nouvelle vague folliculaire selon la GnRH utilisée, la concentration plasmatique de progestérone lors de l'injection, l'AUC de LH obtenue, la concentration plasmatique maximale de LH lors du pic de LH induit et l'évolution du follicule dominant

Les caractéristiques des femelles (concentration initiale en progestérone, AUC de LH, concentration maximale de LH et évolution du follicule dominant) ou le traitement GnRH n'ont pas eu d'influence sur le délai entre la disparition de la dominance du follicule et le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire.

### 1.3. Progestérone

La concentration moyenne en progestérone avant administration de GnRH était de  $5,21 \pm 1,50$  ng/mL. La moyenne des concentrations de progestérone avant l'injection de Gonadoréline était légèrement plus élevée que celle obtenue avant l'injection de léciréline à la dose 50 µg (ANOVA, *post hoc* Tukey,  $p=0,05$ ). Cette différence a été corrigée en soustrayant la progestéronémie avant administration de GnRH à toutes les concentrations de progestérone mesurées après l'administration de GnRH, nommées concentrations corrigées.

La figure 17 présente les concentrations corrigées de progestérone individuelles après administration intramusculaire des différentes modalités de traitement GnRH chez les 12 génisses.



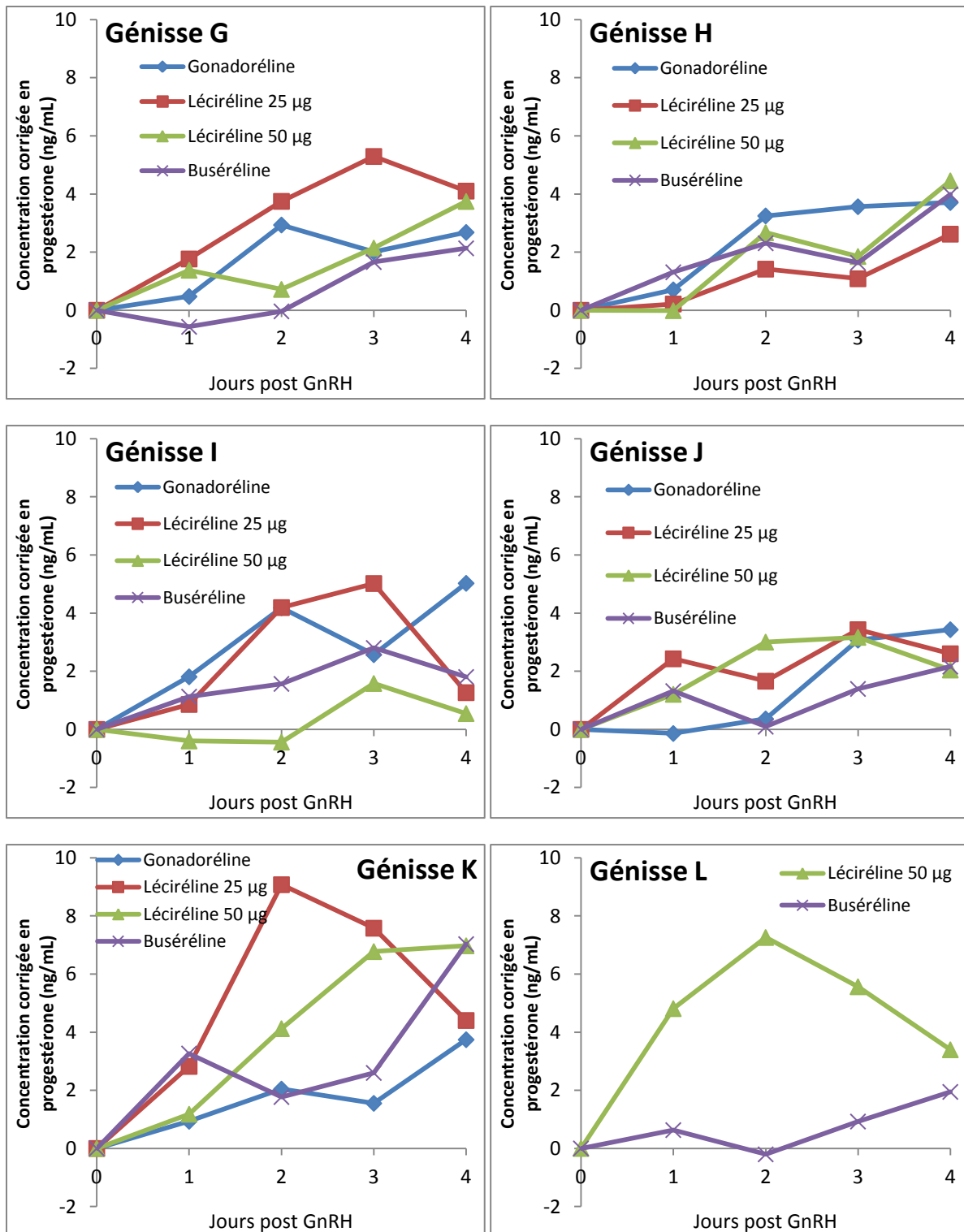
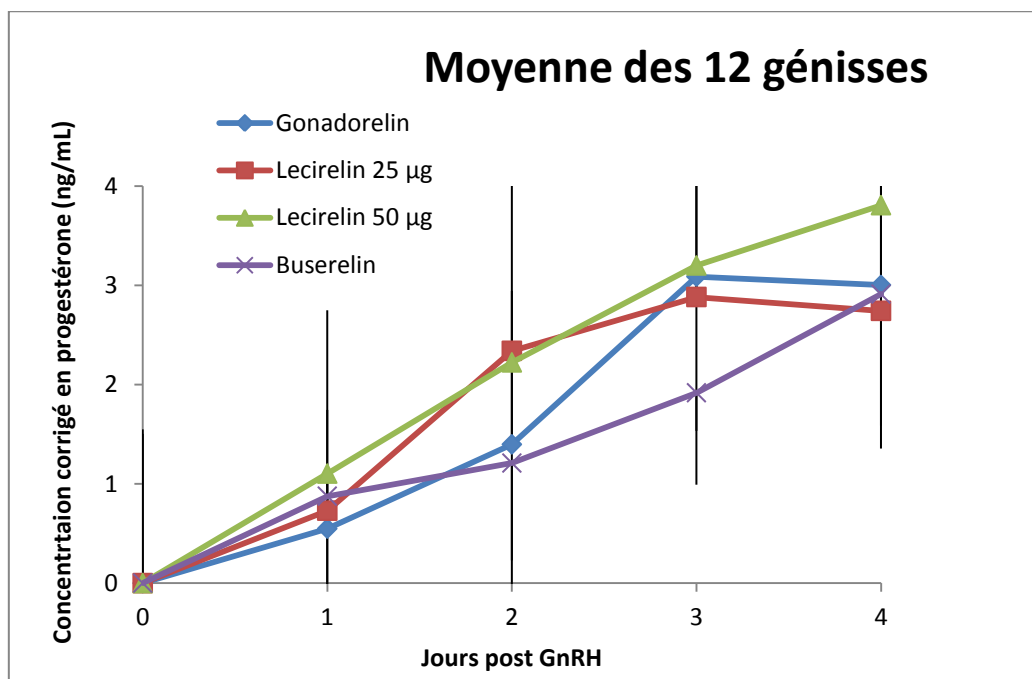


Figure 17 : Evolution temporelle des concentrations plasmatiques corrigées de progestérone après administration intramusculaire de 100 µg de gonadoreline, de léciréline à la dose 25 et 50 µg et de 10 µg de buséréline chez 12 génisses Prim'Holstein

L'inspection visuelle de la figure 17 montre que, globalement, les concentrations plasmatiques corrigées de progestérone augmentent au cours du temps, mais de façon relativement variable selon les génisses et la GnRH injectée.



La figure 18 présente les moyennes des concentrations plasmatiques corrigées de progestérone après injection intramusculaire des différentes GnRH pour les 12 génisses de l'étude.



**Figure 18** : Evolution temporelle des moyennes des concentrations plasmatiques corrigées de progestérone après administration intramusculaire de 100 µg de gonadoreline, de léciréline à la dose 25 et 50 µg et de 10 µg de buséréline pour 12 génisses Prim'Holstein

En quatre jours, la concentration plasmatique en progestérone a augmenté d'environ 2,5 à 3 ng/mL suite à l'administration de gonadoreline, de léciréline à la dose de 25 µg ou de buséréline et de près de 4 ng/mL suite à l'administration de léciréline à la dose de 50 µg. Toutefois, ces différences ne sont pas significatives.

Le tableau 15 regroupe les moyennes et écart-types de l'augmentation de progestérone observée 4 jours post injection de GnRH en fonction de la molécule administrée.

GnRH, dose	Moyenne des augmentations de concentrations plasmatiques de progestérone 4 jours post injection	Ecart-type	Nombre de génisses
Gonadoreline 100 µg	3 ng/mL	1,41 ng/mL	11
Léciréline 25 µg	2,74 ng/mL	1,48 ng/mL	11
Léciréline 50 µg	3,81 ng/mL	2,22 ng/mL	12
Buséréline 10 µg	2,91 ng/mL	1,56 ng/mL	12

**Tableau 15** : Valeurs moyennes et écart-types des différences de progestéronémie entre J4 et J0 post administration intramusculaire de 100 µg de gonadoreline, de léciréline à la dose 25 µg et 50 µg et de 10 µg de buséréline pour 12 génisses Prim'Holstein

Les facteurs associés à la plus forte augmentation de progestérone ont été une concentration faible en progestérone avant l'administration de GnRH et une Cmax au pic de LH élevée (Tableau 16). En revanche, l'AUC de LH, l'évolution du follicule dominant, le diamètre du follicule lors de l'ovulation, l'apparition d'une structure lutéale secondaire et la précocité de son apparition ne semblent pas avoir d'impact sur le niveau de production de progestérone suite à l'administration de GnRH (Tableau 16).

		Nombre de génisses	Différence de progestéronémie entre J4 et J0	
			Inférieure à 2,79 ng/mL	Supérieure à 2,79 ng/mL
Concentration plasmatique en progestérone à D0	Inférieure à 5,37 ng/mL	23	39% (9)	61% (14)
	Supérieure à 5,37 ng/mL	23	70% (16)	30% (7)
AUC en LH	Inférieure 36,75 ng/h.mL	23	57% (13)	43% (10)
	Supérieure à 36,75 ng/h.mL	23	43% (10)	57% (13)
Cmax au pic de LH	Inférieure 13 ng/mL	25	60% (15)	40% (10)
	Supérieure à 13 ng/mL	21	38% (8)	62% (13)
Evolution du follicule dominant	Disparition par ovulation	39	49% (19)	51% (21)
	Disparition par lutéinisation	2	50% (1)	50% (1)
	Persistance	5	60% (3)	40% (2)
Apparition d'une structure lutéale secondaire	Oui	40	50% (20)	50% (20)
	Non	6	50% (3)	50% (3)
Diamètre du follicule à l'ovulation	Inférieur à 13 mm	19	47% (9)	53% (10)
	Supérieur à 13 mm	20	50% (10)	50% (10)
Jour d'apparition de la structure lutéale secondaire	2 jours après injection de GnRH	9	56% (5)	44% (4)
	3 jours après injection de GnRH	22	50% (11)	50% (11)
	4 jours ou plus après injection de GnRH	9	44% (4)	56% (5)

**Tableau 16 :** Différence de progestéronémie entre J4 et J0 en fonction de la concentration plasmatique de progestérone lors de l'injection, l'AUC de LH, la concentration plasmatique maximale de LH lors du pic de LH, l'évolution du follicule, l'apparition d'une structure lutéale secondaire, le diamètre du follicule dominant à l'ovulation et le jour d'apparition de la structure lutéale secondaire (2,79 ng/mL : valeur médiane des augmentations de concentrations plasmatiques de progestérone 4 jours post injection)

## 2. Discussion

### 2.1. Aspects méthodologiques

#### 2.1.1. Excellence de l'étude

Les différents groupes de génisses ont été constitués à partir de génisses homogènes en âge (moyenne de 19,8 mois au début de l'étude avec un écart-type de 1,9 mois), en poids (moyenne de 325,8 kg en début d'étude avec un écart-type de 28,30 kg), en note d'état corporel et en gain moyen quotidien (poids en fin d'étude de 359,2 kg avec un écart-type de 24,24 kg). Cette homogénéité est importante car une croissance insuffisante peut influencer la réponse ovulatoire (Souza et al., 2009).

Le plan expérimental en carré latin, qui signifie que toutes les génisses ont reçu tous les traitements, permet de prendre en compte la variabilité intra individuelle et l'effet possible de la répétition des traitements au travers de l'effet séquence est pris en compte.

L'étude a été réalisée en aveugle, c'est-à-dire que lors des suivis échographiques le traitement reçu par la génisse n'était pas connu par l'opérateur. De plus, le laboratoire qui a financé l'étude (Vétoquinol), qui commercialise également une des molécules étudiées, n'a pas été impliqué dans la phase animale des expérimentations ni dans l'analyse des résultats.

L'observation des chaleurs, point clé du protocole pour la détermination du jour D0 du cycle, a été réalisée de manière soutenue. En effet, l'observation des chaleurs qui a débuté deux jours après l'administration de cloprosténol, a été réalisée quotidiennement de 7h00 à 22h00, pendant des séquences de 20 minutes toutes les 2 à 4 heures jusqu'à la manifestation des signes de chaleurs de toutes les génisses sur la base de plusieurs critères comportementaux et du dispositif marqueur de chevauchement (Estrotec TM).

Pour maîtriser les facteurs de variation de la réponse à la GnRH, le statut physiologique des femelles au moment des administrations des différentes GnRH a été standardisé. Les administrations ont été réalisées en phase lutéale et au cours de la phase de dominance de la première vague folliculaire. Premièrement, les échographies ont été réalisées à partir des jours 5 et 6 post-œstrus, ce qui correspond à la période de plus forte probabilité d'observation d'un follicule dominant chez des génisses Prim'Holstein (Knopft et al., 1988 ; Ginther et al., 1989). Deuxièmement, pour être incluses dans l'étude les génisses devaient présenter lors des échographies au jour 6 ou 7 du cycle, un follicule de diamètre supérieur ou égal à 10 mm. En effet, c'est à cette taille que les follicules acquièrent la capacité à ovuler (Sartori et al., 2001). La présence d'un corps jaune mature à ce stade a également été vérifiée par échographie et confirmée a posteriori par des concentrations plasmatiques de progestérone supérieures à 2 ng/mL.

L'administration du cloprosténol a été réalisée 7 jours après l'administration de GnRH, soit au minimum 5 jours après l'ovulation ou la lutéinisation du follicule dominant. La structure lutéale secondaire était donc théoriquement sensible au cloprosténol au moment de son injection (Valdecabres-Torres et al., 2012). De plus, les injections de cloprosténol ont été réalisées le matin, vers 8 heures ce qui optimise les chances d'observer les chaleurs en journée, contrairement à une injection réalisée en fin de journée, vers 20 heures (Hodges et al., 1988).

La génisse L a été par deux fois exclue de l'étude (pour la période 2 car elle n'a pas été vue en chaleur à la fin de la période 1 et pour la période 4 car elle ne présentait pas un follicule dominant de diamètre supérieur à 10 mm), ce qui limite le nombre de données pour la gonadoréline, la léciréline 25 µg et pour la séquence 4. Ainsi, lors de cette dernière séquence, le nombre de vaches était insuffisant pour avoir une puissance suffisante des tests statistiques et pour conclure à des effets significatifs.

Un groupe témoin, ne recevant pas d'injection de GnRH au sixième ou septième jour du cycle et avec le même suivi hormonal (LH et progestérone) et échographique aurait permis de faire la distinction entre les événements (disparition naturelle du follicule dominant et l'augmentation de la progestéronémie) attribuables à l'évolution physiologique du cycle et ceux induits par l'injection de GnRH.

Les antécédents (alimentaire, pathologique) des génisses ne sont pas connus sur les 5 derniers mois. Or il faut en moyenne 5 mois à un follicule pour passer du stade primordial au stade pré-ovulatoire (Webb et al., 2004). Cependant, toutes les génisses étaient cyclées avant le début de l'étude (présence de corps jaune et follicules).

Enfin, les volumes injectés et les solvants lors des traitements étaient différents selon la molécule et la dose, de 1 à 2,5 mL. Toutefois, il est peu probable que ces paramètres puissent expliquer des différences de réponses aux différentes GnRH.

### **2.1.2. Pertinence de l'étude**

La reproduction en élevage bovin, principalement laitier, est un des axes prioritaires de recherche en médecine vétérinaire, en raison de la détérioration importante de la fertilité ces dernières décennies (Le Mézec P., 2014). Or la reproduction conditionne la rentabilité technico-économique de l'élevage. Dans ce contexte, notre étude contribue à approfondir la physiologie reproductive et son contrôle hormonal chez les vaches Prim'Holstein, race la plus répandue dans les élevages laitiers français.

Les trois molécules étudiées, la gonadoréline, la buséréline et la léciréline sont commercialisées et utilisées sur le terrain en France. A la lumière de la bibliographie, à notre connaissance, aucune étude n'avait comparé *in vivo* ces trois molécules en même temps, en particulier la léciréline.

En outre, notre étude a pris en compte différentes réponses à la GnRH, (1) sur la sécrétion de LH, (2) sur la dynamique ovarienne, plus particulièrement la disparition du follicule dominant et le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire, qui correspondent aux effets recherchés lors de leur utilisation sur le terrain et rarement évalués dans les autres études, (3) sur la production de progestérone, très rarement évaluée en réponse à la GnRH, malgré son importance primordiale dans la survie embryonnaire.

Le faible nombre de femelles (n=12), ainsi que leur âge (uniquement des génisses) et leur race (uniquement des Prim'Holstein) rendent les résultats extrapolables uniquement à cette catégorie d'animaux, et non pas à l'ensemble des vaches françaises. L'impossibilité d'extrapolation ne provient pas de la dose. En effet les doses sont similaires quels que soit l'âge ou la race. En revanche, la physiologie ovarienne varie en fonction de l'âge, par exemple la proportion de cycles à 2 ou 3 vagues diffère selon la classe d'âge des bovins (Knopf et al., 1988 ; Ginther et al., 1989) ou du type de production, le pic de LH est plus précoce après une injection de GnRH chez les vaches allaitantes que chez les vaches laitières (Martinez et al., 2003).

Par ailleurs, la comparaison des analogues de la GnRH a été réalisée dans un schéma expérimental contrôlé : administration des différentes molécules analogues de la GnRH en phase lutéale, en fin de première vague folliculaire, après une détection des chaleurs rigoureuse. Ces conditions ne correspondent pas à des conditions de terrain. De plus, la GnRH s'utilise principalement dans le cadre d'un traitement GPG pour maîtriser la phase folliculaire et contrôler l'ovulation, afin de programmer l'insémination en s'affranchissant de l'observation des chaleurs. Dans ce cadre, la première GnRH n'est pas réalisée à un moment prédéterminé du cycle. C'est une limite à l'exploitation des résultats de l'étude en termes de réussite des traitements. Toutefois, actuellement, le traitement GPG (ou Ovsynch) utilisé en Amérique du Nord après une pré synchronisation permet d'obtenir de meilleurs résultats de fertilité à l'œstrus induit. Il serait intéressant de compléter notre étude sur la comparaison de différentes GnRH en termes de réponse hormonale et de dynamique ovarienne par une étude terrain.

## **2.2. Discussion des résultats**

### **2.2.1. Dynamique ovarienne**

Dans notre étude, le taux de disparition de la dominance du follicule suite à l'administration de GnRH est élevé. Cela peut s'expliquer par une standardisation du protocole avec une administration au jour 6 (7 génisses) ou 7 (38 génisses) du cycle. En effet, cette période correspond à la phase de dominance de la première vague, que le cycle comporte 2 ou 3 vagues. Plus précisément, le follicule atteint son plus gros diamètre au jour 6,2 du cycle pour les cycles à 2 vagues et au jour 6,5 du cycle pour les cycles à 3 vagues (Ginther et al., 1989).

Cette étude a permis de montrer qu'une demi-dose de léciréline (25 µg) est aussi efficace que la dose recommandée pour l'indication de l'induction de l'ovulation dans le RCP du produit (50 µg) pour entraîner la disparition de la dominance du follicule dominant de la première vague entre le sixième et septième jour du cycle et engendrer le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire chez des génisses Prim'Holstein.

Dans cette étude, des concentrations plasmatiques élevées en progestérone au moment de l'administration de GnRH pourraient avoir un effet négatif sur la perte de dominance du follicule et sur le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire (voir II.1.2.). Cette observation est en accord avec les études de Twagiramungu et al. (1994), Colazo et al. (2008) et Dias et al. (2010). On peut trouver plusieurs explications à ce phénomène. Premièrement, un follicule en croissance dans un environnement avec une progestéronémie basse possède plus de récepteurs à LH et est par conséquent plus sensible à une élévation de la LH (Schmitt et al., 1996). Deuxièmement, une concentration de progestérone élevée peut jouer un rôle inhibiteur sur la sécrétion de LH en réponse à une administration de GnRH (Kaltenbach et al., 1974 ; Dias et al., 2010). Enfin, d'après Colazo et al. (2008), un follicule en croissance avec une progestéronémie élevée serait de plus petite taille, ce qui est souvent associé à moins de récepteurs de LH, ce qui expliquerait sa moindre sensibilité à une administration de GnRH. Cependant, pour les 12 génisses et les trois molécules utilisées, aucune différence de taille du follicule n'a été notée entre ceux en croissance dans un environnement à faible progestéronémie ( $12,5 \pm 1,1$  mm de diamètre) et ceux ayant crû en présence d'une forte concentration en progestérone ( $13,1 \pm 1,0$  mm de diamètre).

Le critère d'inclusion dans l'étude a été une taille minimale de 10 mm pour le follicule dominant au jour 5 ou 6 du cycle. Sartori et al. (2001) ont montré en effet que les follicules deviennent aptes à ovuler, grâce à l'augmentation du nombre de récepteurs à LH, à la taille de 10 mm de diamètre. En revanche, ces derniers ont aussi montré que l'ovulation à cette taille nécessite une plus forte dose de GnRH. Ainsi, une dose de gonadoréline de 200 µg, aurait pu permettre d'obtenir un effet maximal en termes de LH et de réponse ovulatoire (Chesnault et al., 1990 ; Monnoyer et al., 2004) et d'optimiser ainsi les chances de redémarrage d'une nouvelle vague folliculaire.

Le jour de détection de la structure lutéale secondaire est de plus en plus précoce et répétable (écart-type en diminution) entre la première période (début de l'étude) et la dernière période (fin de l'étude, Tableau 17). Cette observation pourrait s'expliquer par l'amélioration de la technicité des opérateurs au cours de l'étude pour détecter échographiquement les structures lutéales secondaires et par le fait que sa mise en évidence n'avait pas été initialement prévue dans le protocole. Pour prévenir ce biais expérimental, il aurait donc été souhaitable que cette structure lutéale secondaire soit systématiquement recherchée dès la première période.

	<b>Jour moyen de détection</b>	<b>Ecart-type</b>
<b>Période 1</b>	3,5	1,3
<b>Période 2</b>	3,5	0,8
<b>Période 3</b>	2,8	0,4
<b>Période 4</b>	2,4	0,5

Tableau 17 : Jour moyen de détection échographique de la structure lutéale secondaire et écart-type selon les périodes

Dans 2 cas sur 5 de persistance du follicule dominant (soit 40 %), un démarrage d'une nouvelle vague folliculaire a été observé, alors même que ce follicule dominant inhibe cette entrée en croissance folliculaire. On peut donc penser que pour ces deux cas une lutéinisation des follicules s'est produite et qu'elle n'aurait pas été détectée échographiquement.

Sur l'ensemble des femelles, les démarrages d'une nouvelle vague folliculaire ont été observés entre les jours 8 et 11 du cycle qui correspondent aux jours de démarrage physiologique de la seconde (du 9<sup>ième</sup> au 12<sup>ième</sup> jour) ou de la deuxième (8<sup>ième</sup> au 10<sup>ième</sup> jour) vague folliculaire (voir I.1.3.2.), sans administration de GnRH. Il est donc difficile de différencier l'initiation d'une nouvelle vague qui serait due à l'administration de GnRH de celle survenant spontanément au cours du cycle œstral. L'inclusion d'un groupe témoin, ne recevant pas d'administration de GnRH, aurait été souhaitable.

Le suivi échographique des petits follicules a été réalisé sans identification des follicules. Cette méthode est relativement sensible pour mettre en évidence le démarrage d'une nouvelle vague (Ginther, 1992). Par contre, le suivi échographique du follicule dominant a nécessité son identification spatiale sur l'ovaire, méthode semblant être la plus spécifique et sensible (Ginther, 1992). Pour éviter que la connaissance du follicule dominant identifié au cours de l'échographie précédente (24 h plus tôt) modifie son interprétation par l'opérateur, l'emplacement spatial du follicule dominant et sa taille n'ont été vérifiés qu'a posteriori, une fois l'échographie réalisée.

## 2.2.2. Progestérone

La concentration plasmatique en progestérone avant l'administration des différentes GnRH, soit au jour 6 ou 7 du cycle, était en moyenne de  $5,21 \pm 1,5$  ng/mL, valeur supérieure à celles rapportées dans la bibliographie qui se situent entre 3 et 3,5 ng/mL à ce stade du cycle. Cette différence pourrait s'expliquer par l'échantillon biologique (plasma ou sérum) ou par un effet matrice, ou à des différences en fonction des méthodes de dosage (radio-immunologique, immuno-enzymatique).

Il a été montré que l'injection de GnRH en phase lutéale entraîne 90 minutes plus tard une augmentation de la concentration de progestérone, due à un effet direct de la GnRH sur le corps jaune (Macmillan et al., 1984) et à un effet du pic de LH induit (voir I.2.3.2). Cette variation transitoire n'a pu être perçue au cours de cette étude car le premier prélèvement a été réalisé avant l'injection de GnRH et le second 24 heures après. De plus, Hannan et al. (2010) ont montré qu'il n'existait pas de variations diurnes de la concentration de progestérone. Ainsi, les variations liées à l'heure de prélèvement de sang pour le dosage de la progestérone suivant les jours n'ont pas d'influence sur l'évolution de la progestéronémie observée.

L'augmentation des concentrations de progestérone sur les 4 jours post injection (jour 6 ou 7 au jour 10 ou 11 du cycle) de GnRH est de 3,1 ng/mL en moyenne, toutes molécules et génisses confondues. L'absence de groupe témoin dans cette étude ne permet pas de savoir si cette augmentation est attribuable à la GnRH ou si elle correspond à celle qui est physiologiquement observée au cours du cycle. Le tableau 18 est une synthèse bibliographique des valeurs de concentration de progestérone au cours du cycle des jours 6 à 10 et 7 à 11.

Référence	Nombre et caractéristiques des animaux		Jour 6 → jour 10 du cycle		Jour 7 → jour 11 du cycle	
			Concentration (ng/mL)	Augmentation (ng/mL)	Concentration (ng/mL)	Augmentation (ng/mL)
Davis et al., 2003	7 génisses laitières		2 → 4	2	3 → 4	1
Meier et al., 2009	27 vaches laitières	Modèle pic	2 → 4,4	2,4	2,6 → 4,9	2,3
		Modèle plateau	2 → 5,9	3,9	3 → 6	3
		Modèle structuré	3 → 4,2	1,2	3,5 → 4,4	0,9
Hannan et al., 2010	10 génisses Prim'Holstein		6 → 7,4	1,4	6 → 8,5	2,5
Martin et al., 2013	Méta-analyse à partir de 20 études		2,5 → 4,4	1,9	2,8 → 5	2,2
<b>Moyenne</b>			<b>2,9 → 5,1</b>	<b>2,2</b>	<b>3,5 → 5,4</b>	<b>1,9</b>

**Tableau 18** : Synthèse bibliographique des valeurs de concentration de progestérone et leur augmentation des jours 6 à 10 et des jours 7 à 11 d'un cycle

L'augmentation physiologique des concentrations de progestérone au cours d'un cycle œstral est similaire pour les jours 6 à 10 (2,2 ng/mL) ou 7 à 11 (1,9 ng/mL) et est inférieure à l'augmentation moyenne de la concentration de progestérone observée dans notre étude (3,1 ng/mL) au cours de cette période.

Cette augmentation de la progestéronémie peut avoir deux origines : le corps jaune primaire et/ou le corps jaune secondaire. Après ablation chirurgicale du corps jaune secondaire au jour 13 du cycle, soit 8 jours après l'injection de GnRH (ayant eu lieu le cinquième jour du cycle) (Schmitt et al., 1996 b), la concentration de progestérone des vaches ayant reçu l'injection de GnRH, qui était alors au jour 13 du cycle supérieure à la concentration du groupe contrôle, est revenue similaire à la concentration du groupe contrôle le jour 14 du cycle. Cette étude semble donc montrer que le corps jaune secondaire 8 jours après sa formation est responsable au moins en partie de la sécrétion supplémentaire de progestérone par rapport à un cycle œstral.

Cependant, d'autres hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette augmentation de la progestéronémie. Premièrement, le pic de LH induit par l'injection de GnRH peut stimuler la production de progestérone par le corps jaune primaire (Davis et al., 2002). Deuxièmement, le pic de LH peut stimuler la transformation de petites cellules lutéales en grande cellules lutéales, plus hautes productrices de progestérone (Twagiramungu et al., 1995).

Au cours de cette étude, l'ovulation a eu lieu dans la majorité des cas entre le premier et le deuxième jour post administration de GnRH. Les corps jaunes secondaires ont donc été suivis, en termes de production potentielle de progestérone, de leur jour de formation à leur troisième jour. Le tableau 19 est une synthèse bibliographique des valeurs de concentration de progestérone au cours d'un cycle physiologique des jours 0 à 3.

Référence	Nombre et caractéristiques des animaux		Jour 0 → jour 3 du cycle	
			Concentration (ng/mL)	Augmentation (ng/mL)
Meier et al., 2009	27 vaches laitières	Modèle pic	0 → 1	1
		Modèle plateau	0 → 0,4	0,4
		Modèle structuré	0 → 0,6	0,6
Hannan et al., 2010	10 génisses Prim'Holstein		0,4 → 2	1,6
Martin et al., 2013	Méta-analyse à partir de 20 études		0,5 → 1	0,5
<b>Moyenne</b>			<b>0,2 → 1</b>	<b>0,8</b>

**Tableau 19** : Synthèse bibliographique des valeurs de concentration de progestérone et leur augmentation des jours 0 à 3 d'un cycle physiologique

La production de progestérone par le corps jaune secondaire dans ces 3 premiers jours peut être comparée à la production de progestérone d'un corps jaune primaire dans les trois premiers jours d'un cycle œstral. Cette approximation surévalue certainement la production de progestérone du corps jaune secondaire. En effet, le diamètre du follicule à l'origine du corps jaune secondaire dans cette étude est inférieur au diamètre d'un follicule pré-ovulatoire d'un cycle œstral, et un petit follicule produit un petit corps jaune dont la taille est proportionnelle à sa production de progestérone (Atkins et al., 2008 ; Macmillan et al., 2003). Dans notre étude, la



différence entre la production de progestérone sur les 4 jours suivant l'administration de GnRH (3,1 ng/mL) et la production de progestérone au cours du un cycle du 6-7<sup>ième</sup> au 10-11<sup>ième</sup> jour (1,9 à 2,2 ng/mL) correspond approximativement à la production d'un corps jaune secondaire sur cette même période (0,8 ng/mL). Cette observation est un argument en faveur de l'hypothèse selon laquelle la formation du corps jaune secondaire en réponse à la GnRH est, au moins en partie, responsable de l'augmentation de la production supérieure de progestérone dans notre étude.

### **2.3. Intérêts et perspectives de l'étude**

L'étude a permis de montrer que l'utilisation de la gonadoréline, de la buséréline et de la léciréline à la dose « induction de l'ovulation » est efficace pour synchroniser la vague de croissance folliculaire de génisses cyclées au jour 6 – 7 du cycle. Cela a donc un intérêt majeur dans le cadre d'un protocole GPG (Ovsynch®), si toutefois une présynchronisation (Presynch®, protocole comprenant deux injections de PGF2 alpha à 14 jours d'intervalle, débuté 26 jours avant un protocole GPG) a été mise en place. En Amérique du Nord, ce type de protocole, est largement utilisé et permet d'augmenter le taux de gestation en comparaison à un protocole GPG seul, respectivement 47% contre 34 % (Moreira et al., 2001). Cette pratique a de grandes chances de se développer en France dans les prochaines années, pour faciliter la gestion de la reproduction et s'affranchir de la détection des chaleurs, en raison de l'augmentation de la taille des troupeaux et de la diminution de la main d'œuvre.

Par ailleurs, l'utilisation d'une demi-dose de léciréline (25 µg) est suffisante pour induire une nouvelle vague folliculaire et les effets observés sont comparables à ceux d'une dose de léciréline indiquée pour induire l'ovulation, en termes de sécrétion de LH, de progestérone et de dynamique folliculaire.

Ces dernières décennies la fertilité des vaches laitières s'est clairement dégradée (Le Mézec, 2014) : le taux de réussite en première insémination est passé de 43 à 38 % de 2000 à 2012 et l'intervalle vêlage-vêlage a augmenté de 23 jours sur cette même période pour atteindre une valeur de 423 jours. Les résultats en reproduction sont négativement corrélés à la production laitière. La sélection génétique centrée sur le critère de la production laitière explique donc la dégradation de la fertilité. On peut expliquer ce phénomène par :

- l'existence d'une corrélation positive entre la production laitière et la quantité de matière sèche ingérée (Champenois et Verdoolaege, 2015),
- l'existence d'une corrélation positive entre la quantité de matière sèche ingérée et le flux sanguin hépatique (Wiltbank et al., 2006),
- l'existence d'une corrélation positive entre le flux sanguin hépatique et le catabolisme de la progestérone (Wiltbank et al., 2006 ; Wiltbank et al., 2014 a ; Wiltbank et al., 2014 b),
- l'existence d'une corrélation positive entre la concentration de progestérone circulante avant l'insémination artificielle et la fertilité (Wiltbank et al., 2014 b).

La production de progestérone dans notre étude, sur la période du 6-7<sup>ème</sup> jour au 10 – 11<sup>ème</sup> jour du cycle, suite à une injection de GnRH au jour 6 -7 du cycle semble supérieure à celle observée au cours d'un cycle œstral. Ce résultat pourrait donc avoir des applications pour optimiser la reproduction des vaches laitières. En effet, la reconnaissance maternelle de l'embryon se déroule 11 jours après l'ovulation chez les bovins et a pour but d'éviter la régression du corps jaune, ce dernier étant essentiel pour la poursuite de la gestation. La lutéolyse débutant physiologiquement après le 13<sup>ème</sup> jour du cycle sans fécondation, la période critique pour la survie embryonnaire se situe alors entre le 11<sup>ème</sup> et 13<sup>ème</sup> jour du cycle. Une augmentation de la progestéronémie sur cette période suite à une injection de GnRH pourrait permettre de diminuer le taux de mortalité embryonnaire précoce. Il a été montré en effet que l'augmentation de la concentration de progestérone circulante après l'insémination artificielle permet une augmentation de la fertilité, de 3 à 3,5 % (Wiltbank et al., 2006 ; Wiltbank et al., 2014 b). Mais il a aussi été montré qu'une augmentation de la concentration de progestérone circulante avant l'insémination artificielle diminue la mortalité embryonnaire et augmente la fertilité jusqu'à 10 % (Shaham-Albalancy et al., 2001). La première injection de GnRH du protocole GPG semble donc une méthode encourageante pour augmenter la progestéronémie avant l'insémination artificielle et donc augmenter la fertilité après l'insémination artificielle. L'utilisation d'implants de progestérone ou la vérification échographique de la présence d'un corps jaune fonctionnel (de diamètre supérieur à 15 mm) sont d'autres solutions pour optimiser la progestéronémie avant l'insémination artificielle.

Toutefois, la part des insuffisances lutéales dans les mortalités embryonnaires précoces n'est pas connue dans l'espèce bovine en raison des impossibilités techniques de dépistage, contrairement à l'espèce humaine où ce dernier peut être réalisé. L'augmentation de l'homozygotie dans le génotype bovin due à la sélection génétique, semble à elle seule expliquer une grande quantité des mortalités embryonnaires précoces, cause rarement évoquée dans l'espèce humaine en raison d'un plus grand brassage génétique.

Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces conclusions chez des génisses et des vaches, de différentes races et dans les conditions de terrains mais aussi pour déterminer la fertilité à l'œstrus induit ainsi que le taux de survie embryonnaire.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussignée, **HAGEN Nicole**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **FREIN Pierre** intitulée « *Comparaison de la réponse en termes de sécrétion de progestérone et de dynamique ovarienne à la gonadolibérine, à la léciréline et à la buséreléline chez des génisses Prim'Holstein* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

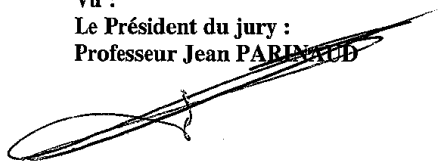
Fait à Toulouse, le 11 mai 2015  
Professeure Nicole HAGEN  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



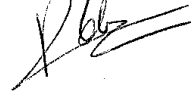
Vu :  
Le Directeur par intérim de l'Ecole  
Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Jean-Claude BRETHES


Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Jean PARINAUD



Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT  
délégation, la Vice-Présidente du CEVU  
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



**M. FREIN Pierre**  
a été admis(e) sur concours en : 2010  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2014  
a validé son année d'approfondissement le : 05/03/2015  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Ecole nationale Vétérinaire- 23, chemin des capelles - 31076 Toulouse Cedex 3 - France

## Références bibliographiques

- Adams G.P., Jaiswal R., Singh J. and Malhi P., Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle, *Theriogenology*, 2008, 669:72-80
- Atkins J.A., Busch D.C., Bader J.F., Keisler D.H., Patterson D.J., Lucy M.C. and Smith M.F., Gonadotropin-releasing hormone-induced ovulation and luteinizing hormone release in beef heifers: Effects of day of the cycle, *Journal of animal science*, 2008, 86:83-93
- Bartolome J.A., Sozzi A., McHale J., Melendez P., Arteché A.C.M., Silvestre F.T., Kelbert D., Swift K., Archbald L.F. and Thatcher W.W., Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows, II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anoestrus, *Theriogenology*, 2005, 63:1628-42
- Beattie J.L., Hypophysiotropic Releasing-Inhibiting Hormones, *Biochemistry of mammalian reproduction*. 1ère Ed, 1982, 287-296
- Beckett S.D. and Lean I.J., Gonadotrophin-releasing hormone in postpartum dairy cattle: a meta-analysis of effects on reproductive efficiency, *Animal Reproductive Science*, 1997, 48: 93-112.
- Bello N.M., Steibel J.P. and Pursley J.R., Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows, *Journal dairy science*, 2006, 89:3413-24
- Bentley D., Martinez M., Mitchell B. and Carruthers T., LH release, dominant follicle response and wave emergence: the effect of three commercial GnRH products, *Theriogenology*, 1988, 49:338 (abstract)
- Cantley T.C., Garverick H.A., Bierschwal C.J., Martin C.E. and Youngquist R.S., Hormonal responses of dairy cows with ovarian cysts to GnRH, *Journal of animal science*, 1975, 41:1666-73
- Champenois D. et Verdoolaege P., Optimiser la concentration en progestérone, une nouvelle approche de l'Ovsynch (GPG), *Journées Nationales GTV*, Nantes, 2015, 439-43
- Chanvallon A., Gatien J., Lamy J.M., Philipot J.M., Girardot J., Davière J.B., Ribaud D. et Salvetti P., Evaluation de la détection automatisée des chaleurs par différents appareils chez la vache laitière, *Rencontre Recherche Ruminant*, 2012
- Chenault J.R., Kratzer D.D., Rzepkowski R.A. and Goodwin M.C., LH and FSH response of Hostein heifers to fertireline acetate, gonadorelin and busérelina, *Theriogenology*. 1990, 34:81-98
- Clayton R.N., Shakespear R.A. and Marshall J.C., Effect of testosterone and oestradiol on LHRH degradation by purified pituitary plasma membranes, *Acta Endocrinologica (Kbh)*, 1977, 85(212):68-73

Colazo M.G., Kastelic J.P., Davis H., Rutledge M.D., Martinez M.F., Small J.A. and Mapletoft R.J., Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH, *Domestic animal endocrinology*, 2008, 34:109-17

Davis T.L., Mussard M.L., Jimenez-Severianno H., Enright W.J. and Kinder J.E, Chronic treatment with agonist of gonadotropin-releasing hormone enhances luteal function in cattle, *Biology of reproduction*, 2003, 69:398-403

De Rensis F. and Peters A.R., The control of follicular dynamics by PGF<sub>2</sub>, GnRH, hCG and Estrus synchronization in cattle, *Reproduction in domestic animals*, 1999, 34:49-59

Dias F.C.F., Colazo M.G., Kastelic J.P., Mapletoft R.J., Adams G.P. and Singh J., Progesterone concentration, oestradiol pretreatment, and dose gonadotropin-releasing hormone affect gonadotropin-releasing hormone-mediated luteinizing hormone release in beef heifers, *Domestic animal endocrinology*, 2010, 39:155-62

Dolan S., Evans N.P., Ritcher T.A., Nolan A.M., Expression of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone receptor in sheep spinal cord, *Neuroscience Letter*, 2003, 346:120-2

Erickson B.H., Development and senescence of the postnatal bovine ovary, *Journal of Animal Science*, 1966, 25:800-5

Fortune J.E., Sirois J. and Quirk S.M., The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle, *Theriogenology*, 1988, 29:95-109

Fujino M., Kobatashi S., Obayashi M., Shinagawa S, Fukuda T. and Kitada C., Structure activity relationships in the C-terminal part of LHRH, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1972, 49:863-867

Garverick H.A., Ovarian follicular cysts in dairy cows, *Journal of Dairy Science*, 1997, 80:995-1004

Ginther O.J., Knopf L. and Kastelic J.P., Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves, *Journal of Reproduction and Fertility*, 1989, 87:223-30

Ginther O. J., A method for characterizing ultrasonically-derived follicular data in heifers, *Theriogenology*, 1993, 39:363-71

Ginther O.J., Wiltbank M.C., Fricke P.M., Gibbons J.R. and Kot K., Selection of the dominant follicle in cattle, *Biology of reproduction*, 1996, 55:1187-94

Ginther O.J. and Beg M.A., Dynamics of circulating progesterone concentrations before end during luteolysis: a comparison between cattle and horses, *Biology of reproduction*, 2012, 86(6):1701-12

Ginther O.J., Piaffi F.L.V, Khan F.A., Duarte L.F. and Bag M.A., Follicular-phase concentrations of progesterone, oestradiol-17 $\beta$ , LH, FSH and a PGF2 $\alpha$  metabolite and daily clustering of prolactin pulses, based on hourly blood sampling and hourly detection of ovulation in heifers, *Theriogenology*, 2013, 79:918-28

Hannan M.A., Fuenzalida M.J., Siddiqui M.A.R., Shamsuddin M., Beg M.A. and Ginther O.J., Diurnal variation in LH and progesterone during the luteal phase in heifers, *Theriogenology*, 2010, 74:1491-98

Hanzen C.H., Houtain J.Y. et Laurent Y., Mise au point relative à l'utilisation de la gonadolibérine en reproduction bovine, *Medecine Vétérinaire Québec*, 1996, 26:47-54

Haughian J.M., Ginther O.J., Kot K. and Wiltbank M.C., Relationships between FSH patterns and follicular dynamics and the temporal association among hormones in natural and GnRH-induced gonadotrophin surges in heifers, *Reproduction*, 2004, 127:23-33

Hodges R. J., White M. E., Guard C. L., Powers P. M., Dinsmore R. P., Kelton D. F., Stehman S. M., Hillman R. B. and Yoder S. S., A randomized clinical trial of the effect of the time of administration of cloprostenol on detection of estrus in dairy cattle, *Can Veterinary Journal*, 1988, 29:342-5

Howard H.J. and Britt J.H., Prostaglandin Fz4 causes regression of an hCG-induced corpus luteum before day 5 of its lifespan in cattle, *Journal of Reproduction and Fertility*, 1990, 90:245.

Irvin M.J., Zaied A.A., Day B.N. and Garverick H.A., GnRH-induced release in suckled beef cows. The effects of days post-partum and E2-17 $\beta$  concentration on the release of LH following administration of GnRH, *Theriogenology*, 1981, 15:443-8

Jemmeson A., Synchronizing ovulation in dairy cows with either two treatments of GnRH and one prostaglandin, or two treatments of prostaglandin, *Australian Veterinary Journal*, 2000, 78(2):108-11

Karsh F.J., Bowen J.M., Caraty A., Evans N.P. and Moenter S.M., Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation, *Biology of Reproduction*, 1997, 56:303-9

Kaim M., Bloch A., Wolfenson D., Braw-Tal R., Rosenberg M., Voet H. and Folman Y., Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses, and conception, *Journal of Dairy Science*, 2003, 86:2012-21

Kaltenbach C.C., Dunn T.G., Kiser T.E., Corah L.R., Akbar A.M. and Niswender G.D., Release of FSH and LH in beef heifers by synthetic Gonadotrophin releasing hormone, *Journal of animal science*, 1974, 38:357-62

Kesler D.J., Garverick H.A., Youngquist R.S., Elmore R.G. and Bierschwal C.J., Ovarian and endocrine responses and reproductive performance following GnRH treatment in early postpartum dairy cows, *Theriogenology*, 1978, 9(4):363-9

Kessler T.D. (2001), *Perspectives d'utilisation des administrations chroniques d'agonistes et d'antagonistes de la GnRH en médecine vétérinaire*, Thèse de doctorat vétérinaire, Créteil, 211 p

Knopf L., Kastelic J.P., Schallenberger E. and Ginther O.J., Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles, *Domestic animal endocrinology*, 1989, 6(2):111-9

Kittok R.J., Britt J.H. and Convey E.M., Endocrine response after GnRH in luteal phase cows and cows with ovarian follicular cysts, *Journal of animal science*, 1973, 37:985-9

Kowase T., Walsh H.E., Darling D.S. and Shupnik M.A., Estrogen enhances gonadotropin-releasing hormone-stimulated transcription of the luteinizing hormone subunit promoters via altered expression of stimulatory and suppressive transcription factors, *Neuroendocrinology*, 2007, 148(12):6083

Lajili H., Humblot P. and Thibier M., Effect of PGF2 alpha treatment on conception rates of dairy cows treated with a GnRH agonist 12 to 14 days after artificial insemination, *Theriogenology*, 1991, 36(2):335-47

Le Mézec P., 2014, non publié

Lee C.N, Critser J.K. and Ax R.L., Changes of luteinizing hormone and progesterone for dairy cows after gonadotropin-releasing hormone at first postpartum breeding, *Journal of dairy science*, 1985, 68:1463-70

Luck M.R., A function for ovarian oxytocin, *Journal of Endocrinology*, 1989, 121:203-4

Lucy M.C. and Stevenson J.S., Gonadotrophin-releasing hormone at estrus: luteinising hormone, oestradiol and progesterone during the periestrual and postinsemination periods in dairy cattle, *Biology of Reproduction*, 1986, 35:300-11

Macmillan K.L., Day A.M., Taufa V.K., Gibb M. and Pearce M.G., Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone in cattle: I. Hormone concentrations and estrous cycle length, *Animal reproduction science*, 1985, 8:203-12

Macmillan K.L. and Thatcher W.W, Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle, *Biology of reproduction*, 1991, 45:883-9

Macmillan K.L., Segwagwe B.V.E and Pino C.S., Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle, *Animal reproduction science*, 2003, 78:327-44

Martin O., Friggens N.C., Dupont J., Salvetti P., Freret S., Rame C., Elis S., Gatién J., Disenhaus C. and Blanc F., Data-derived reference profiles with corepresentation of progesterone, estradiol, LH, and FSH dynamics during the bovine estrous cycle, *Theriogenology*, 2013, 79:331-43

Martinez M.F., Mapletoft R.J., Kastelic J.P. and Carruthers T., The effects of 3 gonadorelin products on luteinizing hormone release, ovulation, and follicular wave emergence in cattle, *Can Veterinary Journal*, 2003, 44:125-31

Mee M.O., Stevenson J.S., Scoby R.K. and Folman Y., Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service, *Journal of Dairy Science*, 1990, 73:1500-7

Mee M.O., Stevenson J.S., Alexander B.M. and Sasser R.G., Administration of GnRH at oestrus influences pregnancy rates, serum concentration of LH, FSH, oestradiol-17 $\beta$ , pregnancy-specific protein B and progesterone, proportion of luteal cell types and in-vitro production of progesterone in dairy cows, *Journal of Animal Science*, 1993, 71:185-98

Meier S., Roche J. R., Kolver E. S. and Boston R. C., A compartmental model describing changes in progesterone concentrations during the estrous cycle, *Journal of Dairy Science*, 2009, 76:249-56

Merle D. (2014), *Comparaison de la réponse en termes de sécrétion de LH à la gonadoréline, à la buséréline et à la léciréline chez des génisses Prim'Holstein*, Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3, 60p

Millar R.P., Flanagan C.A., Milton R.C.D. and King J.A., Chimeric analogues of vertebrate gonadotropin-releasing hormones comprising substitutions of the variant amino acids in positions 5, 7 and 8, *The journal of biological chemistry*, 1989, 21007-13

Monahan M.W., Amoss M.S., Anderson H.A. and Vale W., Synthetic analogs of the LHRH with increased agonist or antagonist properties, *Biochemistry*, 1973, 12:4616-20

Monnoyer S., Guyonnet J. and Toutain P.L., A preclinical pharmacokinetic/ pharmacodynamic approach to determine a dose of GnRH, for treatment of ovarian follicular cyst in cattle, a Review, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2004, 27:527-35

Moreira F., Orlandi C., Risco C.A., Mattos R., Lopes F. and Thatcher W.W., Effects of presynchronisation and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactation dairy cows, *Journal of Dairy Science*, 2001, 84(7):1646-59

Morgan W.F. and Lean I.J., Gonadotrophin releasing hormone treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination, *Australian Veterinary Journal*, 1993, 70: 205-9.

Nawito M., Schallenberger E. and Schams D., Release of lutropin (LH) and follitropin (FSH) in cattle after administration of a new gonadoliberin (GnRH) analogue in comparison with the gonadoliberin decapeptide, *Theriogenology*, 1977, 7(5):277-84

Nestor J.J. Jr, Vickery B.H. and Hafez E.S.E., LHRH and its analogs: development of agonistic LHRH analogs, *MTP Press Lancaster UK*, 1984, 3



- Palasz A., Garcia A., Gonzales A. and Mapletoft R.J., Luteinizing hormone release in the cow: the effect of dose of two commercial GnRH preparations, *Theriogenology*, 1989, 31:237 (abstract)
- Peters A.R., Pimentei M.G. and Lamming G.E., Hormone responses to exogenous GnRH pulses in postpartum dairy cows, *Journal of Reproduction and Fertility*, 1985, 75:557-65
- Peters A.R., Embryo mortality in the cow, *Animal Breeding Abstracts*, 1996, 64:587-98
- Peters A.R., Martinez T.A. and Cook A.J.C., A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle, *Theriogenology*, 2000, 54:1317-26
- Peters A.R., Veterinary clinical application of GnRH-Questions of efficacy, *Animal Reproduction Science*, 2005, 88:155-67
- Picard-Hagen N., Gayrard V. and Berthelot X., La physiologie ovarienne chez la vache : nouveautés et applications, *Journées nationales GTV*, Nantes, 2008, 43-50
- Picard-Hagen N., Lhermie G., Florentin S., Merle D., Frein P. and Gayrard V., Effect of gonadorelin, lecorelin and buséréline on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle, *Theriogenology*, 2015, 1-7
- Pursley J.R., Wiltbank M.C., Stevenson J.S. and coll., Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus, *Journal of Dairy Science*, 1997, 80:295-300
- Rajamahendran R., Ambrose J.D., Schmitt E.J.P., Thatcher M.J. and Thatcher W.W., Effects of buserelin injection and deslorelin (GnRH agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, follicle and corpus luteum dynamic in Holstein cows, *Theriogenology*, 1998, 50:1141-55
- Ramakrishnappa N., Merwe G.K.V.D, Rajamahendran R., Gonadotropin-releasing hormone receptor messenger ribonucleic acid expression in bovine ovary, *Biology of Reproduction*, 2001, 64(suppl.):229
- Rizzo A., Campanile D., Mutinati M., Minoia G., Spedicato M. and Sciorsci R.L., Epidural VS intramuscular administration of lecorelin, a GnRH analogue, for the resolution of follicular cysts in dairy cows, *Animal Reproduction Science*, 2011, 126(1-2):19-22
- Rosenberg M., Chun S.Y., Kaim M., Herz Z. and Folman Y., The effect of GnRH administered to dairy cows during estrus on plasma LH and conception in relation to the time of treatment and insemination, *Animal Reproduction Science*, 1991, 24:13-24
- Sartori R., Fricke P.M., Ferreira J.C.P., Ginther O.J. and Wiltbank M.C., Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles, *Biology of Reproduction*, 2001, 65:1403-9

Schmitt E.J., Diaz T., Barros C.M., De La Sota R.L., Drost M., Fredriksson E.W., Staples C.R., Thorner R. and Thatcher W.W., Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone, *Journal of Animal Science*, 1996a, 74:1074-83

Schmitt E.J., Barros C.M., Fields P.A., Fields M.J., Diaz T., Kluge J.M. and Thatcher W.W., A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle, *Journal of Animal Science*, 1996b, 74:1915-29

Schmitt E.J., Drost M., Diaz T., Roomes C. and Thatcher, Effect of a gonadotropin-releasing hormone agonist on follicle recruitment and pregnancy rate in cattle, *Journal of animal science*, 1996c, 74:154-61

Schneider F., Tomek W. and Gründker C., Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: a review, *Theriogenology*, 2006, 66:691-709

Segwagwe B.V.E. (2002), *The Effect of GnRH or oestradiol benzoate on follicular dynamics and ovulation as well as the treatment of postpartum anoestrus in Holstein cows*, M.V.Sc. Thesis, Melbourne

Shaham-Alblancy A., Folman Y, Kaim M., Rosenberg M and Wolfenson D., Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine PGF(2 $\alpha$ ) secretion in the subsequent oestrous cycle, *Reproduction*, 2001, 122(4):643-8

Shephard R.W., Morton J.M. and Norman S.T., Effects of administration of gonadotropin-releasing hormone at artificial insemination on conception rates in dairy cows, *Animal reproduction science*, 2014, 144:14-21

Silcox R.W., Powell K.L., Pursley J.R. and Wiltbank M.C., Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandins, *Theriogenology*, 1995, 43:325

Silvia W.J., Hatler T.B., Nugent A.M. and Da Fonseca L.F., Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis, *Domestic animal endocrinology*, 2002, 23:167-77

Souza A.H., Cunha A.P., Silva E.P.B., Gümen A., Ayres H., Guenther J.N. and Wiltbank M.C., Comparison of gonadorelin products in lactating dairy cows: Efficacy based on induction of ovulation of an accessory follicle and circulating luteinizing hormone profiles, *Theriogenology*, 2009, 72:271-9

Tebble J.E., O'Donnel M.J. and Dobson H., Ultrasound diagnosis and treatment outcome of cystic ovaries in cattle, *Veterinary Record*, 2001, 148:411-3

Thatcher W.W., Drost M., Savio J.D., Macmillan K.L., Entwistle K.W., Schmitt E.J., De La Sota R.L. and Morris G.R., New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle, *Animal reproduction science*, 1993, 33:27-49

Twagiramungu H., Guilbault L.A., Proulx J. and Dufour J.J., Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin, *Theriogenology*, 1992, 38:1131-44

Twagiramungu H., Guilbault L.A., Proulx J., Ramkumar R. and Dufour J.J., Histological populations and atresia of ovarian follicles in post-partum cattle treated with an agonist of gonadotrophin-releasing hormone, *Journal of Animal Science*, 1994a, 72:192-200

Twagiramungu H., Guilbault L.A., Proulx J.G. and Dufour J.J., Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol, *Journal of Animal Science*, 1994b, 72:1796-805

Twagiramungu H., Guilbault L.A., Proulx J. and Dufour J.J., Buserelin alters the development of the corpora lutea in cyclic and early postpartum cows, *Journal of Animal Science*, 1995, 73:805-11

Valdecabres-Torres X., Garcia-Rosello E., Garcia-Munoz A. and Cuervo-Arango J., Effects of d-cloprostenol dose and corpus luteum age on ovulation, luteal function and morphology in nonlactating dairy cows with early corpora lutea, *Journal of Dairy Science*, 2012, 95:4389-95

Vasconcelos J.L.M., Silcox R.W., Rosa G.J.M., and coll., Synchronization rate, size of the ovulatory follicle and pregnancy rates after synchronization of ovulation beginning on different days of the oestrous cycle in lactating dairy cows, *Theriogenology*, 1999, 52:1067-78

Weaver L.D., Daley C.A. and Goodger W.J., Economic modeling of the use of gonadotropin-releasing hormone at insemination to improve fertility in dairy cows, *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 1988, 12:1714-9.

Webb R., Garnsworthy P.C., Gong J.G. and Armstrong D.G., Control of the follicular growth: local interaction and nutritional influences, *Journal of Animal Science*, 2004, 82(suppl):E63-E64

Wiltbank M.C., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S. and Gümen A., Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism, *Theriogenology*, 2006, 65(1):17-29

Wiltbank M.C. and Pursley J.R., The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation, *Theriogenology*, 2014a, 81(1):170-85

Wiltbank M.C., Souza A.H., Carvalho P.D., Cunha A.P., Giordano J.O., Fricke P.M., Baez G.M. and Diskin M.G., Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle, *Animal*, 2014b, 1:70-81

NOM : FREIN

PRENOM : PIERRE

TITRE : Comparaison de la réponse en termes de sécrétion de progestérone et de dynamique ovarienne à la gonadoréline, à la léciréline et à la buséréline chez des génisses Prim'Holstein

RESUME : L'objectif de cette étude était de comparer les effets en termes de sécrétion de progestérone et de dynamique ovarienne d'une administration, à la dose indiquée pour l'induction de l'ovulation de gonadoréline (Cystoréline ®), de léciréline (Reprorelina ®) et de buséréline (Réceptal ®), trois agonistes de GnRH commercialisés en France pour l'espèce bovine. En outre, l'effet d'une demi-dose de léciréline a été évalué. L'étude a été réalisée sur 12 génisses Prim'Holstein cyclées, incluses dans 4 groupes selon un protocole expérimental en carré latin et recevant chacune les 4 traitements GnRH, selon une séquence déterminée, au cours de 4 périodes. Chaque période a débuté 6 ou 7 jours après les chaleurs, correspondant à la présence d'un follicule dominant, par l'administration de 100 µg de gonadoréline, 25 µg de léciréline, 50 µg de léciréline ou 10 µg de buséréline. La concentration plasmatique en progestérone et la dynamique ovarienne ont été évaluées jusqu'à 4 jours après l'administration de GnRH.

Quatre jours après l'administration de GnRH la concentration moyenne en progestérone a augmenté de 70 % et a été similaire, quelle que soit la molécule de GnRH. Le pourcentage de disparition du follicule dominant (84,8% d'ovulation et 4,3% de lutéinisation) après traitement a été élevé (73, 82, 100 et 100 % respectivement, pour la gonadoréline, la léciréline à la dose 25 et 50 µg et la buséréline) et n'a pas été différent selon le traitement. Ces disparitions ont été suivies par l'émergence d'une nouvelle vague folliculaire dans les 2 jours et par l'apparition d'une structure lutéale secondaire dans presque tous les cas. En conclusion, notre étude a permis de montrer que les trois agonistes de GnRH, à la dose indiquée pour l'induction de l'ovulation et à la demi dose pour la léciréline, permettent d'induire la disparition du follicule dominant au jour 6 ou 7 du cycle œstral chez des génisses Prim'Holstein cyclées.

MOTS CLES : GnRH - progestérone - gonadoréline - léciréline - buséréline - follicule - dynamique ovarienne - synchronisation des chaleurs - corps jaune - bovin

---

ENGLISH TITLE: Comparison in terms of progesterone secretion and ovarian dynamics to gonadorelin, lecirelin and buserelin in Holstein heifers

ABSTRACT : The aim of this study was to compare the effects in terms of progesterone secretion and ovarian dynamics in response to the administration of gonadorelin (Cystoréline ®), lecirelin (Reprorelina ®) and buserelin (Réceptal ®), which are three GnRH agonists marketed in France for cattle. Moreover, the effects of a half dose of lecirelin were assessed. The study was conducted on 12 Holstein heifers, divided into four groups, according to a Latin square design and receiving the four treatments each during one of the four periods. Before each period, the estrous cycle was synchronized and on Day 6 or 7 of the ensuing cycle, the time at which it was the most likely to have a dominant follicle., 100 µg of gonadorelin, 25 µg of lecirelin, 50 µg of lecirelin or 10 µg of buserelin was administered to the heifers. The plasma progesterone response and ovarian dynamics were evaluated over the next 4 days.

Four days after the GnRH administration, the overall mean increase in plasma progesterone concentration was 70% and no difference was evidence between the treatments groups. The percentage of disappearance of the dominant follicle (84.8% by ovulation and 4.3% by luteinization) after treatment was high (73, 82, 100 and 100% for gonadorelin, lecirelin at the doses of 25 and 50 µg and buserelin, respectively) and did not differ between treatments groups. The follicle disappearance was followed by the emergence of a new follicle wave within 2 days and by the appearance of a secondary luteal structure in almost all of the heifers.

Altogether, our study shows that the three GnRH agonists, at the doses indicated for the induction of the ovulation or at a half dose for the lecirelin, are almost equally effective in inducing the disappearance of the dominant follicle at Day 6 or 7 of the estrous cycle of Holstein heifers.

KEYWORDS : GnRH - progesterone - gonadorelin - lecirelin - buserelin - follicle - ovarian dynamics - ovulation synchronization program - corpus luteum - cattle