

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE EL HADJ LAKHDAR -BATNA-

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTMENT DES SCINCES DE LA NATURE

ET DE LA VIE

MÉMOIRE

Pour l'Obtention du Diplôme de

MAGISTER

En Biologie

Option : Biologie Animale

Présenté par :

LAANANI ISMAHANE



Etude des variations cycliques de l'activité enzymatique et électrolytique dans les sécrétions intra utérines et oviductaires au cours d'un cycle œstrale de la brebis

THÈME

Devant le jury :

Président :	M^r Laroui S.	Professeur. Université El-Hadj Lakhdar Batna
Rapporteur :	M^r Yahia M.	Professeur. Université El-Hadj Lakhdar Batna
Examineur :	M^r Kaidi R.	Professeur. Université Saâd D'Ahlab Blida
Examinatrice:	M^{me} Hambaba L.	Professeur. Université El-Hadj Lakhdar Batna

Année universitaire : 2011/2012

Remerciements

Au nom de DIEU, Omnipotent, Omniscient, qui m'a guidé pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier vivement le docteur : Yahia M; Maître de conférences à L'Université de Batna et lui témoigne ma profonde reconnaissance, pour la proposition du thème de mon mémoire et pour la direction parcimonieuse de mes travaux en dépit des multiples occupations que lui imposent l'enseignement et la recherche tout particulièrement.

Par ailleurs, je suis redevable à tous qui m'ont aidé.

Mes Sincères remerciements vont :

** A Monsieur le Professeur Mehanaoui S, Professeur à l'institut vétérinaire de Batna,*

** A Monsieur Yahia Atia Maitre assistant, au CHU de Batna*

Qui a mis à notre disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail,

** Au Dr. O. Bennoune, docteur à l'institut vétérinaire de Batna,*

** Au Dr. A. Ayachi, docteur à l'institut vétérinaire de l'université de Batna,*

** Un remerciement particulier aux membres de jury.*

Dédicaces

A la mémoire de mon père et mon frère.

A toute ma famille, ma mère, pour son soutien si précieux sans oublier mes frères et sœurs pour le support et le soutien moral tout au long de mes études.

A mes amis,

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de ce travail.

Liste des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE I. Anatomie de l'appareil génital et physiologie sexuelle de la brebis

I.1. Anatomie de l'appareil génital femelle	1
I.1.1. Ovaires	1
I.1.2. Trompes utérines	1
I.1.3. Utérus	2
I.1.4. Vagin	3
I.1.5. Sinus uro-génital.....	3
I.2. Physiologie sexuelle de la brebis	4
I.2.1 Cycle sexuel	5
I.2.2. Variations saisonnières de l'activité sexuelle.....	6

CHAPITRE II. Enzymes du métabolisme glucidique et protéique

II.1. Glycolyse et voie des pentoses	7
II. 1.1. Glycolyse	7
II. 1. 2. Voie des pentoses phosphate	9
II. 1. 3. Glycolyse et voie des pentoses dans la reproduction	10
II. 1. 3. 1. Spermatozoïde	10
II. 1. 3. 2.Ovocyte.....	11
II. 1. 3. 3.Embryon	12
II. 1. 3.3.1. Glycolyse anaérobie	12
II. 1. 3.3.2. Glycolyse aérobie	12
II.2. Voie des polyols	13
II.2.1. Définition	13
II.2.2. Voie des polyols dans la reproduction	13
II.3. Transaminases	15
II.3.1. Transaminase glutamique oxaloacétique (TGO)	15
II.3.2. Transaminase glutamique pyruvique (TGP)	15
II.3.3. Transaminases dans la reproduction	15

CHAPITRE III. Matières minérales

III.1. Eléments majeurs ou macromolécules	17
III.1.1. Calcium et le phosphore (Ca, P)	17
III.1.2. Magnésium (Mg)	17
III.1.3. Sodium et le chlore (Na et Cl)	18
III.1.4. Potassium (K)	18
III.1.5. Matières minérales dans la reproduction	18
III.1.5. 1. Calcium	18
III.1.5. 1. A. Rôle dans la capacitation et la réaction acrosmique	18
III.1.5. 1. B. Activation de l'œuf	19
III.1.5. 2. Magnésium	20
III.1.5. 3. Sodium et Clore	20
III.1.5. 4. Potassium	21
III.1.5. 5. Phosphore	22

CHAPITRE IV. Sécrétions utérines

IV.1. Rôles de l'utérus	23
IV.1.1. Rôle de la muqueuse	23
IV.1.2. Dans la capacitation	23
IV.1.3. Réservoir pour héberger l'embryon	23
IV.1.4. Expulsion de fœtus	23
IV .2. Formation des sécrétions utérines	23
IV .3. Fonction biologique des sécrétions utérines.....	24
IV .4. Taux des sécrétions utérines.....	24
IV .5. Composantes des sécrétions utérines	25
IV .5.1. Protéines	25
IV .5.2. Ions	26
IV .5.3. Substrats énergétiques	26
IV .5.4. Acides aminés	27
IV .5.5. Lipides	28

CHAPITRE V. Sécrétions oviductaires

V. 1. Rôles de l'oviducte	29
V.1.1. Capture de l'ovocyte.....	29
V.1. 2. Acheminement de l'ovocyte	29
V.1. 3. Réservoir de spermatozoïdes	29

V. 1.4. Fécondation	30
V. 1.5. Amorce du développement embryonnaire	30
V. 2. Formation des sécrétions oviductaires	30
V. 3. Fonction biologique des sécrétions oviductaires	31
V. 4. Taux des sécrétions oviductaires	31
V. 5. Composantes des sécrétions oviductaires	32
V. 5.1. Protéines	32
V. 5.2. Électrolytes	33
V. 5.3. Substrats énergétiques : Glucose, lactate et pyruvate	34
V. 5.4. Acides aminés	35
V. 5.5. Lipides	35
V. 5.6. Précurseurs de l'ADN et de l'ARN	36
V. 5.7. Hormones stéroïdiennes	36

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I: Matériel et Méthodes

I. 1. Animaux	37
I. 2. Protocole expérimentale	37
I. 2.1. Collecte et classification des sécrétions utérines et oviductaires	37
I. 2.2. Prélèvements sanguins	39
I. 2.3. Dosage des paramètres biochimiques des sécrétions génitales et de sérum	39
I. 2.3.1. Alanine aminotransférase TGP	40
I. 2.3.2. Aspartate aminotransférase TGO	40
I. 2.3.3. Aldolase	40
I. 2.3.4. Glucose 6 phosphate déshydrogénase G-6-PD	41
I. 2.3.5. Sorbitol déshydrogénase SDH	41
I. 2.3.6. Dosage des protéines totales	41
I. 2.4. Dosage des électrolytes des sécrétions génitales et de sérum	41
I. 2.4. 1. Calcium	42
I. 2.4. 2. Phosphore	42
I. 2.4. 3. Sodium	42
I. 2.4. 4. Potassium	42
I. 2.4. 5. Chlore	42
I. 2.4. 6. Magnésium	43
I. 2.5. Analyses statistiques	43

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

II.1. Paramètres biochimiques	46
II.1.1. Les transaminases (TGO, TGP) des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral	46
II.1.2. Aldolase des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral	48
II.1.3. G-6-Phosphate déshydrogénase des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral	50
II.1.4. Sorbitol déshydrogénase des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral	52
II.1.5. Protéines totales des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral	54
II.1.6. Protéines totales des sécrétions oviductaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral	56
II.2. Profils électrolytiques des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral	59
II.2.1. Potassium	61
II.2.2. Sodium	64
II.2.3. Phosphore	66
II.2.4. Chlore	67
II.2.5. Calcium	68
II.2.6. Magnésium	70
II.3. Profils électrolytiques des sécrétions oviductaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral	72
II.3.1. Potassium	73
II.3.2. Sodium	75
II.3.3. Chlore	76
II.3.4. Magnésium	77
II.3.5. Phosphore	78
II.3.6. Calcium	78

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RESUME

Liste des abréviations

- A (CoA):** Acétyl coenzyme A
- BSP :** Protéines du plasma séminal
- CK:** Cycle de Krebs
- CT:** Calcitonine
- DAP:** Dihydroxyacétone phosphate;
- F-1-P:** Fructose 1-phosphate;
- F-6- P:** Fructose 6-phosphate;
- FAD⁺:** Flavine adénine dinucléotide
- FIV:** Fécondation in vitro
- FSH:** Folliculo-Stimulating-Hormone
- G-6-PDH:** Glucose 6 phosphate déshydrogénase
- GAP:** Glycéraldéhyde 3-phosphate;
- GnRH:** Gonadotrophin Releasing Hormone
- HK:** Hexokinase;
- LH:** Luteinizing hormone
- OGP:** oviduct glycoprotein
- pOGP :** porcine oviduct glycoprotein
- PDC-109:** Fucose-binding molecule
- PEP:** Phosphoénolpyruvate
- PFK:** Phosphofructokinase;
- PGI:** Phosphoglucose isomérase;
- PTH:** Parathormone
- RA :** Réaction Acrosomique
- SDH:** Sorbitol déshydrogénase;
- TGO :** Transaminase glutamique oxaloacétique
- TGP :** Transaminase glutamique pyruvique

TK : Triokinase.

ZP1, ZP2 et ZP3 : Zone pellucide

ANXA1, ANXA2, 4, 5 : Annexines

Liste des figures

Figure 1. Oviducte de la brebis.....	2
Figure 2. Utérus de la brebis avec incision longitudinale	3
Figure 3. Tractus génitale de la brebis	4
Figure 4. Profils hormonaux au cours du cycle œstral chez la brebis.	6
Figure 5. Dégradation du glucose par la voie glycolytique.....	8
Figure 6. Voie des pentoses phosphate.	9
Figure 7. Voies du métabolisme des glucides dans l’embryon.	12
Figure 8. Sorbitol comme source d'énergie alternative pour la motilité et la capacitation du spermatozoïde.....	14
Figure 09. Ovaires classifiés en <i>phase folliculaire(a)</i> et en <i>phase lutéale (b)</i>	38
Figure 10. Collecte des sécrétions oviductaires.	39
Figure 11. Concentration de TGO et TGP dans les sécrétions utérines.	48
Figure 12. Concentration d’aldolase dans les sécrétions utérines	50
Figure 13. Concentration la G-6-PDH dans les sécrétions utérines	52
Figure 14. Concentration la SDH dans les sécrétions utérines.....	53
Figure 15. Concentration des protéines totales dans les sécrétions utérines et dans le sérum. ...	56
Figure 16. Taux des protéines totales des sécrétions tubaires et de sérum de la brebis au cours d’un cycle œstral.	58
Figure 17. Concentration de K dans les sécrétions utérines et dans le sérum.....	64
Figure 18. Concentration de Na dans les sécrétions utérines et dans le sérum	66
Figure 19. Concentration de P dans les sécrétions utérines et dans le sérum.....	67
Figure 20. Concentration de Cl dans les sécrétions utérines et dans le sérum.	68
Figure 21. Concentration de Ca dans les sécrétions utérines et dans le sérum.	70
Figure 22. Concentration de Mg dans les sécrétions utérines et dans le sérum.	71
Figure 23. Concentration de K dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.	74
Figure 24. Concentration de Na dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.	76
Figure 25. Concentration de Cl dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.	77

Figure 26. Concentration de Mg dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.	78
Figure 27. Concentration de P dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.....	78
Figure 28. Concentration de Ca dans les sécrétions tubaires et dans le sérum	79

Liste des tableaux

Tableau 1. Taux des sécrétions tubaire pendant l'œstrus et le dioestrus (mL/24h).....	32
Tableau 2. Les concentrations des ions dans le fluide de l'oviducte de diverses espèces collectés de l'ampoule, de l'isthme, ou de l'oviducte entier (mEq/L).....	34
Tableau 3. Concentration de la TGO, de la TGP dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis.	46
Tableau 4. Concentration de l'aldolase dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis	49
Tableau 5. Concentration de la glucose-6-phosphate déshydrogénase dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis.....	50
Tableau 6. Concentrations de sorbitol déshydrogénase dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis	52
Tableau 7. Taux des protéines totales des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.....	54
Tableau 8. Taux des protéines totales des sécrétions tubaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.....	56
Tableau 9. Profils électrolytiques des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.	59
Tableau 10. Profils électrolytiques des sécrétions oviductaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.....	72

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les sécrétions utérines et oviductaires constituent un milieu favorable pour la survie des gamètes et de l'embryon, l'incompatibilité chimique de ses sécrétions soit avec les spermatozoïdes du bélier ou avec le blastocyste est incriminée dans certains troubles de la reproduction chez les mammifères.

Selon certains auteurs [Hugentobler *et al.*, 2007, Guay *et al.*, 1972, Shultz *et al.*, 1971, Guay et Lamothe., 1969] l'altération de la composition chimique de ces sécrétions résulte d'une déficience métabolique cellulaire utérine et oviductaire.

La très petite quantité de sécrétions endométriales obtenues du même animal, a toujours constitué un facteur limitant l'étude *in vivo* des variations cycliques des éléments constituant les sécrétions intra-utérines.

La composition du milieu intra-utérin et oviductaire de la femelle ovine sont peu connue. L'analyse de quelques électrolytes, des protéines et du glucose sanguins des sécrétions endométriales a été faite au cours du cycle œstral normal chez la vache.

Les données contradictoires que la bibliographie fournit nous à encouragé de rechercher les modifications de certaines enzymes, protéines et électrolytes dans le milieu utérin et oviductaire et même dans le sang durant les différentes phases du cycle œstrale de la brebis.

A cet effet, notre contribution à travers ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de la composition de ces sécrétions et l'influence des périodes du cycle œstral sur les différents composants de ces sécrétions.

Dans un premier temps, à travers une étude bibliographique, nous rappellerons les grandes lignes de la physiologie du cycle œstral de la brebis, des notions générales sur les enzymes et les électrolyte, les fonctions et la composition des sécrétions utérines et oviductaires.

La seconde partie, rapporte les techniques expérimentales qui consistent à doser les différents paramètres biologiques (électrolytes, enzymes et protéines totales) dans les sécrétions utérines et oviductaires et dans le sérum pour comparer les concentrations de ces paramètres entre les deux phases du cycle œstral (folliculaire et lutéale).

PARTIE
THÉORIQUE

CHAPITRE I

ANATOMIE DE L'APPAREIL GÉNITAL ET
PHYSIOLOGIE SEXUELLE DE LA BREBIS

I.1. Anatomie de l'appareil génital femelle

I.1.1. Ovaires

L'ovaire est la glande génitale de la femelle. C'est un organe pair, appendu à la région lombaire et pourvu d'une double fonction : gamétogenèse, assurant l'ovogénèse, et endocrine par la sécrétion des hormones : œstrogènes et progestatives. La couleur est en général blanc-rosé ou grisâtre [Barone., 1978].

La structure comporte une zone vasculaire centrale (medulla) riche en vaisseaux et une zone parenchymateuse périphérique (cortex), qui contient les organites ovariens (follicules et formations dérivées) [Barone., 1978].

I.1.2. Trompes utérines

La trompe utérine ou salpinx -anciennement « trompe de Fallope » ou « oviducte »- constitue la partie initiale des voies génitales de la femelle. C'est un conduit pair, étroit, qui reçoit les ovocytes libérés par l'ovaire, abrite la fécondation et assure le transfert de l'œuf fécondé en cours de clivage puis de multiplication jusqu'à l'utérus [Barone., 1978].

Il comprend trois parties :

- L'ampoule, est le lieu de la fécondation [Rath *et al.*, 2008];
- L'isthme, de calibre réduit ; est la partie la plus étroite de l'oviducte [Fontaine *et al.*, 2009 ; Batellier., 2005];
- La jonction utero-tubaire, zone de jonction de l'oviducte et de la corne utérine correspondante [Batellier., 2005 ; Baril *et al.*, 1993 ; Barone., 1978].

L'oviducte est composé d'un tissu épithélial formé de cellules ciliées et de cellules sécrétoires et d'un tissu musculaire. Ces différents types de tissus sont impliqués dans la capture, le transport, les modifications et la survie des ovules pondus, mais également dans le transport et les modifications des spermatozoïdes, juste avant la fécondation. L'activité de ces tissus dépend également de la période du cycle œstral [Baril *et al.*, 1993].

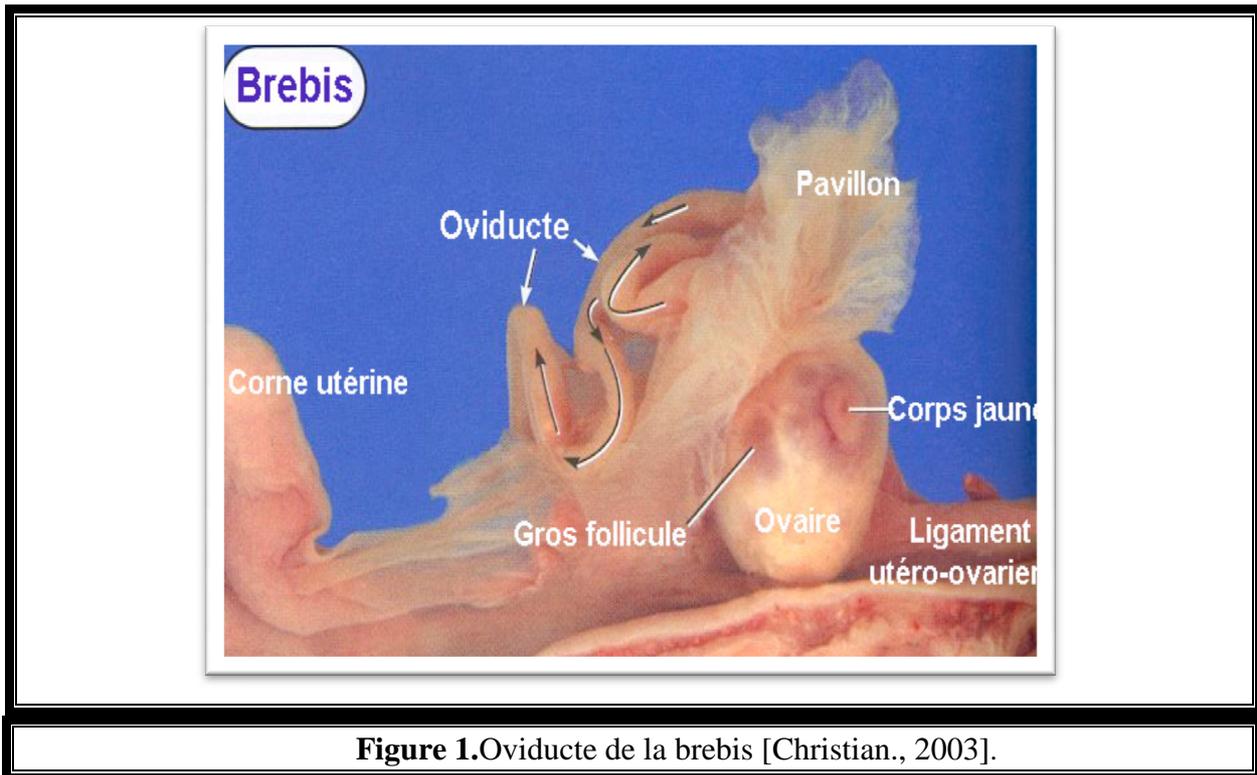


Figure 1.Oviducte de la brebis [Christian., 2003].

I.1.3. Utérus

L'utérus est l'organe de la gestation. C'est un viscère creux, pourvu d'une muqueuse riche en glandes et d'une musculature puissante et appendu de chaque côté à la région lombaire par un fort méso, le ligament large. La couleur est jaune rosé, parfois rougeâtre [Batellier., 2005 ; Barone., 1978].

Il comprend trois parties :

- Les deux cornes qui fusionnent sur une plus ou moins grande longueur pour former le corps de l'utérus;
- Les cornes et le corps de l'utérus, qui sont toujours situés dans l'abdomen sur le bord du ligament large;
- Le col ou cervix, qui est situé sur le plancher de la cavité pelvienne [Baril *et al.*, 1993].

L'endomètre comprend de 80 à 100 caroncules de tissu conjonctif et des glandes utérines réparties dans l'endomètre dont la structure est tubulaire, ramifiée ou torsadée. Ces glandes sont plus nombreuses dans les cornes utérines que dans le cervix. Leur activité varie avec le stade du cycle œstral et leurs sécrétions jouent un rôle important dans le développement de l'embryon, mais probablement aussi dans les modifications des spermatozoïdes juste avant la fécondation.

Le myomètre est la partie musculaire de la paroi utérine; il est composé de muscles circulaires et longitudinaux dont l'activité varie avec le stade du cycle. Le cervix est une partie très importante qui sépare, en permanence, la cavité utérine de la cavité vaginale [Baril *et al.*, 1993].

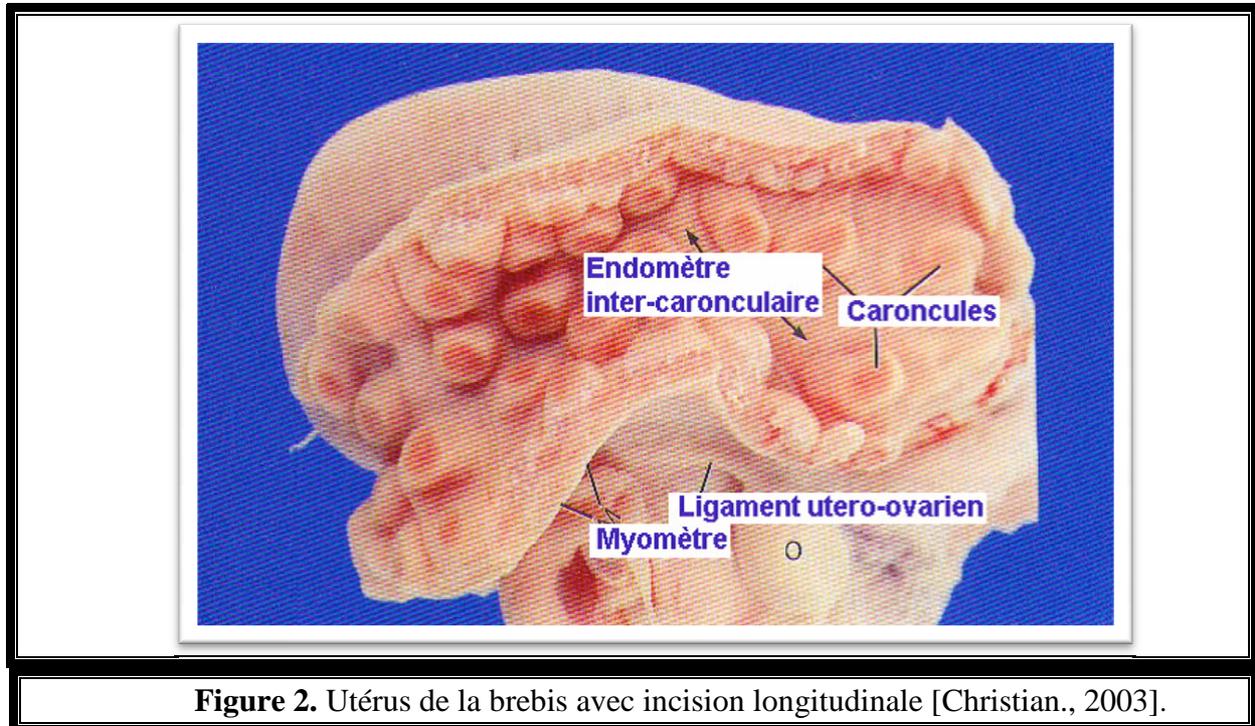


Figure 2. Utérus de la brebis avec incision longitudinale [Christian., 2003].

I.1.4. Vagin

C'est un conduit impair et médian, entièrement logé dans la cavité pelvienne. Il est en quelque sorte annexé au sinus uro-génital pour constituer avec lui l'organe copulateur de la femelle, il est long de 8 à 10 cm [Barone., 1978]. C'est l'endroit où la semence est déposée lors de la saillie [Baril *et al.*, 1993].

I.1.5. Sinus uro-génital

Partie commune aux appareils urinaires et génitales. Il est divisible en deux segments différents par la topographie et la structure : vestibule du vagin et la vulve et le clitoris.

Le vestibule du vagin est un conduit large et impair, dans l'extrémité crâniale duquel s'ouvrent l'ostium vaginal et l'ostium externe de l'urètre, tandis que la partie opposée communique avec l'extérieur par la fente de la vulve.

La vulve est la partie externe de l'appareil génitale femelle. Elle occupe la partie ventrale du périnée. Elle est constituée par deux lèvres qui délimitent la fente vulvaire. Les

deux lèvres de la vulve se raccordent sur deux commissures dorsale et ventrale [Barone., 1978].

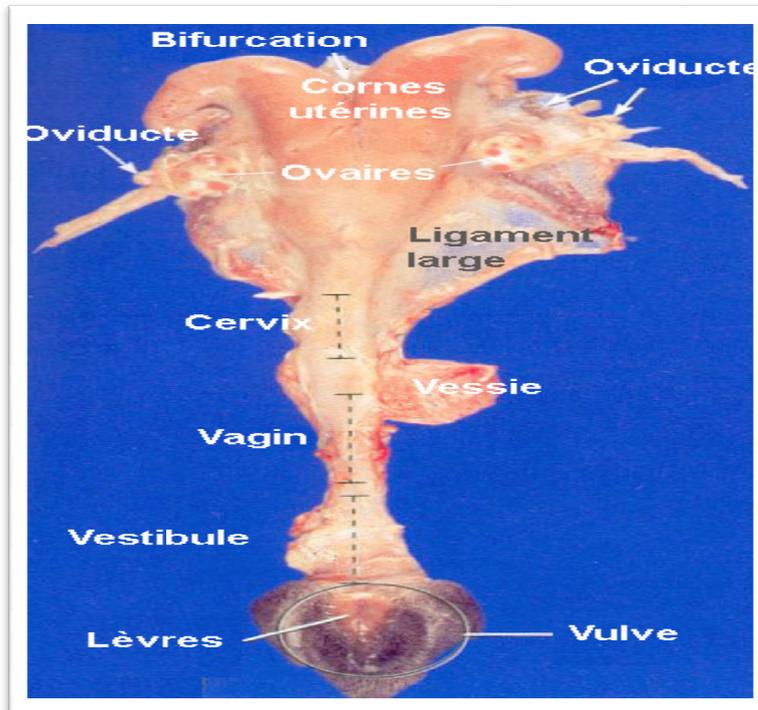


Figure 3. Tractus génitale de la brebis [Christian., 2003].

I.2. Physiologie sexuelle de la brebis

La femelle non gestante possède une activité sexuelle cyclique à partir de la puberté : cette activité sexuelle se traduit par une succession d'évènements précis se reproduisant à intervalles constants, selon un rythme propre à chaque espèce [Barone., 1978].

Le cycle sexuel d'une femelle non gestante se traduit par des modifications qui se situent à différents niveaux :

- au niveau comportementale : l'œstrus ou chaleur est l'évènement caractéristique du comportement sexuel cyclique de femelle;
- au niveau de l'ovaire : le remaniement cyclique des éléments cellulaires du cortex ovarien est rythmé sur la production de gamètes lors de l'ovulation;
- au niveau des voies génitales : l'endomètre présente une évolution cyclique très marquée, et l'activité sécrétoire du col utérin est modifiée;
- au niveau hormonal : des sécrétions hormonales de l'hypothalamus, de l'hypophyse et de l'ovaire contrôlent la succession des événements du cycle [Batellier., 2000].

Chez certaines espèces et dans certaines conditions, par exemple liés aux variations de la durée du jour, cette activité cyclique peut être suspendue temporairement chez la plupart des femelles [Batellier., 2000 ; Barone., 1978].

I.2.1. Cycle sexuel

En fin de phase lutéale 13-15 jours après le début de l'œstrus, la prostaglandine $F_{2\alpha}$ sécrétée par l'utérus induit chez la femelle non gestante, la régression du corps jaune (appelé lutéolyse). La chute de la concentration plasmatique de la progestérone, qui reflète la lutéolyse, provoque une diminution de l'inhibition de l'axe hypothalamo-hypophysaire [Christian., 2003].

Plusieurs petits follicules à antrum dont le diamètre est de 2 à 3 mm entrent alors en phase de croissance terminale mais seuls 2 à 3 d'entre eux atteignent le stade préovulatoire, les autres subissent un phénomène de dégénérescence appelé atresie folliculaire. Au cours de cette période (phase préovulatoire), la FSH sécrétée par l'hypophyse stimule la croissance folliculaire [Baril *et al.*, 1993].

L'augmentation de concentration de l'œstradiol sécrété par les follicules en fin de croissance induit le comportement de l'œstrus et exerce un rétrocontrôle positif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'accroissement de la sécrétion de la GnRH due à cette stimulation entraîne une sécrétion importante de FSH et de LH par l'hypophyse, appelé décharge ou pic préovulatoire. Le pic de LH provoque l'ovulation 20 à 26 heures plus tard [Christian., 2003].

Les cellules du follicule ayant libéré l'ovocyte se transforment en cellules lutéales qui forment le corps jaune et sécrètent la progestérone. L'élévation de la concentration de cette hormone et son maintien à un niveau élevé pendant 14 jours chez la brebis constitue la phase lutéale [Christian., 2003, Baril *et al.*, 1993].

Durant cette période, la croissance folliculaire se poursuit, mais la forte concentration de progestérone freine l'activité de décharge du GnRH par l'hypothalamus bloquant ainsi l'ovulation jusqu'à la lutéolyse suivante [Baril *et al.*, 1993].

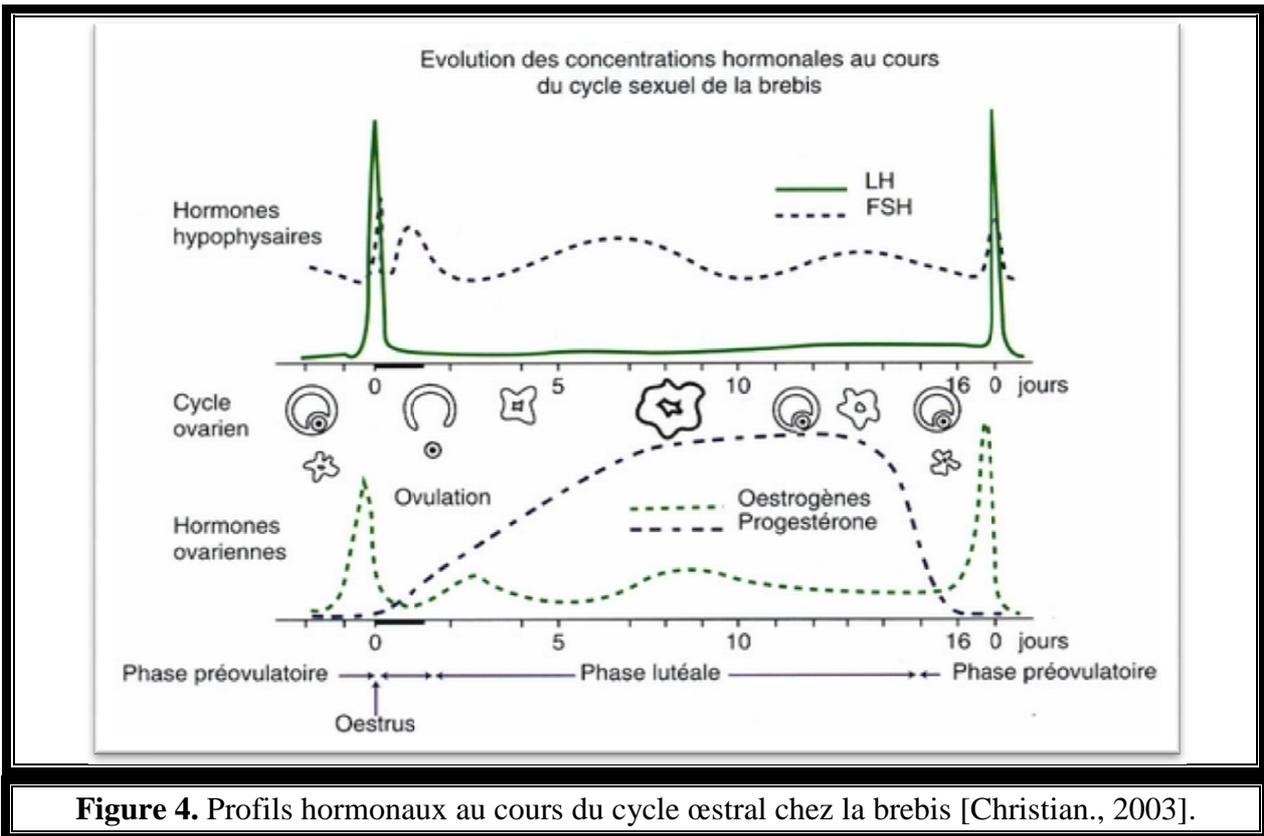


Figure 4. Profils hormonaux au cours du cycle œstral chez la brebis [Christian., 2003].

I.2.2. Variations saisonnières de l'activité sexuelle

Les brebis ont un rythme saisonnier de reproduction dépendant de la variation de la durée du jour au cours de l'année [Thibault et Levasseur., 2001 ; Thimonier *et al.*, 2000]. L'activité sexuelle se manifeste lorsque la durée du jour diminue: du début de l'été à la fin d'automne. C'est **la saison sexuelle** [Thimonier *et al.*, 2000].

Cette période (saison sexuelle) peut être plus ou moins étendue selon les races. Elle est suivie, depuis la fin de l'hiver jusqu'au début de l'été, par une période de repos sexuel appelée anoestrus saisonnier [Thimonier *et al.*, 2010].

CHAPITRE II

ENZYMES DU MÉTABOLISME GLUCIDIQUE ET PROTÉIQUE

II.1. Glycolyse et la voie des pentoses

II. 1.1. Glycolyse

La glycolyse est une voie catabolique qui se déroule dans le cytoplasme de pratiquement tous les organismes et cellules [Voet et Voet., 2000]. C'est la voie métabolique par laquelle la plupart des organismes vivants dégradent le glucose en deux molécules de pyruvate avec la formation concomitante de deux ATP [Voet et Voet., 2000 ; Hames *et al.*, 2010].

Cette voie consiste à convertir une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate [qui sont ensuite converties en acétyl coenzyme A (COA) prêtes à entrer dans le cycle de l'acide citrique]. Deux molécules d'ATP sont nécessaires pour les premières réactions d'une voie glycolytique mais quatre ATP seront régénérées plus tard, donnant un bilan net de deux ATP par molécule de glucose dégradé [Hames *et al.*, 2000].

La glycolyse joue globalement un double rôle. Le premier consiste à générer de l'ATP. Seul 2 ATP par glucose sont produits directement à partir des réactions de la voie glycolytique et la réaction alimente aussi des substrats du cycle de l'acide citrique et de la phosphorylation oxydante où la majorité de l'ATP est formée. Le second rôle consiste à produire des intermédiaires qui agissent comme des précurseurs d'une synthèse d'acides gras [Voet et Voet., 2000 ; Hames *et al.*, 2000].

L'aldolase est une enzyme qui catalyse la réaction 4 de la glycolyse, le clivage de fructose-1,6-bisphosphate (FBP) pour donner deux trioses : le glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP) et la dihydroxyacétone phosphate (DHAP) [Voet et Voet., 2000].

La réaction est :

ALDOLASE

Fructose-1, 6-bisphosphate \longrightarrow glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP) + dihydroxyacétone phosphate [Voet et Voet., 2000].

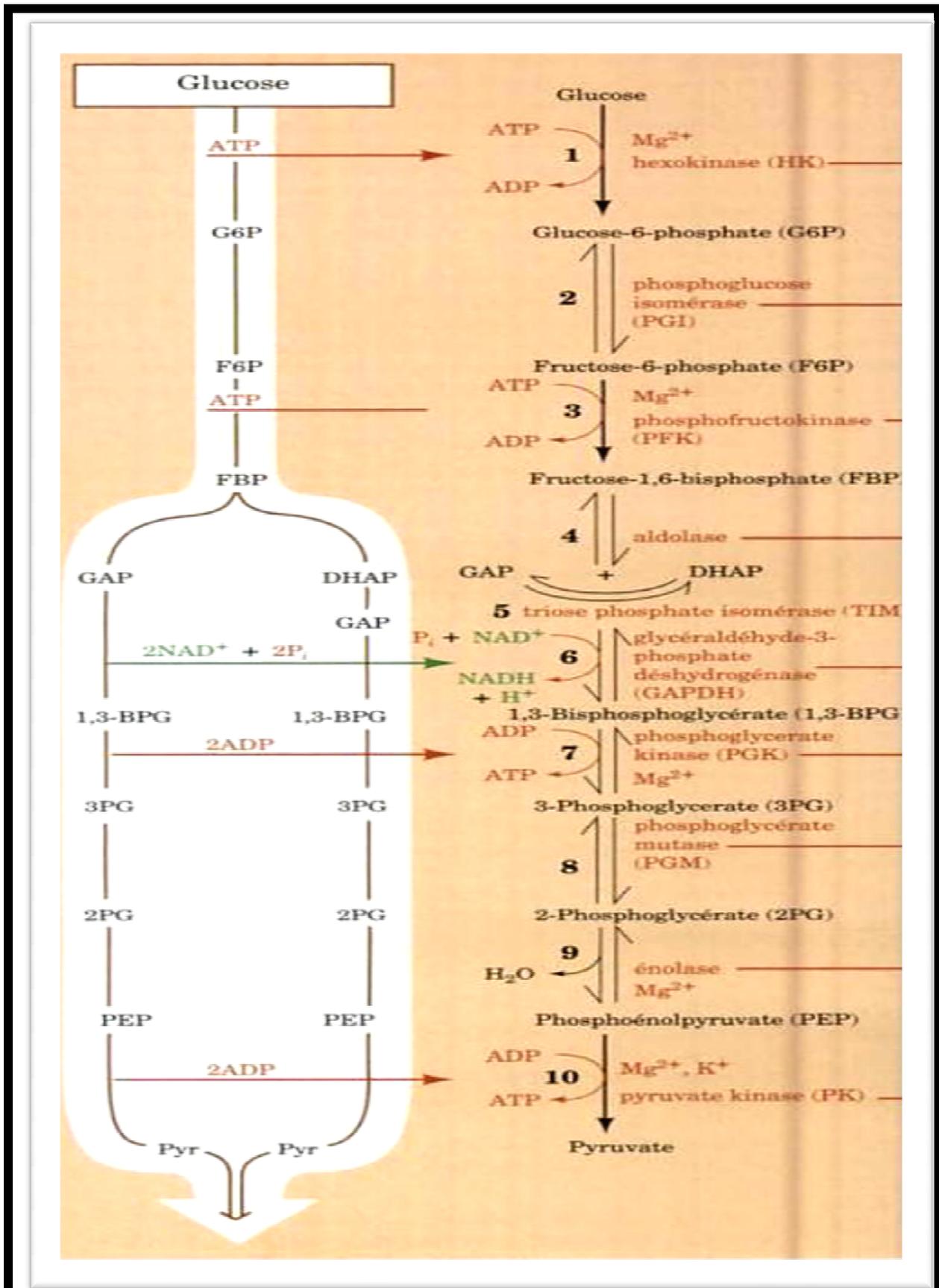


Figure 5. Dégradation du glucose par la voie glycolytique [Voet et Voet., 2000].

II.1.2. Voie des pentoses phosphate

La voie des pentoses phosphate est une voie cytoplasmique du métabolisme oxydatif qui démarre comme la glycolyse à partir du glucose-6- phosphate. Elle fournit deux précurseurs important pour des voies anaboliques : le NADPH+ H⁺ utilisé par exemple pour la biosynthèse des acides gras, et le ribose 5- phosphate, un précurseur de la biosynthèse des nucléotides [Voet et Voet., 2000].

La glucose-6-phosphate déshydrogénase est le premier enzyme spécifique de la voie des pentoses phosphate [Voet et Voet., 2000].

La réaction est :

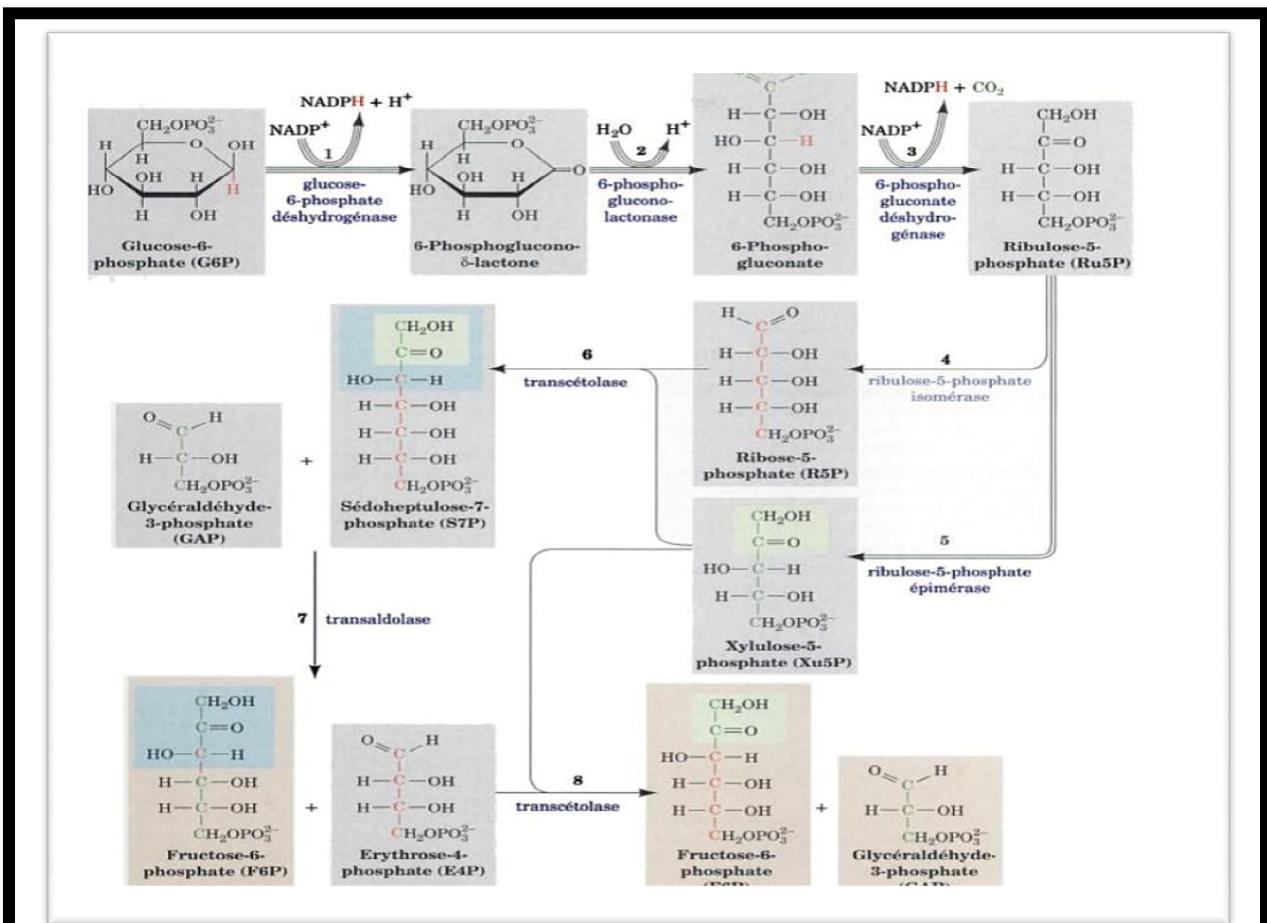


Figure 6. Voie des pentoses phosphate [Voet et Voet., 2000].

II. 1. 3. Glycolyse et voie des pentoses dans la reproduction

II. 1. 3. 1. Spermatozoïde

Deux voies principales de métabolisme de glucose ont été impliquées dans la fonction des spermatozoïdes. Ces voies sont la glycolyse, qui produit de l'ATP et du pyruvate, et la voie de pentose phosphate, qui produit de NADPH et de ribose-5-phosphate [Mahadevan., 1997].

Le spermatozoïde des mammifères exige de l'énergie métabolique pour une variété de fonctions, pour soutenir le plus notamment la motilité. Les spermatozoïdes humains obtiennent une proportion exceptionnellement élevée de leur ATP à partir de la glycolyse et répondent aux changements des besoins énergétiques en ajustant le flux glycolytique plutôt que par la respiration mitochondriale [Mahadevan., 1997].

L'effet du glucose sur la capacitation varie en fonction des espèces. Le glucose est nécessaire pour la réussite de la fécondation par le spermatozoïde d'un rat mais ne doit être présent que durant une période seulement courte, à la fin de la capacitation et aux étapes finales de la fécondation. L'étape dans laquelle la présence de glucose est nécessaire, concerne l'hyperactivation de la motilité et la fusion spermatozoïde-ovocyte, qui dépend de la fourniture de NADPH par le métabolisme de glucose par l'intermédiaire de la voie de pentose phosphate. Le glucose est également nécessaire pour la fécondation chez le rat et le hamster, et il est bénéfique mais non essentiel pour la capacitation *in vitro* du spermatozoïde de Macaque. En revanche, la fécondation chez le cobaye et le bovin est empêchée par la présence du glucose [Andrew *et al.*, 2001 ; Alexander *et al.*, 2004].

Après une période de pré-incubation de 6 heures, le glucose augmente de manière significative la capacité du spermatozoïde humain à pénétrer la zone pellucide de l'ovocyte de l'hamster, en comparaison avec des autres sucres glycolysables (fructose ou mannose), ou avec des sucres nonglycolysables (galactose). Le glucose est nécessaire pour une pénétration optimale de la zone pellucide, et pour soutenir l'hyperactivation de la motilité des spermatozoïdes [Andrew *et al.*, 2001].

Cependant, il reste peu clair si les effets bénéfiques du glucose dérivent de la fourniture d'énergie métabolique à partir de la glycolyse ou si la capacitation exige un autre produit de métabolisme de glucose. On a récemment proposé que le glucose peut être

nécessaire pour produire NADPH, qui permet la production du superoxide et favoriser la phosphorylation des protéines en tant qu'élément de system qui contrôle la capacitation [Aitken *et al.*, 1997]. En outre, le NADPH peut également être nécessaire pour protéger le spermatozoïde contre le stress oxydatif [Andrew *et al.* , 2001].

En effet, l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase, le premier enzyme spécifique de la voie de pentose phosphate, a été mesurées dans le spermatozoïde murin [Fraser et Quinn., 1981]. La voie des pentoses phosphate a été impliquée dans des événements de phosphorylation de protéines dans la tête de spermatozoïde aussi bien que de divers événements de la fécondation. Une fonction potentielle de la voie de pentose phosphate dans le spermatozoïde serait de protéger les membranes contre les dommages lipoperoxidatifs, et cette fonction spécifique a été démontrée dans la tête du spermatozoïde de bovin [Alexander *et al.*, 2004].

L'ATP de la glycolyse a été montrée pour fournir l'énergie pour la majorité d'événements de la phosphorylation des protéines associées à la capacitation [Andrew *et al.*, 2001, Fraser et Quinn., 1981].

Le glucose, ou un autre sucre glycolysable, est nécessaire pour soutenir une concentration optimale en ATP dans le spermatozoïde humain pour soutenir la motilité, même lorsque le spermatozoïde est en présence de pyruvate qui permet la respiration mitochondriale [Andrew *et al.* , 2001].

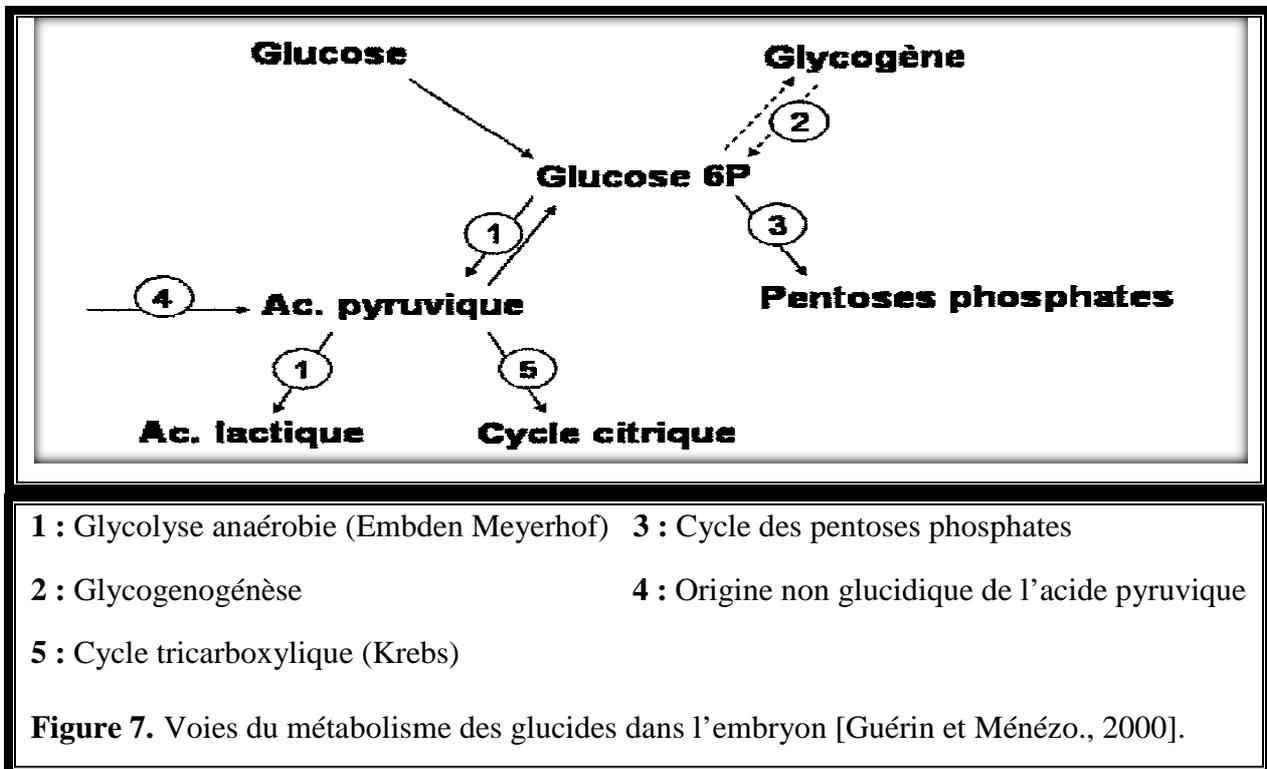
Le glucose augmente le nombre de spermatozoïdes qui se lient à l'œuf et la proportion des œufs fécondés dans la fécondation in vitro humaine [Andrew *et al.*, 2001; Hoshi *et al.*,1991]. L'effet bénéfique du glucose sur la réaction acrosomique peut simplement être dû à la plus grande production de l'ATP par la glycolyse. Aussi bien que soutenir une motilité plus vigoureuse ceci peut avoir des effets plus subtiles [Andrew *et al.*, 2001].

II.1.3.2. Ovocyte

Le glucose est une molécule indispensable durant la maturation de l'ovocyte. Métabolisé par la voie des pentoses, le glucose sert de substrat à l'ovocyte pour la production d'ATP qui est indispensable à la croissance et à la capacitation de l'ovocyte [Cetica *et al.*, 2002; Sutton-McDowall *et al.*, 2003].

II.1.3.3. Embryon

Les glucides constituent certainement la principale source d'énergie pour le métabolisme de l'embryon. Le glucose est un métabolite clé pour le développement de l'embryon. Il existe plusieurs voies métaboliques du glucose [Khatchadourian., 1996 ; Guérin et Ménézo., 2000].



II.1.3.3.1. Glycolyse anaérobie

La glycolyse anaérobie génère le lactate, le pyruvate et 2 molécules d'ATP (Adénosine Tri Phosphate) par molécule de glucose. C'est une voie longue et fastidieuse pour l'embryon au début de son développement car elle emploie de nombreuses enzymes pour un rendement final faible [Guérin et Ménézo., 2000].

II.1.3.3.2. Glycolyse aérobie

La glycolyse aérobie aboutit, via le cycle tricarboxylique, à l'oxydation complète du glucose en eau et dioxyde de carbone. Cette voie fournit 36 molécules d'ATP. Au début de son développement, l'embryon utilise donc majoritairement cette voie car sa croissance demande alors beaucoup d'énergie [Khatchadourian., 1996].

II.2. Voie des polyols

II.2.1. Définition

Dans la voie des polyols (encore appelée voie du sorbitol), le glucose est d'abord réduit en sorbitol par l'aldose réductase, le sorbitol étant ensuite oxydé par la sorbitol déshydrogénase en fructose, avec réduction parallèle du cofacteur NAD⁺ en NADH [Brownlee., 1996; Suga., 1975] ; comme la réaction suivante le montre :



II.2.2. Voie des polyols dans la reproduction

Le sorbitol a été longtemps connu pour être présent dans les fluides des tractus génitaux femelles et mâles [Wenlei *et al.*, 2009].

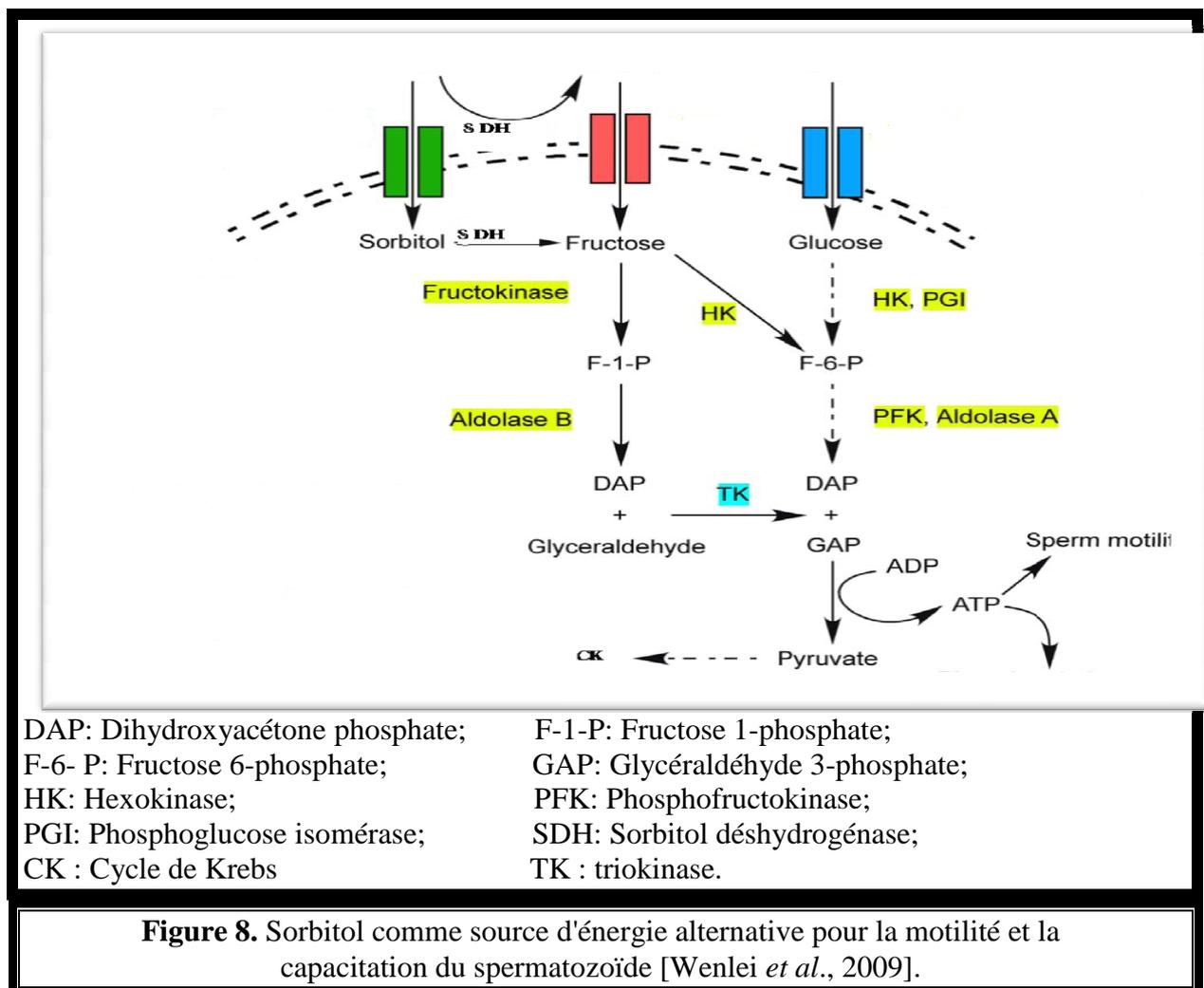
Les sources d'énergie qui peuvent être métabolisées pour donner l'ATP sont essentielles pour les fonctions normales de spermatozoïde telles que la motilité et la capacitation. Deux majeurs monosaccharides, sorbitol et fructose, sont présents dans le sperme [Wenlei *et al.*, 2009].

Le milieu intra-utérin de la femelle bovine peut transformer le glucose en fructose par l'action de la SDH sur le sorbitol . Cette activité fournit le fructose nécessaire non seulement au métabolisme des spermatozoïdes, mais également à leur capacitation et à leur cheminement jusqu'à l'ovule [Bousquet *et al.*, 1975]. Le sorbitol est l'hydrate de carbone principal dans les fluides utérins des bovins. Une fonction de SDH maintenue dans les spermatozoïdes semble convertir le sorbitol dans le plasma séminal et le fluide utérin en fructose, qui représente une source d'énergie [Harper ., 1973].

Il semble y avoir quelques convenances pour que les spermatozoïdes utilisent le glucose ou le fructose. Puisque les spermatozoïdes contiennent seulement une petite quantité de cytosol, la voie glycolytique ne serait pas une source d'énergie importante. Le métabolisme de fructose est connu pour être plus rapide que celui du glucose parce qu'il dévie une étape de détermination composée de phosphofruktokinase. En outre, le NADH résultant comme sous-produit de la réaction de SDH peut donner des électrons au système de transport d'électron pour synthétiser l'adénosine triphosphate. Ainsi, d'un point de vue énergétique, l'utilisation du sorbitol ou le fructose est bénéfique pour les spermatozoïdes [Suga., 1975].

Le sorbitol déshydrogénase peut convertir le sorbitol en fructose, qui peut être converti en fructose 1-phosphate par hexokinase pour entrer dans la voie glycolytique. Par cette voie, la SDH favorise l'utilisation du sorbitol comme source énergétique alternative [Wenlei *et al.*, 2009; Suga ., 1975].

La capacitation est liée à l'exocytose de l'acrosome, à la motilité de spermatozoïde, à la phosphorylation de protéines, et à l'hyperactivité de spermatozoïde. Le sorbitol augmente le niveau de la phosphorylation de protéines. Le sorbitol peut remplacer le glucose dans le milieu utilisé pour la capacitation et mener à une augmentation de la phosphorylation des protéines semblable à celle vue avec du glucose [Wenlei *et al.*, 2009].



II.3. Transaminases

Les réactions de la transamination catalysée par des transaminases surviennent aussi bien dans les processus cataboliques qu'anaboliques et jouent un rôle majeur dans les réactions des transferts de NH_2 [Hames *et al.*, 2000].

Les groupes α -aminés des acides aminés subissent au cours du métabolisme principale intermédiaire, un processus prioritaire du métabolisme de leur squelette carboné connu sous le terme de transamination. Dans ce processus ; le groupement α -aminé de la plupart des acides aminés est transféré à l' α -cétoglutarate pour former le glutamate et l' α -cétoacide correspondant :

α -acide aminé + α -cétoglutarate \rightleftharpoons α -cétoacide + glutamate [Hames *et al.*, 2000 ; Voet et Voet., 2000].

II.3.1. Transaminase glutamique oxaloacétique (TGO)

L'*aspartate transaminase* catalyse le transfert d'un groupement aminé de l'aspartate vers l' α -cétoglutarate [Hames *et al.*, 2000].

Aspartate + α -cétoglutarate \rightleftharpoons Oxaloacétate + Glutamate [Hames *et al.*, 2000 ; Voet et Voet., 2000].

II.3.2. Transaminase glutamique pyruvique (TGP)

L'*alanine transaminase* catalyse le transfert du groupement aminé de l'alanine vers α -cétoglutarate [Hames *et al.*, 2000].

Alanine + α -cétoglutarate \rightleftharpoons Pyruvate + Glutamate

II.3.3. Transaminases dans la reproduction

Nous savons que les sécrétions utérines se composent d'une quantité relativement importante d'acides aminés [Fahning *et al.*, 1967 ; Lamothe *et al.*, 1972 a]. Les acides aminés des sécrétions utérines se forment et sont métabolisés sous l'action de la TGO et de la TGP. Ces enzymes agissent, en plus, comme intermédiaires dans les réactions de transamination, afin de fournir à l'utérus les principes nécessaires à son activité physiologique [Harper., 1973].

L'occurrence de la TGO et de la TGP dans la semence humaine et certains mammifères a été démontrée par plusieurs études. L'activité de transaminase dans la semence humaine était habituellement 10 à 20 fois plus élevée que dans le plasma sanguin normal. Il a semblé y a une corrélation entre l'activité enzymatique et la densité des spermatozoïdes dans la semence humaine et des ruminants [Eliasson., 1967].

CHAPITRE III

MATIÈRES MINÉRALES

L'analyse chimique des aliments et des organismes animaux classe les minéraux en deux groupes selon leur concentration dans les organismes animaux [Drogoul *et al.*, 2004 ; Valdiguié ., 2000].

Minéraux majeurs ou macroéléments : Calcium (Ca), phosphore (P), potassium (K), sodium (Na), magnésium (Mg), chlore (Cl), soufre (S).

Oligo-éléments ou micro-éléments : Contenus en très faibles quantités, mais indispensables. Les plus fréquemment cités sont : Fer (Fe), Cuivre (Cu), Cobalt (Co), manganèse (Mn), Zinc (Zn), iode (I), Sélénium (Se), Molybdène (Mo) [Drogoul *et al.*, 2004].

III.1. Eléments majeurs ou macromolécules

III.1.1. Calcium et le phosphore (Ca, P)

Les fonctions biologiques du calcium et du phosphore sont multiples :

a. En plus de son rôle de constituant du squelette, le calcium :

- Est un modérateur de l'excitabilité neuromusculaire.
- Intervient dans la perméabilité des membranes cellulaires.
- Agit sur l'équilibre acido-basique du sang.
- Catalyse la transformation de la prothrombine en thrombine, agent de la coagulation du sang [Soltner., 1999].
- Constituant des électrolytes des liquides corporels et des sécrétions digestives [Drogoul *et al.*, 2004].

b. Quant au phosphore : il intervient lui aussi dans la majorité des réactions biochimiques :

- Dans le transfert d'énergie, donc dans l'utilisation des glucides et des lipides.
- Dans le métabolisme des glucides.
- Dans le maintien de l'équilibre acido-basique et dans le pouvoir tampon du rumen [Drogoul *et al.*, 2004].

III.1.2. Magnésium (Mg)

- Nécessaire, comme le calcium à l'ossification.
- Intervient dans de multiples réactions cellulaires [Soltner., 1999].
- Constituant des électrolytes des liquides corporels et des sécrétions digestives [Drogoul *et al.*, 2004].

III.1.3. Sodium et le chlore (Na et Cl)

- Sodium et chlore sont des électrolytes essentiels de l'organisme où ils ont une localisation essentiellement extracellulaire.
- Le rôle essentiel du sodium et du chlore réside dans la régulation de la pression osmotique cellulaire, des équilibres électrolytiques et acido-basiques.
- Le chlore est indispensable à la synthèse de l'acide chlorhydrique du suc gastrique. Le sodium joue un rôle important dans l'absorption intestinale [Drogoul *et al.*, 2004].

III.1.4. Potassium (K)

Contrairement au sodium, le potassium est un constituant essentiellement intracellulaire, principalement rencontré dans les muscles et le sang [Drogoul *et al.*, 2004, Valdiguié.,2000]. Ses rôles sont comparables à ceux du sodium, il joue en outre un rôle dans la contraction musculaire et il est antagoniste du calcium musculaire [Drogoul *et al.*, 2004].

III.1.5. Matières minérales dans la reproduction

III.1.5. 1. Calcium

III.1.5. 1. A. Rôle dans la capacitation et la réaction acrosomique

Ca^{2+} joue un rôle dans le règlement des fonctions critiques des spermatozoïdes, tels que la capacitation, la réaction acrosomique et la fécondation [Huai *et al.*, 2007].

Le calcium est un constituant important dans le milieu des spermatozoïdes afin de permettre un bon déroulement de la capacitation et prévient sa motilité [Baldi *et al.*, 1991; De Lamirande et Gagnon., 1995]. Par conséquent, les concentrations de cet ion sont plus élevées dans le plasma séminal et dans les sécrétions génitales femelles [Olds et Vandemark., 1957 ; Gould et Ansari., 1981 ; Handrow *et al.*, 1989 ; Mende *et al.*, 1990 ; Tsiligianni *et al.*, 2002].

La concentration du calcium dans les fluides de l'oviducte du lapin augmente suivant l'ovulation et la présence du calcium accélère la capacitation des spermatozoïdes de lapin in vitro [Aitken., 1979]. Aucun œuf de souris n'a été pénétré in vitro en l'absence des ions de calcium et les ions de calcium semblent ainsi être nécessaires pour la fécondation des œufs de souris in vitro dans un milieu chimiquement défini. Quant aux œufs de souris, les ions de

calcium sont nécessaires pour la capacitation des spermatozoïdes et de la fécondation des œufs de rat *in vitro*. L'absence du calcium est connue pour empêcher le développement des embryons de souris en stade de huit-cellule, et les embryons de souris en stade de deux-cellule cultivés dans des milieux déficients de calcium ont eu un taux diminué de clivage. Puisque le calcium affecte de diverses enzymes important dans le métabolisme énergétique, l'action du calcium dans le milieu d'incubation peut être sur l'activité métabolique générale des œufs [Miyamoto et Ishibashi., 1975].

La réaction acrosomique est contrôlée par une signalisation biphasique de calcium comme toutes les exocytoses, la réaction acrosomique est sous le contrôle d'une augmentation biphasique de la concentration cytosolique en calcium. Dans le spermatozoïde, le calcium nécessaire à cette réaction d'exocytose provient de deux sources, du milieu extracellulaire et du stock calcique interne (acrosome). Les influx de calcium sont contrôlés par des canaux calciques. La reconnaissance de ZP3 par les récepteurs spécifiques spermatiques situés au niveau de la tête du spermatozoïde est l'élément déclencheur de cette signalisation calcique biphasique [Thibault et Levasseur., 2001 ; Harrison et Gadella., 2005].

III.1.5. 1. B. Activation de l'œuf

La maturation de l'ovocyte immature et la fécondation de l'œuf sont deux préalables absolus au développement d'embryon des mammifères. La maturation de l'ovocyte et l'activation d'œufs pendant la fécondation sont contrôlés par des changements des niveaux libres intracellulaires de Ca^{2+} . Le rôle des changements de Ca^{2+} à la fécondation est clair c'est-à-dire ils sont requis et suffisants pour l'activation d'œufs [Homa *et al.*, 1993].

La fixation/fusion du spermatozoïde à la membrane de l'ovocyte provoque la séquence classique d'activation cellulaire suite à la fixation d'un ligand sur un récepteur, à savoir: activation d'une protéine G → phospholipase C → formation d'inositol triphosphate (IP3) → libération du calcium séquestré, à l'intérieur du réticulum endoplasmique. [Thibault et Levasseur., 2001].

L'élévation brutale du niveau de Ca^{2+} libre ne dure que quelques minutes. Elle est suivie chez les mammifères d'élévations répétitives de Ca^{2+} de fréquences différentes selon les espèces et s'étend sur plusieurs heures. L'injection d'extrait de spermatozoïde dans un ovocyte mime les oscillations calciques caractéristiques de la fécondation [Thibault et Levasseur., 2001 ; Homa *et al.*, 1993]. Dans l'œuf de souris, au moins, les oscillations de Ca^{2+}

se sont avérées un signal essentiel d'activation, puisque l'inhibition des oscillations bloque l'exocytose des granules corticaux et la formation des pronuclei, et l'œuf reste bloqué en métaphase II [Homa *et al.*, 1993].

III.1.5. 2. Magnésium

Nous connaissons le rôle de coenzyme que joue le Mg dans le métabolisme des hydrates de carbone [Soltner., 1999]. Nous savons, d'autre part, que le spermatozoïde doit se nourrir au cours de sa capacitation et de son transport pour conserver sa vitalité dans le tractus génital; le magnésium des sécrétions utérines pourrait être un des facteurs nécessaire à ces processus. Le magnésium et le phosphore, les deux éléments qui contribuent le plus au métabolisme énergétique du spermatozoïde [Guay et Lamothe., 1969, 1970].

Son importance au niveau du développement fœtal est aussi soulevée du fait que des malformations fœtales sont rapportées lors de déficiences sévères en magnésium [Jordan *et al.*, 1983].

In vitro, le taux de développement de l'embryon varie en fonction de la concentration de Mg. À faible concentration, le Mg (0.5 mM) entraîne un retard de développement de l'embryon et des malformations tandis qu'à concentration élevée (2 mM), il accélère la maturation nucléaire et le taux de développement des blastocystes [Hisataka *et al.*, 2004].

III.1.5.3. Sodium et Chlore

Constituent les deux éléments majeurs dans la composition des sécrétions de l'oviducte et de l'utérus. Ces 2 électrolytes jouent un rôle important dans le processus de développement de l'embryon. Le chlore se traduirait comme l'électrolyte responsable en grande partie de la sécrétion de liquide à l'intérieur de la lumière utérine tandis que le sodium, quant à lui, serait substance fondamentale pour l'expansion du blastocyte. L'éventuelle formation du blastocèle demande des transformations importantes dans la physiologie cellulaire: la pompe à sodium (ATPase Na⁺/K⁺) et l'antiport Na⁺/H⁺ fonctionnent conjointement de manière à garder le rapport interne K⁺/Na⁺ stable tout en augmentant la masse aqueuse pour établir la formation du blastocèle [Hugentobler *et al.*, 2007 ; Thibault et Levasseur ., 2001].

Actuellement, aucun enregistrement de flux sodique n'a été décrit dans le spermatozoïde de mammifères, mais récemment une étude a montré la présence des canaux sodiques au niveau des spermatozoïdes humains. Cette étude a aussi montré un possible rôle

de ces canaux dans la régulation de la mobilité spermatique, car l'application d'un activateur des canaux Na, sur les spermatozoïdes induit une augmentation de leur mobilité.

- L'échangeur sodium/proton (Na^+/H^+) assurant la régulation du pH interne, entre 7.0 et 7.4, dont le maintien est indispensable à un déroulement correct des voies de signalisation de la physiologie spermatique [Cross., 2007].

- L'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ est présent au niveau du spermatozoïde et permet le maintien de l'homéostasie calcique. Le blocage de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, par des inhibiteurs induit une modulation du potentiel de membrane et une immobilité spermatique [Krasznai *et al.*, 2006].

III.1.5. 4. Potassium

En ce qui a trait au potassium, des concentrations légèrement élevées, en milieu de culture, améliorent le taux de développement embryonnaire chez la souris. On souligne l'importance de la présence du *K* intra-utérin pour la modification des membranes (blastocyte et épithélium utérin) nécessaires au processus d'implantation embryonnaire. Malgré cela, pour contredire son effet bénéfique, un niveau de potassium *in vitro* égal à celui *in vivo* provoque un effet délétère sur les embryons [Gao *et al.*, 2007, Aguilar et Reyley., 2005].

Les niveaux élevés de potassium en fluide tubaire semblent être constants pour la majorité des espèces [Aguilar et Reyley., 2005]. La concentration plus importante de potassium semble nécessaire pour la fécondation et le développement embryonnaire [Fontaine *et al.*, 2007].

De nombreux canaux potassiques ont été identifiés dans les spermatozoïdes, ils sont soupçonnés de jouer un rôle dans la maturation des spermatozoïdes. Ils ont été localisés au niveau de la pièce principale du flagelle et au niveau de la tête du spermatozoïde. Une étude récente a permis de mettre en évidence le rôle des canaux potassiques dans le mécanisme de capacitation des spermatozoïdes. En effet, cette étude montre que le blocage des courants K^+ empêche l'hyperpolarisation de la membrane plasmique (élément clef de la capacitation) et diminue le taux de la réaction acrosomique [Schreiber *et al.*, 1998].

Une autre étude a permis de mettre en évidence le rôle des canaux potassiques dans l'hyperpolarisation de la membrane plasmique durant la maturation du spermatozoïde [Munoz-Garay *et al.*, 2001].

III.1.5. 5. Phosphore

Il est admis que le phosphore contenu dans les sécrétions utérines joue un rôle dans le métabolisme du spermatozoïde; en effet ce dernier puise son énergie dans le milieu utérin même avant d'atteindre l'oviducte. Le phosphore semble l'élément vital de la gamète male, et c'est certainement la raison pour laquelle les sécrétions utérines présentent des taux très élevés de cet élément en œstrus et en postœstrus. Ces variations cycliques seraient alors nécessaires à la "capacitation" du spermatozoïde [Guay et Lamothe., 1970].

Chez les femelles, on observe fréquemment un retard de puberté et une baisse de l'activité ovarienne, associée à de l'anoestrus, des chaleurs silencieuses, des kystes folliculaires, lors de carence en phosphore [Rowlands *et al.*, 1977].

CHAPITRE IV
SÉCRÉTIONS UTÉRINES

IV.1. Rôles de l'utérus**IV.1.1. Rôle de la muqueuse**

Les sécrétions de la muqueuse utérine varient sous l'effet des hormones qui agissent sur elle. Durant les chaleurs, elle produit des glaires translucides. Lorsqu'un corps jaune situé sur les ovaires produit de la progestérone, dans les semaines qui suivent les chaleurs, les cellules utérines sont reprogrammées et produisent ledit «lait utérin», un mucus nutritif, riche en graisses et en protéines et qui joue un rôle décisif dans la survie de l'embryon dans la phase précoce [Thibault et Levasseur., 2004].

IV.1.2. Dans la capacitation

Les spermatozoïdes remontent rapidement le corps utérin et arrivent à la jonction utéro-tubaire. Dans cette région, les sécrétions muqueuses remplissent la lumière, formant une barrière empêchant tout retour en arrière [Barone., 1978].

IV.1.3. Réservoir pour héberger l'embryon

L'utérus a pour fonction principale de recevoir et d'héberger l'embryon, puis le fœtus, au cours de la gestation [Thibault et Levasseur., 2004 ; Barone., 1978].

IV.1.4. Expulsion de fœtus

Le rôle de l'utérus est maintenant d'expulser le fœtus vers le monde extérieur [Thibault et Levasseur., 2004 ; Barone., 1978].

IV.2. Formation des sécrétions utérines

Chez tous les mammifères l'utérus contient les glandes endométriales qui synthétisent ou transportent et sécrètent des substances essentielles pour la survie des spermatozoïdes et du blastocyste [Spencer et Bazer., 2004 ; Lamothe *et al.*, 1972 a,b] qui est un mélange complexe des enzymes, des facteurs de croissance, des cytokines, des lymphokines, des hormones, des protéines, et d'autres substances [Spencer et Bazer., 2004 ; Gao *et al.*, 2009]. Les glandes utérines peuvent métaboliser activement plusieurs substances parce que beaucoup de composantes ont une concentration plus élevée dans le fluide utérin que dans le sang [Lamothe *et al.*, 1977].

IV. 3. Fonction biologique des sécrétions utérines

Les sécrétions qui baignent la cavité utérine peuvent intervenir dans un certain nombre de fonctions reproductrices importantes, telles que la progression, le métabolisme, l'activation et la capacitation des spermatozoïdes, le développement embryonnaire précoce et la réceptivité de l'utérus à l'infection [Rune., 1965].

Le fluide de l'utérus fournit l'environnement dans lequel le spermatozoïde, l'ovocyte et le zygote survivent et fonction en fournissant la nutrition et le transport nécessaires. Le fluide de l'utérus change en volume, en viscosité et en concentration de leurs constituants [Burrow et Humphrey., 1994].

Les fluides de l'oviducte et de l'utérus fournissent l'environnement biochimique dans lequel la fécondation se produit et le développement embryonnaire précoce commence [Perkins *et al.*, 1965 ; Heap., 1962].

Les sécrétions utérines sont les régulateurs importants de la survie et du développement de l'embryon et de l'implantation/placentation dans les mammifères [Lamothe *et al.*, 1972 a,b]. Le fluide utérin est nécessaire pour la capacitation des spermatozoïdes et du développement embryonnaire précoce, particulièrement chez les ruminants, chez lesquels les blastocystes passent une période prolongée dans l'utérus avant leur attachement [Alavi-Shoushtari *et al.*, 2006 ; Sudhir *et al.*, 2006].

La fonction physique de ces fluides utérins est de dilater la lumière utérine et de créer de ce fait un passage par lequel les spermatozoïdes peuvent progresser vers la jonction utero-tubaire [Aitken., 1979].

IV. 4. Taux des sécrétions utérines

Les sécrétions endométriales sont étroitement liées aux phénomènes de la reproduction et peuvent être modifiées par plusieurs causes d'origine métabolique, hormonale, immunologique ou même infectieuse [Lamothe *et al.*, 1972 a].

Le volume de fluide sécrété par l'utérus présente des variations en fonction du cycle œstral. Le volume de fluide était bas pendant la phase lutéale, et augmente au début de l'œstrus, atteint un maximum le jour suivant le début de l'œstrus et puis diminué pendant la

phase lutéal [Perkins *et al.*, 1965], ceci indique que la sécrétion dans le lumen utérin est sous contrôle hormonale [Heap.,1962 ; Shultz *et al.*,1971].

IV. 5. Composantes des sécrétions utérines

La majorité des études actuelles s'intéressent à la quantification et qualification des substrats énergétiques, de l'urée, du pH, des protéines, des lipides, des électrolytes et des vitamines présentes dans le liquide utérin.

IV. 5.1. Protéines

Les protéines utérines servent en général d'enzymes, de molécules de transport des vitamines, d'hormones stéroïdiennes et de minéraux et possiblement de modulateurs de l'activité génétique [Sudhir *et al.*, 2006]. La majorité des protéines retrouvées dans le liquide utérin sont des protéines du sérum dont les plus fréquentes sont l'albumine, la transferrine et l'immunoglobuline G [Burrow et Humphrey., 1994], mais un peu de protéines utérines spécifiques qui sont modifiées selon l'état reproducteur sont également présent [Sudhir *et al.*, 2006 ; Roberts *et al.*, 1976].

Dans différentes espèces, l'utérus contient les protéines spécifiques qui peuvent régler le développement de blastocyste. Il fournit également les besoins nutritifs d'un blastocyste [Menezo et Wintenberger-torres., 1976]. Les protéines utérines spécifiques fonctionnent comme molécules de transport, enzymes lysosomal et molécules immunorégulatrices [Burrow et Humphrey., 1994]. Il est démontré, entre autres, chez le rat et le lapin, qu'une petite quantité de protéines spécifiques à l'utérus, nommée blastokinine ou utéroglobuline, serait indispensable pour le développement embryonnaire [Aitken., 1979].

Chez la vache, la majorité des protéines du liquide utérin (environ 60%) sont relativement des fractions de petit poids moléculaire. Les restes peut être classifiés en tant que des protéines de grand poids moléculaire. La variation de la concentration des protéines utérines est associée au stade du cycle œstral ou au stade de la gestation. Les protéines totales des sécrétions endométriales varient de façon cyclique [Lamoth *et al.*, 1972 b ; Burrow et Humphrey.,1994].

Il existe des changements majeurs de concentration des protéines à l'intérieur du milieu utérin selon le jour du cycle œstral [Shultz *et al.*, 1971].

IV. 5.2. Ions

Les ions jouent un rôle essentiel dans la formation du liquide provenant de l'oviducte et de l'utérus. Les activités enzymatiques de même que le pH de l'oviducte et du fluide utérin seraient en partie régulés par la concentration et le mouvement des ions. D'après des études biochimiques sur les sécrétions génitales des ruminants, le magnésium, le chlore, le sodium, le sulfate, le calcium, le potassium, le phosphore et le zinc seraient présents et mesurables [Guay et Lamothe., 1969,1970 ; Leese, 1995 ; Hugentobler., 2007].

La composition chimique du fluide utérin collecté des brebis a été étudiée. Le sodium et le chlore étaient les ions principaux trouvés. Un peu de potassium, de magnésium, de calcium, d'ammonium, de bicarbonate, et d'ions de phosphate étaient également présent [Wales., 1973].

Le sodium était le cation principal et le chlore l'anion principal. Ensemble, ces ions composent 80-90 % des électrolytes présents dans les fluides utérines [Wales., 1973]. Comme dans le plasma et d'autres fluides extracellulaires, le Na^+ et le K^+ sont plus abondants que le Ca^{2+} dans les fluides utérins des brebis cycliques et gestantes. [Gao *et al.* , 2009].

Des fluctuations dans les concentrations de Ca^{2+} peuvent être provoquées par des activités de différents transporteurs de calcium dans l'utérus qui répondent différenciellement à la progestérone et à l'œstradiol pendant le cycle œstral chez les rats [Kim *et al.* , 2006]. Les fluctuations en Na^+ et K^+ dans les fluides utérins peuvent également être réglées par les hormones de reproduction (y compris œstrogène et prolactine) et statut de la gestation chez les porcs, mais les mécanismes fondamentaux sont inconnus [Gao *et al.* , 2009 ; Hugentobler.,2007].

IV. 5.3. Substrats énergétiques

Le métabolisme des sucres est un élément très complexe du développement embryonnaire précoce [Thibault C and Levasseur., 2001]. Le glucose est un composant caractéristique des sécrétions utérines dans un certain nombre d'espèces [Leese *et al.*, 1979 ; Bousquet *et al.*, 1976]. Ce genre de glucide, constituant la source essentielle d'énergie pour l'organisme, permet la synthèse des lipides, des acides aminés et du matériel nucléaire [Thibault C and Levasseur., 2001].

Glucose, une source essentielle d'énergie pour l'embryon, accru dans le milieu utérin pendant le stade précoce de gestation pour soutenir des besoins énergétiques de l'embryon ovin. Pendant l'implantation, le glucose, plutôt que le pyruvate [Gardner *et al.*, 1993], est la source d'énergie primaire pour l'embryon ovin, et l'utilisation du glucose augmente progressivement entre les jours 13 et 19 de la gestation [Wales et Waugh., 1993].

Le glucose dans les fluides de l'oviducte et de l'utérus est rendu disponible à l'embryon par des transporteurs de glucose actuels dans l'embryon à toutes les étapes du développement. Intéressant, dans des embryons de moutons, l'oxydation de glucose et la glycolyse font un pic le jour 15 de la gestation [Wales et Waugh., 1993], qui est coïncident avec la plus grande disponibilité du glucose dans l'utérus ovin [Gao *et al.* , 2009].

Le glucose peut être utilisé par l'embryon pour former le glycogène, les acides nucléiques, les protéines, et les lipides. En outre, le métabolisme du glucose par l'intermédiaire du cycle de pentose produit de NADPH exigé pour la production de ribose-5-phosphate pour la synthèse de nucléotides [Gao *et al.* , 2009].

Deux enzymes importantes sont présentes dans le métabolisme du glucose: l'aldolase et la glucose-6-phosphodéshydrogénase (*G-6-PDH*). L'activité de la *G-6-PDH* est importante durant le dioestrus car elle peut métaboliser le glucose comme source directe d'énergie et aussi peut le dégrader par la voie des pentoses [Bousquet *et al.*, 1976].

Il existe une troisième enzyme le sorbitol déshydrogénase (SDH). Le milieu intra-utérin peut transformer le glucose en fructose par l'action de la SDH sur le sorbitol. Cette activité fournirait le fructose nécessaire non seulement au métabolisme des spermatozoïdes mais également à leur cheminement jusqu'à l'ovule [Bousquet *et al.*, 1976].

Il existe d'autres substrats énergétiques qui sont aussi favorables au développement embryonnaire surtout au moment de la transition morula - blastocyste: le citrate et le malate [Bousquet *et al.*, 1976].

IV. 5.4. Acides aminés

Les sécrétions utérines de la brebis sont très riches en acides aminés, notamment acide glutamique, glutamine, serine, et surtout glycine [Gao *et al.*, 2009 ; Menezo et Wintenberger-torres., 1976].

L'alanine était l'acide aminé neutre principal trouvé dans les fluides utérins et représente 20-30% du contenu d'acide aminé libre total. La leucine et/ou l'isoleucine, la

valine, et la glycine étaient les autres acides aminés neutres importants dans les fluides utérins.

Deux acides aminés basiques, lysine et arginine, étaient présents avec des quantités significatives, lysine se trouve en plus grandes quantités que l'arginine. L'acide glutamique était l'acide aminé acide principal identifié [Gao *et al.*, 2009].

Les concentrations relativement élevées des acides aminés libres présentent dans les sécrétions de l'utérus indique leur importance comme sources importantes des nutriments pour les gamètes ou pour le zygote [Menezo et Wintenberger-torres., 1976].

IV. 5.5. Lipides

Les lipides sont représentés par les phospholipides, les triglycérides, les acides gras libres, le cholestérol libre et estérifié. L'embryon nécessite l'apport de lipides pour assurer la synthèse de ses membranes [Thibault et Levasseur., 2001].

CHAPITRE V

SÉCRÉTIONS OVIDUCTAIRES

Étudiés depuis les années 1960, le fluide tubaire présente des propriétés et une composition peu différentes selon les espèces [Fontaine *et al.*, 2009].

V. 1. Rôles de l'oviducte

Les trompes assurent un environnement propice pour, d'une part, le transport des spermatozoïdes, leur stockage et leur capacitation et, d'autre part, le recueil ovocytaire, le transport, la fécondation et enfin le clivage embryonnaire [Patrat et Serres., 2009 ; Killian., 2004].

V. 1.1. Capture de l'ovocyte

Une étape essentielle à la reproduction est la capture de l'ovocyte une fois qu'il est libéré lors de la rupture du follicule de De Graaf [Aktan., 2004]. Cette capture se fait par l'infundibulum de l'oviducte [Drazen *et al.*, 1999]. Chez la plupart des mammifères, le cumulus qui entoure l'ovocyte est très important pour cette capture. En effet, une interaction entre le cumulus de l'ovocyte et les cellules ciliées de l'infundibulum est nécessaire à la capture de l'ovocyte. Le battement des cils est également impliqué dans la réalisation de cette fonction [O'Flaherty *et al.*, 2005].

V.1. 2. Acheminement de l'ovocyte

Une fois que l'ovocyte est rendu à l'intérieur de l'oviducte, il doit être transporté au site de la fécondation, c'est-à-dire dans la jonction isthme-ampoule. La durée de ce transport varie selon les différentes espèces [Thibault et Levasseur., 2001]. Dans l'ampoule, le transport de l'ovule est encore principalement dû aux cellules ciliées, car les contractions musculaires de cette section de l'oviducte sont dirigées vers l'ovaire et non vers la jonction isthme-ampoule [Aktan., 2004]. Alors, ce sont les cils de l'épithélium qui créent un mouvement dans la bonne direction, c'est-à-dire vers le lieu de la fécondation [Wu *et al.*, 2004 a,b].

V.1. 3. Réservoir de spermatozoïdes

Malgré qu'il y ait des millions de spermatozoïdes déposés dans le tractus reproducteur femelle, il y en a que quelques milliers qui se retrouvent dans l'oviducte. La première section de l'oviducte rencontrée par les spermatozoïdes est l'isthme. C'est dans cette même section que leur parcours s'arrête jusqu'au moment de la fécondation. En effet, l'isthme est considéré, chez le bovin et chez plusieurs autres espèces animales, comme un réservoir de

spermatozoïdes [Jablonka-Shariff *et al.*, 1999 ; Aguilar et Reyley., 2005 ; Bosh et Wright., 2005].

L'existence de ce réservoir est d'une grande importance dans le succès de la reproduction. En effet, il permet d'éviter qu'un trop grand nombre de spermatozoïdes se rendent au site de fécondation, ce qui diminue les probabilités de polyspermie. De plus, le réservoir permet aux spermatozoïdes de conserver leur pouvoir à féconder jusqu'au moment où aura lieu l'ovulation [Jablonka-Shariff *et al.*, 1999]. Aussi, les meilleurs spermatozoïdes sont choisis au niveau du réservoir, c'est-à-dire ceux ayant un acrosome indemne et n'ayant pas été capacités [Manser *et al.*, 2004].

V. 1.4. Fécondation

La section de l'oviducte nommée l'ampoule est le lieu où se produit la fécondation [Aktan., 2004 ; Bosh et Wright., 2005].

V. 1.5. Amorce du développement embryonnaire

En effet, jusqu'au stade de 8 à 16 cellules, l'oviducte sera le site du développement de l'embryon. La principale section de l'oviducte impliquée dans cette fonction est la jonction isthme-ampoule puisque l'embryon y séjourne de 2,5 à 3 jours. Une fois cette étape de développement complétée, le lumen de l'isthme va s'agrandir afin de laisser passer l'embryon jusqu'aux cornes utérines, où il va aller s'implanter. L'activité des cellules ciliées est alors importante afin de permettre à l'embryon de se rendre à ce lieu au moment opportun [Aktan., 2004 ; Wijayagunawardane *et al.*, 2001].

V. 2. Formation des sécrétions oviductaires

Le fluide présent dans l'oviducte est formé, en partie, des sécrétions libérées par les cellules de la muqueuse ainsi que par le sang qui traverse les membranes de l'oviducte [Thibault et Levasseur., 2001 ; Aguilar et Reyley., 2005]. De plus, l'utérus, le follicule dominant ainsi que la cavité péritonéale peuvent contribuer à la création du fluide de l'oviducte. Au moment de l'ovulation, il est également possible qu'un certain fluide folliculaire puisse passer dans l'oviducte, où il peut affecter la motilité des spermatozoïdes dans l'oviducte. Le fluide folliculaire a été montré pour influencer la motilité de spermatozoïdes humaine *in vitro* [Tamara *et al.*, 1991].

La concentration des nutriments dans les sécrétions de l'oviducte est généralement au-dessous de leurs concentrations plasmatiques, ce qui suggère que leur transport global à travers le tube se produit principalement par diffusion [Aguilar et Reyley., 2005].

Composants du fluide tubaire tels que les ions, l'albumine, l'immunoglobuline, le glucose, et le pyruvate sont considérés comme transférés à partir du sang tandis qu'un certain nombre de protéines tubaires sont connues pour être produites par les cellules épithéliales [Aguilar et Reyley., 2005].

V.3. Fonction biologique des sécrétions oviductaires

L'oviducte des mammifères et le fluide tubaire représentent ensemble un microenvironnement optimal et un milieu essentiel pour des processus liés à la fécondation et au développement embryonnaire précoce. La composition spéciale du fluide tubaire soutient la viabilité des gamètes, la nutrition du zygote et le développement précoce du blastocyste [Gandolfi *et al.*, 1989 ; Roberts *et al.*, 1976 ; Buhi *et al.*, 1990 ; Carrasco *et al.*, 2008].

V.4. Taux des sécrétions oviductaires

Le fluide de l'oviducte montre des variations selon les sections, côtés de l'oviducte et également en fonction du cycle œstral [Carrasco *et al.*, 2008].

Les hormones stéroïdiennes modifient qualitativement et quantitativement le fluide tubaire, par un effet direct sur les cellules épithéliales et indirectement par leur action sur les vaisseaux sanguins. L'œstrogène stimule principalement tandis que la progestérone inhibe la sécrétion. Généralement, la quantité de fluide produite par le tube augmente pendant l'œstrus, et diminue pendant le dioestrus et la gestation [Aguilar et Reyley., 2005].

L'ampoule produit approximativement deux tiers de la sécrétion quotidienne total tandis que l'isthme produit le reste [Aguilar et Reyley., 2005]. Des différences dans le volume des sécrétions de l'oviducte dans les divers segments peuvent être expliquées par des variations histologiques de l'épithélium des segments de l'oviducte. On a observé un nombre décroissant de cellules sécréteuses de l'ampoule à l'isthme. On doit, cependant, tenir compte de la plus grande épaisseur des parois musculaires dans l'isthme, qui pourrait, par la résistance accrue, modifier le taux de sécrétion [David *et al.*, 1969].

Tableau 1. Taux des sécrétions tubaire pendant l'œstrus et le dioestrus (mL/24h) [Aguilar et Reyley., 2005].

Espèce	Oestrus	Dioestrus
Vache	4.46	1.43
Vache	1.54	0.77
Jument	5.08	2.82
Porc	6.2	---
Porc	2.7	---
Porc	1.19	0.35
Lapin	0.89	0.07
Brebis	0.8	0.3

V.5. Composantes des sécrétions oviductaires

Le fluide de l'oviducte est principalement constitué de protéines. En plus des protéines, on retrouve d'autres éléments tels que du cholestérol, des phospholipides, des lipoprotéines, des vitamines, des facteurs de croissances, des électrolytes et de petites quantités de glucose. Il est également intéressant de noter qu'il existe une glycoprotéine spécifique à l'oviducte, l'oviductine [Killian ., 2004].

V.5.1. Protéines

Les analyses compositionnelles des sécrétions de l'oviducte chez certains espèces (ovins, lapins, singes, porcs) indiquent que le fluide tubaire est biochimiquement complexe et que les protéines constituent un composant majeur des sécrétions tubaire [Killian., 2004]. Ces protéines dérivent de deux sources principales : le sérum et les cellules sécréteuses de l'oviducte [Gandolfi., 1989], leur teneur est faible : 10-15% de celle du sérum [Thibault et Levasseur., 2001, Aguilar et Reyley., 2005].

L'albumine et l'immunoglobuline G, dérivées du sang, sont les protéines les plus communes représentant environ 95% des protéines total du contenu de l'oviducte [Aguilar et Reyley., 2005].

Des glycoprotéines spécifiques d'oviducte (OGP) ont été identifiées et caractérisées dans plusieurs espèces telles que la souris, la brebis, le porc, la vache, la chèvre et la femme. La quantité des glycoprotéines tubaire change avec le stade du cycle œstral avec des concentrations plus élevées pendant la période périovulatoire. L'oestrogène stimule la

synthèse et la sécrétion des ces glycoprotéines tandis que la progestérone semble avoir peu d'effet [Aguilar et Reyley., 2005, Killian., 2004, Slavik., 2000].

Bien qu'aucune fonction biologique n'ait été démontrée pour ces protéines, certains d'entre elles sont avérées pour être associées à la zone pellucide, au cytoplasme de l'ovocyte, à l'embryon au stade précoce et à la surface du spermatozoïde. Cette liaison contribue le plus probablement à l'interaction entre les gamètes males et femelles, à l'induction de la réaction des granules corticaux et plus tard à la modification de la zone pellucide [Aguilar et Reyley., 2005 ; Killian., 2004 ; Slavik., 2000]. La liaison des spermatozoïdes bovins à des glycoprotéines dans le fluide tubaire induit la capacitation [Slavik., 2000].

Il a été présumé qu'une autre fonction des protéines du fluide tubaire est associée au mécanisme de détachement des spermatozoïdes, dont sont liés aux cellules épithéliales. Exposition *in vitro* d'ovocyte et/ou spermatozoïdes de porc à la glycoprotéine porcine (pOGP) a diminué la polyspermie et la fixation des spermatozoïdes à la zone pellucide, mais, maintient un taux de pénétration élevé d'ovocyte *in vitro*. En outre, le pOGP a montré un effet embryotrophique en augmentant le clivage et la formation de blastocyste une fois additionné au milieu de culture d'embryon *in vitro* [Aguilar et Reyley., 2005].

Egalement ces glycoprotéines semblent avoir un effet positif sur la capacitation, la liaison du spermatozoïde à l'ovocyte, la pénétration de l'ovocyte et le développement embryonnaire [Rath *et al.*, 2009 ; Killian., 2004]. En se liant à l'embryon, elles participeraient à la protection immunologique de l'embryon *in vivo*, en constituant un inhibiteur de l'activité du complément [Fontaine *et al.*, 2009].

V.5.2.Électrolytes

Jouent un rôle essentiel dans la formation du liquide provenant de l'oviducte et de l'utérus. Les activités enzymatiques de même que le pH de l'oviducte et du lait utérin seraient en partie régulés par la concentration et le mouvement des ions [Guay et Lamothe., 1969,1970 ; Leese, 1995 ; Hugentobler., 2007]. D'après des études biochimiques sur les sécrétions génitales des ruminants, le magnésium, le chlore, le sodium, le sulfate, le calcium, le potassium, le phosphore et le zinc seraient présents et mesurables.

Les concentrations des ions tendent à être équivalent à celle du sérum pour la majorité des espèces, avec quelques exceptions. Chez l'homme, la concentration des ions de potassium

et de chlorure est plus élevée dans le fluide tubaire que le sérum [Aguilar et Reyley., 2005]. Chez les bovins, la concentration de potassium est également plus élevée dans le fluide tubaire que le sérum [Fontaine *et al.*, 2009], surtout à l'approche ou au moment de la chaleur [Aguilar et Reyley., 2005]. Les niveaux élevés de potassium en fluide tubaire semblent être constants pour la majorité des espèces [Aguilar et Reyley., 2005]. La concentration plus importante de potassium semble nécessaire pour la fécondation et le développement embryonnaire [Fontaine *et al.*, 2009].

Les concentrations en calcium du fluide tubaire de l'isthme de la vache étaient sensiblement plus hautes que ceux dans l'ampoule, avec une concentration plus élevée que dans le sérum surtout au moment l'ovulation. En revanche, le calcium dans le fluide tubaire de l'homme tend à être inférieur par rapport à ceux de sérum [Aguilar et Reyley., 2005].

Tableau 2. Concentrations des ions dans le fluide de l'oviducte de diverses espèces collectés de l'ampoule, de l'isthme, ou de l'oviducte entier (mEq/L) [Aguilar et Reyley.; 2005].

	Vache		Vache	Brebis		Lapine	Lapine	Humain			Jument
	Ampoule	Isthme	Entier	Ampoule	Isthme	Entier	Entier	Entier	Entier	Entier	Entier
Na	140.9	159.3	86.1	135	141	127.8	189.7	130	145	139.5	129.5
Cl	-	-	112.7	-	-	115.4	332.2	132	119.5	118	-
K	4.53	4.24	65.7	8.12	6.9	5.6	16.8	21.1	6.7	8.8	7.9
Ca	1.83	2.64	3.19	7.6	5.96	7.98	2.71	1.13	-	2.13	2.28
Mg	0.662	0.685	-	1.18	1.08	0.141	0.473	1.42	-	0.61	4.59
S	-	-	-	-	-	-	-	12.3	-	-	-
P	-	-	3.0	-	-	0.193	-	8.69	-	-	0.366
Zn	-	-	-	-	-	0.099	0.0046	-	-	-	-
Bicarbonate	-	-	-	-	-	-	16.55	-	-	-	-

V.5.3. Substrats énergétiques : Glucose, lactate et pyruvate

Ils constituent les composés majeurs. Ils proviennent du sérum et d'une synthèse par les cellules tubaires [Thibault et Levasseur., 2001]. Glucose, lactate et pyruvate participent au développement et à la survie des gamètes et de l'embryon au cours de leurs présences dans l'oviducte [Aguilar et Reyley., 2005 ; Fontaine *et al.*, 2009].

Les substrats énergétiques principaux sont : le glucose et le pyruvate dérivé du sang bien qu'un certains sucrose et lactate soient également présents [Aguilar et Reyley., 2005]. Les niveaux du glucose, du pyruvate, et du lactate étaient 1.8 fois plus haut dans l'ampoule que dans l'isthme dû à la surface plus grande de l'ampoule [Aguilar et Reyley., 2005].

Toutefois, le lactate se retrouve en plus grande concentration dans l'oviducte *versus* le sérum et l'utérus en début de cycle œstral [Thibault et Levasseur., 2001]. Le lactate résulte du catabolisme du glucose réalisé dans l'oviducte. La présence de lactate en grande quantité s'explique par les besoins de l'embryon. Jusqu'au stade de blastocyste, la source d'énergie principale pour ce dernier est le lactate et le pyruvate. Le pyruvate intervient dans la lutte contre les radicaux libres, avant d'être utilisé dans le métabolisme énergétique des gamètes et de l'embryon [Fontaine *et al.*, 2009].

Une fois l'entrée en fonction du génome embryonnaire (stade 8 cellules), le glucose devient un substrat clef. Ce genre de glucide, constituant la source essentielle d'énergie pour l'organisme, permet la synthèse des lipides, des acides aminés et du matériel nucléaire [Thibault et Levasseur., 2001]. Ainsi, ceci expliquerait la concentration supérieure de glucose dans la lumière utérine comparativement à celle de l'oviducte lors du passage de l'embryon de l'oviducte vers l'utérus. De plus, la concentration de glucose intra-utérine serait toujours supérieure à celle du plasma tout au long du cycle œstral [Aguilar et Reyley., 2005].

V.5.4 .Acides aminés

L'aminogramme du liquide tubaire est original par rapport à celui du sérum. Chez la brebis, la plupart des acides aminés (méthionine, leucine, isoleucine, phénylalanine, lysine, asparagine, alanine, tyrosine, acide glutamique et glutamine, hypotaurine et taurine et surtout glycine) sont présents dans les sécrétions tubaires, en concentration plus importante que dans le sérum. Cette différence suggère une excrétion active des acides aminés dans le milieu. Seuls les acides aminés (thréonine et sérine) sont peu représentés [Thibault et Levasseur., 2001 ; Aguilar et Reyley., 2005 ; Fontaine *et al.*, 2009].

V.5.5. Lipides

La concentration des phospholipides, triglycérides, acides gras libres, cholestérol est bien plus faible que dans le sérum [Thibault et Levasseur., 2001 ; Fontaine *et al.*, 2009].

La choline, qui peut servir de base à la synthèse des phospholipides, est présente. L'embryon est confronté rapidement à des besoins en lipides importants pour assurer ses synthèses membranaires. Il incorpore les acides gras et du cholestérol et les synthétise à partir du glucose et de plus petits précurseurs comme l'acétate et le pyruvate [Fontaine *et al.*, 2009].

V.5.6. Précurseurs de l'ADN et de l'ARN

Les précurseurs sont présents dans l'oviducte sous forme de bases libres ou de nucléosides (adénosine). L'embryon est capable de synthétiser des bases de l'ADN et des ARNs. Il est probable qu'*in vitro*, un apport de bases soit utile, puisque l'embryon incorpore des bases puriques et pyrimidiques dès le stade d'une cellule, avec une accélération à la transition morula/blastocyste [Aguilar et Reyley., 2005 ; Thibault et Levasseur., 2001].

V.5.7. Hormones stéroïdiennes

Les hormones stéroïdiennes, notamment l'œstradiol et la progestérone, sont retrouvées dans le milieu tubaire. Dans l'oviducte de la vache, leur concentration est plus importante après l'ovulation, particulièrement dans l'oviducte ipsilatéral au site d'ovulation. Cette augmentation est certainement liée à la libération du contenu folliculaire dans l'oviducte. Néanmoins, elle ne varie pas tout au long de l'oviducte, quel que soit le stade du cycle : environ 500 ng/mL de progestérone, alors que la concentration sanguine est d'environ 4 à 6 ng/mL [Aguilar et Reyley., 2005 ; Fontaine *et al.*, 2009].

Ces analyses de composition montrent que le microenvironnement tubaire résulte à la fois des synthèses de l'épithélium, d'une excrétion de facteurs issus du sérum et du liquide folliculaire après ovulation.

PARTIE

EXPÉRIMENTAL

CHAPITRE I

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Notre étude pratique a été débutée le mois de février 2011 sur des matrices de brebis collectées de l'abattoir publique de la Wilaya de Batna. Les dosages des différents paramètres biochimiques ont été réalisés au niveau de laboratoire central d'analyses biologiques de l'EPH de wilaya de Batna.

I. 1. Animaux

Des tractus génitaux collectés des brebis de race locale abattues au niveau de l'abattoir publique de la Wilaya de Batna, seulement ceux considérés comme ayant lieu dans la phase folliculaire et lutéale ont été employés pour cette étude.

I. 2. Protocole expérimentale

I. 2.1. Collecte et classification des sécrétions utérines et oviductaires

Les matrices des brebis, avec aucune pathologie ovarienne ou utérine, ont été collectées de l'abattoir public de la wilaya de Batna juste après l'abattage et ont été transportées au laboratoire sous conservation de froid. Les matrices étaient classifiées en phase folliculaire et phase lutéale par un examen visuel des ovaires qu'est basé sur l'aspect des follicules kystiques et de stade évolutif du corps jaune selon la méthode de [Alvi-Shoushtari *et al.* , 2006].

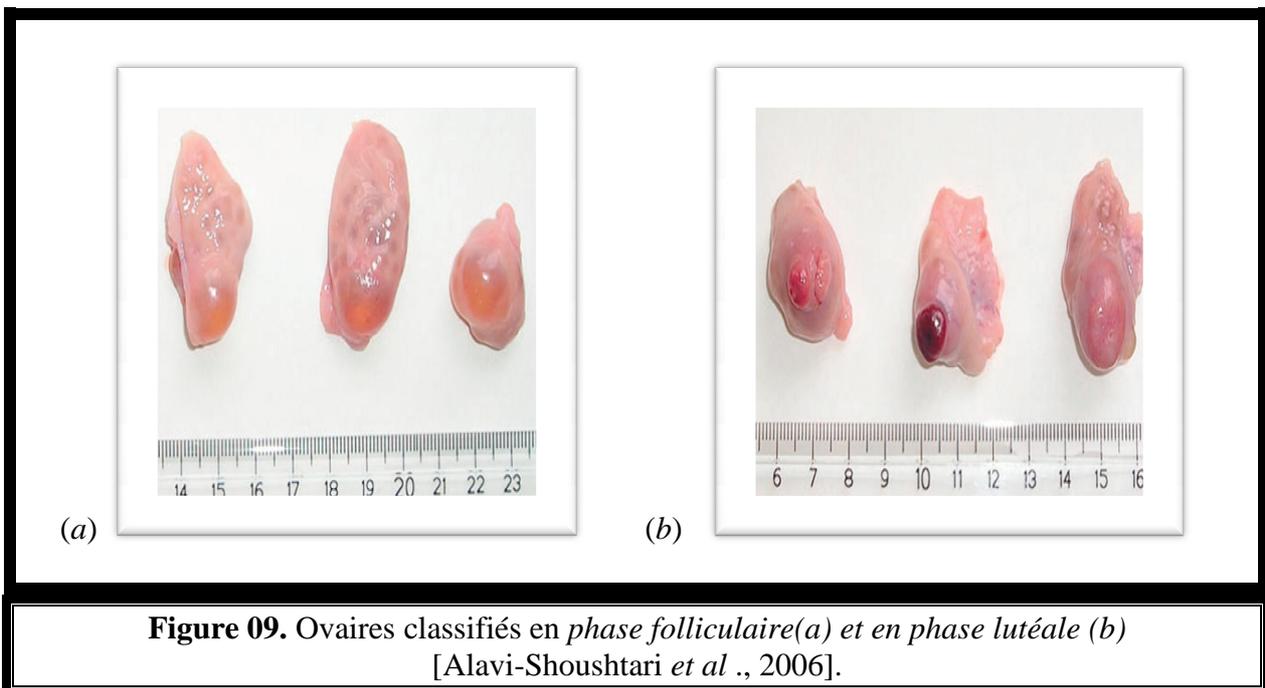
Le fluide utérin a été collecté en raclant doucement l'endomètre, après l'ouverture de l'utérus à l'aide d'une bistouri, par une curette puis on transfère les sécrétions dans des tubes sec de 2 ml selon la méthode de [Alvi-Shoushtari *et al.* , 2006]. En raison de la récupération de petites quantités de sécrétions, nous avons effectué la dilution puis une centrifugation à 3000 g pendant 5 minutes pour l'élimination des débris cellulaires. Le surnageant a été stocké immédiatement à - 80°C jusqu'à son utilisation.

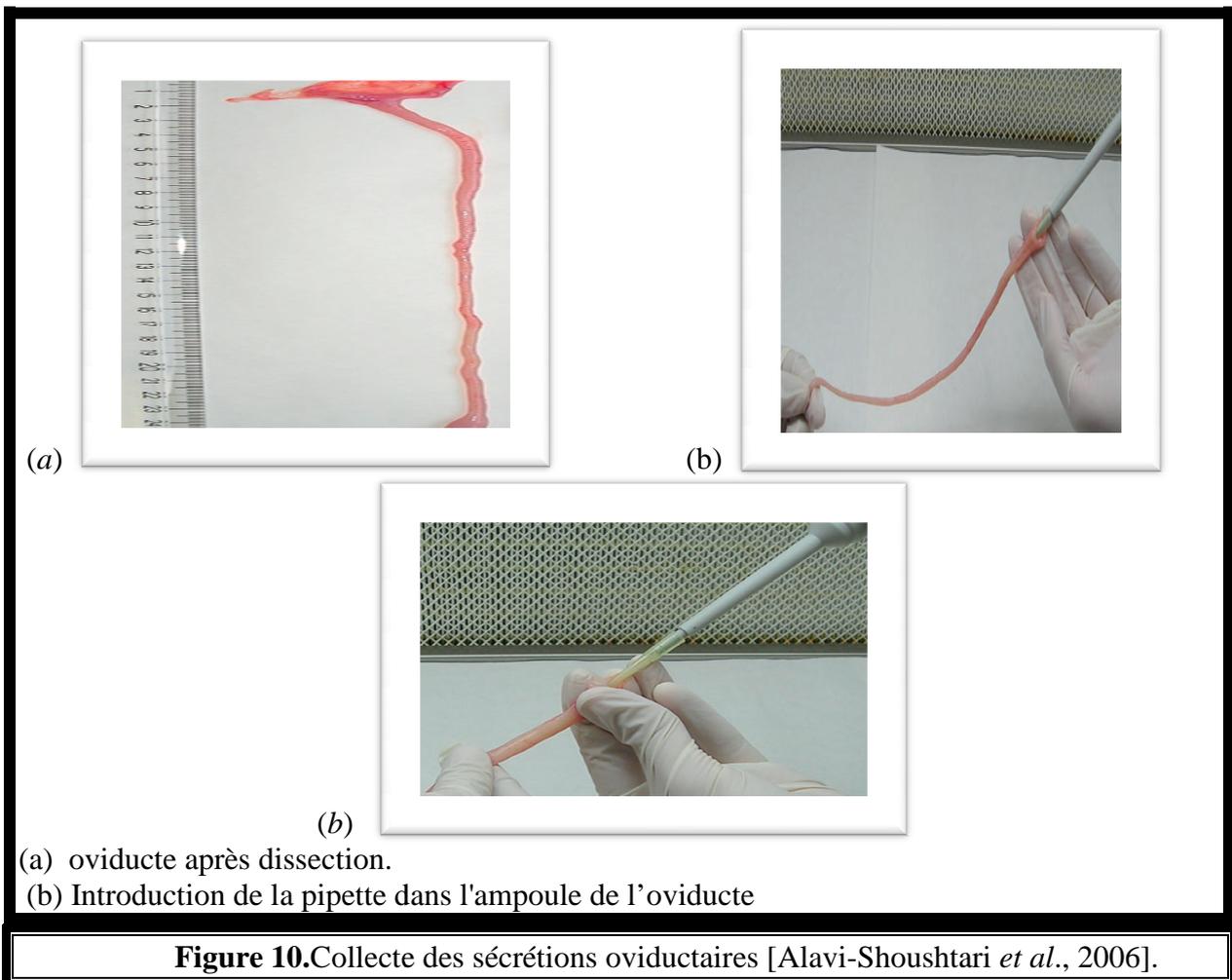
A cause de leur volume très restreint, les sécrétions endométriales présentaient certaines difficultés de dilution. Afin de minimiser les chances d'erreur attribuable à la manipulation, il convenait d'utiliser la plus grande quantité possible de sécrétions endométriales, quantité qui devait être constante chez tous les sujets. Un volume de 0.2 ml de sécrétions utérines est dilué dans 3,8 ml d'eau distillée parut devoir remplir le mieux ces conditions.

Cependant le fluide de l'oviducte a été obtenu après avoir séparé les oviductes des matrices. Le fluide a été collecté par aspiration avec une micropipette automatique (200 µ L) (figure 10) selon la méthode de [Alvi-Shoushtari *et al.* , 2006]. En raison de la récupération de

petites quantités de sécrétions, nous avons effectué la dilution puis une centrifugation à 3000 g pendant 5 minutes pour enlever les débris cellulaires. Le surnageant a été stocké immédiatement à - 80°C jusqu'à l'utilisation pour des déterminations des enzymes, des électrolytes et des protéines.

A cause de leur volume très restreint, comme les sécrétions endométriales, les sécrétions de l'oviducte présentaient certaines difficultés de dilution. Un volume de 0.2 ml de sécrétions utérines est dilué dans 1,8 ml d'eau distillée.





I. 2.2. Prélèvement sanguins

Les prises de sang ont été effectuées pour mesurer les concentrations plasmatiques des électrolytes et des protéines totales. Les prélèvements ont été réalisés avec des tubes héparinés de 5ml dans l'une des veines jugulaires de la brebis avant l'abattage.

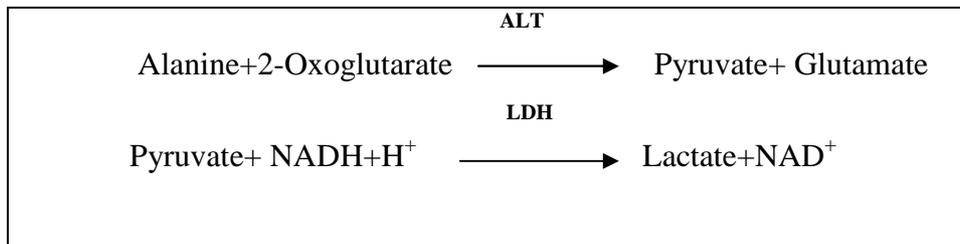
Les prélèvements de sang sont centrifugés à 5000 g pendant 15 minutes. Les sérums sont ensuite récupérés et stockés dans des tubes et congelés à -80°C jusqu'au moment du dosage. Aucune dilution n'a été réalisée pour le sérum puisque la quantité est suffisante.

I. 2.3. Dosage des paramètres biochimiques des sécrétions génitales et de sérum

Pour le dosage des protéines totales ; ainsi la mesure de l'activité catalytique des enzymes : Aldolase, G-6-PDH, SDH, TGO, TGP., nous avons utilisé comme appareil un analyseur automate METROLAB 2300 ; dont la distribution des réactifs et des échantillons ainsi la dilution de ces derniers sont faites de façon automatique en un temps programmé. Cet automate possède 9 longueurs d'onde situées entre 340 et 750 nm.

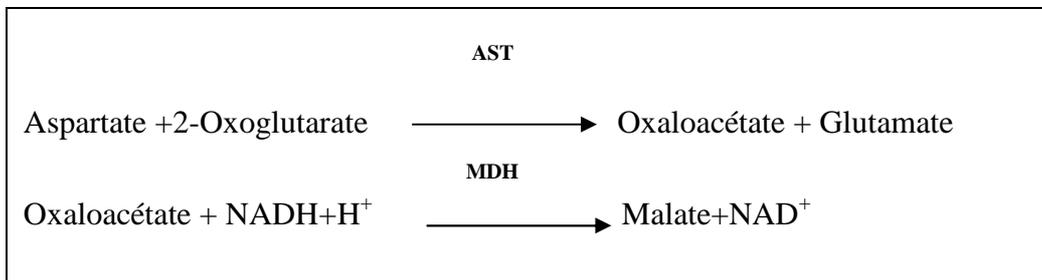
I. 2.3.1. Alanine aminotransférase TGP

L'alanine aminotransférase catalyse le transfert du groupement amino de l'alanine au 2-oxoglutarate, en formant le pyruvate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée de la lactate-déshydrogénase (LDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



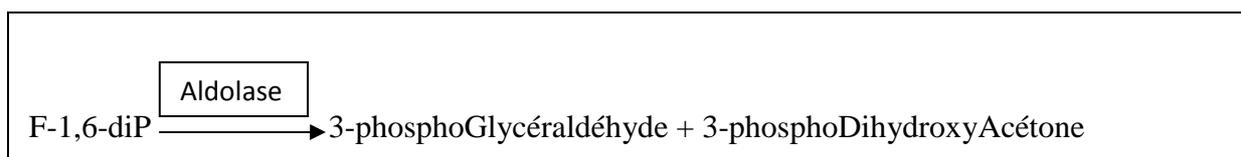
I. 2.3.2. Aspartate aminotransférase TGO

L'aspartate aminotransférase catalyse le transfert du groupement amino de l'aspartate au 2-oxoglutarate, en formant l'oxaloacétate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée de la malate-déshydrogénase (MDH), à partir de la vitesse de disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



I. 2.3.3. Aldolase

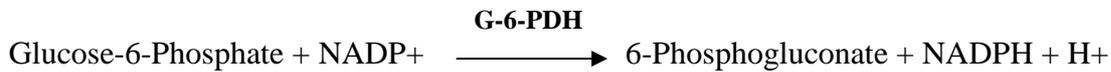
C'est une enzyme qui catalyse la scission du Fructose-1,6-diPhosphate en deux trioses-Phosphate selon la réaction suivante :



C'est une enzyme essentiellement cytoplasmique, existe dans tous les tissus à activité glycolytique ou glycogenolytique. La concentration catalytique est déterminée à partir de la vitesse de disparition du NADH (détection du NAD), mesuré à 340 nm.

I. 2.3.4. Glucose 6 phosphate déshydrogénase G-6-PDH

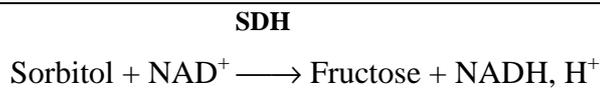
La glucose-6-phosphate déshydrogénase est le premier enzyme spécifique de la voie des pentoses phosphate. Elle catalyse la réaction suivante :



La concentration catalytique est déterminée à partir de la vitesse de disparition du NADH (détection du NAD), mesuré à 340 nm.

I. 2.3.5. Sorbitol déshydrogénase SDH

Dans la voie des polyols (encore appelée voie du sorbitol), le glucose est d'abord réduit en sorbitol par l'aldose réductase, le sorbitol étant ensuite oxydé par la sorbitol déshydrogénase en fructose, avec réduction parallèle du cofacteur NAD⁺ en NADH.



La concentration catalytique est déterminée à partir de la vitesse de disparition du NADH (détection du NAD), mesuré à 340 nm.

I. 2.3.6. Dosage des protéines totales

Méthode colorimétrique décrite par Gornall *et al.* les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu⁺² en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéine dans l'échantillon, est mesurée à 550 nm. Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline.

I. 2.4. Dosage des électrolytes des sécrétions génitales et de sérum

Pour le dosage des différents éléments minéraux (Calcium, Phosphore) nous avons utilisé comme appareil un analyseur automate METROLAB 2300.

Alors que pour le dosage de sodium, chlore et potassium, nous avons utilisé l'ionogramme (EX-DJOKOH ELECTROLYE ANALYZER). Toutes les réactions sont automatisées et programmées (quantité de réactifs et d'échantillon, durée des réactions, température d'incubation, longueur d'onde....).

Concernant le Mg, nous avons utilisé le spectrophotomètre à absorption atomique BIOSYSTEME BTS-300 dont le dosage est manuel. Le dosage se fait selon la fiche technique BIOSYSTEM.

I. 2.4. 1. Calcium

Le calcium présent dans l'échantillon réagit avec le bleu de méthylthymol en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. La présence d'hydroxyquinoléine dans le réactif évite l'interférence du magnésium.

I. 2.4. 2. Phosphore

Le phosphore inorganique présent dans l'échantillon réagit avec le molybdate en milieu acide, pour donner un complexe quantifiable par spectrophotométrie.

I. 2.4. 3. Sodium

La présent méthode est basée sur les modifications de celles décrites par Trinder dans laquelle le sodium est précipité avec Mg-Acétate d'uranyle en triple sels, sodium magnésium uranyle acétate, l'excès d'ions d'uranyle réagit avec l'acide de thioglycol, et produit un chromophore dont l'absorbance varie inversement à la concentration de sodium dans l'échantillon.

I. 2.4. 4. Potassium

Le dosage du potassium se fait, après une précipitation des protéines, en utilisant le tétraphénylboron dans un milieu alcalin qui produit une suspension colloïdale et dont la turbulence est proportionnelle à la concentration du potassium.

I. 2.4. 5. Chlore

La méthode de Mohr consiste à doser les chlorures avec du nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. En présence de nitrate d'argent, les ions Cl⁻ sont mobilisés pour

former du chlorure d'argent. Lorsque tous les ions chlorures ont précipité sous forme d'AgCl, le nitrate d'argent réagit avec le chromate de potassium et un précipité rouge brique apparait.

I. 2.4. 6. Magnésium

Le magnésium présent dans les échantillons réagit avec la calmagite en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. La présence d'EGTA dans le réactif évite l'interférence du calcium.

➤ Préparation de réactif de travail (RT)

Réactif (A) et Etalon (S) sont prêts à l'emploi.

➤ Mode opératoire

1-Placer les réactifs à température ambiante.

2-Pipeter dans des tubes à essai :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon magnésium (S)	–	10 µL	–
Echantillon	–	–	10 µL
Réactif (A)	1,0mL	1,0mL	1,0mL

3- Bien agiter et incuber les tubes pendant 2 min à température ambiante.

4-Lire l'absorbance (A) de l'étalon et de l'échantillon face au blanc à 520 nm.L couleur est stable au moins 1 heure.

Calcul

La concentration en magnésium de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Concentration échantillon} = \frac{\text{Absorbance Echantillon}}{\text{Absorbance Etalon}}$$

I. 2.5. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Graphpad prism 5. Les variations cycliques de chaque élément dans le sérum, dans les sécrétions utérines et dans les

sécrétions oviductaires des brebis ont été évaluées à l'aide d'un test de "T" (Student). L'homogénéité de la variance est vérifiée par le test F. Les résultats sont exprimés en (moyenne \pm SEM). La différence statistique a été considérée significative quand $P < 0,05$.

La relation entre la concentration d'un élément donné dans le sérum et dans les sécrétions a été obtenue par le coefficient de régression ou R selon le test de corrélation.

CHAPITRE II

RÉSULTANTS ET DISCUSSION

La collecte des fluides des tractus génitales des femelles reproducteurs et les tentatives d'étudier le rôle de ces fluides dans le transport et le métabolisme des gamètes ont été les sujets de plusieurs études. Les données plutôt complètes sur les taux de sécrétion et de certains composants chimiques sont disponibles pour les fluides utérins et oviductaires des lapins [Murdoch et White., 1969, et beaucoup d'autres]. Moins de données sont disponibles pour les fluides oviductaires et utérins des brebis [Roberts *et al.*, 1976 ; Perkins *et al.*, 1965 ; Wales ., 1973], et les fluides utérins chez les vaches [Olds et VanDemark., 1957 ; Fahning *et al.*, 1967].

Des recherches intensives ont été effectuées sur les changements cycliques qui se produisent chez la femelle, au cours du cycle œstral.

Des études sur la rate, la lapine, la truie, la vache et la brebis, rapportent l'existence des variations cycliques éventuelles des protéines, des glucides et des minéraux dans les sécrétions génitales.

Il faut souligner que de nombreux facteurs peuvent influencer nos résultats en particulier :

- La technique de la collecte : la collecte des sécrétions dans la présente étude a été réalisée après l'abattage. Néanmoins, après l'abattage de l'animal, les phénomènes de lyse et de mort cellulaires sont particulièrement marqués dans l'oviducte et dans l'utérus dont la muqueuse épaisse gêne la diffusion de l'oxygène. La libération des molécules intracytoplasmiques dans la lumière tubaire et utérine, consécutive à la nécrose, est la cause d'une surestimation de leur concentration. Le temps entre l'abattage et le prélèvement doit être le plus court possible, de l'ordre de la minute. Alors que la récupération du liquide *in vivo* (cannulation) donne des meilleurs résultats.

-Dans la présente étude, les animaux inclus sont d'une histoire inconnue (âge, race, alimentation...). Ces derniers facteurs peuvent influencer nos résultats.

-Nombre d'échantillons.

-Difficulté de la collecte des sécrétions due à de très restreint volume des sécrétions même chez les grandes espèces tel que la vache ce qui limite le nombre d'échantillons.

-Difficulté de la détermination de la phase de cycle œstral.

Dans la présente étude, au cours de la collecte des sécrétions utérines, nous avons remarqué que le volume des sécrétions s'accroît du corps utérin vers l'extrémité des cornes quelque soit la phase de cycle.

Nous avons constaté également que les sécrétions collectées pendant la phase lutéale se caractérisent par une couleur rouge et brunâtre-rouge avec la présence des éléments de sang. Autre qu'au cours de cette période, aucune couleur particulière des fluides n'a caractérisé n'importe quelle phase du cycle œstral.

Les sécrétions de l'oviducte ne présentent aucune caractéristique particulière de coloration pour les deux phases.

II.1. Paramètres biochimiques

Afin de mieux comprendre l'activité enzymatique des sécrétions utérines de la brebis, nous avons choisi d'évaluer l'activité de trois enzymes du métabolisme des glucides et de deux enzymes du métabolisme des protides: l'aldolase, la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH), la sorbitol déshydrogénase (SDH), la transaminase glutamique oxaloacétique (TGO) et la transaminase glutamique pyruvique (TGP).

De plus, nous avons évalué l'influence des périodes du cycle œstral sur l'activité enzymatique des sécrétions utérines.

II.1.1. Transaminases (TGO, TGP) des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral

L'analyse des sécrétions intra-utérines a permis de déceler une activité enzymatique telle que présentée dans le Tableau 3.

Tableau 3. Concentrations de la TGO et de la TGP dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis.

Taux des enzymes	Phase folliculaire (N=10)	Phase lutéale (N=10)	P
TGO (UII)	144.5 ± 34.52	274.9 ± 76.54	0.14
TGP (UII)	39.88 ± 10.53	146.0 ± 34.76	0.01

N: Nombre de brebis utilisées.

P: Différence statistique entre colonne ($P < 0.05$).

L'évaluation de l'activité d'un enzyme nous aide à mesurer ou à estimer la capacité d'une étape particulière de synthèse ou de dégradation, dans une voie métabolique. Le seul fait d'avoir décelé une activité des enzymes étudiées suggère que le métabolisme intra-utérin des protéines est actif.

Nous savons que les sécrétions utérines se composent d'une quantité relativement importante d'acides aminés. Chacun des enzymes que nous avons analysé dans les sécrétions utérines, joue un rôle dans l'utilisation de ces substrats, pour ainsi participer au métabolisme cellulaire.

D'après Bousquet *et al.* (1976) et Harper (1973), les acides aminés des sécrétions utérines se forment et sont métabolisés sous l'action de la TGO et de la TGP. Ces enzymes agissent, en plus, comme intermédiaires dans les réactions de transamination, afin de fournir à l'utérus les principes nécessaires à son activité physiologique.

Bousquet *et al.* (1976) ont révélé la présence de la TGO, sans toutefois présenter de variations significatives ($P > 0.05$). Également la concentration de la TGO mesurée dans notre étude ne présente aucune différence significative ($P > 0.05$) entre la phase folliculaire et la phase lutéale. Mais on peut constater que les concentrations de la TGO sont plus élevées pendant la phase lutéale.

Les analyses statistiques de nos résultats ont démontré des variations cycliques très significatives ($P=0.01$) de l'activité de la TGP dans les sécrétions utérines; cette activité est plus grande à la phase progestéronique. Ces mêmes résultats sont rapportés par [Bousquet *et al.*, 1976] après une étude chez la vache.

La période dioestrale du cycle correspond à celle où le blastocyste est descendu dans l'utérus, alors que les glandes sécrètent très activement. Le milieu intra-utérin exercerait donc, durant cette phase, une activité anabolique importante, les transaminases participant à ces processus.

Les sécrétions utérines de la brebis sont très riches en acides aminés, notamment acide glutamique, glutamine, serine, et surtout glycine [Gao *et al.*, 2009 ; Menezo et Wintenberger-torres., 1976]. Les concentrations relativement élevées des acides aminés libres présentent dans les sécrétions de l'utérus indique leur importance comme sources importantes des nutriments pour les gamètes ou pour le zygote.

Il a été rapporté par Thibault et Levasseur (2001) qu'au moment de l'entrée de l'embryon dans l'utérus ; le volume de la sécrétion utérine est très faible. Le volume sécrété par jour n'est que de quelques dizaines de microlitres (brebis, femme), il diminue au fur et à mesure que le taux de progestérone augmente. L'environnement biochimique est bouleversé pour la morula. La concentration en aminoacides augmente énormément : environ 20 fois la valeur trouvée au moment de la phase périovulatoire (brebis, femme).

Donc les concentrations élevées en acides aminés au cours de la phase lutéale sont en relation avec l'activité importante des transaminases au cours de la même phase de cycle œstral.

Nous savons maintenant que le milieu intra-utérin peut transformer les acides aminés grâce aux enzymes présents. Il s'agit là de fonctions utérines importantes, lors de l'élaboration du milieu biologique nécessaire au besoin des spermatozoïdes, de l'ovule et du blastocyste.

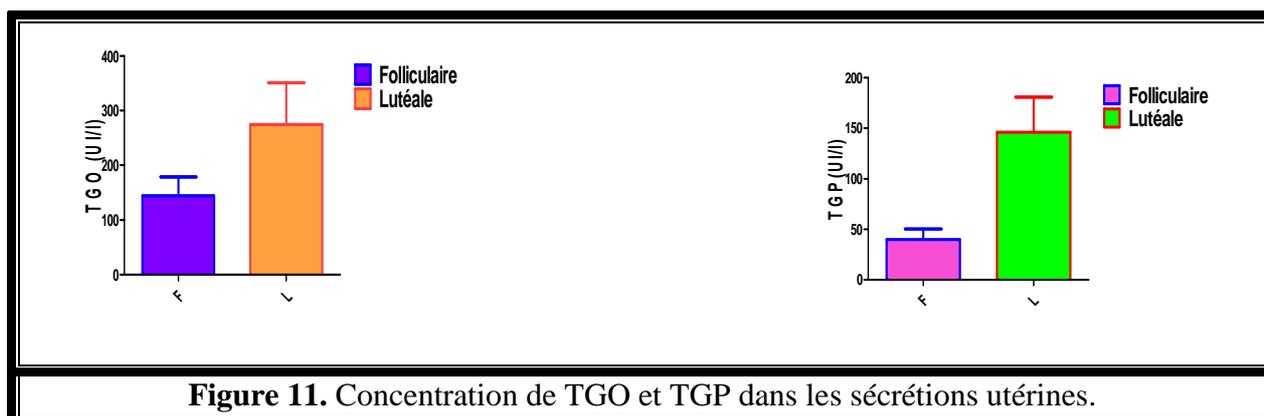


Figure 11. Concentration de TGO et TGP dans les sécrétions utérines.

II.1.2. Aldolase des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral

Nous savons que les sécrétions utérines se composent d'une quantité relativement importante de glucose. Chacun des enzymes (aldolase, G-6-PDH, SDH) que nous avons analysé dans les sécrétions utérines joue un rôle dans l'utilisation de ces substrats, pour ainsi participer au métabolisme cellulaire.

L'analyse des sécrétions intra-utérines a permis de déceler une activité enzymatique de l'aldolase telle que présentée dans le Tableau 4.

Tableau 4. Concentration de l'aldolase dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis.

Taux des enzymes	Phase folliculaire (N=10)	Phase lutéale (N=10)	P
Aldolase (UI/l)	273.1±58.69	95.53 ± 17.75	0.04

N: Nombre de brebis utilisées.

P: Différence statistique entre colonne ($P < 0.05$).

L'aldolase est une enzyme qui catalyse la réaction 4 de la glycolyse. La glycolyse est une série de réactions se mettant en place dans le cytoplasme, par laquelle la plupart des organismes vivants dégradent le glucose en deux molécules de pyruvate avec la formation concomitante de deux ATP.

Le spermatozoïde des mammifères exige de l'énergie métabolique pour une variété de fonctions, pour soutenir le plus notamment la motilité. Le spermatozoïde humain obtient une proportion exceptionnellement élevée de leur ATP à partir de la glycolyse et répondre aux changements des besoins énergétiques en ajustant le flux glycolytique plutôt que par la respiration mitochondriale [Mahadevan., 1997].

Deux voies principales de métabolisme de glucose ont été impliquées dans la fonction des spermatozoïdes. Ces voies sont la glycolyse, qui produit de l'ATP et du pyruvate, et la voie de pentose phosphate, qui produit de NADPH et de ribose-5-phosphate [Mahadevan., 1997].

La comparaison des résultats de la période folliculaire à ceux de la période lutéale, nous révèle que l'activité de l'aldolase est significativement plus forte ($P < 0.05$) durant la première phase du cycle œstral. Ces résultats concordent avec les travaux faits chez la lapine par [Murdoch et White., 1969] et chez la vache par [Bousquet *et al.*, 1976].

On peut dire que les spermatozoïdes lors de leur présence dans le tractus génital femelle utilisent l'aldolase des sécrétions utérines pour la production de l'énergie nécessaire pour les différentes fonctions notamment la capacitation.

Les niveaux élevés de l'aldolase au cours de la phase folliculaire explique le rôle de cette enzyme dans la capacitation des spermatozoïdes.

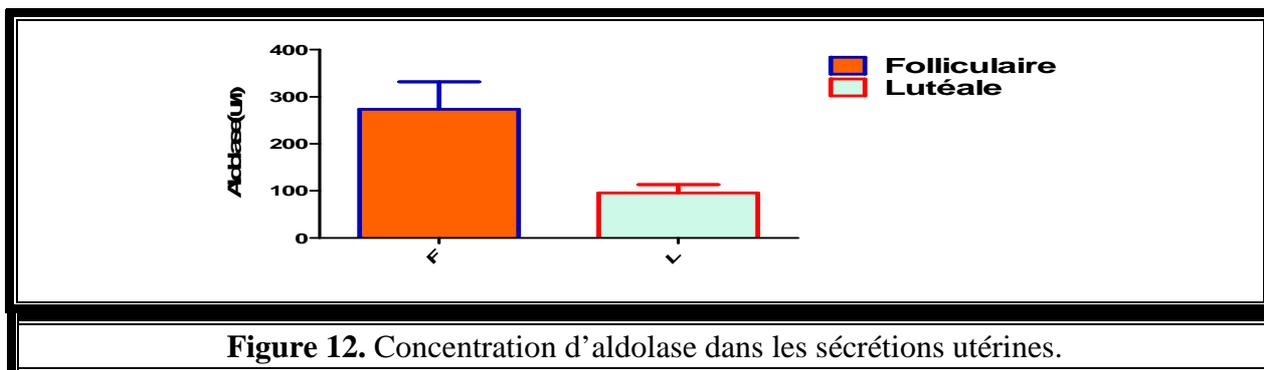


Figure 12. Concentration d'aldolase dans les sécrétions utérines.

II.1.3. Glucose-6-phosphate déshydrogénase des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral

L'analyse des sécrétions intra-utérines a permis de déceler une activité enzymatique de glucose-6-phosphate déshydrogénase telle que présentée dans le Tableau 5.

Tableau 5. Concentration de la glucose-6-phosphate déshydrogénase dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis.

Taux des enzymes	Phase folliculaire (N=10)	Phase lutéale (N=10)	P
G-6-PDH (UI/l)	69.71±9.41	134.1± 17.85	0.015

N: Nombre de brebis utilisées.

P: Différence statistique entre colonne ($P < 0.05$).

La glucose-6-phosphate déshydrogénase est le premier enzyme spécifique de la voie des pentoses phosphate. La voie des pentoses phosphate fournit deux précurseurs importants pour des voies anaboliques : le NADPH+ H^+ utilisé par exemple pour la biosynthèse des acides gras, et le ribose 5- phosphate, un précurseur de la biosynthèse des nucléotides [Voet et Voet., 2000].

La voie de pentose phosphate a été impliquée dans des événements de phosphorylation des protéines dans la tête de spermatozoïde aussi bien que de divers événements de la fécondation. Une fonction potentielle de la voie de pentose phosphate dans le spermatozoïde serait de protéger les membranes contre les dommages lipoperoxydatifs, et cette fonction spécifique a été démontrée dans la tête du spermatozoïde de bovin [Andrew *et al.*, 2001].

L'hyperactivation de la motilité et la fusion spermatozoïde-ovocyte, dépend également de la fourniture de NADPH par le métabolisme de glucose par l'intermédiaire de la voie de pentose phosphate [Andrew *et al.*, 2001 ; Alexander *et al.*, 2004]. En outre, le NADPH peut également être nécessaire pour protéger le spermatozoïde contre le stress oxydatif [Andrew *et al.*, 2001].

Le glucose est une molécule indispensable durant la maturation de l'ovocyte. Métabolisé par la voie des pentoses, le glucose sert de substrat à l'ovocyte pour la production d'ATP qui est indispensable à la croissance et à la capacitation de l'ovocyte [Cetica *et al.*, 2002; Sutton-McDowall *et al.*, 2003].

L'activité de la G-6-PDH nous indique que le milieu intra-utérin, en plus de métaboliser le glucose comme source directe d'énergie, peut le dégrader par la voie des pentoses et participer ainsi à la synthèse des acides gras et des nucléotides.

Les analyses statistiques de nos résultats ont démontré des variations cycliques significatives ($P < 0.05$) de l'activité de cette enzyme dans les sécrétions utérines; cette activité est plus grande à la phase progestéronique, ce qui concorde avec les travaux faits chez la lapine par Murdoch et White (1969), la vache par Bousquet *et al.* (1976) et par Thibault et Levasseur (2001).

La période dioestrale (progestéronique) du cycle correspond à celle où le blastocyste est descendu dans l'utérus, alors que les glandes sécrètent très activement. Le milieu intra-utérin exercerait donc, durant cette phase, une activité anabolique importante, la voie des pentoses participant à ces processus.

D'une part, on croit que les hormones ovariennes régularisent le métabolisme cellulaire au niveau de l'utérus et, d'autre part, on sait que le potentiel cellulaire est largement déterminé par le matériel génétique. La synthèse de l'ARN et de l'ADN dépend entre autres de la disponibilité d'énergie sous forme d'ATP supplée en partie par le cycle des pentoses phosphates dont le rôle devient alors très important.

D'après Gao *et al.* (2009), l'embryon utilise la voie des pentoses pour former les acides nucléiques, et les lipides. Le NADPH+ H⁺ utilisé pour la biosynthèse des acides gras, et le ribose 5- phosphate, un précurseur de la biosynthèse des nucléotides.

Donc durant la phase lutéale, l'activité de la voie des pentoses augmente pour assurer les besoins de l'embryon en lipides et en acides nucléiques, ce qui explique les concentrations élevées du glucose -6-phosphate déshydrogénase au cours de la phase lutéale.

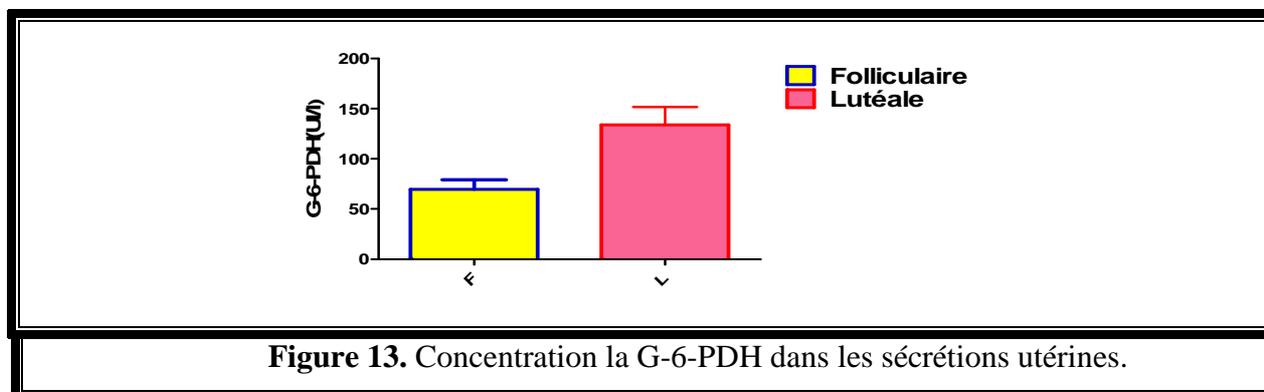


Figure 13. Concentration la G-6-PDH dans les sécrétions utérines.

II.1.4. Sorbitol déshydrogénase des sécrétions utérines de la brebis au cours d'un cycle œstral

Les résultats concernant les concentrations de la SDH au cours des deux phases de cycle œstral sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 6) :

Tableau 6. Concentrations de sorbitol déshydrogénase dans les sécrétions utérines durant le cycle œstral de la brebis

Taux des enzymes	Phase folliculaire (N=10)	Phase lutéale (N=10)	P
SDH (UI/l)	61.01±16.32	20.47± 5.38	0.11

N: Nombre de brebis utilisées.

P: Différence statistique entre colonne ($P < 0.05$).

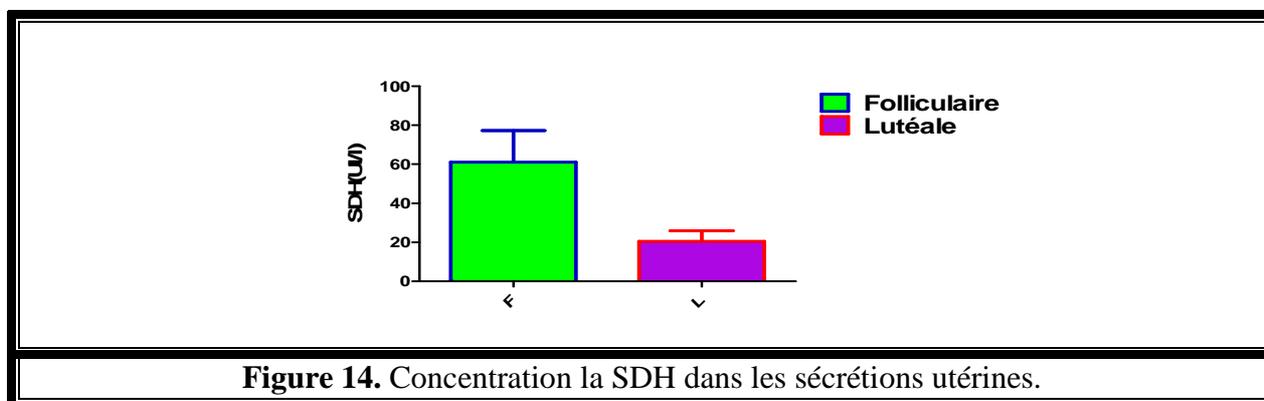
Le sorbitol a été longtemps connu pour être présent dans les fluides des tractus génitaux femelles et mâles. Les sources d'énergie qui peuvent être métabolisées pour donner l'ATP sont essentielles pour les fonctions normales de spermatozoïde telles que la motilité et la capacitation. Deux monosaccharides majeurs, sorbitol et fructose, sont présents dans le sperme [Wenlei *et al.*, 2009].

D'après les résultats de notre étude, nous avons constaté la présence de sorbitol déshydrogénase dans les sécrétions utérines avec des concentrations qui se varient d'une phase à une autre. Donc le milieu intra-utérin de la femelle ovine peut transformer le glucose en fructose par l'action de la SDH sur le sorbitol.

Cette activité fournirait le fructose nécessaire non seulement au métabolisme des spermatozoïdes, mais également à leur capacitation et à leur cheminement jusqu'à l'ovule [Harper., 1973]. Le sorbitol est l'hydrate de carbone principal dans les fluides utérins des bovins. Une fonction de SDH maintenue dans les spermatozoïdes semble convertir le sorbitol dans le plasma séminal et le fluide utérin en fructose, qui représente une source d'énergie [Wenlei *et al.*, 2009].

Le sorbitol déshydrogénase peut convertir le sorbitol en fructose, qui peut être converti en fructose 1-phosphate par hexokinase pour entrer dans la voie glycolytique. Par cette voie, la SDH favorise l'utilisation du sorbitol comme source énergétique alternative [Wenlei *et al.*, 2009 ; Suga., 1975].

Bien que la SDH n'a pas présentée de variations cycliques significatives ($P > 0.05$), elle a quand même une tendance à être plus élevée durant la phase oestrogénique; c'est à ce moment que le spermatozoïde pourrait utiliser la SDH des sécrétions utérines pour la transformation du glucose en fructose et son entrée dans la voie glycolytique; de là, une source possible d'énergie pour les cellules. Ces mêmes résultats ont été rapportés par Bousquet *et al.* (1976).



L'aldolase, la G-6-PDH et la TGP présentent des variations cycliques significatives ($P < 0.05$), l'activité de l'aldolase étant supérieure en phase ostrogénique, tandis que l'activité de la G-6-PDH et de la TGP est plus importante en phase progestéronique. La SDH et la TGO, ne présentent aucune variation cyclique significative.

Ces résultats indiquent une activité métabolique utérine significative lors des diverses étapes de la reproduction. Donc les hormones ovariennes ont un effet sur l'activité enzymatique de l'utérus.

II.1.5. Protéine totale des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral

Les résultats concernant les concentrations des protéines totales des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral, sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 7) :

Tableau 7. Taux des protéines totales des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.

Taux des protéines totales	Phase folliculaire N=10	Phase lutéale N=10	P
Sécrétions utérines (g/l)	25.16 ± 5.18	124.5 ± 43.04	0.03
Sérum (g/l)	64.82 ± 16.05	67.55 ± 2.795	0.87

N: Nombre de brebis utilisées. **P:** Différence statistique entre colonne ($P < 0.05$).

Les protéines dans le fluide de tractus génital des brebis à différentes phases du cycle œstral et de la gestation ont été étudiées par Roberts *et al.* (1976). Selon ce dernier, la plupart des protéines des sécrétions tubaires et utérines étaient des protéines sériques.

Un peu de protéines utérines-spécifiques ont été détectés dans les sécrétions utérines par l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Les concentrations de ces derniers montrent des variations en fonction de la phase de cycle œstral et selon le stade de la gestation [Aguilar et Reyley., 2005 ; Killian., 2004 ; Slavik., 2000 ; Roberts *et al.*, 1976].

Les protéines trouvées dans les sécrétions utérines des brebis ont montré des différences dans la mobilité électrophorétique et se différencient également quantitativement et qualitativement des protéines sériques. En utilisant de diverses méthodes d'électrophorèse, on note la présence des éléments protéiques dans le fluide utérin des diverses espèces qui ne sont pas présentes dans le sérum [Wales., 1973 ; Thibault et Levasseur., 2001].

Ces résultats, plus le fait que la concentration des autres constituants tels que les acides aminés, le glucose, et plusieurs ions inorganiques diffèrent entre le sang et la sécrétion utérine, appuient la suggestion plus tôt que le fluide utérin est, au moins en partie, une sécrétion active des glandes utérines et pas simplement un transsudat de sang [Wales., 1973].

Lamothe *et al.* (1972b) ont étudié, chez l'espèce bovine, les protéines et les composés aminés, à partir d'un seul échantillon constitué des sécrétions utérines obtenues de 8 à 15 vaches.

A partir des sécrétions obtenues, à différentes périodes du cycle, chez 8 à 15 femelles bovines, ils ont pu mesurer 4.7 micromoles par millilitre ($\mu\text{M}/\text{ml}$) d'acides aminés totaux durant l'œstrus, cette concentration augmentant graduellement jusqu'au 10 jours du cycle, alors que plus de 13.8 $\mu\text{M}/\text{ml}$ d'acides aminés furent isolées. Cette augmentation des acides aminés concorde avec une élévation du taux des protéines au dioestrus.

D'après les mêmes auteures, les protéines totales des sécrétions endométriales chez les sujets normaux ($P < 0.01$) varient de façon cyclique, la courbe cyclique des protéines totales des sécrétions endométriales ressemble à celle obtenue pour les acides aminés chez la vache où les taux les plus élevés ont été observés entre le cinquième et dixième jour du cycle œstral, avec une baisse autour de la période œstrale. Une courbe semblable a été obtenue à l'analyse des protéines dans les sécrétions utérines de la lapine.

Dans la présente étude, les concentrations des protéines totales dans les sécrétions utérines de la brebis sont significativement ($P < 0.05$) élevées pendant la phase lutéale que la phase folliculaire. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés dans les études de Lamothe *et al.* (1972b) chez la vache et chez la lapine et par Thibault et Levasseur (2001) chez la femme et la brebis.

D'après Lamothe *et al.* (1972b), l'interprétation exacte de ces variations est problématique, mais on pense qu'il s'agit là d'un facteur nutritionnel important dans la composition du lait utérin : l'apport et le catabolisme protéique étant plus grands à cette période. Selon Thibault et Levasseur (2001) avec la formation du blastocyste (la phase lutéale), la synthèse protéique prend une allure exponentielle : des glycoprotéines, des histones, de nouveaux antigènes de surface sont néosynthétisés.

D'après nos résultats, les protéines totales au niveau de sérum ne présentent aucune variation significative ($P > 0.05$). Selon Lamothe *et al.* (1972b), les concentrations sériques des protéines totales, de l'albumine et des globulines ne présentent aucune variation cyclique significative et aucune différence entre les vaches normales et anormales.

L'absence de l'effet de stade de cycle œstral sur les protéines totales sérique nous indique que les hormones ovariennes n'influencent pas les protéines sériques.

Dans la présente étude, nous avons recherché la relation entre les protéines totales sériques et utérines pendant les deux phases de cycle à l'aide d'un test de corrélation. D'après

nos résultats, aucune corrélation significative ($R=0.86$ et $P=0.33$ phase folliculaire, $R=0.94$ et $P=0.21$ phase lutéale) ($P > 0.05$) n'a été constatée entre les concentrations sériques et utérines des protéines totales au cours des deux phases de cycle œstral (folliculaire, lutéale).

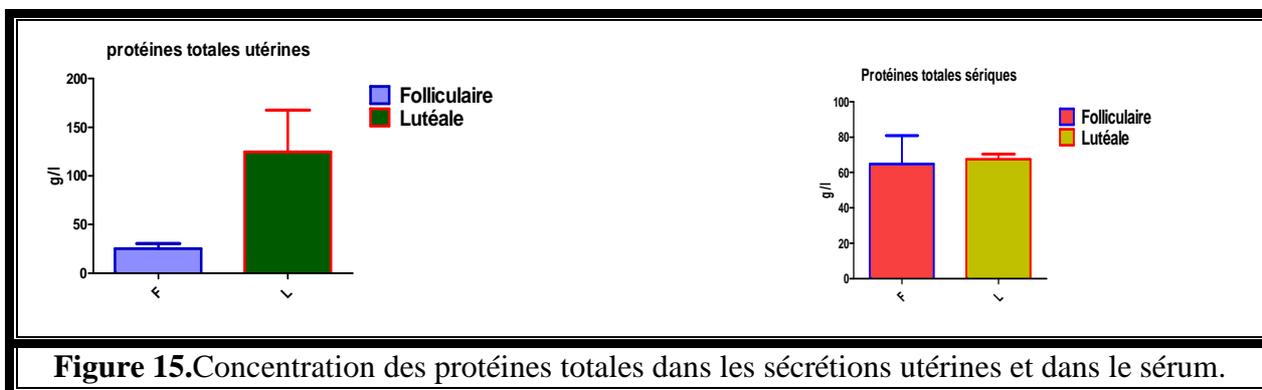


Figure 15. Concentration des protéines totales dans les sécrétions utérines et dans le sérum.

II.1.6. Protéines totales des sécrétions oviductaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral

Les résultats concernant les concentrations des protéines totales des sécrétions oviductaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral, sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8. Taux des protéines totales des sécrétions tubaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.

Taux des protéines totales	Phase folliculaire (N=10)	Phase lutéale (N=10)	P
Sécrétions oviductaires (g/l)	37.88 ± 17.08	16.44 ± 7.86	0.31
Sérum (g/l)	64.82 ± 16.05	67.55 ± 2.79	0.87

N: Nombre de brebis utilisées.

P: Différence statistique entre colonne ($P < 0.05$).

Les analyses compositionnelles des sécrétions de l'oviducte chez certaines espèces (ovins, lapins, singes et porcs) indiquent que le fluide tubaire est biochimiquement complexe et que les protéines constituent un composant majeur des sécrétions tubaires [Killian., 2004]. Ces protéines dérivent de deux sources principales : le sérum et les cellules sécréteuses de l'oviducte, leur teneur est faible : 10-15% de celle du sérum [Thibault et Levasseur., 2001 ; Aguilar et Reyley., 2005].

Des glycoprotéines spécifiques d'oviducte (OGP) ont été identifiées et caractérisées chez plusieurs animaux tels que la souris, la brebis, la truie, la vache, la chèvre et la femme. La quantité des glycoprotéines tubaires change avec le stade du cycle œstral dont les concentrations les plus élevées se trouvent pendant la période périovulatoire. L'œstrogène stimule la synthèse et la sécrétion de ces glycoprotéines, tandis que la progestérone semble avoir peu d'effet [Aguilar et Reyley., 2005 ; Killian., 2004 ; Slavik., 2000].

Ces protéines spécifiques participent à l'adhésion des spermatozoïdes dans le réservoir spermatique de l'isthme, favorisent la capacitation et facilitent la pénétration spermatique lors de la fécondation. En se liant à la zone pellucide des embryons, elles participeraient à la protection immunologique de l'embryon *in vivo*, en constituant un inhibiteur de l'activité du complément [Martus *et al.*, 1998].

D'après Perkins et Goode (1965), la concentration moyenne des protéines dans les sécrétions de l'oviducte de la brebis était de 30.02 g/l. Rowan (1965) a déterminé l'azote total dans les sécrétions de l'oviducte de la brebis et a estimé la protéine pour être 30.82 g/l., ce qui est en accord étroit avec la valeur moyenne obtenue dans la présente étude.

D'après Perkins et Goode (1965), les différences de concentration des protéines en fonction des périodes de cycle œstral n'étaient pas significatives. L'analyse statistique de nos résultats indique que la concentration des protéines totales des sécrétions oviductaires n'est pas significativement différente entre les deux phases de cycle œstral ($P > 0.05$).

Bien que les protéines totales ne présentent pas de variations cycliques significatives, elle a quand même une tendance à être plus élevées durant la phase oestrogénique; c'est à ce moment que les glycoprotéines interviennent dans le phénomène de la capacitation.

Au niveau de sérum, la concentration des protéines totales pendant la phase folliculaire (64.82 ± 16.05 g/l) est voisine de celle de phase lutéale (67.55 ± 2.79 g/l). Au niveau de sérum aucune variation cyclique n'a été constatée ($P > 0.05$).

D'après nos résultats, aucune corrélation significative ($R=-0.83$ et $P=0.36$ phase folliculaire, $R= 0.87$ et $P= 0.35$ phase lutéale) ($P > 0.05$) n'a été constatée entre les concentrations sériques et tubaires des protéines totales au cours de la phase folliculaire et même au cours de la phase lutéale.

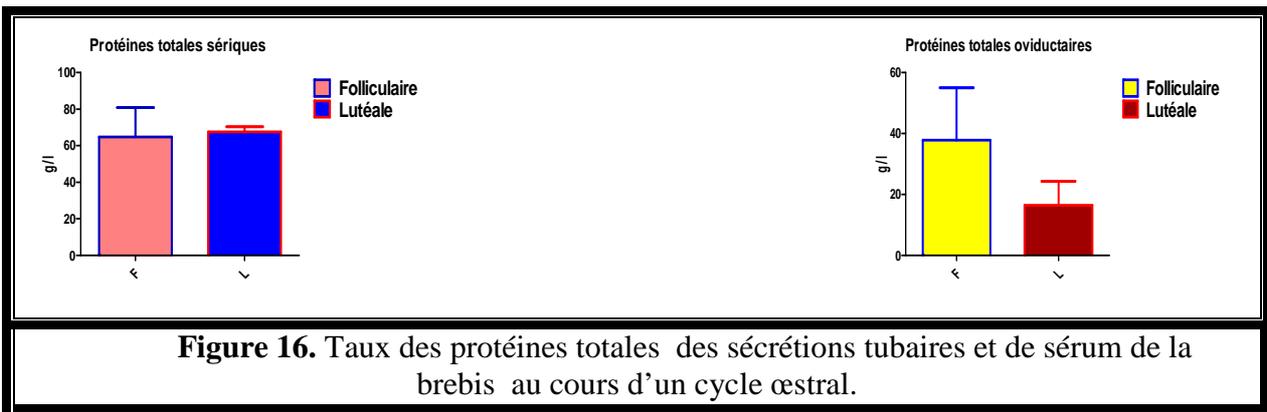


Figure 16. Taux des protéines totales des sécrétions tubaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.

II.2.Profils électrolytiques des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral

Les résultats concernant les profils électrolytiques des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral sont représentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 09).

Tableau 9 .Profils électrolytiques des sécrétions utérines et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.

	Taux des électrolytes	Phase folliculaire (N=10)	Phase lutéale (N=10)	P
Calcium (mg/l)	Sécrétions utérines	59.57 ± 17.57	4.13 ± 1.18	0.0009
	Sérum	81.24 ± 5.73	56.9 ± 8.30	0.02
Potassium (mmol/l)	Sécrétions utérines	25.80 ± 2.61	44.60 ± 6.25	0.02
	Sérum	3.62 ± 0.33	4.66 ± 0.40	0.14
Sodium (mmol/l)	Sécrétions utérines	115.2 ± 7.88	159.8 ± 7.96	0.003
	Sérum	142.6 ± 1.25	143.0 ± 1.04	0.83
Chlore (mmol/l)	Sécrétions utérines	198.9 ± 5.70	273.1 ± 45.98	0.13
	Sérum	111.3 ± 2.29	109.2 ± 0.66	0.50
Magnesium (mg/l)	Sécrétions utérines	9.05 ± 2.54	2.04 ± 0.38	0.01
	Sérum	1.54 ± 0.59	1.28 ± 0.59	0.77
Phosphore (mg/l)	Sécrétions utérines	90.38 ± 1.72	84.17 ± 2.05	0.03
	Sérum	76.49 ± 10.59	66.68 ± 5.76	0.50

N: Nombre de brebis utilisées.

P:Difference statistique entre colonne (P < 0.05).

Les ions jouent un rôle essentiel dans la formation du liquide provenant de l'oviducte et de l'utérus. Les activités enzymatiques de même que le pH de fluide de l'oviducte et du fluide utérin seraient en partie régulés par la concentration et le mouvement des ions [Guay et Lamothe., 1970 ; Leese, 1995 ; Hugentobler., 2007].

De plus, ils jouent un rôle dans le processus de maturation de l'ovocyte et des spermatozoïdes, de fécondation ainsi que le maintien de l'homéostasie et la régulation du métabolisme durant le développement de l'embryon [Leese, 1988 ; Bavister, 2000].

D'après des études biochimiques sur les sécrétions génitales des ruminants, le magnésium, le chlore, le sodium, le sulfate, le calcium, le potassium, le phosphore et le zinc seraient présents et mesurables [Guay et Lamothe., 1969 ; Hugentobler *et al.*, 2007]. Il est établi que l'âge et l'état des ovaires influencent le taux des électrolytes au niveau utérin chez la brebis [Guay et Lamothe., 1970].

Des taux de Ca, de Na, et de K des sécrétions utérines ovines ont été mesurés en raison de leur importance pour le développement normal de l'embryon. Ces minéraux servent d'osmolytes, mais ils participent également au transport des acides aminés et de glucose par les cellules et dans les voies métaboliques pendant la gestation. Par conséquent, ils sont cruciaux à l'expansion de blastocyst et à l'implantation [Gao *et al.*, 2009].

La composition chimique du fluide utérin collecté des brebis a été étudiée par [Wales., 1973]. Selon ce dernier, le sodium et le chlore étaient les ions principaux trouvés. Un peu de potassium, de magnésium, de calcium, et de phosphore étaient également présent. Le sodium était le cation principal et le chlore était l'anion principal. Ensemble de ces ions forment 80-90 % des électrolytes présentent dans les fluides utérins.

Nous constatons d'après nos résultats la présence des concentrations élevées de sodium et de chlore alors que le calcium, le potassium, le phosphore et le magnésium se trouvent en concentrations faibles. Cette même constatation a été rapportée par de nombreuses études [Guy et Lamothe., 1970 ; Gao *et al.*, 2009 ; Wales., 1973].

Selon Guy et Lamothe (1970), le K, le Mg et le P varient de façon cyclique et significative ($P < 0.05$) dans les sécrétions utérines des vaches normales.

Howard et DeFeo (1959), ont enregistré chez la rate des concentrations plus élevées du potassium dans les sécrétions utérines qu'au niveau de sérum.

Dans les sécrétions utérines de la vache au cours d'un cycle œstral, N^+ et K^+ sont présents aux concentrations élevées, tandis que les concentrations de Ca^{++} sont inférieures [Gao *et al.*; 2009].

D'après nos résultats, à l'exception du calcium, tous les autres minéraux étudiés (Na, K, P, Mg et Cl) sont en concentration plus élevée dans les sécrétions utérines que dans le sérum. Il semble donc logique de croire que le liquide récolté dans l'utérus ne constitue par un transsudat, mais qu'il est bien le produit d'une sécrétion active des cellules utérines. Cette même constatation a été rapportée par [Lamothe et Guy., 1970].

D'après Heap (1962), Il y avait une différence significative dans la quantité de plusieurs constituants dans des lavages utérins récupérés à deux étapes du cycle œstral. Les valeurs étaient plus grandes à l'œstrus qu'au dioestrus chez la rate (Na, K, Cl, N), mais à plus

grand dans la phase lutéale qu'à la phase folliculaire chez la lapine, la brebis et, dans une certaine mesure, chez la vache (K, P, N).

Dans la présente étude, les concentrations de Na, K, Cl sont plus élevées pendant la phase lutéale comme à été constaté par Heap (1962), alors que les concentrations de Ca, P, Mg sont plus élevées pendant la phase folliculaire.

II.2.1.Potassium

Le potassium est le cation qui existe en plus grande concentration dans le secteur intracellulaire, principalement au niveau de la mitochondrie, où il participe à la formation de l'ATP, en plus, il maintient l'équilibre acido-basique des liquides physiologiques [Guay., 1966b ; Jean-Blain., 2002], responsable de l'hyperpolarisation membranaire, qui participe dans le déroulement de la capacitation et hyperactivation des spermatozoïdes [Fraser *et al.*, 1993]. Cet électrolyte participe activement à l'utilisation de l'oxygène et du glucose par la cellule [Guay., 1966b ; Jean-Blain., 2002].

La concentration du potassium contenu dans le mucus cervical accuse une baisse constante au moment de l'œstrus, et atteint son minimum vers la période de l'ovulation [Guay., 1966b].

D'après une étude d'Olds et VanDemark (1957), le potassium atteint son maximum autour de l'œstrus et diminue au cours du dioestrus.

Heap rapporte, en 1962, les résultats d'une étude portant sur l'analyse de lavages utérins durant l'œstrus et le dioestrus chez la rate, la lapine, la brebis et la vache. A l'inverse de l'étude de [Olds et VanDemark., 1957], dont les résultats en ce qui concerne le potassium sont différents avec une hausse au cours du dioestrus.

Dans la présente étude, nous constatons que le potassium présente des variations cycliques significatives ($P < 0.05$), avec des concentrations élevées au cours de la phase lutéale ce qui concorde bien avec les résultats de Heap (1962) qui a observé les plus hauts taux de potassium en dioestrus chez la vache, la brebis et la lapine.

Une étude par Guy et Lamothe (1970) des variations du potassium dans les sécrétions utérines chez des vaches normaux, rapporte que c'est au pro-œstrus que la concentration du

potassium est la plus faible et c'est au postœstrus qu'elle atteint son maximum pour commencer à décliner en dioestrus.

Il faut se garder de porter un jugement définitif à partir des conclusions d'un seul auteur; la bibliographie fournit des données qui semblent souvent contradictoires. De plus les variations entre les espèces, entre les individus d'une même espèce et même chez le même individu au cours du cycle œstral sont des facteurs qui en compliquent l'étude.

D'après Guy et Lamothe (1970), l'explication la plus plausible des augmentations dioestrales du potassium serait la présence en grand nombre de cellules et de débris cellulaires qui concourent à former le milieu utérin. Connaissant la haute teneur intracellulaire en potassium, il est logique de penser que ces cellules jouent un rôle important dans l'augmentation du potassium en postœstrus et en dioestrus.

Il a été rapporté par Thibault et Levasseur (2001) qu'au moment de l'entrée de l'embryon dans l'utérus (phase lutéale); le volume de la sécrétion utérine est très faible. L'environnement biochimique est bouleversé pour la morula. La morula rencontre un taux de potassium plutôt plus élevé que dans la trompe. A la transition morula / blastocyste, la pompe à sodium (ATPase Na^+/K^+) et l'antiport Na^+/H^+ vont fonctionner simultanément afin de maintenir le rapport interne, tout en augmentant la masse aqueuse, pour former le blastocoele. Cette constatation explique la concentration supérieure de cet ion dans l'utérus au cours de la phase lutéale.

Donc on peut expliquer les concentrations élevées de cet ion au cours de la phase lutéale par le rôle que joue ce dernier dans la formation de blastocèle qui se déroule pendant la phase lutéale.

Des chercheurs [Guy et Lamothe., 1970 ; Eveleth *et al.*, 1941 ; Mylrea et Bayfield.,1968] ont comparé la concentration de divers éléments dans le plasma et dans les sécrétions du même animal: ils ont noté que le potassium est d'environ dix fois plus élevé dans l'utérus, ce qui leur fait conclure à une sécrétion active à ce niveau.

On peut constater dans la présente étude que les concentrations de potassium (phase folliculaire $25,80 \pm 2,61$ mmol/l, phase lutéal $44,60 \pm 6,25$ mmol/l) sont presque d'environ dix fois plus élevées dans l'utérus que dans le sérum (phase folliculaire $3,62 \pm 0,33$ mmol/l, phase lutéal $4,66 \pm 0,40$ mmol/l).

D'après Guy et Lamothe (1970), le potassium sérique ne varie pas significativement au cours du cycle œstral chez la vache.

Chez les humains, certains chercheurs [Phillips *et al.*, 1952] ont rapporté que le potassium sanguin atteint son taux maximum au moment de l'ovulation. Cependant, il s'en trouve aussi qui ne reconnaissent qu'une corrélation minime entre les hormones ovariennes et la concentration de cet élément dans le sérum sanguin. Les auteurs [Nocenti et Cizek., 1964] étudièrent l'influence des œstrogènes sur les électrolytes et ils découvrirent que les premiers ne modifient pas le taux de la filtration glomérulaire ou la concentration électrolytique du sérum.

D'après nos résultats, le potassium sérique ne présente pas de variations cycliques significatives ($p > 0.05$) ce qui concorde bien avec les résultats de Guy et Lamothe (1970) qui ont rapporté que le potassium sérique ne varie pas significativement chez la vache au cours du cycle œstral.

Selon ces mêmes auteurs, le potassium est sans doute l'élément dont les interdépendances sérum et sécrétions sont les plus étroites chez le groupe de sujets se reproduisant normalement. Il a été établi qu'un rapport positif hautement significatif existe entre les concentrations sériques et utérines du potassium en œstrus et en dioestrus ($r = 0.7929$ et 0.7642).

Selon Guay (1966b), le potassium sanguin ne subit pas de variations constantes au cours du cycle œstral et il semble que, dans les limites observées, le potassium sanguin n'est pas un élément déterminant pour l'apparition de l'œstrus ou de l'ovulation. La découverte d'une corrélation entre le potassium sanguin et le potassium contenu dans les sécrétions génitales nous incite à conclure que les concentrations du potassium dans le sang influencent directement le taux de cet élément dans les sécrétions génitales.

Guy et Lamothe (1970) et Guay (1966b) ont rapporté l'existence d'une corrélation significative entre le potassium sanguin et utérin, cependant selon Hugentobler *et al.*(2007), il n'y a aucune association dans le taux des ions de potassium entre les sécrétions utérines et le sérum .

Dans la présente étude, on ne constate pas de corrélations significatives ($R = -0.22$ et $P = 0.85$ phase folliculaire, $R = 0.64$ et $P = 0.23$ phase lutéale) ($p > 0.05$) entre le potassium sérique et utérines. Ces résultats sont similaires à ceux observés par Hugentobler *et al.* (2007).

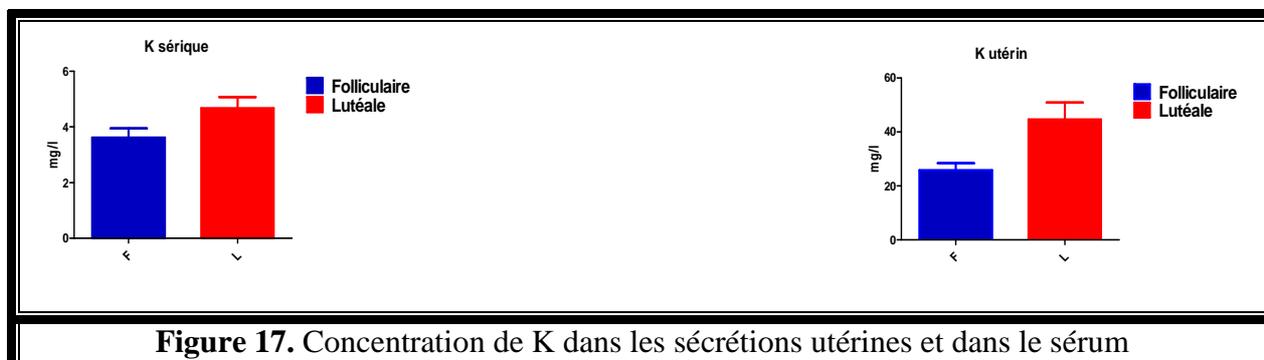


Figure 17. Concentration de K dans les sécrétions utérines et dans le sérum

II.2.2.Sodium

Le sodium a un rôle vital dans le maintien de la pression osmotique des liquides physiologiques. Ces ions sont localisés en grande partie en milieu extracellulaire

[Jean-Blain., 2002].

Les auteurs [Olds et VanDemark., 1957] font part de résultats intéressants obtenus à partir d'un échantillon provenant des sécrétions de plusieurs vaches à deux périodes du cycle, soit de la fin du dioestrus (18^e jour) au postœstrus (3^e jour après l'œstrus), et durant la dernière moitié du dioestrus. Ils retrouvent en moyenne 192.0 mg, de sodium à la première phase, mais cet élément augmente sensiblement au cours du dioestrus pour atteindre alors 277.0 mg.

Heap (1962), rapporte les résultats d'une étude portant sur l'analyse de lavages utérins durant l'œstrus et le dioestrus chez la rate, la lapine, la brebis et la vache. Comme Olds et VanDemark, il note une augmentation très marquée du sodium au cours du dioestrus.

D'après nos résultats, le sodium présente des variations cycliques très significatives ($P < 0.005$) avec une augmentation marquée du sodium au cours de la phase lutéale. La même constatation a été prouvée par [Heap., 1962, Olds et VanDemark., 1957].

Selon Hugentobler *et al.* (2007), le sodium est la substance fondamentale pour l'expansion du blastocyte, ce qui explique sa concentration supérieure dans l'utérus entre les jours 6 et 8 du cycle œstral (phase lutéale) chez la vache.

Il a été rapporté par Thibault et Levasseur (2001) qu'à la transition morula/blastocyste, la pompe à sodium (ATPase Na^+/K^+) et l'antiport Na^+/H^+ , fonctionnent conjointement de manière à garder le rapport interne K^+/Na^+ stable tout en augmentant la masse aqueuse pour établir la formation du blastocœle. Le Na/K contrôle l'accumulation du liquide dans le blastocyste, ce qui explique les concentrations élevées de cet ion pendant la phase lutéale.

Chez les humains, le sodium sanguin atteint son taux maximum au moment de l'ovulation. Cependant, il s'en trouve aussi qui ne reconnaissent qu'une corrélation minime entre les hormones ovariennes et la concentration du sodium contenu dans le sérum sanguin [Phillips *et al.*, 1952]. Les travaux de deux chercheurs Nocenti et Gizek (1964) prouvent que les œstrogènes ne modifient pas le taux de la filtration glomérulaire ou la concentration électrolytique du sérum.

Selon Schultz *et al.* (1971) le sodium sérique ne se change pas de manière significative avec les phases du cycle œstral.

Egalement on peut constater dans notre étude, comme l'étude précédente de Nocenti et Gizek (1964) et de Schultz *et al.* (1971), que la différence de concentration de sodium sérique entre les deux phases est presque nulle ($p > 0,05$).

Dans une autre étude, Guay (1966a), a analysé les variations du sodium sanguin ainsi que des sécrétions génitales au cours des diverses phases du cycle œstral chez quatre vaches fertiles. Il a constaté que le sodium sanguin subit d'importantes fluctuations au cours du cycle œstral; ces variations ne semblent pas en rapport avec les périodes du cycle. Il ne paraît pas y avoir de relation entre les changements qui se produisent dans le sérum et ceux qui se rencontrent dans les sécrétions génitales au cours du cycle œstral.

Donc selon Guay (1966a), il n'y a aucune relation entre le sodium sanguin et utérin. D'après nos résultats, aucune corrélation significative ($P > 0.05$) n'a été trouvée entre les niveaux de sodium sérique et des sécrétions utérines, ce qui concorde avec les résultats de Hugentobler *et al.*(2007) et de Guay (1966a) .

D'après nos résultats, les concentrations sériques et utérines de sodium ne présentent aucune corrélation significative ($R=-0.69$ et $P= 0.19$ phase folliculaire, $R=-0.97$ et $P= 0.84$ phase lutéale) ($p > 0.05$). Donc on peut dire que le métabolisme cellulaire utérin semble en

être le seul régulateur local; aucune concentration sérique n'affecte le taux de sodium retrouvé dans les sécrétions endométriales.

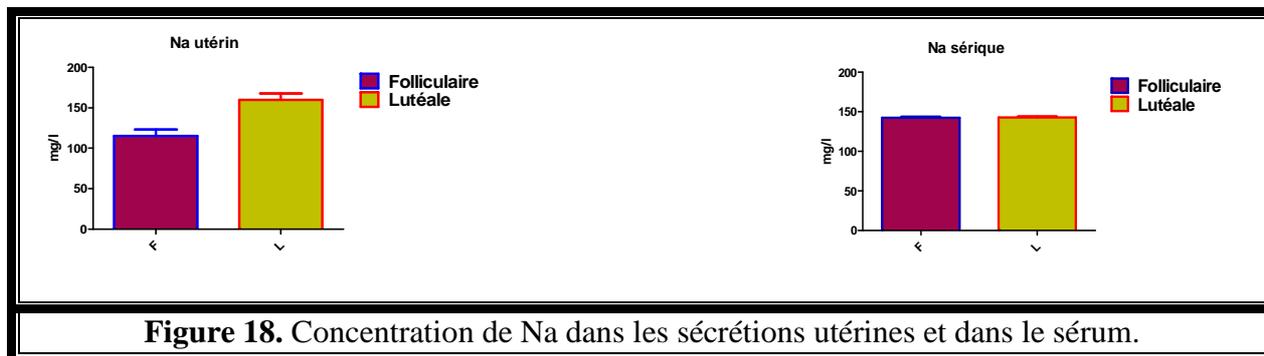


Figure 18. Concentration de Na dans les sécrétions utérines et dans le sérum.

II.2.3. Phosphore

Il est admis que le phosphore contenu dans les sécrétions utérines joue un rôle dans le métabolisme du spermatozoïde; en effet ce dernier puise son énergie dans le milieu utérin même avant d'atteindre l'oviducte. Le phosphore semble l'élément vital de la gamète male, et c'est certainement la raison pour laquelle les sécrétions utérines présentent des taux très élevés de cet élément en œstrus et en postœstrus [Guy et Lamothe., 1970].

Selon Guy et Lamothe (1970), le phosphore varie de façon cyclique et significative ($P < 0.05$) dans les sécrétions utérines des vaches normales.

Dans la présente étude le phosphore présente des variations cycliques significatives ($P < 0.05$) avec des concentrations élevées pendant la phase folliculaire. Ces variations cycliques seraient alors nécessaires à la "capacitation" du spermatozoïde.

Donc le spermatozoïde au cours de leur présence dans le tractus génital femelle utilise le phosphore des sécrétions utérines comme source d'énergie pour assurer les différentes fonctions surtout pour la capacitation.

D'après Guy et Lamothe (1970), le phosphore sérique ne varie pas significativement ($p > 0.05$) au cours du cycle œstral chez la vache. Cette même constatation a été rapportée dans la présente étude.

Les mêmes auteurs constatent que le métabolisme cellulaire utérin semble en être le seul régulateur local; aucune concentration sérique n'affecte le taux de phosphore retrouvé dans les sécrétions endométriales.

Dans la présente étude, les concentrations sériques et utérines ne présentent aucune corrélation significative ($R = -0.76$ et $P = 0.82$ phase folliculaire, $R = -0.42$ et $P = 0.57$ phase lutéale) ($p > 0.05$). Donc on peut dire qu'il n'y a aucune relation entre le phosphore sérique et utérin, ce qui concorde avec les résultats de Hugentobler *et al.* (2007) et de Guy et Lamothe (1970).

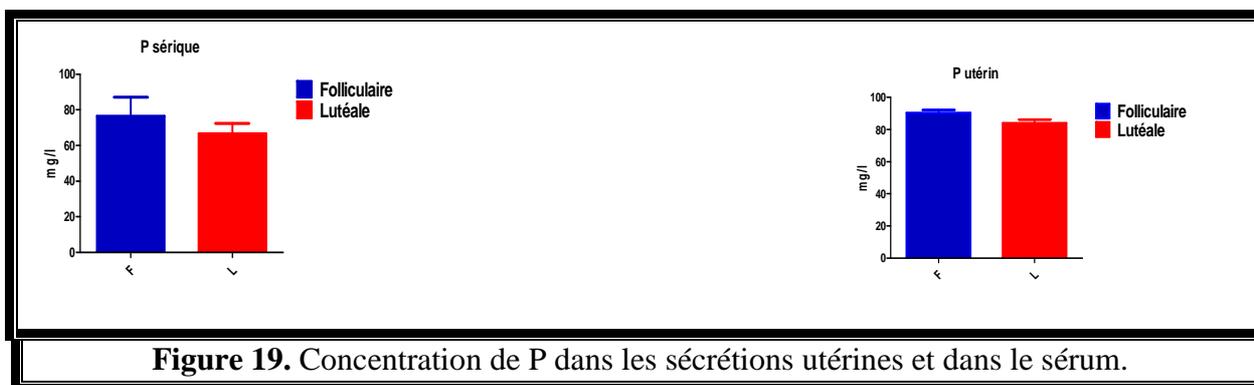


Figure 19. Concentration de P dans les sécrétions utérines et dans le sérum.

II.2.4. Chlore

Selon Schultz *et al.* (1971), les moyennes globales pour le chlore des sécrétions utérines et de sérum de la vache étaient 97 mequiv. /l, seulement les concentrations au niveau des sécrétions utérines se sont avérées pour changer de manière significative avec les phases du cycle œstral, les niveaux les plus bas étant trouvés pendant la phase lutéale du cycle.

Selon Heap (1962), Il y avait une différence significative dans la quantité de plusieurs constituants dans des lavages utérins récupérés à deux étapes du cycle œstral. Les valeurs de Cl étaient plus grandes à l'œstrus qu'au dioestrus chez la vache et le rat, mais à plus grand dans la phase lutéale qu'à la phase folliculaire chez la lapine, la brebis.

Selon l'étude de Schultz *et al.* (1971) et Heap (1962), chez la vache la concentration de chlore est faible pendant le dioestrus alors que selon l'étude de Heap (1962), chez la lapine et la brebis, la concentration de chlore est élevée pendant le dioestrus.

Dans notre étude, le chlore présente des variations cycliques mais non significatives ($p > 0.05$) avec des concentrations élevées pendant la phase lutéale, ce qui concorde bien avec les résultats de Heape (1962) chez la brebis et la lapine et diffère des résultats de Schultz *et al.* (1971) chez la vache. On peut expliquer cette différence par l'effet de l'espèce.

Donc les concentrations élevées de chlore au cours de la phase lutéale est un élément caractéristique des sécrétions utérines de la brebis et de la lapine.

Le sodium et le chlore jouent un rôle important dans le processus de développement de l'embryon [Hugentobler *et al.*, 2007b]. Il paraît que le Cl joue un rôle important dans l'accumulation de liquide et à la formation du blastocèle, ce qui explique les concentrations élevées de cet ion au cours de la phase lutéale [Watson et Barcroft., 2001].

Selon nos résultats, le chlore sérique ne présente aucune variation cyclique significative ($P > 0.05$) entre les deux phases donc il n'y a aucun effet des hormones ovariennes sur le chlore sérique ce qui concorde bien avec les résultats de Schultz *et al.* (1971).

D'après nos résultats, il y'a une corrélation positive ($r=0.52$) mais non significative ($P > 0.05$) entre le chlore sérique et utérin au cours de la phase folliculaire et une corrélation négative ($r = -0.73$) mais non significative ($P > 0.05$) au cours de la phase lutéale, ce qui concorde bien les résultats de Hugentobler *et al.* (2007). Donc comme les autres éléments, il n'y a aucune relation entre le chlore sanguin et utérin.

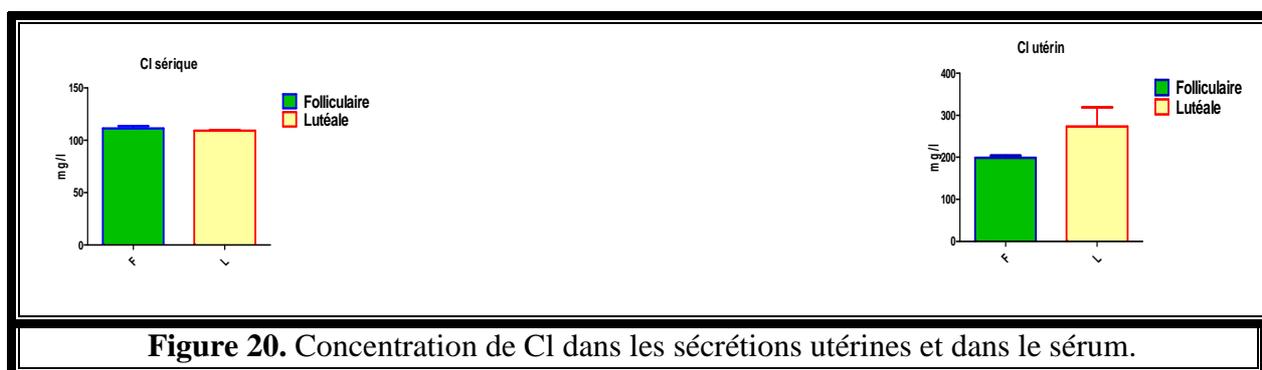


Figure 20. Concentration de Cl dans les sécrétions utérines et dans le sérum.

II.2.5. Calcium

Le calcium est un constituant important dans le milieu des spermatozoïdes afin de permettre un bon déroulement de la capacitation et prévient sa motilité [Baldi *et al.*, 1991, De Lamirande et Gagnon., 1995] . Par conséquent, les concentrations de cet ion sont plus élevées dans le plasma séminal et dans les sécrétions génitales femelles [Olds et Vandemark., 1957 ; Gould et Ansari., 1981 ; Handrow *et al.*, 1989 ; Mende *et al.*, 1990 ; Tsiligianni *et al.*, 2002].

L'observation que les concentrations en calcium des sécrétions utérines étaient inférieures que des niveaux de calcium sérique est confirmée aux résultats rapportés par [Olds et Vandemark., 1957 ; Gupta., 1962 ; Heap., 1962 ; Guay et Lamothe., 1970]. Seulement des

traces de calcium trouvées dans les sécrétions utérines collectées de la vache pendant la phase lutéale ou la phase folliculaire du cycle œstral [Guay et Lamothe., 1970]. Selon Schultz *et al.* (1971), le calcium est avéré présent à des concentrations sensiblement inférieures dans les sécrétions utérines de la brebis, que dans le sérum.

D'après nos résultats, les concentrations de calcium des sécrétions utérines sont très faibles (phase folliculaire $59,57 \pm 17.57$ mg/l, phase lutéal $4,13 \pm 1.18$ mg/l) surtout pendant la phase lutéale, alors que au niveau sérique les concentrations sont élevées (phase folliculaire 81.24 ± 5.73 mg/l, phase lutéal 56.9 ± 8.30 mg/l).

La constatation que le calcium dans le fluide utérin était plus haut près et pendant l'œstrus que pendant la phase lutéale du cycle est conforme au rapport d'Olds et de VanDemark (1957). D'après Schultz *et al.* (1971), les concentrations de calcium dans les sécrétions utérines, mais pas dans le sérum, ont été sensiblement associés à la phase du cycle œstral.

D'après nos résultats, le calcium présente des variations cycliques hautement significatives ($P < 0.0005$). Lorsque le calcium joue un rôle important dans la capacitation on le trouve avec des concentrations élevées pendant la phase folliculaire. Le spermatozoïde au cours de sa présence dans le tractus génitale femelle utilise le calcium des sécrétions génitales pour des variétés de fonctions surtout pour la capacitation.

Guay (1966c), a constaté que le calcium du sérum sanguin augmente immédiatement avant l'ovulation. Le taux du calcium sanguin diminue au cours du dioestrus et augmente à son maximum avant l'ovulation, et s'abaisse après cette période.

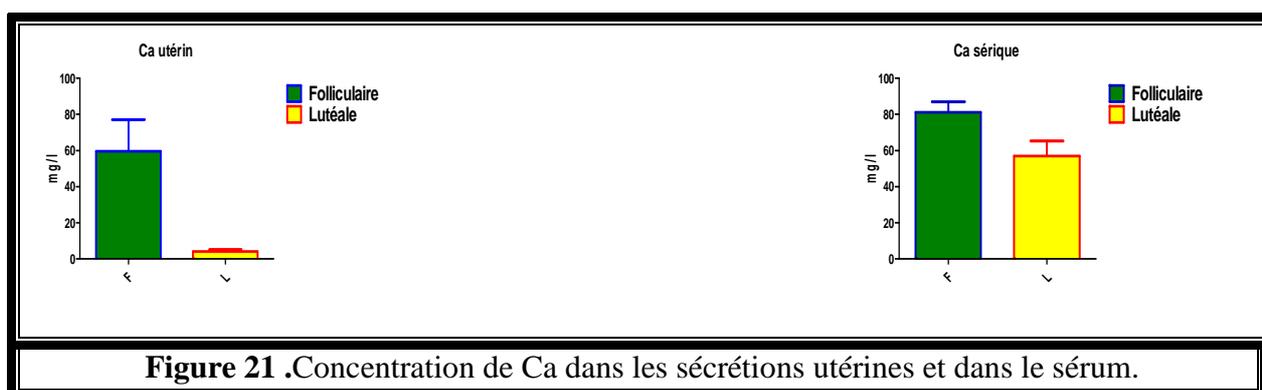
Chez les humains, Phillips *et al.* (1952) sont d'avis que le calcium sanguins atteigne leur taux maximum au moment de l'ovulation.

Les auteurs Nocenti et Cizek (1964) et Iritani *et al.*, (1969) étudièrent l'influence des œstrogènes sur les électrolytes et ils découvrirent que les premiers ne modifient pas le taux de la filtration glomérulaire ou la concentration électrolytique du sérum.

Dans la présente étude, le calcium sérique présente des variations cycliques significatives ($P < 0.05$) dont les concentrations les plus élevées se trouvent au cours de la phase folliculaire.

Selon Guay et Lamothe (1970), le calcium contenu dans les sécrétions endométriales subit une chute en dioestrus. La baisse dans le taux du calcium contenu dans les sécrétions endométriales au cours du dioestrus serait en corrélation avec une diminution du calcium sérique, même si les variations de la calcémie ne sont pas importantes. Il faut donc conclure à la possibilité d'un lien entre le taux du calcium sérique et celui du calcium utérin.

Dans la présente étude, le calcium sérique suit les mêmes variations que le calcium des sécrétions utérines (augmente au cours de la phase folliculaire et diminue au cours de la phase lutéale), ce qui indique l'existence de relation entre les deux éléments et de l'effet des hormones ovariennes sur les ions calcium au niveau sérique. Cependant, d'après nos résultats aucune corrélation significative ($R=-0.49$ et $P= 0.50$ phase folliculaire, $R= -0.56$ et $P= 0.23$ phase lutéale) ($P > 0.05$) n'a été constatée entre le calcium sérique et utérin pendant les deux phases de cycle œstral.



II.2.6.Magnésium

Le Mg joue le rôle de coenzyme dans le métabolisme du glucose [Guay et Lamothe., 1970 ; Hisataka et *al.*, 2004].

Le spermatozoïde doit se nourrir au cours de sa capacitation et de son transport pour conserver sa vitalité dans le tractus génital; le magnésium des sécrétions utérines pourrait être un des facteurs nécessaire à ces processus [Guay et Lamothe., 1970, Schultz *et al.*, 1971]. Le magnésium et le phosphore, les deux éléments qui contribuent le plus au métabolisme énergétique du spermatozoïde [Guay et Lamothe., 1969,1970].

Guay et Lamothe (1970) rapportent que le magnésium des sécrétions utérines chez les vaches normaux est un des éléments qui présentent les variations cycliques les plus intéressantes, soit: entre le prooestrus et le postoeustrus ($P < 0.05$), entre l'œstrus et le dioestrus

($P < 0.01$) et entre le proœstrus et l'œstrus ($P < 0.01$). Cette dernière augmentation nous suggère fortement d'établir un lien entre ce coenzyme et l'utilisation des hydrates de carbone par les spermatozoïdes lorsqu'ils sont déposés dans le milieu utérin.

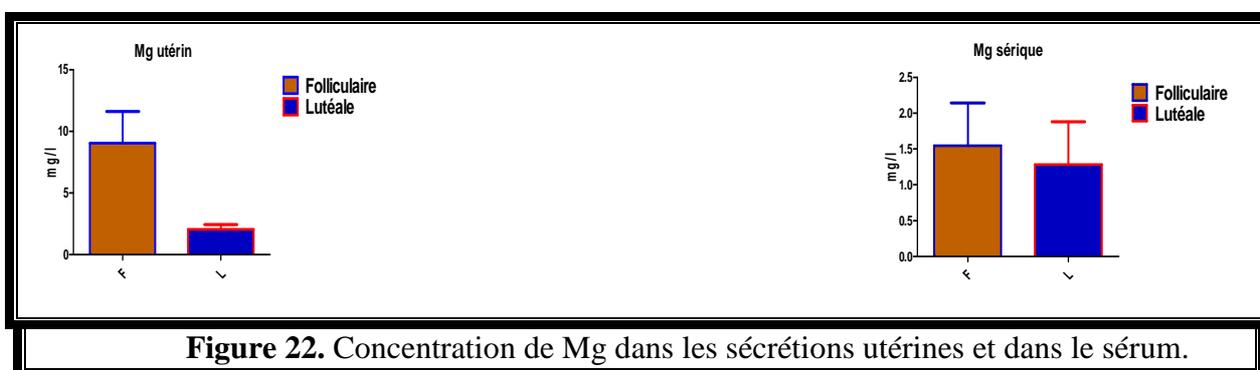
Dans notre étude, le magnésium des sécrétions utérines présente des variations cycliques significatives ($p < 0.05$) avec des concentrations élevées pendant la phase folliculaire, ces résultats sont similaires à ceux rapportés par les études de [Schultz *et al.*, 1971 ; Guay et Lamothe., 1969,1970].

Donc comme le phosphore, le magnésium des sécrétions utérines utilisé par le spermatozoïde comme source d'énergie.

D'après nos résultats, le magnésium sanguin ne présente aucune variation cyclique significative ($p > 0.05$), ce qui concorde bien avec les résultats de Guy et Lamothe (1970).

Même si le sang ne subit aucune variation cyclique significative, il existe en postœstrus une corrélation positive significative ($P < 0.01$) entre les concentrations sériques et utérines chez les vaches normales. Que ce lien ne soit mis en évidence qu'à une seule phase du cycle peut signifier qu'il s'agit d'un moment où la concentration sanguine est nécessaire au maintien du taux utérin en magnésium [Guay et Lamothe., 1970].

Malgré que le magnésium sérique présente des variations cycliques de la même façon que le magnésium des sécrétions utérines, mais nous constatons dans la présente étude des corrélations positives ($R = 0.12$) au cours de la phase folliculaire mais non significatives ($p > 0.05$) et dans la phase lutéale ($R = 0.80$) mais également non significatives ($p > 0.05$).



II.3. Profils électrolytiques des sécrétions oviductaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral

Les résultats concernant les profils électrolytiques des sécrétions oviductaires de la brebis au cours d'un cycle œstral sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10. Profils électrolytiques des sécrétions oviductaires et de sérum de la brebis au cours d'un cycle œstral.

Taux électrolytes	des	Phase folliculaire (N=10)	Phase lutéale (N=10)	P
Calcium (mg/l)	sécrétions oviductaires	232.1 ± 51.68	95.09 ± 16.05	0,01
	sérum	81.24 ± 5.73	56.95 ± 8.30	0,02
Potassium (mmol/l)	sécrétions oviductaires	83.80 ± 5.00	56.81 ± 6.84	0,006
	sérum	3.62 ± 0.33	4.66 ± 0.40	0,14
Sodium (mmol/l)	sécrétions oviductaires	125.2 ± 19.60	115.9 ± 8.38	0,67
	sérum	142.6 ± 1.25	143.0 ± 1.04	0,83
Chlore (mmol/l)	sécrétions oviductaires	135.5 ± 7.03	150.9 ± 7.12	0,15
	sérum	111.3 ± 2.29	109.2 ± 0.66	0,50
Magnesium (mg/l)	sécrétions oviductaires	1.44 ± 0.64	2.71 ± 1.10	0,37
	sérum	1.54 ± 0.59	1.28 ± 0.59	0,77
Phosphore (mg/l)	sécrétions oviductaires	100.2 ± 6.95	95.37 ± 3.57	0,54
	sérum	76.49 ± 10.59	66.68 ± 5.768	0,50

N: Nombre de brebis utilisées. **P:** Différence statistique entre colonne ($P < 0.05$).

Le fluide tubaire représente le milieu aqueux dans lequel des gamètes males et femelle et l'embryons sont suspendus pendant leur passage dans l'oviducte. Ce fluide est une mixture complexe des ions et des macromolécules solubilisées dans l'eau. Certains composés sont dérivés du sérum ; tandis que d'autres sont synthétisés dans l'épithélium et sécrétés dans la lumière [Leese., 1988 ; Thibault et Levasseur., 2001 ; Aguilar et Reyley., 2005].

Puisque la composition ionique de fluide tubaire est différente de celle du sérum, on le suppose qu'un transport sélectif différentiel d'ions est présent dans la paroi de l'oviducte [Leese., 1988].

Grace à la perméabilité sélective de l'épithélium de l'oviducte, le liquide tubaire se caractérise par une concentration élevée en ions potassium, surtout dans l'ampoule, et en

bicarbonate alors que les ions Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , et Cl^- sont en concentrations voisines dans les deux compartiments sanguins et tubaires [Thibault et Levasseur., 2001].

Ménezo et Guérin (1997), constatent que les ions chlorure et sodium sont les principaux électrolytes du liquide tubaire et leur concentration équivaut à celle du sérum.

Les concentrations des ions tendent à être équivaut à celle du sérum pour la majorité des espèces, avec quelques exceptions [Aguilar et Reyley., 2005]. La composition en ions dans les oviductes diffère dans les concentrations entre le sérum et l'oviducte en particulier la concentration du potassium et du calcium [Rath *et al.*, 2008].

II.3. 1.Potassium

Selon Aguilar et Reyley (2005), la concentration de potassium chez les bovins est également plus élevée dans le fluide tubaire que le sérum, surtout à l'approche ou au moment de la chaleur. Les niveaux élevés de potassium en fluide tubaire semblent être constants pour la majorité des espèces. La concentration plus importante de potassium semble nécessaire pour la fécondation et le développement embryonnaire.

La concentration plus importante de potassium semble nécessaire pour la fécondation et le développement embryonnaire. Néanmoins, d'importantes variations sont retrouvées entre les espèces. Chez les bovins, la concentration de potassium est d'environ 5 mM [Hugentobler *et al.*, 2007], alors que chez la femme, elle se situe aux alentours de 25 mM [Ménezo & Guérin., 1997 ; Fontaine *et al.*, 2009 ; Thibault et Levasseur.,2001].

D'après nos résultats, les concentrations de potassium varient de façon cyclique et significative ($P < 0.05$) entre les deux phases. Les concentrations les plus élevées sont observées pendant la phase folliculaire. Ces constatations sont similaires à celles rapportées par de nombreuses études [Aguilar et Reyley., 2005 ; Fontaine *et al.*, 2009 ; Thibault et Levasseur.,2001].

Ces résultats peuvent être expliqués par le rôle que le K joue dans la fécondation. D'après [Quinn *et al.*, 1985], les niveaux élevés de potassium dans les sécrétions oviductaires semblent être constants à travers les espèces et c'est un facteur important à considérer lors de la préparation du milieu de culture pour la fécondation. Dans la fécondation *in vitro* chez la souris (FIV), plus de taux de gestation a été obtenue en employant un milieu

formulé à base de la composition du fluide oviductaire humain qu'avec le milieu chez la vache de Tyrode (qui contient une concentration inférieure du potassium).

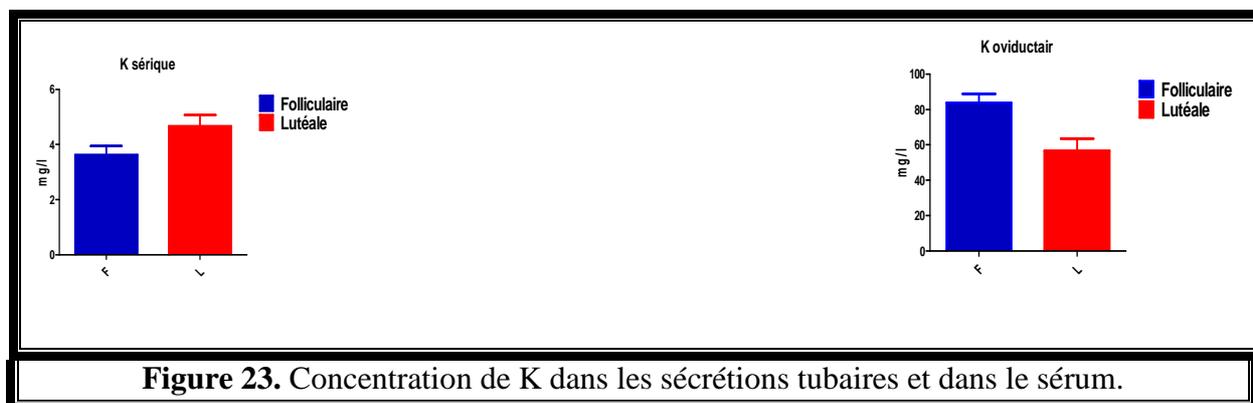
Il a été montré par Rath *et al.* (2008), que des niveaux de potassium d'oviducte sont élevés constamment au-dessus des niveaux de sérum. La concentration élevée en potassium dans les oviductes est jusqu'ici non expliquée, mais on lui a montré que le potassium empêche la motilité et pourrait faciliter ainsi la formation de réservoir de spermatozoïdes.

Selon une étude de Fontaine *et al.* (2009) sur l'oviducte chez la chienne, la concentration de potassium et de bicarbonates est deux à cinq fois plus élevée dans le fluide tubaire que le sérum. Chez l'homme, la concentration des ions de potassium et de chlorure est plus élevée dans le fluide tubaire que le sérum [Aguilar et Reyley., 2005]. Chez les bovins, la concentration de potassium est également plus élevée dans le fluide tubaire que le sérum [Fontaine *et al.*, 2009], surtout à l'approche ou au moment de la chaleur [Aguilar et Reyley., 2005].

Dans la présente étude, les concentrations de potassium sont également plus élevées dans les sécrétions de l'oviducte (phase folliculaire 83.80 ± 5.00 mmol/l, phase lutéale $56, 81 \pm 6.84$ mmol/l) que dans le sérum (phase folliculaire 3.62 ± 0.33 mmol/l, phase lutéale $4,66 \pm 0.40$ mmol/l). Donc on peut dire qu'est une caractéristique commune pour la majorité des espèces.

Le potassium sérique ne présente aucune variation cyclique significative ($p > 0.05$), ce qui indique que les hormones ovariennes n'influencent pas les concentrations de potassium sérique.

Aucune corrélation significative ($R=0.15$ et $P=0.71$ phase folliculaire, $R=0.05$ et $P=0.93$ phase lutéale) ($p > 0.05$) n'a été constatée entre le potassium sérique et utérin, ce qui concorde avec les résultats de Hugentobler *et al.*(2007) .



II.3. 2.Sodium

Concernant le sodium, il n'y a aucune différence significative ($P > 0.05$) dans les concentrations entre la phase folliculaire et la phase lutéale. D'après une étude de Vecchio *et al.* (2007) sur la composition des sécrétions tubaires chez les buffles, les concentrations de sodium n'étaient pas différentes en fonction de la phase de cycle œstral.

Ces résultats sont constatés dans la présente étude chez la brebis. Les concentrations des ions sodium des sécrétions oviductaires sont voisines dans les deux phases de cycle œstral ($P > 0.05$).

Dans la présente étude, les concentrations des ions sodium sont voisines dans les deux compartiments sanguins et tubaires. Plusieurs études ont prouvé les mêmes constatations [Ménezo & Guérin., 1997 ; Fontaine *et al.*, 2009 ; Thibault et Levasseur., 2001].

Selon les études de Ménezo & Guérin (1997) et de Fontaine *et al.* (2009), les ions chlorure et sodium sont les principaux électrolytes du liquide tubaire et leur concentration équivaut à celle du sérum.

Dans la présente étude, nous avons constaté que le sodium était le cation principal et le chlore était l'anion principal des sécrétions utérines. Egalement dans les sécrétions de l'oviducte les ions sodium et chlorure sont les principaux éléments. Donc les deux organes (utérus et oviducte) se caractérisent par des concentrations élevées en ions sodium et chlorure.

Comme à été déjà mentionné dans la partie des sécrétions utérins la différence de concentration de sodium sérique entre les deux phases est presque nulle.

Dans la présente étude, nous avons constaté que les ions sodium dans les sécrétions oviductaires ne présente aucune différence significative ($p > 0.05$) ni dans les sécrétions de l'oviducte ni dans le sérum.

On constate également l'absence des corrélations significatives ($R=0.14$ et $P=0.78$ phase folliculaire, $R=0.82$ et $P=0.82$ phase lutéale) ($p > 0.05$) dans les concentrations de sodium entre les deux compartiments sanguin et tubaire.

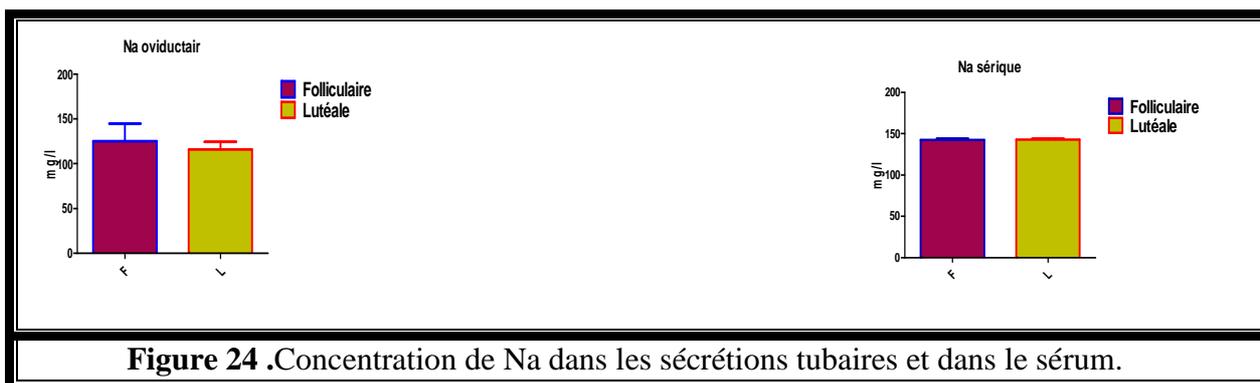


Figure 24 .Concentration de Na dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.

II.3.3. Chlore

Comme les ions sodium, les ions Cl^- ne présente aucune différence significative entre les deux phases de cycle œstral ($P > 0.05$). Les ions chlorure et sodium sont les principaux électrolytes du liquide tubaire et leur concentration équivaut à celle du sérum ce qui raccorde avec les résultats de Ménezo & Guérin., (1997).

Chez l'homme, la concentration des ions de chlorure est plus élevée dans le fluide tubaire que le sérum [Aguilar et Reyley., 2005].

Dans la présente étude, les concentrations des ions chlorure sont voisines dans les deux compartiments sanguins et tubaires. Plusieurs études ont prouvé les mêmes constatations [Ménezo & Guérin., 1997 ; Fontaine *et al.*, 2009 ; Thibault et Levasseur., 2001]. Donc les sécrétions tubaires chez la brebis ne sont pas similaires à celles de l'homme concernant les concentrations des ions Cl^- entre les deux compartiments sanguins et tubaires. Il s'agit de l'effet de l'espèce.

D'après nos résultats, le chlore sérique ne présente aucune variation cyclique significative ($p > 0.05$) entre les deux phases donc il n'y a pas de l'effet des hormones ovariennes sur le chlore sérique.

On constate également l'absence des corrélations significatives ($R=-0.34$ et $P=0.50$ phase folliculaire, $R=0.66$ et $P=0.54$ phase lutéale) ($p > 0.05$) dans les concentrations de sodium entre les deux compartiments sanguin et tubaire.

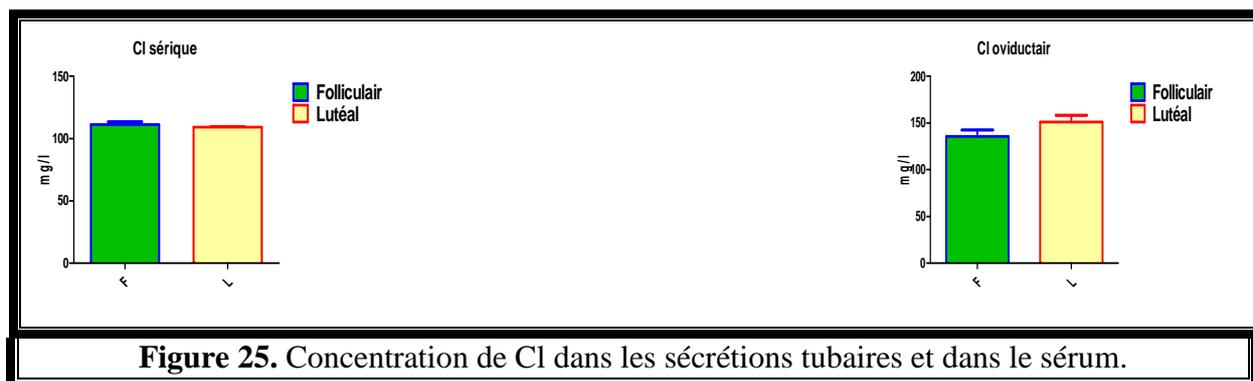


Figure 25. Concentration de Cl dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.

II.3.4. Magnésium

D'après une étude d'Aguilar et Reyley (2005) chez la vache, les concentrations en ions magnésium varient de manière significative selon la phase de cycle œstral mais pas par région de l'oviducte et étaient uniformément inférieures que dans le sérum.

D'après nos résultats, aucune différence significative n'a été constatée chez la brebis. Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet de l'espèce ou bien par l'effet de la technique de la collecte. Car dans l'étude précédente d'Aguilar et Reyley (2005) les sécrétions sont collectées par cannulation *in vivo*.

D'après l'étude de Fontaine *et al.* (2009) chez la chienne, la concentration des ions magnésium est également voisine de celle du sérum. Campbell et autres. (1979) ont rapporté que la concentration moyenne des ions magnésium est 2 à 5 fois plus haute que dans le sérum et est apparemment la concentration en magnésium dans les fluides tubaires chez la jument beaucoup plus haute que chez les autres espèces.

Dans la présente étude, les concentrations des ions magnésium sont voisines dans les compartiments sanguins et tubaires. Cette constatation a été rapportée par d'autres études [Aguilar et Reyley., 2005 ; Fontaine *et al.*, 2009 ; Thibault et Levasseur., 2001].

Le magnésium sérique ne présente aucune variation cyclique significative ($p > 0.05$) entre les deux phases, donc il n'y a pas de l'effet des hormones ovariennes sur le magnésium sérique. On constate également l'absence des corrélations significatives ($R=0.50$ et $P=0.66$ phase folliculaire, $R=0.25$ et $P=0.74$ phase lutéale) ($p > 0.05$) dans les concentrations de sodium dans les deux compartiments sanguin et tubaire.

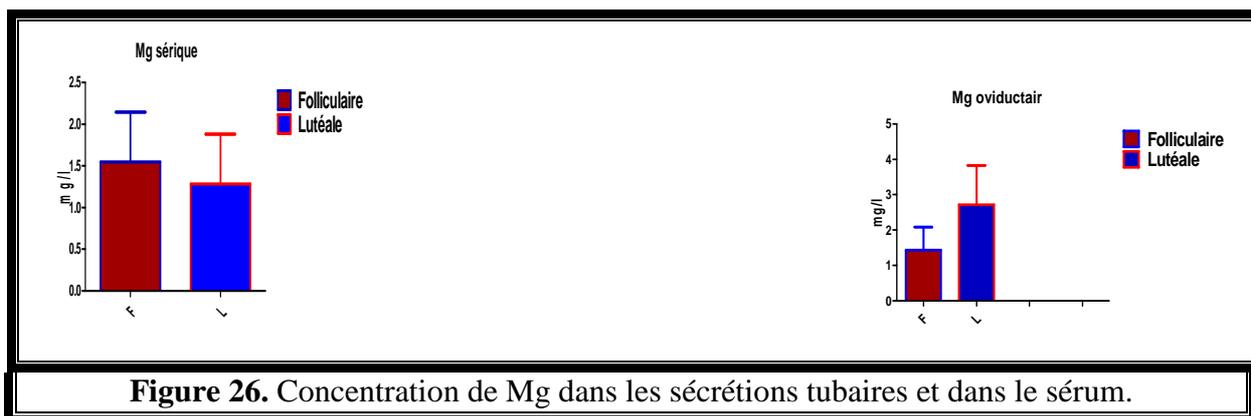


Figure 26. Concentration de Mg dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.

II.3.5. Phosphore

Dans la présente étude, nous avons constaté que les concentrations de phosphore ne présentent aucune variation cyclique significative ($P > 0.05$). Les concentrations de P sont voisines pour les deux phases de cycle œstral.

Cependant, les concentrations de phosphore des sécrétions oviductaires sont plus élevées que dans le sérum, ce qui indique une sécrétion active par les cellules de l'oviducte à ce niveau. Au niveau de sérum également, il n'existe pas de variations cycliques significatives ($P > 0.05$). Aucune corrélation significative ($R = -0.16$ et $P = 0.78$ phase folliculaire, $R = -0.51$ et $P = 0.48$ phase lutéale) ($p > 0.05$) n'a été constatée entre le phosphore sérique et tubaire. Il semble que les hormones ovariennes n'affectent pas les concentrations de phosphore au niveau oviductaire et même sérique.

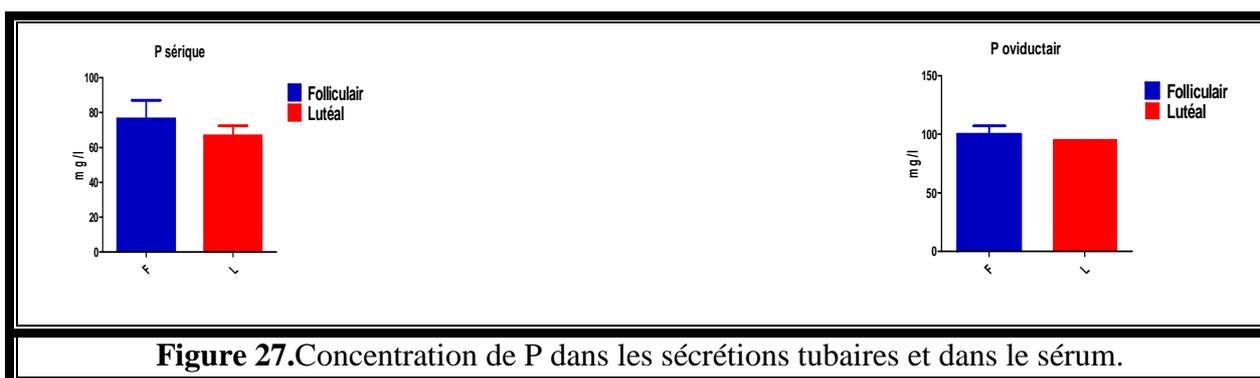


Figure 27. Concentration de P dans les sécrétions tubaires et dans le sérum.

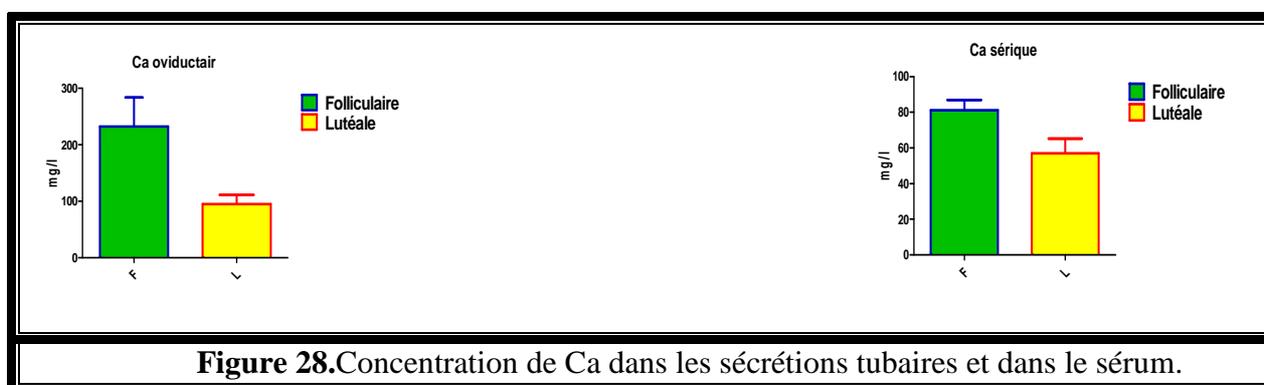
II.3.6. Calcium

Les concentrations en ions calcium du fluide de l'isthme de la vache étaient sensiblement plus hautes que celles de l'ampoule, avec une concentration plus élevée que dans le sérum surtout au moment l'ovulation [Aguilar et Reyley., 2005].

Il a été montré par Rath *et al.*, (2008), que chez la vache les niveaux de potassium d'oviducte sont élevés constamment au-dessus des niveaux de sérum, alors que le calcium fait un pic à l'œstrus, seulement puis rechute encore rapidement et atteindre les niveaux sériques. La raison des niveaux élevés de calcium autour de l'œstrus s'étend le plus probablement principalement dans le rôle du cation dans le déclenchement de la capacitation.

D'après nos résultats, le calcium des sécrétions oviductaires présente des variations cycliques significatives ($P < 0.05$). Les concentrations des ions calcium pendant la phase folliculaire (232.1 ± 51.68 mg/l) sont plus élevées que la phase lutéale ($95,09 \pm 16.05$ mg/l) et également plus élevées que les concentrations sériques (phase folliculaire $81,24 \pm 5.73$ mg/l, phase lutéale 56.95 ± 8.30 mg/l). Alors que pendant la phase lutéale les concentrations sont voisines dans les deux compartiments sanguins et tubaires.

Le calcium sérique ne présente aucune variation significative ($P > 0.05$). Même si le calcium sérique suit les mêmes variations que le calcium des sécrétions tubaires, aucune corrélation significative ($R=0.05$ et $P=0.92$ phase folliculaire, $R=0.48$ et $P=0.32$ phase lutéale) n'a été constatée ($P > 0.05$) entre le calcium sérique et tubaire. Ce ci due à l'absence de l'effet des hormones ovariennes sur les ions calcium au niveau sérique.



CONCLUSION

Conclusion

La présente étude a été réalisée sur des matrices des brebis collectées de l'abattoir publique de la Wilaya de Batna .Des sécrétions de l'utérus et de l'oviducte ont été collectées pour les dosages des enzymes, des électrolytes et des protéines totales.

Les acides aminés des sécrétions utérines se forment et sont métabolisés sous l'action de la TGO et de la TGP. Les résultats, concernant la TGO, révèlent la présence de cette enzyme, sans toutefois présenter de variations cycliques significatives. Les analyses statistiques ont démontré des variations cycliques significatives de l'activité de la TGP dans les sécrétions utérines; cette activité est plus grande à la phase progestéronique ($P < 0.05$). Le milieu intra-utérin exercerait donc, durant cette phase, une activité anabolique importante, les transaminases participant à ces processus.

Nous savons que les sécrétions utérines se composent d'une quantité relativement importante de glucose. Chacun des enzymes (aldolase, G6PDH, SDH) que nous avons analysé dans les sécrétions utérines joue un rôle dans l'utilisation de ces substrats, pour ainsi participer au métabolisme cellulaire.

L'aldolase et la G-6-PDH présentent des variations cycliques significatives, l'activité de l'aldolase étant supérieure en phase oestrogénique, tandis que l'activité de la G-6-PDH est plus importante en phase progestéronique. La SDH ne présente aucune variation cyclique significative. Ces résultats indiquent une activité métabolique utérine significative lors des diverses étapes de la reproduction.

Les protéines totales des sécrétions endométriales varient de façon cyclique et significative avec des concentrations plus élevées pendant la phase lutéale. Il s'agit là d'un facteur nutritionnel important dans la composition du lait utérin : l'apport et le catabolisme protéique étant plus grands à cette période.

Cependant, les protéines totales des sécrétions oviductaires ne présentent pas de variations cycliques significatives, mais elle a quand même une tendance à être plus élevées durant la phase oestrogénique; c'est à ce moment que les glycoprotéines interviennent dans le phénomène de la capacitation.

Les protéines totales au niveau de sérum ne présentent aucune variation cyclique significative. Aucune corrélation significative n'a été constatée entre les protéines sériques et leurs homologues utérins et oviductaires.

Les ions jouent un rôle essentiel dans la formation du liquide provenant de l'oviducte et de l'utérus. La composition chimique du fluide utérin collecté des brebis a été étudiée. Le sodium et le chlore étaient les ions principaux trouvés. Un peu de potassium, de magnésium, de calcium, et de phosphore étaient également présent. A l'exception du calcium, tous les autres éléments étudiés sont en concentration plus élevée dans les sécrétions utérines que dans le sérum. Il semble donc logique de croire que le liquide récolté dans l'utérus ne constitue par un transsudat, mais qu'il est bien le produit d'une sécrétion active des cellules utérines.

Le K, le Mg, le Na, le Ca et le P varient de façon cyclique et significative dans les sécrétions utérines des brebis. Alors que, le chlore ne présente pas des variations cycliques significatives.

Dans le sérum, seul le calcium présente des variations cycliques significatives. Aucune corrélation significative n'a été constatée entre les concentrations de tous les électrolytes sériques et leurs homologues utérins.

La composition ionique de fluide tubaire est différente de celle du sérum, on le suppose qu'un transport sélectif différentiel d'ions est présent dans la paroi de l'oviducte. Comme les sécrétions utérines, les ions chlorure et sodium sont les principaux électrolytes des sécrétions oviductaires.

Seulement le potassium et le calcium des sécrétions oviductaires varient de façons cycliques et significatives. Alors que les autres éléments (le sodium, le magnésium, le phosphore et le chlore) ne présentent aucune variation cyclique significative. Au niveau sérique, tous les éléments étudiés ne présentent aucune variation cyclique significative. Comme les sécrétions utérines, aucune corrélation significative n'a été constatée entre les concentrations de tous les électrolytes sériques et leurs homologues utérins.

D'après nos résultats, nous concluons que quelques paramètres biologiques des sécrétions utérines et oviductaires présentent des variations cycliques significatives. Ces variations sont liées aux phénomènes physiologiques qui se déroulent dans l'utérus et l'oviducte.

Ces analyses de composition montrent que les sécrétions tubaires et utérines résultent à la fois des synthèses de l'épithélium, d'une excrétion de facteurs issus du sérum. Certains paramètres des sécrétions utérines et oviductaires présentent des variations cycliques ce qui indique l'effet des hormones ovariennes sur les composantes des sécrétions génitales.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- **Aguilar J et Reyley M., 2005.**The uterine tubal fluid: secretion, composition and biological effects. *Anim. Reprod.* 2:91-105
- **Aitken R.J., 1979.** Tubal and uterine secretion; the possibilities for contraceptive attack *J.Reprod.Fert.*55:247-254
- **Aitken R.J., Fisher H.M., Fulton N., Gomez E., Knox W., Lewis B., Irvine S., 1997.** Reactive oxygen species generation by human spermatozoa is induced by exogenous NADPH and inhibited by the flavoprotein inhibitors diphenylene iodonium and quinacrine.*Mol Reprod Dev*47: 468–482.
- **Aitken R.J., Harkiss D., Knox W., Paterson M., Irvine D.S., 1998.** A novel transduction cascade in capacitating human spermatozoa characterised by a redox-regulated, cAMP mediated induction of tyrosine phosphorylation. *J Cell Sci.*111:645–656
- **Aktan F., 2004.** iNOS-mediated nitric oxide production and its régulation. *Life Sri* 75:639-653
- **Alavi-Shoushtari S.M., Asri-Rezai. S., et Abshenas., J., 2006.**A study of the uterine protein variations during the estrous cycle in the cow: Molecular weights determination.*Anim. Reprod. Science.* 105 : 302–310
- **Alexander J., Travis., Levent Tutuncu.,Carolina J., Jorgez., Teri S., Ord., Brian H., Jones., Gregory S., Kopf., and Carmen J. Williams., 2004.** Requirements for Glucose beyond sperm capacitation during In vitro fertilization in the mouse. *Biology of reproduction* 71: 139–145
- **Andrew C.,Williams., Christopher W., Ford L., 2001.** The Role of Glucose in Supporting Motility and Capacitation in Human Spermatozoa. *Journal of Andrology* 22:680-695
- **Baldi E., Casana R., Falsetti C., et al., 1991.** Intracellular calcium accumulation and responsiveness to progesterone in capacitating human spermatozoa. *J. Androl.*, 12, 323–330.
- **Baril G., Chemineau P., Cognie Y., Guérin Y., Leboeuf B., Orgeur P et J.C. Vallet., 1993.** Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Station de la physiologie de la reproduction Institut national de la recherche agronomique (INRA) Nouzilly, 37380 Monnaie, France
- **Barone R., 1978.** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome III. Ed: Vigot frères, lyon 1851
- **Batellier F., 2005.**Reproduction des animaux d'élevage. Edition Par Educagri, 2005,Dijon

- **Bavister B.D., 2000.** Interactions between embryos and the culture milieu. *Theriogenology* 53 : 619–626.
- **Bosh P., Wright RW., 2005.** The oviductal sperm reservoir in domestic mammals. *Arch. Med. Vet.* 37,(2):95-101.
- **Bousquet D., Lamothe P et Guay P., 1976.** Profil enzymatique des sécrétions utérines de la vache au cours du cycle œstral. *Can. J. comp. Med.* 40 :198-201
- **Brownlee M., 1996.** Biochemistry and molecular cellular biology of diabetic complications. *Nature* , 414: 813-820
- **Buhi W., Alvarez C. I. M., Sudhipong Vand Dones-smith M. M., 1990.** Identification and Characterization of De Novo-Synthesized Porcine Oviductal Secretory Proteins. *Biology of reproduction* 43: 929-938
- **Burkman LJ., 1991.** Discrimination between non-hyperactivated and classical hyperactivated motility patterns in human spermatozoa using computerized analysis. *Fertil Steril.* 55:363–371
- **Burrow R.V and Humphrey W.D., 1994.** Fluctuation in uterine luminal proteins during the bovine estrus cycle. *Theriogenology.* 156 :345-349
- **Campbell DL, Douglas LW, Ramge JC.** 1979. Cannulation of the equine oviduct and chemical analysis of oviduct fluid. *Theriogenology*, 12:47-54.
- **Carrasco L., Pilar Coy A., Manuel Avilés C., Joaquin Gadea A and Raquel Romar A D., 2008.** Glycosidase determination in bovine oviducal fluid at the follicular and luteal phases of the oestrous cycle. *Reproduction, Fertility and Development* 20: 808–817.
- **Cetica P., Pintos L., Dalvit G., Beconi M., 2002.** Activity of key enzymes involved in glucose and triglyceride catabolism during bovine oocyte maturation *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.* 124: 675-681.
- **Christian D., 2003.** La production du mouton. 2^e édition France agricole
- **Cross N. L., 2007.** Effect of pH on the development of acrosomal responsiveness of human sperm *Andrologia* 39: 55-9
- **Crozet N., 1991.** La reproduction chez les mammifères et l'homme: La fécondation *in vivo et in vitro*. Edition Marketing 13 : 315-338.
- **David A. B. G., Brackett C.R., Garcia L. and Mastroianni Jr., 1969.** Composition of rabbit oviduct fluid in ligated segments of the fallopian tube. *J. Reprod. Fertil.* 19: 289-285.

- **Dawn M., Eberhardt., Wendy G Jacobs and Godkin James D., 1999.** Steroid Regulation of Retinol-Binding Protein in the Ovine Oviduct. *biology of reproduction* 60: 714–720
- **De Lamirande E and Gagnon C., 1995.** Capacitation-associated production of superoxide anion by human spermatozoa. *Free Rad. Biol. Med.* 18, 487–495.
- **Dobrinski I., Smith T., Suarez SS., Ball BA., 1997.** Membrane contact with oviductal epithelium modulates the intracellular calcium concentration of equine spermatozoa in vitro. *Biol Reprod* 56:861–869.
- **Drazen DL., Klein SL., Burnett AL., Wallach EE., Crone JK., Huang PL., Nelson RJ., 1999.** Reproductive function in female mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nitric Oxide* 3:366-374
- **Drogoul C., Gadoud R., Joseph MM., Jussiau R., Lisberney M., Mangeol B., Montméas L., Tarrit ., 2004.** Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. Tome 1, 2ieme édition. Educagri édition, 2004, Dijon.
- **Eliasson R., 1967.** Transaminase in human semen. *J Reprod Fertil* 14:387-392
- **Eveleth D. F., Millen T. W. et Mc-nutt S. H., 1941.** The blood chemistry during the estral cycle in the bovine. *Cornell Vet.* 31: 331-338.
- **Fahning M. L., Schultz R. H and Graham E. F., 1967.** The free amino acid content of uterine fluids and blood serum in the cow. *J. Reprod. Fert.* 13: 229-236.
- **Fazeli A., Duncan AE., Watson PF and Hoit WV., 1999.**Sperm-oviduct interaction: induction of capacitation and preferential binding of uncapacitated spermatozoa to oviductal epithelid cells in porcine species. *Biol. Reprod.* 60: 879-886.
- **Fontaine E., Karine R., Sandra T., Martine C., Laetitia ., Vincent S et Sylvie C-M. , 2009.** Microenvironnement tubaire: rôle dans la maturation des ovocytes canins *in vivo* et *in vitro*. *Bull. Acad. Vét.* 162:145-153
- **Fraser LR., Quinn PJ., 1981.** A glycolytic product is obligatory for initiation of the sperm acrosome reaction and whiplash motility required for fertilization in the mouse.*J Reprod Fertil* 61:25–35.
- **Fraser LR., Umar G and Sayed S., 1993.** Na⁺ requiring mechanisms modulate capacitation and acrosomal exocytosis in mouse spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 97, 539–549.

- **Gandolfi F., Tiziana A. L., Brevini ., Louise Richardson C. R., Brown and Moor R. M., 1989.** Characterization of proteins secreted by sheep oviduct epithelial cells and their function in embryonic development. *Development* 106:303-312
- **Gao H., Guoyao W., Thomas E., Spencer., Greg A., Johnson., Xilong L., Fuller W and Bazer W., 2009.** Select Nutrients in the Ovine Uterine Lumen. I. Amino Acids, Glucose, and Ions in Uterine Luminal Flushings of Cyclic and Pregnant Ewes. *Biology of reproduction* 80: 86–93
- **Gardner DK., Lane M et Batt P., 1993.** Uptake and metabolism of pyruvate and glucose by individual sheep preattachment embryos developed in vivo. *Mol Reprod Dev* .36:313–319.
- **Gould K.G and Ansari A., 1981.** Electrolyte interactions in cervical mucus and their relationship to circulating hormone levels. *Contraception*.23 (5) ; 507-516.
- **Greube A., Muller K., Topfer-Petersen E., Hermann A., Muller P., 2001.**Influence of the bovine seminal plasma protein PDC-109 on the physical state of membranes. *Biochemistry* 40:8326–8334.
- **Guay P et Lamothe P., 1969.** Etude biochimique des sécrétions génitales de femelles bovines infécondes qui présentent des cycles œstrales normaux. *Can. J. comp. Med.* 33 :93-97
- **Guay P et Lamothe P., 1970.** Electrolytes des sécrétions intra-utérines bovines lors d'infertilité sine materia. **Can. J. comp. Med.**34 :167-176
- **Guay P., 1966 c.** Valeurs du calcium dans le sang et dans les secretions genitales de la vache, au cours du cycle normal. *CAN. VET. JOUR.*, vol. 7, no. 8 :169-174.
- **Guay P., 1966a.** Etude du sodium contenu dans le sang et dans les sécrétions génitales de la vache, au cours du cycle normal. *CAN. VET. JouR.*, vol. 7, no. 9.
- **Guay P., 1966b.** Étude du taux et des variations du potassium dans le sang et dans les sécrétions génitales de la vache, au cours du cycle normal. *CAN. VET. JouR.*, vol. 7,219-222.
- **Guérin P., Ménézo Y., 2000.** Bases physiologiques de l'utilisation des milieux séquentiels : évolution du métabolisme de l'embryon. *Reproduction humaine et Hormones*, 13 :1-4.
- **Gupta, H. C., 1962.** Biochemical and physiological properties of cervical and uterine fluids of the cow during estrus. *Diss. Abstr.* 23, 803.
- **Guyader-Joly C., Khatchadourian C., Ménézo Y., 1996.** Comparative glucose and fructose incorporation and conversion by in vitro produced bovine embryos. *Zygote*, 4:85-91

- **Gwathmey TM., Ignotz GG., Mueller JK., Manjunath P., Suarez SS., 2006.** Bovine seminal plasma proteins PDC-109, BSP-A3, and BSP-30-kda share functional roles in storing sperm in the oviduct. *Biol Reprod* 75:501–7.
- **Hames B.D., Hooper N.H et Houghton J.D., 2000.** Essentiel en biochimie. Poryt Royal Livres, 2000, Paris.
- **Handrow RR ., First NL., Parrish JJ., 1989.** Calcium requirement and increased association with bovine sperm during capacitation by heparin. *J Exp Zool*; 252: 174-182.
- **Harper, H. A., 1973.** Précis de Biochimie. 3ieme édition française. pp. 275-419. Québec: Les Presses de l'Université Laval.
- **Harrison R. A et Gadella B. M., 2005.** Bicarbonate-induced membrane processing in sperm capacitation." *Theriogenology* 63: 342-351.
- **Hawk HW., 1983.** Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *J. Dairy Sci.* 66: 2645-266.
- **Heap R.B., 1962.** Some chemical constituents of uterine washings: a method of analysis with results from various species. *J.Endocrin.* 24:367-378
- **Hisataka I., Hashimoto S., Ohota M., Kimura K., Shibano K., Miyake M., 2004.** Effects of follicle size and electrolytes and glucose in maturation medium on nuclear maturation and developmental competence of bovine oocytes. *J. Reprod. Fertil.* 127: 159-164.
- **Homa S.T., Carroll J and Swann K., 1993.**The role of calcium in mammalian oocyte maturation and egg activation. *Human Reproduction* 8:1274-1281
- **Hoshi K., Tsukikawa S., Sato A., 1991.** Importance of Ca²⁺, K⁺ and glucose in the medium for sperm penetration through the zona pellucida. *TohokuJ Exp Med*165:99–104.
- **Howard, E. & DeFeo, V. J., 1959.** *Amer. J. Physiol.* 196, 65.
- **Huai L., Feng Yi., Han B., Avner., Hershlagand L., Zheng J., 2007.** Impact of Ca²⁺ Flux Inhibitors on acrosome reaction of hamster spermatozoa. *Journal of Andrology* 44:111-120
- **Hugentobler SA., Morris DG., Sreenan JM and Diskin MG., 2007.** Ion concentrations in oviduct and uterine fluid and blood serum during the estrous cycle in the bovine. *Theriogenology* 68: 538-548
- **Hunter RHF., Fléchon B et Fiéchon JE., 1987.**Pre- and peri-ovulatory distribution of viable spermatozoa in the pig oviduct: a scanning electron microscope study. *Tissue & Cell* 19: 423-436.

- **Iritani. A., Gomes W. R and Vandemark N. L., 1969.** Secretion Rates and Chemical Composition of Oviduct and Uterine Fluids in Ewes. *Biology of reproduction* 1: 72-76
- **Jablonka-Shariff A., Basuray R., Oison LM., 1999.** Inhibitors of nitric oxide synthase influence oocyte maturation in rats. *J Soc Gynecol Investig* 6:95-101
- **Jean-Blain C., 2002.** Introduction à la nutrition des animaux domestiques. E.M.Inter., Edition TEC et DOC., 424p.
- **Jordan ER., Chapman TE., Holtan DW et Swanson LV., 1983.** Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing postpartum dairy cow. *J Dairy Sci.* 66: 1854-1862
- **Khatchadourian C., Joly C., Ménézo Y., 1996.** Le métabolisme embryonnaire. *Contracept.Fertil.Sex.*, 24 :650-652
- **Killian G.J., 2004.** Evidence for the role of oviduct secretions in sperm function, fertilization and embryo development. *Animal Reproduction Science* 82 : 141–153
- **Kim HJ., Lee GS., Ji YK., Choi KC., Jeung EB., 2006.** Differential expression of uterine calcium transporter 1 and plasma membrane Ca²⁺ ATPase 1b during rat estrous cycle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 291:234–241
- **Kim NH., Funahashi H., Abeydeera LR., Moon SJ., Prather RS et Day BN., 1996.** Effects of oviductal fluid on sperm penetration and cortical granule exocytosis dog fertilization of pig oocytes *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.* 107: 79-86.
- **Krasznai Z., Krasznai Z. T et al., 2006.** Role of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger in calcium homeostasis and human sperm motility regulation. *Cell Motil Cytoskeleton* 63: 66-76
- **Lamothe P., Bousquet D and Guay P., 1977.** Cyclic variation of F prostaglandins in the uterine fluids of the cow. *J.Reprod.Fert.*560:381-382
- **Lamothe P., Guay P., et Tremblay A., 1972a.** Le glucose du sang et des sécrétions endométriales chez deux groupes de femelles bovines dont l'un est atteint d'infertilité sine materia . *CAN. VET. JOUR.* 13 :29-32
- **Lamothe P., Guay P., Ibrahim M et Tremblay A., 1972b.** Les protéines totales et leurs fractions dans le sérum et dans les sécrétions endométriales chez la vache atteinte d'infertilité sine materia .*Can. J. comp. Med.*36: 94-98
- **Leese H.J., 1988.** The formation and function of oviduct fluid. *J. Reprod. Fertil.* 82 : 843–856.
- **Leese H.J., 1995.** Metabolic control during preimplantation mammalian development. *Hum. Reprod. Update* 1 : 63–72.

- **Leese H.J., Sue Aldrige et Theresa Kiernan., 1979.** Glucose movement into rat uterine fluid. *J Reprod Fertil.*56:615-618
- **Mahadevan M., Miller M and Moutos M., 1997.** Absence of glucose decreases human fertilization and sperm movement characteristics *in vitro*. *Human Reproduction* 12:119–123
- **Manser RC., Leese HJ., Houghton FD., 2004.** Effect of inhibiting nitric oxide production on mouse preimplantation embryo development and metabolism. *Biol Reprod* 71:528-533.
- **Martinez P and Morros A., 1996.** Membrane lipid dynamics during human sperm capacitation. *Front Biosci* 1: 103-117
- **Martus N., Verhage H., Mavrogiannis P. and Thibodeaux J., 1998.** Enhancement of bovine oocyte fertilization in vitro with a bovine oviductal specific glycoprotein. *J Reprod Fertil.* 113: 323–329.
- **Mende HE., Spitzbart H., Sieke V and Vogel C., 1990.** Sodium, potassium, magnesium and calcium in vaginal content. *Zentralbl Gynakol.* 112(18):1175-80.
- **Menezo Y et Wintenberger-torres S., 1976.** Free amino acid content of ewe uterine fluid under various hormonal treatments during early pregnancy.*Ann.Biol.anim.Bioch.Biophys.*16:537-54
- **Miyamoto H et Ishibashi T., 1975.** The role of calcium ions in fertilization of mouse and rat eggs in vitro. *J Reprod Fertil* 45:523-526
- **Munoz-Garay C., De La Vega-Beltran J. L et al., 2001.** Inwardly rectifying K (+) channels in spermatogenic cells: functional expression and implication in sperm capacitation. *Dev. Biol.* 234: 261-274
- **Murdoch R. N. et White I. G., 1969.** The activity of enzymes in the rabbit uterus and effect of progesterone and oestradiol. *J. Endocr.* 43: 167-174.
- **Mylrea P. J and Bayfield R. F., 1968.** Concentrations of some components in the blood and serum of apparently healthy dairy cattle. I. Electrolytes and minerals. *Aust. vet. J.* 44: 565-569.
- **Navarro B Y., Kirichok et al., 2008.** Ion channels that control fertility in mammalian spermatozoa *Int J Dev Biol* 52: 607-61
- **Nocenti M. R and Gizek L. J., 1964.** Influence of estrogens on electrolyte and water exchanges in the ovariectomized rat. *Am. J. Physiol.* 206: 476.
- **Nolan J. P. and Hammerstedt R. H., 1997.** Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. *FASEB J* 11: 670-682

- **O'Flaherty C., Breininger E., Beorlegui N., Beconi MT., 2005.** Acrosome reaction in bovine spermatozoa: role of reactive oxygen species and lactate dehydrogenase C4. *Biochim Biophys Acta* 1726: 96-101.
- **Olds D and Vandemark N L., 1957.** Composition of luminal fluids of bovine female genitalia. *Fertility Sterility* 8, 345-354.
- **Patrat C., Serres C., 2009.** La capacitation in vivo : influence de l'environnement féminin .Rôle of the female environment in sperm capacitation. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 37 : 536–539
- **Perkins J. L. Goode L., Wilder W. A and Henson D. B., 1965.** Collection of Secretions from the Oviduct and Uterus of the Ewe. *J Anim Sci.* 24:383-387.
- Perkins J. L., Goode L., 1965.** Effects of stage of the estrous cycle and exogenous hormones upon the volume and composition of oviduct fluid in ewes. *J ANIM SCI* 1966, 25:465-471.
- **Phillips., Robert S., Augusta B., Mccoord and Pommerenke W. T., 1952.** Serum electrolytes in the menstrual cycle. *Fert. Steril.* 3: 402.
- **Quinn P., Kerin JF., Warnes GM.,1985.** Improved pregnancy rate in human in vitro fertilization with the use of a medium based on the composition of human tubal fluid. *Fertil Steril*, 44:493-498.
- **Rath D., Schuberth HJ., Coy P et U Taylor., 2008.** Sperm Interactions from insemination to fertilization. *Reprod Dom Anim* 43 :2–11
- **Roberts G. P., Parker J. M and Symonds H. W., 1965.** Macromolecular components of genital tract fluids from the sheep. *J. Reprod. Fertil.* 55:247-254.
- **Roberts G. P., Parker J. M and Symonds H. W., 1976.** Macromolecular components of genital tract fluids from the sheep. *J.Reprod.Fert.*107:48-99
- **Rowan L. D., 1965.** The effects of stage of estrous cycle and high ambient temperature upon the composition of oviduct fluid in ewes. M.S. Thesis. North Carolina State University, Raleigh.
- **Rowlands GJ., Little W., Kitchenhamba., 1977.** Relationship between blood composition and fertility in dairy cows - a field study *J. Dairy Sci* 44:1-7
- **Rune E., 1965.** Biochimie et microbiologie de l'appareil génital. *Org.mond.Santé Sér.Rapp.techn.*, 303, 304, 305.
- **Schreiber M., Wei A et al., 1998.** Slo3, a novel pH-sensitive K⁺ channel from mammalian spermatocytes. *J Biol Chem* 273: 3509-16

- **Shultz R.H., Fahning M.L et Graham E.F., 1971.** A chemical study of uterine fluid and blood serum of normal cows during the oestrous cycle. *J.Reprod.Fert.*27:355-367
- **Slavik T., Dolezel R et Fulka J., 2000.** The collection of oviductal fluid from sheep. *VET.MET.CZECH* 45:153-158.
- **Soltner D., 1999.** Alimentation des animaux domestiques. Tome II -BP 157 – 79303 BRESSUIRE Cedex.
- **Soubeyrand S., Manjunath P., 1997.** Novel seminal phospholipase A2 is inhibited by the major proteins of bovine seminal plasma. *Biochim Biophys Acta*1341:183–188.
- **Spencer T. E and Bazer F. W., 2004.** Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals *J. Anim. Sci.* 66:3000–3009.
- **Suarez SS., Dai XB., DeMott RP., Redfern K et Mirando MA., 1992.** Movement characteristics of boar sperm obtained from the oviduct or hyperactivated in vitro. *J. Androl.* 13: 75-80.
- **Sudhir Chandra Roy., Uma Suganthi R et Jyotirmoy Ghosh ., 2006.** Changes in uterine protein secretion during luteal and follicular phases and detection of phosphatases during luteal phase of estrous cycle in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 65: 1292–1301
- **Suga T., 1975.** Pathways of carbohydrate in the bovine endometrial-chorionic unit as an embryonic nutrient. *Jpn Agr Res Quart.* 9:225–230.
- **Sutton M.L., Gilchrist R.B., Thompson J.G., 2003.** Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. *Hum. Reprod. Update* 9 : 35-48.
- **Tamara I., Mcnutt., Patricia Olds-Clarke F., Amy I., Susan S. Suarez S, and Gary Killian J., 1994.** Effect of Follicular or Oviductal Fluids on Movement Characteristics of Bovine Sperm during Capacitation *In Vitro.* *Journal of Andrology*15: 328-335.
- **Thibault C et Levasseur M-C., 2001.** La Reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouv. éd. ent. ref. ed. Paris: INRA : Ellipses, 2001:928 p., 928 p. de pl.
- **Thimonier J., Cognie Y., Lassoued N., Khaldi G., 2000.** L'effet mâle chez les ovins : une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. *INRA Prod. Anim.*, 2000, 13 (4), 223-231.
- **Tsiligianni T., Karagiannidis A., Roubies N., Saratsis P and Brikas P., 2002.** Concentration of calcium, zinc, magnesium, potassium and sodium in the bovine cervical mucus during normal oestrus and oestrus induced by progesterone and/or PGF (2alpha). *Reprod Fertil Dev.* 14(7-8):427-31.

- **Valdigué., 2000.** Biochimie clinique 2^e édition Allée de la Croix Bossée F-94234 Cachan cedex.
- **Vecchio D., Gasparrini B., Palo R. Di, Iemma L., Balestrieri M.L., Killian J.G., Zicarelli L., Campanile G.,2007.** Preliminary results on the composition of oviductal fluid in buffalo. Ital.J.Anim. Sci. vol. 6, (Suppl. 2), 731-734.
- **Voet D et,Voet G.J., 2000.** Biochimie. 2^e édition de boeck.
- **Wales R. G., 1973.** The uterus of the ewe .Chemical analysis of uterine fluid collected by cannulation. Aust. J. bioI. Sci 26: 947-59.
- **Wales RG et Waugh EE., 1993.** Catabolic utilization of glucose by the sheep conceptus between days 13 and 19 of pregnancy. Reprod Fertil Dev .5:111–122.
- **Watson A.J., Barcroft L.C., 2001.** Regulation of blastocyst formation. Front. Biosci. 6 : D708–D730.
- **Wenlei Cao., Haig K., Aghajanian., Lisa A., Haig-Ladewig and George L., 2009.** Sorbitol Can Fuel Mouse Sperm Motility and Protein Tyrosine Phosphorylation via Sorbitol Dehydrogenase. Biology of reproduction 80: 124–133.
- **Wijayagunawardane M P B., Miyamoto A., Taquahashi Y., Gabler C., Acosta T J., Nishimura M., Killian G and Sato K., 2001.** *In vitro* regulation of local secretion and contraction of the bovine oviduct: stimulation by luteinizing hormone, endothelin-1 and prostaglandins, and inhibition by oxytocin. Journal of Endocrinology 168:117–130
- **Wu G., Bazer FW., Cudd TA., Meininger CJ and Spencer TE., 2004a.** Maternal nutrition and fetal development. J Nutr.134:2169–2172.
- **Wu TP., Huang BM., Tsai HC., Lui MC., Liu MY., 2004b.** Effects of nitric oxide on human spermatozoa activity, fertilization and mouse embryonic development. Arch Androl 50:173-179.

Résumé

Les effets des phases de cycle œstral (folliculaire et lutéale) sur quelques paramètres biologiques (enzymes, électrolytes et protéines totales) des sécrétions utérines et oviductaires collectées des matrices ainsi les variations de la concentration des électrolytes et des protéines totales dans le sérum ont été étudiés chez des brebis abattues au niveau de l'abattoir public de la Wilaya de Batna. Les matrices ont été répartie en deux groupes : le premier, comporte des matrices en phase folliculaire et le deuxième comporte celles en phase lutéale.

Selon nos résultats, les concentrations de la TGP (39.88 ± 10.53 UI/L vs 146.0 ± 34.76 UI/L), le G-6-PDH (69.71 ± 9.41 UI/L vs 134.1 ± 17.85 UI/L) ; les protéines totales (25.16 ± 5.18 g/l vs 124.5 ± 43.04 g/l), le K (25.80 ± 2.61 mmol/l vs 44.60 ± 6.25 mmol/l), le Na (115.2 ± 7.88 mmol/l vs 159.8 ± 7.96 mmol/l) étaient significativement plus élevé durant la phase lutéale ($P < 0.05$) ; cependant les concentrations de l'aldolase (273.1 ± 58.69 UI/L vs 95.53 ± 17.75 UI/L), le Mg (9.05 ± 2.54 mg/l vs 2.04 ± 0.38 mg/l), le Ca (59.57 ± 17.57 mg/l vs 4.13 ± 1.18 mg/l) et le P (90.38 ± 1.72 mg/l vs 84.17 ± 2.05 mg/l) étaient significativement plus élevé durant la phase folliculaire ($P < 0.05$) dans les sécrétions utérines des brebis. Alors que dans les sécrétions oviductaires, seulement le K (83.80 ± 5.0 mmol/l vs 56.81 ± 6.84 mmol/l) et le Ca (232.1 ± 51.68 mg/l vs 95.09 ± 16.05 mg/l) présentent des variations cycliques significatives avec des concentrations plus élevées durant la phase folliculaire. Seulement le calcium sérique (81.24 ± 5.73 mg/l vs 56.95 ± 8.30 mg/l) était significativement plus élevé ($P < 0.05$) durant la phase folliculaire .

D'après cette étude, il a été révélé que certains paramètres enzymatiques et électrolytiques des sécrétions utérines et tubaires présentent des variations cycliques significatives. Ces paramètres peuvent être utilisés comme des indicateurs de l'état physiologiques des brebis.

Mots clés: cycle œstrale; enzyme; électrolyte; sécrétions; utérus; oviducte; brebis.

Abstract

The effects of estrous cycle phases (follicular and luteal) on some biological parameters (enzymes, electrolytes and total proteins) of uterine and oviductaire secretions, collected by matrices of sheep and changes in the concentration of electrolytes and total proteins in the serum, have been studied in Slaughtered sheep at the public abattoir of Wilaya of Batna. The matrices were divided into two groups: the first contains matrices in the follicular phase and the second includes those in the luteal phase. According to our results, concentrations of TGP (39.88 ± 10.53 UI / L vs. 146.0 ± 34.76 UI / L), G-6-PDH (69.71 ± 9.41 IU / L vs 134.1 ± 17.85 IU / L), total protein (25.16 ± 5.18 g / l vs. 124.5 ± 43.04 g / l), K (25.80 ± 2.61 mmol/l vs. 44.60 ± 6.25 mmol/l), Na (115.2 ± 7.88 mmol/l vs. 159.8 ± 7.96 mmol/l) were significantly higher during the luteal phase ($P < 0.05$), however concentrations of aldolase (273.1 ± 17.75 IU / L vs. 95.53 ± 17.75 IU / L), Mg (9.05 mg / l ± 2.54 vs. 2.4 ± 0.38 mg / l), Ca (59.57 ± 17.57 mg / l vs. 4.13 mg / l ± 1.18) and P (90.38 ± 1.72 mg / l vs. 84.17 ± 2.05 mg / l) were significantly higher during the follicular phase ($P < 0.05$) in uterine secretions of the sheep. While in oviductair secretions, only the K (83.80 ± 5.0 mmol/l vs. 56.81 mmol/l ± 6.84) and Ca (232.1 ± 51.68 mg / l vs. 95.09 ± 16.05 mg / l) show cyclic variations with significant ($P < 0.05$) higher concentrations during the follicular phase. Only calcium of serum (81.24 ± 5.73 mg / l vs. 56.95 ± 8.30 mg / l) was significantly higher ($P < 0.05$) during the follicular phase.

According to this study, it was revealed that some enzyme and electrolyte parameters of uterine and tubal secretion exhibit significant cyclical variations. These parameters can be used as indicators of physiological condition of the sheep.

Key words: estrous cycle; enzyme; electrolyte; secretions; uterus; oviduct; ewe.

المخلص

تم دراسة تأثير مرحلتى الدورة الودقية (الجريبية و الاصفرية) على بعض المكونات البيولوجية (الإنزيمات، الشوارد و البروتينات الكلية) في إفرازات الرحم و قناة المبيض و كذا تغيرات تراكيز الشوارد والبروتينات الكلية في المصل لأغنام ذبحت في المسلخ العمومي لولاية باتنة. تم تقسيم العينات إلى مجموعتين: الأولى تتضمن العينات في المرحلة الجريبية والثانية تضم العينات في المرحلة الأصفرية. أظهرت النتائج انه خلال المرحلة الاصفرية كانت تراكيز كلا من:

TGP (39.88 ± 10.53 UI/L vs. 146.0 ± 34.76 UI/L), G-6-PDH (69.71 ± 9.41 UI/L vs 134.1 ± 17.85 UI/L) البروتينات الكلية (25.16 ± 5.18 g/l vs. 124.5 ± 43.04 g/l)، البوتاسيوم (25.80 ± 2.61 mmol/l vs. 44.60 ± 6.25 mmol/l)، الصوديوم (115.2 ± 7.88 mmol/l vs. 159.8 ± 7.96 mmol/l) مرتفعة ($P < 0.05$). بينما معايرة Aldolase (273.1 ± 58.69 vs. 95.53 ± 17.75) المغنيزيوم (9.05 ± 2.54 mg/l vs. 2.04 ± 0.38 mg/l) الكالسيوم (59.57 ± 17.57 mmol/l vs 4.13 ± 1.18 mmol/l) و الفسفور (90.38 ± 1.72 mg/l vs 84.17 ± 2.05 mg/l) أبدت ارتفاع محسوس خلال المرحلة الجريبية ($P < 0,05$) في إفرازات الرحم. غير أن إفرازات قناة المبيض تميزت بارتفاع محسوس ($P < 0,05$) في تراكيز الكالسيوم (232.1 ± 51.68 mg/l vs 95.09 ± 16.05 mg/l) والبوتاسيوم (83.80 ± 5.0 mmol/l vs 56.81 ± 6.84 mmol/l) خلال المرحلة الجريبية.

الكالسيوم (81.24 ± 5.73 mg/l vs 56.95 ± 8.30 mg/l) وحده في المصل أبدى ارتفاع محسوس ($P < 0, 05$) خلال المرحلة الجريبية. من خلال هذه الدراسة تبين أن بعض الإنزيمات و الشوارد في إفرازات الرحم و قناة المبيض تميزت باختلافات دورية. يمكن استعمال هذه المكونات كمؤشرات على الحالة الفزيولوجية للأغنام.

الكلمات المفتاحية: الدورة الودقية، إنزيم، شوارد، إفرازات، الرحم، قناة المبيض، نعجة