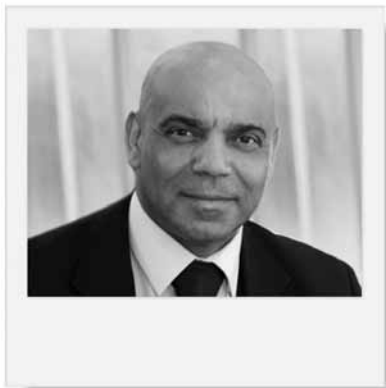


LE DOSSIER

Nutrition et fertilité

Nutrition et ovocyte

RÉSUMÉ: Les habitudes alimentaires associées parfois à d'autres facteurs environnementaux et/ou des perturbateurs endocriniens peuvent agir soit de façon directe ou indirecte sur la qualité ovocytaire au cours de la folliculogenèse, via des mécanismes génétique, épigénétique ou métabolique. Le régime alimentaire pourrait aussi modifier l'environnement biochimique et hormonal du liquide folliculaire ainsi que l'activité mitochondriale avec modification du système de contrôle et de neutralisation des voies de signalisation du stress oxydant. Ces effets réducteurs sur la qualité ovocytaire jouent un rôle incontestable sur le vieillissement précoce de la fonction ovarienne et le déclin du potentiel de fertilité chez la femme avec l'âge. Aujourd'hui, des régimes ou des compléments alimentaires attirent l'intérêt des patientes pour préserver le potentiel de fertilité et améliorer la qualité ovocytaire. Aujourd'hui, il est admis que certains ont des effets bénéfiques prouvés et d'autres pas. L'utilisation de tel produit ne doit pas être systématique et doit faire l'objet d'une recommandation médicale avec contrôle d'efficacité après traitement.



→ **M. BENKHALIFA, E. BERTHE, A. DEVAUX, P. MERVIEL, H. COPIN**
Médecine de la Reproduction et
Cytogénétique Médicale, CGO.
CHU et UFR de Médecine
Université de Picardie Jules-Verne,
AMIENS.

De nombreuses études menées chez l'animal ont permis de montrer que des modifications qualitatives ou quantitatives du régime alimentaire en période péri-conceptionnelle pouvaient avoir un impact sur la qualité ovocytaire. L'alimentation associée parfois à d'autres facteurs environnementaux agirait soit de façon directe ou indirecte sur la qualité ovocytaire au cours de la folliculogenèse, soit par un mécanisme génétique ou épigénétique. En effet, la gamétogenèse est une période critique dans l'effacement, l'acquisition et le maintien de l'empreinte. Par exemple, l'exposition à un régime hypercalorique est marquée par une altération de la qualité ovocytaire en termes de maturation et de métabolisme, à une modification de la cinétique du développement embryonnaire avec une altération de l'expression des gènes, probablement liée à un phénomène épigénétique d'empreinte parentale.

Les effets de la nutrition sur la qualité ovocytaire

En tant que facteur exogène et environnemental, la nutrition semble avoir un

impact sur l'environnement folliculaire et, par conséquent, sur la qualité ovocytaire. En effet, la nutrition pourrait modifier l'environnement biochimique et hormonal du liquide folliculaire.

>>> Chez la souris soumise à un régime hypercalorique pendant 16 semaines [1], il a été observé une modification de la composition du liquide folliculaire en phase pré-ovulatoire, avec élévation des taux d'insuline, de triglycérides (TG), lactates et de C. Réactive Protéine (CRP) (contribuant à l'augmentation du stress oxydant) et diminution de *Sex Hormone Binding Globuline* (SHBG), permettant une élévation indirecte de la testostérone libre à l'origine d'une hyperandrogénie. Les mêmes effets sont constatés chez la femme obèse [2].

>>> La réponse à l'insuline, à savoir la glycolyse, n'est pas altérée dans les cellules ovariennes dans l'espèce humaine en cas d'obésité, mais il semble exister une dérégulation de la voie de la lipogenèse qui est augmentée en cas d'augmentation de l'insuline et, plus particulièrement, au sein des cellules du cumulus. D'autre part, chez les obèses, on constate une alté-

LE DOSSIER

Nutrition et fertilité

ration de l'expression des gènes *SR-B1* et *CD36* dans les cellules de la granulosa. Ces gènes sont impliqués dans le transport du cholestérol et cette perturbation peut donc modifier la stéroïdogénèse et la lutéinisation des cellules à l'origine d'une dégradation de la qualité ovocytaire [1].

De plus, il semblerait que l'ovocyte soit particulièrement sensible à l'environnement folliculaire à partir du moment où il quitte le *pool* des follicules primordiaux, plusieurs mois avant l'ovulation [3].

>>> Il a été constaté chez des brebis nourries à volonté, un taux d'ovulation inférieur, des ovocytes et des embryons de qualité réduite par rapport aux femelles ayant consommé la moitié de leur ration. Une augmentation des apports hypercaloriques chez la souris soumise à un régime pendant 16 semaines est marquée par une diminution du taux d'ovulation. En revanche, en cas d'ovulation, le nombre d'ovocytes est plus important chez ces femelles obèses. Chez les souris soumises à un régime gras, il a été constaté une augmentation des taux de leptine conduisant à un hypogonadisme hypothalamique.

>>> L'hyperinsulinisme et la dyslipidémie associée conduisent à une anovulation et à un retard de développement embryonnaire. L'administration de rosiglitazone (sensibilisateur à l'insuline) permet de rétablir un développement embryonnaire normal [4]. Par exemple, chez la truie, en 2007, Ferguson *et al.* [5] ont observé une augmentation du nombre d'ovocytes matures (en métaphase II) en cas d'apports plus importants ou d'enrichissement du régime alimentaire en fibres 19 jours avant une ponction ovarienne. Une étude rétrospective définit la bonne qualité ovocytaire par la capacité de la reprise méiotique jusqu'à métaphase II et la qualité altérée par la persistance de VG, PV et lyse ovocytaire. Cano *et al.* [6] ont remarqué que le plus fort pourcentage d'ovocytes de bonne qualité est obtenu dans le

groupe où les BMI sont normaux par rapport aux groupes BMI > 25 et BMI < 20. L'analyse rétrospective de Marquard *et al.* [7] en FIV/ICSI a montré que les femmes obèses et/ou avec un syndrome des ovaires polykystiques ont des ovocytes de plus petite taille par rapport au groupe contrôle, ce qui coïncide avec les données des modèles de souris obèses et insulino-résistantes.

>>> Une perturbation de l'activité mitochondriale a été également évoquée pour expliquer l'altération de la qualité ovocytaire chez la femme obèse. En effet, la quantité et la distribution des mitochondries jouent un rôle clé dans les compétences fonctionnelles ovocytaires. Comme les mitochondries sont transmises par la mère et qu'aucune répllication ne survient avant l'implantation, toute déficience de ces organites peut affecter négativement la capacité de développement d'un embryon. Les mitochondries ovocytaires des femmes obèses ont un potentiel membranaire augmenté, une répartition inhomogène dans l'ooplasm, et génèrent plus de *Reactive Oxygen Species* (ROS). L'excès de stress oxydant perturbe la régulation de la génération des mitochondries et augmentent le nombre de copies d'ADN mt et qui peut aussi être altéré. Ces ovocytes ont donc moins de chance d'évoluer vers la formation d'un blastocyste par rapport aux souris non obèses. Cela peut expliquer l'importance d'une fonction mitochondriale normale pour un développement embryonnaire optimal

Pour les ovocytes de souris diabétique, il a été mis en évidence une altération de la structure des mitochondries, une diminution de l'expression de la protéine HSP90 dans les complexes cumulo-ovocytaires (CCO) et les ovocytes en suggérant une activation possible de la voie apoptotique [8]. De façon surprenante, la moyenne du nombre de copies d'ADN mt dans les ovocytes de souris diabétiques est significativement augmentée comme chez la femme âgée

ou obèse [9], comme si cette augmentation venait surseoir à un déficit comme un phénomène compensatoire pour garantir une production d'ATP. Les taux d'ATP (*Adenosine TriPhosphate*) et de métabolites du cycle TCA (*Tricarboxylic Acid Cycle*) sont diminués dans les ovocytes de souris diabétiques suggérant une diminution des fonctions mitochondriales en cas de diabète, en relation avec leurs anomalies de structure.

>>> Chez les souris diabétiques et stimulées, la reprise de méiose est diminuée (diminution du GVBD) et est associée à une diminution de progression vers la métaphase II après induction de l'ovulation [10]. Ce retard de reprise de la méiose induit par le glucose serait lié à une anomalie de communication entre l'ovocyte et les cellules du cumulus par dysfonctionnement des "*gap junctions*" [11]. Colton *et al.* [10] ont confirmé une réduction de la communication entre ces cellules chez la souris diabétique. L'expression de deux protéines de jonctions communicantes Cx26 et Cx43 est réduite dans les complexes cumulo-ovocytaires de souris diabétiques [12]. En incubant les CCO avec un inhibiteur, bloquant les jonctions communicantes, Ratchford *et al.* [12] ont mis en évidence un retard de "*breakdown*" de VG dans les ovocytes de souris alors que, chez le rat, on observe plutôt une induction de maturation ovocytaire.

>>> Les souris soumises à un régime hypercalorique enrichi en lipides pendant 16 semaines présentent également une élévation de l'apoptose dans les follicules conduisant à l'obtention d'ovocytes plus petits avec un retard de maturation. Les blastocystes obtenus présentent une expression réduite du récepteur IGF-1 induisant une insulino-résistance. Pourtant, ce récepteur est indispensable à la signalisation insulinique et au transport du glucose, principale source d'énergie à ce stade. D'autre part, il a été constaté une augmentation de l'expression placentaire du récep-

teur IGF-2 dans le placenta, associée à un ralentissement de croissance fœtale. Mais, après la naissance, dans des conditions d'alimentation normale, les descendants de souris obèses ont un poids supérieur à ceux du groupe contrôle après 25 jours.

>>> Chez les souris soumises à un régime hypercalorique pendant 16 semaines, le taux de fécondation n'est pas modifié, mais il existe une réduction du nombre de blastocystes formés avec une diminution du ratio de répartition cellulaire entre la masse cellulaire interne et le trophoblaste conduisant à un développement excessif des annexes placentaires aux dépens de l'embryon. Ces différents résultats sont corrigés par un traitement par un insulino-sensibilisateur (agoniste PPAR gamma) et permettent d'assurer un taux d'insuline et de triglycérides normal, un développement embryonnaire correct et une répartition cellulaire normale au sein de blastocystes.

>>> Une distribution anormale des mitochondries pendant le clivage embryonnaire est associée à un arrêt de cytokinèse et une lyse dans les blastomères ayant reçu peu d'organites [13]. Le traitement des zygotes avec une substance perturbant le fonctionnement mitochondrial s'accompagne aussi d'un retard de clivage embryonnaire [14]. Ainsi, il semblerait que le dysfonctionnement mitochondrial ovocytaire en cas de diabète soit transmissible à l'embryon contribuant au retard de développement, de malformations congénitales et même de pathologies métaboliques pour la descendance [15]. Les ovocytes de souris dont les apports alimentaires sont enrichis en acide gras poly-insaturés n-3 à longues chaînes, quatre semaines avant la ponction ovocytaire, présentent une distribution mitochondriale altérée ainsi qu'un taux de Ca^{2+} perturbé, avec une élévation du taux de *Reactive Oxygen Species*. Les embryons obtenus de ces ovocytes ont une morphologie altérée et une capacité réduite à former des blastocystes.

>>> Chez la truie, Ferguson *et al.* [5] ont émis l'hypothèse qu'un régime riche en fibres permet de déplacer les corticoïdes circulants dans le tube digestif vers les fibres ou de modifier le cycle entéro-hépatique des œstrogènes, en induisant une diminution des taux circulants d'œstradiol et ainsi de réduire le rétrocontrôle hypothalamique à l'origine d'une augmentation des pulses de LH en permettant l'amélioration de la maturation ovocytaire et en modifiant, du moins, la composition du liquide folliculaire. Peters *et al.* [16] ont observé que les embryons de souris carencées en micronutriments comme le zinc, dans les 3 à 6 jours encadrant la maturation ovocytaire, et la fécondation ont moins de cellules et présentent un retard de développement *in vitro* non corrigé par la supplémentation des milieux de culture.

>>> Chez le rat, en cas de régime pauvre en protéines, il a été observé une diminution de l'expression du gène d'empreinte *H19 mRNA* chez le mâle, mais pas chez la femelle [17]. Il a été montré que des brebis soumises à un régime enrichi en acides gras poly-insaturés, 4 semaines avant l'accouplement et jusqu'à 13 jours après l'ovulation, ont une plus forte proportion de mâles dans leur descendance. Les effets de l'ammonium seraient délétères sur le développement embryonnaire ; des embryons de brebis supplémentées en urée pendant 12 semaines présentent un retard de développement par rapport à un groupe contrôle. Ils utiliseraient plus de glucose et augmenteraient leur métabolisme de 2,8 fois.

Effets à long terme du profil nutritionnel en période périconceptionnelle sur la descendance

Les apports nutritionnels maternels peuvent avoir un impact sur la folliculogénèse et la fertilité des fœtus.

Chez la brebis, une réduction des apports couvrant seulement la moitié des besoins entre J0 et J30 de gestation s'accompagne d'une augmentation des follicules primordiaux dans les ovaires des fœtus femelles et une réduction des follicules primaires et pré-antraux à J110. Ceci s'accompagne d'un retard de méiose au sein des cellules germinales chez ces femelles, nées de mères sous-alimentées de l'accouplement à J65 de gestation [18]. Une autre étude de Kelly *et al.*, en 2005, n'a pas observée cette altération du déroulement de la méiose, mais en conclut que pour des ovocytes collectés chez des brebis de 9 semaines dont la mère a reçu 0,7 fois sa ration pendant la gestation, il existe une diminution du taux d'obtention de blastocystes *in vitro* par rapport à ceux issus de mères ayant reçu 1,5 fois leur ration.

Une sous-nutrition modérée pendant la gestation chez le mouton s'accompagne d'une élévation de la pression artérielle pour les fœtus *in utero*, pendant la période néonatale et à l'âge adulte. Chez les rongeurs, un régime pauvre en protéines pendant la période pré-implantatoire est marqué par une élévation de l'expression de la 11 β hydroxystéroïde déshydrogénase et du phosphoénolpyruvate, s'accompagnant d'une activation des glucocorticoïdes dans le foie fœtal avec une néoglucogénèse et l'existence d'une hypertension artérielle à l'âge adulte. De même, un régime pauvre en vitamine B et méthionine chez des brebis donneuses d'embryons avant le transfert s'accompagne d'une hypertension artérielle prédominante chez les mâles.

Ainsi, l'état de santé des descendants et leur susceptibilité à développer une pathologie même à l'âge adulte semblent conditionnés, du moins en partie, par "une programmation nutritionnelle" des grandes fonctions à partir des conditions alimentaires auxquelles ont été soumises les femelles gestantes. Ces constats laissent émerger l'hypothèse d'une altération de l'expression des

LE DOSSIER

Viscosupplémentation dans l'arthrose

gènes en relation avec un problème de régulation de l'empreinte parentale initiée par des mécanismes de méthylation ou par une altération de la structure des histones constituant une modification épigénétique.

Comment améliorer la qualité ovocytaire ?

Les échecs de procréation aussi bien chez des femmes jeunes ou plus âgées ont conduit à évoquer la question des moyens à mettre en œuvre pour améliorer la qualité ovocytaire et les chances de grossesse. Aujourd'hui, les compléments alimentaires et les conseils diététiques se développent et attirent l'intérêt des patientes, mais certains ont des effets scientifiques prouvés et d'autres pas. Leur utilisation ne doit pas être systématique et doit faire l'objet d'une recommandation médicale.

1. Quelques exemples

>>> **La restriction calorique**, sans atteindre la malnutrition, ralentirait le processus de vieillissement et allongerait l'espérance de vie. Ces arguments sont-ils valables pour l'ovocyte ? Une publication récente a montré des effets bénéfiques chez la souris. La restriction calorique aurait des effets positifs sur la ségrégation des chromosomes, la formation du fuseau et la fonction mitochondriale ovocytaire. Cette restriction calorique augmenterait aussi l'espérance de vie "génitale" et la survie de la descendance chez des femelles âgées. Les mêmes résultats ont été trouvés chez le singe rhésus.

>>> **La metformine** permet de diminuer les taux d'insuline en régulant l'insulino-résistance. Or, l'hyperinsulinisme est connu pour ses effets néfastes sur la qualité ovocytaire. Ainsi, la metformine améliorerait la qualité ovocytaire, mais dans un contexte de syndrome d'ovaires polykystique.

>>> **La vitamine D**. Aucune référence bibliographique n'existe concernant son impact sur la qualité ovocytaire. En revanche, chez l'homme, la vitamine D est corrélée à la mobilité spermatique et à la régulation de gènes dans les tissus reproducteurs. Une étude chez l'animal a montré qu'un taux faible de vitamine D est corrélé à une altération de la fertilité et à un risque de développer un syndrome d'ovaires polykystiques ou une endométriose chez la femme.

>>> **La mélatonine et le myo-inositol**. La mélatonine est un régulateur du rythme circadien. C'est aussi un anti-oxydant puissant qui protégerait l'ADN mitochondrial et nucléaire et, ainsi, améliorerait la qualité des ovocytes et des embryons en FIV, mais sans différence significative. D'autre part, la mélatonine est connue pour augmenter la fonction thyroïdienne et diminuer les taux de gonadotrophines, ce qui contribuerait à régulariser les cycles. Quant au myo-inositol, une augmentation de sa concentration dans le liquide folliculaire semble jouer un rôle positif dans la maturation folliculaire et représente un marqueur de bonne qualité ovocytaire.

>>> **La DHEA**. Cette molécule augmenterait la production et la qualité d'ovocytes, mais les détails de son mécanisme d'action reste encore non élucidé complètement. Elle est utilisée chez la souris aux ovaires normaux pour induire un phénotype de type syndrome des ovaires polykystiques (SOPK). Elle réduirait également le taux d'aneuploïdie embryonnaire. Néanmoins, il faut retenir qu'il s'agit d'une hormone stéroïde et que son utilisation doit être médicalement contrôlée. En effet, elle peut moduler positivement ou négativement la fonction thyroïdienne et le taux d'insuline. Aussi, l'administration de DHEA doit s'accompagner d'une surveillance.

>>> **Les anti-oxydants**. Le stress oxydant contribue au vieillissement somatique et cellulaire et altère aussi les fonctions de

reproduction. Chez la souris, une supplémentation en vitamines C et E permet de contrecarrer les effets de l'âge de la femelle sur le nombre et la qualité ovocytaire. Mais, des vitamines peuvent aussi diminuer la fonction ovarienne et utérine avec une diminution de la taille des portées et de la survie des descendants de sexe masculin. Enfin, une étude publiée récemment a montré que des souris recevant une faible concentration de N-acétyl-L-cystéine, présentent une amélioration de la qualité des ovocytes fécondés et du développement embryonnaire précoce et ce, même chez des souris âgées.

2. Précautions à prendre

Ces résultats conduisent à émettre des précautions quant à une utilisation répandue et sans avis médical de certains compléments alimentaires. Il est important de respecter des règles hygiéno-diététiques saines et équilibrées pour répondre aux besoins de l'organisme en nutriments essentiels aux grandes fonctions. D'autre part, toute supplémentation peut avoir des effets néfastes soit directement ou en induisant un dysfonctionnement hormonal ou de régulation cellulaire. Enfin, même si l'alimentation est un facteur modifiable et qui contribue aux fonctions de notre organisme, et notamment à la fonction de reproduction, il faut garder à l'esprit que la qualité des gamètes fait aussi l'objet d'une programmation génétique et épigénétique non modifiable.

Conclusion

Plusieurs études sur le modèle animal et humain ont montré l'importance d'obtenir une maturation nucléaire et cytoplasmique synchronisée de l'ovocyte pour une bonne fécondation et un bon développement embryonnaire. La moindre perturbation du fuseau, des granules corticaux ou des mitochondries est capable d'altérer la qualité ovocytaire

[19]. Sirard *et al.* [20] ont montré que la qualité ovocytaire influe sur la fécondation, la survie embryonnaire précoce, le maintien d'une grossesse évolutive, d'un développement fœtal et le risque de développer une pathologie d'empreinte à l'âge adulte pour la descendance. Aussi, la nutrition est un facteur environnemental parmi d'autres, mais qui reste modifiable et apparaît comme ayant une influence déterminante dans le profil de maturation et de compétence du gamète féminin.

Bibliographie

1. ROBKER R, AKISON L, BENNET B *et al.* Obese women exhibit differences in ovarian metabolites, hormones and gene expression compared with moderate weight women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009;94:1533-1540.
2. AGARWAL A *et al.* Role of oxydatif stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*, 2005;3:28.
3. ASHWORTH CJ, TOMA LM, HUNTER MG. Nutritional effects on oocytes and embryo development in mammals implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2009;364:3351-3361.
4. TORTORIELLO D, McMINN J, CHUA S. Dietary-induced obesity and hypothalamic infertility in female DBA/2J mice. *Endocrinology*, 2004;145:1238-1247.
5. FERGUSSON E, SELVIN J, HUNTER M *et al.* Beneficial effect of a high fibre diet on oocyte maturity and embryo survival in gilts. *Reproduction*, 2007;133:433-439.
6. CANO F *et al.* Oocyte quality in polycystic ovaries revisited: identification of a particular subgroup of women. *J Assist Reprod Genet*, 1997;14:254-261.
7. MARQUARD K *et al.* Polycystic ovary syndrome and maternal obesity affect oocyte size in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril*, 2011;95:2146-9-2149.e1.
8. NECKERS L, KERN A, Tsutsumi S. Hsp90 inhibitors disrupt mitochondrial homeostasis in cancer cells. *Chem Biol*, 2007;14:1204-1206.
9. STEUERWALD N, BARRITT JA, ADLER R *et al.* Quantification of mtDNA in single oocytes, polar bodies and subcellular components by real-time rapid cycle fluorescence monitored PCR. *Zygote*, 2000;8:209-215.
10. COLTON SA, PIEPER GM, DOWNS SM. Altered meiotic regulation in oocytes from diabetic mice. *Biol Reprod*, 2002;67:220-231.
11. DOWNS SM, HUDSON ED. Energy substrates and the completion of spontaneous meiotic maturation. *Zygote*, 2000;8:339-351.
12. RATCHFORD AM, ESGUERRA CR, MOLEY KH. Decreased oocyte-granulosa cell gap junction communication and connexin expression in a type 1 diabetic mouse model. *Mol Endocrinol*, 2008;22:2643-2654.
13. VAN BLERKOM J, DAVIS P, ALEXANDER S. Differential mitochondrial distribution in human pronuclear embryos leads to disproportionate inheritance between blastomeres: relationship to microtubular organization, ATP content and competence. *Hum Reprod*, 2000;15:2621-2633.
14. LIU F, ZHANG L, LI L. [Repopulation with exogenous mitochondria in the cell]. *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao*, 2002;35:243-247.
15. MOLEY K, VAUGHN W, DeCHERNEY A *et al.* Effect of diabetes mellitus on mouse pre-implantation embryo development. *J Reprod Fertil*, 1991;93:325-332.
16. PETERS J, WILEY L, ZIDENBERG-CHERR S *et al.* Influence of short-term maternal zinc deficiency on the in vitro development of preimplantation mouse embryos. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1991;198:561-568.
17. KWONG WY, MILLER DJ, URSELL E *et al.* Imprinted gene expression in the rat embryo-fetal axis is altered in response to periconceptual maternal low protein diet. *Reproduction*, 2006;132:265-277.
18. RAE MT, PALASSIO S, KYLE CE *et al.* Effect of maternal undernutrition during pregnancy on early ovarian development and subsequent follicular development in sheep fetuses. *Reproduction*, 2001;122:915-922.
19. RACOWSKY C, ORASANU B, HINRICHSEN MJ *et al.* Embryo quality based on ovulation induction: defining the differences. *Reprod Biomed Online*, 2005;11:22-25.
20. SIRARD MA, RICHARD F, BLONDIN P *et al.* Contribution of the oocyte to embryo quality. *Theriogenology*, 2006;65:126-136.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.