

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique
UNIVERSITÉ MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTÉ DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

**Effet d'un régime hypercalorique sur la fonction ovarienne
chez la souris *Mus Musculus***

Réaliser par :

M^{lle} Achoui Kahina

M^{lle} Slimani Lilya

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente : Mme LAKABI .L

MCA

UMMTO

Promotrice : Mme AKDADER-OUDAHMANE. S

MCB

UMMTO

Co-Promotrice: Mme KAMEL. A

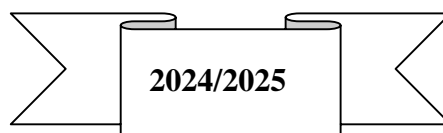
MCA

USTHB

Examinatrice: Mme CHOUGAR. S

MCA

UMMTO



Remerciements

Nous remercions avant tout Dieu Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la volonté et la santé nécessaires pour entreprendre et mener à bien ce travail.

*Nous adressons tout d'abord nos plus profonds remerciements à notre promotrice, **Madame AKDADER S** Maître de conférences classe B à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Son engagement, sa rigueur scientifique, sa bienveillance, ainsi que sa disponibilité constante malgré ses nombreuses responsabilités, ont été essentiels à la réussite de ce travail. Nous la remercions chaleureusement pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, sa patience et son soutien tout au long de ce projet.*

*Nous tenons également à exprimer notre sincère gratitude à notre Co-promotrice Madame **KAMEL. A** Maître de conférences classe A à la faculté des sciences biologiques de l'Université des sciences et de la technologie Houari-Boumediène pour ses conseils et son appui dans la réalisation de ce travail*

Nos vifs remerciements aux membres du jury pour avoir aimablement accepté d'examiner notre travail.

***Madame LAKABI L** Maître de conférences classe A à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, qui a fait l'honneur d'accepter de présider notre jury, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce mémoire et pour la confiance qu'elle nous a témoignée.*

***Madame CHOUGAR S** Maître de conférences classe A à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou., pour avoir accepté d'être notre examinatrice et pour l'attention qu'elle a consacrée à l'évaluation de ce travail.*

Enfin, nous remercions chaleureusement tous les enseignants du département de biologie de l'UMMTO, dont les enseignements ont enrichi notre compréhension et nourri notre démarche scientifique.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à ceux qui occupent la place la plus précieuse dans mon cœur.

À mon père Naguib, dont les sacrifices, souvent silencieux mais immenses, m'ont portée jusqu'ici. Son courage, sa force et son amour ont été les racines profondes de mon parcours.

À ma mère Noura, douce et compréhensive, ma tendre maman, mon refuge, ma meilleure amie. Ton amour inconditionnel m'a toujours apaisée et guidée.

À mes frères Boualem, Walid et Nabil, chacun à sa manière m'a tendu la main, m'a soutenue, m'a encouragée. Votre affection et vos attentions sont mes repères.

À ma sœur Nabila, mon bras droit, mon équilibre, Ta seule présence dans ma vie m'apaise. Avec toi, je n'ai peur de rien. Tu es ma force douce, celle que je remercie silencieusement chaque jour

À Boussad, mon beau-frère, pour ses gestes généreux et ses conseils pleins de justesse, qui m'ont été d'une aide précieuse,

Je dédie aussi ces lignes à une âme lumineuse et pleine de vie : mon cher neveu Amayas. Ce petit bout d'homme, qui tente en ce moment même de m'aider à écrire cette dédicace avec ses crayons, ses bavardages et son énergie débordante. Ton rire remplit mon cœur d'un bonheur pur. Je t'aime plus que tu ne puisses encore le comprendre.

À ma binôme Lilya, une présence précieuse, un vrai partage, une belle collaboration faite de respect, d'écoute et de bienveillance

À mes amies chères, Malha et Wassila, pour votre présence constante, vos mots réconfortants, votre écoute sincère et votre affection indéfectible. Vous avez su, chacune à votre manière, apaiser mes doutes et m'entourer de bienveillance

À celui qui, sans bruit, a été un pilier de ce travail : ta capacité à apaiser mes doutes, à me rappeler que je suis forte, à faire naître des rires même dans les moments les plus intenses, a fait toute la différence

Enfin je dédie ce travail à moi-même.

Kahina ♥

Dédicace

À mes parents bien-aimés, pour leur amour inconditionnel, leurs prières silencieuses, leur soutien constant et leur foi en moi à chaque étape de ce parcours.

*À mes frères **Meziane et Farès**, merci pour votre présence, vos encouragements et votre affection discrète mais si précieuse.*

*À ma chère sœur **Melissa**, pour ton amour, ton soutien et ta lumière dans ma vie.*

*À ma tante maternelle **Baya** et à son époux **Hamid**, merci pour votre générosité, votre affection, et votre soutien moral indéfectible.*

*À ma cousine **Koukou**, merci pour ta précieuse écoute, ta bienveillance et tes conseils, qui ont toujours su éclairer mes choix et apaiser mes doutes. Ton soutien constant m'a été d'une grande aide tout au long de ce parcours.*

*À mon cousin **Khaled** et sa femme **Dalila**, merci pour votre bienveillance et votre présence chaleureuse.*

*À **Anis**, mon petit ange bien-aimé, je te dédie ce travail avec l'espoir sincère de te voir, un jour, accomplir ton propre parcours scolaire avec succès. Que tes efforts te mènent loin, et qu'un jour, toi aussi, tu arrives à cette étape avec fierté et mérite.*

*À mon oncle maternel **Ahcène**, sa femme **Lila** et leur fils **Hacene**, merci pour votre soutien et vos encouragements.*

*À ma chère cousine **Zahra**, ma complice de toujours, merci pour ton écoute, ton amour, et ta douceur.*

*À mes précieuses amies **Sara, Kenza** : Vous avez été un véritable pilier pour moi. Votre présence m'a accompagnée à chaque étape, et je vous en suis profondément reconnaissante. Merci pour votre présence, votre complicité inestimable et pour cette belle amitié sincère tout au long de ces années.*

*À mes amies **Eva et Ouiza**, merci d'avoir partagé ce chemin avec moi avec encouragement, détermination et bienveillance*

*À ma binôme **Kahina**, merci pour ta collaboration, ta patience et ton engagement tout au long de cette aventure.*

*À mes grands-parents maternels **Ourdia et Hocine**, vous êtes dans mes pensées à chaque instant, et vos prières m'ont accompagnée.*

*À ma très chère grand-mère **Taous**, ton absence ne diminue en rien ta présence dans mon cœur. C'est à travers ton souvenir, ton amour et les valeurs que tu m'as transmises que j'ai puisé la force d'avancer. Ce travail te rend hommage.*

Lilya.

Résumé

L'infertilité féminine constitue un enjeu de santé publique préoccupant, souvent associée à des facteurs nutritionnels et métaboliques. Le but de notre étude est d'évaluer les effets d'un régime hypercalorique sur la fonction ovarienne chez la souris femelle *Mus musculus*. Un lot de 12 souris femelles a été réparti en deux groupes (témoin et expérimental), ayant reçu un régime hypercalorique pendant 3 mois. Des prélèvements d'organes et sanguins ont été réalisés, permettant le dosage de certains paramètres biochimiques. L'étude histochimique ainsi que morphométrique a été réalisée sur le tissu adipeux. Les résultats ont mis en évidence une augmentation significative du poids corporel et de la masse adipeuse chez les souris soumises à un régime hypercalorique, avec une hypertrophie et une hyperplasie des adipocytes, ainsi qu'une hyperglycémie. Parallèlement, une diminution significative du poids ovarien a été observée chez les animaux traités. Au niveau ovarien, l'étude a révélé une modification des marqueurs du stress oxydatif (élévation du MDA et diminution du GSH) ainsi qu'une réduction des protéines totales. L'analyse du cycle œstral a mis en évidence des perturbations majeures, notamment une prépondérance de la phase de diœstrus, suggérant un blocage de l'ovulation et une altération de l'activité ovarienne. Ces observations démontrent qu'un régime hypercalorique prolongé altère profondément la fonction ovarienne chez la souris femelle. Cette étude souligne l'importance d'une alimentation équilibrée pour la santé reproductive et suggère la nécessité de recherches complémentaires sur les mécanismes moléculaires, la réversibilité des effets et les interventions potentielles.

Mots-clés : Régime hypercalorique, ovaire, stress oxydatif, tissu adipeux

4HNE	4-hydroxynonéal
8-OH-Dg	8-hydroxy-2'-désoxyguanosine
17β-HSD	17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase
ACTH	Adrenocorticotropic Hormone
ADH	Hormone antidiurétique
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMH	Anti-Müllerian Hormone
APO	Aire Pré-Optique
BMP	Protéine morphogénétique osseuse
BSA	Albumine sérique bovine
CYP17A1	Cytochrome P450 17A1
CYP19A1	Aromatase
DHEA	Déhydroépiandrostérone
DHEAS	Déhydroépiandrostérone sulfate
DHT	Dihydrotestostérone
DNTB	5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque acide)
DO	Densité optique
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
FSH	Follicle-Stimulating Hormone
GDF	Facteur de différenciation de croissance
GH	Growth Hormone
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathion réductase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion oxydé

H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HVM	Hypothalamus Ventro-Médian
IGF	Insulin-like Growth Factor
IL	Interleukine
IPA	Institut Pasteur d'Alger
LH	Luteinizing Hormone
MDA	Malondialdéhyde
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NaCl	Chlorure de sodium
NaH₂PO₄	Phosphate monosodique
NO₃⁻	Ion nitrate
(OH•)	Le radical hydroxyle
OVD	Ovaire droit
OVG	Ovaire gauche
PA	Poids absolu
PGE	Prostaglandine E
PR	Poids relatif
-SH	Groupe thiol
SOD	Superoxyde dismutase
TA	Tissus adipeux
TBA	Acide thiobarbiturique
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta
TNB	5-thio-2-nitrobenzoïque acide
TNF-α	Tumor Necrosis Factor Alpha
TSH	Thyroid-Stimulating Hormone
(¹O₂)	L'oxygène singulet

Liste des figures et tableaux

Liste des figures

Figure 1 : Schéma anatomique de l'appareil urogénital chez la souris	3
Figure 2 : Schéma de la structure histologique de l'ovaire	6
Figure 3 : Représentation schématique des différentes phases de l'ovogenèse.....	10
Figure 4 : Schéma représentant les différentes étapes de la folliculogenèse.....	11
Figure 5 : Synthèse des androgènes.....	13
Figure 6 : Cytologie vaginale représentant chaque stade du cycle œstral. Trois types cellulaires sont identifiés : leucocytes (cercle), cellules épithéliales kératinisées (flèche noire) et cellules épithéliales nucléées (flèche blanche). Les stades du cycle œstral comprennent le proœstrus (A), l'œstrus (B), le métoœstrus (C) et le diœstrus (D).....	15
Figure 7 : Schéma de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique	18
Figure 8 : Mécanismes provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule	20
Figure 9 : Schéma sur la formation des radicaux libres	21
Figure 10 : Schéma des principales cibles des espèces réactives de l'oxygène	26
Figure 11 : Souris Mus Musculus	29
Figure 12 : Cage d'acclimatation des souris	30
Figure 13 : Répartition des souris utilisées dans l'étude.....	30
Figure 14 : Dissection de la souris	32
Figure 15 : Prélèvement des organes interne chez la souris : l'appareil reproducteur, tissu adipeux, foie, reins et les glandes surrénales (A) et pesée du tissu adipeux (B) et observation de l'appareil reproducteur femelle (C).....	33
Figure 16 : A : Étalement des cellules vaginales sur lame et B : séchage à l'air libre.....	35
Figure 17 : Lames de frottis vaginal colorées par May-Grünwald et Giemsa	36
Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'albumine sérique bovine (BSA) en fonction de sa concentration.	39
Figure 19 : Déshydratation des organes dans des bains d'alcool croissant.....	40
Figure 20 : Éclaircissement : 1er et 2ème bain de xylène	41
Figure 21 : Confection des blocs.....	42
Figure 22 : A : Confection des coupes avec un microtome ; B : Séchage des lames porte-objet en position inclinée.....	42
Figure 23 : Variation du poids corporel (g) chez les souris témoins (T) et expérimentales (E) soumises à un régime hypercalorique pendant 3 mois. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux	45
Figure 24 : Variation des poids absolus des ovaires droits (OV D), gauches (OV G) et des deux ovaires (2 OV) chez les souris du lot témoin (T) et du lot expérimental (E) soumis à un régime hypercalorique pendant 3 mois. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots expérimentaux et témoins.....	47
Figure 25 : Variation des poids relatifs des ovaires droit (OV D), gauche (OV G) et des deux ovaires (2 OV) chez les souris des lots témoin (T) et expérimental (E) soumis à un régime	

Liste des figures et tableaux

hypercalorique. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.	48
Figure 26 : Variation des poids absolus et relatifs du tissu adipeux chez le lot témoin (T) et le lot expérimental (E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots expérimentaux et témoins. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.	49
Figure 27 : Variation du taux de la glycémie chez le lot témoin (T) et le lot expérimental (E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.....	50
Figure 28 : Variation de la concentration des protéines (g/l) totales chez les deux groupes témoin (T) et expérimental (E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.....	51
Figure 29 : Variation du marqueur oxydant MDA (nmole/mg de protéines) dans l’ovaire gauche chez la souris. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.....	52
Figure 30 : Variation du marqueur antioxydant GSH (nmole/g de protéines) dans l’ovaire gauche chez les souris, * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.....	53
Figure 31 : Représentation des coupes histochemique du tissu adipeux chez les souris témoins(T) et expérimentales (E) à différents grossissements observés au microscope optique. (A et B : Tissu adipeux du groupe témoin(T) et expérimental (E) au grossissement ($\times 100$)), (C et D Tissu adipeux du groupe témoin (T) et expérimental (E) au grossissement ($\times 400$) ; AD : adipocytes ; VL : Vacuole lipidique.....	55
Figure 32 : Variation des mesures morphométriques des cellules adipeuses (μm) chez les souris témoins (T) et expérimentales(E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.	56
Figure 33 : Frottis vaginal en phase proestrus chez une souris témoin montrant l’ensemble des cellules presentent(CEN :cellules épithéliales nucléées ,CEK:cellules épithéliales kératinisées , LEU:leucocytes).....	57

Liste des figures et tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : La nomenclature systématique de la souris <i>Mus Musculus</i>	28
Tableau 2 : Liste des aliments utilisés dans le régime hypercalorique et les quantités données	31
Tableau 3 : Répartition des souris témoins (T1, T2, T3, T4, T5 et T6) et expérimentales (E1, E2, E3, E4, E5 et E6) en fonction des phases du cycle (CEN : cellules épithéliales nucléées, CEK : cellules épithéliales kératinisées, LEU : leucocytes).....	57

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

INTRODUCTION.....1

Chapitre I : Rappels bibliographiques

1 Appareil reproducteur femelle	3
1.1 Anatomie des organes génitaux femelles	3
1.1.1 Ovaire.....	3
1.1.2 Oviductes	4
1.1.3 Utérus.....	4
1.1.4 Vagin.....	5
1.2 Histologie des organes génitaux femelles	5
1.2.1 Ovaire.....	5
1.2.2 Oviductes	6
1.2.3 Utérus.....	7
1.2.4 Vagin.....	7
1.3 Vascularisation, Drainage Lymphatique et Innervation des Ovaires	8
1.4 Physiologie de l'ovaire	8
1.4.1 Ovogenèse.....	9
1.4.2 Folliculogenèse	10
1.4.2.1 Différents stades folliculaires.....	10
1.4.3 Ovulation.....	12
1.4.4 Stéroïdogenèse	12
1.4.5 Cycle œstral chez la souris.....	13
1.5 Régulation hormonale de la fonction ovarienne.....	15
1.5.1 Régulation hypothalamique	15
1.5.1.1 GnRH	15
1.5.2 Régulation hypophysaire	16
1.5.2.1 Hypophyse antérieure (adénohypophyse)	16
1.5.3 Régulation gonadique	17
1.5.4 Régulation paracrine et autocrine de la fonction ovarienne.....	18
2 Facteurs influençant la fonction de reproduction	19
2.1 Stress oxydatif	20
2.1.1 Radicaux libres.....	21
2.1.1.1 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	21
2.1.1.2 Espèces réactives à l'oxygène non radicalaires.....	21

2.1.2 Antioxydants	22
2.1.2.1 Antioxydants enzymatiques	22
2.1.2.1.1 Super oxyde dismutase (SOD)	23
2.1.2.1.2 Catalase (CAT)	23
2.1.2.1.3 Glutathion peroxydase (GPX)	23
2.1.2.2 Antioxydants non enzymatiques	23
2.1.2.2.1 Glutathion (GSH)	23
2.1.2.2.2 Vitamines	23
2.1.2.2.3 Caroténoïdes et Flavonoïdes	24
2.1.2.2.4 Acide folique (vitamine B9)	24
2.1.2.2.5 Oligoéléments	24
2.1.3 Conséquences biochimiques du stress oxydatif	24
2.1.3.1 Action sur l'ADN	25
2.1.3.2 Action sur les protéines	25
2.1.3.3 Action sur les lipides	25
2.1.4 Conséquences du stress oxydatif sur la fonction ovarienne	26
2.2 Tissus adipeux	27
Chapitre II : Matériel et méthodes	
1 Matériel	28
1.1 Matériel biologique	28
1.2 Conditions d'hébergement	29
1.3 Traitement expérimental	30
1.4 Sacrifice et prélèvement des organes	31
1.5 Matériel non biologique	34
2 Méthodes	34
2.1 Évaluation des paramètres biologiques	34
2.1.1 Mesure de la glycémie	34
2.1.2 Frottis Vaginal	34
2.1.2.1 Réalisation du frottis vaginal	34
2.1.2.2 Protocole de Coloration	35
2.1.2.3 Observation au microscope	36
2.1.3 Détermination du statut pro-oxydant/antioxydant	36
2.1.3.1 Préparation de l'homogénat	36
2.1.3.2 Évaluation des marqueurs oxydants	36
2.1.3.2.1 Dosage du malondialdéhyde (MDA) et mode opératoire	37
2.1.3.3 Évaluation des activités non enzymatiques anti oxydantes	37
2.1.3.3.1 Dosage de glutathion réduit (GSH) et mode opératoire	37
2.1.4 Dosage des protéines totales tissulaires	38
2.1.4.1 Réalisation de la courbe étalon	38
2.1.5 Étude histochimique	39

2.1.5.1 Fixation.....	39
2.1.5.2 Déshydratation	40
2.1.5.3 Éclaircissement.....	40
2.1.5.4 Imprégnation	41
2.1.5.5 Confection des blocs	41
2.1.5.6 Réalisation des coupes	42
2.1.5.7 Déparaffinage et réhydratation.....	43
2.1.5.8 Coloration.....	43
2.1.5.9 Observation des coupes.....	43
2.1.6 Étude morphométrique.....	43
2.1.7 Étude statistique	43
Chapitre III : Résultats et discussion	
1 Résultats	45
1.1 Études macroscopiques.....	45
1.1.1 Variation du poids corporel.....	45
1.1.2 Variation des poids des ovaires.....	46
1.1.2.1 Variation des poids absolus des ovaires	46
1.1.2.2 Variation des poids relatifs des ovaires.....	47
1.1.3 Variation des poids absolus et relatifs du tissu adipeux abdominal.....	48
1.2 Dosages de quelques paramètres biochimiques.....	49
1.2.1 Variation du taux de la glycémie	49
1.2.2 Dosage des protéines totales tissulaires	50
1.2.3 Évaluation des marqueurs oxydants et antioxydants ovariens.....	51
1.2.3.1 Variation du marqueur oxydant malondialdéhyde (MDA).....	51
1.2.3.2 Évaluation du marqueur antioxydant ovarien : le glutathion réduit (GSH)	53
1.3 Études microscopiques	53
1.3.1 Étude histochimique et morphométrique du tissu adipeux au Noir Soudan chez les deux lots étudiés	53
1.3.1.1 Étude histochimique du tissu adipeux chez les deux groupes : témoin (T) et expérimental(E).....	54
1.3.1.2 Étude morphométrique des coupes histochimiques du tissu adipeux chez les deux groupes étudiés.....	56
1.3.2 Étude cytologique du frottis vaginal	56
2 Discussion	59
2.1 Variation des poids corporels et du tissu adipeux des animaux et des mesures morphométriques témoins et expérimentés soumis à un régime hypercalorique.....	59
2.2 Variation des poids ovariens chez les animaux témoins et expérimentaux soumis à un régime hypercalorique	60
2.3 Effet du régime hypercalorique sur le statut oxydant /antioxydant et les protéines totales	61

2.4 Effet du régime hypercalorique sur la glycémie.....	63
2.5 Effet du régime hypercalorique sur le cycle oestral	63
Conclusion.....	65
Références bibliographiques	67
Annexes	
Résumé	

INTRODUCTION

La reproduction est un processus vital assurant la pérennité des espèces. Chez les mammifères femelles, elle repose sur le bon fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien, ainsi que sur l'intégrité morphologique et physiologique des organes génitaux (**Knobil et Neill, 2006**). Cet équilibre dépend d'une interaction étroite entre les signaux hormonaux, l'état métabolique et les conditions environnementales.

Au cours des dernières décennies, les profondes modifications des modes de vie ont conduit à une transition nutritionnelle marquée par une consommation accrue d'aliments riches en graisses saturées, en sucres raffinés et à haute densité énergétique (**Silvestris et al., 2018**). Ce régime, qualifié d'hypercalorique lorsqu'il dépasse les besoins énergétiques journaliers (souvent de 500 à 1000 kcal supplémentaires), est reconnu pour son implication dans l'apparition de divers troubles métaboliques : obésité, résistance à l'insuline, hyperinsulinémie et inflammation chronique de bas grade (**Akiyama et al., 1996**). Ces déséquilibres métaboliques ont des répercussions notables sur la santé reproductive. En effet, la fertilité est étroitement liée à la qualité nutritionnelle, qui influence directement le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique, la qualité des gamètes et la sécrétion des hormones sexuelles (**Silvestris et al., 2019**).

L'accumulation excessive de tissu adipeux, souvent observée lors d'un régime hypercalorique, ne constitue pas seulement une réserve énergétique, mais agit comme un véritable organe endocrinien sécrétant des adipokines et des cytokines pro-inflammatoires (**Gregor et Hotamisligil, 2011**). Cette dérégulation hormonale est souvent associée à une élévation de la glycémie, résultant d'une insulino-résistance progressive (**Zhang et al., 1994**). Ces altérations métaboliques exercent une influence directe sur la fonction ovarienne. En tant qu'organe central de la reproduction, l'ovaire remplit à la fois des fonctions exocrines (ovogenèse, ovulation) et endocrines (sécrétion d'œstrogènes et de progestérone), indispensables à la régulation du cycle œstral et à la préparation à une éventuelle gestation (**Richards et Pangas, 2010**).

Cet équilibre hormonal peut toutefois être compromis par un apport calorique excessif, favorisant le développement de pathologies telles que le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), des troubles de la folliculogénèse, des cycles anovulatoires, voire une infertilité (**Silvestris et al., 2018**). Ces pathologies sont souvent accompagnées d'un stress oxydatif accru, résultant d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité antioxydante de l'organisme altérant ainsi la physiologie ovarienne en affectant la qualité ovocytaire, la stéroïdogénèse et la croissance folliculaire (**Agarwal et al., 2012**).

Dans ce contexte, notre étude vise à évaluer de manière intégrée l'effet d'un régime alimentaire hypercalorique sur la fonction ovarienne chez des souris femelles *Mus Musculus*, un modèle expérimental largement utilisé pour l'étude de la reproduction en raison de sa forte homologie génétique avec l'espèce humaine.

Notre étude sera articulée en trois grandes parties :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique divisée en deux sections. La première abordera l'anatomie, l'histologie et la physiologie des organes génitaux femelles, tandis que la seconde explorera le rôle des marqueurs oxydants et antioxydants dans l'organisme.

Le deuxième chapitre portera sur les différentes procédures expérimentales, incluant l'administration d'un régime hypercalorique aux souris, suivie de l'étude histologique du tissu adipeux et de certains marqueurs du stress oxydatif.

Le troisième chapitre sera consacré à l'interprétation des résultats obtenus.

Chapitre I : Rappels bibliographiques

1 Appareil reproducteur femelle

L'appareil génital femelle comprend tous les organes responsables de la production des ovules, de la réception des spermatozoïdes, de la fécondation, du développement du fœtus et de son expulsion à la naissance (Gayrard, 2007). Les principaux organes de l'appareil reproducteur femelle sont : les ovaires, l'utérus, les oviductes, le vagin et la vulve (Figure 1).

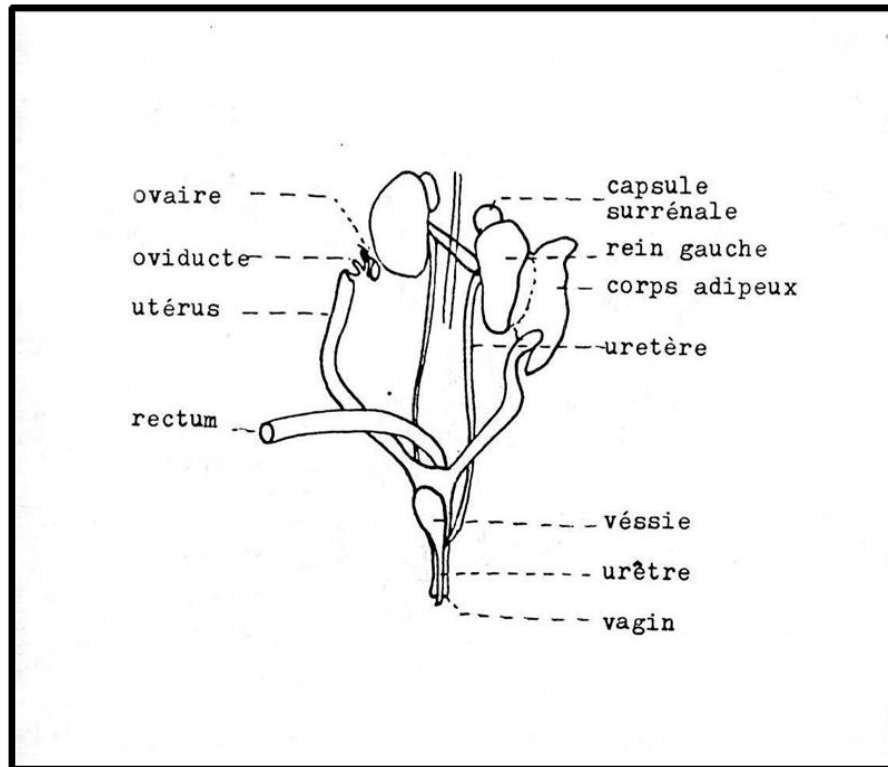


Figure 1 : Schéma anatomique de l'appareil urogénital chez la souris (Khelil, 1994)

1.1 Anatomie des organes génitaux femelles

Sur le plan anatomique, l'appareil reproducteur féminin comprend plusieurs organes interconnectés, chacun jouant un rôle clé dans le cycle reproductif, de la production des ovocytes à la mise bas (Treuting *et al.*, 2017).

1.1.1 Ovaire

En plus de leur rôle dans la production des ovules, les ovaires assurent également la sécrétion des principales hormones féminines, notamment les œstrogènes et la progestérone, qui sont essentielles au développement des caractères sexuels secondaires (Benchimol, 2014).

Chez certaines espèces, comme la ratte et la souris, les ovaires ne sont pas directement exposés à la cavité abdominale, mais sont enfermés dans une bourse ovarienne presque entièrement fermée (**Waynforth et Flecknell, 1992**).

1.1.2 Oviductes

Les oviductes, aussi appelés trompes utérines, sont des structures tubulaires et sinueuses qui relient les ovaires à l'utérus. Ils jouent un rôle fondamental dans le processus reproducteur en assurant la capture de l'ovocyte, la rencontre avec les spermatozoïdes, le site de la fécondation, ainsi que le transport de l'embryon vers l'utérus pendant les premières étapes de son développement (**Halter et al., 2011**).

Selon **Stewart et Behringer (2012)**, chaque oviducte est constitué de quatre segments distincts :

Pavillon (ou pré-ampoule) : une structure en forme d'entonnoir élargi, qui s'ouvre à proximité de la zone germinative de l'ovaire par un orifice abdominal (ostium abdominal).

Ampoule : une portion légèrement dilatée de l'oviducte.

Isthme : une section plus étroite qui relie l'ampoule à l'utérus.

Portion intra-murale (ou interstitielle) : elle traverse la paroi utérine et débouche dans la cavité utérine par l'orifice utérin (ostium uterinum).

1.1.3 Utérus

L'utérus est l'organe où l'embryon s'implante et se développe pendant la grossesse, assurant un environnement adapté à son développement jusqu'à la naissance. Il joue également un rôle important dans le transport et la maturation des spermatozoïdes, permettant leur arrivée à l'ovule pour la fécondation (**Cooke et al., 2013**).

L'utérus de point de vue anatomique, se divise en trois parties principales :

Cornes utérines, dans lesquelles se prolongent les oviductes.

Cavité utérine, où se développe l'embryon après l'implantation.

Col de l'utérus, un épaississement marqué de la paroi qui fait la jonction entre l'utérus et le vagin.

La morphologie de l'utérus varie selon les espèces, en fonction du degré de fusion des canaux de Müller et du développement du corps utérin. On distingue trois grandes formes anatomiques : l'utérus double, l'utérus bicorne et l'utérus simple (**Krinke, 2004**).

Chez la souris, l'utérus est de type bicorné, caractérisé par deux cornes utérines qui sont séparées sur presque toute leur longueur, mais fusionnent à leur extrémité postérieure pour former un corps utérin court. Les cornes utérines sont reliées aux ovaires par les oviductes, et à l'autre extrémité, elles communiquent avec le vagin via le col utérin (**Rousseau et Ménézo, 1991**).

1.1.4 Vagin

Le vagin de la souris est un conduit musculo-membraneux court et flexible, reliant le col de l'utérus au vestibule et à une ouverture externe située dorsalement par rapport à l'urètre. Il présente une connexion légère avec le rectum en haut et avec l'urètre en bas (**Rendi et al., 2012**). Cet organe joue un rôle crucial dans la reproduction, en étant à la fois l'organe de copulation et le siège du dépôt de la semence. Pendant le coït, il reçoit le pénis et, par des contractions musculaires, favorise l'ascension des spermatozoïdes. Lors de la parturition, il se distend pour permettre le passage du nouveau-né (**Marieb, 2013**).

L'évaluation du cycle œstral chez les souris gestantes ou pseudo-gestantes peut être réalisée par observation visuelle du vagin, une méthode rapide et simple. Cependant, sa précision peut être altérée par des variations de couleur de pelage entre les souches de souris ce qui peut compromettre l'efficacité de cette méthode (**Byers et al., 2012**), bien que l'examen visuel soit une approche pratique, il est essentiel de prendre en compte les différences de pigmentation inter-souches pour une évaluation précise du cycle œstral (**Byers et al., 2012**).

1.2 Histologie des organes génitaux femelles

L'histologie des organes génitaux femelles présente une organisation complexe et spécialisée, où chaque structure est précisément adaptée aux fonctions reproductrices. Les variations hormonales influencent la morphologie et le fonctionnement de ces organes tout au long du cycle reproductif (**Heffner, 2003**).

1.2.1 Ovaire

L'ovaire est constitué de plusieurs couches organisées de la périphérie vers le centre. Il est recouvert d'un épithélium cubique simple, appelé épithélium ovarien, sous lequel se trouve l'albuginée ovarienne, une fine couche de tissu conjonctif dense qui protège et sépare l'épithélium de la région fonctionnelle (**Hedon, 2005**).

Le stroma ovarien est composé d'un cortex périphérique et d'une médullaire centrale. Le cortex est la région fonctionnelle contenant les follicules ovariens, les corps jaunes et les corps

fibreux. La médullaire, une zone parenchymateuse de tissu conjonctif lâche, est riche en vaisseaux sanguins et en nerfs. Elle comporte également un hile qui permet l'innervation et la vascularisation de l'ovaire (**Figure 2**) (**Humeau et Arnal, 2007**).

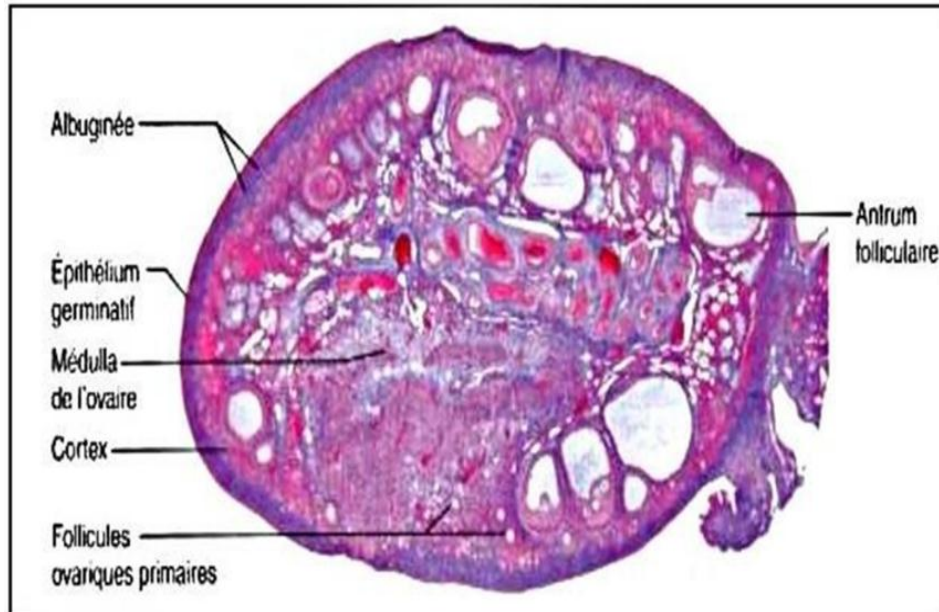


Figure 2 : Schéma de la structure histologique de l'ovaire (**Marieb et Hoehn, 2010**).

1.2.2 Oviductes

La paroi des trompes utérines, également appelées oviductes, présente une organisation en trois couches concentriques de l'intérieur vers l'extérieur. On distingue : la muqueuse, la musculuse et la séreuse.

La muqueuse est composée de cellules ciliées facilitant le transport des gamètes et des cellules sécrétrices produisant des fluides essentiels à la reproduction (**Banks, 1993**).

Sous l'épithélium tubaire, le chorion est constitué d'un tissu conjonctif lâche richement vascularisé, avec de nombreux plasmocytes, mastocytes et polynucléaires éosinophiles (**Priedkalns et Leiser, 1998**)

La musculuse est formée de fibres musculaires favorisant les contractions tubaires pour la progression des gamètes et de l'embryon (**Rousseau et Menezo, 1991**).

La séreuse, une couche externe conjonctive contenant vaisseaux et fibres nerveuses assurant l'innervation et la vascularisation des trompes (**Priedkalns et Leiser, 1998**).

1.2.3 Utérus

Chez la souris, comme chez les autres mammifères, l'utérus se compose de trois tuniques distinctes : la muqueuse (endomètre), la musculieuse (myomètre) et la séreuse. L'ensemble de ces structures subit des modifications histologiques cycliques sous l'effet des stéroïdes ovariens au cours du cycle œstral (**Banks, 1993**).

L'endomètre est tapissé d'un épithélium cylindrique simple, principalement constitué de cellules glandulaires sécrétrices et de cellules ciliées facilitant le transport des gamètes (**Sadler, 2018**). Le chorion sous-jacent se différencie en deux zones : une couche fonctionnelle superficielle, hautement vascularisée et infiltrée par des cellules immunitaires, et une couche basale constituée de tissu conjonctif lâche, moins cellulaire (**Priedkalns et Leiser, 1998**).

Le myomètre comprend deux couches de fibres musculaires lisses : une couche interne circulaire, plus épaisse au niveau du col utérin, et une couche externe longitudinale, qui s'épaissit progressivement pendant la gestation (**Tortora et Grabowski, 2005**). Entre ces deux couches se trouve une zone vasculaire intermédiaire, riche en vaisseaux sanguins et fibres nerveuses, essentielle à l'adaptation de l'utérus aux variations hormonales (**Priedkalns et Leiser, 1998**).

La séreuse utérine, ou périmétrium, constitue la couche externe de la paroi utérine. Elle est formée par le péritoine viscéral, composé d'un mésothélium pavimenteux simple reposant sur un tissu conjonctif lâche. Elle assure une protection mécanique et un soutien structural à l'utérus. Elle contient également quelques fibres musculaires lisses et se prolonge dans les ligaments larges qui stabilisent l'utérus dans la cavité pelvienne (**Ochoa-Bernal et Fazleabas, 2020**).

1.2.4 Vagin

Le vagin de la souris présente une organisation histologique en plusieurs couches distinctes, chacune ayant une fonction spécifique et une structure adaptée. Ces caractéristiques sont essentielles pour la compréhension de la physiologie reproductive de la souris (**Cora et al., 2015**). En partant de la lumière vaginale et en se dirigeant vers l'extérieur, les couches suivantes sont distinguées :

Épithélium : La surface interne du vagin est tapissée par un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé, essentiel pour résister aux frictions et aux traumatismes mécaniques (**Byers et al., 2012**).

Lamina propria : Sous l'épithélium, se trouve la lamina propria, une couche de tissu conjonctif lâche contenant des fibres élastiques et des vaisseaux sanguins fins, contribuant à la flexibilité et à l'irrigation sanguine de la muqueuse vaginale (**Westwood, 2008**).

Couche musculaire : en effet le vagin possède également une couche musculaire composée de fibres musculaires lisses organisées en deux sous-couches : une interne, à disposition circulaire, et une externe, à disposition longitudinale. Ces couches musculaires assurent le tonus et la contraction du vagin, permettant son élasticité et sa fonction mécanique (**Cora et al., 2015**).

La couche externe : appelée adventice, est constituée de tissu conjonctif dense, riche en fibres élastiques et en vaisseaux sanguins de grand calibre. Elle contient également des nerfs et des cellules ganglionnaires, contribuant à la régulation nerveuse et à la vascularisation du vagin (**Westwood, 2008**).

1.3 Vascularisation, Drainage Lymphatique et Innervation des Ovaires

Les ovaires sont majoritairement vascularisés par l'artère ovarique, issue de la face antérieure de l'aorte, et minoritairement par une branche de l'artère utérine. Ces artères s'anastomosent pour former une arcade vasculaire sous-ovarienne au sein du méso-ovarien, donnant naissance à des branches terminales (**Giraudet et Collinet, 2014**).

Le drainage lymphatique de l'ovaire se fait par un plexus lymphatique mésoovarique. Les collecteurs efférents suivent le trajet de l'artère ovarique et se dirigent vers les nœuds lymphatiques latérocaves et précaves à droite, ainsi qu'aux nœuds lymphatiques latéroaortiques et pré-aortiques à gauche (**Kamina et Martinet, 2014**).

L'innervation de l'ovaire provient des plexus ovariques, qui accompagnent les vaisseaux ovariques, ainsi que des plexus utérins (**Heffner, 2003**).

1.4 Physiologie de l'ovaire

Les ovaires exercent deux fonctions essentielles : exocrine et endocrine. Leur fonction exocrine consiste à assurer la libération cyclique d'un ovocyte mature lors de l'ovulation, un processus induit par la rupture folliculaire sous contrôle hormonal. Cette libération permet le transfert de l'ovocyte vers l'oviducte, un phénomène qui peut être reproduit in vitro par culture de follicules jusqu'à leur maturation complète (**Mazoyer et al., 2008**). Parallèlement, leur fonction endocrine repose sur la synthèse d'hormones stéroïdiennes essentielles telles que les œstrogènes, la progestérone et les androgènes à partir du cholestérol.

La FSH stimule la prolifération des cellules folliculaires, tandis que la LH déclenche l'ovulation. La régularité du cycle ovarien reflète le bon fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien (**Ferrieu-Garcia, 2017**).

1.4.1 Ovogenèse

L'ovogenèse, ou gamétogenèse femelle, est un processus biologique hautement régulé qui conduit à la formation d'un ovocyte mature, apte à être fécondé. Ce processus débute dès le développement embryonnaire avec la différenciation des cellules germinales primordiales (CGP), issues de l'épithélium postérieur du sac vitellin autour du 7^e jour de gestation chez la souris (**Norris et Lopez, 2011**). Ces cellules migrent ensuite vers les crêtes génitales sous l'influence de signaux chimiotactiques, où elles se différencient en ovogonies et entrent dans la phase de multiplication, caractérisée par des divisions mitotiques successives (**Monniaux et al., 2009**).

Les ovogonies poursuivent leur développement en entrant en méiose, un processus cellulaire de division réductionnelle qui réduit leur nombre chromosomique de diploïde ($2n$) à haploïde (n). Cependant, la méiose est bloquée à la prophase I, et les ovocytes demeurent dans cet état jusqu'à la naissance. Ce stade précoce de l'ovogenèse, caractérisé par la formation des ovocytes de premier ordre, se déroule principalement pendant la vie fœtale (**Pepling et Spradling, 2001**).

À la puberté, sous l'influence des hormones du cycle œstral, certains ovocytes I reprennent la méiose (**Figure 3**). La maturation ovocytaire commence avec l'achèvement de la méiose I, donnant naissance à un ovocyte II haploïde et à un premier globule polaire. Immédiatement après, l'ovocyte II démarre la méiose II, mais celle-ci est interrompue en métaphase II, un stade auquel l'ovocyte demeure bloqué jusqu'à la fécondation éventuelle. Si la fécondation se produit, la méiose II s'achève, menant à la formation d'un ovule mature et à l'expulsion d'un second globule polaire, marquant l'aboutissement de l'ovogenèse par la production d'un gamète féminin fonctionnel, prêt pour la fécondation (**Eppig, 2001**).

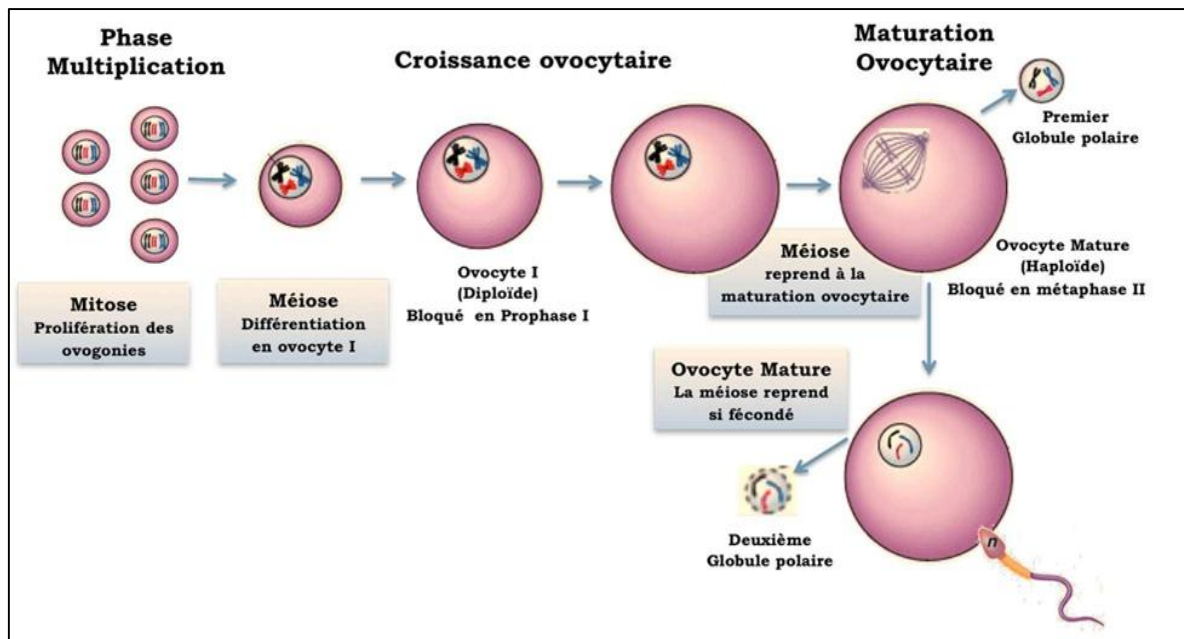


Figure 03 : Représentation schématique des différentes phases de l'ovogénèse (Anastácio,2014)

1.4.2 Folliculogénèse

La folliculogénèse est le processus dynamique par lequel les follicules ovariens passent par différents stades de maturation, depuis le follicule primordial jusqu'à l'ovulation. Ce processus, qui débute dès la vie fœtale, assure la croissance et la différenciation des cellules folliculaires et de l'ovocyte. Cependant, la majorité des follicules recrutés n'atteignent pas l'ovulation et subissent une dégénérescence appelée atrophie folliculaire (Bazot et al., 2016).

1.4.2.1 Différents stades folliculaires

Le follicule est une structure ovarienne dans laquelle se développe l'ovocyte. Chez la femme, plusieurs millions de follicules sont présents dès la naissance, mais seuls 300 à 400 d'entre eux parviendront à maturité au cours de la vie reproductive (Gougeon, 1996).

Selon McGee et Hsueh (2000), la folliculogénèse se déroule à travers des stades distincts :
 Follicule primordial : Il mesure environ 35 µm et est constitué d'un ovocyte entouré d'une seule couche de cellules folliculaires aplaties.

Follicule primaire : L'ovocyte est entouré d'une couche de cellules cuboïdes, marquant le début de son activation. Ce stade est essentiel pour la formation des jonctions communicantes entre l'ovocyte et les cellules folliculaires.

Follicule secondaire : Il se caractérise par la prolifération des cellules de la granulosa, formant plusieurs couches autour de l'ovocyte. Parallèlement, la thèque folliculaire commence à se différencier, contribuant à la production d'androgènes.

Follicule tertiaire (ou antral) : La formation de l'antrum, une cavité remplie de liquide folliculaire, est une caractéristique clé de ce stade. L'expansion du *cumulus oophorus* et la différenciation des cellules de la thèque interne et externe se poursuivent sous l'influence des gonadotrophines.

Follicule pré-ovulatoire (de De Graaf) : Il atteint environ 20 mm de diamètre et est prêt pour l'ovulation. L'ovocyte reprend alors sa méiose et entre en métaphase II, en réponse au pic de LH.

Follicule atresique : La majorité des follicules entrent en atresie au cours de leur développement. Ce processus implique une apoptose des cellules de la granulosa et une résorption de l'ovocyte, régulée par des facteurs pro- et anti-apoptotiques (**Figure 4**).

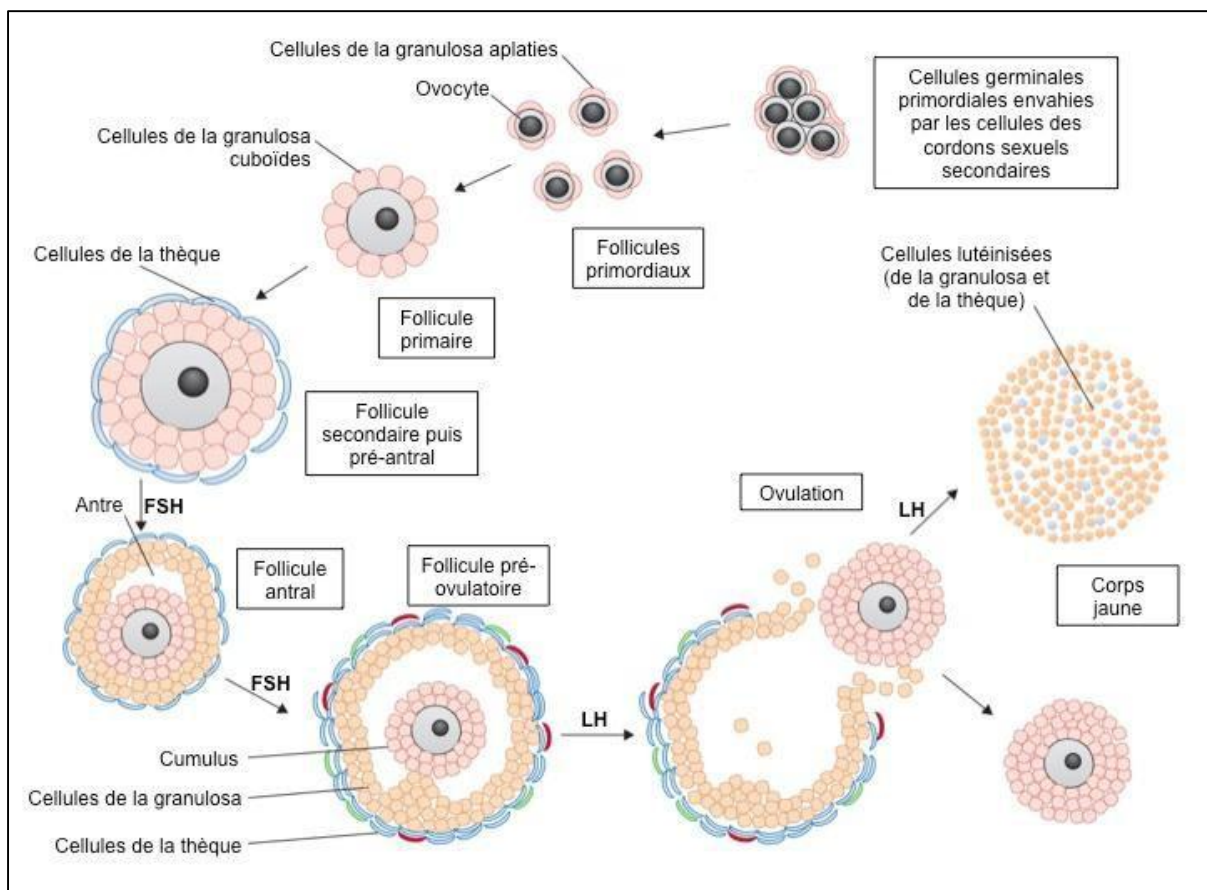


Figure 4 : Schéma représentant les différentes étapes de la folliculogenèse (Georges et al., 2014)

1.4.3 Ovulation

L'ovulation est déclenchée par un pic de l'hormone lutéinisante (LH), entraînant la rupture du follicule mûr et la libération de l'ovocyte dans l'oviducte. Chez la souris, cet événement périodique se produit généralement tous les 4 à 5 jours en l'absence de gestation (**McGee et Hsueh, 2000**).

L'ovocyte libéré est entouré des cellules du *cumulus oophorus*, qui facilitent sa capture par l'oviducte et jouent un rôle clé dans la fécondation. Il reste bloqué en métaphase de la méiose II jusqu'à la fécondation. Le follicule rompu se transforme en une structure endocrine temporaire appelée corps jaune, qui sécrète principalement de la progestérone, nécessaire au maintien de la phase lutéale et à la préparation de l'utérus pour une éventuelle gestation (**Richards et Pangas, 2010**). En l'absence de fécondation, il dégénère rapidement (**Pepling, 2012**).

1.4.4 Stéroïdogénèse

La stéroïdogénèse ovarienne désigne la production d'hormones stéroïdiennes sexuelles par les ovaires. Bien que l'ovaire soit le site principal de cette synthèse, d'autres organes comme les surrénales, le foie et le tissu adipeux y contribuent à des niveaux moindres (**Bazot et al., 2016**). Les ovaires sécrètent principalement trois classes d'hormones : les œstrogènes, la progestérone et les androgènes.

Les œstrogènes, hormones stéroïdiennes dérivées du cholestérol, comprennent l'estrone (E1), l'estradiol (E2) et l'estriol (E3). Principalement synthétisées par les ovaires, ces hormones sont également produites en moindre quantité par les glandes surrénales. Elles jouent un rôle crucial dans la reproduction, en modulant l'ovogenèse, la maturation folliculaire, le développement des caractères sexuels secondaires, la croissance osseuse et le fonctionnement des organes reproducteurs (**Drummond, 2006**).

La progestérone est sécrétée principalement par le corps jaune après l'ovulation. Cette hormone stéroïdienne est cruciale pour la préparation et le maintien de la grossesse. Elle favorise la croissance de l'endomètre, modifie le mucus cervical et inhibe les contractions utérines (**Brooker, 2000**).

Les androgènes, chez la femme pré-ménopausée, sont principalement la déhydroépiandrostérone sulfate (DHEAS), la déhydroépiandrostérone (DHEA), l'androstènedione (A) et la dihydrotestostérone (DHT), classés par ordre décroissant de concentration sérique. Bien qu'ils soient présents en quantités inférieures à celles observées

chez l'homme, ces androgènes jouent un rôle essentiel dans la production des œstrogènes et influencent divers processus physiologiques (**figure 5**) (**Goldman et al., 2007**).

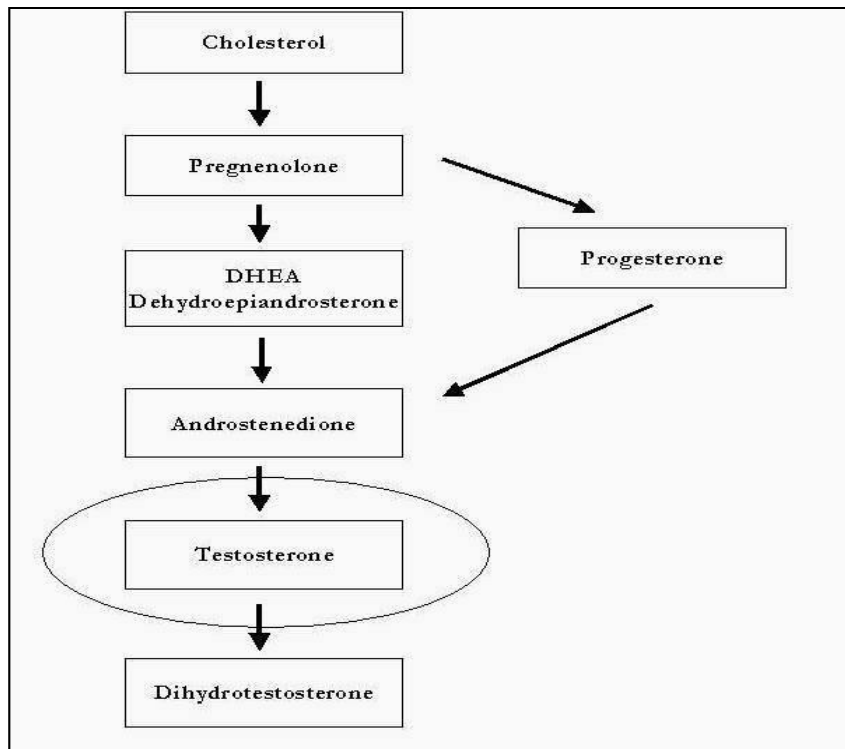


Figure 5 : Synthèse des androgènes (**Brooker, 2000**).

1.4.5 Cycle œstral chez la souris

Le cycle œstral chez la souris est un processus physiologique cyclique permettant la préparation de l'utérus à une éventuelle gestation. Contrairement au cycle menstruel humain, il ne s'accompagne pas d'une desquamation de l'endomètre, celui-ci étant entièrement réabsorbé. Ce cycle dure en moyenne 4 à 5 jours et est influencé par des facteurs environnementaux, tels que la photopériode et la température. En laboratoire, il se déroule de manière continue tout au long de l'année, y compris en période post-partum (**McLean et al., 2012**).

Il comprend quatre phases successives : proœstrus, œstrus, métœstrus et diœstrus, chacune étant définie par des modifications hormonales et morphologiques influençant la fertilité et le comportement reproducteur (**Caligioni, 2009**). L'identification des différentes phases repose sur l'examen cytologique des frottis vaginaux, où l'évolution des populations cellulaires permet d'établir le stade du cycle (**Figure 6**) (**Byers et al., 2012**). Il comprend :

Proestrus correspond à la phase folliculaire, marquée par une augmentation des œstrogènes sous l'effet de la FSH. Cette période précède l'ovulation et dure environ 12 à 14 heures (**McLean et al., 2012**). L'épaississement de l'épithélium vaginal et l'augmentation de la vascularisation de l'endomètre préparent la réceptivité sexuelle (**Caligoni, 2009**).

Les frottis vaginaux se caractérisent par une prédominance de cellules épithéliales nucléées, accompagnées de rares cellules kératinisées (cornifiées) et d'une faible présence de leucocytes (**Byers et al., 2012**).

Œstrus correspond à la phase où l'ovulation survient sous l'effet du pic de LH et FSH. Les taux d'œstrogènes atteignent leur maximum, favorisant une forte kératinisation de l'épithélium vaginal et une réceptivité sexuelle accrue. L'ovulation survient vers la fin de cette phase, environ 8 à 10 heures après le pic de LH. L'endomètre atteint son développement optimal en prévision d'une implantation éventuelle. Cette phase dure 9 à 15 heures et représente le pic de fertilité de la femelle (**Caligoni, 2009 ; McLean et al., 2012**).

La cytologie vaginale est dominée par des cellules kératinisées, sans leucocytes ni cellules épithéliales nucléées (**Byers et al., 2012**).

Métoestrus (ou dioestrus I) est une phase de transition marquée par la formation du corps jaune et la sécrétion de progestérone. Cette hormone favorise l'épaississement de l'endomètre et inhibe la maturation de nouveaux follicules. Cette phase dure environ 24 heures (**McLean et al., 2012**).

Les frottis vaginaux présentent un mélange de leucocytes, de cellules kératinisées et de cellules épithéliales nucléées, traduisant la transition hormonale (**Byers et al., 2012**).

Dioestrus (ou dioestrus II) correspond à la phase lutéale, au cours de laquelle le corps jaune assure une production prolongée de progestérone afin de maintenir l'endomètre. En l'absence de gestation, la dégénérescence du corps jaune entraîne une chute des taux hormonaux, permettant le retour au proestrus et le redémarrage d'un nouveau cycle. Cette phase dure 40 à 48 heures en moyenne (**McLean et al., 2012**).

Les frottis vaginaux se caractérisent par une abondance de leucocytes, accompagnés d'une rare présence de cellules épithéliales et d'une absence de cellules kératinisées, traduisant la dominance de la progestérone en fin de cycle (**Byers et al., 2012**).

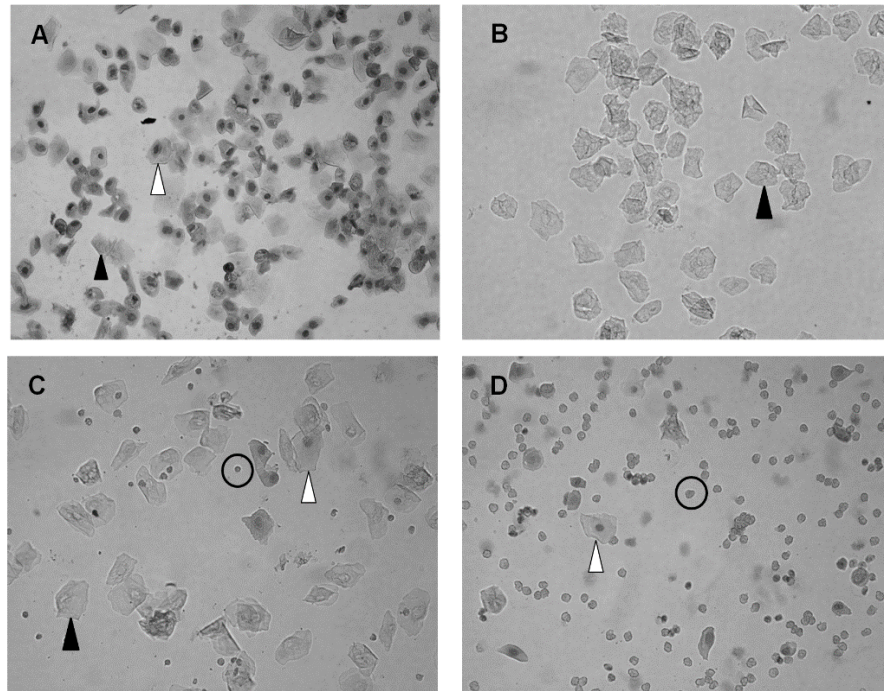


Figure 6 : Cytologie vaginale représentant chaque stade du cycle œstral. Trois types cellulaires sont identifiés : leucocytes (cercle), cellules épithéliales kératinisées (flèche noire) et cellules épithéliales nucléées (flèche blanche). Les stades du cycle œstral comprennent le proœstrus (A), l'œstrus (B), le métoœstrus (C) et le diœstrus (D) (**Byers et al, 2012**)

1.5 Régulation hormonale de la fonction ovarienne

La reproduction et en particulier la fonction ovarienne, est sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique, où chaque niveau assure la production et la libération d'hormones (**Gore, 2002**).

1.5.1 Régulation hypothalamique

L'hypothalamus, structure clé du cerveau, joue un rôle intégrateur essentiel en recevant divers types d'afférences neuronales (provenant du cortex), endocriniennes (issues des glandes périphériques) et métaboliques. Il est également influencé par des stimuli externes, notamment environnementaux, participant ainsi à la régulation de nombreuses fonctions physiologiques (**Durand et Beaudeau, 2011**).

1.5.1.1 GnRH

La GnRH est une hormone peptidique composée de dix acides aminés, produite principalement par les neurones du noyau arqué et de l'aire Pré Optique de l'hypothalamus (**Duittoz et Prévot, 2014**). Elle joue un rôle clé dans la régulation des fonctions gonadiques en stimulant la production de FSH et LH par l'antéhypophyse (**Thibault et Levasseur, 2001**).

La GnRH se lie à des récepteurs spécifiques sur les cellules gonadotropes de l'hypophyse, ce qui entraîne la libération de ces hormones. Sa sécrétion est pulsatile, un phénomène crucial pour contrôler la quantité et la libération de FSH et LH, influençant ainsi la fonction des gonades. Bien que la GnRH soit produite en petites quantités et sa demi-vie soit inférieure à cinq minutes, elle reste très efficace. Sa structure en forme de fer à cheval est nécessaire pour qu'elle se lie correctement à son récepteur et accomplisse sa fonction biologique (**Duittoz et Prévot, 2014**). Les neurones à GnRH forment un réseau dans l'hypothalamus, s'étendant de l'Aire Pré-Optique (APO) à l'Hypothalamus Ventro-Médian (HVM), avec des projections vers l'éminence médiane (EM). Là, la GnRH est libérée dans le système porte hypothalamo-hypophysaire, ce qui permet de contrôler la fonction gonadique (**Wray, 2010**).

1.5.2 Régulation hypophysaire

L'hypophyse est une glande endocrine logée dans la fosse hypophysaire de l'os sphénoïde, où elle est protégée par la selle turcique. Elle est reliée à l'hypothalamus par la tige hypophysaire (tige pituitaire) et régulée par les neuro-hormones hypothalamiques. Cette glande se divise en deux lobes distincts : l'anté-hypophyse, située en avant, et la post-hypophyse, en arrière (**Heffner, 2003**).

1.5.2.1 Hypophyse antérieure (adénohypophyse)

L'adénohypophyse est exclusivement constituée d'épithélium glandulaire et ne contient aucun tissu nerveux (**Bommas-Ebert et al., 2008**). Elle assure la production des hormones antéhypophysaires, synthétisées par des cellules endocriniennes organisées en cordons, séparés par une lame basale péri-cordonale. On y retrouve également des cellules folliculaires, des cellules non endocriniennes jouant un rôle dans la phagocytose (**Baqué et Hekayem, 2022**). Parmi les hormones sécrétées, la FSH, la LH, l'ACTH, la prolactine, la TSH et la GH.

La FSH est sécrétée de manière pulsatile par les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse, sous le contrôle de la GnRH. Il s'agit d'un hétérodimère glycoprotéique, composé de deux sous-unités, α et β . La FSH exerce son action en se liant à des récepteurs spécifiques situés sur les cellules de la granulosa des follicules ovariens, où elle induit leur croissance et leur développement, tandis que la LH est un hétérodimère composé de la même sous-unité α que la FSH et d'une sous-unité β spécifique, sécrétée de manière pulsatile par l'hypophyse antérieure sous le contrôle de la GnRH (**Empereire, 2013**). **Scanlon et Sanders (2006)** rapportent qu'à la fin de la phase folliculaire, elle déclenche l'ovulation et favorise la formation du corps jaune.

Le lobe postérieur de l'hypophyse, constitué de tissu nerveux, est directement connecté à l'hypothalamus via la tige pituitaire. Elle est principalement formée de terminaisons axonales de neurones provenant de l'hypothalamus, situés dans les noyaux supra-optiques et paraventriculaires. Ces neurones produisent deux neurohormones dans leurs corps cellulaires : l'ocytocine et l'hormone antidiurétique (ADH) (**Marieb et Hoehn, 2014**).

1.5.3 Régulation gonadique

L'ovaire est un organe central de la reproduction féminine, à la fois fournisseur de gamètes et régulateur des fonctions hormonales. Il sécrète des hormones ovariennes, sous l'influence des gonadotrophines, grâce aux follicules qui évoluent tout au long du cycle (**Chalmey, 2013**).

L'œstradiol, principal œstrogène synthétisé par les cellules de la granulosa sous l'effet de la FSH, exerce un rétrocontrôle sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. À faible concentration, il inhibe la sécrétion de FSH et de LH, limitant ainsi la croissance folliculaire. Cependant, lorsque le follicule dominant produit une quantité importante d'œstrogènes, ceux-ci induisent un rétrocontrôle positif qui stimule la sécrétion des gonadotrophines, en particulier le pic de LH déclenchant l'ovulation. De plus, au niveau ovarien, les œstrogènes potentialisent l'effet de la FSH, favorisant la maturation folliculaire (**Williams et Erickson, 2012 ; Marieb et Hoehn, 2013**).

La progestérone produite par le corps jaune après l'ovulation, est essentielle au maintien de la phase lutéale. Elle exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, inhibant la libération de GnRH, LH et FSH, ce qui empêche une nouvelle ovulation (**Hsueh, Adashi et al., 2015 ; Marieb et Hoehn, 2013**). Son rôle est important pour le cycle ovarien et pour préparer l'endomètre à la nidation en favorisant sa croissance (**Groothuis et al., 2007**) (**Figure 7**).

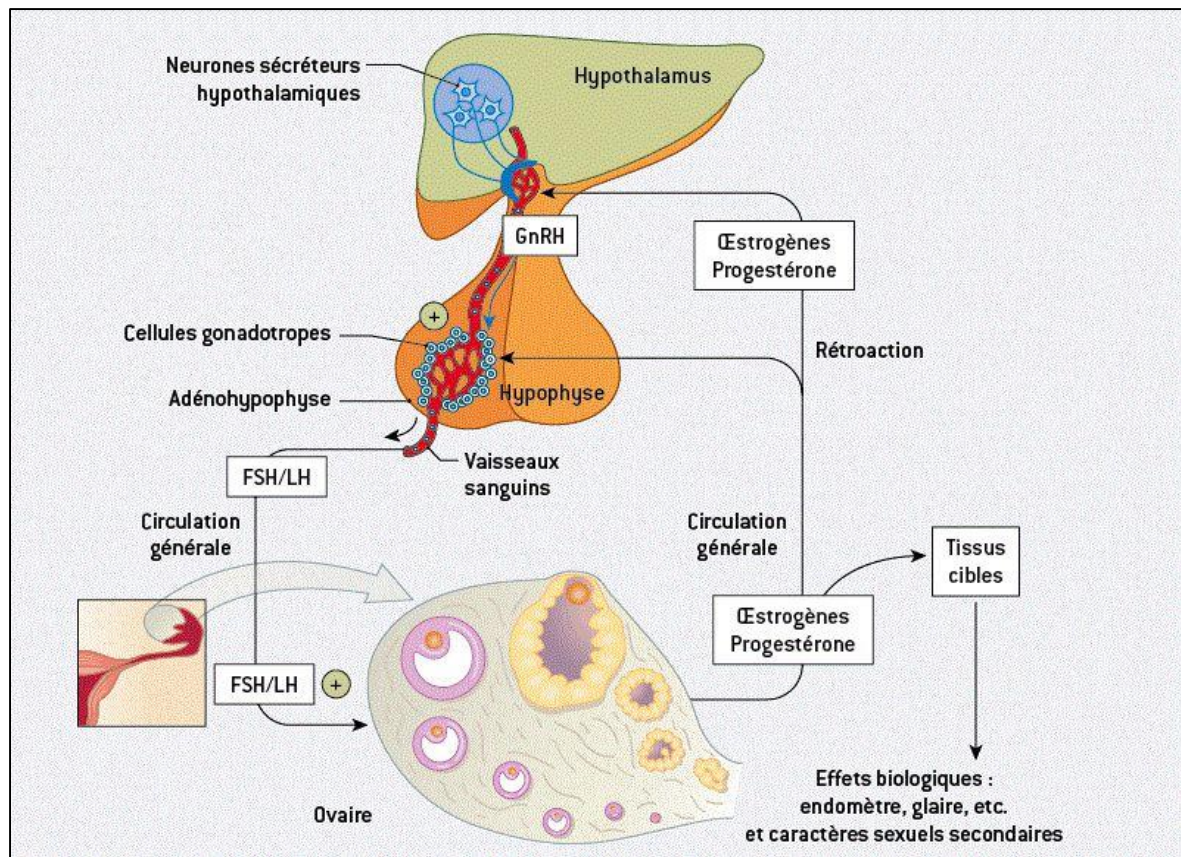


Figure 7 : Schéma de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique (Inserm,2011)

1.5.4 Régulation paracrine et autocrine de la fonction ovarienne

La fonction ovarienne est régulée par des mécanismes complexes impliquant à la fois des signaux endocriniens et des interactions locales. La régulation paracrine et autocrine joue un rôle essentiel dans la modulation de la folliculogenèse, de la stéroïdogénèse et de l'ovulation (Findlay, 1994). Parmi ces facteurs, l'activine, glycoprotéine sécrétée par les cellules de la granulosa et appartenant à la superfamille du TGF- β , stimule la sécrétion de FSH et favorise le développement des follicules préantraux. Ce facteur local joue un rôle essentiel dans la modulation fine de la réponse folliculaire aux gonadotrophines (Mather et al., 1993).

Un autre facteur paracrine l'inhibine, également sécrétée par la granulosa, exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse en inhibant la libération de FSH. Elle limite ainsi l'excès de stimulation folliculaire, jouant un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre hormonal (Knight et Glistler, 2006). Tandis que la follistatine qui se lie à l'activine, neutralisant ainsi son action, modulant indirectement la production de FSH. Ce mécanisme permet une régulation fine de l'activité de l'activine et contribue à la coordination des interactions locales dans l'ovaire (Sugino et al., 1997).

Comme l'inhibine et l'activine, l'hormone anti-müllérienne (AMH) est une glycoprotéine appartenant à la superfamille du TGF- β . Elle est sécrétée par les cellules de la granulosa des follicules préantraux et antraux précoces, de la naissance à la ménopause (**Makkar, 2018**). L'AMH intervient dans la régulation de la réserve ovarienne en inhibant le recrutement des follicules primordiaux (**Durlinger et al., 2002**) et en réduisant la sensibilité des follicules à la FSH, retardant leur développement jusqu'à la sélection du follicule dominant (**Visser et al., 2006**). Sa concentration, corrélée au nombre de follicules en croissance, constitue un marqueur fiable de la fertilité et de la fonction des cellules de la granulosa (**Broer et al., 2014**). Elle atteint un plateau à la puberté sous l'effet des androgènes et permet d'évaluer le potentiel reproducteur, notamment dans certaines pathologies comme le syndrome de Turner (**Lunding et al., 2020**).

Des facteurs de croissance tels que l'IGF, le BMP et le GDF9 interviennent également dans la modulation de la folliculogénèse et de la stéroïdogénèse. Par exemple, l'IGF-1 potentialise l'action de la FSH sur les cellules de la granulosa, favorisant la production d'œstrogènes, tandis que le BMP-15 et le GDF9, sécrétés par l'ovocyte, influencent la sélection du follicule dominant et la différenciation des cellules de la granulosa (**Monget et Monniaux, 1995 ; Juengel et McNatty, 2005**).

Les cytokines telles que le TNF- α et l'IL-1, ainsi que des prostaglandines comme la PGE2, jouent également un rôle dans la régulation de l'ovulation et la maturation folliculaire. En effet ; les cytokines modulent le processus inflammatoire associé à l'ovulation, tandis que les prostaglandines interviennent dans la rupture folliculaire et la libération de l'ovocyte (**Espey, 1994 ; Terranova, 1997**).

2 Facteurs influençant la fonction de reproduction

Plusieurs facteurs, tant physiologiques qu'environnementaux, peuvent influencer la fonction de reproduction chez la souris. Ces facteurs comprennent l'âge, la génétique, les hormones, l'environnement et le stress, poids, alimentation, le surpoids et la maigreur impactent la fertilité chez la souris. Ainsi un régime hypercalorique, caractérisé par un excès d'apport calorique, provoque des modifications métaboliques qui peuvent altérer la fonction ovarienne. En particulier, le stress oxydatif induit par l'excès de graisses et de sucres peut affecter la qualité des ovocytes et la folliculogénèse (**Ganguly et al., 2014**). De plus, l'accumulation de tissu adipeux, résultat direct de ce régime, perturbe l'équilibre hormonal, notamment la production de leptine, une adipokine impliquée dans la régulation de la fonction ovarienne (**López et al., 2006**). Cette altération hormonale entraîne des dysfonctionnements dans la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien et affecte la fertilité (**Yuan et al., 2016**). Le niveau d'activité

physique joue également un rôle. La sédentarité, tout comme l'activité physique intensive, peut être à l'origine d'une diminution de la fertilité (Foucaut *et al.*, 2019).

2.1 Stress oxydatif

Le stress oxydatif désigne un déséquilibre entre le système oxydant, il est caractérisé par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les mécanismes de défense antioxydants de l'organisme. Cet état est associé à de nombreux risques pouvant mener à divers processus pathologiques (Azouzi et Laksaci, 2014). Il se manifeste par une perturbation du fonctionnement cellulaire, entraînant des effets délétères sur les acides nucléiques, les protéines et les lipides, ou encore une altération des systèmes antioxydants. Cette condition est principalement causée par une surproduction d'ERO comme le superoxyde ou l'hydroxyle (Pelletier et Campbell, 2004).

Les radicaux libres proviennent de sources endogènes et exogènes. Les cellules immunitaires, l'inflammation, l'ischémie, les infections, le cancer, un excès d'exercice, le stress mental et le vieillissement sont responsables de leur production endogène (Valko *et al.*, 2006). La production exogène résulte de l'exposition à des polluants, des métaux lourds, des médicaments, des solvants, de la cuisson, de la fumée de cigarette, de l'alcool et des radiations (Figure 8).

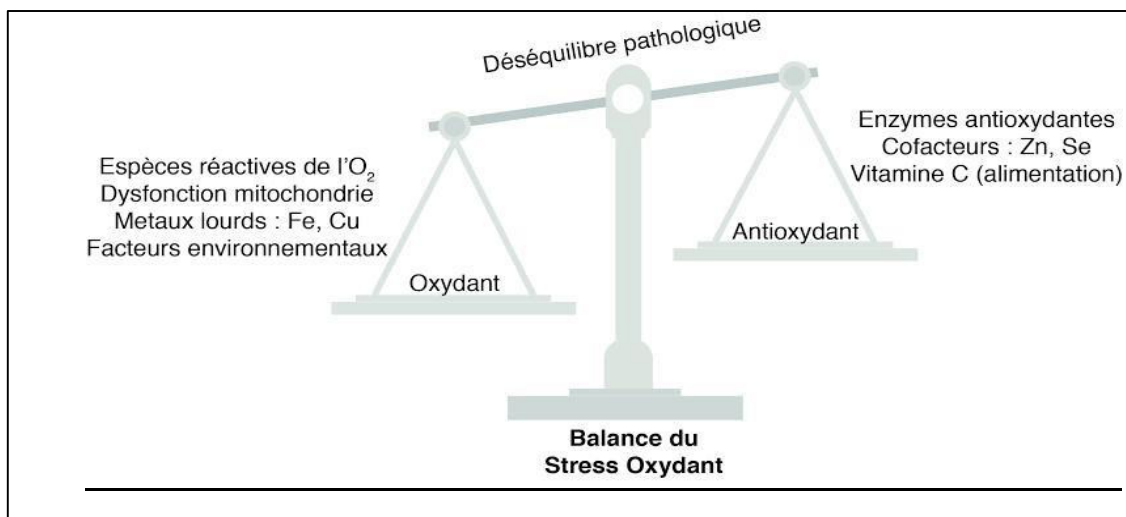


Figure 8 : Mécanismes provoquant un stress oxydatif au sein d'une cellule (Hamraoui et Benkherouf, 2018).

2.1.1 Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou molécules réactives, caractérisés par un électron libre en périphérie, ce qui les rend instables. Ils peuvent donner ou prendre un électron à une autre molécule (**Thiebault et Sprumont, 1997**). Leur formation peut être enzymatique, chimique ou physique, avec des effets d'origine interne ou externe à l'organisme (**Figure 9**) (**Xavier, 2001**).

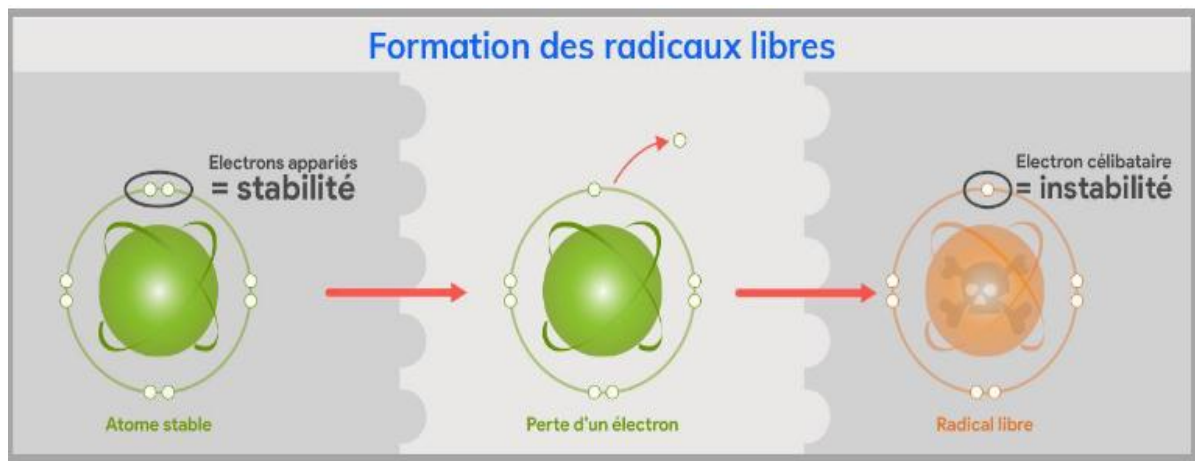


Figure 9 : Schéma sur la formation des radicaux libres (**Layoufi et Manseur, 2021**)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ont un rôle physiologique important, notamment dans la signalisation cellulaire (**Bensakhria, 2015**). Elles se divisent en formes radicalaires et non radicalaires.

2.1.1.1 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des espèces chimiques avec un électron célibataire non apparié, donc très réactives, elles peuvent causer des dommages cellulaires importants (**Halliwell et Gutteridge, 2015**). Parmi lesquelles l'anion superoxyde ($O_2^- \bullet$) pouvant oxyder les acides aminés, entraînant des altérations des protéines, ainsi que provoquer la peroxydation des lipides, ce qui modifie la perméabilité et la fluidité des membranes cellulaires. Sa présence favorise un environnement cellulaire toxique (**Martin et Vincent, 2005**). Le radical hydroxyle ($OH \bullet$) qui est une espèce très réactive formée par l'interaction entre le peroxyde d'hydrogène et le fer (réaction de Fenton), doté d'un électron non apparié, ce radical peut réagir avec les acides gras des membranes cellulaires en leur retirant un atome d'hydrogène. Cela initie une réaction de peroxydation lipidique, qui produit des peroxydes lipidiques. Ces derniers endommagent les acides gras, ce qui perturbe la structure et le fonctionnement des membranes cellulaires (**Sahnoun et al., 1997**). Le monoxyde d'azote

(NO●) est un radical produit par l'oxydation de la L-arginine, catalysé par l'enzyme NO synthase (NOS)., à faible concentration, il joue un rôle essentiel dans plusieurs fonctions physiologiques comme la neurotransmission, la régulation de la pression sanguine, la défense immunitaire et la relaxation des muscles lisses. En revanche, à forte concentration, il peut devenir toxique pour les cellules (**Goff et Sennequier, 1998**).

2.1.1.2 Espèces réactives à l'oxygène non radicalaires

Les espèces réactives à l'oxygène non radicalaires sont des espèces chimiques qui ne possèdent pas d'électron célibataire, mais dont la toxicité est relativement élevée (**Halliwell et Gutteridge, 2015**). Parmi lesquelles, le peroxyde d'hydrogène, un composé oxydant stable qui peut se diffuser facilement à travers les membranes biologiques. Il se forme par dismutation du superoxyde, une réaction qui peut se produire spontanément ou être catalysée par les superoxydes dismutases (SOD) (**Patrick, 2008**).

L'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) est une forme excitée du dioxygène, où un électron libre se déplace vers une orbite d'énergie plus élevée, créant une molécule avec des électrons de spin opposé (**Russo-Marie, 1998**). Bien qu'il soit présent en faible quantité, il joue un rôle important dans la peroxydation lipidique et est inhibé par la vitamine C, réduisant ainsi la lipoperoxydation. Ce composé est très réactif et instable, se désactivant rapidement au contact des molécules environnantes, notamment l'eau, en libérant de l'énergie (**Jadot, 1994**). Enfin, le peroxynitrite (ONOO-) est un oxydant puissant formé par les macrophages et d'autres cellules. Il réagit avec des groupes sulfhydriles, des ions métalliques et le superoxyde pour générer un agent nitré réactif. Sa forte réactivité cause des dommages cellulaires, pouvant mener à la mort cellulaire et aux lésions tissulaires (**Lucas, 2007**).

2.1.2 Antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui neutralisent les radicaux libres, minimisant ainsi les dommages causés par le stress oxydatif. Ils peuvent être enzymatiques ou non enzymatiques (**Medina-Navarro et al., 2010**).

2.1.2.1 Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont des molécules produites par le corps humain pour protéger contre le stress oxydatif qui jouent un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres (**Causse, 2004**).

2.1.2.1.1 Super oxyde dismutase (SOD)

Cette enzyme protège l'organisme contre le radical superoxyde en le convertissant en peroxyde d'hydrogène, empêchant ainsi ses effets nocifs sur les cellules (**Botham et al., 2017**).

2.1.2.1.2 Catalase (CAT)

Cette enzyme présente dans les peroxysomes, la catalase décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène. Elle fonctionne différemment selon la concentration de H_2O_2 à forte concentration, elle élimine le peroxyde, et à faible concentration, elle oxyde un substrat (**Scibior et Czczot, 2006**).

2.1.2.1.3 Glutathion peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase (GPX) est une enzyme qui aide à détruire le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en le transformant en eau (H_2O) et en oxygène (O_2). Pour cela, elle utilise une molécule appelée glutathion réduit (GSH), qui se transforme en une forme oxydée (GSSG) au cours de cette réaction. Elle travaille avec une autre enzyme, la superoxyde dismutase (SOD), pour protéger les cellules des effets du peroxyde d'hydrogène (**Matés et al., 1999 ; Favier, 2003**).

2.1.2.2 Antioxydants non enzymatiques

En plus des défenses enzymatiques, l'organisme dispose de systèmes antioxydants non enzymatiques, contribuant à limiter les effets des radicaux libres et à renforcer les mécanismes de défense contre le stress oxydatif (**Halliwell et Gutteridge, 2015**).

2.1.2.2.1 Glutathion (GSH)

Le glutathion est un peptide thiol réduit, largement présent dans les cellules. Il joue un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres, la détoxification des métaux lourds et le transport des acides aminés. Il agit aussi comme cofacteur pour certaines enzymes antioxydantes, renforçant ainsi les défenses cellulaires contre le stress oxydatif (**Couto et al., 2016**).

2.1.2.2.2 Vitamines

Les vitamines C et E sont des antioxydants essentiels, apportées par l'alimentation (**Xavier, 2001**). La vitamine E, lipophile, protège les membranes cellulaires contre l'oxydation des lipides en interrompant les réactions des radicaux libres (**Patrick, 2008**), tandis que la vitamine C, hydrophile, neutralise les espèces réactives de l'oxygène, comme le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles (**Roberfroid et Roberfroid., 2008**).

2.1.2.2.3 Caroténoïdes et Flavonoïdes

Les caroténoïdes, présents dans les fruits et légumes, sont des pigments naturels ayant des propriétés antioxydantes. Le bêta-carotène, le plus connu, peut être converti en vitamine A. ces composés neutralisent l'oxygène singulet, réduisent la peroxydation lipidique et protègent les membranes (**Roberfroid et Roberfroid, 2008**). Les flavonoïdes, des polyphénols d'origine végétale, possèdent également des propriétés antioxydantes marquées. Grâce à leurs groupements hydroxyles, ils piègent efficacement les radicaux libres et se trouvent dans le thé, les fruits, les légumes et certaines plantes médicinales (**Azouzi et Laksaci, 2014**).

2.1.2.2.4 Acide folique (vitamine B9)

L'acide folique (vitamine B9) est crucial pour la synthèse des acides nucléiques, la division cellulaire et la réparation de l'ADN. Il participe également au transfert de groupements monocarbonés dans diverses réactions métaboliques, contribuant à la défense contre le stress oxydatif (**FAO, 1989**).

2.1.2.2.5 Oligoéléments

Selon **Roussel (2014)**, les oligoéléments tels que le manganèse, le sélénium, le cuivre et le zinc jouent un rôle crucial comme cofacteurs dans le fonctionnement des enzymes antioxydantes, contribuant ainsi à la lutte contre le stress oxydatif. Le manganèse est un cofacteur de plusieurs enzymes antioxydantes, comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR) et la catalase. Il est également essentiel dans le métabolisme énergétique. Le sélénium est un élément-clé de la GPx et aide à éliminer les peroxydes, tout en participant à la protection contre les métaux lourds et en soutenant le bon fonctionnement du système immunitaire. Le cuivre, également cofacteur de nombreuses enzymes antioxydantes, intervient dans la défense immunitaire et la lutte contre le vieillissement cellulaire. Le zinc, quant à lui, est un cofacteur de la SOD et aide à stabiliser les membranes et les protéines, tout en inhibant l'activité de la NADPH oxydase.

2.1.3 Conséquences biochimiques du stress oxydatif

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont capables d'attaquer l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides. Ces altérations biochimiques perturbent le fonctionnement cellulaire normal et favorisent des processus pathologiques comme l'inflammation, la mutagénèse ou encore le vieillissement prématuré (**Figure 10**) (**Harris, 2002**).

2.1.3.1 Action sur l'ADN

Le radical hydroxyle peut attaquer les bases de l'ADN, notamment la guanine, provoquant la formation de 8-OH-dG. Ce dérivé empêche l'appariement correct des bases, entraînant des mutations, une instabilité génétique et des défauts dans la réparation de l'ADN (**Valko *et al.*, 2007**).

2.1.3.2 Action sur les protéines

Les ERO ciblent les acides aminés sensibles comme la cystéine ou la méthionine, modifiant ainsi la structure des protéines. Cette oxydation peut concerner notamment les groupements soufrés (sulfhydryls, sulfoxydes), ce qui perturbe leur conformation et leur activité. Ces modifications peuvent inhiber leurs fonctions biologiques, perturber certains systèmes enzymatiques en les activant ou les inactivant, ou encore rendre les protéines plus sensibles à la dégradation par des systèmes comme le protéasome. Ces altérations participent à la déstabilisation cellulaire et contribuent aux dommages cellulaires observés en situation de stress oxydatif (**Shacter, 2000**).

2.1.3.3 Action sur les lipides

Les radicaux libres déclenchent la peroxydation des acides gras polyinsaturés présents dans les membranes, produisant des composés toxiques comme le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE). Ces produits aggravent le stress oxydatif et favorisent des troubles métaboliques, et peuvent aussi perturber les processus de signalisation cellulaire et donc nuire à l'intégrité et à la fluidité de la membrane (**Guichardant *et al.*, 2006**).

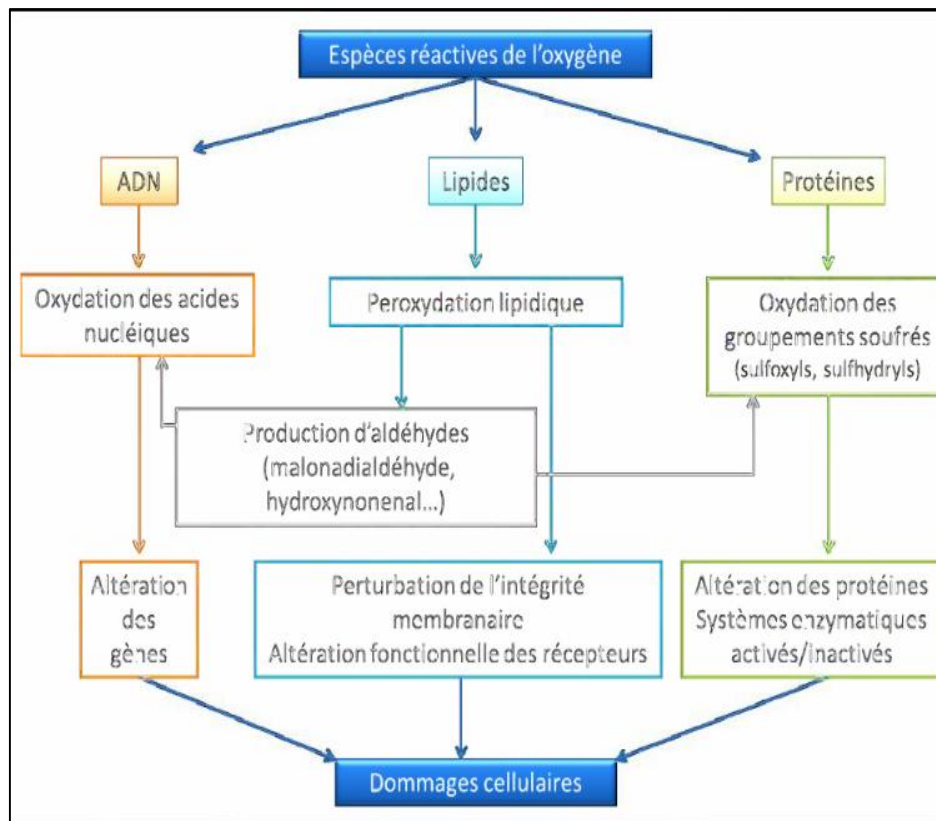


Figure 10 : Schéma des principales cibles des espèces réactives de l'oxygène : ADN, protéines et lipides (Monteil et al,2004)

2.1.4 Conséquences du stress oxydatif sur la fonction ovarienne

Le stress oxydatif, provoqué par un apport énergétique excessif, perturbe l'équilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les systèmes de défense antioxydants. Ce déséquilibre affecte des processus clés de la fonction ovarienne comme la folliculogénèse, la stéroïdogénèse et l'ovulation. Il modifie le microenvironnement ovarien, ralentit la croissance des follicules, favorise leur atrophie et peut activer prématurément les follicules primordiaux, réduisant ainsi les réserves ovariennes (Tremellen, 2008).

Les cellules de la granulosa, qui jouent un rôle clé dans le soutien de l'ovocyte et la production hormonale, sont particulièrement sensibles à ce stress. L'exposition prolongée aux ROS peut induire des processus de mort cellulaire programmée, limiter leur renouvellement et entraver la biosynthèse des stéroïdes, essentielle à la croissance folliculaire. Cette perturbation affaiblit la réactivité des cellules ovariennes aux signaux hormonaux (Agarwal et al., 2005). Par ailleurs, des concentrations élevées de malondialdéhyde (MDA), indicateur de dommages lipidiques, ont été relevées chez certaines femmes infertiles, traduisant une dégradation du

système antioxydant local. Ce milieu oxydatif défavorable altère la qualité ovocytaire, en induisant l'arrêt de la maturation méiotique ou la mort cellulaire. De plus, il entraîne une accumulation de produits toxiques dans le fluide folliculaire, ce qui aggrave les altérations fonctionnelles de l'ovaire (**Figure 11**) (**Polak et al., 2001**).

2.2 Tissus adipeux

Le tissu adipeux, en plus de son rôle de stockage des lipides, agit comme un organe endocrinien influençant à la fois le métabolisme énergétique et la reproduction. Il sécrète des adipokines qui modulent l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, régulant ainsi la production des gonadotrophines, hormones essentielles au bon déroulement du cycle ovarien. Une accumulation excessive de tissu adipeux, souvent due à un excès de calories, perturbe cet équilibre hormonal et peut entraîner des troubles menstruels, des anomalies ovulatoires, voire une infertilité. Parmi ces adipokines, la leptine, qui joue un rôle majeur dans ce dérèglement, est particulièrement importante (**Bouchard et al., 2004**).

La leptine découverte en 1994, produite principalement par le tissu adipeux, apparentée à la famille des cytokines, est une hormone essentielle dans la régulation énergétique et la reproduction. Elle envoie des signaux au cerveau sur l'état des réserves graisseuses, influençant ainsi la prise alimentaire et le métabolisme. Lorsque la quantité de graisse corporelle augmente, les niveaux de leptine augmentent également. Cependant, des niveaux excessifs de leptine, souvent associés à un excès de poids, peuvent perturber l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. Cela peut entraîner des déséquilibres hormonaux, affecter la fonction ovarienne, perturbant notamment la sécrétion des hormones FSH et LH nécessaires à l'ovulation, pouvant mener à des troubles de la fertilité (**Friedman, 1998 ; Ahima et Flier, 2000**).

Chapitre II :

Matériel et

méthodes

Ce travail dirigé par le Dr Akdader s'inscrit dans une étude dont l'objectif est de déterminer les effets d'un régime hypercalorique sur la fonction ovarienne chez la souris *Mus musculus*. L'expérimentation porte sur l'administration d'un régime hypercalorique pendant trois mois et sur son impact sur le poids corporel et la fonction ovarienne, à travers l'évaluation de quelques marqueurs du stress oxydatif et le dosage de la glycémie. Par ailleurs, une étude histochimique du tissu adipeux ainsi qu'un frottis vaginal ont été réalisés.

1 Matériel

L'expérimentation s'est déroulée au niveau de l'animalerie du département de biologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou sur une période de trois mois, du 26 novembre 2024 au 26 février 2025.

1.1 Matériel biologique

L'expérimentation a été réalisée sur 12 souris femelles pubères *Mus Musculus* au début de l'étude, et présentant un poids corporel initial compris entre ($23,9 \pm 0,88$), ces animaux ont été obtenus auprès de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA) (**Figure 11**).

Tableau 1 : la nomenclature systématique de la souris *Mus Musculus* : (Nagarajan et al,2021)

Règne	Animal
Phylum	Chordés
Classe	Mammifères
Ordre	Rodentiens
Famille	Muridés
Sous-famille	Murinés
Genre	Mus
Espèce	Musculus

Ce modèle animal est largement utilisé en recherche biomédicale. Grâce à son patrimoine génétique proche de celui de l'humain, cette espèce constitue un modèle pertinent pour explorer divers mécanismes biologiques complexes, en particulier ceux impliqués dans le métabolisme, le développement, les troubles neurologiques et l'immunité (**Phifer-Rixey et Nachman, 2015**).



Figure 11 : Souris *Mus Musculus* (Original 2025)

1.2 Conditions d'hébergement

Avant le début de l'expérimentation, une période d'acclimatation a été réalisée, durant laquelle les 12 souris ont été hébergées dans une cage en polypropylène (**figure 12**), équipée d'un couvercle métallique grillagé assurant une aération passive. Cette cage contenait une litière de bois, des biberons pour l'hydratation ainsi qu'une mangeoire avec une alimentation standard sous forme de granulés. Les animaux ont été maintenus dans ces conditions, avec un renouvellement régulier de la litière pour garantir un environnement propre et hygiénique. Les conditions d'élevage ont été rigoureusement contrôlées : température et humidité constantes, ventilation adéquate, cycle lumineux alternant lumière et obscurité, et accès permanent à l'eau et à la nourriture.

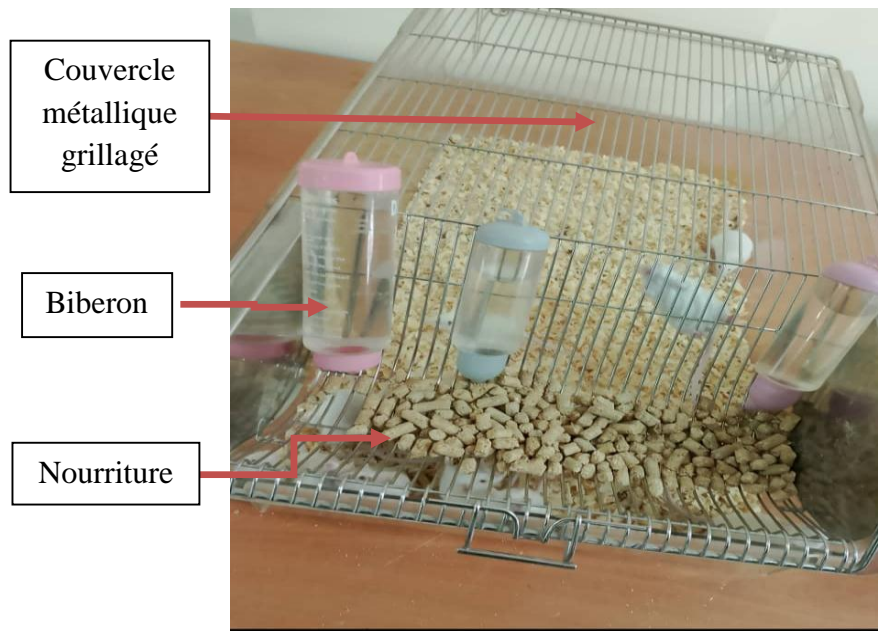


Figure 12 : Cage d'acclimatation des souris (**Original 2025**)

1.3 Traitement expérimental

Dans le cadre du plan expérimental, chaque souris a été placée individuellement dans une cage distincte afin d'assurer un suivi séparé. L'ensemble des animaux a été réparti en deux groupes égaux : 6 souris constituant le groupe témoin et 6 souris le groupe expérimental (**Figure 13**).



Figure 13 : Répartition des souris utilisées dans l'étude (**Original 2025**)

Les souris ont été réparties en deux groupes :

- Un groupe témoin : reçoit 20 g d'aliment standard et 100 ml d'eau chaque jour.
- Un groupe expérimental : reçoit un mélange d'aliment comprenant 44 g d'aliments hypercalorique et 20 g d'aliment standard ainsi que 100 ml d'eau chaque jour. (**Tableau 1**).

Tableau 2 : Liste des aliments utilisés dans le régime hypercalorique et les quantités données.

Aliments	Quantité(g)	Kcal	KJ
Chips	2	9,8064	41,78
Biscuit	10	47,09	197,29
Bonbons	2	14,21	59,43
Gaufrettes	15	85,5	357,15
Jaune d'œuf	15	46,05	210
Total	44	202,6564	883,65

Les prises alimentaire et hydrique ont été suivies de manière précise. La quantité d'aliment distribuée a été pesée chaque jour, et l'alimentation restante a été récupérée puis pesée pour estimer la consommation des animaux. Le volume d'eau consommé par chaque souris a été mesuré quotidiennement à l'aide d'une éprouvette graduée. Le poids des souris a également été suivi quotidiennement tout au long du traitement afin de suivre l'évolution et les effets du régime alimentaire.

1.4 Sacrifice et prélèvement des organes

À la fin de l'expérimentation, les souris sont d'abord pesées et un frottis vaginal a été réalisée avant le sacrifice. Immédiatement après le sacrifice par saignement, la glycémie des animaux est mesurée. Les animaux sont ensuite disséqués (ovaires, oviductes, foie, reins, surrénales, tissu adipeux), chaque organe étant pesé séparément.

Les organes prélevés sont d'abord rapidement dégraissés, puis les organes du côté droit sont immergés dans du formol à 10 % pendant 72 heures pour fixation. Les organes du côté gauche, quant à eux, sont placés dans de l'eau distillée puis congelés à -20 °C pour étudier certains paramètres du stress oxydatif. Le tissu adipeux est fixé dans le fixateur Ciaccio et conservé à l'obscurité pendant deux jours, puis transféré dans une solution de bichromate de potassium à

3 %, également maintenue à l'obscurité à température ambiante pendant cinq jours, afin de préserver au mieux ses caractéristiques lipidiques (**Figure 14**).



Figure 14 : Dissection de la souris (**Original 2025**)

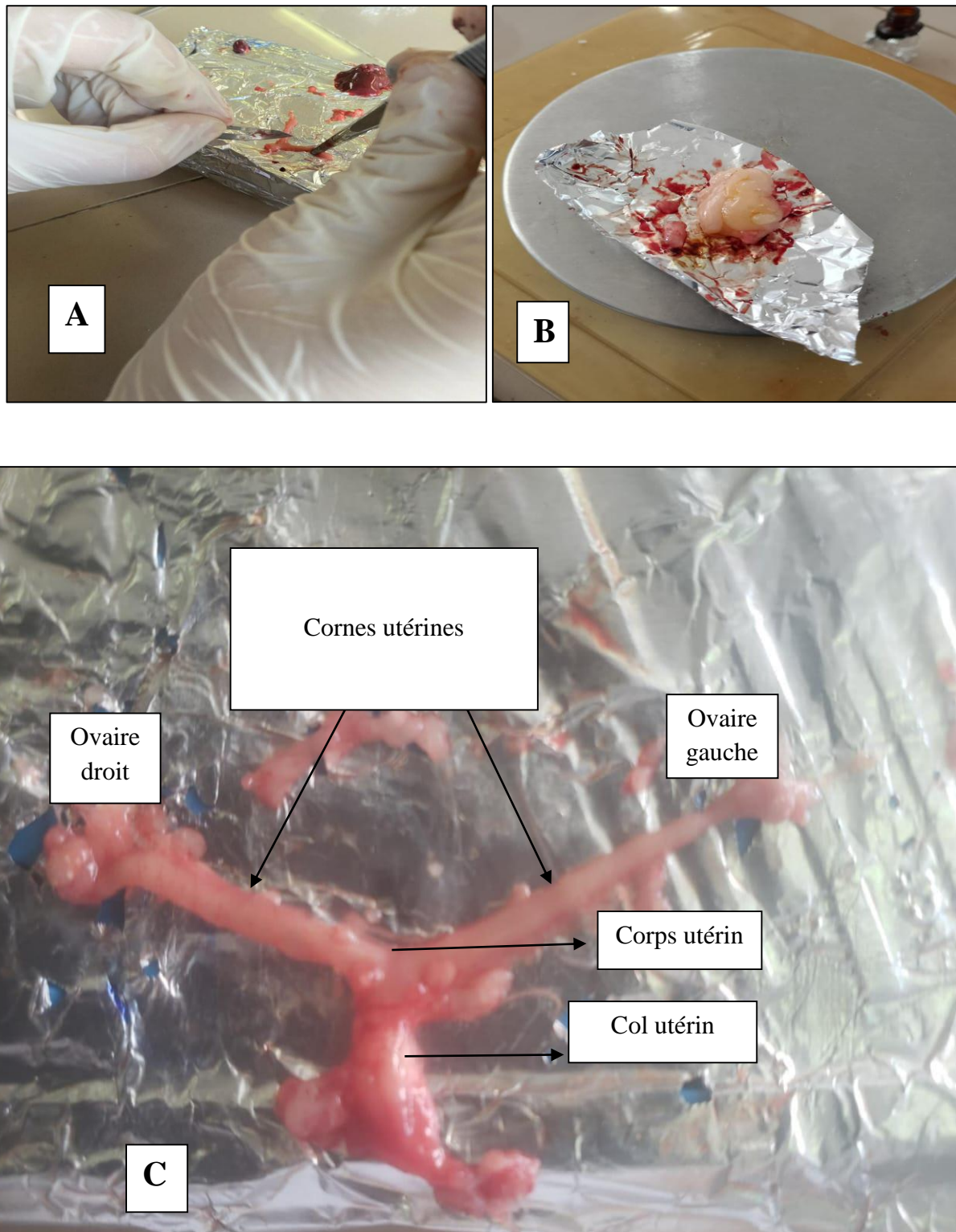


Figure 15 : Prélèvement des organes interne chez la souris : l'appareil reproducteur, tissu adipeux, foie, reins et les glandes surrénales (A) et pesée du tissu adipeux (B) et observation de l'appareil reproducteur femelle (C) (Original 2025).

1.5 Matériel non biologique

Plusieurs du matériel non biologique ont été utilisés au cours de l'expérimentation (**Voir l'annexe 1**)

2 Méthodes

2.1 Évaluation des paramètres biologiques

Après sacrifice par saignement, quelques gouttes de sang ont été prélevés permettant le dosage de quelques paramètres biologiques

2.1.1 Mesure de la glycémie

La glycémie a été mesurée à la fin de l'expérimentation, au moment du sacrifice des animaux. Le sang a été prélevé immédiatement après le sacrifice, puis analysé à l'aide d'un glucomètre.

En raison du faible volume de sang obtenu, l'utilisation du glucomètre a été choisie pour sa simplicité, sa rapidité et son efficacité dans la mesure directe du glucose sanguin. Cette analyse a permis d'évaluer l'impact du régime hypercalorique sur le métabolisme glucidique par comparaison des taux entre les groupes témoins et expérimentaux.

2.1.2 Frottis Vaginal

2.1.2.1 Réalisation du frottis vaginal

Afin de déterminer le stade du cycle œstral des femelles, des frottis vaginaux ont été réalisés à la fin de l'expérience, avant le sacrifice des animaux. Le prélèvement a été effectué à l'aide d'un écouvillon stérile en coton ("Swab Sticker Female") introduit délicatement à l'entrée du vagin sans pénétration profonde, afin de recueillir les cellules de la paroi vaginale.

Après prélèvement, le contenu de l'écouvillon a été rapidement étalé sur une lame porte-objet propre, par un mouvement doux de roulement afin d'assurer une répartition homogène des cellules. Les lames ont ensuite été laissées à sécher à l'air libre avant l'étape de coloration (**Figure 16**)

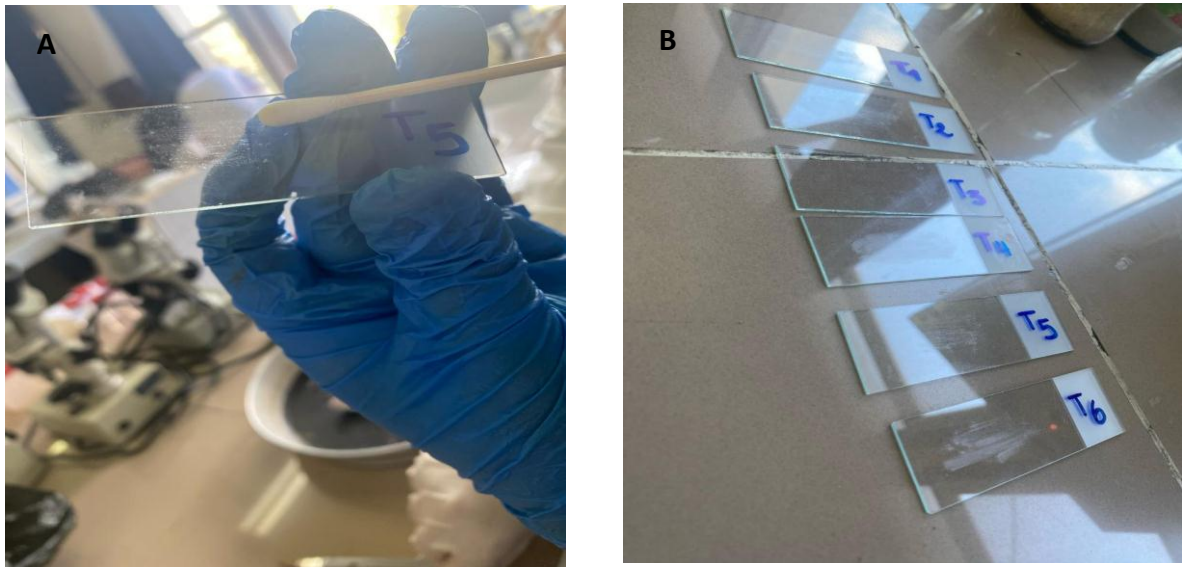


Figure 16 : A : Étalement des cellules vaginales sur lame et B : séchage à l'air libre (Original 2025)

2.1.2.2 Protocole de Coloration

Les étapes de la coloration au May-Grünwald et le Giemsa comportent les étapes suivantes (Figure 17) :

- 15 gouttes de colorant May-Grünwald pur sont versées sur la lame afin de recouvrir entièrement le frottis.
- Le colorant est laissé agir pendant 3 minutes.
- Un nombre équivalent de gouttes d'eau neutre est ajouté.
- Le mélange est laissé agir pendant 2 minutes.
- La lame est ensuite rincée doucement à l'eau neutre.
- 30 gouttes de colorant Giemsa sont ajoutées sur la lame, en veillant à ce que le colorant recouvre bien toute la surface.
- Le colorant est laissé agir pendant 20 minutes.
- La lame est rincée à l'eau neutre.
- Le séchage est effectué à l'air libre.

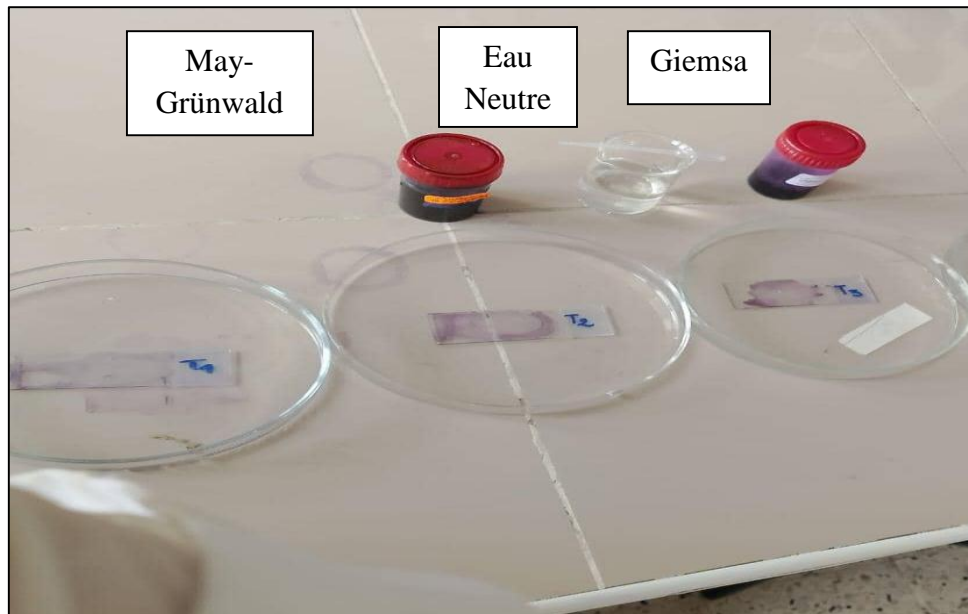


Figure 17: Lames de frottis vaginal colorées par May-Grünwald et Giemsa (Original 2025)

2.1.2.3 Observation au microscope

L'observation des frottis vaginaux permet d'identifier les cellules épithéliales kératinisées (anucléées), les cellules épithéliales nucléées ainsi que les leucocytes. La proportion relative de ces éléments varie en fonction des phases du cycle œstral, traduisant ainsi l'activité hormonale et l'état fonctionnel des ovaires.

2.1.3 Détermination du statut pro-oxydant/antioxydant

La détermination du statut pro-oxydant/antioxydant repose sur le dosage de marqueurs oxydants et antioxydants dans un surnageant obtenu à partir d'un homogénat de tissu ovarien.

2.1.3.1 Préparation de l'homogénat

Après broyage et homogénéisation des tissus ovariens dans un tampon de lyse froid contenant : 0,1 % de Triton X-100, 0,12 M de NaCl, et 30 mM de NaH_2PO_4 (pH 7,4), à l'aide d'un broyeur Staufén, la suspension cellulaire obtenue est centrifugée à 4000 tours/min pendant 15 minutes à 4 °C. Le surnageant est ensuite aliquoté et conservé à -20 °C jusqu'au dosage.

2.1.3.2 Évaluation des marqueurs oxydants

Le surnageant conservé a permis le dosage de certains marqueurs oxydants tel que le malondialdéhyde (MDA).

2.1.3.2.1 Dosage du malondialdéhyde (MDA) et mode opératoire

Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits finaux issus de la dégradation des acides gras polyinsaturés induite par les radicaux libres. Il est largement connu comme un biomarqueur fiable du stress oxydatif, notamment dans les tissus sensibles tels que les ovaires.

L'évaluation de la peroxydation lipidique repose sur la quantification du MDA formé, capable de réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA). Le dosage du MDA repose sur la formation, en milieu acide et à température élevée, d'un pigment rose résultant de la condensation du MDA avec deux molécules de TBA (Esterbauer *et al.*, 1992).

Un volume de 100 µL de surnageant provenant des homogénats tissulaires est mélangé avec 800 µL d'un tampon MDA contenant 0,6 % de TBA et 1 % d'acide orthophosphorique. Le mélange est incubé dans un bain-marie à 95°C pendant 45 minutes. Après refroidissement à température ambiante, 900 µL de butanol sont ajoutés, puis le mélange est centrifugé à 3000 tours/min pendant 30 minutes à 4°C.

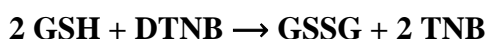
La concentration en MDA est déterminée par mesure de l'absorbance du complexe MDA-TBA à 530 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (BIO-TEK), en utilisant un coefficient d'extinction molaire de $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$. Les résultats sont exprimés en nmoles de MDA par mg de protéines ou en nmoles de MDA par g de protéines.

2.1.3.3 Évaluation des activités non enzymatiques anti oxydantes

Le surnageant conservé a permis le dosage de certains marqueurs de l'activités non enzymatiques anti oxydantes tel que la glutathion réduit (GSH).

2.1.3.3.1 Dosage de glutathion réduit (GSH) et mode opératoire

Le principe de ce dosage repose sur une réaction non enzymatique entre les groupements thiols (-SH) du glutathion réduit (GSH) et le 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque acide) (DTNB), également connu sous le nom de réactif d'Ellman. Cette interaction conduit à la formation d'un composé coloré jaune, le 5-thio-2-nitrobenzoïque acide (TNB), ainsi qu'à l'oxydation du GSH en glutathion oxydé (GSSG). L'équation chimique de cette réaction est la suivante :



La quantité de TNB formée, dont l'absorbance est mesurée à 412 nm, est directement proportionnelle à la concentration de GSH dans l'échantillon. Cette méthode permet donc une estimation précise du glutathion réduit par spectrophotométrie.

Un volume de 50 μL du surnageant, obtenu après centrifugation des homogénats tissulaires à 3000 g pendant 30 minutes à 4 °C, est prélevé. Ce surnageant est ensuite mélangé avec 150 μL d'un tampon d'hydrogénophosphatedisodique 0,1 M (pH 8,0) contenant 0,005 M d'EDTA, puis avec 50 μL de DTNB à 1 mM. Le mélange est incubé à 37 °C pendant 30 minutes. L'absorbance de la solution, due à la formation du composé jaune TNB, est mesurée à 412 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (BIO-TEK). La concentration en GSH est calculée à partir du coefficient d'extinction molaire du TNB ($\epsilon = 13,6 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) et exprimée en micromoles par milligramme de protéines ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ protéines) ou ($\mu\text{mol}/\text{g}$ protéines).

2.1.4 Dosage des protéines totales tissulaires

Le taux de protéine dans les échantillons est dosé par l'emploi de la méthode colorimétrique de **Bradford et al. (1976)**, en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

2.1.4.1 Réalisation de la courbe étalon

La courbe étalon des protéines, est établie à partir d'une solution mère d'une protéines standard le sérum albumine bovine (BSA) à $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$, dans des tubes à hémolyse de 5 ml. Les points de la gamme à obtenir après dilution, sont respectivement : 0.05, 0.125, 0.5, 0.75 et 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. L'équation utilisée pour calculer les dilutions à effectuer dans l'eau distillée et la solution de Bradford pour un volume final de 2 ml est la suivante :

$$\text{Volume BSA (à prendre)} = [\text{BSA}] \times \text{volume final}$$

Le contenu des tubes à hémolyse est mélangé à l'aide d'un vortex, puis incubé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant quelques minutes. Avant le dosage, le spectrophotomètre est étalonné par un échantillon Blanc à 595nm pour le mettre à zéro avant de lire l'ensemble des points de la gamme étalon. Ainsi les densités optiques (DO) obtenues permettent de tracer une courbe d'étalonnage $\text{DO}=\text{f}(\text{C})$ (**Figure18**). L'analyse spectrophotométrique des échantillons permet de déterminer la concentration exacte des protéines contenues dans chaque eppendorfs contenant un extrait protéique des tissus ovarien Cette dernière est obtenue en déterminant graphiquement par extrapolation.

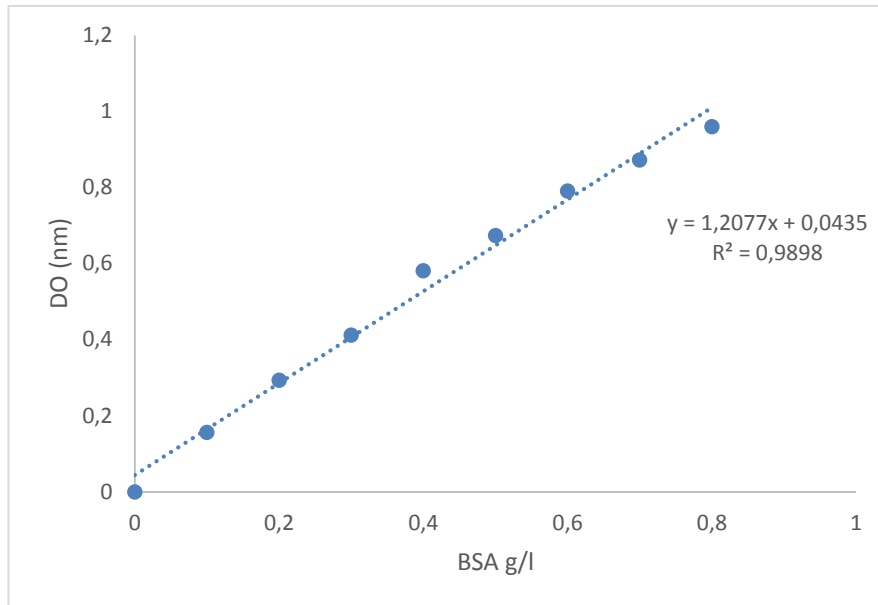


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'albumine sérique bovine (BSA) en fonction de sa concentration.

2.1.5 Étude histochimique

L'étude histochimique du tissu adipeux a été réalisée en plusieurs étapes successives afin d'obtenir des coupes fines prêtes à la coloration. Le protocole expérimental inclut les étapes suivantes : fixation des échantillons, déshydratation, éclaircissement, imprégnation, inclusion, préparation des coupes, déparaffinage et réhydratation, coloration, puis enfin, observation des lames au microscope.

2.1.5.1 Fixation

La fixation constitue une étape fondamentale dans la préparation des échantillons biologiques, visant à préserver les organes dans un état le plus proche possible du vivant. Elle permet de maintenir l'intégrité morphologique des tissus en conservant leur forme et en protégeant les cellules contre toute dégradation, notamment celles induites par des réactions enzymatiques ou des attaques bactériennes. Le tissu adipeux est d'abord fixé dans le fixateur de Ciaccio, puis conservé à l'obscurité pendant deux jours. Ensuite, il est transféré dans une solution de bichromate de potassium à 3%, également gardée à l'obscurité et à température ambiante pendant cinq jours.

2.1.5.2 Déshydratation

Après la fixation, les organes sont placés dans des cassettes, puis soumis à une étape de déshydratation. Cette étape a pour but d'éliminer progressivement l'eau contenue dans les tissus, tout en évitant leur déformation. La déshydratation est réalisée par immersion des cassettes dans une série de bains d'alcool éthylique de concentrations croissantes : 50°, 70°, 90° et 100°. Pendant 20 minutes pour chaque bain.

Ce passage progressif d'un degré d'alcool à un autre permet de protéger les structures cellulaires de toute désorganisation, tout en préparant les tissus à l'étape suivante : l'inclusion en paraffine.

(Figure 19).



Figure 19 : Déshydratation des organes dans des bains d'alcool croissant (Original 2025)

2.1.5.3 Éclaircissement

Après la déshydratation, les échantillons sont placés dans deux bains de xylène, chacun durant 20 minutes. Le xylène, utilisé comme solvant intermédiaire, permet d'éliminer les résidus d'alcool absolu et de rendre les tissus transparents, ce qui est indispensable pour permettre une imprégnation efficace par la paraffine et faciliter la réalisation de coupes fines destinées à l'observation microscopique (Figure 20).



Figure 20 : Éclaircissement : 1er et 2ème bain de xylène (**Original 2025**)

2.1.5.4 Imprégnation

L'imprégnation est une étape cruciale qui permet à la paraffine liquide de pénétrer les tissus afin de les rigidifier et de faciliter leur coupe au microtome. Elle s'effectue en trois bains successifs dans une étuve chauffée à 60 °C.

Le premier bain est intermédiaire, composé à parts égales de xylène et de paraffine liquide, et dure 20 minutes, dans lequel les échantillons sont placés pendant 20 minutes. Ce bain assure une transition progressive entre le xylène et la paraffine. Ensuite, les échantillons sont transférés dans deux bains de paraffine pure, chacun durant une heure, afin d'assurer une imprégnation complète et homogène des tissus. Cette étape est indispensable pour leur conférer une consistance adaptée à la coupe histologique.

2.1.5.5 Confection des blocs

Après l'imprégnation, une quantité précise de paraffine fondue est versée dans un moule métallique préchauffé pour garantir une bonne adhérence et éviter la formation de bulles d'air. Lorsque qu'une fine pellicule blanche commence à se former à la surface, l'échantillon est inséré délicatement à l'aide d'une pince fine, accompagné de la moitié de la cassette d'inclusion déjà numérotée. Une nouvelle couche de paraffine est ensuite versée avec soin pour recouvrir entièrement l'ensemble. Le moule est ensuite placé au froid pendant environ 20 minutes afin d'assurer un durcissement rapide. Une fois solidifiée, la paraffine est démoulée avec précaution afin de préserver l'intégrité de l'échantillon (**Figure 21**).



Figure 21 : Confection des blocs (Original 2025)

2.1.5.6 Réalisation des coupes

Une fois les blocs de paraffine formés, des coupes fines d'une épaisseur de 5 μm , sont réalisées à l'aide d'un microtome de type Leica. Ces coupes, disposées en séries régulières sous forme de rubans, sont déposées délicatement à la surface d'un bain-marie à température modérée. Elles sont ensuite récupérées à l'aide de lames de verre portant l'identifiant de l'échantillon. Enfin, les lames sont placées en position inclinée afin de permettre un séchage optimal. (Figure 22).

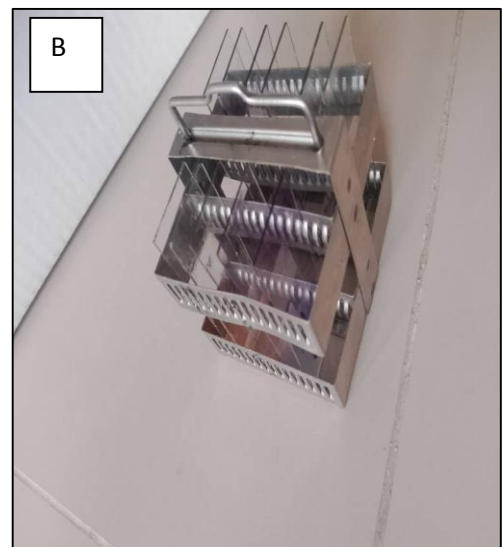
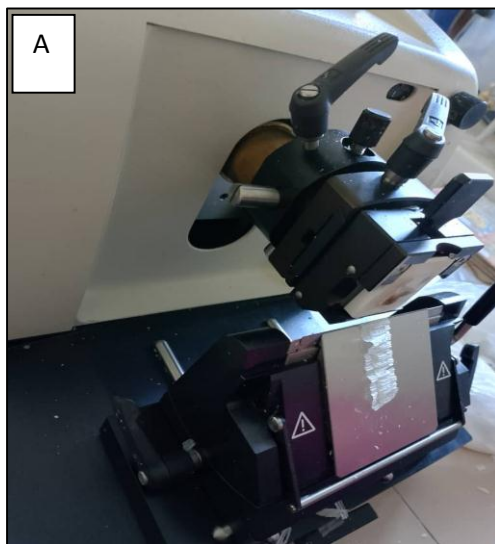


Figure 22 : A : Confection des coupes avec un microtome ; B : Séchage des lames porte-objet en position inclinée (Original 2025)

2.1.5.7 Déparaffinage et réhydratation

Les coupes histologiques sont déparaffinées en étant placées dans une étuve à 60°C pendant 30 minutes, afin d'éliminer la paraffine. Après cette étape, les échantillons sont immergés dans du xylène pendant 30 minutes pour dissoudre tout résidu de paraffine restant. La réhydratation est ensuite effectuée par passage des coupes dans des bains d'alcool à concentration décroissante : 100% d'alcool pendant 2 minutes, suivi de 95% pendant 2 minutes, puis 70% pendant 5 minutes. Ces étapes préparent les échantillons à la coloration histochimique, facilitant l'adhésion des colorants aux tissus.

2.1.5.8 Coloration

La coloration au noir soudan est utilisée pour mettre en évidence les gouttelettes lipidiques dans les tissus adipeux, le rouge nucléaire est utilisé pour la coloration des noyaux

Cette technique fait agir successivement par :

- Incubation des lames déparaffinées et réhydratées dans le noir soudan pendant 2h à 37° C
- Rinçage à l'eau courante pour éliminer l'excès de colorant
- Immersion dans le rouge nucléaire pendant 2 min
- Rinçage à l'eau courante
- Montage des lames

2.1.5.9 Observation des coupes

Après le montage, les lames sont laissées à sécher avant d'être analysées à l'aide d'un microscope optique type LEICA l'observation est réalisée sous deux grossissements 100 (G10x10) et 400 (G40x10) afin d'examiner les échantillons et d'identifier d'éventuelles modifications histochimiques.

2.1.6 Étude morphométrique

L'étude morphométrique à l'objectif 40× consiste à mesurer le diamètre de 30 adipocytes (en μm), sur trois coupes par lot d'animaux, à l'aide du logiciel *Image View*

2.1.7 Étude statistique

Les valeurs des paramètres étudiés sont exprimées comme moyenne \pm erreur standard à la moyenne (Moy \pm ESM). Les différences entre les lots sont analysées en utilisant le test de student-fisher avec un seuil de significativité de 5% avec utilisation des tests de comparaison non paramétriques (test d'ANOVA). La validation statistique des différences entre les

moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisé à l'aide d'un logiciel informatique « Graph pad Prism 8.0 » La différence entre deux moyennes est significative si :

✓ $p < 0,001$ *** hautement significatif

✓ $p < 0,01$ **très significatif

✓ $p < 0,05$ * significatif

✓ $p > 0,05$ Non significatif

Chapitre III :

Résultats et

discussion

1 Résultats

Ce travail porte sur l'effet d'une alimentation hypercalorique pendant 3 mois sur la fonction ovarienne chez la souris *Mus musculus*. Pour évaluer cet impact, plusieurs paramètres macroscopiques, microscopiques et biochimiques ont été analysés.

1.1 Études macroscopiques

Les résultats macroscopiques comprenant les poids corporels, le poids des ovaires et le tissu adipeux des souris des deux lots étudiés.

1.1.1 Variation du poids corporel

Les résultats du poids corporel montrent une augmentation progressive chez les souris soumises au régime hypercalorique comparativement au groupe témoin. En effet, la moyenne du poids corporel observée chez le groupe expérimental était de $36,32 \pm 0,87$ g, contre $31,30 \pm 0,94$ g chez les souris témoins (**Figure 23**). La comparaison statistique montre une différence significative ($P= 0,003$) entre le lot témoin et le lot expérimental.

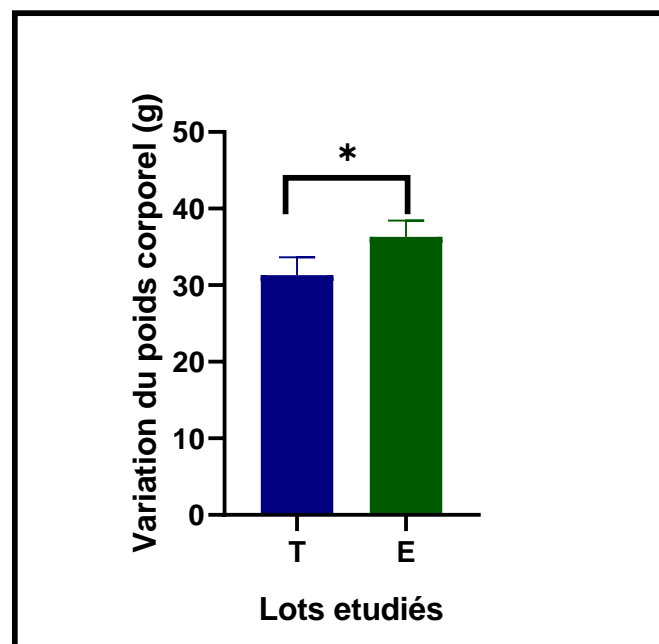


Figure 23 : Variation du poids corporel (g) chez les souris témoins (T) et expérimentales (E) soumises à un régime hypercalorique pendant 3 mois. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux

1.1.2 Variation des poids des ovaires

Pour étudier l'effet de l'alimentation hypercalorique sur les ovaires, le poids absolu et le poids relatif ont été mesurés et ont permis d'évaluer le poids absolu et relatif des ovaires des animaux étudiés.

1.1.2.1 Variation des poids absolus des ovaires

Les résultats montrent que chez les souris témoins, il n'existe pas de différence significative entre les poids absolus de l'ovaire droit (OD) et de l'ovaire gauche (OG) ($p > 0,05$), indiquant une symétrie physiologique. Des résultats similaires ont été observés chez les souris ayant reçu un régime hypercalorique pendant 3 mois, où aucune différence significative n'est obtenue entre OD et OG ($p > 0,05$).

En revanche, la comparaison des poids absolus des ovaires entre les deux groupes révèle des différences marquées. En effet, le poids absolu de l'ovaire droit est significativement diminué chez les souris soumises au régime hypercalorique ($0,025 \pm 0,004$ g) par rapport au groupe témoin ($0,046 \pm 0,007$ g), avec une différence statistiquement très significative ($p = 0,0032$; **). De même, l'ovaire gauche présente une diminution significative de poids chez le groupe traité ($0,020 \pm 0,002$ g) comparé aux témoins ($0,044 \pm 0,003$ g), avec une différence hautement significative ($p = 0,0002$; ***).

L'analyse du poids total des deux ovaires (2OV) confirme cette réduction. En effet, les souris ayant reçu un régime hypercalorique pendant 3 mois présentent une diminution marquée de la masse ovarienne totale ($0,045 \pm 0,003$ g) par rapport aux souris témoins ($0,090 \pm 0,007$ g), avec une différence hautement significative ($p = 0,0002$; ***). Ces résultats suggèrent un impact notable du régime hypercalorique sur la masse ovarienne chez la souris. (**Figure 24**).

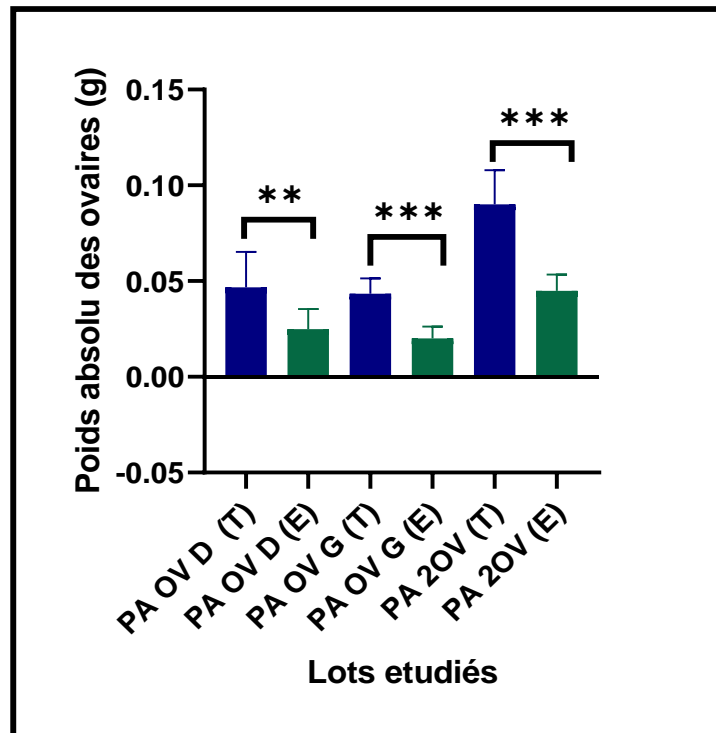


Figure 24 : Variation des poids absolus des ovaires droits (OV D), gauches (OV G) et des deux ovaires (2 OV) chez les souris du lot témoin (T) et du lot expérimental (E) soumis à un régime hypercalorique pendant 3 mois. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots expérimentaux et témoins.

1.1.2.2 Variation des poids relatifs des ovaires

Les résultats relatifs aux poids des ovaires rapportés au poids corporel (g/100 g PC) montrent qu'il n'existe pas de différence significative entre l'ovaire droit (OD) et l'ovaire gauche (OG), que ce soit dans le groupe témoin ou chez les souris ayant reçu un régime hypercalorique ($p > 0,05$), ce qui suggère une symétrie physiologique conservée.

Cependant, des différences significatives apparaissent lorsqu'on compare les deux groupes. En effet ; le poids relatif moyen de l'ovaire droit est estimé à $0,14 \pm 0,01$ g/100 g PC chez les témoins, contre $0,06 \pm 0,01$ g/100 g PC chez les souris soumises au régime hypercalorique, avec une différence très significative ($p = 0,0038$; **). De même, pour l'ovaire gauche, une diminution hautement significative ($p = 0,0001$; ***) est observée chez les animaux expérimentaux ($0,05 \pm 0,01$ g/100 g PC) par rapport aux témoins ($0,13 \pm 0,01$ g/100 g PC).

L'analyse du poids relatif total des deux ovaires (2OV) révèle également une baisse marquée chez les souris expérimentales ($0,11 \pm 0,01$ g/100 g PC), comparées au groupe témoin ($0,27 \pm$

0,01 g/100 g PC). Cette diminution est hautement significative ($p < 0,001$; ***). Ces données confirment que le régime hypercalorique induit une atrophie ovarienne, non seulement en valeur absolue, mais aussi proportionnellement à la masse corporelle. (**Figure 25**).

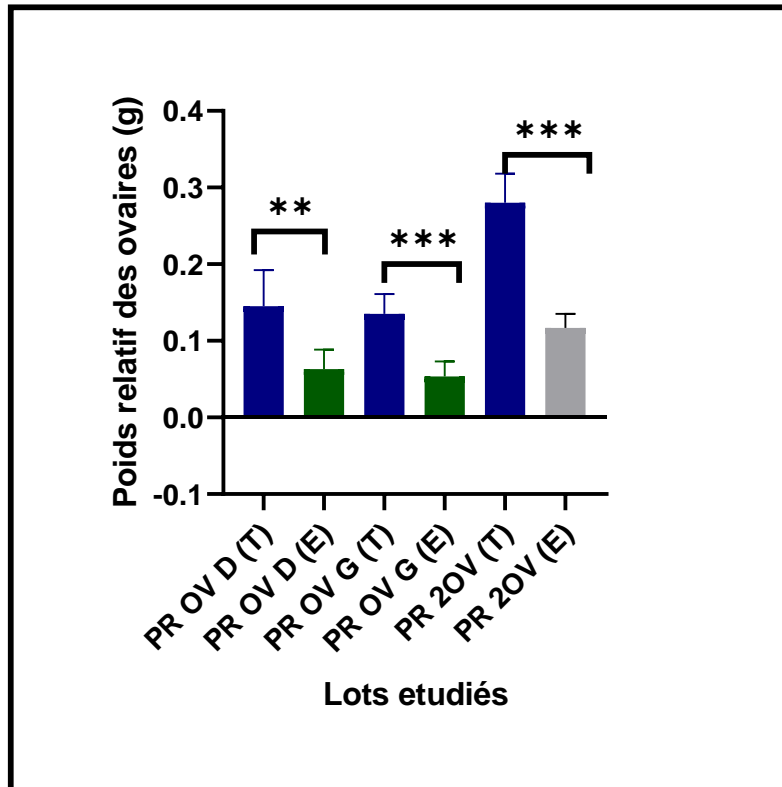


Figure 25 : Variation des poids relatifs des ovaires droit (OV D), gauche (OV G) et des deux ovaires (2 OV) chez les souris des lots témoin (T) et expérimental (E) soumis à un régime hypercalorique. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.

1.1.3 Variation des poids absolus et relatifs du tissu adipeux abdominal

Le poids absolu moyen du tissu adipeux est estimé à $0,42 \pm 0,06$ g chez les souris témoins, alors qu'il atteint $1,44 \pm 0,30$ g chez les souris expérimentales. La comparaison statistique entre les deux groupes montre une différence très significative ($P = 0,008$; $p < 0,01$).

De même, le poids relatif moyen du tissu adipeux (exprimé en g/100g de poids corporel) est évalué à $1,35 \pm 0,21$ g chez les témoins contre $3,90 \pm 0,75$ g chez les souris soumises au régime hypercalorique. Cette différence est également très significative ($P = 0,008$; $p < 0,01$), indiquant une accumulation marquée de masse adipeuse chez le groupe expérimental (**Figure 26**).

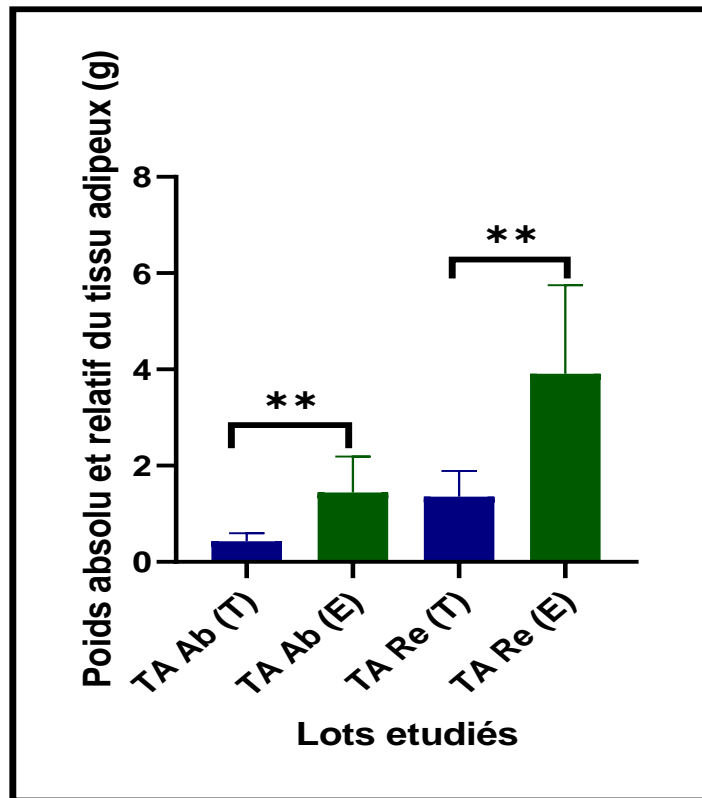


Figure 26 : Variation des poids absolus et relatifs du tissu adipeux chez le lot témoin (T) et le lot expérimental (E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots expérimentaux et témoins. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.

1.2 Dosages de quelques paramètres biochimiques

1.2.1 Variation du taux de la glycémie

Le taux moyen de glycémie est de $1,13 \pm 0,02$ mg/dl chez les souris du groupe témoin, contre ($1,70 \pm 0,09$) mg/dl chez les souris du groupe expérimental. La comparaison statistique entre les deux groupes met en évidence une différence hautement significative avec une valeur de $P = 0,0002$, indiquant une hyperglycémie marquée chez les souris exposées à une alimentation hypercalorique (**Figure 27**).

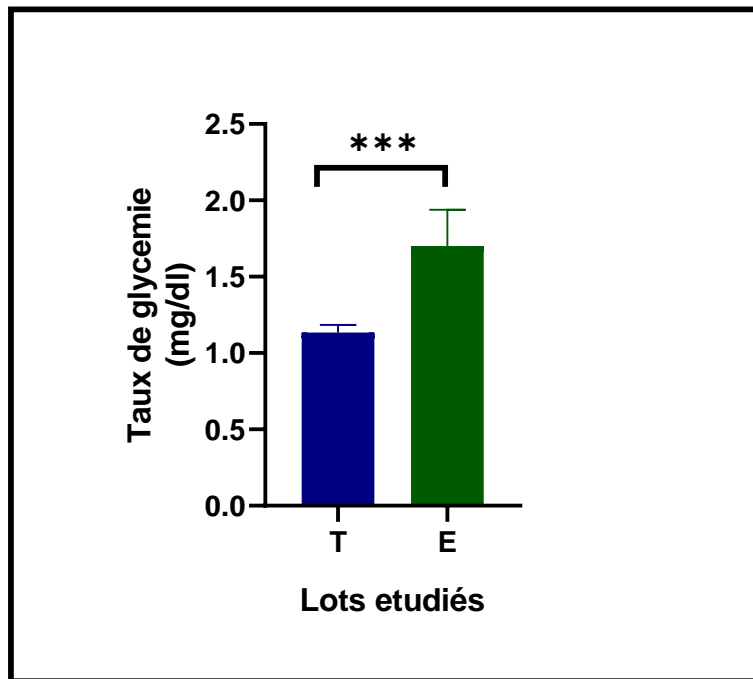


Figure 27 : Variation du taux de la glycémie chez le lot témoin (T) et le lot expérimental (E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.

1.2.2 Dosage des protéines totales tissulaires

Le dosage des protéines totales a révélé une diminution non significative des taux de protéines totales chez les souris du groupe expérimental soumises à un régime hypercalorique, comparativement au groupe témoin ($p > 0,05$). La concentration moyenne en protéines est estimée à $2,27 \pm 0,03$ g chez les souris témoins, contre $2,03 \pm 0,15$ g chez les souris du groupe expérimental (**Figure 28**).

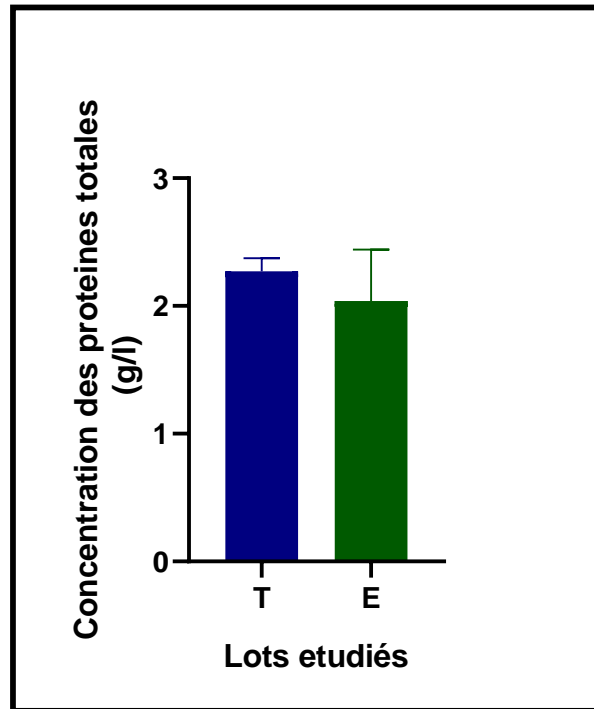


Figure 28 : Variation de la concentration des protéines (g/l) totales chez les deux groupes témoin (T) et expérimental (E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.

1.2.3 Évaluation des marqueurs oxydants et antioxydants ovariens

Les résultats des dosages des marqueurs oxydants (MDA) et antioxydants (GSH) ovariens chez les animaux témoins et expérimentaux soumis à un régime hypercalorique pendant 3 mois, sont présentés dans les **Figure 29 et 30**.

1.2.3.1 Variation du marqueur oxydant malondialdéhyde (MDA)

L'analyse du taux tissulaire de malondialdéhyde (MDA), l'un des marqueurs et indicateurs clé du stress oxydatif lipidique est représenté dans la **Figure 29**.

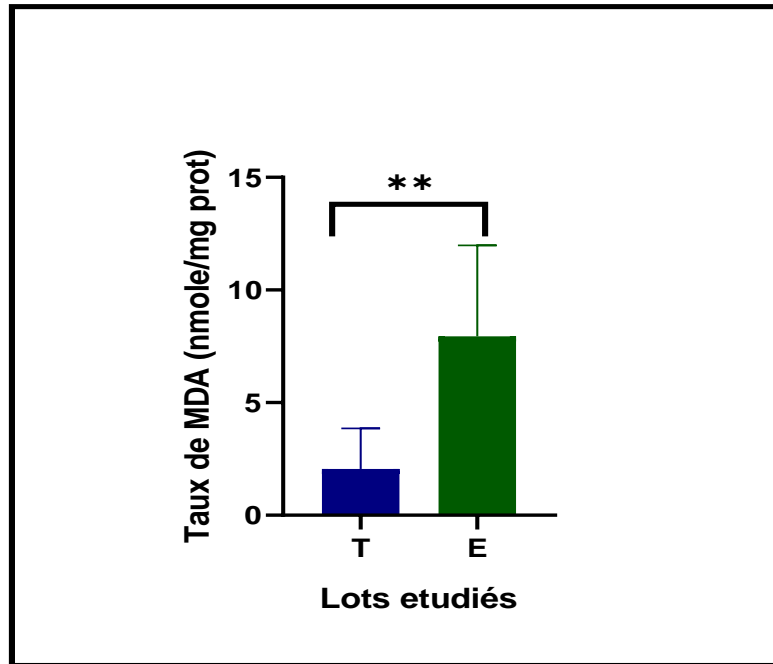


Figure 29 : Variation du marqueur oxydant MDA (nmole/mg de protéines) dans l’ovaire gauche chez la souris. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.

L’analyse des résultats, révèle une augmentation très significative chez les souris exposées à une alimentation hypercalorique pendant 3 mois. En effet, la concentration moyenne de MDA est estimée à $2,09 \pm 0,73$ nmole/mg de protéines dans le groupe témoin contre $7,94 \pm 1,64$ nmole/mg de protéines dans le groupe expérimental.

Cette élévation est très significative avec une valeur de $p = 0,003$, indiquant une intensification notable du stress oxydatif suite au régime.

1.2.3.2 Évaluation du marqueur antioxydant ovarien : le glutathion réduit (GSH)

Les résultats des taux des marqueurs oxydants ovariens chez les souris des groupes témoins et expérimentaux² (Figure 30)

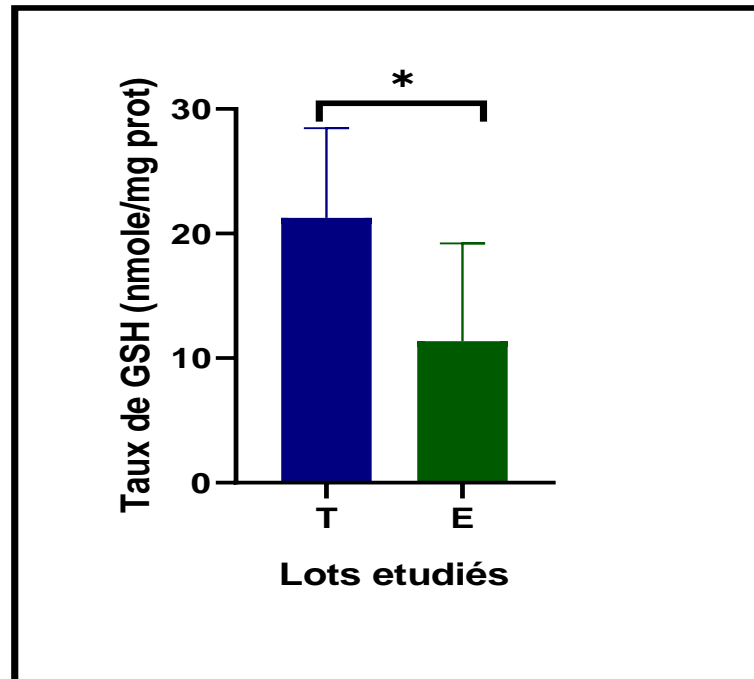


Figure 30 : Variation du marqueur antioxydant GSH (nmole/g de protéines) dans l’ovaire gauche chez les souris, * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.

Le dosage du glutathion réduit (GSH), principal antioxydant non enzymatique intracellulaire, révèle une diminution significative chez les souris soumises à une alimentation hypercalorique par rapport aux témoins. Le taux moyen de GSH est évalué à $21,25 \pm 2,94$ nmole/g de protéines chez le groupe témoin contre $11,37 \pm 3,20$ nmole/g de protéines dans le groupe expérimental. Cette réduction est statistiquement significative avec une valeur de $p = 0,04$.

1.3 Études microscopiques

L’étude microscopique consiste à une étude histochimique du tissu adipeux ainsi qu’une étude morphométrique des cellules adipeuses au niveau des sections chez les deux lots étudiés.

1.3.1 Étude histochimique et morphométrique du tissu adipeux au Noir Soudan chez les deux lots étudiés

L’étude histochimique a été réalisée grâce à la coloration au Noir Soudan, une méthode permettant de mettre en évidence spécifiquement les lipides neutres contenus dans les adipocytes.

Cette coloration lipophile révèle le tissu adipeux sous forme de gouttelettes lipidiques de couleur noire ou brun foncé, facilitant l'observation des structures cellulaires caractéristiques.

L'étude morphométrique a été réalisée à l'aide d'un logiciel IMAGE Viewx64,4.1017614(2020) permettant une quantification précise du diamètre moyen des adipocytes sur des images numérisées. Pour chaque animal, plusieurs champs aléatoires ont été mesurés afin d'obtenir une moyenne représentative de la taille cellulaire en μm (environ 30 adipocytes pour 3 coupes). Ces mesures morphométriques ont permis d'évaluer l'effet du régime expérimental sur l'hypertrophie des adipocytes.

1.3.1.1 Étude histochimique du tissu adipeux chez les deux groupes : témoin (T) et expérimental(E)

L'examen histochimique du tissu adipeux des souris a été analysée au microscope optique à deux grossissements (x10et x400) afin d'observer les différences morphologiques entre le groupe témoin (T) et le groupe soumis à un régime hypercalorique(E)représentés dans la (**Figure 31**)

Au faible grossissement, les coupes réalisées sur le tissu adipeux des souris témoins présente des adipocytes de taille homogène, disposées de manière régulière. Les vacuoles lipidiques sont bien délimitées et modérément développées. L'organisation générale du tissu est normale, sans signe de distension cellulaire ni d'accumulation lipidique excessive.

À l'opposé, chez le groupe expérimental soumis à un régime hypercalorique, présente une hypertrophie et hyperplasie des adipocytes, marquée par une augmentation importante de la taille des vacuoles lipidiques. La structure cellulaire apparaît globalement distendue, traduisant une surcharge lipidique par rapport au groupe témoin.

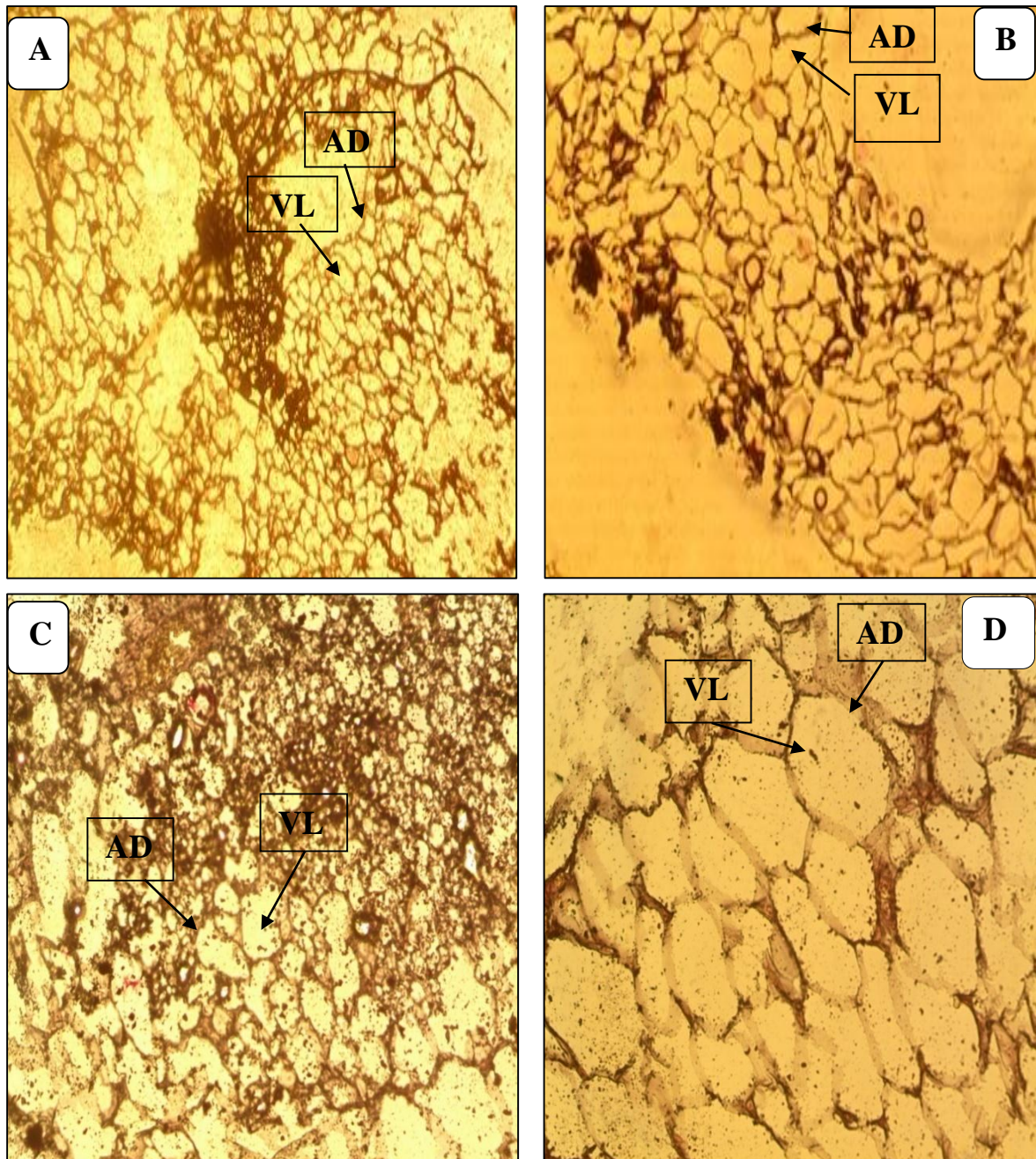


Figure 31 : Représentation des coupes histochimique du tissu adipeux chez les souris témoins(T) et expérimentales (E) à différents grossissements observés au microscope optique. (A et B : Tissu adipeux du groupe témoin(T) et expérimental (E) au grossissement ($\times 100$)), (C et D Tissu adipeux du groupe témoin (T) et expérimental (E) au grossissement ($\times 400$) ; AD : adipocytes ; VL : Vacuole lipidique.

Au fort grossissement, les adipocytes du lot témoin conservent une forme régulière, avec des vacuoles lipidiques de taille modérée et bien contenues dans le cytoplasme. L'aspect structurale reste cohérent avec un tissu sain et fonctionnel.

Chez le lot expérimental, le tissu adipeux présente une hypertrophie marquée des adipocytes, caractérisée par des vacuoles lipidiques géantes qui occupent presque tout l'espace intracellulaire. L'architecture cellulaire est modifiée, traduisant un stockage massif de lipides dû à l'exposition prolongée au régime hypercalorique.

1.3.1.2 Étude morphométrique des coupes histochimiques du tissu adipeux chez les deux groupes étudiés

Les mesures morphométriques des coupes histochimiques réalisées du tissu adipeux ont révélé une augmentation significative du diamètre moyen des adipocytes chez les souris soumises à un régime hypercalorique par rapport aux témoins. En effet, les valeurs enregistrées dans le groupe témoin étaient de $14,92 \pm 1,18 \mu\text{m}$, contre $38,25 \pm 1,10 \mu\text{m}$ dans le groupe expérimental. Cette différence est hautement significative ($p = 0,0001$) (**Figure 32**).

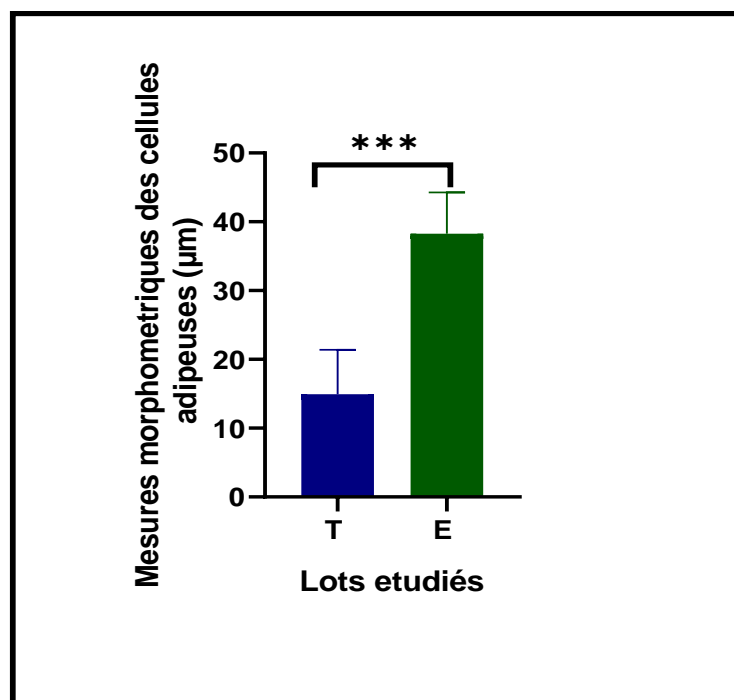


Figure 32 : Variation des mesures morphométriques des cellules adipeuses (μm) chez les souris témoins (T) et expérimentales (E). * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; NS : ($P > 0,05$) : Comparaison des moyennes des lots témoins et expérimentaux.

1.3.2 Étude cytologique du frottis vaginal

Le frottis vaginal a été réalisé chez les deux lots étudiés, l'aspect cytologique et le type des cellules présentes donnent des informations sur la phase du cycle œstral. Chez la souris témoin 1 (T1), le frottis vaginal révéla une dominance de cellules épithéliales nucléées, de forme arrondie

à ovoïde, avec un noyau central bien visible. On observe également la faible présence des leucocytes et quelques rares cellules kératinisées. Cet aspect cytologique est typique de la phase proestrus, qui précède l'ovulation et reflète une activité hormonale croissante notamment des œstrogènes (**Figure 33**).

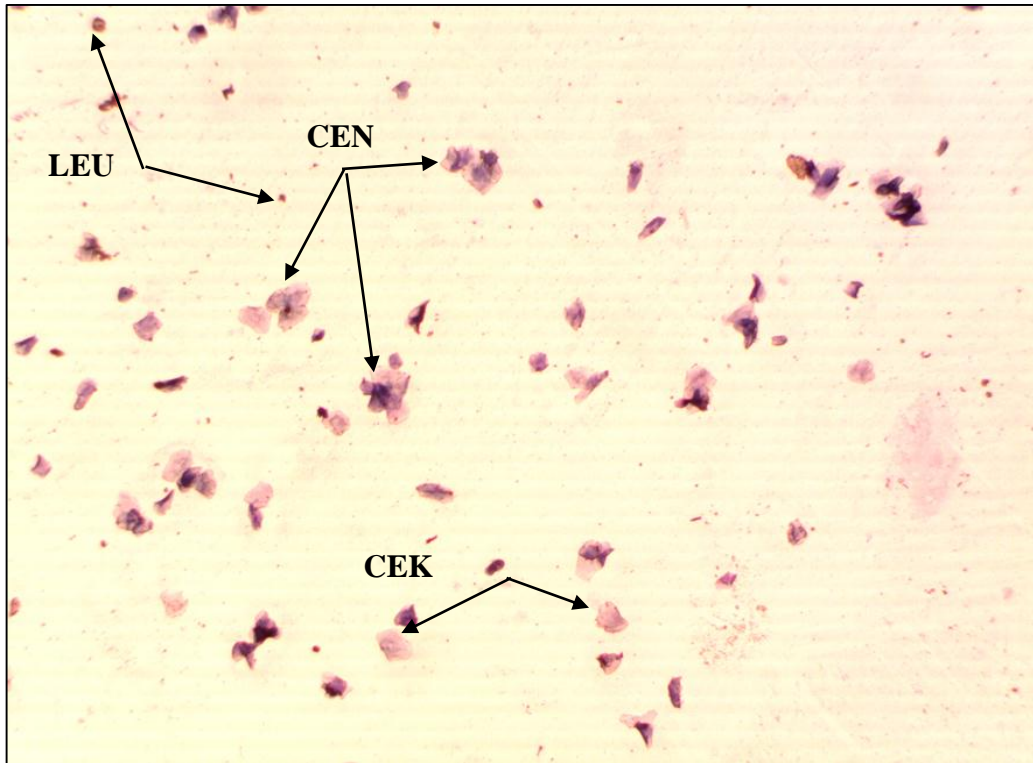


Figure 33 : Frottis vaginal en phase proestrus chez une souris témoin montrant l'ensemble des cellules présentes (CEN : cellules épithéliales nucléées, CEK : cellules épithéliales kératinisées, LEU : leucocytes)

L'analyse cytologique des autres frottis de souris (témoins et expérimentales) est résumée dans le tableau ci-dessous (**Tableau 3**), chaque phase de cycle oestrale a été identifiée en fonction du type cellulaire prédominant observé sur les lames colorées

Tableau 3 : Répartition des souris témoins (T1, T2, T3, T4, T5 et T6) et expérimentales (E1, E2, E3, E4, E5 et E6) en fonction des phases du cycle (CEN : cellules épithéliales nucléées, CEK : cellules épithéliales kératinisées, LEU : leucocytes)

Phase du cycle	Souris étudiées	Types de cellules présentes
Proestrus	T1	CEN
Oestrus	Aucune souris observée	CEK
Métoestrus	T2, T3, T4, T5	CEN+CEK+LEU
Dioestrus	T6, E1, E2, E3, E4, E5, E6	LEU

Les résultats du frottis montrent l'absence complète de la phase d'oestrus chez les deux lots d'animaux étudiés, environ 67% des souris témoins étaient en Métoestrus. Tandis que toute les souris (100%) soumises à un régime hypercalorique étaient en phase de dioestrus correspondant à la période de repos entre deux chaleurs.

2 Discussion

2.1 Variation des poids corporels et du tissu adipeux des animaux et des mesures morphométriques témoins et expérimentés soumis à un régime hypercalorique

Nos résultats ont mis en évidence une augmentation du poids corporel chez les souris soumises à un régime hypercalorique pendant 3 mois, comparativement aux témoins. Cette prise de poids est en accord avec de nombreuses études ayant démontré l'effet d'un apport énergétique excessif sur la balance pondérale des rongeurs (**López-Soldado et Zorzano,2020**). **Lu et al. (2021)**, ont observé une augmentation notable du poids corporel chez des souris femelles C57BL/6J après 12 semaines de régime hypercalorique, en comparaison avec un régime normocalorique.

De même, **Caique et al. (2020)** et **Zhang et al. (2020)**, ont rapporté que ce type d'alimentation induit une prise de poids progressive, résultant d'un stockage accru de l'énergie sous forme de lipides dans le tissu adipeux. Ce déséquilibre pondéral trouve son origine dans une balance énergétique positive prolongée, où l'apport calorique dépasse durablement les besoins énergétiques de l'organisme. L'excès de glucides et de lipides est alors métabolisé par le foie en acides gras via la lipogenèse, processus favorisé par l'action de l'insuline. Ces acides gras sont ensuite transformés en triglycérides et stockés dans les adipocytes. Ainsi, sous l'influence d'un apport calorique élevé et d'une activité physique réduite, les substrats énergétiques sont préférentiellement orientés vers le stockage lipidique plutôt que vers leur oxydation, favorisant l'expansion du tissu adipeux et l'augmentation du poids corporel.

Dans notre étude, l'effet du régime hypercalorique sur le gain pondéral est rapide et marqué. **Martins et al. (2020)** ont ainsi rapporté une prise de poids significative dès la quatrième semaine d'exposition. Dans notre étude, cette tendance est confirmée par une augmentation notable de la masse grasse, cohérente avec les observations de **Caique et al. (2022)**, qui ont mis en évidence un accroissement des dépôts adipeux viscéraux et sous-cutanés chez les souris recevant une alimentation riche en énergie. Cette accumulation de tissu adipeux résulte principalement de l'hypertrophie et de l'hyperplasie des adipocytes, renforçant la fonction endocrine du tissu adipeux. **Paffetti et al. (2023)** ont noté une élévation de la masse de tissu adipeux abdominal chez des femelles F1 (première génération de progéniture) exposées à ce type de régime après le sevrage, mettant en évidence l'importance de cette alimentation dans le développement de l'obésité et de ses complications associées.

Gao et al. (2015), ont montré qu'après 12 semaines de régime, les souris femelles CD-1 ayant reçu une alimentation riche en graisses ont présenté une prise de poids corporelle

significativement supérieure à celle des souris recevant une alimentation standard, avec une différence apparente dès la 4^{ème} semaine. La prise de poids moyenne atteignait 11,8 g en fin d'expérience, avec une vitesse de croissance pondérale de 1,4 g/semaine pour le groupe soumis à une alimentation riche en calories contre 0,4 g/semaine chez les témoins. Cette augmentation était principalement due à une accumulation progressive de la masse grasse, atteignant environ 12,7 g chez les souris traitées, contre seulement 3,6 g chez les témoins.

Notre étude histochimique et morphométrique rapporte une hyperplasie et une augmentation du diamètre des adipocytes chez le lot expérimental par rapport aux témoins. En effet, **Gao et al. (2015)** ont montré que le tissu adipeux blanc (WAT) présente une hypertrophie adipocytaire marquée chez les souris soumises à un régime hypercalorique, confirmée par la mesure du diamètre des adipocytes : environ 110 µm chez les souris traitées contre 40 µm chez les souris contrôles.

Notre étude a révélé une expansion du tissu adipeux par hypertrophie, caractérisée par une augmentation du volume des adipocytes. **Bilal et al (2021)** ont montré que l'expansion du tissu adipeux pendant l'obésité, se fait par le recrutement de nouveaux adipocytes (hyperplasie), ce qui est métaboliquement sain, tandis que celle par l'augmentation du volume des adipocytes préexistants (hypertrophie), observée également dans notre étude, causerait des complications métaboliques.

2.2 Variation des poids ovariens chez les animaux témoins et expérimentaux soumis à un régime hypercalorique

Nos résultats montrent une diminution significative du poids ovarien chez les souris nourries avec un régime hypercalorique par rapport aux témoins. Cette observation est en accord avec celle de **Zhang et al. (2021)**, qui a rapporté une diminution significative de la taille et du poids des ovaires chez les souris soumises à un régime riche en sucre. Ces altérations morphologiques seraient liées à une inhibition de la croissance folliculaire ainsi qu'à une désorganisation tissulaire ovarienne, résultant d'une exposition prolongée à des concentrations élevées d'insuline, de leptine et de lipides circulants. Ce déséquilibre métabolique et hormonal compromet l'homéostasie ovarienne, notamment en perturbant le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien. L'excès de leptine et d'insuline perturbe la sécrétion pulsatile de la GnRH par l'hypothalamus, en agissant indirectement via des neurones intermédiaires tels que ceux produisant la kisspeptine. Cette perturbation entraîne une sécrétion inadéquate des gonadotrophines (FSH et LH) par l'hypophyse antérieure, compromettant la croissance

folliculaire, l'ovulation et la stéroïdogénèse ovarienne (**Quennell et al., 2009 ; Zhang et al., 2021**).

La régulation hormonale cyclique se trouve ainsi perturbée, rompant les rétrocontrôles endocriniens indispensables à l'équilibre du système reproducteur. Ces dérèglements successifs altèrent profondément la physiologie ovarienne, ce qui peut expliquer la réduction du poids ovarien observée chez les animaux obèses. La diminution des poids relatifs des ovaires, ajustés au poids corporel, indique que l'impact du régime hypercalorique ne résulte pas uniquement de la prise de poids globale, mais traduit une atteinte spécifique du développement ovarien (**Sohrabi et al., 2015**).

2.3 Effet du régime hypercalorique sur le statut oxydant /antioxydant et les protéines totales

Nos résultats rapportent une augmentation significative du marqueurs du stress oxydant le MDA dans le groupe expérimental par rapport au témoin. En parallèle, nous observons une diminution significative du marqueurs anti oxydant la GSH, dans le groupe traité comparé au groupe témoin.

Furukawa et al. (2004) ont observé que les perturbations ovariennes chez les souris soumises à un régime hypercalorique se traduisent également au niveau cellulaire et moléculaire, notamment par une accentuation du stress oxydant. L'élévation significative du taux de MDA (malondialdéhyde), marqueur de la peroxydation lipidique, et la diminution de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD), une enzyme antioxydante clé dans les tissus ovariens, témoignent d'une accumulation de radicaux libres. Cette situation résulte en grande partie d'un excès de substrats métaboliques (glucose, acides gras) dans un contexte d'obésité, favorisant la production de ROS (espèces réactives de l'oxygène) par les mitochondries .

Les études réalisées par **Agarwal et al. (2012)**, confirment que l'augmentation du stress oxydant associée à des désordres métaboliques, tels que l'obésité, l'inflammation chronique et un déséquilibre alimentaire, notamment dû à un régime hypercalorique s'accompagne d'une réduction significative de l'activité de la SOD, indiquant un épuisement des systèmes de défense endogène contre l'agression oxydative. Ce déséquilibre pro-oxydant peut altérer la qualité des ovocytes, perturber la croissance folliculaire, et induire l'apoptose des cellules de la granulosa, à l'origine d'une dégénérescence prématurée des follicules et d'une atrophie folliculaire accélérée.

Chez l'homme, **González *et al.* (2006)** ont mis en évidence des niveaux élevés de malondialdéhyde (MDA) et une activité réduite de la superoxyde dismutase (SOD) dans le liquide folliculaire de femmes obèses atteintes du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), comparativement aux femmes minces présentant le même syndrome et aux témoins sains. ce qui établit un lien probable entre le stress oxydatif et les troubles de la fertilité. En effet, l'obésité en particulier l'accumulation de tissu adipeux viscéral, induit un état inflammatoire chronique, marqué par une production accrue de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-6. Ce climat inflammatoire altère la signalisation de l'insuline, menant à une insulino-résistance. L'hyperinsulinémie qui en résulte stimule directement les cellules thécales ovariennes à produire davantage d'androgènes, tout en inhibant la synthèse hépatique de la SHBG, ce qui augmente les concentrations d'androgènes libres.

L'hyperandrogénie ainsi installée perturbe la fonction mitochondriale et favorise la production excessive de ROS dans les tissus ovariens, générant un stress oxydatif délétère pour la qualité ovocytaire et la fonction reproductive.

Dans notre étude, le régime hypercalorique a entraîné une diminution significative de glutathion réduit (GSH) au niveau ovarien, reflétant un affaiblissement des défenses antioxydantes. Ce résultat est en accord avec les observations de **Radenkovic *et al.* (2023)**, qui ont montré qu'un régime riche en graisses aggrave les caractéristiques du SOPK chez les ratte, en réduisant les niveaux de GSH et en augmentant le stress oxydatif. De même, **Yan *et al.* (2020)** ont rapporté que l'exposition à un régime hyperlipidique chez des souris induit une baisse de la réserve folliculaire et une augmentation du stress oxydatif ovarien.

Par ailleurs, **Sturman et Williams (2016)** ont mis en évidence une altération du ratio GSH/GSSG dans plusieurs souches de souris soumises à un régime riche en graisses, indiquant une perturbation de l'équilibre redox. Ces données renforcent l'hypothèse selon laquelle une alimentation hypercalorique compromet la fonction ovarienne en induisant un stress oxydatif, via la diminution du GSH.

Le dosage des protéines totales a montré une diminution de leur concentration chez le lot de souris traité par un régime hypercalorique durant 3 mois. **Yuan *et al.* (2023)**, ont également montré que le régime hypercalorique entraînerai une accumulation de radicaux libres, provoquant une peroxydation lipidique, une activation des voies apoptotiques et des modifications post-traductionnelles oxydatives des protéines, telles que leur carbonylation et leur nitrosylation. Ces dommages compromettent la structure et la fonction des protéines, réduisant leur concentration

globale. Ces altérations biochimiques traduisent un état de stress oxydatif avancé dans les ovaires sous régime hypercalorique, compromettant leur intégrité structurelle et fonctionnelle.

2.4 Effet du régime hypercalorique sur la glycémie

Notre étude a révélé une hyperglycémie chez le lot soumis à un régime hypercalorique par rapport aux lots témoins. Nos résultats sont conformes avec les travaux menés **par Zhang et al. (2022)** qui ont démontré qu'un régime hypercalorique peut induire une hyperglycémie et une hyperinsulinémie persistantes, susceptibles, à long terme, d'épuiser les cellules β pancréatiques responsables de la sécrétion d'insuline, conduisant ainsi à un état prédiabétique chez les rongeurs, et qu'une hyperinsulinémie chronique peut perturber l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien, compromettant la régulation hormonale indispensable au bon fonctionnement ovarien. Plus précisément, **Zhang et al. (2020)** ont montré que cette condition potentialise l'action de la LH sur les cellules thécales, entraînant une production accrue d'androgènes, notamment la 17β -androstènedione. Cet androgène est issu de la 17α -hydroxyprogestérone, elle-même dérivée de la progestérone, par l'action de l'enzyme CYP17A1 (17α -hydroxylase/ $17,20$ -lyase). Il peut ensuite être converti en testostérone ou en estrone selon l'expression relative des enzymes aromatasase (CYP19A1) et 17β -hydroxystéroïde déshydrogénase (17β -HSD) dans les tissus cibles.

De même, **Pieczynska et al. (2022)** ont observé une élévation modérée de la glycémie à jeun dans un modèle murin d'obésité induite par un régime riche en lipides et en fructose. Cela indique une dérégulation progressive du métabolisme énergétique. Ces perturbations dans la gestion des glucides sont directement liées à des modifications profondes du métabolisme global, en particulier au niveau de la transformation des nutriments. En effet, la gestion des nutriments est gravement altérée. Les glucides ingérés sont rapidement convertis en glucose, qui est ensuite transformé en acides gras par la lipogenèse hépatique, surtout sous l'effet d'un excès d'insuline. tandis que les protéines, en cas d'apport excessif, peuvent être utilisées pour produire du glucose via la néoglucogenèse. Ce métabolisme dérégulé engendre une surcharge progressive du foie, des muscles et du tissu adipeux, entraînant une lipotoxicité tissulaire et des altérations endocriniennes ainsi qu'une augmentation de la glycémie.

2.5 Effet du régime hypercalorique sur le cycle oestral

Dans notre étude, l'analyse cytologique des frottis vaginaux a permis d'identifier les différentes phases du cycle œstral chez les souris témoins et expérimentales. Nos résultats ont révélé une absence totale de la phase d'œstrus chez 100 % des souris soumises au régime hypercalorique, avec une prépondérance marquée de la phase de diœstrus. En comparaison, les

souris témoins présentait une répartition plus variée des phases, avec 67 % des animaux en phase de métoestrus. Cette perturbation de la cyclicité œstrale chez les souris expérimentales reflète une altération de l'activité ovarienne, liée à une perturbation de l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique, caractérisée par un blocage au stade lutéal et une absence d'ovulation.

L'analyse des frottis vaginaux réalisés par **Mannerås *et al.* (2007)** ont révélé une perturbation significative du cycle œstral chez les femelles nourries au régime hypercalorique, avec une prolongation notable de la phase diœstrus. Cette altération reflète une activité ovarienne dysfonctionnelle, marquée par un défaut d'ovulation. Le diœstrus prolongé est souvent observé dans les modèles de syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) induits par l'alimentation, où le blocage folliculaire est lié à un déséquilibre des hormones gonadotropes, notamment une diminution relative de la FSH par rapport à la LH.

Zhang *et al.* (2022) montrent que des souris sous différents régimes riches ont des cycles œstraux significativement prolongés, avec un allongement des phases proœstrus, métoœstrus et diœstrus rapportés aux témoins, ces régimes hypercaloriques peuvent altérer l'expression des récepteurs hormonaux et des enzymes impliquées dans la stéroïdogénèse ovarienne, affectant ainsi la production des œstrogènes et de progestérone, hormones clés dans la régulation du cycle œstral.

De même **Zhang *et al.* (2020)** observent que le régime hypercalorique induit des troubles ovulatoires marqués. Les mécanismes sous-jacents impliquent des altérations métaboliques, notamment une hyperinsulinémie et une hyperlipidémie, induites par les régimes hypercaloriques. Ces déséquilibres métaboliques affectent la régulation hormonale du cycle œstral, en perturbant la sécrétion pulsatile de (LH), essentielle à l'ovulation.

Selon **Negrón et Radovick (2020)**, les souris nourries avec des régimes hypercaloriques présentent une fréquence accrue des pulsations de LH pendant la phase de diœstrus, mais pas pendant la phase d'œstrus, suggérant une dysrégulation temporelle de la libération de LH.

Conclusion

Ce travail expérimental a pour objectif d'étudier les effets d'un régime hypercalorique sur la fonction ovarienne chez la souris *Mus Musculus*, en évaluant à la fois les variations du poids corporels, tissu adipeux et ovarien, ainsi que le dosage de quelques paramètres biochimiques de même qu'une étude histochimique et histomorphométrique au niveau du tissu adipeux.

Les résultats obtenus mettent en évidence une prise de poids significative chez les animaux soumis au régime hypercalorique, accompagnée d'une accumulation accrue de tissu adipeux, notamment dans la région abdominale. Cette surcharge lipidique s'est également traduite par une augmentation des taux de glycémie, suggérant une perturbation du métabolisme glucidique, souvent corrélée à une insulino-résistance.

Ces anomalies métaboliques s'accompagnent aussi d'un effet délétère sur les organes reproducteurs, notamment les ovaires, dont nous avons observé une réduction du poids absolu et relatif chez les souris du groupe expérimental, en comparaison au groupe témoin.

L'analyse histochimique a révélé des modifications notables au niveau du tissu adipeux abdominal, avec une hypertrophie marquée des adipocytes en raison d'une augmentation du stockage des lipides. Ces modifications morphologiques peuvent être le reflet d'un état inflammatoire localisé causé par la lipogenèse, adipogenèse élevé et d'un déséquilibre dans les signaux paracrines émis par le tissu adipeux, qui interfèrent avec la folliculogénèse.

Par ailleurs, les dosages biochimiques réalisés sur les ovaires ont montré une légère diminution non significative des concentrations en protéines totales. Concernant le stress oxydatif, les résultats montrent une élévation du taux de malondialdéhyde (MDA), marqueur reconnu de la peroxydation lipidique, ainsi qu'une diminution du glutathion réduit (GSH), indicateur clé de la capacité antioxydante intracellulaire confirmant l'installation d'un stress oxydatif ovarien sous l'effet du régime hypercalorique,

L'ensemble de ces observations permet de conclure que l'alimentation joue un rôle central dans la régulation de la fertilité féminine. Un apport calorique excessif, combiné à une alimentation déséquilibrée riche en sucres et en graisses, peut compromettre la fonction ovarienne en altérant les équilibres hormonaux, métaboliques et redox indispensables au bon déroulement du cycle ovarien.

Il est donc essentiel d'attirer l'attention sur les conséquences potentielles d'un régime hypercalorique prolongé, non seulement sur la santé métabolique, mais aussi sur la santé reproductive. La prévention passe par la promotion d'un mode de vie sain, associant une alimentation équilibrée et une activité physique régulière, dès le plus jeune âge. Cela revêt une importance particulière dans un contexte sociétal où l'obésité infantile et juvénile est en hausse constante.

Pour approfondir ces travaux, il serait pertinent de mener :

- Des études histologiques sur l'ovaire a fin observer les différentes altérations confirmées par le dosage des marqueurs du stress oxydant.
- Des études complémentaires incluant une analyse hormonale (FSH, LH, œstradiol, progestérone), une caractérisation plus fine de la dynamique folliculaire (nombre de follicules par stade, atresie).
- Une exploration des voies moléculaires impliquées (signalisation de l'insuline, expression des gènes pro-oxydants et antioxydants).
- Des études sur les effets de la réversibilité par un retour à une alimentation normocalorique ou une supplémentation en antioxydants permettrait d'évaluer les possibilités de récupération de la fonction ovarienne après exposition au stress nutritionnel.

Références bibliographiques

Agarwal, A., Gupta, S., et Sharma, R. K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology*, 3, 1-21.

Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B. J., Shaman, A.,...et Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10, 1–31

Ahima, R. S., et Flier, J. S. (2000). Leptin. *Annual review of physiology*, 62(1), 413-437

Azouzi, D. Laksaci, L. (2014) Effet d'un traitement thermique sur les polyphenols du millet et leur pouvoir antioxydant, p. 80

Banks, W. J. (1993). Female reproductive system. In: *Applied veterinary histology* (3rd ed.). St Louis: Mosby-Year Book, Inc, pp. 452-457.

Baqué, P., et Hekayem, L. (2022). *Leçons d'anatomie*. Paris : Ellipses, pp. 648

Bazot, M., Fédida, B., Dechoux-Vodovar, S., Beldjord, S., et Thomassin-Naggara, I. (2016). Ovaires : variations physiologiques et pathologies fonctionnelles. *Feuillets de Radiologie*, 56(2), 65-84.

Benchimol, D. (2014). Anatomie fonctionnelle de l'appareil génital féminin. Gynécologue-obstétricien à Paris, France [Internet]. [Cité 2 juin 2023]. Disponible sur : <https://www.docteur-benchimol>

Bensakhria, A. (2015, janvier 17). Stress oxydatif. *Analytical Toxicology*

Bilal, M., Nawaz, A., Kado, T., Aslam, M. R., Igarashi, Y., Nishimura, A., ...et Tobe, K. (2021). Fate of adipocyte progenitors during adipogenesis in mice fed a high-fat diet. *Molecular metabolism*, 54, 101328.

Bouchard, C., Tremblay, A., et Després, J. P. (2004). Adipose tissue and energy balance: role of adipokines. *Nature Reviews Endocrinology*, 1(3), 183-192.

Bommas-Ebert, U., Teubner, P., et Voss, R. (2008). *Cours d'anatomie*. Bruxelles : De Boeck Supérieur, pp. 514.

Boron, W. F., et Boulpaep, E. L. (2017). *Medical Physiology* (3e éd.). Elsevier.

Botham, K., Bender, D., et Kennelly, P. (2017). *Biochimie de Harper*. De Boeck Supérieur.

- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254
- Broer, S. L., Broekmans, F. J., Laven, J. S., et Fauser, B. C. (2014).** Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Human Reproduction Update*, 20(5), 688-701.
- Brooker, C. (2000).** Le corps humain : Étude, structure et fonction. De Boeck Supérieur.
- Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., et Taft, R. A. (2012).** Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS One*, 7(4), e35538.
- Caligioni, C. S. (2009).** Assessing reproductive status/stages in mice. *Current protocols in neuroscience*, 48(1), A-4I.
- Chalmey, C. (2013).** Exposition néonatale aux œstrogènes : Effets sur leur métabolisme, le développement ovarien et la fonction de reproduction chez la ratte, p. 65
- Caíque S. M. Fonseca, Basford, J. E., Kuhel, D. G., Konaniah, E. S., Cash, J. G., Lima, V. L. M., et Hui, D. Y. (2022).** Distinct influence of hypercaloric diets predominant with fat or fat and sucrose on adipose tissue and liver inflammation in mice. *Molecules*, 25(19), 4369
- Conneely, O. M., Mulac-Jericevic, B., DeMayo, F., Lydon, J. P., et O Malley, B. W. (2002).** Reproductive functions of progesterone receptors. *Recent progress in hormone research*, 57, 339-356.
- Conneely, O. M., Mulac-Jericevic, B., et Lydon, J. P. (2003).** Progesterone-dependent regulation of female reproductive activity by two distinct progesterone receptor isoforms. *Steroids*, 68(10-13), 771-778
- Cooke, P. S., Spencer, T. E., Bartol, F. F., et Hayashi, K. (2013).** Uterine glands: development, function and experimental model systems. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, 19(9), 547-558.
- Cora, M. C., Kooistra, L., et Travlos, G. (2015).** Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic pathology*, 43(6), 776-793.

Causse, C. (2004). Les secrets de santé des antioxydants : plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Alpen Editions sam.

Couto, N., Wood, J., et Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free radical biology and medicine*, 95, 27-42

Deffieux, X., et Antoine, J. M. (2003). Inhibines, activines et hormone anti-müllérienne : structure, signalisation, rôles et valeur prédictive en médecine de la reproduction. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 31(11), 900-911

Drummond, A. E. (2006). The role of steroids in follicular growth. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4, 1–11

Duittoz, A., et Prévot, V. (2014). GnRH, structure, développement des neurones à GnRH, neuroanatomie et sécrétion. In M. Saint-Dizier & S. Chastant-Maillard (Éds.), *La reproduction animale et humaine* (p. 149). Éditions Quae

Durand, G., et Beaudeau, J. L. (2011). Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. Lavoisier

Durlinger, A. L., Gruijters, M. J., Kramer, P., Karels, B., Ingraham, H. A., Nachtigal, M. W., et Themmen, A. P. (2002). Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology*, 143(3), 1076-1084

Empeaire, J.-C. (2013). Pratique de la stimulation ovulatoire par les gonadotrophines (175 p.). Springer

Eppig, J. J. (2001). Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, 122(6), 829–838

Espey, L. L. (1994). Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biology of Reproduction*, 50(2), 233–238.

Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(3), 341–390

- FAO. (1989).** Besoins en vitamine A, fer, acide folique et vitamine B12 : rapport d'une consultation conjointe FAO/OMS d'experts. Food et Agriculture Organization.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 1, 108–115.
- Ferrieu-Garcia, M. (2017).** La régulation hormonale du cycle ovarien et son impact sur la fonction reproductrice. *Journal de la reproduction humaine*, 25(1), 45–56.39).
- Findlay, J. K. (1994).** Ovarian regulation of folliculogenesis: A new dimension to an old story. *Endocrinology*, 135(3), 945–947
- Foucaut, A.-M., Faure, C., Julia, C., Czernichow, S., Levy, R., et Dupont, C. (2019).** Sedentary behavior, physical inactivity and body composition in relation to idiopathic infertility among men and women. *PLOS ONE*, 14(4), e0210770
- Friedman, J. M. (1998).** Leptin and the regulation of body weight. *Nature*, 395(6704), 763–770.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., et Shimomura, I. (2017).** Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(12), 1752–1761.
- Ganguly, A., Banskota, S., Yang, C. H., Hsueh, A. J. W., & DeMayo, F. J. (2014).** Oxidative stress in the ovary during high-fat diet-induced obesity in mice. *Reproductive Toxicology*, 48, 115–121
- Gao, M., Ma, Y., et Liu, D. (2015).** High-fat diet-induced adiposity, adipose inflammation, hepatic steatosis and hyperinsulinemia in outbred CD-1 mice. *PLoS ONE*, 10(3), e0119784.
- Gayrard, V. (2007).** *Physiologie de la reproduction des mammifères* (198 p.). École Nationale Vétérinaire, Toulouse.
- Georges Suh, Larsen et Letombe, (2014).** *Journal of Molecular Endocrinology*.
- Giraudet G., et Collinet P., (2014).** *Anatomie descriptive et fonctionnelle de l'annexe*. CNGOF Gyneco-pathologie.
- Goff, V. L., et Sennequier, N. (1998).** Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO): mécanisme, régulation et contrôle

- Goldman, J. M., Murr, A. S., et Cooper, R. L. (2007).** The rodent estrous cycle: Characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 80(2), 84–97
- González, F., Rote, N. S., Minium, J., et Kirwan, J. P. (2006).** Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(1), 336–340.
- Gore, A. C. (2002).** GnRH: The master molecule of reproduction (324 p.). Springer, New York.
- Gougeon, A. (1996).** Regulation of ovarian follicular development in primates: Facts and hypotheses. *Endocrine Reviews*, 17(2), 121–155
- Gregor, M. F., & Hotamisligil, G. S. (2011).** Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual Review of Immunology*, 29, 415–445
- Groothuis, P. G., Dassen, H. H. N. M., Romano, A., et Punyadeera, C. (2007).** Estrogen and the endometrium: Lessons learned from gene expression profiling in rodents and human. *Human Reproduction Update*, 13(4), 405–417
- Guichardant, M., Bacot, S., Molière, P., et Lagarde, M. (2006).** Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 13(1), 31–34
- Halliwell, B., et Gutteridge, J. M. (2015).** Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press.
- Halter, S., Reynaud, K., Tahir, Z., Thoumire, S., Chastant-Maillard, S., et Saint-Dizier, M. (2011).** L’oviducte de mammifère : un organe revisité. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 39(11), 625-629
- Harris, A. L. (2002).** Hypoxia: A key regulatory factor in tumor growth. *Nature Reviews Cancer*, 2(1), 38–47.
- Hedon, B. (2005).** Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 34(5), 513.
- Heffner L.J., (2003).** Reproduction humaine. Edition De Boeck supérieur, Paris :121 pages

Hsueh, A. J. W., Adashi, E. Y., Jones, P. B. C., & Welsh, T. H. (2015). Ovarian control of reproductive hormone feedback. *Physiological Reviews*, 95(2), 1125–1170

Humeau, C., et Arnal, F. (2007). *Reproduction et développement* (3e éd.). Savramps Médical, p. 80.

Inserm, (2011). Expertise collective. Fonctionnement des ovaires. *Reproduction et environnement*. Les éditions ISBN 978-2-85598-890-X. *J Clin Endocrinol Metab*, 88 : 3333-3338

Jadot, G. (1994) Antioxydants et vieillissement. John Libbey Eurotext.

Juengel, J. L., et McNatty, K. P. (2005). The role of proteins of the transforming growth factor- β superfamily in the intraovarian regulation of follicular development. *Human reproduction update*, 11(2), 144-161

Kamina, P., et Martinet, C. (2014). *Anatomie clinique*. Tome 4 : Organes urinaires et génitaux, pelvis, coupes du tronc (3^e éd.). Paris : Maloine

Khelil, M.A. (1994). Atlas d'anatomie. Alger, Vol .1, pp 103

Knight, P. G., et Glister, C. (2006). TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*, 132(2), 191-206

Kohler C., (2010-2011). Appareil génital féminin, Support de Cours (Version PDF), - Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens

Krinke, G. J. (2004). Normative histology of organs. In *The laboratory mouse* (pp. 133-166). Academic Press.

López, M., Tena-Sempere, M., Diéguez, C., & Pinilla, L. (2006). High-fat diet-induced obesity in mice: Effects on reproductive function. *Endocrinology*, 147(10), 4944–4953

López-Soldado, I., et Zorzano, A. (2020). Implications of energy balance and obesity on systemic metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 31(11), 905–917

- Lu, Y., Wang, Y., Li, X., Zhang, J., & Chen, Y. (2021).** Effect of high-fat diet on the lipid profile of ovarian granulosa cells in mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(1), 1–10
- Lucas, L. (2007)** Biologie oxydative et implications cliniques du peroxy-nitrite, *Revue Médicale Suisse*
- Lunding, S. A., Pors, S. E., Kristensen, S. G., Bøtkjær, J. A., Ramløse, M., Jeppesen, J. V. et Andersen, A. N. (2020).** Ovarian cortical follicle density in infertile women with low anti-Müllerian hormone. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 37, 109-117
- Makkar, D. (2018).** Postpartum depression—An overview. *Pan Asian Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1(2), 11–17.
- Mannerås, L., Cajander, S., Holmäng, A., Seleskovic, Z., Lystig, T., Lönn, M., et Stener-Victorin, E. (2007).** A new rat model exhibiting both ovarian and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome. *Endocrinology*, 148(8), 3781–3791.
- Marieb, E. N., et Hoehn, K. (2010).** Anatomie et physiologie humaines. Paris : Pearson ; Saint-Laurent (Québec) : ERPI.
- Marieb, E. N., et Hoehn, K. (2013).** Human anatomy and physiology (9^eéd.). Pearson.
- Marieb, E. N., et Hoehn, K. (2014).** Human Anatomy & Physiology (9^eéd.). Pearson.
- Martin, C., et Vincent, J. L. (Eds.). (2005).** Sepsis sévère et choc septique. Springer Science & Business Media.
- Martins, V. D., Silva, F. C., Caixeta, F., Carneiro, M. B., Goes, G. R., Torres, L., ... et Maioli, T. U. (2020).** Obesity impairs resistance to *Leishmania major* infection in C57BL/6 mice.
- Mather, J. P., Woodruff, T. K., et Krummen, L. A. (1993).** Activins and inhibins: Roles in development, physiology, and disease. *Endocrine Reviews*, 14(5), 688–707.
- Matés, J., Perez-Gomez, C., & Nunez Castro, I. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry Journal*, 32, 595–603.
- Mazoyer, C., Courbière, B., Salle, B., Smitz, J., et Lornage, J. (2008).** État actuel de la folliculogénèse in vitro chez la souris. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 36(1), 6–16.

- McGee, E. A., & Hsueh, A. J. (2000).** Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Reviews*, 21(2), 200–214.
- McLean, A. C., Valenzuela, N., Fai, S., et Bennett, S. A. (2012).** Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse estrous cycle staging identification. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (67), 4389.
- Medina-Navarro, R., Durán-Reyes, G., Díaz-Flores, M., et Vilar-Rojas, C. (2010).** Protein antioxidant response to the stress and the relationship between molecular structure and antioxidant function. *PLoS One*, 5(1), e8971.
- Michele Ferrieu-Garcia. (2017, mai).** L'ovaire endocrine. *Cahiers de Biothérapie*, (256), 1. *L'homéopathie Française, Numéro Spécial Enseignement : Gynécologie (Pathogénésie de Folliculinum)*.
- Monget, P., et Monniaux, D. (1995).** Growth factors and the control of folliculogenesis. *Journal of Reproduction and Fertility - Supplements only*, (49), 321–334.
- Monniaux, D., Caraty, A., Clément, F., Dalbiès-Tran, R., Dupont, J., Fabre, S., ...et Uzbekova, S. (2009).** Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Productions Animales*, 22(6), 59–76.
- Monteil, C., Mulder, P., et Thuillez, C. (2004).** Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique ? *Médecine thérapeutique Cardiologie*, 2(2), 78-85
- Nagarajan, P., Gudde, R., et Srinivasan, R. (Eds.). (2021).** *Essentials of laboratory animal science: principles and practices*. Springer.
- Negrón, A. L., et Radovick, S. (2020).** High-fat diet alters LH secretion and pulse frequency in female mice in an estrous cycle-dependent manner. *Endocrinology*, 161(10), bqaa146.
- Neill, J. D. (Ed.). (2006).** *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (3rd ed.)*. Academic Press
- Norris D.O. et LOPEZ K.H. (2011)**-*Endocrinology of the mammalian Ovary: Hormones and reproduction of vertebrate*. Eds Elsevier, Vol 5, Londres (UK), p59-72

- Ochoa-Bernal, M. A., et Fazleabas, A. T. (2020).** Physiologic events of embryo implantation and decidualization in human and non-human primates. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 1973.
- Paffetti, M. G., Cárcamo, J. G., Azócar-Aedo, L., et Parra, A. (2023).** Effect of a diet-induced obesity on the progeny response in a murine model. 15(23).
- Patrick, L. (2008).** *Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux*. John Libbey Eurotext.
- Pelletier, É., et Campbell, P. G. (2004).** *Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement*. Presses de l'Université du Québec.
- Pepling, M. E., et Spradling, A. C. (2001).** Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles. *Developmental Biology*, 234(2), 339–351.
- Pepling, M. E. (2012).** The establishment of the mouse primordial follicle pool: A unique process. *Journal of Animal Science*, 90(10), 3213–3221.
- Phifer-Rixey, M., et Nachman, M. W. (2015).** Insights into mammalian biology from the wild house mouse *Mus musculus*. *elife*, 4, e05959.
- Pieczynska, J. M., Pruszyńska-Oszmálek, E., Kołodziejki, P. A., Łukomska, A., & Bajerska, J. (2022).** The role of a high-fat, high-fructose diet on letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in prepubertal mice. *Nutrients*, 14(12), 2478
- Priedkalns, J., et Leiser, R. (1998).** Female reproductive system. In Dellmann, H. D., & Eurell, J. A. (Eds.), *Textbook of veterinary histology* (pp. 247–269). Williams and Wilkins.
- Polak, G., Koziol-Montewka, M., Gogacz, M., Błaszowska, I., et Kotarski, J. (2001).** Total antioxidant status of peritoneal fluid in infertile women. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 94(2), 261–263.
- Quennell, J. H., Howell, C. S., Roa, J., Augustine, R. A., Grattan, D. R., et Anderson, G. M. (2009).** Leptin indirectly regulates gonadotropin-releasing hormone neuronal function. *Endocrinology*, 150(6), 2805–2812.
- Radenkovic, M., Stanojkovic, T. P., & Stojanovic, M. (2023).** High fat diet exaggerates metabolic and reproductive PCOS features by promoting oxidative stress: An improved EV model in rats. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 10301084

- Rendi, M. H., Setiawan, B. & Kania, N. (2012).** The anatomy in mice (*Mus musculus*). *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2(2), 2071–2077.
- Riché, M. D. (2008).** Micronutrition, santé et performance : Comprendre ce qu'est vraiment la micronutrition. De Boeck Supérieur.
- Richards, J. S., Pangas, S. A. (2010).** The ovary: Basic biology and clinical implications. *Journal of Clinical Investigation*, 120(4), 963–972.
- Roberfroid, V., et Roberfroid, N. (2008).** *Aliments fonctionnels* (2^e éd.). Lavoisier.
- Roussel, A. (2014).** Éléments-trace (zinc, sélénium, chrome, fer), syndrome métabolique et diabète de type 2. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 8(5), 489–493
- Rousseau, J. P., et Ménézo, Y. (1991).** Rôle du tractus génital femelle dans les déplacements et la survie des gamètes et de l'œuf fécondé. In Thibault, C., & Levasseur, M. C. (Eds.), *La reproduction chez les mammifères et l'homme* (pp. 359–376). Paris : Éditeur des préparations grandes écoles de médecine.
- Russo-Marie, F. (1998)** *L'inflammation*. John Libbey Eurotext.
- Sadler, T. W. (2018).** *Langman's medical embryology* (14^e éd.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Sahnoun, Z., Jamoussi, K., et Zeghal, M. (1997).** Radicaux libres et anti-oxydants : physiologie, pathologie humaine et aspects thérapeutiques. *Thérapie (Paris)*, 52(4), 251–270.
- Scalon, V. C., et Sanders, T. (2006).** *Essentials of anatomy and physiology* (5^e éd.). New York: Davis Company, 603 p.
- Scibior, D., et Czczot, H. (2006).** Catalase: structure, properties, functions. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 60, 170–180.
- Shacter, E. (2000).** Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, 32(3–4), 307–326.
- Silvestris, E., de Pergola, G., Rosania, R., & Loverro, G. (2018).** Obesity as disruptor of the female fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 22

- Sohrabi, M., Mohammadi Roushandeh, A., Alizadeh, Z., Vahidinia, A., Vahabian, M., & Hosseini, M. (2015).** Effect of a high fat diet on ovary morphology, in vitro development, in vitro fertilisation rate and oocyte quality in mice. *Singapore Medical Journal*, 56(10), 573–579.
- Stewart, C. A., Behringer, R. R. (2012).** Mouse oviduct development. In *Mouse Development: From Oocyte to Stem Cells* (pp. 247–262).
- Sturman, J. A., & Williams, M. T. (2016).** A high-fat diet differentially regulates glutathione phenotypes in the obesity-prone mouse strains DBA/2J, C57BL/6J, and AKR/J. *Free Radical Biology and Medicine*, 99, 123–132
- Sugino, K., Kurosawa, N., Nakamura, T., Takio, K., Shimasaki, S., Ling, N., et Titani, K. (1997).** Molecular heterogeneity of follistatin, an activin-binding protein. *Journal of Biological Chemistry*, 272(20), 13835–13842
- Terranova, P. F. (1997).** Potential roles of tumor necrosis factor- α in follicular development, ovulation, and the life span of the corpus luteum. *Domestic Animal Endocrinology*, 14(1), 1–15.
- Thibault, C., & Levasseur, M. C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. INRA, vol. 926, pp. 117–119.
- Thiebault, J., & Sprumont, D. (1997).** Les radicaux libres en biologie. *Sciences & Avenir*, 61(7), 55–61.
- Tortora, G. J., et Grabowski, S. R. (2005).** *Principles of Anatomy and Physiology* (10^eéd.). Wiley.
- Tremellen, K. (2008).** Oxidative stress and the ovary: A review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6(1), 1-10.
- Treuting, P. M., Dintzis, S. M., et Montine, K. S. (Éds.). (2017).** *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse, Rat, and Human Atlas*. Academic Press.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., et Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.

Vessaire, J-P. (1977). Sexualité et reproduction des mammifères domestiques de laboratoire. Maloine S.A éditeur : 457p.

Visioli, F., et Hagen, T. M. (2011). Antioxidants to enhance fertility: role of eNOS and potential benefits. *Pharmacological Research*, 64(5), 431-437.

Visser, J. A., de Jong, F. H., Laven, J. S., et Themmen, A. P. (2006). Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*, 131(1), 1-9.

Waynforth, H. B., et Flecknell, P. A. (1992). Experimental and surgical technique in the rat (Vol. 346). London: Academic Press.

Westwood, F. R. (2008). The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicologic Pathology*, 36(3), 375-384.

Williams, C. J., et Erickson, G. F. (2012). Regulation of ovarian function. *Physiological Reviews*, 92(3), 1179-1231.

Wray, S. (2010). From nose to brain: development of gonadotrophin-releasing hormone-1 neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, 22, 743-753.

Xavier, S. (2001). Origine et rôle des radicaux libres. *Journal*

Xie, D., Zhang, Y., Guo, Y., Xue, X., Zhao, S., Geng, C., ... et Jiang, P. (2023). The impact of high-glucose or high-fat diets on the metabolomic profiling of mice. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1171806.

Yan, S., Wang, F., & Shi, Q. (2020). The effect of maternal high-fat-diet mediated oxidative stress on ovarian function in mice offspring. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20(6), 135

Yuan, X., Wang, J., Tang, X., Li, Y., Xia, X., Zhang, Y., & Yang, K. (2016). Obesity-induced insulin resistance impairs ovarian function in mice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14, 75

Yuan, M., Ma, W., Zhang, Y., Tang, Q., Liu, Y., Wang, X., Yang, Y., Xue, C., Chen, X., Zhang, W., & Yuan, Y. (2023). Oxidative stress biomarker triggered multiplexed tool for auxiliary diagnosis of atherosclerosis. *Science Advances*, 9(24), eadh1037

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425–432

Zhang, Q., Wang, Y., Liu, J., Chen, Z. J., et amp; Du, Y. (2020). Hypercaloric diets impair ovarian follicular development by inducing hyperinsulinemia and hyperlipidemia in female mice

Zhang, L., Liu, Y., Li, M., Zhu, X., et amp; Shi, Y. (2021). Effect of a high-calorie diet and constant light exposure on female reproduction, metabolism and immune inflammation: a comparative study of different mouse models. *American Journal of Reproductive Immunology*, 86(5), e13479.

Zhang, Q. L., Wang, Y., Liu, J. S., et amp; Du, Y. Z. (2022). Effects of hypercaloric diet-induced hyperinsulinemia and hyperlipidemia on the ovarian follicular development in mice. *Journal of Reproduction and Development*, 68(3), 173-180.yclicité ovarienne en lien avec le dérèglementdel'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.

Annexes

Annexe 1: Matériel non biologique utilisés au cours de l'expérimentation

Catégorie	Matériel
Equipements de protection individuelle	Gants ,bavette
Instruments de prélèvement et de dissection	Trousse de dissection (ciseaux, pinces, bistouri), épingles, flacon E.C.B.E
Matériel pour l'histologie	Cassettes d'inclusion, moules métalliques d'inclusion, lames en verre, lamelles couvre-objets, porte-objets
Appareils et équipements de laboratoire	Étuve, balance de précision, microtome, microscope, bain-marie, plaque chauffante, éprouvette graduée, boîte pour la pesée des animaux, glucomètre, centrifugeuse, spectrophotomètre, broyeur Staufen, lecteur de microplaques (BIO-TEK), vortex, tubes à hémolyse.
Réactifs biochimiques	Formol, éthanol, xylène, paraffine, Giemsa, May-Grünwald, noir Soudan, rouge nucléaire, Triton X-100 (0,1 %), NaCl, NaH ₂ PO ₄ , acide thiobarbiturique (TBA), acide orthophosphorique, butanol, 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoïque acide) (DTNB), tampon d'hydrogénophosphate disodique, EDTA, albumine sérique bovine (BSA), solution de Bradford, eau distillée

Résumé

L'infertilité féminine constitue un enjeu de santé publique préoccupant, souvent associée à des facteurs nutritionnels et métaboliques. Le but de notre étude est d'évaluer les effets d'un régime hypercalorique sur la fonction ovarienne chez la souris femelle *Mus musculus*. Un lot de 12 souris femelles a été réparti en deux groupes (témoin et expérimental), ayant reçu un régime hypercalorique pendant 3 mois. Des prélèvements d'organes et sanguins ont été réalisés, permettant le dosage de certains paramètres biochimiques. L'étude histochimique ainsi que morphométrique a été réalisée sur le tissu adipeux. Les résultats ont mis en évidence une augmentation significative du poids corporel et de la masse adipeuse chez les souris soumises à un régime hypercalorique, avec une hypertrophie et une hyperplasie des adipocytes, ainsi qu'une hyperglycémie. Parallèlement, une diminution significative du poids ovarien a été observée chez les animaux traités. Au niveau ovarien, l'étude a révélé une modification des marqueurs du stress oxydatif (élévation du MDA et diminution du GSH) ainsi qu'une réduction des protéines totales. L'analyse du cycle œstral a mis en évidence des perturbations majeures, notamment une prépondérance de la phase de diœstrus, suggérant un blocage de l'ovulation et une altération de l'activité ovarienne. Ces observations démontrent qu'un régime hypercalorique prolongé altère profondément la fonction ovarienne chez la souris femelle. Cette étude souligne l'importance d'une alimentation équilibrée pour la santé reproductive et suggère la nécessité de recherches complémentaires sur les mécanismes moléculaires, la réversibilité des effets et les interventions potentielles.

Mots-clés : Régime hypercalorique, ovaire, stress oxydatif, tissu adipeux

Abstract

Female infertility represents a concerning public health issue, often associated with nutritional and metabolic factors. This study aimed to evaluate the effects of a high-calorie diet on ovarian function in female *Mus musculus* mice. A total of 12 female mice were divided into two groups (control and experimental), with the experimental group receiving a high-calorie diet for three months. Organ and blood samples were collected to measure specific biochemical parameters. Histochemical and morphometric analyses were performed on adipose tissue. The results revealed a significant increase in body weight and fat mass in the high-calorie group, along with adipocyte hypertrophy and hyperplasia, as well as hyperglycemia. Simultaneously, a significant reduction in ovarian weight was observed in the treated animals. At the ovarian level, oxidative stress markers were altered, with increased malondialdehyde (MDA) levels and decreased glutathione (GSH) levels, accompanied by reduced total protein content. Estrous cycle analysis revealed major disruptions, particularly a predominance of the diestrus phase, suggesting ovulation blockade and impaired ovarian activity. These findings demonstrate that prolonged exposure to a high-calorie diet severely disrupts ovarian function in female mice. This study highlights the importance of a balanced diet for reproductive health and suggests the need for further research on molecular mechanisms, reversibility of the effects, and potential therapeutic interventions.

Keywords: High-calorie diet, ovarian function, oxidative stress, adipose tissue