

JOURNÉE D'INFORMATION  
SCIENTIFIQUE – BOVINS LAITIERS ET  
PLANTES FOURRAGÈRES

---

## Effet d'un niveau élevé de bêta-hydroxybutyrate (BHB) au jour 45 post-partum sur la qualité transcriptomique et épigénétique des embryons

CATHERINE CHAPUT<sup>1</sup>, MARC-ANDRÉ SIRARD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de recherche en reproduction, développement et santé intergénérationnelle, Université Laval, Québec, Canada

Catherine.chaput.2@ulaval.ca

### **Mot clés : bêta-hydroxybutyrate, qualité embryonnaire, métabolisme, mitochondrie**

En début de lactation, la vache subit un stress important occasionné par l'impossibilité de combler l'ensemble de ses besoins énergétiques par son alimentation. Ce stress est d'autant plus élevé si la vache est une bonne productrice. Pour des raisons économiques, on tend toutefois à vouloir inséminer les vaches pendant cette période caractéristique, soit à partir du jour 60 post-partum. Or, la littérature a montré que la fertilité était diminuée pendant cette période et on constate un fonctionnement ovarien perturbé, particulièrement lorsque le bêta-hydroxybutyrate (BHB) est élevé (Girard et al., 2015). On ignore cependant si la qualité de l'embryon en est affectée. De plus, on sait que ce déficit au moment de l'insémination entraîne aussi des répercussions épigénétiques chez la future progéniture, soit une baisse de la production laitière (Gonzalez-Recio et al., 2012) ainsi que de la fertilité (Evans et al., 2012) potentielle future. Ce contexte favorise alors des dépenses accrues pour l'insémination, les frais vétérinaires et parfois une décision de remplacement prématurée.

Afin de vérifier si les embryons produits pendant cette période de balance énergétique négative étaient différents, nous avons effectué une stimulation ovarienne chez des vaches classées selon le niveau de BHB sanguin au jour 45 post-partum, et nous avons récolté les embryons sept jours après leur insémination, soit environ au jour 60. Nous avons ensuite analysé l'expression de tous les gènes (environ 40 000), selon le niveau de BHB, afin de constater qu'il existe plus de 1 000 gènes affectés par la signature métabolique de la mère. La confirmation de ces changements sur l'épigénome, ainsi que de son impact possible sur la future génisse a été effectuée en mesurant la méthylation de l'ADN (450 000 cytosines) via l'utilisation de micropuces, où l'analyse a permis de déterminer plus de 400 régions différenciellement méthylées.

Les résultats obtenus soutiennent l'existence d'une altération du métabolisme énergétique au niveau embryonnaire, notamment par la modification de la voie de signalisation de mTOR ainsi que de celle des sirtuines. Cette altération semble aller de pair avec une dysfonction mitochondriale et une inhibition de la transcription, entraînant un freinage au niveau cellulaire, probablement dû à la programmation de l'embryon à utiliser ses réserves lors de conditions importantes de stress. De plus, la signature transcriptomique des embryons ayant évolué dans un milieu riche en BHB semble être similaire à celle associée à des embryons récoltés chez des génisses prépubères, et donc toujours en croissance (Morin-Doré et al., 2017).

Cette étude vient ainsi appuyer le fait que la période à laquelle l'ovocyte et le jeune embryon sont exposés à l'environnement métabolique maternel affecte la qualité embryonnaire à court et long terme et est par ce fait même, un facteur clé quant à la réussite de production d'une progéniture.

## Références

Evans, A. C., Mossa, F., Walsh, S. W., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Ireland, J. L. H., Smith, G. W. and Ireland, J. J. 2012. Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. *Reproduction in domestic animals*, 47:31-37.

Girard, A., Dufort, I., and Sirard, M. A. 2015. The effect of energy balance on the transcriptome of bovine granulosa cells at 60 days postpartum. *Theriogenology*. 84(8):1350-1361.

Gonzalez-Recio, O., Ugarte E., and Bach, A. 2012. Trans-generational effect of maternal lactation during pregnancy: a Holstein cow model. *PLoS One* 7: e51816.

Morin-Doré, L., Blondin, P., Vigneault, C., Grand, F.X., Labrecque, R., and Sirard, M.A. 2017. Transcriptomic evaluation of bovine blastocysts obtained from peri-pubertal oocyte donors. *Theriogenology* 93:111-123.

# Effet d'un niveau élevé de bêta-hydroxybutyrate (BHB) au jour 45 post-partum sur la qualité transcriptomique et épigénétique des embryons

Par Catherine Chaput



## La petite histoire de la fertilité

### Nutrition and Reproduction Loss—Can We Feed

Fertility in the high-producing dairy cow<sup>☆</sup>

Volume 44, Issue 12, Pages 2323–2329

J.E. Pryce<sup>a,\*</sup>, M.D. Royal<sup>b</sup>, P.C. Garnsworthy<sup>c</sup>, I.L. Mao<sup>d</sup>

the Breeder Cow Problem

<sup>a</sup>Animal Biology Division, SAC, West Mains Road, Edinburgh EH9 3JG, UK  
<sup>b</sup>Department of Veterinary Clinical Science and Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Science, University of Liverpool, Leahurst, Neston, South Wirral CH64 7TE, UK

A review of the dairy cows

<sup>c</sup>Cattle Fertility Research

<sup>d</sup>Department of Animal

Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows<sup>☆</sup>

S.W. Walsh, E.J. Williams, R.C.O. Evans  
School of Agriculture Food Science and Veterinary Medicine, and the

W.R. Butler\*

J. Dairy Sci. 84:1277–1293  
© American Dairy Science Association, 2001.

Department of Animal Science, Cornell University, 203 Morrison Hall, Ithaca, NY 14853, USA

Received 1 April 2003; accepted 1 April 2003

### ADSA Foundation Scholar Award

Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End?<sup>1</sup>

M. C. Lucy  
Department of Animal Sciences,  
University of Missouri, Columbia 65211

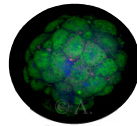
Strategies for Reversing the Trend Towards Subfertility in Dairy Cattle

M. ROYAL, G.E. MANN, A.P.F. FLINT

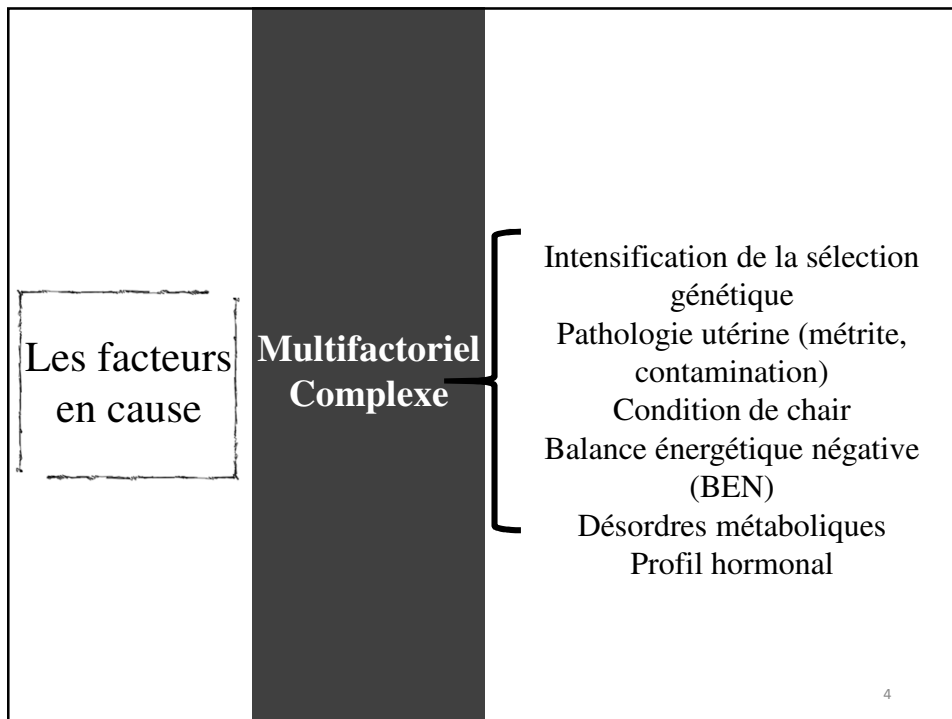
# La petite histoire de la fertilité

- ∞ Chute des paramètres de reproduction
  - ∞ ↑ intervalle **vêlage-première ovulation**
  - ∞ ↓ réduction de la **durée de l'œstrus**
  - ∞ ↓ du taux de **succès à la 1<sup>ère</sup> insémination**
  - ∞ ↑ **nombre de saillies** par vache

(Butler, 1998; Lucy, 2001; Lopez-Gatius, 2003; Pryce, 2004; Dillon, 2006; Macdonald et al., 2008; Walsh et al., 2011)



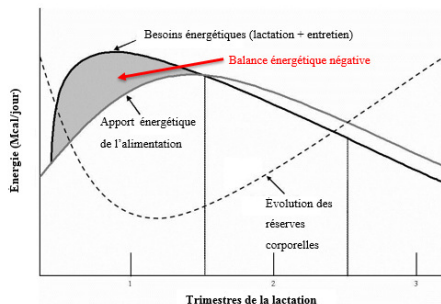
3



4

## Qu'est-ce que la balance énergétique négative?

- ⌘ Besoins en énergie > énergie consommée
- ⌘ Plusieurs facteurs peuvent en influencer son importance
  - ⌘ Génétique
  - ⌘ Cote de chair
  - ⌘ Production laitière
  - ⌘ Consommation de MS
  - ⌘ Alimentation
- ⌘ Production de corps cétoniques
  - ⌘ Bêta-hydroxybutyrate (BHB)



Hoffman et al., 2000

5

## Pourquoi s'y intéresser?

- ⌘ Effets sur le cycle œstral
  - ⌘ ↓ la fréquence des pulses de la LH
  - ⌘ ↓ de la sensibilité des ovaires à la LH
  - ⌘ ↓ la production d'estrogène et d'IGF-I
  - ⌘ ↓ concentration d'œstradiol
  - ⌘ ↓ de la concentration en insuline
- ⌘ Effets sur le rétablissement de l'utérus

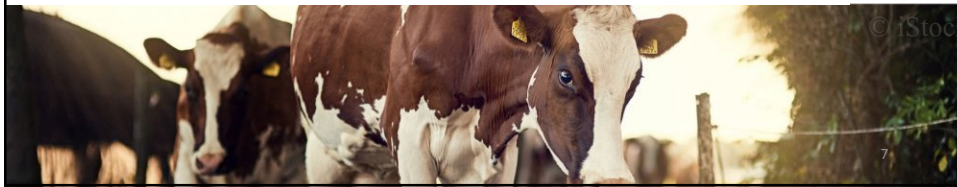
**Chute des performances de reproduction**

Lucy, 2000; Butler et al., 2001; Butler et al., 2003; Diskins et al., 2003; Wathes et al., 2007; Leroy et al., 2008, Dupont et al., 2014

6

## Hypothèse

La balance énergétique négative peut affecter la **qualité embryonnaire** et possiblement expliquer l'augmentation des paramètres de **fertilité** entre les jours 60 et 120 post-partum.

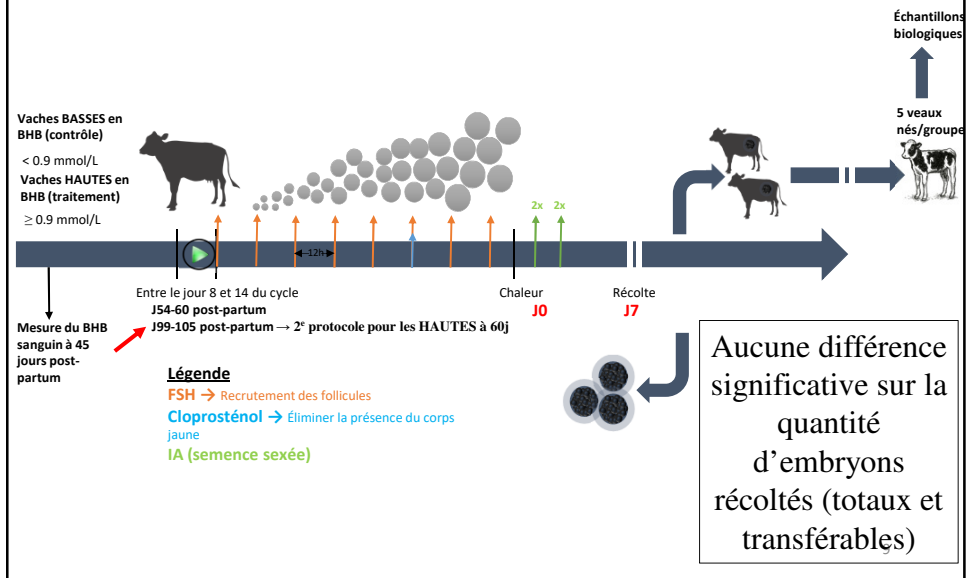


## Objectifs de la recherche

- ↻ Déterminer l'effet d'un **bilan énergétique négatif au jour 60 post-partum**
  - ↻ sur le **développement embryonnaire**
  - ↻ sur le **transcriptome embryonnaire**
  - ↻ sur le **méthylome embryonnaire**
- ↻ Vérifier si les **différences** au jour 60 sont **maintenues** au jour 120
- ↻ Identifier des **marqueurs potentiels** pour les génisses à la naissance

8

# Dispositif expérimental



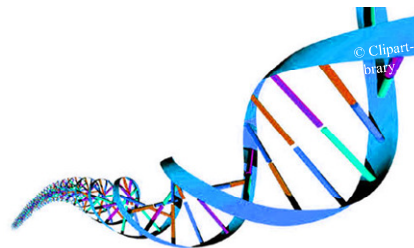
# Dispositif expérimental

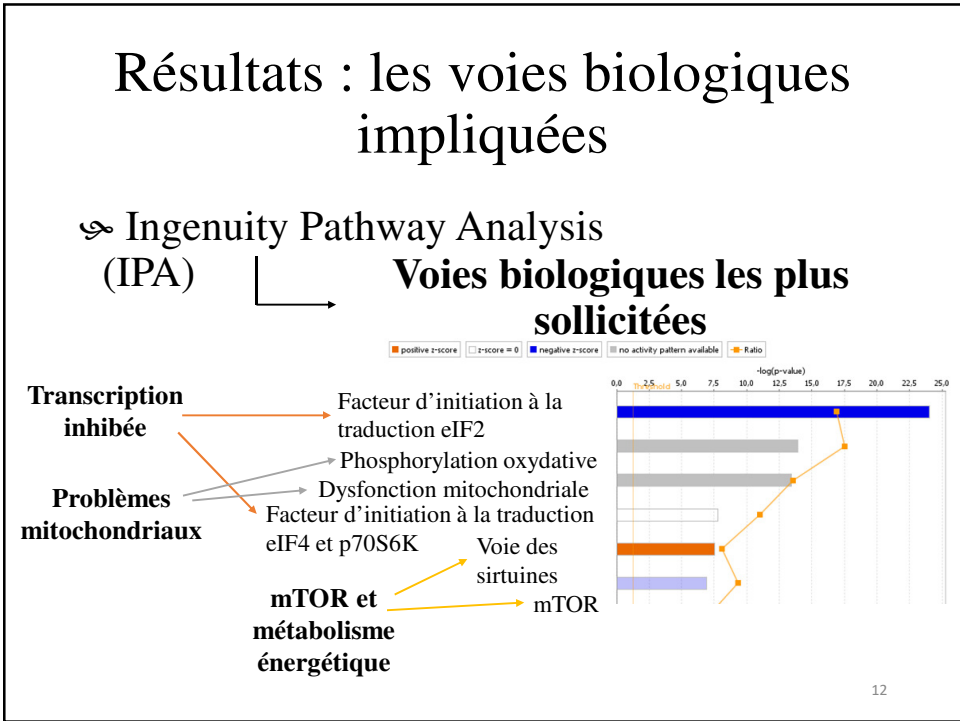
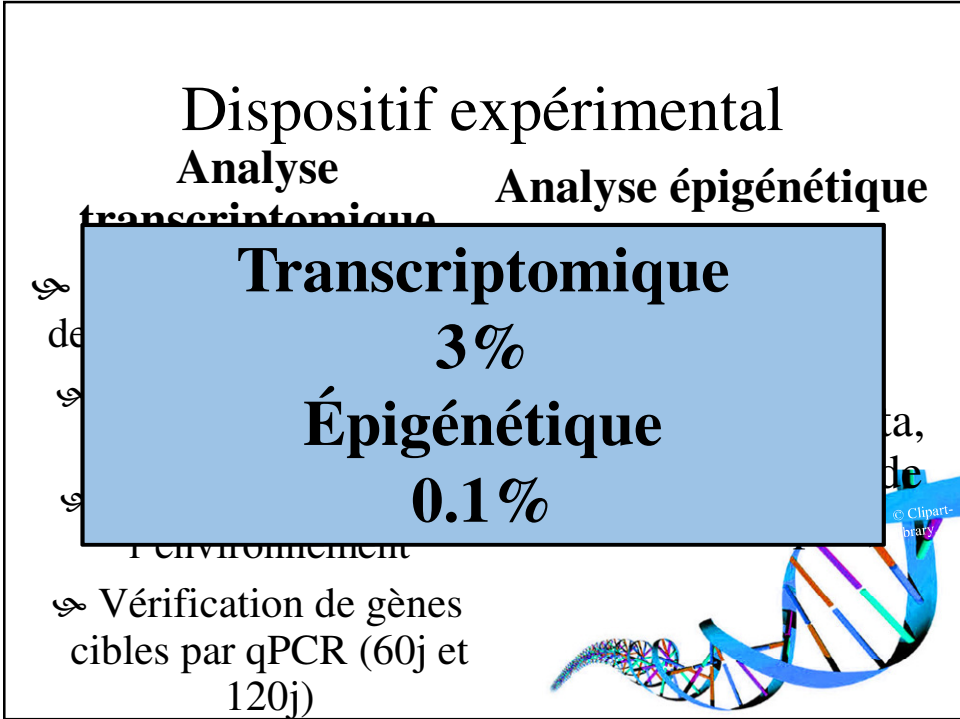
## Analyse transcriptomique

- ∞ Niveau de transcription des ARNm dans la cellule
- ∞ Indice de la synthèse protéique
  - ∞ Réponse immédiat à l'environnement
- ∞ Vérification de gènes cibles par qPCR (60j et 120j)

## Analyse épigénétique

- ∞ Méthylation de l'ADN
- ∞ Persistance des marqueurs (placenta, cordon, sang, glande mammaire, poil)







## Voie de l'énergie altérée

- ↻ Système de protection énergétique
  - ↻ ↓ de la consommation d'énergie exogène
  - ↻ ↑ du recyclage de l'énergie interne
  - ↻ Autophagie et ralentissement de la croissance
  - ↻ **Création d'embryons économes**
  
- ↻ **Préparation pour des conditions difficiles**
  - ↻ Programmation de l'embryon à plus facilement capturer l'énergie
  - ↻ Programmation biaisée
  
  - ↻ Déjà vu chez d'autres espèces (Ford et al., 2007; Sharif et al., 2007; Painter et al., 2008; Ford et Long, 2011; Colaneri et al., 2013; Veenendaal et al., 2013; Langley-Evans, 2014)

13

## Sur le terrain

- ↻ Programmation de la machinerie cellulaire à stocker l'énergie très rapidement
  - ↻ engraissement trop rapide
  - ↻ ... même avec seulement du foin!
  - ↻ gestion de l'énergie autour du vêlage

14

## Lorsqu'on met tout cela ensemble...

- ↻ Freinage de la multiplication cellulaire provoquée par un déficit énergétique, l'embryon tente possiblement de survivre grâce à l'autophagie
  - ↻ On économise les réserves!
  - ↻ Altération des mécanismes au niveau mitochondrial
- ↻ Signature transcriptomique similaire à des embryons provenant de génisses toujours en croissance (8 mois) (Morin-Doré et al., 2017)

15

## Perspectives

- ↻ Si les **embryons sont différents...**
  - ↻ **taux de survie** possiblement ↓
  - ↻ **retour** en chaleur
- ↻ Avantage d'**identifier** les vaches ayant un niveau élevé en BHB
- ↻ Analyse du matériel biologique et suivi des génisses
- ↻ **Analyse économique**



16

# Remerciements

Marc-André Sirard

Isabelle Dufort

Isabelle Laflamme

Dr Louis Picard

Janie Lévesque



Partenaires financiers



... et aux organisateurs

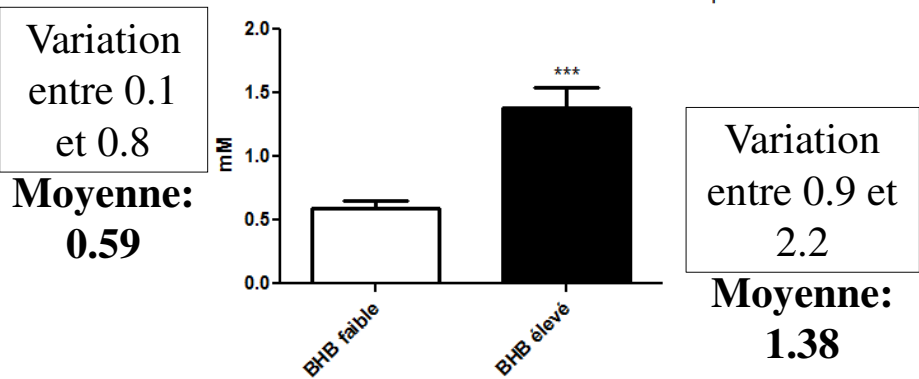
# Résultats complémentaires



18

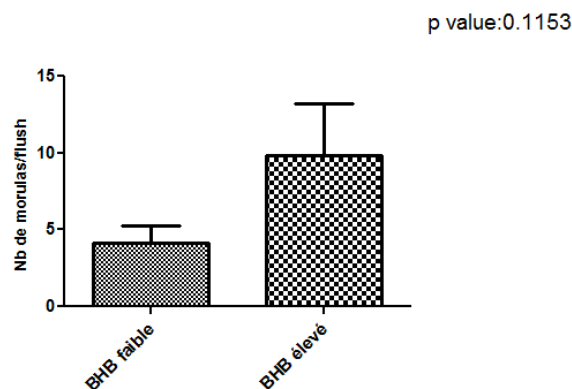
## Évolution du BHB entre les groupes

∞ Niveaux systémiques moyens de BHB



## Développement embryonnaire

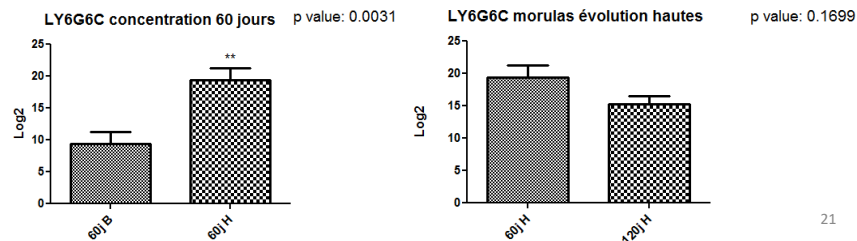
∞ Apparence possible d'un retard développemental chez les embryons produits pendant un important déficit énergétique



20

## Évolution des marqueurs

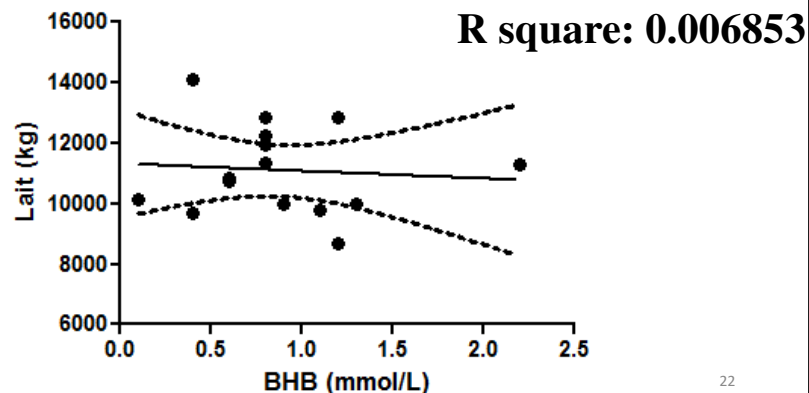
- ☞ Trois (**SOD2**, **OPA1**, **FEM1A**) gènes avaient une tendance ( $p \text{ value} \approx 0.1$ ) à varier entre les deux groupes à 60j
- ☞ Deux (**FOXP4**, **LY6G6C**) gènes avaient une variation significative à 60j
- ☞ Aucune différence significative à 120j



21

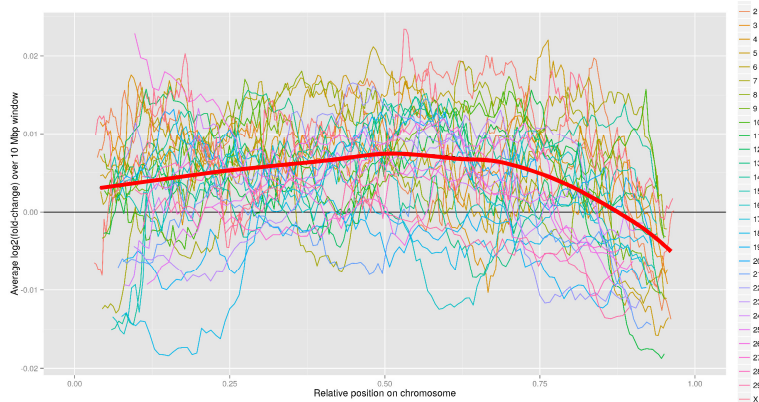
## Relation lait vs. BHB

- ☞ Relation entre la quantité de lait produit et le niveau de BHB à 60 jours



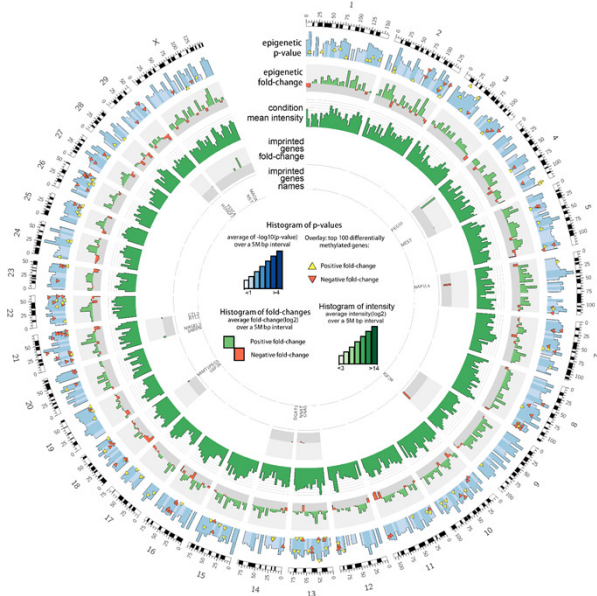
22

# Hypométhylation des télomères



23

# Hypométhylation des télomères



24