

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE

La mortalité embryonnaire

2. Implications hormonales

HANZEN CH. *, LOURTIE O. *, DRION P.V. **, DEPIERREUX C.***, CHRISTIANS E.***

Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire

* Service d'Obstétrique et de Pathologie de la Reproduction – B41 Sart Tilman, 4000 Liège

** Service de Physiologie de la Reproduction – B41 Sart Tilman, 4000 Liège

*** Service d'Histologie - Embryologie – B43 Sart Tilman, 4000 Liège

RESUME. Après avoir dans un premier article passé en revue les facteurs cliniques et étiologiques de la mortalité embryonnaire, les auteurs se sont attachés, dans cet article, à développer de manière plus spécifique les mécanismes hormonaux responsables du maintien de la gestation et le cas échéant, de la mortalité embryonnaire. La période embryonnaire ne peut être assurée qu'une fois acquis un état d'équilibre entre d'une part des facteurs lutéotropes et d'autre part des facteurs lutéolytiques. Au nombre des premiers, la progestérone d'origine maternelle et la trophoblastine d'origine embryonnaire jouent un rôle essentiel. Toute altération primaire ou secondaire de leur synthèse ou de la période pendant laquelle elles sont formées, est de nature à favoriser l'interruption de la gestation. Cette synthèse ne peut être optimale que s'il existe un état de synchronisme aussi étroit que possible entre d'une part l'embryon, et d'autre part l'utérus mais aussi l'ovaire ipsilatéral à la corne gestante. Les connaissances acquises en cette matière résultent de nombreuses études fondamentales mais aussi cliniques (essais thérapeutiques à base de progestagènes, de gonadolibérines ou de facteurs antilutéolytiques). Force est cependant de reconnaître que de nombreuses inconnues demeurent encore pour expliquer le mécanisme d'altération de la synthèse des facteurs contribuant au maintien de la gestation.

1. HORMONOLOGIE DE LA PERIODE EMBRYONNAIRE

1.1. L'Early Pregnancy Factor

De nature glycoprotéique, l'Early Pregnancy Factor (EPF) apparaît quelques heures après la fécondation dans le sang de la plupart des espèces animales dont la vache (Nancarrow *et al.* 1981), la truie (Morton *et al.* 1983), et la brebis (Clarke *et al.* 1980). Ce facteur existe en fait sous deux formes: l'une sécrétée par l'ovaire ipsilatéral à la corne gestante (EPF-B) (Nancarrow *et al.* 1981) et l'autre synthétisée par l'oviducte (EPF-A) (Morton *et al.* 1980). Leur synthèse ovarienne est

initiée par un petit peptide appelé zygotine (Orozco *et al.* 1986) et est donc indépendante de la présence du placenta. Il se pourrait que ce facteur contribue à diminuer l'immunocompétence des lymphocytes en début de gestation et ainsi faciliter la tolérance immunologique de l'embryon par l'organisme maternel (Morton *et al.* 1984). La détermination de sa concentration constituerait un bon moyen d'identification d'une mortalité embryonnaire si ce n'était le manque de reproductibilité de son évaluation plasmatique, imputable au fait qu'elle est influencée par de nombreux facteurs biologiques.

1.2. La zygotine

Identifiée chez la brebis (Morton *et al.* 1979), la truie (Morton *et al.* 1983) et la vache (Nancarrow et Wallace 1980), la zygotine ou EAPF (Embryo Platelet Activating Factor) possède la propriété d'inhiber la formation de rosettes par des hématies mises en présence de lymphocytes. Elle possède des propriétés chimiques, biochimiques et physiologiques comparables à celles du PAF (Platelet Activating Factor: 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine), facteur produit notamment par les neutrophiles, le foie et les muscles lisses (Hanahan 1986). La zygotine ne serait cependant pas ho-

mologue au PAF. Son couplage à une molécule de transport la protégerait d'une dégradation enzymatique (Adamson *et al.* 1991). Son rôle exact reste à démontrer. Elle ne serait pas impliquée directement dans la synthèse de progestérone par le corps jaune (Hansel *et al.* 1989) ou de prostaglandines par l'endomètre (Gross *et al.* 1990).

1.3. La Human Chorionic Gonadotrophin

De nature glycoprotéique, l'hCG (Human Chorionic Gonadotrophin) est connue pour être le signal embryonnaire dans l'espèce humaine. Sécrétée dès le 8^e jour de la grossesse, elle stimule la synthèse de progestérone par le corps jaune, s'opposant ainsi au rôle antilutéolytique dévolu aux trophoblastines chez les espèces domestiques. Chez la jument ce rôle est dévolu à la PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) ou eCG (Equine Chorionic Gonadotrophin).

1.4. L'hormone chorionique somato-mammotrope ou placentale lactogène

Absente chez la jument, la truie, la chatte et la chienne, l'hormone placentaire a par contre été identifiée chez les ruminants (bPL ou bCS, oPL ou oCS) et les primates (hPL ou hCS) (Martal et Charlier 1985). Elle est chez la brebis sécrétée par le trophoblaste dès le 16^e-17^e jour de gestation. Il semble bien qu'elle soit davantage impliquée dans le développement embryonnaire que dans le maintien du corps jaune. Sa sécrétion restant faible durant les premiers mois de la gestation, elle ne constitue pas un bon indicateur de mortalité embryonnaire.

1.5. Les œstrogènes

Les œstrogènes sont chez la truie synthétisés dès le stade de blastocyste (Geisert *et al.* 1982). Possédant dans cette espèce un effet lutéotrophique, ils induiraient par ailleurs un changement directionnel des prostaglandines synthétisées. Celles-ci ne passeraient pas dans la veine utérine mais seraient sécrétées dans la lumière utérine (Bazer et Thatcher 1977).

1.6. La prostaglandine E

Le rôle exact de la prostaglandine E produite par les blastocystes ovins et bovins (Marcus 1981, Milvae et Hansel 1980, Lacroix et Kahn 1982, Lewis *et al.* 1982) reste à démontrer. Elle serait impliquée dans le maintien de la gestation étant donné son effet lutéotrope *in vitro* (Shelton *et al.* 1990) et l'augmentation de sa concentration dans la corne gestante après le 12^e jour de gestation. Chez la jument, elle serait responsable de la migration des embryons dans l'oviducte, les ovocytes non fécondés n'étant pas concernés (Weber *et al.* 1991a, 1991b).

1.7. La trophoblastine

De nature protéique, la trophoblastine est synthétisée par le trophoctoderme (Godkin *et al.* 1984). Ce facteur a été identifié chez la brebis (oTP-1 : ovine Trophoblast Protein - 1) chez la chèvre (cTP-1 : caprine Trophoblast Protein-1) et chez la vache (bTP-1 : bovine Trophoblast Protein 1) (Helmer *et al.* 1987, Martal *et al.* 1979, Heyman *et al.* 1984). Une grande homologie d'effets et de structures existent entre les trophoblastines de ces espèces (Martal *et al.* 1984a, 1984b). La trophoblastine est identifiée dans le liquide de lavage de la cavité utérine vers le 8^e jour de gestation chez la brebis (Bazer 1989) et le 12^e jour chez la vache (Humblot et Dalla-Porta 1984, Thatcher *et al.* 1985, Bazer 1989). Sa concentration augmente de manière synchrone avec les changements morphologiques de l'embryon. Chez la vache elle peut encore être détectée jusqu'au 38^e jour de gestation (Bazer 1989). La chèvre synthétise une trophoblastine entre le 16^e et le 21^e jour de gestation (Gnatek *et al.* 1989).

La détermination de la séquence d'acides aminés de la trophoblastine en a révélé la grande analogie avec les interférons (La Bonnardière et Martal 1991). Par ailleurs, elle présente les mêmes propriétés antivirales, antiprolifératives et immunosuppressives que les interférons et se lie à leurs récepteurs (Roberts 1989). Ces faits en justifient l'appellation nouvelle d'interféron tau (oIFN-t : Ovine interferon tau,

bIFN-t : bovine interferon tau) (Roberts *et al.* 1992, Bazer *et al.* 1994).

Il est intéressant de noter que la plus grande prolificité de certaines races de porc telles que la Meishan ou la Jiaxing serait davantage imputable à une plus faible mortalité embryonnaire au cours des 30 premiers jours de gestation qu'à un plus grand nombre d'ovulations. Ces deux races de porcs témoignent entre le 12^e et le 20^e jour de gestation d'une activité antivirale plus importante que les races européennes (La Bonnardière *et al.* 1991). Un interféron gamma a été identifié chez la truie (Bazer 1989). Son rôle est à ce jour inconnu (Bazer *et al.* 1994). Cet interféron (Type II) se distingue des autres interférons alpha, bêta ou tau (Type I) par le fait qu'à la différence de ceux-ci dont la formation est induite par une infection virale, il orchestrerait davantage les réactions du système immunitaire.

1.8. Les protéines spécifiques de la gestation

Synthétisées par les cellules binucléées du trophoblaste et caractéristiques du placenta cotylédonnaire des ruminants, les hormones spécifiques de la gestation, la PSPB (Pregnancy Specific Protein B : Butler *et al.* 1982, Ruder *et al.* 1988, Sasser *et al.* 1986), la PSP60 (Pregnancy Serum Protein 60 : Mialon *et al.* 1994), la PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein : Zoli *et al.* 1992) sont détectées dans le sang dès le 15^e (PSPB), le 22^e (PAG) ou le 27^e jour (PSP60) après la fécondation. Ces trois protéines sont similaires nonobstant quelques différences biochimiques.

La mise au point de dosages radio-immunologiques chez la vache (Sasser *et al.* 1986), la chèvre (Humblot *et al.* 1990), la brebis (Ruder *et al.* 1988) et le chevreuil (Wood *et al.* 1986) en rend l'intérêt particulièrement évident pour le diagnostic de gestation mais aussi l'étude de la mortalité embryonnaire. Par rapport au dosage de la progestérone, la détermination de la concentration en PSPB ou PAG offre l'avantage de pouvoir être réalisée quelque soit le stade de gestation pour autant que le prélèvement ait

été effectué plus de 30 à 35 jours après l'insémination. Le degré d'exactitude des diagnostics de non-gestation est également plus élevé (85 % vs 58 %). A l'inverse étant donné sa demi-vie particulièrement longue, surtout si la gestation a été menée à son terme, il est impératif de respecter au cours du postpartum une période d'attente de 100 jours pour effectuer un diagnostic chez la vache (Humblot 1991, Humblot *et al.* 1988).

1.9. Facteurs de croissance

De multiples facteurs contrôlent de manière autocrine ou paracrine le développement des premiers stades de l'embryon (Heyner *et al.* 1993, Simmen *et al.* 1993, Gandolfi 1994) et la différenciation endométriale (Murphy et Ghahary 1990) tels le TGF (Transforming Growth Factor), l'IGF I et II (Insulin growth Factor) (Gardner et Kaye 1991, Hervey et Kaye 1992, Hemmings *et al.* 1992), l'EGF (Epidermal Growth Factor) (Paria et Dey 1990), l'insuline, le PDGF (Platelet Derived Growth Factor) (Larson *et al.* 1992), le bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) (Larson *et al.* 1992) mais aussi une multitude d'autres protéines plus spécifiques à l'oviducte (OSP: Oviduct Specific Protein). Il est prématuré d'en envisager l'utilisation dans les milieux de culture des embryons, les premières tentatives réalisées n'ayant enregistré aucune amélioration du développement embryonnaire (Flood *et al.* 1993).

2. MECANISME DU MAINTIEN DE LA GESTATION

La progestérone est absolument nécessaire au maintien de la gestation dans toutes les espèces de mammifères pourvues d'un placenta. Cependant, le contrôle de sa sécrétion par le corps jaune pendant la période embryonnaire est différent selon les espèces (Martal et Charlier 1985). Ainsi dans l'espèce humaine, ce rôle est essentiellement dévolu à l'hormone chorionique. Dans les espèces animales au contraire, le maintien du corps jaune résulte d'un blocage de l'activité lutéolytique de

la prostaglandine F2 alpha (PGF2a) (Humblot 1991, Martal *et al.* 1987). Le mécanisme en est complexe et en a été partiellement élucidé grâce à divers protocoles expérimentaux ayant recours aux hystérectomies, à la destruction des follicules ovariens, aux dosages hormonaux de prélèvements au niveau de la veine et de l'artère utérine, au traitement des animaux au moyen d'oestrogènes, de progestérone, d'ocytocine et de prostaglandines. Ces études ont permis de préciser le rôle respectif des hormones impliquées et en particulier celui plus essentiel tenu par la trophoblastine (Martal *et al.* 1987). Celle-ci, encore appelée selon les espèces, ovine ou bovine trophoblastine de type 1 (oTP1 et bTP1) ou par analogie structurelle interféron tau est sécrétée par le blastocyste et sa présence a été identifiée dans l'endomètre (Shemesh *et al.* 1979, Lacroix et Kann 1982, Wilson *et al.* 1972).

La compréhension du mécanisme d'inhibition de la lutéolyse impose de faire un bref rappel du contrôle de l'activité lutéale au cours du cycle. Deux phases essentielles doivent être distinguées: la première concerne la mise en place du corps jaune et l'augmentation de la synthèse de la progestérone, la seconde concerne la lutéolyse.

La libération préovulatoire de l'hormone lutéotrope LH induit, une fois l'ovocyte expulsé, une série de changements morphologiques et biochimiques au niveau du follicule et de sa membrane basale en particulier (O'Shea *et al.* 1980). Des vaisseaux sanguins envahissent progressivement la cavité folliculaire. Les cellules théciales, s'hypertrophient, se divisent et envahissent la cavité du follicule. Progressivement la synthèse d'oestrogènes et d'androgènes diminue tandis que celle de la progestérone augmente jusqu'au milieu du cycle sous l'effet de l'augmentation du nombre de récepteurs à la LH (Diekman *et al.* 1978). Le développement du corps jaune s'accompagne dans la plupart des espèces animales d'une différenciation cellulaire aboutissant à la formation de deux types de cellules lutéales possédant des caractéristiques morphologiques et biochimiques propres

(Rodgers et O'Shea 1982, Ursely et Leymarie 1979, Lemon et Loir 1977). Les unes originaires de la thèque interne sont de petite taille (12 à 22 microns) tandis que les autres provenant de la granuleuse sont de grande taille (22 à 50 microns). Celles-ci à l'inverse des premières, voient leur taille augmenter mais leur nombre rester constant au cours du cycle (O'Shea *et al.* 1986). Elles possèdent également à la différence des cellules de petite taille, la propriété de sécréter de l'ocytocine et de la relaxine (Sawyer *et al.* 1979). Tant chez la brebis (Harrison *et al.* 1987) que chez la vache (Chegini *et al.* 1991), ces deux types de cellules comportent le même nombre de récepteurs à l'hormone LH. Celle-ci stimulerait la synthèse de progestérone par les cellules de petite taille via l'AMPc. Son mécanisme d'action sur les cellules de grande taille n'a pas encore été élucidé (Niswender *et al.* 1994). Bien que peu sensibles à une stimulation exogène par l'hormone LH (Rodgers et O'Shea 1982, Lemon et Loir 1977) les cellules de grande taille produisent 80 % de la progestérone synthétisée par le corps jaune au cours du cycle (Niswender *et al.* 1985).

La prostaglandine F2 alpha d'origine endométriale est l'agent primaire responsable de la lutéolyse chez la plupart des animaux domestiques et des rongeurs (Knickerbocker *et al.* 1988). Sa synthèse au cours du cycle est liée d'une part à la disponibilité en acide arachidonique et d'autre part à l'activité de l'endométrial prostaglandine synthetase. Elle implique le contrôle de plusieurs hormones (Silvia *et al.* 1991) (Fig.1).

La progestérone stimule au cours des 10 à 12 premiers jours du cycle la synthèse de phospholipides et leur stockage endométrial en vue de leur utilisation ultérieure. Elle est également, au cours de cette période, responsable de l'inhibition de la synthèse par le myomètre de récepteurs à l'ocytocine (Lamming et Mann 1995). A cette phase de dominance endométriale par la progestérone succède la récupération progressive d'une sensibilité aux oestrogènes

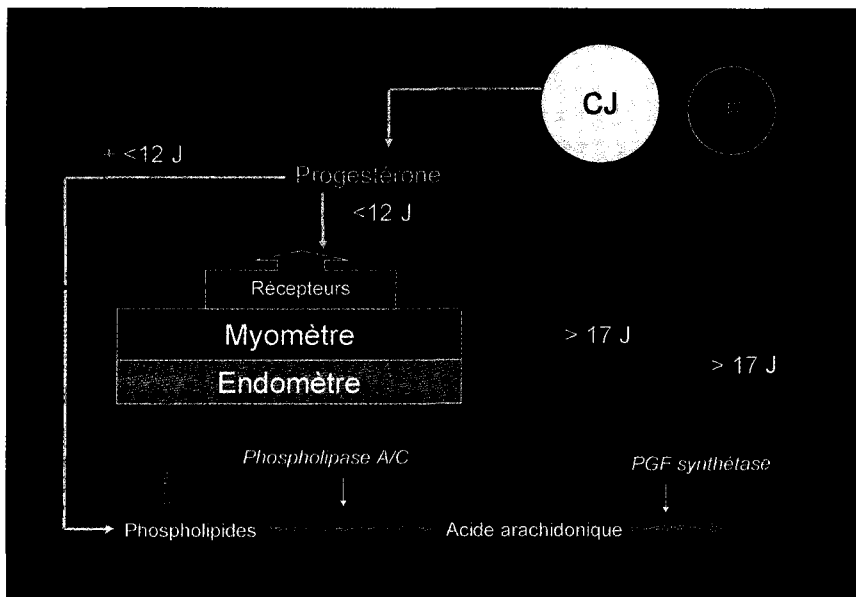


Figure 1
Mécanisme de la régulation du cycle chez la vache (voir texte paragraphe 2).

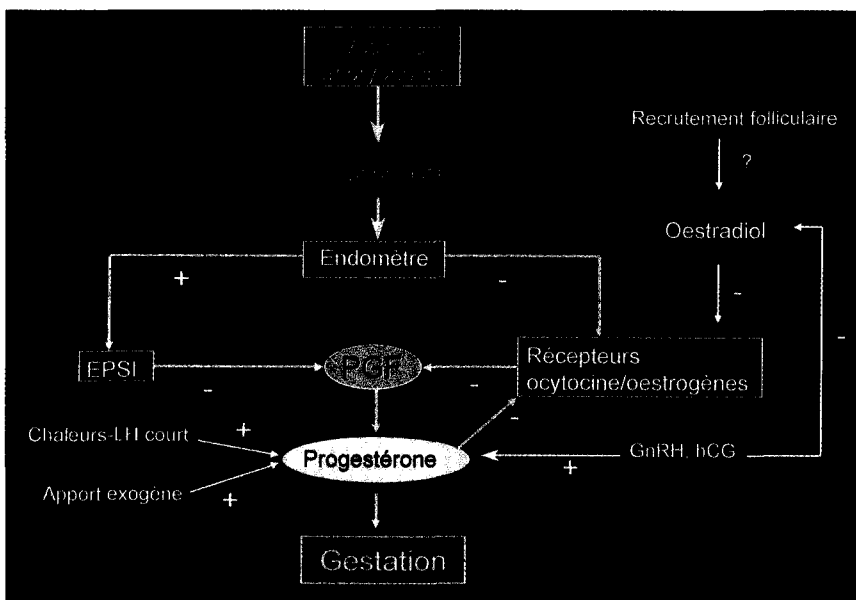


Figure 2
Mécanisme du maintien de la gestation.

Le maintien de la gestation est associé à celui d'une synthèse de progestérone. Celui-ci résulte d'une part d'une suppression de la synthèse de PGF par l'EPSI, facteur dont la synthèse endométriale est stimulée par la trophoblastine embryonnaire. Il résulte également d'une réduction par la trophoblastine du nombre de récepteurs endométriaux à l'ocytocine et aux oestrogènes. Cet effet réducteur prolonge donc celui exercé en début de cycle par la progestérone.

Divers facteurs peuvent contribuer à réduire le risque d'insuffisance lutéale (réduction de l'intervalle entre le début des chaleurs et le pic de LH, apport exogène de progestérone, injection de GnRH ou d'hCG...). De même, les facteurs (injections de GnRH, d'hCG, modifications du recrutement folliculaire), de nature à réduire la synthèse d'oestradol par les follicules présents peuvent également favoriser le maintien de la gestation.

(Mc Cracken *et al.* 1984). Elle se traduit entre le 17^e et le 20^e jour du cycle chez la vache par une augmentation du nombre de récepteurs à l'ocytocine (Wallace *et al.* 1991, Soloff et Fields 1989). Les oestro-

gènes favorisent également l'activité de la phospholipase qui assure la transformation des phospholipides en acide arachidonique mais aussi celle du complexe prostaglandine-synthétase qui transforme l'acide

arachidonique en prostaglandines de type F. L'ocytocine synthétisée par le corps jaune est alors à même d'interagir avec ses récepteurs et de stimuler la synthèse de prostaglandine F. Progressivement se met donc en place un système de rétrocontrôle entre l'ocytocine lutéale d'une part et la prostaglandine F2 alpha endométriale d'autre part. La libération par l'endomètre de pics de PGF2a de faible amplitude induit l'exocytose de l'ocytocine par les grandes cellules lutéales. Celle-ci en retour provoque via l'activation des phospholipases A et C (Burns *et al.* 1997) la libération de la PGF2a endométriale (Flint *et al.* 1990, Silvia *et al.* 1991).

La PGF2 alpha exerce son effet localement par passage de la veine utérine dans l'artère ovarienne (Ginther 1974). La voie systémique serait privilégiée chez la truie (Geisert *et al.* 1990) et chez la jument (Sharp *et al.* 1989). Le mécanisme exact de la lutéolyse est encore incomplètement élucidé. Il impliquerait notamment une réduction du flux sanguin lutéal (Pharriss *et al.* 1970).

La diminution du nombre de récepteurs à l'ocytocine et aux oestrogènes (Flint *et al.* 1990, Cherny *et al.* 1991) ainsi que la réduction de la synthèse de la prostaglandine F2 alpha (Thatcher *et al.* 1984) constituent les principaux changements observés lors de gestation (Fig.2). L'interféron tau a été impliqué dans ce double mécanisme du maintien de la gestation. Il prolongerait l'effet inhibiteur exercé par la progestérone sur la synthèse de récepteurs à l'ocytocine (Geisert *et al.* 1992a). De même, il contribuerait à diminuer l'amplitude et la pulsatilité de la PGF2a en stimulant la synthèse par l'endomètre d'un inhibiteur de la prostaglandine synthétase, l'EPSI (Endometrial Prostaglandin Synthetase Inhibitor) (Gross *et al.* 1988). L'inhibition ne concernerait que les cellules endométriales responsables de la synthèse de la PGF2a et non pas celles du stroma qui continueraient à synthétiser la PGE2 (Thatcher *et al.* 1989, Danet-Desnoyers *et al.* 1991).

La synthèse par l'embryon d'un facteur antilutéolytique pourrait ne pas être le seul mécanisme responsable

du maintien de la gestation. Chez la truie, malgré la synthèse d'interféron (Roberts *et al.* 1992), l'absence de lutéolyse serait imputable au fait que l'excrétion de la PGF2 alpha serait, sous l'effet des oestrogènes, dirigée vers la lumière utérine et non pas dans la veine utérine (Bazer 1989). Par ailleurs, diverses études ont démontré que les modalités de la croissance folliculaire pouvait constituer une explication complémentaire (Thatcher *et al.* 1989, Rettmer *et al.* 1992). Des études histologiques ont en effet démontré qu'entre le 17^e et le 34^e jour, la gestation s'accompagne d'un recrutement plus important de follicules de taille comprise entre 0.16 et 0.67 mm vers des follicules de taille comprise entre 0.68 et 3.67 mm tout en limitant leur développement ultérieur (Guilbaut *et al.* 1986). De même, des études échographiques ont constaté vers le 22^e jour de gestation la présence en plus grand nombre sur l'ovaire ipsilatéral que contralatéral à la corne gestante de follicules de taille comprise entre 7 et 13 mm ou supérieur à 13 mm (Pierson et Ginther 1987). Chez l'animal non-gestant et donc sans doute gestant, les follicules non-ovulatoires présents au cours de la phase dioestrale sont impliqués dans le mécanisme de la lutéolyse. En effet, la cautérisation des follicules entre le 9^e et le 15^e jour du cycle en augmente la durée en retardant le moment de la lutéolyse (Villa-Godoy *et al.* 1985, Hughes *et al.* 1987). Par ailleurs, cette manipulation entraîne une réduction de la concentration de l'oestradiol dans la veine utéro-ovarienne (Fogwell *et al.* 1985). L'action des follicules non-ovulatoires est médiée par l'oestradiol qu'ils sécrètent. Cette hormone participe indirectement via la synthèse de récepteurs endométriaux à l'ocytocine, à la formation de prostaglandines (Mc Cracken *et al.* 1984) dont la synthèse est stimulée par l'ocytocine d'origine lutéale (Wathes *et al.* 1983).

Une réduction de la synthèse d'oestradiol par l'ovaire au cours des 8 à 12 jours suivant l'injection de GnRH a été récemment démontrée (Rettmer *et al.* 1992a, 1992b). Elle serait imputable à la lutéinisation des follicules (Ireland et Roche 1982,

Schwarz *et al.* 1984, Mac Millan *et al.* 1991) ou à l'induction d'une ovulation (Berchtold *et al.* 1978, Thatcher *et al.* 1989, Mac Millan et Thatcher 1991). Il semble bien que l'effet lutéotrope doive être préféré à l'effet ovulatoire puisque l'injection de GnRH en phase dioestrale n'est suivie d'aucune modification de nombre ou de taille des follicules présents (Rettmer *et al.* 1992a).

3. MECANISMES HORMONAUX DE LA MORTALITE EMBRYONNAIRE

3.1. Observations

L'implication de l'asynchronisme embryo-maternel dans la mortalité embryonnaire relève de deux types d'observations réalisées chez les animaux repeat-breeders d'une part et lors de transfert d'embryons d'autre part.

Plusieurs études ont identifié une fréquence plus grande de retard du développement embryonnaire chez les repeat-breeders que chez les animaux normaux (Albihn *et al.* 1989, Albihn *et al.* 1991c). Le manque de synchronisation œstrale et donc utérine entre la donneuse et la receveuse contribue à augmenter le risque de mortalité embryonnaire. Ainsi, qu'il soit réalisé par voie chirurgicale (Nelson *et al.* 1975, Newcomb et Rowson 1975, Betteridge *et al.* 1980) ou non-chirurgicale (Rowson *et al.* 1969, Brand *et al.* 1978, Lawson *et al.* 1975, Hahn et Hahn 1976, Jillella et Baker 1978), le transfert d'un embryon s'accompagne d'un taux de gestation plus faible s'il est réalisé au 3^e ou 4^e jour ou entre le 10^e et le 16^e jour qu'entre le 6^e et le 9^e jour du cycle de la receveuse. Tout écart de synchronisation supérieur à un jour entre la donneuse et la receveuse s'accompagne d'une diminution du pourcentage de gestation après le transfert de l'embryon (Rowson *et al.* 1969). Ce fait a été observé non seulement chez la vache (Pope 1988, Albihn *et al.* 1991b) mais également chez la brebis (Moore et Shelton 1964, Rowson et Moor 1966, Wilmut et Sales 1981) et la truie (Webel *et al.* 1970, Pope *et al.*

1982), cette dernière espèce étant plus sensible que d'autres (Wilmut *et al.* 1980).

L'absence d'inhibition de la lutéolyse par l'embryon constitue la principale conséquence du manque de synchronisme entre l'embryon et l'utérus (Geisert *et al.* 1988). Cependant son mécanisme est encore loin d'être élucidé. Il impliquerait une insuffisance primaire du développement de l'embryon ou secondaire imputable à des facteurs extérieurs tels un stress thermique connu pour réduire le développement embryonnaire quand il est appliqué entre le 8^e et le 16^e jour de gestation (Biggers *et al.* 1987, Putney *et al.* 1988) ou à des facteurs propres à l'environnement de l'oviducte et de l'utérus, celui-ci étant par ailleurs étroitement dépendant de l'activité lutéale. L'action de ces facteurs concernerait davantage le bouton embryonnaire que la partie trophoblastique du conceptus (Albihn *et al.* 1991a).

3.2. Mécanisme

3.2.1. L'interféron

Divers faits d'observation tendent à démontrer que l'interféron tau constitue un élément essentiel de la pathogénie de la mortalité embryonnaire. *In vitro* sa synthèse est réduite par l'application d'un stress thermique à l'embryon (Putney *et al.* 1988). L'injection intra-utérine au 7^e jour de gestation de trophoblastes provenant d'embryons âgés de 13 jours augmente le pourcentage d'animaux gestants 6 semaines après l'insémination (Heyman *et al.* 1987). Des brebis traitées du 11^e au 15^e jour suivant la fécondation au moyen d'interféron tau présentent un taux de gestation et de prolificité significativement supérieur à celui des brebis non traitées (Nephew *et al.* 1990). Chez les bovins, les effets secondaires observés tels l'hyperthermie n'en permettent cependant pas l'utilisation (Newton *et al.*, 1990; Plante *et al.* 1991).

3.2.2. L'insuffisance lutéale

Comme dans d'autres espèces domestiques, la progestérone est, chez la vache, essentielle au maintien de la gestation, une augmentation de la

progestéronémie étant favorable au développement de l'embryon (Winterberger-Torres 1967, Garrett *et al.* 1988, Albihn *et al.* 1991b, Geisert *et al.* 1992b). Classiquement, l'insuffisance lutéale peut se traduire par une réduction de la durée de vie du corps jaune (SLP: Short Luteal Phase) (Odde *et al.* 1980, Hunter 1991) ou par une réduction de la synthèse de progestérone par le corps jaune (Pratt *et al.* 1982), ces deux manifestations pouvant résulter d'une croissance folliculaire inadéquate, d'une stimulation lutéotrophique insuffisante ou d'une libération prématurée de prostaglandines (Gaverick *et al.* 1992).

Diverses études expérimentales et essais thérapeutiques sont venus confirmer la relation entre la progestéronémie et le risque d'une mortalité embryonnaire.

Une association significative entre une faible concentration en progestérone au cours de la phase périovulatoire et le taux de survie embryonnaire a été observée chez la brebis (Ashworth *et al.* 1984) et la vache (Lee et Ax 1984). De même, il a été démontré qu'il existe une relation positive entre la réduction de l'intervalle entre le début des chaleurs et le pic de LH et l'importance de ce pic et le développement normal de l'embryon (Maurer et Echtekamp 1982). Chez les repeat-breeders, les concentrations en progestérone seraient inférieures (Erb *et al.* 1976) ou fort variables d'un individu à l'autre (Bulman et Lamming 1978). De même, l'augmentation de la progestéronémie apparaît plus tardivement et plus lentement chez les animaux subfertiles que chez les animaux normaux (Shelton *et al.* 1990). Pour certains auteurs, la concentration en progestérone est plus élevée chez les animaux qui deviennent gestants que chez les autres (Erb *et al.* 1976, Henricks *et al.* 1971, Linares *et al.* 1982, Lukazewska et Hansel 1980, Thompson *et al.* 1980, Hansel 1981, Fonseca *et al.* 1983, Lee *et al.* 1985, Lamming *et al.* 1989, Maurer et Echtekamp 1982, Lee et Ax 1984). Cette relation n'a pas été constatée par d'autres auteurs (Shemesh *et al.* 1968, Pope *et al.* 1969, Robertson et

Sarda 1971, Diskin et Sreenan 1980, Roche *et al.* 1981, Hasler *et al.* 1980). La concentration en progestérone 21 à 24 jours après l'insémination est inférieure chez les animaux qui présentent ultérieurement une mortalité embryonnaire que chez les animaux gestants (Franco *et al.* 1987).

L'implication possible de l'insuffisance lutéale dans la mortalité embryonnaire a conduit plusieurs auteurs à évaluer l'effet d'un apport exogène direct de progestérone (CIDR, PRID) ou endogène indirect via l'administration d'une hormone gonadotrope (HCG) ou d'une gonadolibérine (GnRH).

L'administration de progestérone par voie vaginale sous forme de PRID (Robinson *et al.* 1989) ou de CIDR (Mac Millan *et al.* 1991) contribue chez les vaches à augmenter le pourcentage de gestation. Chez les génisses par contre, un tel traitement administré entre le 7^e et le 13^e jour suivant l'insémination serait sans effet (Van Cleef *et al.* 1989). Aucune différence n'a été obtenue chez les animaux traités au moyen de progestagènes avant la période de régression lutéale soit 15 à 16 jours après l'insémination (Lulai *et al.* 1994, Stevenson et Mee 1991, Van Cleef *et al.* 1991, Mac Millan *et al.* 1991).

Il ne semble pas que l'administration d'HCG constitue une méthode alternative intéressante (Diskin et Sreenan 1986).

La majorité des études relatives à l'utilisation de la GnRH 4 à 14 jours après l'insémination ou une chaleur non accompagnée d'insémination concernent des animaux inséminés pour la 1^{re} ou 2^e fois (Humblot et Thibier 1981, Leslie *et al.* 1986, Mac Millan *et al.* 1986, Jubb *et al.* 1990, Ryan *et al.* 1991, Lajili *et al.* 1991, Rettmer *et al.* 1992a, Rettmer *et al.* 1992b). La divergence des résultats obtenus en rend difficile leur interprétation : ainsi, on observe une augmentation de fertilité de 5 à 16 % d'après certaines études et une réduction non significative de 2 à 7 % selon d'autres. Ce traitement a beaucoup moins souvent été évalué chez

des repeat-breeders (Bentele *et al.* 1987).

La relation entre l'insuffisance progestéronique et la mortalité embryonnaire est encore incomplètement élucidée. Quelques pistes peuvent néanmoins être proposées eu égard aux découvertes récentes en ce domaine. On sait que la progestérone a entre autres effets celui de réduire le nombre de récepteurs à l'ocytocine (Lamming et Mann 1995). Il est donc logique de penser qu'une diminution de la concentration en progestérone est de nature à favoriser l'apparition plus précoce de récepteurs à l'ocytocine et par conséquent de favoriser la mise en place du processus lutéolytique. Une insuffisance lutéale peut également s'accompagner d'une libération plus importante d'hormone LH, responsable d'une synthèse plus importante d'oestradiol (Robertson *et al.* 1989). Celui-ci en retour va favoriser le développement de récepteurs à l'ocytocine et la synthèse de prostaglandines (Beard et Lamming 1994, Mann et Lamming 1995). Les résultats d'essais thérapeutiques à base de progestagènes ou de gonadolibérine apparaissent fort variables. Aucun d'entre eux n'a évalué la progestéronémie des animaux traités au cours de la période critique c'est-à-dire entre le 10^e et le 17^e jour suivant l'insémination. A l'inverse, on ne peut négliger la possibilité d'un effet iatrogène induit par de tels traitements. En effet un apport trop important en progestérone est de nature à réduire la libération en hormone LH et par conséquent le support lutéotrophique indispensable au maintien du corps jaune (Diskin et Sreenan 1986). Une fois arrêtée l'administration de progestérone, celui-ci peut être incapable de sécréter suffisamment de progestérone pour maintenir la gestation.

SUMMARY

Embryonic mortality. 2. Hormonal regulation

After a first part reviewing clinical and etiological aspects of embryonic mortality, this second part is fo-

cussed on hormonal mechanisms involved in maintenance or failure of gestation. Embryonic development is depending on equilibrium between luteotropic and luteolytic factors. Among the most important factors, the maternal progesterone and the embryonic trophoblastine play a crucial role. Any primary or secondary alterations of their syntheses, or changes in the timing of their expression is suspected to induce abortion. Their syntheses are optimally performed when embryo, uterus, ipsilateral ovary are together synchronized. What we know about these regulatory mechanisms has been gained through a large set of fundamental and clinical studies (experimental therapy based on progestagens, gonadolibrins or luteolytic factors). Nevertheless, it remains a great deal to better understand and fully explain how these mechanisms of regulation can be impaired leading to unsuccessful gestation.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBIHN A., GUSTAFSSON H., HURST M., RODRIGUEZ-MARTINEZ H. Embryonic ability to prolong the interoestrous interval in virgin and repeat breeder heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 1991a, **26**, 193-210.
- ALBIHN A., GUSTAFSSON H., RODRIGUEZ-MARTINEZ H. Maternal influence on the early development of asynchronously transferred bovine embryos. *Anim. Reprod. Sci.*, 1991b, **24**, 2 5-35.
- ASHWORTH C.J., SALES D.I., WILMUT I. Patterns of progesterone secretion and embryonic survival during repeated pregnancies in Damline ewes. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. and A.I. Urbana*, 1984, **2**, 74.
- BAZER F.W. Establishment of pregnancy in sheep and pigs. *Reprod. Fert. Dev.*, 1989, **1**, 237-242.
- BAZER F.W., OTT T.L., SPENCER T.E. Pregnancy recognition in ruminants, pigs and horses. Signals from the trophoblast. *Theriogenology*, 1994, **41**, 79-94.
- BAZER F.W., THATCHER W.W. Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on oestrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F-2a by the uterine endometrium. *Prostaglandins*, 1977, **14**, 397-400.
- BEARD A.P., LAMMING G.E. Oestradiol concentration and the development of the oxytocin receptor and oxytocin-induced prostaglandin F2a release in ewes. *J. Reprod. Fert.*, 1994, **100**, 469-475.
- BENTELE W., HUMKE R. Über die Anwendung von Buserelin in der Luteal phase bei Kühen nach Zweit-oder Drittbesamung. *Tierarzt. Umschau*, 1987, **42**, 388-394.
- BERCHTOLD M.P., RUSCH P., THUN R. Ovarielle veränderungen nach GnRH-Applikation bei Kühen mit normalen Ovarfunktionen. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, 1978, **120**, 377-382.
- BETTERIDGE K.J., EAGLESOME M.D., RANDALL G.C.B., MITCHELL D. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16 days after oestrus. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **59**, 205-216.
- BIGGERS B.G., GEISERT R.D., WETTEMAN R.P., BUCHANAN D.S. Effect of heat stress on early embryonic development in the cow. *J. Anim. Sci.*, 1987, **64**, 1512-1518.
- BRAND A., TROUNSON A.O., AARTS M.H., DROST M., ZAAVER D. Superovulation and non-surgical embryo recovery in the lactating dairy cow. *Anim. Prod.*, 1978, **26**, 55-60.
- BULMAN D.C., LAMMING G.E. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat-breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 1978, **54**, 447-458.
- BURNS P.D., GRAF G.A., HAYES S.H., SILVIA W.J. Cellular mechanisms by which oxytocine stimulates uterine PGF2 synthesis in bovine endometrium, roles of phospholipases A2. *Domestic Animal Endocrinol.*, 1997, **14**, 181-191.
- BUTLER J.E., HAMILTON W.C., SASSER R.G., RUDER C.A., HASS G.M., WILLIAMS J.J. Detection and partial characterization of two bovine pregnancy specific protein. *Biol. Reprod.*, 1982, **26**, 925-933.
- CHEGINI N., LEI Z.M., RAO CH.V., HANSEL W. Cellular distribution and cycle phase dependency of gonadotropin and eicosanoid binding sites in bovine corpora lutea. *Biol. Reprod.*, 1991, **45**, 506-513.
- CHERNY R.A., Salamonsen L.A., Findlay J.K. Immunocytochemical localization of oestrogen receptors in the endometrium of the ewe. *Reprod. Fert. Dev.*, 1991, **3**, 321-331.
- CLARKE F.M., MORTON H., ROLFE B.E., GIDLEY-BAIRD A.A. Partial characterization of early pregnancy factor in the sheep. *J. Reprod. Immunol.*, 1980, **2**, 97-101.
- DANET-DESNOYERS G., THATCHER W.W., LI J. Effect of natural and recombinant bovine trophoblast protein (bTP-1) on basal and oxytocin stimulated prostaglandin secretion by bovine endometrial epithelial cells. *Biol. Reprod.*, 1991, **44** (Suppl 1), 144 (Abstract).
- DIEKMAN M.A., O'CALLAGHAN P., NETT T.M., NISWENDER G.D. Validation of methods and quantification of luteal receptors for LH throughout the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biol. Reprod.*, 1978, **19**, 999-1009.
- DISKIN M.G., SREENAN J.M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J. Reprod. Fertil.*, 1980, **59**, 463-468.
- DISKIN M.G., SREENAN J.M. Progesterone and embryo survival in the cow, in Embryonic Mortality in Farm Animals, Sreenan J.M. and Diskin M.G., Eds., Martinus Nijhoff, Netherlands, 1986, 142-158.
- ERB R.E., GAVERICK H.A., RANDEL R.D., BROWN B.L., CALLAHAN C.J. Profile of reproductive hormones associated with fertile and non-fertile inseminations of dairy cows. *Theriogenology*, 1976, **5**, 227-242.
- FLINT A.P.F., SHELDRIK E.L., MC CANN T.J., JONES D.S.C. Luteal oxytocin , characteristics and control of synchronous episodes of oxytocin and PGF2alpha. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 1990, **7**, 3-20.
- FLOOD M.R., GAGE T.L., BUNCH T.D. Effect of various growth-promoting factors on preimplantation bovine embryo development in vitro. *Theriogenology*, 1993, **39**, 823-833.
- FOGWELL R.L., COWLEY J.L., WORTMAN A., AMES N.K., IRELAND J.J. Luteal function in cows following destruction of ovarian follicles at midcycle. *Theriogenology*, 1985, **23**, 389-398.
- FONSECA F.A., BRITT J.H., MCDANIEL B.T., WILK J.C., RAKES A.H. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effect of age, milk yield and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate and days open. *J. Dairy Sci.*, 1983, **66**, 1128-1147.
- FRANCO O.J., DROST M., THATCHER M.J., SHILLE V.M., THATCHER W.W. Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum *Theriogenology*, 1987, **27**, 631-644
- GANDOLFI F. Autocrine, paracrine and environmental factors influencing embryonic development from zygote to blastocyst. *Theriogenology*, 1994, **41**, 95-100.
- GARDNER H.G., KAYE P.L. Insuline stimulates mitosis and morphological development in mice preimplantation embryos in vitro. *Reprod. Fert. Dev.*, 1991, **3**, 19-29.
- GARRETT J.E., GEISERT R.D., ZAVY M.T., MORGAN G.L. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fert.* 1988, **84**, 437-446.

- GAVERICK H.A., ZOLLERS W.G. JR., SMITH M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.*, 1992, **28**, 111-124.
- GEISERT R.D., MORGAN G.L., SHORT E.C., ZAVY M.T. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. *Reprod. Fert. Developm.*, 1992a, **4**, 301-305.
- GEISERT R.D., SHORT E.C., ZAVY M.T. Maternal recognition of pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.*, 1992b, **28**, 287-298.
- GEISERT R.D., THATCHER W.W., ROBERTS R.M., BAZER F.W. Establishment of pregnancy in the pig. III. Endometrial secretory response to oestradiol valerate administered on Day 11 of the oestrous cycle. *Biol. Reprod.*, 1982, **27**, 957-965.
- GEISERT R.D., ZAVY M.T., BIGGERS B.G., GARRETT J.E., WETTEMANN R.P. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. *Anim. Reprod. Sci.*, 1988, **16**, 11-25.
- GEISERT R.D., ZAVY M.T., MOFFART R.J., BLAIR R.M., YELLIN T. Embryonic steroids and the establishment of pregnancy in the pigs. *J. Reprod. Fert.*, 1990, **40**, (Suppl.), 293-305.
- GILLESPIE J.H., SCHLAFFER D.H., FOOTE R.H., QUICK S., DOUGHERTY E., SCHIFF E., ALLEN S., Comparison of persistence of seven bovine viruses on bovine embryos following in vitro exposure. *Dtsch Tierärztl Wschr.* 1990, **97**, 65-68.
- GINTHER O.J. Internal regulation of physiological processes through local venoarterial pathways, a review. *J. Anim. Sci.*, 1974, **39**, 550-564.
- GNATEK G.G., SMITH L.D., DUBY R.T., GODKIN J.D. Maternal recognition of pregnancy in the goat, effects of conceptus removal on interoestrous intervals and characterization of conceptus protein production during early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1989, **41**, 655-664.
- GODKIN J.D., BAZER F.W., THATCHER W.W., ROBERTS M. Proteins released by culture day 15-16 conceptus prolong luteal maintenance when introduced into the lumen of cyclic ewes. *J. Reprod. Fert.*, 1984, **71**, 57-64.
- GROSS T.S., THATCHER W.W., HANSEN P.J., JOHNSON J.W., HELMER S.D. Presence of an intracellular endometrial inhibitor of prostaglandin synthesis during early pregnancy in the cow. *Prostaglandins*, 1988, **35**, 359-378.
- GROSS T.S., THATCHER W.W., O'NEILL C., DANET-DESNOYERS G. Platelet-activating factor alters the dynamics of prostaglandin and protein synthesis by endometrial explants from pregnant and cyclic cows at day 17 following estrus. *Theriogenology*, 1990, **34**, 205-218.
- GUILBAULT L.A., DUFOUR J.J., THATCHER W.W., DROST M., HAIBEL G.K. Ovarian follicular development during pregnancy in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 1986, **78**, 127-135.
- HAHN J., HAHN R. Experiences with non surgical transfer techniques. In *Egg Transfer in cattle*. Pp 199-207. Ed L.E.A. Rowson. CEE. Luxembourg.
- HANAHAHAN D.J. Platelet activating factor, a biologically active phosphoglyceride. *Annu. Rev. Biochem.*, 1986, **55**, 483-509.
- HANSEL W. Plasma hormone concentrations associated with early embryo mortality in heifers. *J. Reprod. Fert.*, 1981, Suppl. **30**, 231-240.
- HANSEL W., STOCK A., BATTISTA P.J. Low molecular weight lipid-soluble luteotrophic factor by conceptuses in cows. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 1989, **37**, 11-17.
- HARRISSON L.M., KENNY N., NISWENDER G.D. Progesterone production, LH-receptors, and oxytocin secretion by ovine luteal cell types on day 6, 10 and 15 of the oestrous cycle and day 25 of pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, 1987, **79**, 539-548.
- HASLER J.F., BOWEN R.A., NELSON L.D., SEIDEL G.E. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfer. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **58**, 71-77.
- HELMER S.D., HANSEN P.J., ANTHONY R.V., THATCHER W.W., BAZER F.W., ROBERTS R.R. Identification of bovine trophoblast protein 1, a secretory protein immunologically related to ovine trophoblast protein. *J. Reprod. Fert.*, 1987, **79**, 83-91.
- HEMMINGS R., LANGLAIS J., FALCONE T., GRANGER L., MIRON P., GUYDA H. Human embryos produce transforming growth factor- α activity and insulin like growth factor-II. *Fert. Ster.*, 1992, **58**, 101-104.
- HENRICKS D.M., LAMOND D.R., HILL J.R., DICKEY J.F. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifer. *J. Anim. Sci.*, 1971, **33**, 450-454.
- HERVEY M.B., KAYE P.L. Insulin growth factor-1 stimulates growth of mouse preimplantation in vitro. *Mol. Reprod. Dev.*, 1992, **31**, 195-199.
- HEYMAN Y., CAMOUS S., FEVRE J., MEZIOU W., MARTAL J. Maintenance of corpus luteum after uterine transfer of trophoblastic vesicles in cyclic cows and ewes. *J. Reprod. Fert.*, 1984, **70**, 533-540.
- HEYMAN Y., CHESNE P., CHUPIN P., MENEZO Y. Improvement of survival rate of frozen cattle blastocysts after transfer with trophoblastic vesicles. *Theriogenology*, 1987, **27**, 477-484.
- HEYNER S., SHAH N., SMITH R.M., WATSON A.J., SCHULKITZ G.A. The role of growth factors in embryo production. *Theriogenology*, 1993, **39**, 151-161.
- HUGHES T.L., VILLA-GODOYA A., KESNER, J.S., FOGWELL R.L. Destruction of bovine ovarian follicles, effects on the pulsatile release of luteinizing hormone and prostaglandin F_{2a}-induced luteal regression. *Biol. Reprod.*, 1987, **36**, 523-529.
- HUMBLLOT P. Signaux embryonnaires et contrôle de la gestation des ruminants. *Rec. Med. Vet.*, 1991, **167**, 193-202.
- HUMBLLOT P., CAMOUS S., MARTLA J., CHARLIEREY J., JEANGUYOT N., THIBIER M., SASSER R.G. Diagnosis of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy specific protein in the plasma of dairy cows. *Theriogenology*, 1988, **30**, 257-269.
- HUMBLLOT P., DALLAPORTA M.A. Effect of conceptus removal and intrateurine administration of conceptus tissue on luteal function in the cow. *Reprod. Develop.*, 1984, **24**, 529-541.
- HUMBLLOT P., DE MONTIGNY G., JEANGUYOT N., TETE-DOIEF, PAYEN B., THIBIER M., SASSER R.G. Pregnancy specific Protein B and progesterone concentrations in French Alpine goats throughout gestation. *J. Reprod. Fert.*, 1990, **89**, 205-212.
- HUMBLLOT P., THIBIER M. Evaluation comparée des méthodes de diagnostic de gestation chez les bovins. *Elevage et Insémination*, 1984, **200**, 3-18.
- HUNTER M.G., Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 1991, **43**, 91-99.
- IRELAND J.J., ROCHE J.J. Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis. Changes in serum hormones, steroids in follicular fluid and gonadotropin receptors. *Endocrinology*, 1982, **111**, 2077-2086.
- JILLELLA D., BAKER A.A. Transcervical transfer of bovine embryos. *Vet. Rec.*, 1978, **103**, 574-576.
- JUBB, D.F., ABHAYARATNE D., MALMO J., ANDERSON G.A. Failure of an intramuscular injection of an analogue of gonadotropin-releasing hormone 11 to 13 days after insemination to increase pregnancy rates in dairy cattle. *Aust. Vet. J.*, 1990, **67**, 359-365.
- KNICKERBOCKER J.J., WILTBANK M.C., NISWENDER G.D. Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 1988, **5**, 591-107.
- LA BONNARDIERE C., MARTINAT-BOTTE F., TERQUI M., LEFEBVRE F., ZOUARI K., MARTAL J., BAZER F.W. Production of two species of interferon by Large White and Meishan pigs conceptuses during the peri-attachment period. *J. Reprod. Fert.*, 1991, **91**, 469-478.
- LACROIX M.C., KANN G. Comparative studies of prostaglandins F_{2alpha} and E₂ alpha in late cyclic and early pregnant sheep, in vitro synthesis by endometrium and conceptus. Effects of in vivo indomethacin treatment on establishment of pregnancy. *Prostaglandins*, 1982, **23**, 507-526.
- LAJILI H., HUMBLLOT P., THIBIER M. Effect of PGF_{2a} alpha treatment on conception rates of dairy cows treated with a GnRH agonist 12 to 14 days after artificial insemination. *Theriogenology*, 1991, **36**, 335-347.
- LAMMING G.E., DARWASH A.O., BACK H.L. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J. Reprod. Fert.*, 1989, (Suppl. 37), 245-252.

- LAMMING G.E., MANN G.E. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F2a production in the cow by progesterone and oestradiol. *J. Reprod. Fert.*, 1995, **103**, 69-73.
- LARSON R.C., IGNOTZ G.G., CURRIE W.B. Platelet derived growth factor (PDGF) stimulates development of bovine embryos during the fourth cell cycle. *Development*, 1992, **115**, 821-826.
- LAWSON R.A.S., ROWSON L.E.A., MOOR R.M., TERVIT H.R. Experiments on egg transfer in the cow and ewe, dependence of conception rate on the transfer procedure and stage of the oestrus cycle. *J. Reprod. Fert.*, 1975, **45**, 101-107.
- LEE A.J., AX R.L. Milk progesterone of dairy cows injected with gonadotrophin releasing hormone at the first postpartum breeding? *Proc. 10th Int. Cong. Anim. Reprod. and A.I. Urbana*, 1984, **2**, 401.
- LEE C.N., CRISTER J.K., AX R.L. Changes of luteinizing hormone and progesterone for dairy cows after gonadotropin releasing hormone at first post-partum breeding. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 1463-1470.
- LEMON M., LOIR M. Steroid release in vitro by two luteal cell types in the corpus luteum of the pregnant sow. *J. Endocrinol.*, 1977, **72**, 351-359.
- LESLIE K.E., BOSU W.T.K., LISSEMORE K., KELTON D. The effects of gonadotrophin releasing hormone administration four days after insemination on first service conception rates and corpus luteum function in dairy cows. *Can. J. Vet. Res.*, 1986, **50**, 184-187.
- LEWIS G.S., THATCHER W.W., BAZER F.W., CURL J.S. Metabolism of arachidonic acid in vivo by ovine blastocysts and endometrium. *Biol. Reprod.*, 1982, **27**, 431-439.
- LINARES T., LARSSON K., EDQVIST L.E. Plasma progesterone levels from oestrus through day 7 after A.I. in heifers carrying embryos with normal or deviating morphology. *Theriogenology*, 1982, **17**, 125-132.
- LINDELL J.-O., KINDAHL H., EDQVIST L.-E. Prostaglandin induced early abortions in the bovine. Clinical outcome and endogenous release of prostaglandin F2a and progesterone. *Anim. Reprod. Sci.* 1980/1981, **3**, 289-299.
- LINDNER G.M., WRIGHT R.W. Morphological evaluation of bovine embryos. *Theriogenology*, 1983, **20**, 407-416.
- LINDQUIST S. The heat-shock response. *Annu. Rev. Biochem.*, 1986, **55**, 1151-1191.
- LUKASZEWSKA J., HANSEL W. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **59**, 485-493.
- LULAI C., KASTELIC J.P., CARRUTHERS T.D., MAPLETOFT R.J. Role of luteal regression in embryo death in cattle. *Theriogenology*, 1994, **41**, 1081-1089.
- MAC MILLAN K.L., DAY A.M., TAUFA V.K. Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) in cattle. 3. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Anim. Reprod. Sci.*, 1986, **11**, 1-10.
- MAC MILLAN K.L., TAUFA V.K., DAY A.M., PETERSON A.J. Effects of supplemental progesterone on pregnancy rates in cattle. *J. Reprod. Fert.*, Suppl., 1991, **43**, 304.
- MAC MILLAN, K.L., W.W. THATCHER. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 1991, **45**, 883-887.
- MANN G.E., LAMMING G.E. Effects of treatment with Buserelin on plasma concentrations of oestradiol and progesterone and cycle length in the cow. *Br. Vet. J.*, 1995, **151**, 427-432.
- MANN G.E., LAMMING G.E. Progesterone inhibition of the development of the luteolytic signal in the cow. *J. Reprod. Fert.* 1995, **104**, 1-5.
- MARCUS G.J. Prostaglandin formation by the sheep embryo and endometrium as an indication of maternal recognition of pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1981, **25**, 56-64.
- MARTAL J., CAMOUS S., FEVRE J., CHARLIER M., HEYMAN Y., 1984a. Specificity of embryonic signals maintaining corpus luteum in early pregnancy in ruminants. Proc. 10th Intern. Congr. on Animal Reproduction and Artificial Insemination. University of Urbana-Champaign, IL, brief communication. No. 510.
- MARTAL J., CHARLIER M. Avortements précoces et signaux embryonnaires de reconnaissance de la gestation. *Rec. Med. Vet.*, 1985, **161**, 87-97.
- MARTAL J., CHARLIER M., CAMOUS S., FEVRE J., HEYMAN Y., 1984b. Origin of embryonic signals allowing the establishment of pregnancy corpus luteum in ruminants. Proc. 10th Intern. Congr. on Animal Reproduction and Artificial Insemination. University of Urbana-Champaign, IL, brief communication, No. 509.
- MARTAL J., CHARLIER M., CHARPIGNY G., CAMOUS S., CHENE N., REINAUD P., SADE S., GUILLIOMOT M. Interference of trophoblastin in ruminant embryonic mortality. A review. *Livestock. Prod. Sci.* 1987, **17**, 193-210.
- MARTAL J., LACROIX M.C., LOUDES C., SAUNIER M., WINTENBERGER-TORRES. Trophoblastin, an antiluteolytic protein present in early pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **56**, 63-73.
- MAURER R.R., ECHTERNKAMP S.E. Hormonal asynchrony and embryonic development. *Theriogenology*, 1982, **17**, 11-22.
- MC CRACKEN J.A., SCHRAMM W., OKULICZ W.C. Hormone receptor pulsatile secretion of PGF2a from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.*, 1984, **7**, 31-55.
- MIALON M.M., RENAUND G., CAMOUS S., MARTAL J., MENISSIER F. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy serum protein (PSP60) in cattle. *Reprod. Nutr. Develop.*, 1994, **34**, 65-72.
- MILVAE R.A., HANSEL W. The effects of prostacyclin (PGI2) and 6-Keto-PGF on bovine plasma progesterone and LH concentrations. *Prostaglandins*, 1980, **20**, 641-646.
- MOORE N.W., SHELTON J.N. Egg transfer in sheep. Effect of degree of synchronisation between donor and recipient, age of egg and site of transfer on survival of transferred eggs. *J. Reprod. Fert.*, 1964, **7**, 145-152.
- MORTON H., Early pregnancy factor (EPF), a link between fertilization and immunomodulation, *Aust. J. Biol. Sci.*, 1984, **37**, 393-407.
- MORTON H., MORTON D.J., ELLENDORF F. The appearance and characteristics of early pregnancy factor in the pig. *J. Reprod. Fert.*, 1983, **68**, 437-446.
- MORTON H., NANCARROW C.D., SCARAMUZZI R.J., EVISON B.M., CLUNIE G.J.A. Detection of early pregnancy in sheep by the rosette inhibition test. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **56**, 75-80.
- MORTON H., ROLFE B.E., MCNEILL L., CLARKE P., CLARKE F.M., CLUNIE G.J.A. Early Pregnancy Factor. Tissues involved in its production in the mouse. *J. Reprod. Immunol.*, 1980, **2**, 73-82.
- MURPHY L.J., GHAHARY A. Uterine insulin-like growth factor-I, regulation of expression and its role in estrogen-induced uterine proliferation. *Endocrine Rev.*, 1990, **11**, 443-453.
- NANCARROW C.D., WALLACE A.L.C. Detection of fertilization in sheep and cattle, serological estimation and description of properties of an early pregnancy factor. Proc. 9th Int. Congr. Animal Reproduction and Artificial Insemination, Madrid, 1980, **3**, 85, Abst. 2-23.
- NANCARROW C.D., WALLACE A.L.C., GREWAL A.S. The early pregnancy factor of sheep and cattle. *J. Reprod. Fert.*, 1981, Suppl. **30**, 191-199.
- NELSON L.D., BOWEN R.A., SEIDEL G.E. Factors affecting bovine embryo transfer. *J. Anim. Sci.*, 1975, **41**, 371-372.
- NEPHEW K.P., MC CLURE K.E., DAYS M.L., XIE S., ROBERTS R.M., POPE W.F. Effects of intramuscular Administration of Recombinant Bovine interferon-alpha 1 during the Period of Maternal Recognition of Pregnancy. *J. Anim. Sci.*, 1990, **68**, 2766-2770.
- NEWCOMB R., ROWSON L.E.A. Conception rate after uterine transfer of cow eggs in relation to synchronization of oestrous and age of eggs. *J. Reprod. Fert.*, 1975, **43**, 539-541.
- NEWTON G.R., MARTINOD S., HANSEN P.J., THATCHER W.W., SIEGENTHALER B., GERBER C., VOIROL M.J. Effects of bovine interferon on acute change in body temperature and serum progesterone concentrations in Heifers. *J. Dairy Sci.*, 1990, **73**, 3439-3448.
- NISWENDER G.D., JUENGEL J.L., MCGUIRE W.J., BELFIORE C.J., WILTBANK M.C. Luteal function, the oestrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1994, **50**, 239-247.

- NISWENDER G.D., SCHWALL R.H., FITZ T.A., FARIN C.E., SAWYER H.R. Regulation of luteal function in domestic ruminants, new concepts. *Recent Prog. Horm. Res.*, 1985, **41**, 101-151.
- O'SHEA J.D., CRAN D.G., HAY M.F. Fate of the theca interna following ovulation in the ewe. *Cell. Tissue res.*, 1980, **210**, 305-319.
- O'SHEA J.D., RODGERS R.J., WRIGHT P.J. Cellular composition of the sheep corpus luteum in the mid and late luteal phases of the oestrous cycle. *J. Reprod. Fert.*, 1986, **76**, 685-691.
- ODDE K.G., WOOD H.S., KIRACOFE G.H., MCKEE R.M., KITTOCK R.J. Short estrous cycles and associated serum progesterone levels in beef cows. *Theriogenology*, 1980, **14**, 105-112.
- OROZCO C., PERKINS T., CLARKE F.M. Platelet-activating factor induces early pregnancy factor in female mice. *J. Reprod. Fert.*, 1986, **78**, 549-555.
- PARIA B.C., DEY S.K. Preimplantation embryo development in vitro, cooperative interactions among embryos and role of growth factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**, 4756-4760.
- PHARRISS B.B., CORNETTE J.C., GUTNECHT G.D. Vascular control of luteal steroidogenesis. *J. Reprod. Fert., suppl*, 1970, **10**, 97-103.
- PIERSON, R.A., O.J. GINTHER. Intraovarian effect of the corpus luteum on ovarian follicles during early pregnancy in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 1987, **15**, 53-60.
- PLANTE C., THATCHER W.W., HANSEN P.J. Alteration of estrous cycle length, ovarian function and oxytocin-induced release of prostaglandin F₂alpha by intrauterine and intramuscular administration of recombinant bovine interferon-alpha to cows. *J. Reprod. Fert.*, 1991, **93**, 375-384.
- POPE G.S., GUPTA S.K. MUNRO I.B. Progesterone levels in the systemic plasma of pregnant, cycling and ovariectomized cows. *J. Reprod. Fert.* 1969, **20**, 369-381.
- POPE W.F. Uterine asynchrony, a cause of embryonic loss. *Biol. Reprod.*, 1988, **39**, 999-1003.
- PRATT B.R., BERARDINELLI, STEVENS L.P., INSKEEP E.K. Induced corpora lutea in postpartum beef cow. I. Comparison of GnRH and human chorionic gonadotropin and effects of progesterone and estrogen. *J. Anim. Sci.*, 1982, **54**, 822-829.
- PUTNEY D.J., THATCHER W.W., DROST M., WRIGHT J.M., DE LORENZO M.A. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology*, 1988a, **30**, 905-922.
- PUTNEY D.J., DROST M., THATCHER W.W. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 postinsemination. *Theriogenology*, 1988b, **30**, 195-209.
- PUTNEY D.J., GROSS T.S., THATCHER W.W. Prostaglandin secretion by endometrium of pregnant and cyclic cattle at day 17 after oestrus in response to in vitro heat stress. *J. Reprod. Fert.*, 1988c, **84**, 475-483.
- PUTNEY D.J., MALAYER J.R., GROSS T.S., THATCHER W.W., HANSEN P.J., DROST M. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. *Biol. Reprod.*, 1988d, **39**, 717-728.
- RETTMER I., STEVENSON J.S., CORAH L.R. Pregnancy rates in beef cattle after administering a GnRH agonist 11 to 14 days after insemination. *J. Anim. Sci.*, 1992a, **70**, 7-12.
- RETTMER I., STEVENSON J.S., CORAH L.R. Endocrine responses and ovarian changes in inseminated dairy heifers after an injection of a GnRH agonist 11 to 13 days after estrus. *J. Anim. Sci.*, 1992b, **71**, 503-507.
- ROBERTSON M.S., WOLFE M.W., STUMPF T.T., KITTOCK R.J., KINDER J.E. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in the cows receiving two levels of progesterone. *Biol. Reprod.*, 1989, **41**, 997-1003.
- ROBERTS R.M. Conceptus interferons and maternal recognition of pregnancy. *Biol. Reprod.*, 1989, **40**, 449-452.
- ROBERTS R.M., CROSS J.C., LEAMAN D.W. Interferons as hormones of pregnancy. *Endocr. Rev.*, 1992, **13**, 432-452.
- ROBERTSON H.A., SARDA L.R. J. A very early pregnancy test for mammals: its application to the cow, ewe and sow. *J. Endocrinol.*, 1971, **49**, 407-419.
- ROBINSON N.A., KENNEDY E.L., WALTON J.S. Effects of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 1989, **72**, 202-207.
- ROCHE J.F., BOLAND M.P., MCGEADY T.A. Reproductive wastage following artificial insemination of heifers. *Vet. Rec.*, 1981, **109**, 401-404.
- RODGERS R.J., O'SHEA J.D. Purification, morphology and progesterone production and content of three cell types isolated from the corpus luteum of the sheep. *Austr. J. Biol. Sci.*, 1982, **35**, 441-445.
- ROWSON L.E.A., MOOR R.M. Embryo transfer in sheep, the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. *J. Reprod. Fert.*, 1966, **11**, 207-212.
- ROWSON L.E.A., MOOR R.M., LAWSON R.A.S. Fertility following egg transfer in the cow, effect of method, medium and synchronization of oestrus. *J. Reprod. Fert.*, 1969, **18**, 517-523.
- RUDER C.A., SASSER R.G., DAHMEN J.J., STELLFLUG J.N. Detection of pregnancy in sheep by radioimmunoassay of sera for pregnancy specific protein B. *Theriogenology*, 1988, **29**, 905-911.
- RYAN D.P., KOPEL E., BOLAND M.P., GODKE R.A. Pregnancy rates in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at mid cycle post insemination. *Theriogenology*, 1991, **36**, 367-378.
- SASSER R.G., RUDER C.A., IVANI K.A., BUTLER J.E., HAMILTON W.C. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biol. Reprod.*, 1986, **35**, 936-942.
- SAWYER H.R., ABEL J.H., MC CLELLAN M.C., SCHMITZ M. NISWENDER G.D. Secretory granules and progesterone secretion by ovine corpora lutea in vitro. *Endocrinology*, 1979, **104**, 476-486.
- SHARP D.C., MC DOWELL K.J., WEITHENAUER J., THATCHER W.W. The continuum of events leading to maternal recognition of pregnancy in mares. *J. Reprod. Fert.*, 1989, **37** (Suppl.), 101-107.
- SHELTON K., PARKINSON T.J., HUNTER M.G., KELLY R.W., LAMMING G.E. Prostaglandin E₂ as potential luteotrophic agent during early pregnancy in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 1990, **90**, 11-17.
- SHEMESH M., AYALON N., LINDNER H.R. Early effect of conceptus on plasma progesterone level in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 1968, **15**, 161-164.
- SHEMESH M., MILAGUIR F., AYALMON N., HANSEL W. Steroidogenesis and prostaglandin synthesis by cultured bovine blastocysts. *J. Reprod. Fert.*, 1979, **56**, 181-185.
- SILVIA W.J., LEWIS G.S., MC CRACKEN J.A., THATCHER W.W., WILSON L. Hormonal regulation of uterine secretion of PGF₂ during luteolysis in ruminants. *Biol. Reprod.*, 1991, **45**, 655-663.
- SIMMEN R.C.M., KO Y., SIMMEN F.A. Insulin-like growth factors and blastocyst development. *Theriogenology*, 1993, **39**, 163-175.
- SOLOFF M.S., FIELDS M.J. Changes in uterine oxytocin receptors concentrations throughout the oestrous cycle of the cow. *Biol. of reprod.*, 1989, **40**, 283-287.
- STEVENSON J.S., MEE M.O. Pregnancy rates of Holstein cows after postinsemination treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *J. Dairy Sci.*, 1991, **74**, 3849-3856.
- THATCHER W.W., BARTOL F.F., KNICKERBOCKER J.J., CURL J.S., WOLFENSON D. Maternal recognition of pregnancy in cattle. *J. Dairy Sci.*, 1984, **67**, 2797-2811.
- THATCHER W.W., KNICKERBOCKER J.J., BARTOL F.F., BAZER F.W., ROBERTS R.M., DROST M. Maternal recognition of pregnancy in relation to the survival of transferred embryos, endocrine aspects. *Theriogenology*, 1985, **23**, 129-143.
- THATCHER W.W., MAC MILLAN K.L., HANSEN P.J., DROST M. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*, 1989, **31**, 149-164.

- THOMPSON F.N., CLEKIS T., KISER T.E., CHEN H.J., SMITH C.K. Serum progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant heifers and after gonadotrophin releasing hormone in luteal phase heifers. *Theriogenology*, 1980, **13**, 407-417.
- URSELY J., LEYMARIE P. Varying response to luteinizing hormone of two luteal cell types isolated from bovine corpus luteum. *J. Endocrinol.*, 1979, **83**, 303-310.
- VAN CLEEF J., DROST M., THATCHER W.W. Effects of postinsemination progesterone supplementation on fertility and subsequent estrous responses of dairy heifers. *Theriogenology*, 1991, **36**, 795-807.
- VAN CLEEF J., MAC MILLAN K.L., THATCHER W.W., LUCY M.C. Estrous synchronisation and fertility in heifers treated with CIDR before and after insemination. *J. Anim. Sci.*, 1989, **67** (Supp. 1), 383.
- VILLA-GODOY A., IRELAND J.J., WORTMAN J.A., AMES N.K., HUGHES T.L., FOGWELL R.L. Effect of ovarian follicles on luteal regression in heifers. *J. Anim. Sci.*, 1985, **60**, 519-527.
- WALLACE J.M., HELLIWELL R., MORGAN P.J. Autoradiographical localization of oxytocin binding sites on ovine oviduct and uterus throughout the estrous cycle. *Reprod. Fert. Dev.*, 1991, **3**, 127-135.
- WATHES D.C., SWANN R.W., BIRKETT S.D., PORTER D.G., PICKERING B.T. Characterization of oxytocin, vasopressin and neurophysin from the bovine corpus luteum. *Endocrinology*, 1983, **113**, 693-698.
- WEBER J.A., FREEMAN D.A., VANDERWALL D.K., WOODS G.L. Prostaglandin E2 secretion by oviductal transport-stage equine embryos. *Biol. Reprod.*, 1991a, **45**, 540-543.
- WEBER J.A., FREEMAN D.A., VANDERWALL D.K., WOODS G.L. Prostaglandin E2 hastens oviductal transport of equine embryos. *Biol. Reprod.*, 1991b, **45**, 544-546.
- WILMUT I., SALES D.J. Effect of asynchronous environment on embryonic development in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 1981, **61**, 179-184.
- WILMUT I., SALES D.J., ASHWORTH C.J. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J. Reprod. Fert.*, 1980, **76**, 851-864.
- WILSON J.L., BUTCHER R.L., INSKEEP E.K. Prostaglandin F2 alpha in the uterine of ewes during early pregnancy. *Prostaglandins*, 1972, **1**, 479-482.
- WINTERBERGER-TORRES F. Action de la progestérone et des stéroïdes ovariens sur la segmentation des oeufs chez la brebis. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 1967, **7**, 391-406.
- WOOD A.K., DARLING A., DUSEK G.L., SASSER R.G., RUDER C.A. Serum assays for detecting pregnancy in mule and white tailed deer. *J. Wild. manag.*, 1986, **50**, 684-687.
- ZOLI A., DEMEZ P., BECKERS J.F., REZNIK M., BECKERS A. Light and electron microscopy immunolocalization of Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein in the bovine placentome. *Biol. Reprod.*, 1992, **46**, 623-629.