

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 112

LA DIAPAUSE EMBRYONNAIRE ET SA RÉGULATION CHEZ LES MAMMIFÈRES, UNE ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE 1850 A NOS JOURS

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 2 décembre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

CRISTIN Charlotte

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 112

LA DIAPAUSE EMBRYONNAIRE ET SA REGULATION CHEZ LES MAMMIFERES, UNE ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE 1850 A NOS JOURS

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 2 décembre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

CRISTIN Charlotte

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (14-09-2022)

Pr ABITBOL	Marie	Professeur
Dr ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Pr ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Dr AYRAL	Florence	Maître de conférences
Dr BECKER	Claire	Maître de conférences
Dr BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Dr BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
Pr BENOIT	Etienne	Professeur
Pr BERNY	Philippe	Professeur
Pr BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
Dr BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Dr BRUTO	Maxime	Maître de conférences
Dr BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
Pr BUFF	Samuel	Professeur
Pr BURONFOSSE	Thierry	Professeur
Dr CACHON	Thibaut	Maître de conférences
Pr CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Pr CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Pr CHABANNE	Luc	Professeur
Pr CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
Dr CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
Dr CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Dr DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Pr DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Pr DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Dr ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
	Mohamed-	
Dr FRIKHA	Ridha	Maître de conférences
Dr GALIA	Wessam	Maître de conférences
Pr GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
Dr GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Dr GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Dr HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
		Chargé d'enseignement contractuel
Dr JOSSON-SCHRAMME	Anne	
Pr JUNOT	Stéphane	Professeur
Pr KODJO	Angeli	Professeur
Dr KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Dr LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Dr LAMBERT	Véronique	Maître de conférences

Pr LE GRAND	Dominique	Professeur
Pr LEBLOND	Agnès	Professeur
Dr LEDOUX	Dorothee	Maître de conférences
Dr LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Dr LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
Dr LEGROS	Vincent	Maître de conférences
Pr LEPAGE	Olivier	Professeur
Pr LOUZIER	Vanessa	Professeur
Dr LURIER	Thibaut	Maître de conférences
Dr MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
Pr MARCHAL	Thierry	Professeur
Dr MOSCA	Marion	Maître de conférences
Pr MOUNIER	Luc	Professeur
Dr PEROZ	Carole	Maître de conférences
Pr PIN	Didier	Professeur
Pr PONCE	Frédérique	Professeur
Pr PORTIER	Karine	Professeur
Dr POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Pr PROUILLAC	Caroline	Professeur
Pr REMY	Denise	Professeur
Dr RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
Pr ROGER	Thierry	Professeur
Dr SAWAYA	Serge	Maître de conférences
Pr SCHRAMME	Michael	Professeur
Pr SERGENTET	Delphine	Professeur
Dr TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Dr VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
Pr VIGUIER	Eric	Professeur
		Chargé d'enseignement contractuel
Dr VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	
Pr ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements Jury

À Madame la Professeur Claire Haegelen-Volpe,

De la Faculté de Médecine de Lyon Est,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,

Pour avoir bien voulu consacrer du temps à l'évaluation de ce travail,

Je vous présente mes sincères remerciements et mes hommages respectueux.

À Madame la Professeur Anne-Cécile Lefranc,

De VetAgroSup campus vétérinaire de Lyon,

Pour avoir accepté d'encadrer ce travail en tant que directeur de thèse,

Pour votre patience, votre bienveillance, vos critiques constructives et vos conseils avisés,

Très sincères remerciements.

À Monsieur le Professeur Jean-Luc Cadoré,

De Vetagro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,

Pour avoir accepté de prendre part à mon jury de thèse en tant que second assesseur,

Très sincères remerciements.

Table des matières

Table des figures	11
Table des tableaux	13
Liste des abréviations	15
Introduction	17
I- La diapause embryonnaire : le développement en sursis	19
A. Le développement <i>in utero</i> chez les mammifères.....	19
1. De l'ovule au blastocyste, le développement pré-implantatoire chez les mammifères	19
2. L'implantation embryonnaire : un dialogue entre l'utérus et le blastocyste	25
B. Cas particulier du développement embryonnaire chez la chevrette (<i>Capreolus capreolus</i>)	28
C. La diapause embryonnaire à l'échelle des espèces du monde vivant.....	29
1. Accélération de la recherche	29
2. Historique des symposiums sur la diapause embryonnaire	31
3. La diapause : mécanisme issu d'un seul évènement évolutif ou produit d'une évolution convergente ?.....	34
4. La diapause : une stratégie reproductive améliorant le succès reproducteur des individus.....	39
II- Description des modalités de la diapause embryonnaire	43
A. La diapause obligatoire chez les carnivores (<i>Carnivora</i>)	44
1. L'embryon en diapause chez les carnivores	45
2. Diapause chez les pinnipèdes (<i>Pinnipedia</i>).....	47
3. Diapause chez les Ursidés (<i>Ursidae</i>).....	48
4. Diapause chez les mustélidés (<i>Mustelidae</i>).....	49
B. La diapause facultative chez les rodentiers (<i>Rodentia</i>) et chez les insectivores (<i>Insectivora</i>)	51
1. La diapause chez les rodentiers (<i>Rodentia</i>)	51
2. La diapause chez les insectivores (<i>Insectivora</i>)	53
C. La diapause mixte chez les marsupiaux (<i>Marsupiala</i>).....	54
1. Le blastocyste des marsupiaux.....	54
III- Régulation de la diapause embryonnaire chez les mammifères	57
A. Régulation de la diapause par des facteurs externes	60
1. Influence du moment de l'implantation embryonnaire par la photopériode	60
2. Le stress métabolique.....	65
B. Régulation de la réactivation embryonnaire par des facteurs endogènes.....	66
1. Contrôle maternel	67
2- Contrôle par la glande pituitaire.....	68
3. Facteurs ovariens	72

4. Contrôle moléculaire de la diapause.....	77
C. Régulation de la diapause par des facteurs cellulaires : arrêt du cycle cellulaire	87
D. Survie du blastocyste à l'état quiescent.....	89
1. Autophagie.....	89
2. Rôle des gouttelettes lipidiques (GL) dans les embryons de mammifères en diapause.....	90
Bibliographie	94

Table des figures

Figure 1 : Polarité dans un embryon préimplantatoire de souris au stade 8 cellules.

Figure 2 : Développement pré-implantatoire de l'embryon chez la souris

Figure 3 : Schéma de blastocyste au moment de l'implantation

Figure 4 : Embryon de vison en diapause au stade 350 cellules.

Figure 5 : Blastocyste de mouffette au stade précoce de la réactivation.

Figure 6 : Schéma illustrant la diapause obligatoire chez le vison (*Neovison vison*) réparti en hémisphère nord

Figure 7 : Schéma illustrant la diapause mixte chez le Wallaby de l'île Eugène (*Macropus eugenii*) réparti en hémisphère sud

Figure 8 : Physiologie de la sécrétion de mélatonine et de prolactine

Figure 9 : Concentration en mélatonine plasmatique dans le sang (moyenne) chez des femelles wallaby de l'île Eugène ayant reçu une opération fictive (a), intact (b) ou ganglionectomisé (c).

Figure 10 : Profil de progestérone pendant la gestation chez cinq blaireaux contrôles et chez six femelles mises dans des conditions d'hiver artificiel.

Figure 11 : Stratégies de modulation photopériodique de la diapause dans le modèle marsupial, et dans le modèle carnivore.

Figure 12 : Profil hormonal du vison à l'entrée en diapause, pendant la diapause et après la réactivation embryonnaire.

Figure 13 : Profil hormonal du vison à l'entrée en diapause, pendant la diapause et après la réactivation embryonnaire

Figure 14 : Profil hormonal du wallaby de l'île Eugène à l'entrée en diapause, pendant la diapause et après la réactivation embryonnaire.

Figure 15 : Modèle de répression par les facteurs de transcription *Msx*.

Figure 16 : Les embryons délipidés sont incapables de survivre pendant la progression de la DE.

Table des tableaux

Tableau I : Liste des mammifères présentant une diapause embryonnaire

Tableau II : Diapause embryonnaire chez les mammifères

Tableau III : Ensemble des facteurs de régulation (maîtrisés ou supposés) de l'entrée en diapause, du maintien en diapause et de la réactivation de l'embryon

Liste des abréviations

Atg = gène d'autophagie

CDK = cyclin-dependant kinase (kinase dépendante des cyclines)

CL = corpus luteus

EGF = epithelium growth factor (facteur de croissance épithéliale)

EGFR = epidermal growth factor receptor

FOXO = forkhead homeobox type O (facteurs de transcription FOXO)

GL = gouttelettes lipidiques

HB-EGF = heparine binding epithelium growth factor (facteur de croissance se liant à l'héparine)

IGF-BP-1 = insulin-like growth factor-binding protein 1

IKK = I κ B kinase

LH = luteinizing hormone (hormone lutéinisante)

LIF = leukemia inhibitory factor (facteur inhibiteur de la leucémie)

MCI = masse cellulaire interne

miARN = micro acide ribonucléique

NF κ B = nuclear factor kappa B

PAF = platelet-activating factor (facteur d'activation des plaquettes)

TE = trophoctoderme

VE = vésicules extracellulaires

VEGF = vascular endothelial growth factor (facteur de croissance endothélial vasculaire)

Wnt5a = wingless integration site 5 a

Introduction

Chez les mammifères, le succès reproducteur dépend de conditions externes à l'individu, comme les conditions climatiques et l'accès à la nourriture, et internes, comme le poids ou l'état de santé du reproducteur. Lorsque ces conditions ne sont pas optimales, diverses réponses adaptatives, et différentes selon les espèces, sont mises en place, comme la diapause embryonnaire.

La diapause embryonnaire constitue, en effet, une de ces stratégies évolutives et a été observée chez plus de 130 mammifères. Également connue sous le nom « d'implantation retardée », terme remplacé par « diapause » en 1980, elle consiste en un arrêt précoce de la croissance de l'embryon au stade blastocyste, pour une durée de quelques jours à plusieurs mois, en fonction de l'espèce.

Chez la plupart des espèces, l'arrêt se produit au stade pré-implantatoire et les blastocystes subissent ainsi une diapause avant leur fixation à l'utérus. Une diapause post-implantation, a été observée chez plusieurs espèces de chauves-souris comme *Cyanoptères*. Le blastocyste s'implante, mais subit une période de quiescence avant de poursuivre son développement (Renfree and Fenelon, 2017). Ce type de diapause ne sera volontairement pas développé dans ce manuscrit afin de ne pas multiplier les cas particuliers.

La diapause assure le découplage temporel de l'accouplement avec la parturition pour permettre au développement post-natal de se dérouler dans les conditions environnementales les plus favorables à la survie de la progéniture. L'arrêt temporaire du développement permet également une économie des ressources nécessaires à la survie de la mère en cas de conditions extérieures défavorables (Ajit *et al.*, 2021). Cette thèse a pour objectif principal de recenser les connaissances actuelles sur le sujet et de mettre en avant un mécanisme de reproduction peu connu qui pourrait avoir des implications chez des espèces domestiques sans diapause (Ptak *et al.*, 2012). Comprendre les contrôles moléculaires et génétiques à l'œuvre dans les embryons quiescents au stade blastocyste présente un grand intérêt en médecine vétérinaire (Comizzoli, 2020). Mieux comprendre ce mode de reproduction permettrait, en effet, de résoudre des cas d'infertilité liés à des défauts d'implantation embryonnaire, ou d'aider dans la préservation d'espèces en danger d'extinction, comme le panda géant (*Ailuropoda melanoleuca*).

Dans un premier temps, après avoir exposé les mécanismes à l'œuvre lors de l'implantation embryonnaire, l'histoire de la découverte et des avancées des savoirs au fil des symposiums en ce qui concerne la diapause embryonnaire sera énoncée. Ensuite, les différents types de diapause, ainsi que leurs caractéristiques chez les Carnivora, les Rodentia, les Insectivora et les Marsupiala seront exposés. Enfin, les systèmes de régulations, connus ou suspectés, à l'œuvre dans cette stratégie de reproduction seront recensés.

I- La diapause embryonnaire : le développement en sursis

Connue depuis le milieu du 19^{ème} siècle, la diapause embryonnaire peut se définir comme une stratégie de reproduction élaborée chez les mammifères, au cours de laquelle l'œuf fécondé se développe jusqu'au stade de blastocyste, puis subit un arrêt du développement d'une durée variable et généralement dépendante de l'espèce (Weir *et al*, 1981; Renfree and Fenelon, 2017).

Dans cette première partie, après avoir fait de brefs rappels biologiques sur l'embryon et l'implantation embryonnaire chez les mammifères, l'histoire de la découverte de ce processus sera retracée afin de s'interroger sur l'origine et le pourquoi d'une telle stratégie de reproduction.

A- Le développement *in utero* chez les mammifères

La gestation chez les mammifères permet la formation d'un nouveau-né capable de survivre dans le milieu extérieur, de se développer et éventuellement de se reproduire à son tour. Elle est divisible en deux périodes distinctes:

- Le développement pré-implantatoire, période allant de la fécondation à l'implantation, durant laquelle un blastocyste, comportant trois lignées cellulaires distinctes, est formé. Un seul de ces lignages, l'épiblaste, contribue à l'embryon lui-même, tandis que les deux autres lignages, le trophoctoderme et l'endoderme primitif, deviennent des tissus extra-embryonnaires.
- A la suite de l'implantation, le fœtus termine son développement jusqu'à la parturition. Pendant cette période, l'association avec le tissu maternel se met en place et se renforce, et le fœtus subit des réarrangements formatifs avec l'émergence de l'axe antéro-postérieur et la formation des couches germinales.

1. De l'ovule au blastocyste, le développement pré-implantatoire chez les mammifères

À la suite de la fécondation le zygote, formé par la fusion de deux gamètes, connaît des modifications morphologiques jusqu'à atteindre le stade blastocyste, où intervient, dans certains cas et sous certaines conditions, la diapause embryonnaire.

1.1. Étapes du développement embryonnaire des souris

Les ovules de mammifères sont de petite taille (80 - 100 μm de diamètre chez l'Humain et la souris). Chez la souris (*Mus musculus*), l'**ovocyte** est émis par l'ovaire dans l'oviducte et est enveloppé dans une couche protectrice externe, la **zone pellucide**, composée de mucopolysaccharides et de glycoprotéines. La **fécondation**, à savoir la rencontre du gamète mâle et du gamète femelle, se déroule dans l'**oviducte** et est suivie par la **méiose** (division cellulaire dans laquelle une cellule diploïde à $2n$ chromosomes donne naissance à 4 cellules haploïdes à n chromosomes) et la formation du second globule polaire. Les premières **divisions cellulaires** commencent dans l'oviducte, où le **zygote** (cellule diploïde résultant de la fusion de deux gamètes haploïdes) subit une série de divisions qui produisent une morula composée de cellules totipotentes (les **blastomères**).

La synthèse protéique dans le zygote de mammifères repose initialement sur un dépôt d'ARNm stocké par la mère (Bachvarova, 1985). La transcription de l'ARNm codé par le génome zygotique commence au cours des premières divisions et cette transition des transcrits maternels aux transcrits zygotiques est connue sous le nom d'**activation du génome zygotique** (Figure 2). Elle a lieu assez tôt chez la souris : il y a une première phase de transcription zygotique à la fin du stade à une cellule, suivie d'une seconde phase plus importante au stade à deux cellules (Aoki *et al.*, 1997). Cette seconde phase s'accompagne d'une dégradation des transcrits maternels (Figure 2) (Paynton *et al.* 1988).

Au stade 8 cellules, les blastomères forment des **jonctions serrées**, ce qui augmente l'aire de surface de contact les uns avec les autres, c'est la **compaction** (Figure 1) (Wolpert and Tickle 2011). Ce processus est essentiel pour les événements morphogénétiques ultérieurs et pour la ségrégation appropriée des trois lignées embryonnaires. Chez la souris, la compaction est associée à la formation de jonctions adhérentes et, plus tard, de jonctions étroites entre les cellules.

La **E-cadhérine**, un composant majeur des jonctions adhérentes, se localise dans les régions de contacts intercellulaires (Vestweber *et al.*, 1987). Elle joue un rôle essentiel dans la compaction embryonnaire chez les souris. En effet, l'élimination des ions Ca^{2+} , ou l'ajout d'anticorps spécifiques de l'E-cadhérine, inhibe, l'un comme l'autre, la compaction (Ducibella *et al.*, 1977; Hyafil *et al.*, 1980; Vestweber and Kemler, 1984). Par ailleurs, les embryons dans lesquels le gène codant pour l'E-cadhérine a été inhibé se compactent normalement jusqu'au stade huit cellules en raison de la présence de la protéine E-cadhérine maternelle, mais ne parviennent pas à maintenir une bonne adhésion cellulaire au stade blastocyste (Vestweber *et al.*, 1987; Riethmacher, Brinkmann and Birchmeier, 1995). Inversement, les embryons n'ayant pas reçu un apport maternel suffisant en E-cadhérines ne parviennent pas à se compacter au stade huit cellules, mais leur compaction reprend au stade 16 cellules suite à l'expression de l'allèle paternel dans le zygote (De Vries *et al.*, 2004).

À la suite de la compaction, les blastomères se polarisent rapidement le long de l'axe perpendiculaire aux zones de contacts cellulaires de sorte que les régions tournées vers l'extérieur (régions apicales) deviennent distinctes des régions tournées vers l'intérieur

(régions basolatérales) (Figure 1). Le **cytoplasme** se réorganise : les noyaux cellulaires se déplacent baso-latéralement (Reeve and Kelly, 1983) tandis que les endosomes, précédemment distribués dans la cellule de manière aléatoire, se déplacent dans la zone apicale (Fleming and Pickering, 1985). L'actine s'accumule au niveau apical, comme la plupart des microtubules, bien qu'une plus petite population de microtubules acétylés plus stables se localisent baso-latéralement (Johnson and Maro, 1984; Houliston and Maro, 1989). Les microvillosités qui étaient également réparties sur la surface cellulaire avant le compactage s'accumulent au pôle apical et sont presque complètement éliminées baso-latéralement (Fleming *et al.*, 1986). Comme c'est le cas dans d'autres types de cellules polarisées, une redistribution de protéines spécifiques est observée (Louvet *et al.*, 1996; Pauken and Capco, 2000; Plusa *et al.*, 2005; Vinot *et al.*, 2005).

Une fois la **morula** au stade huit cellules compactée et polarisée, l'embryon subit deux autres clivages jusqu'au stade 32 cellules (Wolpert and Tickle 2011) (Figure 1). Au cours de ces divisions, la polarisation est influencée par l'orientation du plan de clivage du blastomère. Si une cellule subit une mitose à un angle perpendiculaire à son axe de polarité (c'est-à-dire parallèle à son axe intérieur-extérieur), ses deux cellules filles seront toutes deux polaires et resteront à l'extérieur de l'embryon. Cependant, les cellules peuvent également se diviser parallèlement à leur axe de polarité, produisant une cellule fille extérieure polarisée et une cellule apolaire située à l'intérieur de l'embryon (Johnson and Ziomek, 1981). De cette façon, l'embryon pré-implantatoire, qui était auparavant composé d'une population uniforme de cellules, a maintenant généré deux groupes de cellules distincts : les **cellules intérieures apolaires** et les **cellules extérieures polaires** (Figure 1). La polarité et la position des cellules sont toutes deux importantes pour définir ces deux populations. En effet, la manipulation expérimentale de la position d'une cellule dans l'embryon peut modifier sa polarité (Handyside, 1978) et la modification de la polarité d'une cellule peut, à son tour, affecter sa position (Plusa *et al.*, 2005).

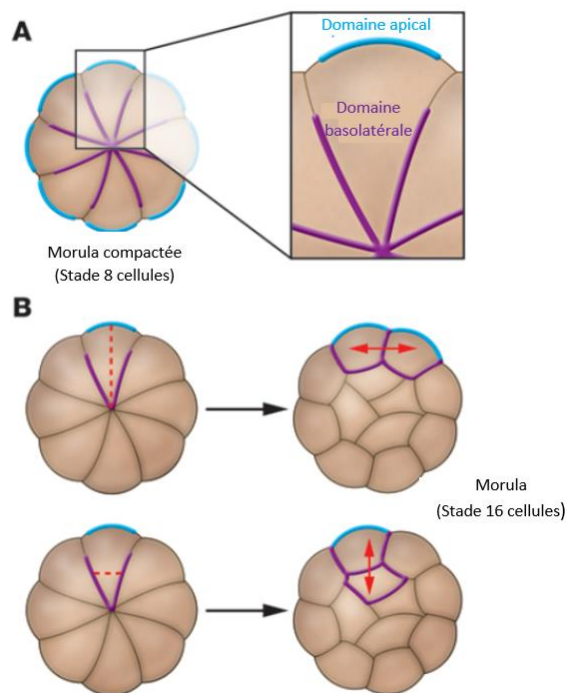


Figure 1 : Polarité dans un embryon préimplantatoire de souris (Cockburn and Rossant, 2010).

(A) Au stade 8 cellules, les blastomères sont polarisés le long de l'axe des contacts cellulaires, en formant des domaines apicaux et des domaines baso-latéraux.

(B) Au cours de la division cellulaire, deux lignées cellulaires sont créées : des cellules polaires à l'extérieur et des cellules apolaires à l'intérieur de la morula.

À partir du stade 32 cellules, une particularité de la division embryonnaire chez les mammifères est la formation de deux groupes distincts de cellules :

- le **trophectoderme (TE)**, composé des cellules à l'extérieur de l'embryon, donc des cellules polaires
- la **masse cellulaire interne (MCI)**, composée des cellules à l'intérieur de l'embryon.

À ce moment-là, alors que les cellules extérieures s'engagent pleinement dans la lignée TE, du fluide utérin est aspiré par le TE à l'intérieur du blastocyste et une cavité remplie de liquide, connue sous le nom de **blastocèle**, commence à se former (Dyce *et al.* 1987; Pedersen *et al.* 1986). La présence d'un blastocèle est essentielle au bon développement de la MCI (Pedersen *et al.* 1986). Au cours de la formation du blastocèle, l'eau peut pénétrer dans l'embryon via un gradient osmotique, en raison des pompes Na^+ / K^+ qui produisent une accumulation de Na^+ du côté basolatéral du TE. Le mouvement de l'eau peut également être facilité par les aquaporines, présentes dans le TE et fonctionnelles au stade 32 cellules (Barcroft *et al.*, 2003). En début de formation, le blastocèle se maintient grâce à l'étanchéité épithéliale du TE. En effet, environ une heure après la fin de la compaction, et ce pendant une

durée moyenne de 24 heures, des composants des jonctions serrées commencent à s'assembler dans les cellules extérieures. Cela entraîne la formation de **jonctions serrées** fonctionnelles qui empêchent les fuites de liquide au stade 32 cellules (Fleming *et al.*, 1989, 1993; Sheth *et al.*, 2000). Avec la formation du blastocèle à 3,5 jours, l'embryon de souris est désormais considéré comme un **blastocyste**. Il continue à mûrir pendant 24 heures supplémentaires avant de pouvoir s'implanter (Figure 2).

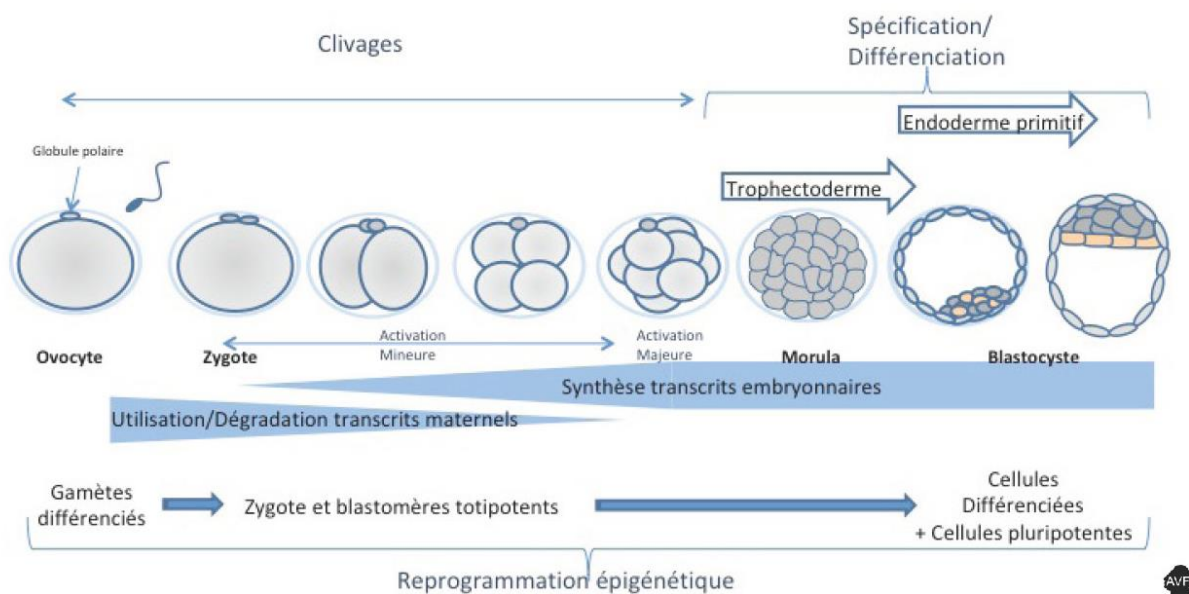


Figure 2 : Développement pré-implantatoire de l'embryon chez la souris (d'après Duranthon, 2019)

Le développement continue avec la formation du **placenta** (organe éphémère, présent chez les mammifères placentaires, qui lie étroitement le fœtus avec sa mère et répond aux besoins de respiration, de nutrition et d'excrétion du fœtus au cours de son développement pendant la gestation), la **gastrulation** (seconde phase du développement embryonnaire durant laquelle les mouvements morphogénétiques permettent le remaniement des blastomères qui se répartissent en trois feuillet : ectoderme, mésoderme et endoderme) et la **neurulation** (étapes du développement embryonnaire conduisant à la formation du tube neural et de la crête neurale chez les embryons de vertébrés). L'organogenèse de la souris commence à l'extrémité antérieure de l'embryon et progresse vers l'arrière. De la fécondation à la naissance, un total de 18 à 21 jours s'écoule en fonction de la lignée des souris (Wolpert and Tickle, 2011).

À la suite de la fécondation, le zygote évolue au cours de sa migration dans le tractus génital de la femelle jusqu'à atteindre le stade blastocyste. Ces modifications sont caractérisées par une prolifération cellulaire (passage d'une cellule à 32 cellules) et par une polarisation des cellules en fonction de leur répartition spatiale dans la morula.

1.2. Morphologie du blastocyste des mammifères au moment de l'implantation

Au moment de l'implantation du **blastocyste** (stade 128 cellules), sa masse cellulaire interne est divisée en un endoderme primitif, au contact du blastocèle, et un ectoderme primitif, à l'origine de l'embryon.

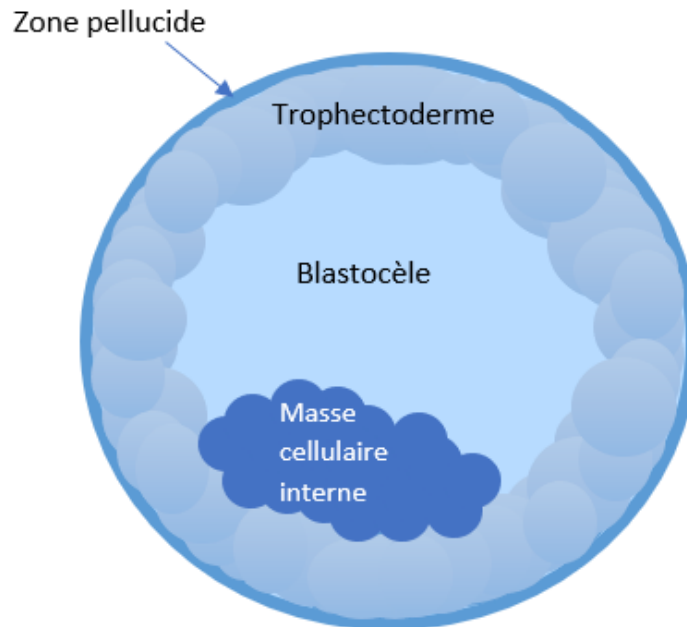


Figure 3 : Schéma de blastocyste au moment de l'implantation (source personnelle)

Le **trophectoderme** entoure la masse cellulaire interne et le blastocèle. Il est qualifié de polaire s'il est au contact de la masse cellulaire interne, et de mural s'il délimite le blastocèle (Figure 3) . Le blastocyste mesure 110 μm à ce moment-là (Aghion, 1998).

1.3. Nutrition du blastocyste au cours de sa vie libre dans l'utérus

Au cours de la phase libre du blastocyste dans la lumière utérine, et ce jusqu'à l'implantation, le blastocyste en développement est nourri par les **sécrétions utérines**. Celles-ci assurent le maintien d'un environnement adapté dans lequel le blastocyste garde son intégrité et les caractéristiques immunitaires essentielles à la survie de l'embryon au fur et à mesure que ses gènes s'expriment (Beier *et al.*, 1991).

A ce stade de développement, le volume de liquide sécrété par l'endomètre chute sous l'effet de la concentration en progestérone, ce qui entraîne une modification de la

composition chimique des sécrétions utérines. Parmi les besoins nutritionnels de l'embryon, la présence de glucides (pyruvate, glucose et lactate), ainsi que d'acides aminés, est essentielle. Le blastocyste récupère également dans le milieu utérin les ions nécessaires à son bon fonctionnement (Benos and Balaban, 1980).

2. L'implantation embryonnaire : un dialogue entre l'utérus et le blastocyste

L'implantation (processus par lequel l'embryon se fixe à l'endomètre) implique une série d'étapes conduisant à un dialogue efficace entre le blastocyste et l'utérus (Paria *et al.* 2002). En cas de perte du synchronisme entre le stade de développement de l'embryon jusqu'au stade de blastocyste et l'état de différenciation de l'utérus, l'implantation devient défectueuse ou inexistante. Par ailleurs, le blastocyste doit également acquérir une compétence moléculaire indispensable à l'implantation.

2.1. L'endomètre utérin, une barrière à l'implantation

L'**endomètre**, paroi interne de l'utérus, est composé de cellules épithéliales, de cellules stromales (en majorité), de cellules immunitaires et de cellules endothéliales composant le système vasculaire. Il y a deux sortes de cellules épithéliales : les cellules épithéliales luminales faisant face à la lumière de l'utérus et les cellules épithéliales stromales formant les glandes utérines. Chez les mammifères, le rôle principal de l'endomètre est de permettre l'implantation de l'embryon afin d'assurer sa nutrition au cours de la gestation qui en découle. Pourtant, l'endomètre n'est réceptif à l'implantation embryonnaire que sur une fenêtre très étroite définie par des modifications hormonales au cours du cycle reproductif (Carson *et al.*, 2000). S'il a été montré lors de transplantations expérimentales que les embryons étaient capables de s'implanter dans de nombreux tissus, tels que la rate (Kirby, 1963), le rein (Fawcett, 1950), et même dans la chambre antérieure de l'œil ou dans la cavité abdominale (Fawcett *et al.*, 1947), l'implantation dans l'utérus est conditionnelle et nécessite un amorçage hormonal sous peine de rejet de l'embryon (Cowell, 1969). En dehors de cette fenêtre hormonale étroite, Cowell a observé des implantations embryonnaires après avoir endommagé l'épithélium luminal. Ce dernier jouerait un rôle de barrière mécanique à l'implantation (Cowell, 1969).

À la suite d'un contrôle hormonal adéquat, sous l'influence de l'œstrogène et de la progestérone, une « fenêtre de réceptivité » permet à l'embryon de s'implanter. Cette fenêtre a une durée variable en fonction des espèces, de 3 à 5 jours chez les Humains à quelques heures chez les rongeurs (De Ziegler *et al.*, 1998; Gellersen and Brosens, 2014). L'endomètre réceptif est caractérisé morphologiquement par la présence de protrusions

apicales appelées **pinopodes** sur les cellules de l'épithélium luminal (Nikas and Aghajanova, 2002). Chez les Rodentia, les pinopodes servent à réabsorber une partie du fluide utérin, réduisant ainsi le volume séparant l'embryon et l'endomètre (Guillomot 2001). Au-delà des pinopodes, l'épithélium luminal est pseudostratifié et polarisé. Le stroma endométrial est œdématié et les tissus sont fortement vascularisés. Ces changements morphologiques sont accompagnés d'une modification moléculaire (Bhagwat *et al.*, 2013). L'expression génomique de l'endomètre réceptif présente des similitudes avec celle présente lors d'une réponse inflammatoire, d'altération de la signalisation du complément, de réparation d'une plaie, de réponse immunitaire et de régulation de la coagulation (Huang *et al.*, 2017).

2.2. Modification de l'épithélium luminal et de l'endomètre

L'embryon commence à agir sur l'utérus une fois que ce dernier est réceptif : les cellules de l'épithélium luminal perdent leur polarité et s'aplatissent (Potts, 1968), le stroma œdématié subit un compactage important accompagné d'une augmentation de la vascularisation (Modi *et al.*, 2012). Les changements morphologiques observés au niveau de l'endomètre sont accompagnés par des changements importants dans le profil d'expression des gènes. En réponse à un signal embryonnaire - par exemple, l'EGF (epithelium growth factor) chez les souris (Wang and Dey, 2006) -, les cellules utérines régulent l'expression de plusieurs gènes, ce qui entraîne des modifications au niveau des facteurs de transcription, une altération de la distribution des glycanes et une redistribution des intégrines (Chen *et al.*, 2006; Wang and Dey, 2006; Rosario *et al.*, 2009; Nimbkar-Joshi *et al.*, 2012; Wetendorf *et al.*, 2017).

L'embryon communique avec l'endomètre en produisant :

- des **vésicules extracellulaires** (VE), présentes dans la plupart des cellules, sont composées d'une bicouche lipidique contenant des protéines transmembranaires et renfermant des protéines cytosoliques et de l'ARN (Tkach and Théry, 2016).

- des **micro-ARN** (miARN),. petites molécules d'ARN non codantes qui se lient à des ARNm cibles et régulent leur expression (Capalbo *et al.*, 2016), peuvent agir de manière intracellulaire ou peuvent être sécrétés dans des VE.

Les VE embryonnaires contiennent ainsi une grande variété de ARN ou miARN qui ont diverses cibles dans les cellules épithéliales ou stromales de l'endomètre (Capalbo *et al.*, 2016; Homer, Rice and Salomon, 2017; Kurian and Modi, 2019).

2.3. Processus d'implantation

L'implantation se déroule en trois étapes :

- l'apposition, où le trophoblaste devient étroitement apposé à l'épithélium luminal.
- la fixation (ou l'adhésion), où le trophoblaste et l'épithélium luminal ont un contact suffisant pour résister au délogement du blastocyste par rinçage de la lumière utérine.
- la pénétration, où l'embryon établit une relation vasculaire intime avec la mère en pénétrant dans le stroma à travers l'épithélium luminal et la lame basale .

Chez les rongeurs, lors de l'**apposition**, un œdème stromal généralisé entraîne une disparition totale de la lumière utérine, ce qui permet la mise en place d'interdigitations entre les microvillosités du trophoblaste embryonnaire et l'épithélium luminal. Cette fermeture de la lumière luminale se produit aussi bien dans les utérus gravides ou pseudo-gravides et ne nécessite ainsi donc pas la présence du blastocyste, mais la présence de progestérone est, quant à elle, indispensable (Wang and Dey 2006).

Chez la souris, le premier signe de la **fixation** se produit le soir du jour 4 post-ovulation et coïncide avec une augmentation localisée de la perméabilité vasculaire stromale au site d'attachement du blastocyste (Wang and Dey, 2006). Cette fixation ne peut se produire que si l'utérus, sous imprégnation progestéronique, est exposé à l'œstrogène.

Pour l'apposition et la fixation, la voie de signalisation initiée par HB-EGF (heparine binding epithelium growth factor), un facteur de croissance épithélial liant l'héparine, a été largement étudiée car HB-EGF est un marqueur moléculaire précoce de la diapasonie entre l'embryon et l'utérus (Das *et al.* 1994). En effet, des études moléculaires et génétiques ont montré que HB-EGF agit de manière paracrine et/ou juxtacrine sur les fonctions embryonnaires (Paria *et al.*, 1993; Raab *et al.*, 1996).

Enfin, lors de la **pénétration**, la différenciation des cellules stromales en cellules déciduales (**décidualisation**) est importante et conduit à la perte de l'épithélium luminal au site d'implantation du blastocyste. La réaction déciduale concerne les espèces à implantation invasive comme les rongeurs et les insectivores. Elle est caractérisée par une multiplication des fibroblastes du stroma et par la modification du phénotype cellulaire en phénotype épithélial. Ce changement passe par une hausse de la synthèse de phosphatase alcaline et de glycogène, liée à l'expression de nouvelles protéines (prolactine, IGF-BP-1 (insulin-like growth factor-binding protein 1), α -Actine). Dans la zone déciduale primaire, l'épithélium, qui doit être intègre, subit une apoptose et est phagocyté par les cellules trophoblastiques de la paroi du blastocyste, facilitant ainsi la pénétration épithéliale. L'estradiol agit en amont de la réaction déciduale au niveau de la multiplication cellulaire, tandis que la progestérone a une action sur la différenciation des cellules (Guillomot, 2001).

2.4. Immunomodulation

Pour assurer la survie du blastocyste implanté, la zone déciduale utérine modifie sa réponse immunitaire afin d'éviter des réactions immunologiques dirigées contre le conceptus. Ainsi, les cellules NK (Natural Killer), généralement de nature cytolytique, deviennent moins délétères et ne reconnaissent pas les antigènes paternels exprimés par les trophoblastes (Acar *et al.*, 2011). Par ailleurs, le nombre de lymphocytes T et B est également régulé par les cellules stromales déciduales. Ainsi, lors de décidualisation déficiente, un nombre plus élevé de lymphocytes T est observé et la gestation n'a pas lieu (Nancy *et al.*, 2012). Les cellules déciduales contrôlent aussi la polarisation des macrophages et la physiologie des cellules dendritiques (S. Liu *et al.*, 2017).

L'implantation embryonnaire est permise à la suite de la modification de l'environnement utérin (hormones, facteurs de croissance, cytokines) qui permet une fenêtre temporelle d'acceptation de l'embryon.

Chez la plupart des mammifères, l'implantation suit de quelques jours la fécondation et la migration du zygote dans le tractus génital féminin. Cependant, ceci n'est pas le cas chez le chevreuil, qui représente ainsi un modèle d'étude intéressant

B. Cas particulier du développement embryonnaire chez la chevrette (*Capreolus capreolus*)

La première description de la **diapause embryonnaire** a été objectivée dès le milieu des années 1800 par des chasseurs européens. Ces derniers remarquèrent, en effet, une durée de la gestation allongée de façon significative chez la chevrette *Capreolus capreolus* : alors que l'accouplement était observé en juillet-août, aucun embryon n'était observable dans le tractus génital des femelles avant les mois de décembre-janvier (Fenelon and Renfree, 2018). Des interrogations émergent alors avec l'émission de deux hypothèses : la période de rut de juillet-août serait une « fausse » période d'accouplement ou le développement embryonnaire serait retardé.

Ziegler (1843) et Bischoff (1854) écartèrent l'hypothèse d'une fécondation plus tardive en novembre, lorsque la période de rut est terminée. En effet, d'une part, aucun spermatozoïde n'a été observé dans les canaux déférents des chevreuils en novembre (Ziegler, 1843), et, d'autre part, l'embryon n'a présenté aucune modification pendant 4,5 mois (jusqu'à la mi-décembre) une fois le stade de blastocyste atteint (Bischoff 1854). Ainsi,

de nombreuses chevrettes étaient considérées à tort comme non gestantes par les chasseurs car aucun embryon visible à l'œil nu n'était distinguable.

C'est à la fin du 19^{ème} siècle que le phénomène de **quiescence** de l'embryon est élucidé : contrairement aux autres espèces alors domestiquées comme le mouton ou le cochon, où le stade blastocyste dure 4 à 5 jours, ce stade est étendu à 4-5 mois chez le chevreuil *Capreolus capreolus* (Sakurai T, 1906).

Il est intéressant de noter que le chevreuil reste le seul ongulé (mammifère pourvu de sabots) chez lequel la diapause embryonnaire a été confirmée, bien que certains suggèrent que le cerf du Père David (*Elaphurus davidianus*) présente également une période de diapause (Brinklow and Loudon, 1993; Renfree and Fenelon, 2017). De plus, il présente une diapause particulière par rapport aux autres espèces investiguées : Bernal-Ulloa *et al* ont en effet confirmé en 2020 que l'embryon de chevreuil subit un développement continu, mais largement ralenti, à la fois dans la MCI et le trophoblaste, avec environ 15 % des cellules en division avant la fixation à l'utérus (Bernal-Ulloa *et al.*, 2020).

***Capreolus capreolus* est le premier mammifère chez qui le processus de diapause a pu être mis en évidence au cours du 19^{ème} siècle.**

c. La diapause embryonnaire à l'échelle des espèces du monde vivant

À la suite de la confirmation de l'existence d'une diapause embryonnaire chez le chevreuil, la recherche s'est accélérée chez les mammifères et de nombreuses espèces ont été étudiées.

1. Accélération de la recherche

En **1873**, Herbst a décrit l'accouplement et la gestation chez le **blaireau européen** *Meles meles* (Herbst, 1873), mais l'observation des embryons et la détermination de la date d'implantation approximative ont été réalisées par Fries (Fries 1880).

En **1931**, Fisher a décrit le cycle de reproduction du blaireau en détail et a confirmé l'existence d'un stade embryonnaire sous la forme d'une vésicule non implantée durant 6 mois, suivi d'une période de développement actif durant 2 mois (Fischer, 1931). Hamlett a ensuite montré que le **blaireau américain** *Taxidea taxus* a une durée de quiescence embryonnaire similaire à celle du **tatou à neuf bandes** *Dasyus novemcinctus* (Hamlett,

1932a). Cependant, il faut attendre la fin des années 1950 jusqu'au début des années 1960 pour qu'une étude détaillée soit réalisée chez le blaireau par Canivenc et Bonni-Laffargue en France, ainsi que par Harrison en Angleterre (Canivenc 1960; Canivenc and Laffargue 1956; Canivenc, Relexans, and Bonni-Laffargue 1962; Harrison and Neal 1956). Ces auteurs ont montré l'inactivité du corps jaune pendant le délai d'implantation et, plus tard, le contrôle environnemental de la diapause chez cette espèce à la fois par la photopériode et par la température (Canivenc and Bonnin, 1979, 1981).

En **1888**, Lataste a décrit une gestation prolongée chez cinq espèces de rongeurs en lactation (gerbille et souris), mais sans une observation directe des embryons (Lataste, 1891). Deux chercheurs ont confirmé ses observations au début du 20^{ème} siècle sur la **souris** *Mus musculus* et le **rat** *Rattus norvegicus* (Daniel, 1910; King, 1913). En 1916, Kirkham a récupéré des blastocystes de souris en lactation et a confirmé, par une observation directe, l'existence d'une diapause chez cette espèce (Kirkham, 1916). Depuis ses découvertes, l'inhibition lactationnelle de l'implantation a été décrite chez beaucoup d'autres rongeurs. Elle est suspectée d'être présente chez la majorité des rongeurs.

Le **tatou à neuf bandes** a été la troisième espèce chez laquelle des données embryologiques ont permis de prouver la présence d'une diapause. En **1913**, Patterson a récupéré des embryons à partir d'utérus de femelles gestantes et a observé une période de quiescence d'environ 3 semaines avant l'implantation (Patterson, 1913).

Par la suite, Hamlett a établi une durée du stade blastocyste libre à 14 jours chez le tatou et chez le blaireau américain (Hamlett, 1929, 1932b). La diapause a ensuite été identifiée chez le **tatou d'Amérique** du Sud *Dasypus hybridus* (Hamlett, 1935a) et chez la **musaraigne** *Sorex araneus* (Brambell, 1935).

L'étude de la diapause embryonnaire chez les mustélidés, élevés pour leur fourrure, a permis de passer à une description plus fine et détaillée de la diapause avec, notamment, la mise en évidence du nombre de jours de quiescence chez la **martre américaine**, la **martre zibeline**, et le **vison** (Hamlett, 1935b; Pearson and Enders, 1944).

Dès **1940**, Bertram a suspecté une diapause chez les **phoques du Groenland** *Pagophilus groenlandicus*, les **phoques à capuchon** *Cystophora cristata*, le **phoque barbu** *Erignathus barbatus* et le **phoque de Weddell** *Leptonychotes weddellii* (Bertram, 1940), mais ce n'est qu'en **1951** que la diapause embryonnaire a été confirmée sur les **otaries à fourrure du nord**, *Callorhinus ursinus* (Pearson and Enders, 1951). Dans une étude s'étendant de **1949 à 1962** chez les **phoques communs et gris**, *Phoca vitulina* et *Halichoerus grypus*, Harrison a également démontré la présence d'une diapause embryonnaire chez ces espèces (Harrison, 1963).

En **1955**, la diapause embryonnaire a été confirmée chez les **marsupiaux macropodidés**, après avoir été suspectée dès les années 1900 (Carson, 1912). Depuis, les marsupiaux macropodidés semblent présenter un des taux d'incidence de la diapause les plus élevés de tous les mammifères avec seulement trois espèces qui en sont dépourvues.

En **1963**, Wimsatt a montré l'existence d'une diapause embryonnaire chez l'**ours noir** *Ursus americanus* en récupérant directement des embryons *in utero* (Wimsatt, 1963). La même année, il a été établi que le corps jaune du tatou, comme celui du blaireau, est inactif pendant la durée de la vie non liée de l'embryon (Canivenc and Bonnin-Laffargue, 1963).

Ensuite, la diapause embryonnaire a été décrite chez le **tamanoir géant** *Myrmecophaga tridactyla* (Knott *et al.*, 2013), chez une espèce de **taupe**, *Talpa altaica* (Baevskii, 1967; Judin, 1974), et chez trois espèces de la famille des **soricidés**, *Neomyx fodiens* (Michalak, 1983), *Sorex minutus* et *Sorex araneus* (Brambell, 1935; Vogel, 1981). L'espèce de carnivores la plus récente chez laquelle l'existence d'une diapause embryonnaire a été trouvée est le **panda géant**, *Ailuropoda melanoleuca*, en **2009** (Zhang *et al.*, 2009).

La recherche sur la diapause embryonnaire s'est faite de manière continue depuis la découverte de ce processus. Au cours du 20^{ème} siècle, la diapause a pu être constatée chez 130 espèces de mammifères, parfois peu apparentés. La dernière espèce carnivore chez qui la diapause à été mise en évidence est le panda, espèce actuellement en danger d'extinction.

Afin de résumer les connaissances acquises de manière indépendante et de donner de nouvelles perspectives sur ce sujet, des symposiums spécifiques à cette stratégie de reproduction ont été mis en place.

2. Historique des symposiums sur la diapause embryonnaire

Le **premier symposium**, organisé par le Professeur Alan C Enders et introduit par Carl Hartman, sur la diapause embryonnaire a eu lieu en 1963 à Rice University, Houston, Texas. Ce symposium a réuni des experts sur les marsupiaux, les ours, les mustélidés, les blaireaux, le phoque, le vison, le rat, le cobaye et le tatou. Il en résulte un volume scientifique intitulé « Delayed implantation », édité par AC Enders.

La technologie émergente de l'époque, en particulier les approches structurales comme la MET (microscopie électronique à transmission), a alors permis une meilleure compréhension des événements de la diapause embryonnaire et de la réactivation de l'embryon, notamment la fenêtre temporelle d'implantation chez les rongeurs, l'influence des facteurs endocriniens et environnementaux et les processus physiologiques contrôlant l'implantation. L'utilisation de la microscopie électronique à transmission a permis d'étudier les blastocystes de manière très précise et d'illustrer le déroulement de la diapause. A l'époque, l'origine des contrôles physiologiques de la diapause, à savoir une origine utérine

ou embryonnaire, étaient inconnus, et il s'agit, encore aujourd'hui, d'une question encore mal comprise.

En 1975, Wimsatt a résumé les connaissances de l'époque par :

« Des progrès suffisants ont été réalisés dans les études comparatives pour que nous reconnaissons que la régulation du retard d'implantation est une affaire très compliquée et sujette à des variations interspécifiques importantes. Le contrôle ultime est probablement dans tous les cas endocrinologiques [...] mais cela ne signifie pas que les mécanismes de réponse dans le blastocyste et l'utérus sont nécessairement similaires dans toutes les espèces, et en effet il est hautement probable qu'ils ne le soient pas. Il est également évident que les influences d'ordre environnementales telles que la disponibilité des ressources nutritionnelles, la lumière, la température et les précipitations ont des effets variables sur la régulation des schémas d'implantation retardées chez différentes espèces dans la nature. »(Wimsatt, 1975)

Il a fallu 17 ans pour que **le deuxième symposium** se tienne en février 1980 à Thredbo, Australie. Au cours de ce symposium, le terme de « diapause embryonnaire » a été adopté, comme l'avait suggéré Baevsky lors du symposium de 1963, remplaçant le terme de « l'implantation retardée », qui ne s'applique pas à toutes les espèces. Au cours de ce symposium, il y a eu des avancées importantes dans la compréhension du contrôle moléculaire de la diapause embryonnaire. Des progrès ont notamment été réalisés dans la compréhension de l'importance des sécrétions utérines, dans leurs identifications et dans leurs fonctions potentielles de contrôle de l'embryon (voir partie III) Le résumé de cette réunion a été publié en 1981 (Weir *et al.*, 1981).

Contrairement à toutes les espèces qui avaient été examinées jusqu'alors, l'administration *in vivo* d'hormones n'a pas réactivé le blastocyste du vison, de la mouffette, de l'otarie à fourrure ou du tatou (Enders, 1966; Daniel, 1981; Mead, 1981). De plus, le wallaby de l'île Eugène a été décrit comme le premier mammifère à présenter à la fois un contrôle lactationnel et saisonnier de la diapause (Berger, 1966). Parallèlement au wallaby de l'île Eugène, des études sur la mouffette ont fourni par la suite de nombreuses données expérimentales détaillées sur le contrôle endocrinien, photopériodique et lactationnel de la diapause (Mead, 1981; Tyndale-Biscoe, Tyndale-Biscoe and Renfree, 1987a). Ces études ont démontré l'importance du corps jaune et du contrôle hypothalamo-pituitaire. Elles ont commencé à étudier le rôle de la mélatonine dans la régulation de la diapause saisonnière (voir partie III).

Le **dernier symposium en date** s'est tenu en 2019 en Suisse à l'ETH de Zurich. Un certain nombre de présentations ont permis de donner un nouvel éclairage des connaissances sur des espèces comme le panda, l'hermine, le carcajou, le pékan et les chauves-souris frugivores. De nouvelles informations sur l'embryon au cours de la diapause ont été mis en avant, notamment sur les facteurs influençant l'entrée en diapause du blastocyste. L'une des conclusions est que le cycle cellulaire est progressivement arrêté à la phase G0 du cycle cellulaire dans les stades ultérieurs de la diapause (voir partie III). L'expression génétique responsable de la maintenance de l'embryon en diapause et l'origine de l'énergie apportée pour assurer sa survie ont été explorées. Elle consiste en une consommation par autophagie

de gouttelettes lipidiques stockées dans le cytoplasme des embryons (Lee *et al.*, 2011; Bulut-Karslioglu *et al.*, 2016; Bisogno *et al.*, 2020; Lim *et al.*, 2020).

Par ailleurs, l'échappement à la diapause de l'embryon a fait l'objet de découvertes pertinentes grâce aux outils d'analyses de transcriptomes chez la souris et le wallaby de l'île Eugène. En réalisant pour la première fois une analyse protéomique intégrale des blastocystes de souris, Fu *et al.* ont fourni une vue globale des processus moléculaires et cellulaires régulés de manière différentielle dans les blastocystes dormants par rapport aux blastocystes réactivés. En particulier, lors de la réactivation du blastocyste, ils ont révélé une activation des mitochondries (passant par la régulation de la signalisation calcique cellulaire entraînant des modifications au niveau des pores de transition de perméabilité mitochondriale) et du système endosome-lysosome, une consommation accrue du pyruvate (le plaçant en première source d'énergie de la réactivation) et une augmentation de la biosynthèse de nucléotides engagés dans la synthèse d'ADN et d'AMPc. Les activités glycolytiques aérobies ont été significativement augmentées dans les blastocystes lors de la réactivation pour l'implantation (Fu *et al.*, 2014). Martin *et al.* ont mis en avant, en réalisant une analyse protéomique de flush utérin chez le wallaby de l'île Eugène, une communication entre l'utérus et le blastocyste par les voies autocrine, paracrine et apocrine. P21, protéine inhibitrice des CDK (cyclin-dépendant kinase), pourrait être responsable de l'inhibition du cycle cellulaire dans l'épithélium utérin, empêchant ainsi la synthèse de facteurs de croissance. Une fois la diapause terminée, de nombreux facteurs de croissance, y compris HBGF et EGFR (epidermal growth factor receptor), pourraient jouer un rôle dans la réactivation du blastocyste en diapause (Martin *et al.*, 2016).

Enfin, des informations sur la biologie cellulaire au niveau de l'utérus dans les mécanismes permettant à l'embryon activé de franchir l'épithélium utérin ont été décrits. Des gènes cibles régulateurs de la diapause et de la réactivation ont été mis en évidence, notamment le gène MSX (Cha *et al.*, 2020). Dans ce mécanisme, les acteurs suspectés de jouer un rôle sont :

- les facteurs LIF (Leukemia inhibitory factor), essentiels pour l'implantation chez la souris et absents au cours de la diapause (chez le vison, le wallaby et la souris)
- une classe de polycations, appelés polyamines, responsables, par leur absence, de l'induction de la diapause chez la souris et de la maintenance de la diapause chez l'embryon de vison *in vitro*
- les facteurs de croissance EGF et HBEGF essentiels à la réactivation de l'embryon.

Depuis la mise en évidence du processus de diapause embryonnaire, trois symposiums sur le sujet ont eu lieu en 1963, 1980 et 2019. La mise en commun des conclusions et théories des chercheurs ont permis l'avancée de la recherche dans ce domaine très spécifique. Le défi actuel consiste à expliciter les facteurs moléculaire et cellulaire responsables de l'entrée, du maintien et de la réactivation de l'embryon au cours de la diapause.

3. La diapause : mécanisme issu d'un seul évènement évolutif ou produit d'une évolution convergente ?

La diapause embryonnaire a été identifiée chez plus de 130 espèces de mammifères (Tableau I). Les mécanismes et les processus externes agissant sur l'environnement utérin pendant cette période diffèrent considérablement d'une espèce à l'autre. Cependant, de nombreux contrôles moléculaires communs de la diapause embryonnaire semblent avoir été conservés. Pour autant, les mécanismes précis par lesquels l'utérus exerce son influence sur l'embryon ne sont pas encore clairement compris.

Tableau I : Liste des mammifères présentant une diapause embryonnaire (d'après Fenelon, Banerjee, and Murphy 2014)

DIAPAUSE OBLIGATOIRE			
Ordre	Famille	Nom commun	Espèces
EUTHERIA			
Artiodactyla	Cervidae	Chevreuil	<i>Capreolus capreolus</i>
Carnivora	Mephitidae	Mouffette à capuchon	<i>Mephitis macroura</i>
		Mouffette rayée	<i>Mephitis mephitis</i>
		Mouffette tachetée de l'Ouest	<i>Spilogale gracilis</i>
	Mustélidae	Blaireau à gorge blanche	<i>Arctonyx collaris</i>
		Mouffette à nez de porc	<i>Conepatus mesoleucus</i>
		Loutre de mer	<i>Enhydra lutris</i>
		Carcajou	<i>Gulo gulo</i>
		Loutre du Canada	<i>Lontra canadensis</i>
		Loutre à longue queue	<i>Lontra longicaudis</i>
		Martre à gorge jaune	<i>Martes flavigula</i>
		Fouine	<i>Martes foina</i>
		Martre de l'Inde du Sud	<i>Martes gwatkinsii</i>
		Martre commune	<i>Martes martes</i>
		Martre du Japon	<i>Martes melampus</i>
		Pékan	<i>Martes pennanti</i>
		Zibeline	<i>Martes zibellina</i>
		Blaireau européen	<i>Meles meles</i>
		Ratel	<i>Mellivora capensis</i>
		Hermine	<i>Mustela erminea</i>
		Belette à longue queue	<i>Mustela frenata</i>
		Vison d'Europe	<i>Mustela lutreola</i>
		Vison d'Amérique	<i>Neovison vison</i>
		Blaireau d'Amérique	<i>Taxidea taxus</i>
		Putois marbré	<i>Vormela peregusna</i>
	Odobenidae	Morse	<i>Odobenus rosmarus</i>
	Otariidae	Otarie à fourrure de Nouvelle-Zélande	<i>weddell forsteri</i>
		Otarie à fourrure antarctique	<i>Arctocephalus gazella</i>
		Otarie à fourrure d'Afrique du Sud	<i>Arctocephalus pusillus</i>
		Otarie à fourrure sub-antarctique	<i>Arctocephalus tropicalis</i>
		Otarie à fourrure du Nord	<i>Callorhinus ursinus</i>
		Lion de mer de Steller	<i>Eumetopias jubatus</i>
		Lion de mer australien	<i>Neophoca cinerea</i>
		Otarie de Californie	<i>Zalophus californianus</i>
	Phocidae	Phoque à capuchon	<i>Cystophora cristata</i>
		Phoque barbu	<i>Erignathus barbatus</i>
		Phoque gris	<i>Halichoerus grypus</i>
		Phoque de Weddell	<i>Leptonychotes weddellii</i>
		Phoque crabier	<i>Lobodon carcinophagus</i>
		Éléphant de mer du Nord	<i>Mirounga angustirostris</i>
		Éléphant de mer du Sud	<i>Mirounga leonina</i>
		Phoque de Ross	<i>Ommatophoca rossii</i>
		Phoque du Groenland	<i>Pagophilus groenlandicus</i>
		Phoque rubané	<i>Phoca fasciata</i>
		Phoque annelé	<i>Phoca hispida</i>
		Phoque tacheté	<i>Phoca largha</i>
		Phoque de Sibérie	<i>Phoca sibirica</i>
	Phoque commun	<i>Phoca vitulina</i>	

	Ursidae	Panda géant	<i>Ailuropoda melanoleuca</i>
		Ours à lunettes	<i>Tremarctos ornatus</i>
		Ours noir	<i>Ursus americanus</i>
		Ours brun	<i>Ursus arctos</i>
		Ours malais	<i>Ursus malayanus</i>
		Ours polaire	<i>Ursus maritanus</i>
		Ours noir d'Asie	<i>Ursus thibetanus</i>
		Ours lippu	<i>Ursus ursinus</i>
Chiroptera	Miniopteridae	Minioptère australasien	<i>Miniopterus australis</i>
		Minioptère de Schreibers	<i>Miniopterus schreibersii</i>
	Pteropidae	Roussette paillée africaine	<i>Eidolon helvum</i>
Cingulata	Dasypodidae	Tatou hybride	<i>Dasyus hybridus</i>
		Tatou à neuf bandes	<i>Dasyus novemcinctus</i>
Eulipotyphla	Talpidae	Taupe de Sibérie	<i>Talpa altaica</i>
Pilosa	Myrmecophagidae	Tamanoir géant	<i>Myrmecophaga tridactyla</i>
DIAPAUSE FACULTATIVE			
Ordre	Famille	Nom commun	Espèces
EUTHERIA			
Eulipotyphla	Soricidae	Musaraigne d'eau	<i>Neomys fodiens</i>
		Musaraigne commune	<i>Sorex araneus</i>
		Musaraigne pygmée	<i>Sorex minutus</i>
Rodentia	Cricetidae	Campagnol roux d'Oregon	<i>Arborimus longicaudus</i>
		Souris des champs	<i>Calomys laucha</i>
		Lemming à collerette	<i>Dicrostonyx groenlandicus</i>
		Campagnol agreste	<i>Microtus agrestis</i>
		Campagnol roussâtre	<i>Myodes glareolus</i>
		Souris sauterelle	<i>Onychomys leucogaster</i>
		Souris de coton	<i>Peromyscus gossypinus</i>
		Souris à pattes blanches	<i>Peromyscus leucopus</i>
		Souris sylvestre	<i>Peromyscus maniculatus</i>
		Souris des pignons	<i>Peromyscus truei</i>
		Hamster de Campbell	<i>Phodopus campbelli</i>
		Hamster russe	<i>Phodopus sungorus</i>
		Souris brune de Chiriqui	<i>Scotinomys xerampelinus</i>
	Muridae	Petite gerbille à queue courte	<i>Gerbillus simoni</i>
		Rat d'eau australien	<i>Hydromys chrysogaster</i>
		Rat du Natal	<i>Mastomys natalensis</i>
		Gerbille de Mongolie	<i>Meriones unguiculatus</i>
		Souris grise	<i>Mus musculus</i>
		Souris sauteuse spinifex	<i>Notomys alexis</i>
		Souris sauteuse fauve	<i>Notomys cervinus</i>
		Souris d'Hermannsburg	<i>Pseudomys hermannsburgensis</i>
		Souris de Nouvelle-Hollande	<i>Pseudomys novaehollandiae</i>
		Rat de brousse	<i>Rattus fuscipes</i>
		Rat brun	<i>Rattus norvegicus</i>
		Gerbille d'Inde	<i>Tatera indica</i>
MARSUPIALIA			
Dasyuomorpha	Dasyuridae	Antéchine brune	<i>Antechinus stuartii</i>
Diprotodontia	Acrobatidae	Acrobate pygmée	<i>Acrobates pygmaeus</i>
		Phalanger à queue plumeuse	<i>Distoechurus pennatus</i>
	Burramyidae	Opossum pygmée du sud de l'Australie	<i>Cercartetus concinnus</i>
		Phalanger pygmée à queue zébrée	<i>Cercartetus lepidus</i>
		Phalanger pygmée	<i>Cercartetus nanus</i>
	Macropodidae	Lièvre-wallaby rayé	<i>Lagostrophus fasciatus</i>

	Lièvre-wallaby roux	<i>Lagorchestes hirsutus</i>
	Wallaby agile	<i>Macropus agilis</i>
	Wallaby à raie noire	<i>Macropus dorsalis</i>
	Wallaby de l'île Eugène	<i>Macropus eugenii</i>
	Kangourou géant	<i>Macropus giganteus</i>
	Wallaby d'Irma	<i>Macropus irma</i>
	Wallaby de Parma	<i>Macropus parma</i>
	Wallaby de Parry	<i>Macropus parryi</i>
	Wallaroo	<i>Macropus robustus</i>
	Wallaby à cou rouge	<i>Macropus rufogriseus</i>
	Kangourou roux	<i>Macropus rufus</i>
	Onychogale bridé	<i>Onychogalea fraenata</i>
	Petrogale allié	<i>Petrogale assimilis</i>
	Petrogale des rochers	<i>Petrogale concinna</i>
	Pétrogale d'Australie occidentale	<i>Petrogale lateralis</i>
	Wallaby des rochers à queue en brosse	<i>Petrogale penicillata</i>
	Pétrogale proserpine	<i>Petrogale persephone</i>
	Pétrogale à col pourpre	<i>Petrogale purpureicollis</i>
	Pétrogale à pied jaune	<i>Petrogale xanthopus</i>
	Quokka	<i>Setonix brachyurus</i>
	Pademelon à ventre rouge	<i>Thylogale billardierii</i>
	Pademelon à cou rouge	<i>Thylogale thetis</i>
	Wallaby bicolore	<i>Wallabia bicolor</i>
Potoroidae	Rat-kangourou rougeâtre	<i>Aepyprymnus rufescens</i>
	Bettongie de Tasmanie	<i>Bettongia gaimardi</i>
	Bettongie de Lesueur	<i>Bettongia lesueur</i>
	Bettongie à queue touffue	<i>Betoongia penicillata</i>
	Bettongie du Nord	<i>Bettongia tropica</i>
	Potoroo de Gilbert	<i>Potorous gibertii</i>
	Potoroo à long nez	<i>Potorous tridactylus</i>
Tarsipedidae	Souris à miel	<i>Tarsipes rostratus</i>

3.1. Hypothèse d'une évolution convergente de la diapause

Au sujet de l'évolution de la diapause embryonnaire, deux points de vue divergents peuvent être considérés. Le premier est que la diapause est le résultat d'une convergence évolutive, c'est-à-dire le résultat de mécanismes évolutifs ayant conduit des espèces à adopter ce trait sous la pression des conditions environnementales mais sans l'avoir hérité d'un ancêtre commun.

Sandell a théorisé que la diapause a évolué indépendamment plusieurs fois, que ce soit dans ses manifestations obligatoires ou facultatives (Sandell, 1990). Cette conclusion repose principalement sur l'absence de diapause chez des espèces congénères telles que l'hermine (*Mustela ermina*) et la belette à longue queue (*Mustela frenata*), toutes deux des espèces avec une diapause, et la belette pygmée (*Mustela nivalis*), une espèce qui ne présente pas de diapause. Un exemple classique est la mouffette tachetée, où l'espèce occidentale (*Spilogale gracilis*) affiche une diapause obligatoire et son homologue oriental (*Spilogale putorius*) ne le fait pas (Mead, 1993). Sandell (1990) a suggéré que la diapause a

évolué indépendamment au moins 17 fois chez les mammifères, postulant ainsi une origine polyphylétique de ce trait.

Un deuxième argument en faveur de l'évolution convergente de la diapause embryonnaire est qu'elle se retrouve chez une grande variété d'espèces, comme les tatous, au moins une taupe, trois espèces de chauves-souris et un ongulé, ainsi que le chevreuil. Or, ces espèces ont une grande divergence de placentation, d'embryogenèse post-implantation et d'autres stratégies reproductives.

Chez les espèces modèles, la diversité des mécanismes de régulation plaide, en outre, pour une évolution indépendante de la diapause. La prolactine peut maintenir la diapause (marsupiaux), mettre fin à la diapause (mustélidés) ou bien n'avoir aucun effet (rongeurs). Les ovaires sont essentiels à l'implantation chez l'espèce modèle, mais, fait remarquable, chez le tatou à neuf bandes (*Dasyus novemcinctus*), l'implantation de blastocystes en diapause est induite par une ovariectomie, survenant 18-29 jours après l'ablation des ovaires en l'absence de traitement hormonal exogène (Buchanan, Enders and Talmage, 1956). Cette grande diversité dans les mécanismes reproductifs plaide pour une évolution convergente.

3.2. Hypothèse d'un seul évènement évolutif pour la diapause

Une opinion contraire est pourtant défendue : la diapause n'aurait évolué que quelques fois, voire une seule fois, et les mécanismes de contrôle ont évolué si cela présentait un avantage pour l'espèce concernée.

La diapause facultative plaide pour cette possibilité étant donné que l'embryon peut entrer ou non en diapause en fonction du stress métabolique de sa mère. Dans le contexte de la diapause obligatoire, cette opinion peut être soutenue dans la mesure où des embryons de furet, espèce ne réalisant pas la diapause, se sont arrêtés au stade blastocyste lorsqu'ils ont été transplantés dans un utérus de vison (Chang, 1968). De plus, un retard d'implantation a pu être induit chez des furettes par manipulation hormonale du milieu ovarien (Foresman and Mead, 1978).

En se basant sur l'hypothèse que la diapause embryonnaire est un phénomène conservé au cours de l'évolution, Ptak *et al.* (2012), ont transféré des blastocystes de moutons domestiques (*Ovis aries*), espèce ne présentant pas de diapause, dans des utérus de souris dans lesquels des conditions de diapause avaient été induites. Les embryons d'ovin sont entrés en diapause comme semble le suggérer la récupération d'embryons non élongés 7 jours après par lavage utérin. Les embryons d'ovin ont ensuite repris leur développement *in vitro*, et ont poursuivi leur croissance jusqu'au terme une fois réimplantés dans des utérus de brebis réceptives. Ces expériences indiquent que les embryons d'espèces sans diapause peuvent survivre à l'état de blastocystes pendant une période prolongée et être réactivés selon un schéma similaire à celui observé à la fin d'une implantation retardée chez la souris. Cependant, il se peut qu'il ne s'agisse pas d'une véritable diapause mais simplement d'un

manque de nutriments et de facteurs de croissance pour subir une expansion. En effet, un faible nombre de blastocystes, parmi ceux transférés, ont pu reprendre leur croissance (180/856 soit 21 %). D'autres expériences seraient nécessaires pour explorer cette possibilité (Ptak *et al.*, 2012).

Au cours du symposium en 2019, Fenelon *et al.* ont suggéré que le contrôle de la diapause est régulé par les composants des sécrétions utérines, avec une conservation de nombreux facteurs moléculaires chez les trois mammifères les mieux étudiés, à savoir le vison, le wallaby de l'île Eugène et la souris. Étant donné que ces mécanismes sont conservés à travers différents taxons, cette observation plaide pour un mécanisme universel servant à maintenir la santé de l'embryon chez tous les mammifères (Fenelon *et al.*, 2020).

Les recherches actuelles sont plus en faveur d'une hypothèse d'évolution unique ayant permis d'acquérir la capacité de développer une diapause embryonnaire, qui serait désactivée chez les espèces sans diapause, comme les Humains.

4. La diapause : une stratégie reproductive améliorant le succès reproducteur des individus

Fries (1880), en se basant sur le chevreuil (*Capreolus capreolus*), le blaireau européen (*Meles meles*) et des chauves-souris, a supposé que le moment de l'accouplement est déterminé par l'état nutritionnel de l'animal, et donc est fixé à une période spécifique de l'année. Cependant, si l'accouplement a lieu à la fin de l'été ou à l'automne, la survie des jeunes devient presque impossible. L'allongement du délai entre l'accouplement et la parturition, provoqué soit par un retard d'implantation, comme chez le chevreuil et le blaireau, soit par un retard de fécondation comme dans de nombreuses espèces de chauves-souris, permettrait la naissance des jeunes dans de bonnes conditions environnementales et assurerait leur survie (S. Fries, 1880).

Cinquante ans plus tard, Prell a développé un modèle pour expliquer le phénomène de « temps de gestation réduit » (Prell, 1930). Il a proposé que pour survivre au premier hiver, les jeunes animaux doivent avoir un maximum de temps disponible pour la croissance et le développement, afin de se préparer à l'hivernage. La parturition au début de la saison favorable nécessiterait que l'accouplement se produise encore plus tôt. Or ce moment coïnciderait avec des températures basses qui pourraient être préjudiciables à la production de sperme et au rapprochement des individus de sexe opposé. Ainsi, seuls les animaux capables de déplacer la saison des accouplements seraient favorisés. Cependant, Prell a soutenu que cette caractéristique n'était, à l'heure actuelle, plus d'aucune utilité mais avait plutôt été acquise au cours de périodes géologiques antérieures. Hamlett, dans son examen de la vingtaine d'espèces connues dans les années 1930 présentant une diapause, a

également conclu que le développement embryonnaire retardé était un « caractère inutile » sans aucune valeur adaptative (Hamlett 1935b).

De nombreux auteurs (Lack, 1954; Conaway, 1971; Aitken, 1977) ont souligné que les animaux vivants dans un climat avec des saisons distinctes mènent toutes leurs activités de reproduction pendant la saison favorable, qui peut être très courte. La diapause est à ce moment-là perçue comme une adaptation qui permet à l'accouplement et à la parturition de se produire à des moments optimaux de l'année. Les animaux sont dans leur état de santé et de force optimaux pour l'accouplement, et les naissances se produisent de telle sorte que la croissance des jeunes coïncide avec le pic de disponibilité des ressources. Cette explication rejoint presque 100 ans plus tard l'hypothèse de Fries.

Sandell a proposé en 1990 que l'espacement de la parturition et de l'accouplement chez les espèces à implantation retardée permettent aux femelles d'avoir une plus grande latitude dans le choix de leur partenaire sexuel. Ainsi, avoir des manifestations d'œstrus lorsque les ressources sont les plus abondantes permettrait d'avoir des mâles en meilleure santé, qui se déplacent sur les zones de rut et qui développent de la compétition entre eux. Il a ensuite appliqué son hypothèse aux carnivores, pinnipèdes et chauve-souris connus pour réaliser la diapause (Sandell, 1990). Ainsi, chez les carnivores, la diapause est plus fréquente dans les environnements de latitude plus élevée ayant une plus grande saisonnalité. L'accouplement à la fin de l'été augmenterait le potentiel de sélection du partenaire, en particulier pour les espèces à faible densité de population (Thom, Johnson and Macdonald, 2004).

Lindenfors *et al.* (2003) ont souligné chez les espèces de mustélidés à courte durée de vie et celles qui produisent plusieurs portées par an, que retarder tout aspect de la reproduction ne leur apporte aucun avantage évolutif, et peut même être préjudiciable. Comme les espèces de petite taille corporelle sont concernées par les éléments mentionnés, ils ont émis l'hypothèse que les espèces dépourvues de diapause sont plus petites que leur espèces sœurs qui ont un retard d'implantation (Lindenfors *et al.*, 2003). Pourtant Ferguson *et al.* (2006) n'ont trouvé aucune relation entre la taille corporelle et la présence ou l'absence de diapause chez les mustélidés, mais suggèrent que la diapause est associée à l'adaptation de mustélidés à la saisonnalité dans les hautes latitudes. En effet, la séparation temporelle de l'accouplement et la parturition n'est pas nécessaire à l'équateur, où les variations environnementales sont minimales, mais apportent de réels avantages aux latitudes plus élevées. Cette hypothèse a été confirmée par un certain nombre d'études qui soulignent que la fréquence de la diapause est positivement corrélée à l'éloignement de l'équateur (Thom, Johnson and Macdonald, 2004; H. Ferguson, W. Higdson and Larivière, 2006). Ferguson *et al.* (2006) ont également apporté la preuve que les mustélidés vivant à des latitudes élevées se caractérisent par des domaines vitaux individuels plus étendus, une faible densité de population et une diapause embryonnaire. Cette dernière caractéristique permet l'accouplement pendant la saison optimale et offre aux femelles une meilleure opportunité de choisir leurs partenaires, malgré leur rareté en haute altitude, rejoignant l'hypothèse formulé par Sandell en 1990.

Par ailleurs, Thom *et al.* (2004) ont exploré certaines corrélations entre la diapause et la longévité (durée de vie) des Mustélidés. Ils ont constaté à quelques exceptions près que la longévité est positivement associée à la présence de diapause (Thom *et al.*, 2004). Cette conclusion est en accord avec l'hypothèse de Lindenfors *et al.* (2003) qui stipulait que les retards imposés par la diapause pouvaient interdire son apparition dans des espèces, puisque le nombre d'événements reproducteurs au cours de la vie est le facteur le plus crucial pour la survie d'une espèce.

De nos jours, il est considéré que la diapause embryonnaire est une stratégie de reproduction qui permettrait à la femelle de produire un nombre maximal de descendants au cours d'une saison donnée, d'avoir un choix de partenaires sexuels plus important et/ou de synchroniser la parturition avec des conditions environnementales favorables à la survie de la progéniture (Deng *et al.*, 2018).

La diapause serait plus fréquente chez les espèces à grande longévité (chez lesquelles le retard de développement influe peu sur le nombre de portées au cours de la vie) et vivant aux hautes latitudes, régions plus marquées par la saisonnalité.

II- Description des modalités de la diapause embryonnaire

Le début de la diapause embryonnaire dépend souvent des cycles photopériodiques, de la lactation et de l'état nutritionnel de la mère.

Les différents types de diapauses embryonnaires décrits sont (Mead 1933 ; Renfree and Shaw 2000) :

- la *diapause obligatoire*, c'est-à-dire retrouvée systématiquement à chaque gestation. Cela concerne, par exemple, les Carnivores (Carnivora).

- la *diapause facultative* concerne les espèces chez qui la diapause embryonnaire est provoquée par des conditions extérieures, comme la lactation d'une portée ou un stress métabolique. Quand les conditions extérieures redeviennent favorables, l'implantation est permise. Elle est retrouvée chez les Insectivores (Insectivora).

- la *diapause mixte*, qui est une combinaison des diapauses obligatoire et facultative. Elle concerne certains Marsupiaux (Marsupialia).

Le tableau II reprend les caractéristiques de la diapause embryonnaire chez différentes espèces.

Tableau II : Description de la diapause embryonnaire obligatoire et facultative chez certaines espèces de mammifères

Diapause embryonnaire			
Etat du blastocyste	Obligatoire	Facultatif	Etat du corps jaune
Absence de croissance, blastocyste unilaminaire avec zone pellucide	Wallaby de l'île Eugène Wallaby de Bennet	Kangourou et wallabies	Quiescent
Absence de croissance, blastocyste unilaminaire sans zone pellucide		Souris de laboratoire Rat de laboratoire	Actif
Croissance modérée, blastocyste unilaminaire avec zone pellucide	Mustélidés Ours Phoque Honey possum Feathertail Gilder Opposum pigmé		Quiescent
Croissance modérée, blastocyste unilaminaire sans zone pellucide	Chevreuil		Actif

A. La diapause obligatoire chez les carnivores (Carnivora)

Le phénomène de diapause embryonnaire de type obligatoire est très représenté chez les Carnivores avec de nombreux exemples dans les familles des Ursidae, Mephitidae, Mustelidae, Otariidae et Phocidae. (Fenelon, Banerjee and Murphy, 2014). Elle a été reconnue chez plus de 60 espèces de trois familles de l'ordre des carnivores (Fenelon *et al.*, 2020).

1. L'embryon en diapause chez les carnivores

L'implantation retardée chez les mammifères, lorsqu'elle est présente, se produit toujours au stade du **blastocyste** (Renfree and Shaw, 2000; Lopes *et al.*, 2004) bien que les embryons peuvent déjà être au stade de blastocyste éclos, comme chez le chevreuil (Aitken, 1974), ou encore de blastocyste dans les tuniques embryonnaires, comme chez les mustélidés (Enders *et al.*, 1986; Lopes *et al.*, 2004).



Figure 4 : Embryon de vison en diapause au stade 350 cellules.

La masse cellulaire interne est délimitée par le cercle en pointillé blanc.

La flèche blanche désigne le trophoblaste tandis que la flèche jaune montre la capsule glycoprotéique.



Figure 5 : Blastocyste de mouffette

Il mesure 1,5 mm au stade précoce de la réactivation. Il est morphologiquement indistinguable d'un blastocyste en diapause.

La masse cellulaire interne est la structure noire au sein de l'embryon (Renfree and Shaw, 2000). Barre d'échelle 0.2mm

Les blastocystes des carnivores réalisant la diapause présentent des similarités morphologiques remarquables. Ils sont constitués d'une seule couche de cellules trophoblastiques pavimenteuses qui forment une sphère creuse autour d'un noyau de cellules sphériques connu sous le nom de **masse cellulaire interne**. Cette organisation est retrouvée habituellement chez les euthériens (Mead, 1989; Murphy and Fenelon, 2020). Les disparités observées entre les blastocystes de carnivores sont avant tout des variations du nombre de cellules et du diamètre de l'embryon. Chez le vison d'Amérique (*Neovison vison*), le blastocyste en diapause mesure approximativement 0.23 mm de diamètre et peut contenir jusqu'à 500 cellules (Figure 4) (Fenelon and Murphy, 2019). Chez la mouffette tachetée (*Spilogale putorius*), les blastocystes sont plus gros, variant de 0.7 à 1.1 mm de diamètre, et sont composés d'un nombre similaire de cellules (Figure 5) (Enders *et al.*, 1986). On peut retrouver plus de 700 cellules chez le carcajou (*Gulo gulo*) (Wright and Rausch, 1955).

Les blastocystes en diapause sont encapsulés dans une enveloppe glycoprotéique, mesurant de 5 à 6 μm d'épaisseur chez la mouffette tacheté (Mead, 1989). Dans la plupart des espèces, ce revêtement est appelé la **zone pellucide**, mais l'évaluation ultra-structurale du blastocyste de mouffette a montré que cette capsule est multicouche, suggérant un investissement de glucides pendant le trajet de l'embryon à travers l'oviducte et l'utérus (Enders and Mead, 1996).

Bien que le développement embryonnaire ne progresse pas pendant la diapause, des augmentations progressives du diamètre des blastocystes durant la diapause ont été documentées chez de nombreuses espèces de mustélidés (*Mustela ermina*, *Martes zibellina*, *Neovison vison*, *Spilogale putorius*, *Taxidea taxus* et *Meles meles*) (Enders et al., 1986; Mead, 1989; Desmarais et al., 2004) et de non mustélidés, comme l'ours noir (Wimsatt, 1963) et plusieurs espèces de phoques (Daniel, 1971). Lorsque l'activité mitotique est présente dans l'embryon, c'est la région du trophoblaste qui est concernée (Mead, 1989).

Diverses sources de données indiquent que les blastocystes des carnivores sont métaboliquement actifs pendant la diapause. La consommation d'oxygène des blastocystes à implantation retardée de l'ours noir (*Ursus thibetanus*), de l'otarie à fourrure du Nord (*Callorhinus ursinus*) et du vison (*Neovison vison*) a été aussi élevée que celle des blastocystes de lapin « activés » (Gulyas and Daniel, 1967).

Quelques jours avant l'implantation, de nombreux changements cytologiques et métaboliques peuvent être détectés au sein des blastocystes, qui connaissent alors un regain de développement (Mead, 1989). Après activation, l'embryon de vison se développe rapidement, avec une prolifération importante à la fois dans le trophoblaste et dans la masse cellulaire interne au moment de l'implantation (Desmarais et al., 2004). Une expansion rapide, une prolifération cellulaire et des modifications morphologiques du trophoblaste et de la masse cellulaire interne caractérisent de façon similaire l'activation chez la mouffette tachetée (Enders et al., 1986). La masse cellulaire interne perd son aspect sphérique et forme le **disque embryonnaire** et une nouvelle couche germinale (endoderme) se différencie. Une augmentation spectaculaire de l'activité endocytaire est aussi observée dans les cellules du trophoblaste (Enders and Mead, 1996). Ces changements cytologiques dans les blastocystes de la mouffette sont extrêmement bien corrélés avec l'augmentation marquée de la synthèse de l'ARN et des protéines observée dans les blastocystes préimplantatoires activés (Rourke and Mead, 1982; Mead and Rourke, 1985). Chez les autres espèces, les connaissances sont moindres, mais l'expansion rapide des embryons caractérise l'activation chez l'ours noir (*Ursus thibetanus*) (Murphy and Fenelon, 2020) et l'otarie à fourrure du Nord (*Callorhinus ursinus*) (Daniel, 1971).

<p>Chez les carnivores, le blastocyste quiescent est encapsulé, composé de 500 à 700 cellules. Il n'y a pas de division cellulaire mais une augmentation du diamètre du blastocyste au cours de la diapause. Il est métaboliquement actif malgré l'arrêt de son expansion.</p>

2. Diapause chez les pinnipèdes (*Pinnipedia*)

La diapause embryonnaire intervient chez presque toutes les espèces de trois familles de mammifères aquatiques : les Phocidae (phoques sans oreilles), les Otariidae (phoques à oreilles) et les Odobenidae (morses) - même si cela reste à démontrer chez certaines espèces comme le léopard de mer (*Hydrurga leptonyx*) et le Lion phoque du nord et de Nouvelle Zélande (*Neophoca hookeri*) (Mead, 1989; Fenelon *et al.*, 2014).

La période de gestation totale dure de 10 à 12 mois, en général, exception faite du morse dont la durée de gestation est de 15 à 16 mois. La diapause dure entre **2 et 4 mois**. Les espèces dont la gestation dure 10 mois ont une diapause de 2 mois et celles dont la gestation dure 12 mois ont une diapause de 4 mois, ce qui donne un temps de développement entre l'implantation et la parturition d'environ 8 mois pour tous les pinnipèdes (Sandell, 1990).

L'espèce la mieux documentée est l'**otarie à fourrure du nord** (*Callorhinus ursinus*), le premier article étant paru en 1946 (Enders *et al.*, 1946). Les femelles se reproduisent dans la semaine suivant la parturition, au milieu de l'été. Le blastocystes qui en résultent entrent dans une diapause qui persiste jusqu'au début de novembre (Shero *et al.*, 2018). Ce modèle est cohérent avec la plupart des Phocidae et Otariidae, où l'accouplement a lieu peu de temps après la parturition estivale et où l'embryon voit son développement arrêté avant de s'implanter 2 à 5 mois plus tard au moment de l'année où la photopériode est décroissante (Murphy and Fenelon, 2020).

Chez de nombreux pinnipèdes, la diapause embryonnaire commence pendant que la femelle allaite. La réactivation de l'embryon n'intervient pas avant mi-novembre et ce, après que le jeune de la précédente portée soit sevré. Alors que la diapause a été désignée comme obligatoire chez les pinnipèdes, la coïncidence variable de l'implantation avec la fin de la lactation peut indiquer que des influences facultatives sous la forme d'un stress métabolique modulent sa longueur (Murphy and Fenelon, 2020). Michelle Shero est en train de produire un papier sur le phoque de Weddell dont la phénologie reproductive remettrait en question l'existence du phénomène de diapause chez cette espèce (Van de Putte, 2017).

La diapause semble obligatoire chez le **morse du Pacifique** (*Odobenus rosmarus*) et a été étudiée principalement chez des spécimens chassés et collectés. Les animaux se rassemblent et se reproduisent sur les aires d'alimentation hivernales et se reproduisent pendant les mois de janvier et février (Fay, 1982).

La fin de la diapause chez l'**otarie à fourrure du nord** coïncide avec une période où les femelles sont en mauvaise condition relative. Au cours de cette période critique, l'état général de la femelle déterminera sa capacité à continuer sa gestation (Shero *et al.*, 2018).

3. Diapause chez les Ursidés (Ursidae)

Les ours existants comprennent huit espèces, avec le panda géant monotypique (*Ailuropoda melanoleuca*) et l'ours à lunettes (*Tremarctos ornatus*) et six espèces de la sous-famille Ursinae, l'ours polaire (*Ursus maritimus*), l'ours brun (*Ursus arctos*), l'ours noir (*Ursus americanus*), l'ours noir d'Asie (*Ursus thibetanus*), l'ours paresseux (*Ursus ursinis*) et l'ours malais (*Ursus malayanus*). Il est difficile d'obtenir chez ces espèces des modèles expérimentaux facilement traitables. Malgré le manque d'informations, toutes ces espèces sont reconnues comme présentant une diapause (Fenelon *et al.*, 2017).

Chez l'**ours noir**, après un accouplement au printemps ou en été, la diapause embryonnaire dure entre 2 et 5 mois. L'implantation de l'embryon se déroule ainsi en novembre ou décembre et est suivie par une période de gestation de 60 jours. Les animaux entrent en hibernation à la fin de l'automne (Palmer *et al.*, 1988; Clamon Schulz *et al.*, 2003).

Chez l'**ours brun**, la gestation observée dure 6 à 8 mois du fait de l'existence d'une période de diapause embryonnaire (Spady, Lindburg and Durrant, 2007). La gestation effective dure environ 56 jours (Friebe *et al.*, 2014). La diapause induit une implantation synchrone des embryons, ce qui permet de synchroniser le développement des oursons d'une même portée, bien qu'ils aient pu être conçus par des pères différents à des dates différentes (Lemiere, 2021).

Chez l'**ours polaire**, l'accouplement se déroule en avril-mai sur la mer recouverte de glace. Comme chez l'ours brun, les femelles gestantes réalisent une diapause embryonnaire qui se termine au moment de l'implantation en octobre-novembre. Si chez l'ours brun, tous les individus hibernent, chez l'ours polaire ce sont uniquement les femelles gestantes qui hibernent, les individus non gravides restant actifs tout l'hiver (Palmer *et al.* 1988).

Dans des conditions naturelles, l'**ours à lunettes** se reproduit durant l'été dans l'hémisphère sud, à savoir en décembre et janvier, et les naissances ont lieu en hiver (juin à octobre) (Appleton *et al.*, 2018). L'hibernation ne se produit pas chez cette espèce, ce qui indique que cet aspect du cycle annuel n'est pas essentiel à la fin de la diapause (Murphy and Fenelon, 2020).

La reconnaissance mondiale de la mise en danger du **panda géant** a déclenché des études sur ses fonctions reproductrices. Leur rareté a empêché une vaste collecte de tissus ou des enquêtes invasives, et une grande partie des informations disponibles est basée sur l'échantillonnage d'urine, de matières fécales et d'analyses échographiques. Comme pour les autres espèces d'ours, les pandas s'accouplent au printemps de l'année (Murphy and Fenelon, 2020). La durée de gestation du panda géant étant variable (de 97 à 161 jours), la présence d'une diapause embryonnaire a été suspectée, puis mise en évidence par échographie et mesure des stéroïdes urinaires (Zhang *et al.*, 2009) dans une étude réalisée sur treize individus au centre chinois de conservation et de recherche sur le panda géant.

4. Diapause chez les mustélidés (*Mustelidae*)

La diapause obligatoire est une caractéristique de la gestation chez la majorité des espèces existantes de mustélidés et chez au moins deux espèces de Méphidés. La famille Mustélidés contient 59 espèces existantes, dont le tiers est connu pour réaliser une diapause. Le deuxième tiers ne présente pas de délai d'implantation et un manque d'information ne permet pas de catégoriser le dernier tiers (Amstislavsky, 2009).

Les membres de ces espèces sont souvent solitaires et dispersés, et ne sont pas les modèles les plus propices à l'investigation. Néanmoins, de nombreuses informations ont été acquises sur deux espèces sauvages, la **mouffette tachetée de l'ouest** (*Spilogale gracilis*) et le **blaireau d'Europe** (*Meles meles*) (Mead, 1989; Jane C. Fenelon *et al.*, 2017). Le **vison d'Amérique** (*Neovison vison*) a été élevé en ferme pendant plus d'un siècle pour sa fourrure, et par conséquent, cette espèce a été un modèle facilement disponible pour l'investigation (Fenelon *et al.*, 2017). Bien qu'il existe certaines similitudes dans les stratégies de reproduction employées parmi ces espèces, chacune affiche des spécificités distinctes. Mead (Mead, 1989) a catalogué les espèces de mustélidés où la diapause a été confirmée, avec les dates de parturition, de reproduction et la durée de la diapause. Cette liste classe les mustélidés en espèces à **diapause longue** ou **courte**.

La **mouffette tachetée de l'Ouest** présente un schéma classique de reproduction chez les mustélidés : la reproduction se déroule en automne et les blastocystes, formés après environ six jours dans l'oviducte, migrent vers l'utérus où ils restent 180 à 200 jours sans s'implanter. Les embryons s'implantent en avril et les petits naissent en mai (Mead, 1968). Cette condition a été décrite par Mead comme un long délai (Mead, 1989).

Les **visons d'Amérique** (*Neovison vison*), femelles de l'hémisphère nord, restent en anœstrus jusqu'en décembre avec une reprise d'activité ovarienne culminante en mars (Fenelon *et al.*, 2017). Les visons s'accouplent aux alentours de fin février, jusqu'à la fin mars, après quoi le blastocyste entre en diapause pendant environ 3 semaines (Figure 6)(Murphy and James, 1974), délai défini comme court par Mead (Mead, 1989). À la suite de celle-ci, l'embryon s'implante et la gestation post-implantation dure 30 jours (Murphy and James, 1974).

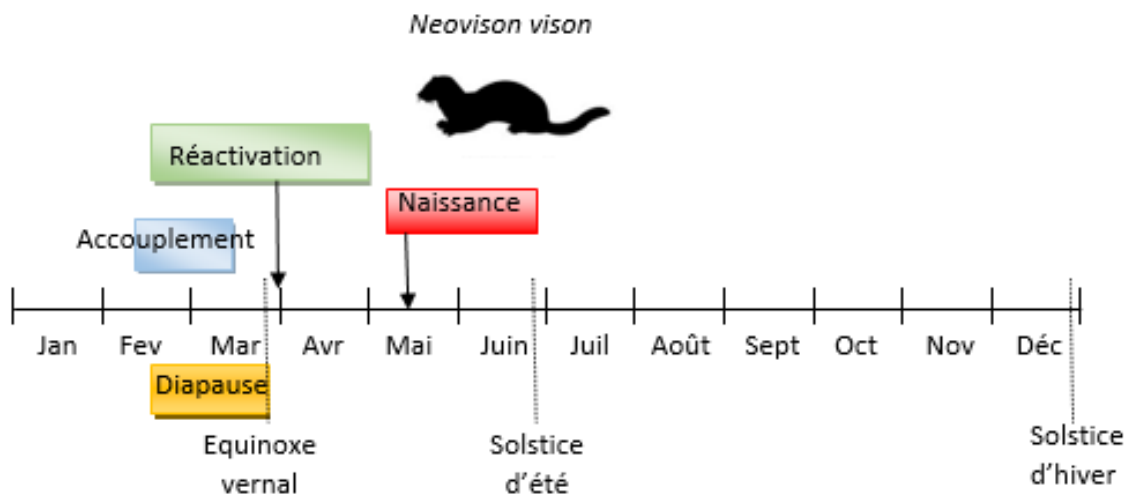


Figure 6 : Schéma illustrant la diapause obligatoire chez le vison (*Neovison vison*) en hémisphère Nord (Renfree and Fenelon, 2017)

Chez le **blaireau d'Europe** (*Meles meles*), l'ovulation et la fécondation peuvent survenir quelques jours après la parturition, de janvier à mars. L'implantation de l'embryon n'a pas lieu avant l'hiver (décembre à janvier). En conséquence, la période de gestation post-implantation du blaireau, connue pour durer de 40 à 49 jours, est prolongée drastiquement à presque 11 mois (Yamaguchi et al, 2006). Récemment, Yamaguchi (Yamaguchi et al, 2006) a démontré que l'accouplement et la fécondation qui en résulte peuvent se produire pendant presque tous les mois de l'année et que la diapause sert à synchroniser les implantations Afin que les naissances soient coordonnées sur une période de l'année.

Le **carcajou** (*Gulo gulo*) a une période de gestation de 9 mois. La saison des accouplements à lieu en mai-juin. Cette espèce fait partie du groupe espèce à diapause longue décrite par Mead (Mead, 1989).

Mead (Mead, 1989) a identifié la **mouffette rayée** (*Mephitis mephitis*) comme la deuxième espèce de mustélinés à diapause courte. Seul un nombre limité d'études est disponible car cet animal n'est pas une espèce expérimentale idéale en raison de sa nature aromatique. Néanmoins, Wade-Smith et Richmond (Wade-Smith and Richmond, 1978) ont rapporté que la durée de la gestation variait de 59 à 77 jours et que des blastocystes étaient présents dans l'utérus jusqu'à 19 jours après l'accouplement. Une enquête ultérieure a révélé une influence saisonnière distincte sur le moment de l'implantation et de la gestation : les femelles s'accouplant tôt (fin février) ont affiché des intervalles sensiblement plus longs entre l'accouplement et la parturition que les animaux accouplés au cours du mois de mars.

Chez l'**hermine** (*Mustela hermina*), les femelles nouveau-nées entrent en œstrus au cours du premier mois de leur vie, c'est-à-dire en mai-juin dans l'hémisphère Nord, et peuvent

rester en œstrus tout l'été jusqu'à ce qu'elles soient fécondées par un mâle adulte. Lorsqu'elles sont accouplées, ces femelles ovulent 3-4 jours plus tard. Les embryons arrivent dans l'utérus 11-12 jours après le coït, se développent lentement et persistent sous forme de blastocystes en diapause jusqu'à l'implantation **8-9 mois** plus tard (Amstislavsky *et al*, 2020).

B. La diapause facultative chez les rodentiens (Rodentia) et chez les insectivores (Insectivora)

La diapause facultative concerne uniquement les espèces qui ont un œstrus *post-partum* quelques heures après la parturition et dont le retard d'implantation de l'embryon est induit, le plus souvent, par le stress métabolique généré par la lactation. Cette forme de diapause embryonnaire est connue pour intervenir dans deux ordres de mammifères : les Rodentiens (Rodentia) et les Insectivores (Insectivora)(Mead, 1993).

1. La diapause chez les rodentiens (Rodentia)

L'ordre des Rodentiens (Rodentia), ou rongeurs, est un **ordre de mammifères placentaires** caractérisés par une paire unique d'**incisives** à croissance continue sur chacune de leurs mâchoires. .

La famille des muridés (Muridae) est la plus connue dans cet ordre et comprend les souris, les campagnols, les mulots et de nombreux rats.

Les modèles de diapause les mieux étudiés dans le monde vivant sont ceux de la souris et du rat, où il n'y a pas de diapause obligatoire, mais une **diapause facultative** causée, dans sa forme la plus courante, par un stress métabolique de lactation. Selon J.C. Fenelon (Fenelon, *et al*, 2014), 25 espèces de rongeurs sont reconnues pour réaliser une diapause embryonnaire.

1.1. La diapause chez la souris

Les **souris** (*Mus musculus*) présentent un polyœstrus toute l'année. Environ 20 à 40 % des femelles sont gestantes quel que soit l'époque de l'année. Le cycle œstral a une périodicité variant de 3 à 9 jours. L'ovulation est toujours spontanée et se déroule le plus souvent entre minuit et 3h du matin. Les taux les plus élevés de conception sont enregistrés dans l'hémisphère nord pendant les mois d'été. Les taux les moins élevés concernent les mois d'octobre à janvier. La période de gestation chez la souris albinos varie entre 18 à 20 jours ;

la parturition est suivie directement par un œstrus *post-partum*. Si la fécondation a lieu chez une souris en lactation, l'implantation du blastocyste est retardée d'à peu près 21 heures par le jeune qui se nourrit aux mamelles. La moyenne de gestation est alors de 29 jours pour une portée moyenne de 6.9 jeunes (Rowlands and Weir, 1984).

L'embryon éclos de sa zone pellucide avant de rentrer en diapause. Au moment de l'éclosion, il est composé d'un nombre modeste de cellules, entre 30 à 40 cellules, mais ce nombre augmente à 130 en 72 heures et il est maintenu au cours de la diapause (Fenelon *et al.*, 2014). Les embryons qui en résultent entrent dans l'utérus au stade morula le troisième jour après l'accouplement (jour 1 = bouchon vaginal) et sont devenus des blastocystes au jour 4, composés de 35 à 40 cellules (Harper 1982). La réalisation opportune de cet état de développement nécessite une sécrétion adéquate de progestérone par le corps jaune (Zhang et Murphy, 2013). Si un stress métabolique est présent, l'embryon entre alors en diapause. Au cours des 72 heures suivantes, il émerge de la zone pellucide lysée et continue sa prolifération jusqu'à environ 130 cellules, et ce complément de cellules persiste pendant la diapause (McLaren, 1968).

Pendant la diapause, le métabolisme des blastocystes est qualifié de « dormant ». Les blastocystes se développent lentement sans trop de prolifération mitotique (Cha *et al.*, 2020).

En utilisant des marqueurs du processus d'autophagie sur des embryons de souris en dormance, Lee *et al.* (Lee *et al.*, 2011) ont récemment montré que les besoins énergétiques des blastocystes seraient satisfaits par autophagie. Ces auteurs montrent que la dissolution d'un petit nombre de cellules par autophagie permet le recyclage des nutriments cellulaires vitaux dans les cellules de l'embryon.

Pendant la diapause, les blastocystes sont régulièrement espacés et situés dans des cryptes utérines formées par la fermeture luminale de l'utérus. L'apposition des embryons se produit également avec le pôle embryonnaire aligné avec l'épithélium anti-mésométrial, mais les événements ultérieurs d'implantation ne se produisent pas (Psychoyos, 1973 ; Nilsson, 1974).

Chez la souris, la réactivation du blastocyste est associée à une hausse de l'activité métabolique et de la croissance des trophoblastes (Renfree and Shaw, 2000). Aussi, un modèle de diapause embryonnaire facultative peut être créé par une ovariectomie peu après la fécondation, suivie d'un traitement à la progestérone chez la souris *Mus musculus* (Paria *et al.*, 2002).

1.2. La diapause chez le rat

Chez le rat, la durée du délai de diapause est proportionnelle au nombre de jeunes dans la portée allaitante (McLaren, 1968). Dans la nature, les rats s'accouplent tout au long de l'année avec une période d'activité maximale pendant en mars et avril. Les femelles les

plus lourdes produisent les portées les plus nombreuses et elles ont un taux de fertilité plus important que les rattes moins lourdes. Le nombre moyen d'embryons dans une portée est directement lié au poids du corps moins le poids de l'utérus. La gestation chez les rattes dure 20 à 22 jours.

1.3. La diapause chez la gerbille

Chez la gerbille de Mongolie (*Meriones unguiculatus*), les blastocystes entrent en diapause s'ils sont conçus après la parturition et s'implantent après le sevrage de la portée (Clutter, 1978).

2. La diapause chez les insectivores (*Insectivora*)

Les Insectivores (*Insectivora*) forment un ordre de mammifères placentaires réunis sur la base de leur régime alimentaire occasionnellement insectivore. Il regroupe notamment la famille des Soricidés (*Soricidae*) et des Talpidés (*Talpidae*).

2.1. La diapause chez les musaraignes

La musaraigne appartient à la famille des Soricidés (*Soricidae*). Elle est difficile à élever en captivité. La majeure partie des informations que nous avons sur ces espèces sont obtenues à partir d'études sur des animaux dans leur milieu naturel. Chez la musaraigne commune européenne (*Sorex araneus*), la saison de reproduction débute au printemps et est plus longue chez les musaraignes au sud de l'aire de répartition de l'espèce. Au cours de la saison de reproduction, la fertilité est maintenue par l'apparition d'une ovulation et d'une fécondation *post-partum*. Cette stratégie reproductive devient de moins en moins présente au fur et à mesure de l'avancée de la saison jusqu'à se confondre avec l'anœstrus hivernal. La gestation et la lactation durent entre 20 et 21 jours. Si l'accouplement se déroule pendant la lactation, une diapause embryonnaire peut avoir lieu (Rowlands and Weir, 1984). Les musaraignes d'eau (*Neomys fodiens*) sont présentes en Angleterre. Leur saison de reproduction est courte (de mi-avril à septembre) mais permet la naissance de deux portées ou plus. La gestation dure environ 24 jours et peut être étendue par diapause en cas de lactation simultanée (Rowlands and Weir, 1984).

2.2. La diapause chez la taupe

La taupe appartient à la famille des Talpidés (Talpidae). À ce jour, une seule espèce de Talpidae est reconnue pour avoir une diapause embryonnaire facultative, *Talpa altaica*, la taupe de Sibérie. Ces taupes se reproduisent en été, pendant ou après la lactation, et leur gestation dure de 9 à 10 mois. Les blastocystes évoluent dans l'utérus sans s'implanter jusqu'au printemps suivant. Les femelles se reproduisent pendant l'année de leur naissance, tandis que les jeunes mâles n'atteignent pas leur maturité sexuelle avant l'année suivante (Rowlands and Weir, 1984).

C. La diapause mixte chez les marsupiaux (Marsupiala)

Chez les marsupiaux, la diapause embryonnaire est une stratégie de reproduction courante, en particulier chez les Macropodidae, où il n'y a que trois exceptions connues chez lesquelles elle est absente : le kangourou gris occidental (*Macropus fuliginosus*), le kangourou rat musqué (*Hypsiprymnodon moschatus*) et le kangourou arboricole de Lumholtz (*Dendrolagus lumholtzi*) (Tyndale-Biscoe, 2005).

La diapause chez les marsupiaux Macropodidae peut être **obligatoire et/ou facultative**. Le schéma prédominant est celui lié au stimulus de succion. Le contrôle de la diapause embryonnaire chez les marsupiaux a été mieux étudié chez le wallaby de l'île Eugène (*Macropus eugenii*), qui, contrairement à la souris et au vison, est monovulaire et subit à la fois des formes facultatives et obligatoires de diapause embryonnaire (Renfree and Shaw, 2000).

1. Le blastocyste des marsupiaux

Le blastocyste de wallaby se forme après 6 jours et, contrairement aux espèces euthériennes, est une structure uni-laminaire d'environ 80 cellules, sans masse cellulaire interne, et sans signe de disque embryonnaire apparaissant jusqu'au jour 9 environ après la réactivation (Renfree, 1994). Semblable aux carnivores, le blastocyste du wallaby reste enfermé dans sa zone pellucide pendant la diapause, mais il existe également deux couches supplémentaires, une couche de mucine et une enveloppe extérieure, toutes deux déposées lors du passage dans l'appareil reproducteur (Fenelon *et al.*, 2014). Chez le wallaby, comme chez le chevreuil, il n'y a pas de changement de taille du *corpus luteum* pendant l'année entière de la diapause (Clutter, 1978).

Pendant la diapause, le blastocyste unique reste flottant librement dans l'utérus sans mitose ou croissance cellulaire observable, mais il maintient un métabolisme de base et de

faibles niveaux de synthèse d'ARN et de protéines. Le diamètre de l'enveloppe embryonnaire varie de 0.25 mm à 0.33 mm (Smith, 1981). Les blastocystes en diapause sont toujours associés à des corps jaune quiescents (Renfree, 1994). Les blastocystes de diapause saisonnière de *Macropus eugenii* sont semblables à ceux retrouvés au cours de la diapause facultative induite par la lactation (Smith, 1981). La réactivation du blastocyste à partir de la diapause se caractérise par une reprise du cycle cellulaire et une augmentation du métabolisme.

Contrastant avec celui des Macropodidae, les blastocystes des Acrobatidae et des Tarsipedidae sont très grands (1-2 mm) et sont constitués de 2000 cellules. Ils connaissent une période de croissance lente (d'à peu près 30 jours) accompagnée par une croissance du corps jaune (Renfree, 1994).

2. Diapause chez les macropodidés (*Macropodidae*)

Cette famille de Marsupiaux est composée de 56 espèces distribuées à travers l'Australie et la Nouvelle-Guinée. Toutes les espèces étudiées sont mono-ovulatoires et présentent des cycles poly-œstriens avec des périodes d'œstrus variant de 22 à 46 jours. Par rapport aux autres marsupiaux, les périodes de gestation (21-38 jours) et le temps de développement du jeune dans la poche sont plus longs (4-10 mois). Ces espèces présentent une ovulation et un œstrus *péri-partum*.

La lactation inhibe le développement du nouveau corps jaune formé et les changements lutéaux ne sont pas induits dans l'utérus. Si la fécondation se déroule en *post-partum*, l'embryon entre en diapause. Chez *Macropus rufus*, si les conditions environnementales sont favorables, la reproduction est continue et toutes les femelles adultes allaitent un jeune sur une mamelle pendant qu'un jeune en développement dans la poche est attaché à une autre mamelle et qu'un blastocyste en diapause est présent dans l'utérus (Tyndale-Biscoe, 1984).

En plus de l'inhibition du blastocyste et du corps jaune par la lactation, et dans au moins deux espèces, le wallaby de l'île Eugène *Macropus eugenii* et le wallaby de Bennett *Macropus rufogriseus*, le blastocyste et le corps jaune quiescent persistent plusieurs mois après le sevrage (Sharman and Berger, 1969) puis se réactivent et reprennent un développement normal après le solstice d'été (Tyndale-Biscoe and Renfree 1987). La diapause facultative chez le wallaby se produit après l'accouplement à l'œstrus *post-partum* et est induite par le stimulus de succion du jeune nouveau-né dans la poche (Fenelon, Banerjee and Murphy, 2014).

L'espèce la plus documentée est le wallaby de l'île Eugène, *Macropus eugenii* (Figure 7). La période des naissances a lieu à la fin de janvier dans l'hémisphère sud avec un seul petit par portée. Le jeune achève son développement dans la poche ventrale pour émerger vers la

fin septembre. L'accouplement a lieu après la parturition. Si le jeune qui se développe dans la poche meurt avant le mois de mai, l'embryon en diapause dans l'utérus de sa mère se réactivera. Le jeune résultant de cet embryon naîtra environ 27 jours plus tard. Si toutefois le premier jeune est perdu après le mois de mai, l'embryon restera dans une diapause obligatoire saisonnière jusqu'à la fin décembre (après le solstice d'été). Ainsi, l'embryon de wallaby peut rester en diapause jusqu'à onze mois sans perte de viabilité (Fenelon *et al.* 2014 ; Renfree and Shaw 2000).

La sous-espèce tasmanienne *Macropus rufogriseus* (mais pas les sous-espèces australiennes) se reproduit selon le même motif saisonnier et donne naissance au jeune au même moment de l'année que *Macropus eugenii*. De plus, les jeunes femelles sevrées en octobre de ces deux espèces peuvent connaître leur premier œstrus à cette période, mais elles entrent en période de quiescence saisonnière comme les adultes jusqu'au solstice d'hiver (Merchant and Calaby 1981).

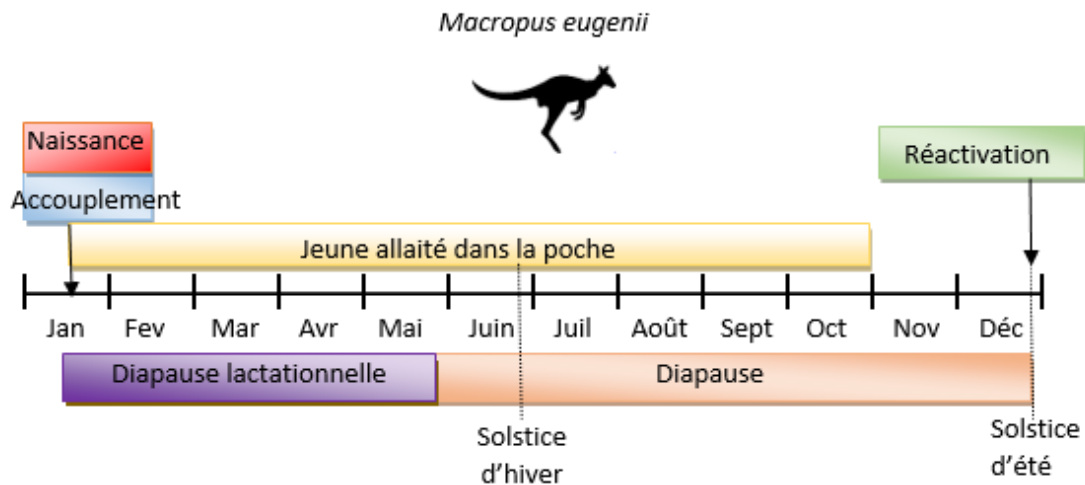


Figure 7 : Schéma illustrant la diapause mixte chez le Wallaby de l'île Eugène (*Macropus eugenii*) réparti en hémisphère sud (d'après Renfree and Fenelon, 2017)

Un nombre important de mammifères répartis dans de nombreux ordres utilisent la diapause comme stratégie de reproduction. La diversité des modalités de diapause décrite au cours de cette partie laisse supposer que le contrôle de la régulation de ce mécanisme est varié. Les observations faites sur les Macropodidae mettent en évidence que la quiescence saisonnière n'est pas juste une prolongation de la quiescence induite par lactation, mais qu'elle est mise en place par d'autres facteurs. La photopériode est responsable de ce contrôle (Sadleir and Tyndale-Biscoe, 1977).

III- Régulation de la diapause embryonnaire chez les mammifères

L'apparition, le maintien et la sortie de la diapause sont régulés par des cascades de mécanismes environnementaux, hypophysaires, ovariens et utérins qui varient selon les espèces et selon s'il s'agit de diapauses obligatoire ou facultative.

Chez les rongeurs, où le modèle est le mieux connu, l'environnement utérin maintient l'embryon en diapause, tandis que les œstrogènes, en combinaison avec des facteurs de croissance, réinitialisent le développement.

L'arrêt mitotique chez l'embryon de mammifère se produit à la phase G0 ou G1 du cycle cellulaire, et peut être dû à l'expression d'un inhibiteur spécifique du cycle cellulaire.

La survie des blastocystes quiescents est assurée par la consommation de gouttelettes lipidiques cytoplasmiques catabolisées par autophagie.

Tableau III : Ensemble des facteurs de régulation (maitrisés ou supposés) de l'entrée en diapause, du maintien en diapause et de la réactivation de l'embryon

Facteurs régulateurs	Entrée en diapause	Maintien de la diapause	Réactivation du blastocystes
Photopériode	Raccourcissement des jours (Mustélidés) (Mead, 1993)		Allongement des jours (Mustélidés) (Mead, 1993)
	Allongement des jours (Marsupiaux, Pinnipèdes) (McConnell <i>et al.</i> , 1986, Atkinson, 1997)		Raccourcissement des jours (Marsupiaux, Pinnipèdes) (McConnell <i>et al.</i> , 1986, Atkinson, 1997)
Prolactine	Augmentation des taux (souris, Marsupiaux) (Thibault <i>et al.</i> , 1998)		Diminution des taux (souris, Marsupiaux) (Hearn <i>et al.</i> , 1998)
	Diminution des taux (Carnivores) (Murphy <i>et al.</i> , 1990)		Augmentation des taux (Carnivores) (Murphy <i>et al.</i> , 1990)
Hormone stéroïdes	Baisse des œstrogènes, augmentation de la progestérone (souris) (McLaren, 1968)		Pic d'œstrogène dans un utérus imprégné de progestérone (souris) (McLaren, 1968)
			Augmentation de la progestérone (Mustélidés) (Mead, 1993)
			Pic d'œstrogène (Pinnipèdes) (Boyd, 1991a, Daniel, 1981, Gales <i>et al.</i> , 1997)
			Augmentation de la progestérone et de l'œstradiol (wallaby hors période de diapause saisonnière) (Thibault <i>et al.</i> , 1998)

Facteurs régulateurs	Entrée en diapause	Maintien de la diapause	Réactivation du blastocystes
Facteurs de croissance		FOXO régulé à la hausse dans l'embryon (souris, wallaby, vison) (Hamatani <i>et al.</i> , 2004)	EGF - HBEGF régulés à la hausse (wallaby, souris) (Das <i>et al.</i> , 1994) VEGF régulé à la hausse (vison, souris) (Lopes <i>et al.</i> , 2003, 2006) ERBB4 régulé à la hausse dans l'embryon et l'utérus lors de la réactivation (souris) (Paria <i>et al.</i> , 1993,1999)
Interleukines		LIF régulé à la baisse (Souris, Mustélidés) (Bhatt <i>et al.</i> , 1991, Rosario <i>et al.</i> , 2014)	LIF expression augmentée dans l'endométrium au moment de la réactivation (souris, mustélidés, wallaby) (Passavant <i>et al.</i> , 2000)
Facteurs de transcription	Inhibition de MYC, ou de mTOR (Souris) (Bulut-Karslioglu <i>et al.</i> , 2016)	Expression de Msx1 Msx2 influe sur NFkB (wallaby, souris, vison) (Cha <i>et al.</i> , 2020) Activation de la voie d'inhibition du cycle cellulaire CDKN1A (wallaby) (Lopes <i>et al.</i> , 2004, Martin <i>et al.</i> , 2016)	Baisse de l'expression de Msx utérin (wallaby, souris, vison) (Cha <i>et al.</i> , 2020) WNT signaling molecules of the wntless family = Wnt5a (souris) (Daikoku <i>et al.</i> , 2011)
Autres molécules		miARN (souris) diminuent l'expression des gènes (hypothèse de Liu <i>et al.</i> , 2012)	Libération de PAF dans le milieu utérin (souris et marsupiaux) (Fenelon <i>et al.</i> , 2014) Synthèse de polyamines (Vison) (Lefèvre <i>et al.</i> , 2011 , Fenelon <i>et al.</i> , 2016) Régulation à la baisse du Cannabinoïde anandamide (Wang <i>et al.</i> , 2003)
Source d'énergie		Consommation d'énergie par le blastocyste sous forme de gouttelettes lipidiques (Arena <i>et al.</i> , 2021)	Consommation d'énergie par le blastocyste sous forme de pyruvate puis de glucose (Fu <i>et al.</i> , 2014)

A. Régulation de la diapause par des facteurs externes

En région tempérée, les ressources du milieu varient avec les saisons. Les mammifères ont souvent développé des stratégies de reproduction liées aux saisons, donc à la disponibilité des ressources. Chez les vivipares, le développement de l'embryon est contrôlé par l'organisme maternel. Le signal de synchronisation le plus courant entre œstrus et capacité des mâles à se reproduire est la photopériode.

1. Influence du moment de l'implantation embryonnaire par la photopériode

Il a été reconnu très tôt que la photopériode jouait un rôle important dans la fin de la diapause et l'induction consécutive de l'implantation (Pearson and Enders, 1944).

1.1. Rôle de la glande pinéale dans la régulation de la réactivation embryonnaire

Chez l'homme et d'autres mammifères, la **mélatonine** est produite principalement par la glande pinéale. La biosynthèse de la mélatonine est contrôlée par la photopériode. Avec les changements de la photopériode, la mélatonine est impliquée dans la régulation du développement embryonnaire. Les changements artificiels ou naturels de la luminosité au cours de la journée sont perçus par les yeux, jouant le rôle de photorécepteurs primaires. Le message lumineux est traduit en impulsion électrique qui se diffuse le long du nerf optique jusqu'au noyau suprachiasmatique (SCN) dans l'hypothalamus. Ce signal est transmis à la glande pinéale par le ganglion supérieur cervical sous forme de mélatonine qui à son tour agit sur la sécrétion de prolactine hypophysaire. La prolactine régule à son tour la sécrétion d'hormones ovariennes qui vont moduler la diapause (Figure 8).

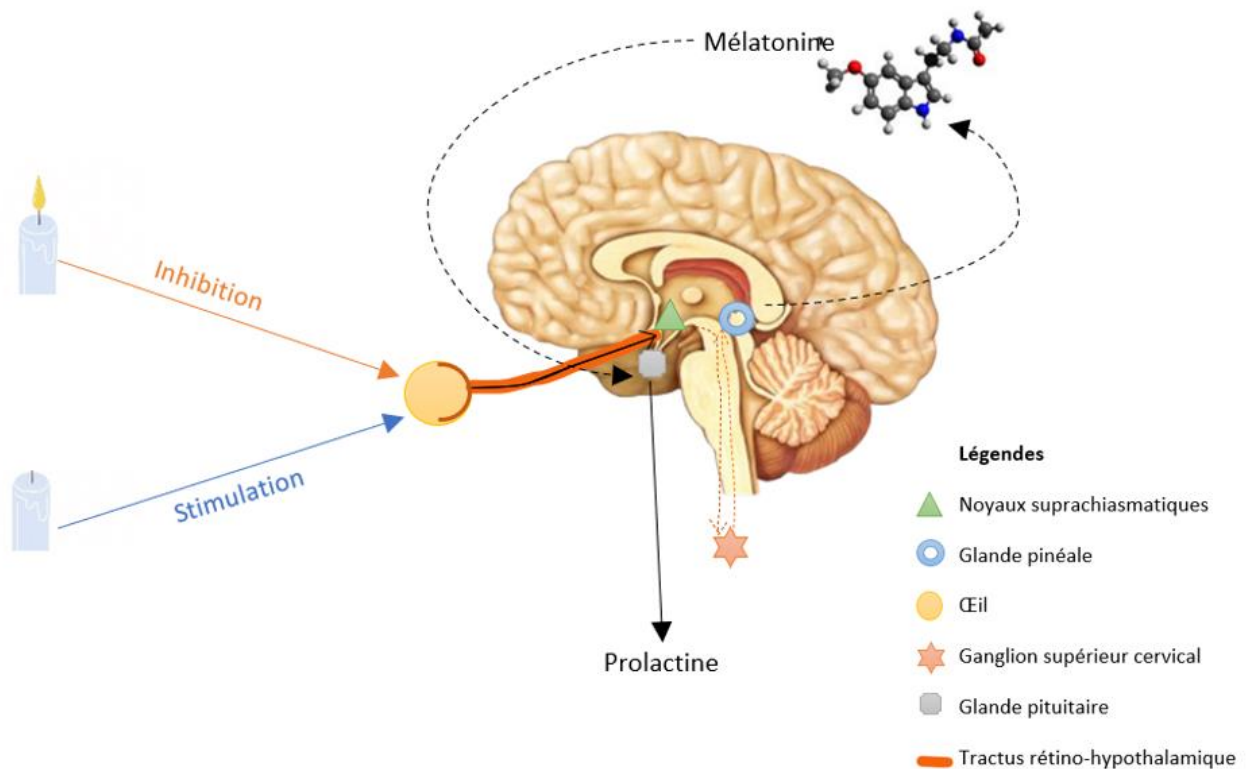


Figure 8 : Physiologie de la sécrétion de mélatonine et de prolactine (source personnelle).

La mélatonine est produite dans la glande pinéale. La production et la sécrétion de mélatonine sont largement médiées par des fibres nerveuses rétiniennes post-ganglionnaires qui passent par le tractus rétino-hypothalamique jusqu'au noyau supra-chiasmatique, puis au ganglion cervical supérieur et enfin à la glande pinéale. Ce système neuronal est activé par l'obscurité et supprimé par la lumière. L'activation des récepteurs α_1 - et β_1 -adrénergiques dans la glande pinéale augmente les concentrations d'AMP cyclique et de calcium et active l'arylalkylamine N-acétyltransférase, initiant la synthèse et la libération de mélatonine. Le rythme quotidien de la sécrétion de mélatonine est également contrôlé par un stimulateur endogène libre situé dans le noyau supra-chiasmatique (Brzezinski, 1997)

Chez le vison, la dénervation de la glande pinéale a entraîné une perte du contrôle photopériodique de la sécrétion de mélatonine et a conduit à l'arrêt de la diapause embryonnaire (Murphy and James, 1974). Un traitement chronique de mélatonine, libéré via un implant posé après l'accouplement, met en évidence une influence majeure de la mélatonine sur le déroulement de la gestation. Ce traitement empêche la fin de la diapause et l'implantation de l'embryon. La mélatonine interfère ainsi sur la production de prolactine et de progestérone attendu avant l'implantation (Murphy *et al.*, 1990).

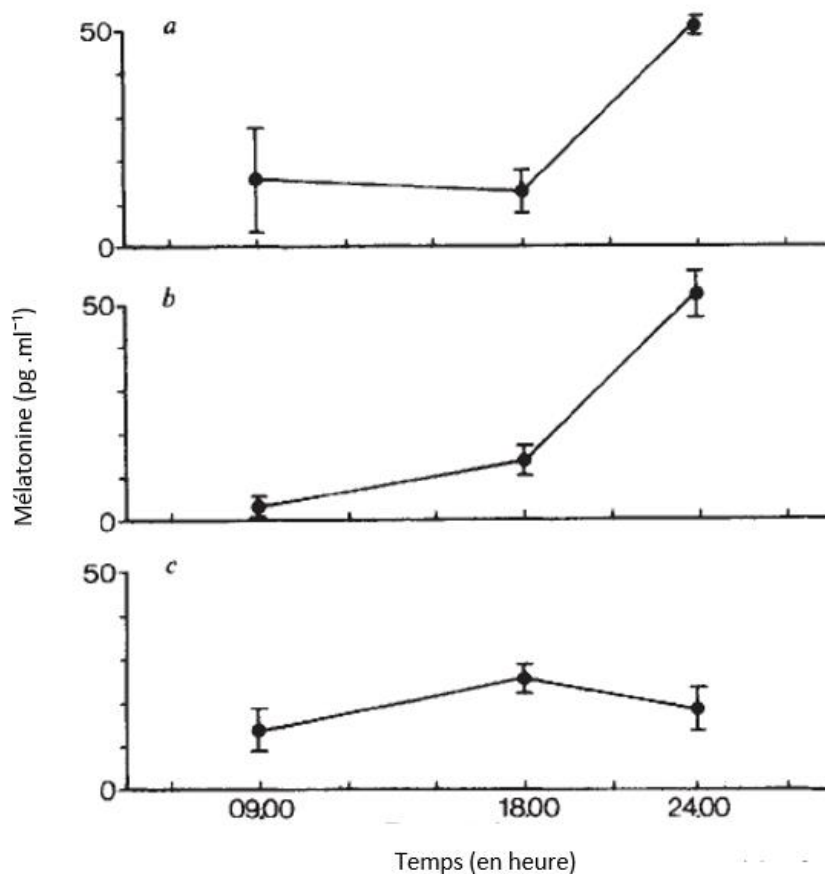


Figure 9 : Concentration (moyenne) en mélatonine plasmatique dans le sang chez des femelles wallaby de l'île Eugène ayant reçu une opération fictive (a), étant restées intactes (b) ou ganglionectomisées (c).

Les prises de sang ont été réalisées à 9 h , 18 h, et 24 h en novembre.

La ganglionectomie abolit l'augmentation nocturne de la concentration plasmatique en mélatonine (Renfree et al., 1981).

Renfree a montré, en 1981, le rôle de la glande pinéale sur la diapause saisonnière chez le wallaby de l'île Eugène. Le retrait bilatéral des ganglions cervicaux supérieurs chez des femelles a éliminé la diapause saisonnière mais n'a pas eu d'effet sur la diapause lactationnelle. En mesurant les concentrations de mélatonine journalières chez les wallabies contrôles ou les wallabies ganglionectomisées, une différence significative dans les variations journalières a été observée : la ganglionectomie abolit la hausse de mélatonine pendant la nuit, ce qui conduit à une réactivation, une reprise de la croissance de l'embryon et des naissances 27 jours à la suite du retrait des jeunes allaités malgré la saison (Figure 9) (Renfree et al. 1981).

1.2. Espèces à jours longs

Chez les Mustélidés, la fin de la diapause est associée à l'allongement de la photopériode. En particulier, la succession de jours longs avant et après l'équinoxe vernal influence le moment de l'implantation chez de nombreuses espèces, comme la martre des pins, le vison, la zibeline, la belette à longue queue, la martre d'Europe et la mouffette tachetée de l'Ouest (Mead, 1993).

Chez la mouffette tachetée, Mead a montré, en 1971, que l'exposition à la lumière 14 heures par jour accélère l'implantation chez les individus contrôlés, alors que l'aveuglement prolonge la période pré-implantatoire quel que soit le régime lumineux mis en place (Mead, 1971). De la même manière, chez le vison d'Amérique (*Neovison vison*), la mise en place artificielle d'un régime de jours longs (entre 12 et 16 heures d'éclairage par jour) fournit un message facultatif qui induit l'implantation (Murphy and James, 1974). La mélatonine sert à maintenir la diapause en influençant la sécrétion de prolactine. La photopériode qui précède l'équinoxe de printemps sert de stimulus pour induire la sécrétion de mélatonine et ainsi diminuer les concentrations de prolactine (Murphy *et al.*, 1990).

La nécessité de jours longs n'est pas absolue chez ces deux espèces. Des individus aveugles (Mead, 1971), ou maintenus dans l'obscurité constante (Mead, 1993), ou sous un éclairage constant (Murphy and James, 1974), présentent tout de même une implantation embryonnaire.

<p>La photopériode joue un rôle important dans la régulation de la diapause mais n'est pas indispensable.</p>
--

1.3. Espèces à jours courts

Dans le cas du wallaby de l'île Eugène, la diapause est maintenue par la photopériode de jours longs après le solstice d'hiver même si les jeunes allaités sont éloignés de la mère. L'exposition de femelles gestantes à une photopériode en jours courts ou à la dénervation de la glande pinéale pendant la diapause saisonnière conduit à des naissances dans les 27 à 36 jours suivants (Mead, 1993). C'est l'augmentation de la sécrétion nocturne de mélatonine qui entraîne une diminution de la prolactine et réactive le blastocyste (McConnell *et al.*, 1986). De manière expérimentale, la réactivation du blastocyste chez le wallaby de l'île Eugène peut

être réalisée par une seule injection de mélatonine exogène, mimant des jours courts, pendant la quiescence saisonnière (Renfree and Fenelon, 2017).

Contrairement aux espèces où l'implantation est induite par des jours longs, chez le blaireau *Meles meles*, les auteurs Canivenc et Bonnin (Canivenc and Bonnin 1979) ont montré, en réalisant des mesures de concentrations en progestérone plasmatique, qu'en modifiant les conditions extérieures chez des blaireaux femelles (induction artificielle d'un hiver avec des jours courts à 10 heures d'ensoleillement et une température de 5 °C), une réactivation du blastocyste en diapause et son implantation sont possibles (Figure 10) .

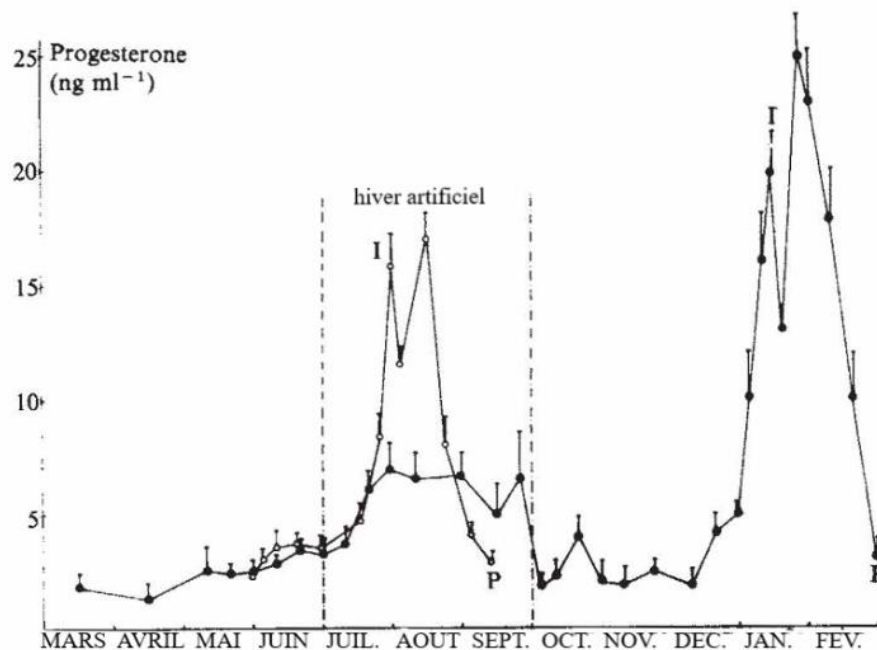


Figure 10 : Profil de progestérone pendant la gestation chez cinq blaireaux contrôles (lumière et températures naturelles), représenté par la courbe en points noirs, et profil de progestérone chez six femelles mises dans des conditions d'hiver artificiel (éclairage de 10 heures avec une température de 5 °C), représenté par la courbe en points vides.

I = implantation ; P = parturition (Canivenc and Bonnin, 1979)

Chez les pinnipèdes, l'implantation est modulée par une diminution de la longueur des jours. La fin de la diapause, et plus généralement le rythme des événements reproductifs, sont sous le contrôle de la photopériode chez les otaries à fourrure du Nord. Les concentrations en mélatonine sont également impliquées (Temte, 1991; Atkinson, 1997). Les phoques communs ont montré une diminution de la sensibilité de l'hypophyse à la LH (luteinizing hormone) pendant l'hiver et le printemps (Gardiner et al., 1999).

Une augmentation de la **prolactine** sérique au début du mois de novembre, qui précède de façon saisonnière la réactivation des corps jaunes, est documentée chez les

femelles gestantes de l'espèce *Ursus thibetanus* (Sato *et al.*, 2001), suggérant que ce mécanisme propre aux carnivores existe chez les ursidés. Lemiere (Lemiere, 2021), en observant deux populations d'ours bruns vivant en Suède à différentes latitudes, a mis en évidence une fin de la diapause embryonnaire plus précoce de 15 jours chez la population occupant les latitudes les plus au Sud. Si la latitude est associée avec d'autres facteurs environnementaux différents, comme la température, l'accès à la nourriture, la différence de biotope, alors l'absence de différence de date notable de parturition observée sur plusieurs années d'études (7 ans) suggère que la photopériode serait le facteur majeur de la synchronisation de l'implantation. En effet, c'est le seul paramètre régulier qui ne dépend, ni des changements climatiques, ni des changements de ressources. Etant donnée l'obscurité quasi complète régnant dans les tanières des femelles gestantes, l'absence de lien entre la durée du jour ou la date d'entrée dans la tanière sur la durée de gestation, il a été postulé « que la réactivation du corps jaune pourrait être influencée par la photopériode durant la période active, avant l'entrée dans la tanière » (Lemiere, 2021).

Récemment Ajit *et al.* (2021) ont supposé que ce sont les loci de liaison des gènes des espèces en diapause obligatoire qui pourraient être responsables de la façon dont la mélatonine, induite par des stimuli externes, peut réguler les processus physiologiques, tels que le métabolisme et la croissance, pour moduler la diapause embryonnaire (Ajit *et al.*, 2021).

L'influence de la photopériode, par le biais de la production de mélatonine, est démontrée chez de nombreuses espèces à diapause obligatoire, bien que ce contrôle ne présente pas les mêmes modalités en fonction des taxons et même en fonction des espèces d'un même taxon (blaireau et vison).

2. Le stress métabolique

Les conditions environnementales peuvent générer un **stress métabolique** chez les femelles gestantes et participer à l'entrée en diapause du blastocyste.

Woodroffe (1995) a montré que l'état nutritionnel des blaireaux européens femelles durant l'automne précédant l'implantation affecte les dates de l'implantation embryonnaire (jusqu'à 37 jours) et, de ce fait, la durée de la diapause (Woodroffe, 1995; Ferguson *et al.*, 1996).

Chez les espèces présentant une diapause facultative, c'est le stress métabolique provoqué par la **lactation** qui induit la diapause. Chez la souris, si l'accouplement a lieu durant l'œstrus *post-partum*, l'implantation est retardée par la présence de jeunes allaités. Cela se traduit par une augmentation des taux de prolactine circulante, ce qui empêche l'augmentation de la concentration en d'œstrogènes au jour 3,5 de la gestation et provoque

l'entrée en diapause des blastocystes (Mantalenakis et Ketchel, 1966; Psychoyos, 1973). Fait intéressant, l'inhibition de la succion peut être annulée par des injections de bromocriptine, un agoniste de la dopamine, qui diminue la libération de prolactine induite par la succion et permet la réactivation des blastocystes (Flint et Renfree, 1981). Chez les wallabys de l'île Eugène, le retrait du jeune allaité en dehors des périodes de contrôle saisonnier de la diapause provoque une réactivation de l'embryon en diapause. Ceci démontre qu'un signal de stress a été éliminé et que son absence permet une reprise du cycle reproductif (Tyndale-Biscoe, 2005).

Le **stress social**, y compris le surpeuplement ou l'introduction de nouveaux mâles, induit une diapause facultative chez les rongeurs (Marois, 1982). Aussi, un transport en bateau chez des rats influence l'entrée en diapause des embryons, avec des périodes de gestation considérablement augmentée chez les animaux transportés (Pritchett-Corning *et al.*, 2013).

La lactation ou le stress social (surpeuplement ou introduction de nouveaux mâles) peuvent générer un stress métabolique chez les femelles gestantes et participer à l'entrée en diapause du blastocyste.

B. Régulation de la réactivation embryonnaire par des facteurs endogènes

La diapause est régulée par un dialogue entre l'utérus et le blastocyste. L'environnement utérin précis, permettant l'entrée, la maintenance et la réactivation du blastocyste, s'il n'est pas encore exactement résolu, repose sur la sécrétion de facteurs utérins et embryonnaires endogènes.

Les facteurs dont le fonctionnement est le mieux compris sont les hormones stéroïdes (progestérone, œstrogène) et la prolactine, hormone clef de la diapause. Indépendamment du contrôle hormonal, de nombreux contrôles moléculaires entre l'utérus et le blastocyste ont été conservés entre les espèces, comme le LIF (Leukemia inhibitory factor), premier facteur identifié en 1991 (Bhatt *et al.*, 1991). Il est spécifiquement exprimé lors de la réactivation dans l'utérus. Depuis lors, il a été observé que le niveau de multiples facteurs de croissance et de cytokines (décrits dans cette partie) étaient exprimés de manière différentielle dans l'utérus et le blastocyste, la majorité d'entre eux étant diminués pendant la diapause et augmentés lors de la réactivation (Renfree and Fenelon, 2017). De plus, dans l'utérus de souris, de vison et de wallaby de l'île Eugène, les gènes homéobox du segment musculaire MSX1 et MSX2 sont spécifiquement exprimés pendant la diapause et régulés à la baisse lors de la réactivation chez la souris.

Après l'étude des facteurs de contrôle potentiels au niveau individuel, l'avènement des technologies génomiques et protéomiques a permis de comparer à grande échelle la diapause et la réactivation. Cela a révélé une abondance de nouvelles cibles potentielles pour les recherches futures, dont certaines, comme les polyamines, ont été confirmées comme ayant un rôle important dans le contrôle de la diapause

1. Contrôle maternel

Chez la souris, la réactivation de l'utérus après la diapause est régulée par les **hormones stéroïdes ovariennes** et l'induction d'un environnement utérin favorable est nécessaire au développement ultérieur du blastocyste (Paria et al, 1993). Cependant, l'addition *in vitro* d'hormones stéroïdiennes directement à des embryons de souris en diapause n'entraîne pas leur réactivation (Weitlauf, 1974).

Les **transferts d'embryons** de blastocystes vers des utérus retardés chez les rongeurs (Weitlauf et Greenwald, 1968) et le transfert réciproque d'embryons d'une espèce présentant une diapause obligatoire, le vison, à une espèce sans signe de diapause, le furet domestique (Chang, 1968), ont permis de définir l'utérus comme le régulateur de l'arrêt du développement. De même, les blastocystes de vison en diapause ont repris leur développement lorsqu'ils ont été co-cultivés avec des lignées cellulaires utérines conspécifiques, et les blastocystes de wallaby en diapause sont capables de se réactiver et de se développer normalement lorsqu'ils sont transférés dans un utérus réactivé (Tyndale-Biscoe, 1970 ; Moreau et al., 1995).

Les blastocystes de wallaby présentant un retard dans leur réactivation métabolique provenaient de mères ayant un faible métabolisme endométrial, ce qui indique un échec du système maternel à se réactiver (Spindler et al., 1998). Étant donné que le blastocyste du wallaby et du vison sont entourés de plusieurs couches cellulaires et ne s'implantent qu'un certain nombre de jours après la réactivation, les facteurs contrôlant la diapause doivent atteindre l'embryon via les **sécrétions utérines** (Renfree, 1973 ; Shaw et Renfree, 1986 ; Renfree et Shaw , 2000) .

<p>Les expériences de transferts embryonnaires inter-spécifiques et intra-spécifiques ont permis de mettre en évidence le rôle des sécrétions utérines dans le contrôle de l'entrée du blastocyste en diapause et de sa réactivation chez le wallaby, la souris et le vison.</p>

2- Contrôle par la glande pituitaire

La **prolactine** semble être l'hormone clé de la diapause que ce soit dans le contrôle de la diapause facultative de lactation que pour la diapause saisonnière obligatoire. Son action est différente en fonction des ordres de mammifères, ce qui démontre le fait que des hormones existantes et communes chez les êtres vivants ont été recrutées pour des usages variés, voire même opposés durant l'évolution (Figure 11) (Lopes et *al.*, 2004). La prolactine est une hormone sécrétée par l'hypophyse, qui d'une part, favorise le développement et la croissance des glandes mammaires, et, d'autre part, induit et maintient la lactation.

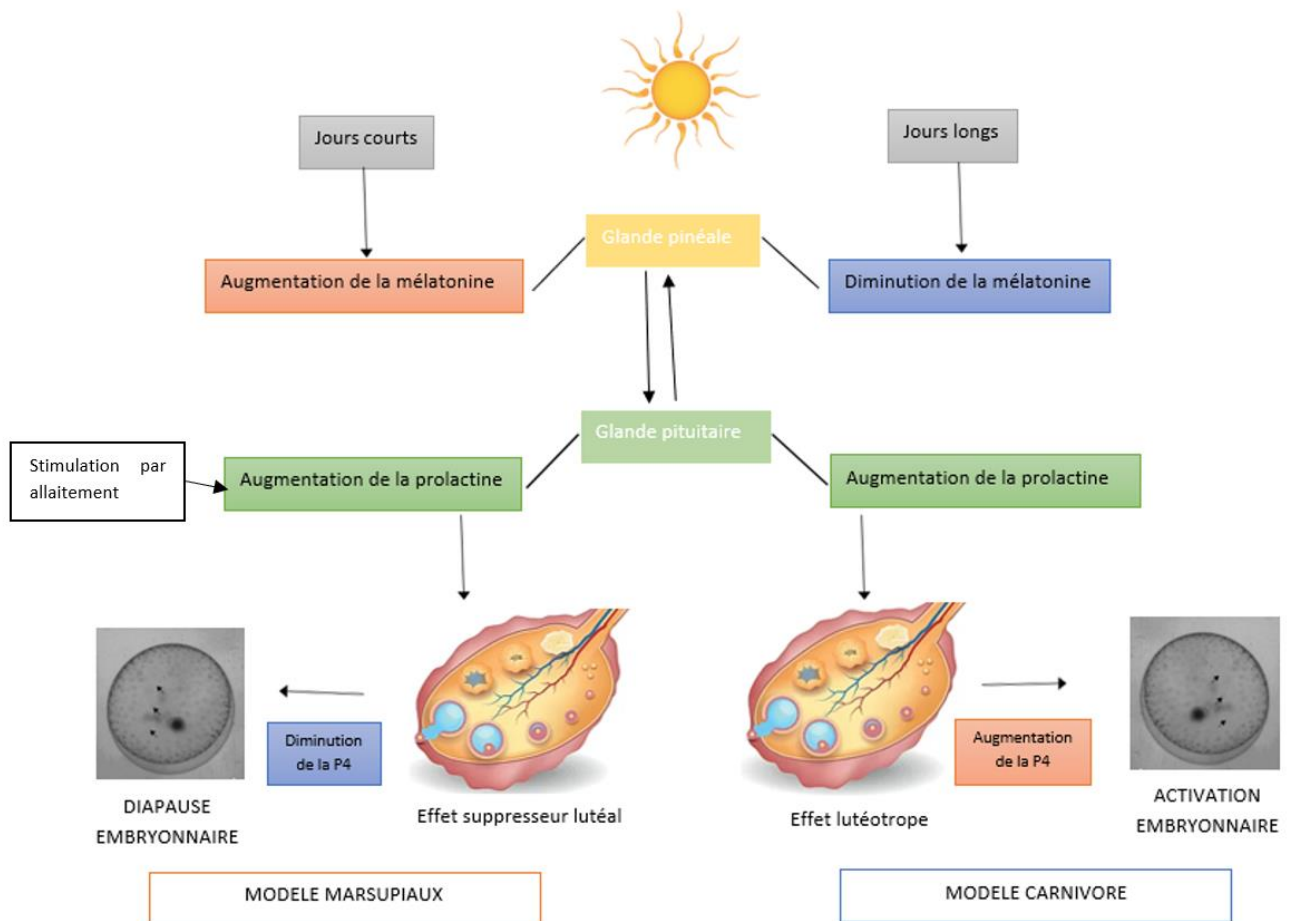


Figure 11 : Actions de la mélatonine et de la prolactine dans les stratégies de modulation photopériodique de la diapause (Lopes et *al.*, 2004). P4 (progestérone lutéale)

Dans le **modèle marsupial**, le stimulus de succion et l'augmentation de la sécrétion de mélatonine (associée aux périodes nocturnes dépassant le solstice d'été) régulent à la hausse la prolactine, qui inhibe alors l'activation lutéale, ce qui initie et maintient la diapause.

Dans le **modèle carnivore**, la photopériode, associée à l'équinoxe vernal, diminue la sécrétion de mélatonine, ce qui stimule la libération de prolactine. La prolactine active le *corpus luteum*, provoquant la libération de progestérone et d'autres facteurs qui mettent fin à la diapause.

2.1. Rôle de la prolactine chez les mustélidés carnivores

Chez le vison et la mouffette tachetée, la sécrétion de prolactine est nécessaire au développement du blastocyste et du corps jaune (Papke *et al.*, 1980; Douglas *et al.*, 1997; Polejaeva *et al.*, 1997). Une augmentation du taux de prolactine circulante quelques jours avant l'implantation a été mise en évidence (Mead, 1993; Murphy *et al.*, 1993).

Chez le **vison**, à diapause saisonnière obligatoire, l'implantation a lieu au printemps quand la sécrétion de prolactine, facteur lutéotrope majeur, **augmente**, ce qui entraîne une élévation du niveau de progestérone. L'administration de prolactine au vison ou à la mouffette **accélère l'implantation**, mais ne l'induit pas directement (Murphy *et al.*, 1981; Mead, 1995). De la même façon, les traitements permettant l'augmentation des taux plasmatiques de prolactine **raccourcissent la durée de la période de pré-implantation** chez le vison (Murphy *et al.*, 1993).

L'hypophysectomie avant le moment prévu de l'implantation a empêché la nidation et a aboli l'augmentation préimplantatoire de la progestérone plasmatique chez la mouffette tachetée de l'Ouest (Mead, 1975) et le vison (Murphy and Moger, 1977). De telles études ont confirmé que **l'hypophyse était absolument essentielle pour la fonction ovarienne normale pendant la gestation**.

L'administration de mélatonine au vison provoque une diminution des taux plasmatiques de prolactine (Martinet *et al.*, 1983; Rose *et al.*, 1985). Chez la mouffette, cependant, la mélatonine n'inhibe pas la sécrétion de prolactine, mais elle réduit les effets inhibiteurs de la dopamine sur la sécrétion de prolactine (Rozell and Mead, 1993).

D'autres expérimentations ont montré de façon concluante que les traitements qui suppriment la sécrétion de prolactine chez le vison entraînent une diminution de la fonction lutéale et empêchent ou retardent l'implantation des blastocystes (Papke *et al.*, 1980). La bromocriptine, agoniste de la dopamine et inhibiteur de la sécrétion de prolactine, supprime la prolactine endogène et empêche l'augmentation de l'ARNm du récepteur de la prolactine, ce qui suggère que la **prolactine régule à la hausse son récepteur et maintient le récepteur LH dans le corps jaune du vison** (Douglas *et al.*, 1998). Le retrait d'un agoniste à la dopamine (Papke *et al.*, 1980) ou l'administration d'un antagoniste de la dopamine (Murphy, Rajkumar and Silversides, 1993) induit la réactivation du blastocyste en diapause.

Les concentrations de prolactine sont importantes pour mettre fin à la diapause et réactiver le développement embryonnaire chez le vison en induisant l'expression du gène

ODC (ornithine décarboxylase). La protéine ODC est l'enzyme limitant la production de polyamine (c'est-à-dire la putrescine) qui peut induire la réactivation des embryons de vison (Fenelon et al., 2016).

Chez les mustélidés, la réactivation du blastocyste et son implantation sont médiées par l'augmentation de la concentration plasmatique en prolactine qui influe sur la réactivation du corps jaune.

2.2. Rôle de la prolactine chez les pinnipèdes

Chez les phoques, la réactivation embryonnaire ne semble pas liée au sevrage (Boyd, 1984, 1991a). La prolactine est lutéotrope et peut fonctionner dans la réactivation embryonnaire, bien qu'elle diminue tout au long de la diapause chez les otaries à fourrure antarctiques (*Arctocephalus gazella*) (Boyd, 1991b).

2.3. Rôle de la prolactine chez les ursidés

Chez les ursidés, les facteurs induisant l'implantation embryonnaire sont encore mal compris. Une augmentation significative des concentrations sériques de prolactine semble coïncider avec une augmentation significative des concentrations sériques de progestérone en novembre et décembre, au moment présumé de l'implantation, suggérant que la prolactine pourrait fonctionner comme lutéotrope chez l'ours noir japonais (Sato *et al.*, 2001).

En résumé, chez les animaux à diapause obligatoire, la photopériode influence la diapause embryonnaire et la réactivation ultérieure du développement embryonnaire en régulant la sécrétion de prolactine hypophysaire.

2.4. Rôle de la prolactine chez les marsupiaux macropodidés

Chez les marsupiaux macropodidés, en revanche, la prolactine agit pour **supprimer la réactivation du corps jaune**, ce qui entraîne une diminution des niveaux de progestérone et donc **le maintien de la diapause** (Hinds 1989) ou lactationnelle (Hinds et al. 2013).

Les récepteurs de la prolactine sont présents sur le corps jaune (Sernia and Tyndale-Biscoe, 1979; Stewart and Tyndale-Biscoe, 1982) et les blastocystes en diapause peuvent être facilement réactivés par une seule injection de bromocriptine (Tyndale-Biscoe and Hinds, 1984; Fletcher et al, 1990).

La prolactine est libérée en réponse au stimulus de succion et la diapause est supprimée si la glande mammaire tétée est dénervée, même lorsque la lactation se poursuit (Renfree, 1979). Le stimulus de succion doit être retiré au moins 72 heures avant pour permettre la réactivation du corps jaune (Gordon *et al.*, 1987). Si les jeunes sont remplacés après 72 heures, la réactivation n'est pas inhibée, même si la lactation se poursuit. La manipulation expérimentale de la photopériode entraîne la perte de l'impulsion caractéristique de prolactine à l'aube et il doit y avoir une perte d'au moins trois impulsions consécutives à l'aube pour que le blastocyste et le CL soient irrévocablement engagés dans la réactivation (Hinds, 1994). De même, après des injections de mélatonine, l'impulsion de prolactine de l'aube est abolie au troisième jour (Tyndale-Biscoe *et al.*, 1986).

L'hypophysectomie induit une réactivation due à la suppression des effets inhibiteurs de la prolactine (Hearn, 1974) de sorte que l'axe hypothalamo-hypophysaire doit être sensible à l'absence d'inhibition de la succion pendant trois jours consécutifs.

Chez le kangourou *Macropus eugenii*, l'enlèvement du jeune ou une injection de bromocriptine sont suivis cinq jours plus tard d'une hausse de la concentration en progestérone caractéristique de la reprise d'activité du corps jaune et de la levée de la diapause. La naissance intervient 26 à 27 jours plus tard. L'injection journalière de prolactine pendant 7 jours après l'enlèvement du jeune retarde la naissance de sept jours (Thibault *et al.*, 1998).

Plus généralement dans les diapauses facultatives, les changements de concentration en prolactine induisent la suppression du développement et des sécrétions du corps jaune. Des récepteurs de prolactine sont présents à la surface des cellules du corps jaune (Stewart et al., 1982), et l'état de dormance peut être interrompu en inhibant la sécrétion de prolactine (Hearn *et al.*, 1998). Le stimulus de la tétée favorise la libération de prolactine via le système nerveux.

<p>Chez les Marsupiaux, la réactivation du blastocyste et son implantation sont médiées par la diminution de la concentration plasmatique en prolactine, qui influe sur la réactivation du corps jaune.</p>
--

En résumé, la glande pituitaire contrôle la diapause via sa sécrétion de prolactine. La prolactine est une hormone importante dans la régulation de l'implantation embryonnaire lors de la diapause, qu'elle soit obligatoire ou facultative. Elle influe directement sur l'état d'activation du corps jaune et la production d'hormones stéroïdes.

3. Facteurs ovariens

Chez toutes les espèces étudiées à ce jour, la diapause embryonnaire est largement régie par le milieu endocrinien maternel, même s'il existe des variations en fonction des espèces (Cha *et al.*, 2020). Les stéroïdes ovariens jouent un rôle important dans le contrôle des sécrétions utérines et la croissance embryonnaire. Des modifications de concentrations en stéroïdes ovariens accompagnent la réactivation après la diapause chez de nombreuses espèces. Dans tous les cas d'implantation différée facultative ou obligatoire étudiés, augmentation de la sécrétion de progestérone avant l'implantation est observée, accompagnée parfois aussi d'une hausse en œstradiol.

3.1. Contrôle hormonal de la diapause chez la souris

Chez la souris, les hormones ovariennes responsables du contrôle de la diapause ont été identifiées. L'entrée en diapause est régulée par l'augmentation de la sécrétion hypophysaire de prolactine, favorisée par le stimulus de succion qui régule à la baisse la sécrétion ovarienne d'œstrogènes (McLaren, 1968; Yoshinaga, 2013). L'implantation du blastocyste chez la souris nécessite de la progestérone et des œstrogènes sécrétés par l'ovaire (Figure 8). Le retrait des petits (c'est-à-dire du stimulus de succion) initie la réactivation embryonnaire pour l'implantation via l'impulsion d'œstrogène ovarienne résultante (McLaren, 1968).

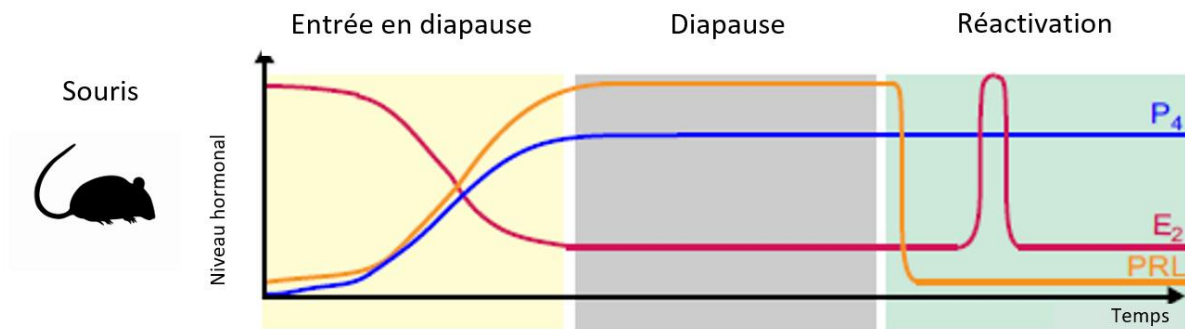


Figure 8 : Profil hormonal de la souris à l'entrée en diapause, pendant la diapause et après la réactivation embryonnaire.

La ligne bleue représente la progestérone (P4), la ligne rouge l'œstrogène (E2) et la ligne jaune la prolactine (Renfree and Fenelon, 2017).

Les œstrogènes sont essentiels pour optimiser le moment de l'implantation embryonnaire, en affectant à la fois la réceptivité utérine et l'activation du blastocyste chez la souris. Les œstrogènes sont essentiels à l'implantation du blastocyste dans un utérus sous imprégnation progestéronique (Paria *et al.*, 1993). Les œstrogènes modifient la transcription d'un certain nombre de gènes tels que le gène du récepteur EGF (Paria *et al.*, 1993). Des travaux récents suggèrent que les œstrogènes ovariens interagissent avec les récepteurs nucléaires des œstrogènes pour rendre l'utérus réceptif à la suite de l'activation par la progestérone. Son métabolite, le 4-hydroxyestradiol-17b, synthétisé dans l'utérus à partir de l'œstrogène, agit comme une hormone paracrine en activant le blastocyste. L'implantation ne réussit que si ces deux hormones agissent de manière synchrone (Cha and Dey, 2014).

Les **androgènes** peuvent également influencer l'implantation embryonnaire. Dans une étude chez des souris à diapause, l'implantation a été initiée par l'administration d'une petite dose de propionate de testostérone (5 mg/souris) et de dihydrotestostérone (3 mg/souris). Des doses plus importantes de propionate de testostérone perturbent le développement péri-implantatoire et peuvent être impliquées dans la perte précoce de la gestation (Diao *et al.*, 2008). La fonction des hormones est cependant très compliquée et l'action de nombreuses molécules est nécessaire pour l'induction et la cessation de la diapause embryonnaire.

Il est possible d'induire expérimentalement l'entrée en diapause de l'embryon, sa réactivation et son implantation chez la souris. La diapause est induite par ovariectomie avant la sécrétion pré-implantatoire d'œstrogène (E2) le matin du jour 4 de la gestation (entre 08h00 et 09h00) et cet état peut être maintenu plusieurs semaines par l'injection quotidienne de progestérone (P4) à partir du jour 5 (Weitlauf and Greenwald, 1968; Paria *et al.*, 1993; Ma *et al.*, 2003; Cha and Dey, 2014). De la même façon, l'administration d'un composé anti-

œstrogène (i.e. ICI 182 780) le jour 3 à 18h00 et le jour 4 entre 08h00 et 09h00 induit également un retard.

La réactivation du blastocyste pour l'implantation peut alors être initiée par une seule injection d'œstradiol -17 β ou de son médiateur en aval, le facteur inhibiteur de la leucémie (LIF) (McLaren, 1968).

Le contrôle hormonal de la diapause chez la souris est très bien compris et permet d'en faire un modèle d'étude.

3.2. Contrôle hormonal de la diapause chez les carnivores

La diapause embryonnaire chez les mustélidés résulte d'une sécrétion hormonale insuffisante de l'hypophyse, notamment de prolactine et de LH, qui entraîne une différenciation incomplète des corps jaunes et une diminution de la sécrétion hormonale lutéale (Canivenc and Bonnin, 1981; Mead, 1993; Renfree and Shaw, 2000).

Chez le vison, les concentrations plasmatiques de progestérone augmentent en même temps que la reprise de la croissance des blastocystes, 6 à 10 jours avant l'implantation (Figure 12). Cette période coïncide avec l'entrée de l'utérus dans une phase sécrétoire en vue de la nidification (Murphy et al., 1981). La concentration en œstrogènes est très variable mais diminue lors de l'activation du blastocyste : il est donc possible qu'une augmentation transitoire se produise (Stoufflet *et al.*, 1989).

De façon similaire, chez la mouffette tachetée, la LH plasmatique, la prolactine, et la progestérone sont relativement faibles pendant la diapause mais augmentent progressivement pendant la longue période de pré-implantation. Cependant, bien qu'il y ait une réduction de la concentration des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone pendant la période pré-implantatoire, les récepteurs peuvent être détectés lors d'une implantation retardée. Ceci suggère que la diapause n'est pas due à un faible nombre de récepteurs aux œstrogènes ou à la progestérone, et que la réactivation n'est pas associée à une augmentation des récepteurs aux stéroïdes utérins (Mead and Eroschenko, 1995).

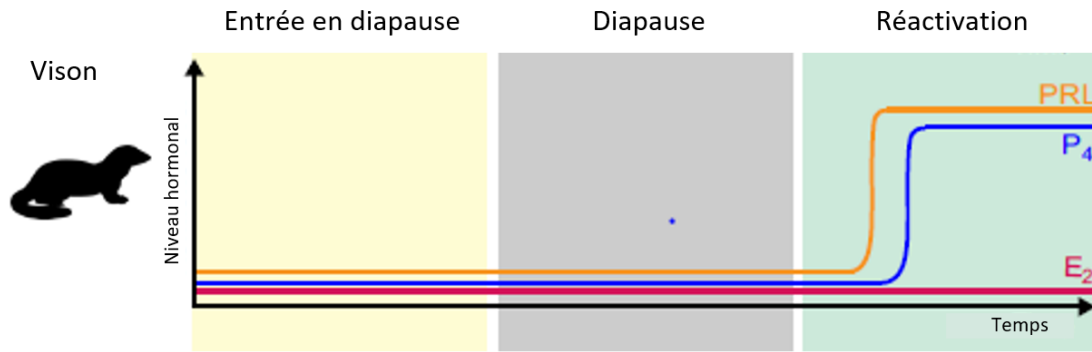


Figure 12 : Profil hormonal du vison à l'entrée en diapause, pendant la diapause et après la réactivation embryonnaire.

La ligne bleue représente la progestérone (P4), la ligne rouge l'œstradiol (E2) et la ligne jaune la prolactine (Renfree and Fenelon, 2017).

Chez le blaireau, les corps jaunes se forment après l'ovulation, mais ils sont considérablement plus petits que ceux observés lors de la gestation post-implantatoire et semblent moins actifs lors de la diapause embryonnaire (Canivenc and Bonnin, 1981).

Contrairement à son action chez les rats et la souris, l'œstrogène exogène n'induit pas l'implantation et la progestérone exogène, si elle maintient la viabilité du blastocyste, ne parvient pas à induire une réactivation ou une implantation. Seule la prolactine peut mettre fin expérimentalement à la diapause chez les visons (Papke *et al.*, 1980; Murphy *et al.*, 1981; Stoufflet *et al.*, 1989).

Chez les carnivores présentant une implantation différée, des dosages des taux de progestérone sériques couplés à des observations d'embryons implantés dans la muqueuse utérine suggèrent qu'il existe un laps de temps de plusieurs jours entre ces deux événements (Fenelon *et al.*, 2017; Murphy and Fenelon, 2020). Diverses combinaisons de stéroïdes chez plusieurs autres espèces de mustélidés n'ont pas réussi à induire l'implantation (Mead, 1986).

Chez les phoques, le contrôle de la réactivation est loin d'être clair. La progestérone reste faible pendant la diapause et augmente juste avant ou lors de la réactivation du blastocyste (Daniel and Joseph, 1975; Boyd, 1991b; Gales and Costa, 1997; Gales *et al.*, 1997). Il y a une hausse importante de la concentration en œstrogènes juste avant la réactivation chez les phocidés et les otariidés (Daniel, 1981; Gales *et al.*, 1997). Pourtant les injections de progestérone ou d'œstradiol seul ou combiné ne parviennent pas à induire une réactivation. À la suite de la hausse des concentrations en progestérone et en œstradiol à la fin de la diapause embryonnaire, les concentrations de ces deux hormones ont diminué chez le lion de mer australien (Gales *et al.*, 1997). Ce schéma est similaire à celui signalé pour les otaries à fourrure de l'Antarctique (Boyd, 1991a) et les otaries à fourrure du Nord (Daniel, 1981) (Gales 1997).

Bien que des progrès considérables aient été réalisés dans la connaissance des signaux ovariens, il n'est pas clair si les mécanismes de régulation qui ont été identifiés chez les espèces les plus connues sont universels pour la diapause des carnivores (Murphy and Fenelon 2020). Une augmentation du taux de progestérone est observée au moment de la réactivation embryonnaire, chez les mustélidés, et une hausse importante du taux en œstrogènes, chez les Pinnipèdes, sans pouvoir induire de réactivation par injection exogènes d'hormones stéroïdes.

3.3. Contrôle hormonal de la diapause chez les marsupiaux macropodés

La diapause embryonnaire lactationnelle chez le wallaby de l'île Eugène est concomitante avec l'augmentation de prolactine générée à la suite du stimulus d'allaitement : ceci exerce un contrôle sur les hormones stéroïdiennes avec une baisse des niveaux en progestérone et en œstradiol (Figure 13). Chez les marsupiaux, la diapause liée à l'allaitement saisonnier est levée par un traitement à base de progestérone additionné ou pas d'œstradiol (Thibault *et al.*, 1998). Chez le wallaby de l'île Eugène, la diapause peut être interrompue en retirant le jeune allaité ou en injectant de la progestérone exogène seule pendant la période de quiescence lactationnelle (Renfree and Tyndale-Biscoe, 1973).

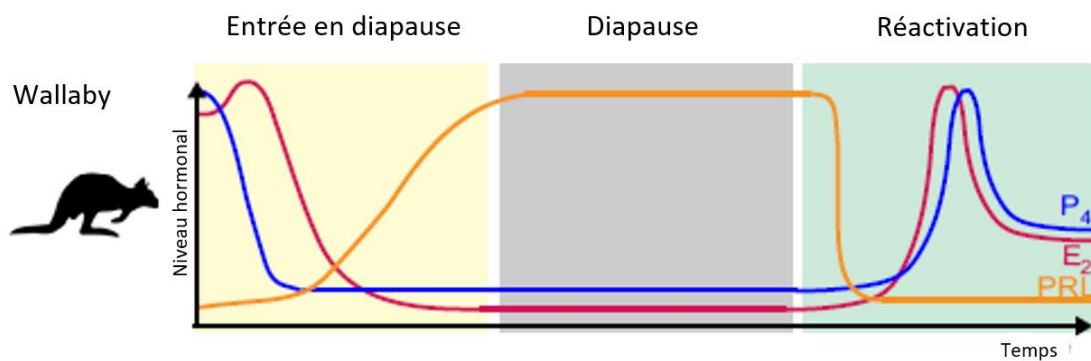


Figure 13 : Profil hormonal du wallaby de l'île Eugène à l'entrée en diapause, pendant la diapause et après la réactivation embryonnaire.

La ligne bleue représente la progestérone (P4), la ligne rouge l'œstradiol (E2) et la ligne jaune la prolactine (Renfree and Fenelon, 2017).

Chez le wallaby, il est possible d'induire la réactivation du blastocyste en période de diapause lactationnelle par une injection exogène de progestérone.

4. Contrôle moléculaire de la diapause

Comme le montrent les transferts embryonnaires réciproques entre le furet et le vison, c'est l'environnement utérin maternel qui induit et maintient les embryons dans leur arrêt développemental. L'endomètre utérin des mammifères sécrète des cytokines et des facteurs de croissance qui influencent le développement de l'embryon pré-implantatoire (résumé dans Cha et *al.*, 2012). Il est probable que certains d'entre eux contrôlent également l'arrêt de croissance qui se produit en diapause (Tableau III).

4.1. Facteurs de croissance et cytokine dans l'environnement utérin

Ces facteurs comprennent les facteurs de croissance épidermique et leurs récepteurs [par exemple, EGF, HB-EGF (ou HBEGF) et ERBB4], le phospholipide PAF (anciennement connu sous le nom de facteur d'activation des plaquettes), le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et le facteur inhibiteur de la leucémie (LIF). Un grand nombre de ces facteurs sont également présents dans le blastocyste, et l'on sait maintenant que leur expression coïncide avec la réactivation du blastocyste après la diapause. Ces facteurs seront abordés plus en détail ci-dessous.

4.1.1. EGF (*epidermic growth factor*)

Un membre de la famille des facteurs de croissance épidermique (EGF), l'EGF liant l'héparine (HB-EGF), a été le premier facteur de croissance à être impliqué dans la réactivation des blastocystes à partir de la diapause chez la souris.

De nombreux membres de la famille du facteur de croissance épidermique (EGF) sont exprimés dans l'endomètre et l'embryon de la souris à la fois pendant la période pré-implantatoire et lors de la réactivation après la diapause (Hardy and Spanos, 2002; Dey *et al.*, 2004). Il convient de noter que le premier signe de réactivation après une diapause est la détection du HB-EGF endométrial à proximité du blastocyste, quelques heures seulement avant le début de l'implantation (Das *et al.*, 1994).

On sait que le HB-EGF endométrial est impliqué dans la liaison avec son récepteur ERBB4 présent à la surface du blastocyste pour coordonner l'implantation chez les souris (Paria *et al.*, 1993, 1999; Chobotova *et al.*, 2002), bien que son rôle dans la réactivation de la diapause ne soit pas clair. ERBB4 est également présent dans l'endomètre de la souris lors de la réactivation, tandis que HB-EGF est le seul ligand de la famille EGF significativement régulé à la hausse dans le blastocyste de la souris lors de la réactivation (Lim *et al.*, 1998). Plus récemment, HB-EGF et ERBB4 ont été détectés dans l'utérus et le blastocyste du wallaby de

l'île Eugène et du vison spécifiquement lors de la réactivation après la diapause, distincte de l'implantation (Fenelon *et al.*, 2017).

De plus, il a été démontré que la forme soluble du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), qui peut également se lier au HB-EGF, et un autre mitogène, le facteur de croissance dérivé des hépatomes (HDGF), sont présents dans le fluide utérin du wallaby de l'île Eugène de J3 jusqu'à au moins J11 après le retrait du jeune allaité. A ce moment-là, ces protéines sécrétées constituent 21 % du protéome du fluide utérin (Martin *et al.*, 2016). L'implantation chez la souris se produit dans les 24 heures suivant le signal œstrogénique à 09h00 du jour de la réactivation (ou J4 dans le modèle sans diapause) et HBEGF est d'abord exprimé dans l'utérus à 16h00 (Das *et al.*, 1994).

La signalisation réciproque de la famille EGF entre l'endomètre et l'embryon est susceptible de jouer un rôle central dans la réactivation après la diapause. Il faut également noter qu'il existe un haut degré de redondance fonctionnelle au sein de la famille EGF et que certains des autres ligands d'EGF qui sont présents tout au long de la réactivation dans l'épithélium luminal peuvent également être impliqués dans la signalisation pour coordonner la réactivation (Cai *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2004).

4.1.2. LIF (*Leukemia inhibitory factor*)

Le premier facteur reconnu la fois pour s'exprimer spécifiquement lors de la réactivation du blastocyste dans l'utérus et pour être régulé négativement lors de la diapause est le LIF (*Leukemia inhibitory factor*) (Bhatt *et al.*, 1991).

Le LIF est un membre de la famille des interleukines 6 (IL6) pro-inflammatoires. Il joue de multiples rôles dans la régulation de l'implantation des blastocystes et est impliqué dans la diapause et la viabilité des blastocystes chez la souris (Renfree and Fenelon 2017; Stewart *et al.* 1992). Après sa sécrétion dans la lumière utérine, le LIF se lie à un complexe hétérodimérique de récepteurs transmembranaires du LIF constitué du récepteur du LIF (LIFR) et de la gp130 (IL6ST) (Rosario *et al.*, 2014), ce qui entraîne l'activation de la voie de signalisation JAK-STAT3 ainsi que de la voie de signalisation ERK.

Chez la souris, ainsi que chez le vison et la mouffette tachetée, le LIF est absent pendant la diapause et exprimé lors de la réactivation dans l'épithélium luminal utérin tandis que chez le wallaby de l'île Eugène, LIF a une expression très faible dans l'utérus pendant la diapause et augmente significativement lors de la réactivation (Song *et al.*, 1998; Hirzel *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000; Fenelon *et al.*, 2020)

L'implantation chez la souris nécessite la production de LIF dans l'épithélium glandulaire de l'endomètre au quatrième jour de la gestation, juste avant l'implantation (Stewart *et al.*, 1992). LIF se lie à l'hétérodimère LIFR-gp130 exprimé dans le blastocyste (Nichols *et al.*, 1996, 2001). LIF est induit dans les glandes utérines par l'action des œstrogènes et de TP53 (p53), un suppresseur de tumeur (Rosario et Stewart, 2016). En l'absence de LIF, les blastocystes de souris entrent en diapause, alors que les blastocystes dépourvus de gp130 ne survivent pas (Hondo and Stewart, 2004; Rosario and Stewart, 2016).

Chez les souris, l'expression de LIF étant sous contrôle œstrogénique, il peut être utilisé à la place d'une injection d'œstrogène pour induire la réactivation (Chen *et al.*, 2000).

Chez la mouffette, l'expression du LIFR utérin (LIFR β) augmente lorsque les blastocystes reprennent leur développement, et ceci apparemment sous le contrôle stimulant de la prolactine (Passavant *et al.*, 2000).

LIF affecte l'expression des gènes dans l'endomètre utérin en régulant à la baisse une suite de gènes dans la première heure après le traitement, et en régulant à la hausse certains membres des familles de facteurs de transcription Sox, Klf, Hes, Hey et Hox (Rosario *et al.*, 2014). LIF régule également les gènes homeobox du segment musculaire (MSX) (voir ci-après).

LIF semble donc jouer de multiples rôles dans l'utérus, induisant un réseau dynamique et complexe de changements essentiels à la reproduction (Rosario *et al.*, 2014; Rosario and Stewart, 2016). Il est probable que ces changements soient également importants dans le contrôle de la diapause embryonnaire.

4.1.3. PAF (Platelet-activating factor)

Un autre facteur qui semble influencer la réactivation du blastocyste est le PAF (Platelet-activating factor), un phospholipide qui émet des signaux via son récepteur, le récepteur du facteur d'activation des plaquettes (PTAFR). Le PAF et le PTAFR sont tous deux présents dans l'endomètre et les embryons de souris et de marsupiaux (Kojima *et al.*, 1993; O'Neill, 2005).

La libération du PAF endométrial est sous le contrôle de la progestérone et de l'œstradiol (Chami *et al.*, 1999; Li *et al.*, 1999). Il stimule le métabolisme de l'embryon, favorise la prolifération cellulaire et augmente la viabilité globale de l'embryon (Emerson *et al.*, 2000; O'Neill, 2005).

Le PAF est détecté dans le milieu des échantillons endométraux de wallaby de l'île Eugène cultivés pendant 24 heures *in vitro* (Kojima *et al.*, 1993). Le PAF endométrial régule également à la hausse l'expression de PTAFR dans le blastocyste, ce qui conduit à son

internalisation et à sa localisation cytoplasmique dans la région périnucléaire des cellules du blastocyste lors de la réactivation (Fenelon *et al.*, 2014). La capacité des embryons à libérer le PAF semble être une indication de leur viabilité (Ryan *et al.*, 1989).

PAF semble intervenir dans la réactivation du blastocyste dormants.

4.1.4. VEGF (*Vascular endothelial growth factor*)

Un autre facteur essentiel à l'implantation de l'embryon et pouvant jouer un rôle dans la diapause est la cytokine VEGF (*Vascular endothelial growth factor*), qui est une glycoprotéine homodimérique se liant à l'héparine et un mitogène spécifique des cellules endothéliales. L'expression locale du VEGF sert de médiateur aux interactions entre la mère et l'embryon et facilite l'implantation du blastocyste (Hannan *et al.*, 2011). Le VEGF est également régulé à la hausse dans l'endomètre de vison au moment de la réactivation après la diapause et induit une prolifération endothéliale et une vascularisation dans l'utérus (Lopes *et al.*, 2003, 2006).

4.1.5. Les polyamines

Deux études du transcriptome de l'endomètre liées à la diapause et à la réactivation ont été rapportées. Chez le vison, des analyses globales ont révélé que plus de 350 gènes étaient régulés à la hausse pendant la fin de la diapause (Fenelon *et al.* 2020). Parmi ceux-ci figuraient le récepteur de la prolactine et ses molécules de signalisation intracellulaires en aval, et un groupe de gènes liés à la synthèse des polyamines. Ensemble, ces résultats fournissent un soutien supplémentaire à l'action locale de la prolactine pour mettre fin à la diapause. Il avait déjà été démontré que le facteur qui rajeunit le corps jaune chez cette espèce pour mettre fin à la diapause est la prolactine hypophysaire. Les informations présentées lors du symposium de 2019 ont indiqué que la **prolactine** joue un rôle supplémentaire dans l'utérus de vison en provoquant **la synthèse de polyamines**.

Les polyamines sont de petits composés non aliphatiques, essentiels pour de nombreuses voies cellulaires, y compris la prolifération, en raison de leur capacité à se lier aux acides nucléiques et aux protéines et à interagir avec eux (Miller-Fleming *et al.*, 2015). Les polyamines sont synthétisées à partir des acides aminés ornithine, arginine, proline et méthionine, et leur régulation est étroitement contrôlée, principalement par l'enzyme ornithine décarboxylase 1 (ODC1), qui limite le taux de production des polyamines.

La première preuve que les polyamines pourraient être impliqués dans la diapause embryonnaire a été apportée par des études sur le vison qui ont montré que l'ODC1 et deux autres enzymes de la voie des polyamines, SAT1 et AZIN1, sont significativement augmentées lors de la réactivation à la fois dans l'embryon et dans l'utérus (Lefèvre *et al.*, 2011; Fenelon *et al.*, 2016).

La confirmation du rôle essentiel des polyamines a été apportée par des études *in vivo* dans lesquelles le traitement des femelles au moment de la réactivation avec un inhibiteur de l'ODC1, la difluorométhylornithine (DFMO), a permis aux blastocystes de **rentrer en diapause** avec des réductions significatives des concentrations de polyamines dans l'utérus (Lefèvre *et al.*, 2011). De même, le traitement *in vivo* de souris à partir de la quatrième journée de gestation avec la DFMO provoque l'entrée en diapause des blastocystes et perturbe l'expression d'un certain nombre de gènes liés à l'implantation, dont le HBEGF (Fenelon and Murphy, 2017). Enfin, chez le vison et la souris, le traitement *in vivo* par DFMO diminue l'expression de plusieurs enzymes de la voie des polyamines (Fenelon *et al.*, 2020). Cependant, le traitement par DFMO est incapable de maintenir les blastocystes de souris en diapause *in vitro* (Fenelon and Murphy, 2017), et le mécanisme lié à la diminution des polyamines pour induire ou maintenir la diapause embryonnaire n'est pas clair.

Les polyamines **affectent directement la réactivation du blastocyste de vison**. L'ajout *in vitro* de la polyamine putrescine au blastocyste de vison en diapause augmente à la fois le taux de survie et la prolifération - deux caractéristiques de la réactivation après la diapause (Fenelon *et al.*, 2016). De même, l'ajout de putrescine à des lignées cellulaires de trophoblaste de vison ou de masse cellulaire interne (MCI) augmente la prolifération, tandis que le traitement par DFMO la diminue. Ces résultats indiquent que le besoin de l'embryon en polyamines lors de la réactivation est sous influence utérine. L'hypothèse actuelle de Fenelon et al (2020) est que la DFMO dérègle la communication entre l'endomètre et l'embryon, indiquant l'importance de la disponibilité des polyamines dans la régulation de la diapause embryonnaire (Fenelon *et al.*, 2020).

Fenelon et al (2016) ont montré de façon concluante que la synthèse des polyamines est requise pour la réactivation de l'embryon en diapause du vison (Fenelon *et al.*, 2016).

4.2. Maintien de la diapause et synchronisation entre utérus et blastocyste au moment de la réactivation par les gènes MSX

Comme nous avons vu précédemment, le milieu endocrinien relève une importance dans la régulation de la diapause. Ces milieux endocriniens varient entre les espèces mais séparent efficacement l'implantation de la naissance. Récemment, des recherches se sont concentrées sur la découverte de facteurs de contrôle moléculaire conservés entre les

espèces les mieux étudiées (wallaby de l'île Eugène, souris, vison) (Cao *et al.*, 2019; Kong and Wang, 2020).

Msx1 et *Msx2* sont membres d'une famille de gènes homéobox hautement conservés (Finnerty *et al.*, 2009). Les protéines Msx fonctionnent comme des répresseurs transcriptionnels et sont connues pour réguler la signalisation épithéliale-mésenchymateuse dans plusieurs contextes (Figure 14) (Bendall and Abate-Shen, 2000).

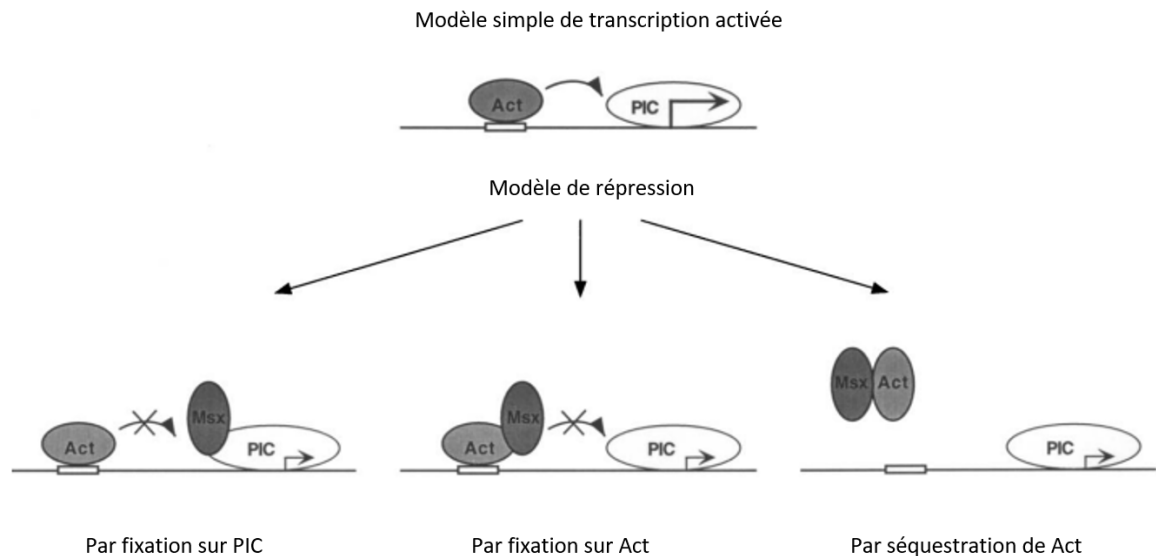


Figure 14 : Modèle de répression par les facteurs de transcription Msx.

De gauche à droite : répression directe par interaction entre Msx et PIC (complexe de pré-initiation), répression directe par interaction entre Msx et Act (Activateur des liaisons-ADN) et répression indirecte par interaction entre Msx et Act empêchant la liaison avec l'ADN (source personnelle) .

La famille Msx joue un certain nombre de rôles importants tout au long du développement, notamment les structuration et différenciation neuro-ectodermiques pour le développement du système nerveux central, le développement crânio-facial, la myogenèse et le développement des membres. *Msx1* et *Msx2* présentent des modèles qui se chevauchent mais qui sont distincts, et les modèles de knock-out génétique de chaque membre de la famille chez la souris montrent des effets distincts sur les processus de développement (Bendall and Abate-Shen, 2000). Chez la souris adulte, les gènes *Msx* sont également exprimés dans la peau, la glande mammaire et l'épithélium utérin (Bendall and Abate-Shen, 2000).

Ce qui est remarquable avec le gène *Msx*, c'est que son expression est observable au cours de la diapause et de la réactivation embryonnaire à la fois chez le wallaby de l'île Eugène et chez le vison, espèces taxonomiquement éloignées de la souris et avec des modalités de diapause différentes (voir partie II).

Chez la souris, *Msx1* est exprimé de manière importante dans les épithéliums luminal et glandulaire de l'utérus pendant la durée de la diapause. Dans des modèles de diapause induite expérimentalement, on observe que *Msx* est régulé à la baisse lors de la réactivation par injection d'E2 (oestradiol-17 β) ou de LIF. Son expression est réduite au niveau des sites d'implantation en 24 heures et il est indétectable dans les sécrétions utérines au bout de 48 heures (Daikoku *et al.*, 2011). Ce schéma d'expression est conservé en cas de diapause naturellement induite. Chez des souris infertiles présentant une délétion génétique du gène LIF une expression persistante de *Msx1* est constatée et des embryons dormants sont récupérés (Daikoku *et al.*, 2011). ***Msx1* semble essentiel à la synchronisation entre la quiescence utérine et la dormance des blastocystes.**

Les souris modifiée génétiquement et présentant une délétion sur *Msx1* ne sont pas totalement stériles, du fait d'une compensation partielle de la fonction de *Msx1* par *Msx2* utérin (Daikoku *et al.*, 2011). Les souris présentant une délétion sur *Msx1* et *Msx2* sont **infertiles** car les embryons ne parviennent pas à s'implanter. Ils ont des morphologies anormales et des signes de dégénération suggérant que les gènes *Msx* sont très importants pour la survie des embryons dormants (Cha *et al.*, 2013). Une diminution de niveau de E-cadhérine (essentielle à l'adhésion épithéliale des cellules, voir partie I) est observable au jour 6 de la gestation chez ces souris. À l'observation histologique, les cellules de l'épithélium luminal sont plus polarisées et cylindriques chez les souris délétées. Ces changements de polarisation sont médiés par une signalisation accrue de **Wnt5a** (wingless integration site 5 a). Wnt est une famille de glycoprotéines jouant un rôle important dans l'embryogenèse chez les animaux, essentiellement un rôle paracrine. Wnt5a est le facteur de transcription de *Msx* dans l'utérus pendant l'implantation, (Figure 15) (Daikoku *et al.*, 2011).

Chez le vison, la réactivation de la diapause peut être initiée par l'administration de prolactine (jour 0 ou J0 PRL) (Fenelon *et al.*, 2016). Dans l'utérus de vison en diapause, il existe une expression élevée de *Msx1* dans les cellules épithéliales lumineuses et glandulaires avec une expression réduite après la réactivation (J9 PRL) et des niveaux indétectables au niveau des sites d'implantation (J14 PRL). Notamment, l'expression compensatoire de *Msx2* n'est pas détectée (Figure 15) (Cha *et al.*, 2013).

Chez le wallaby de l'île Eugène, la réactivation nécessite le retrait du jeune allaité (baisse de la prolactine à la suite de l'élimination de la stimulation). Bien que *Msx1* ne soit pas détectable dans l'utérus du wallaby pendant la diapause, Cha *et al.* ont constaté que *Msx2* était robustement exprimé pendant la diapause avec une diminution progressive à la suite de la réactivation du blastocyste et son implantation 5 jours après le retrait du jeune de la poche. Ce modèle d'expression est prédominant dans l'épithélium de l'endomètre (ARNm et protéine *Msx2* fortement exprimées dans les épithéliums glandulaires et de surface au cours de la diapause). Lors de la réactivation embryonnaire, c'est d'abord dans l'épithélium de surface et des glandes superficielles que l'expression de la protéine *Msx2* s'efface (Figure 15) (Cha *et al.*, 2013).

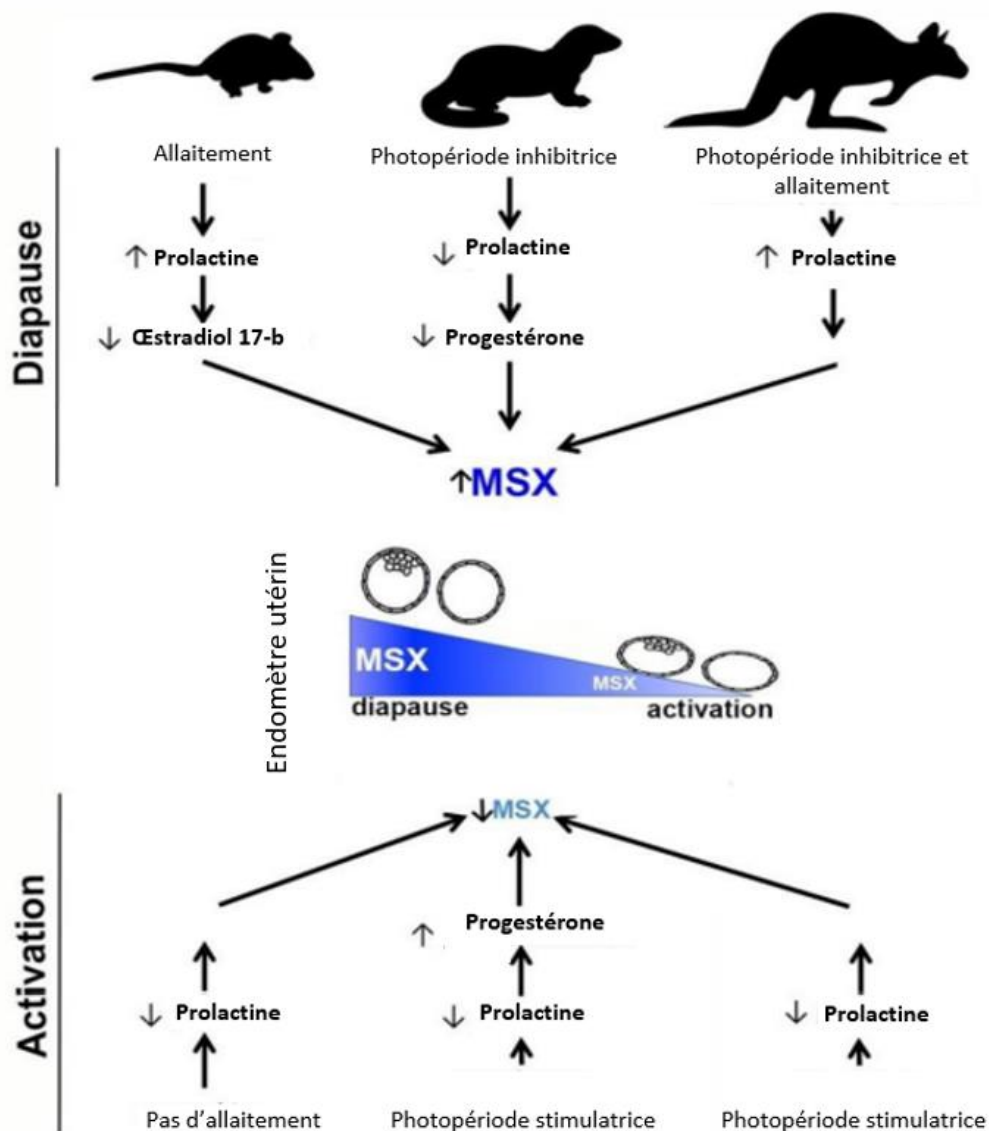


Figure 15 : Schéma du contrôle de la diapause et de la réactivation de l'embryon par Msx chez la souris, le wallaby de l'île Eugène et le vison (Fenelon *et al.*, 2020)

En comparant les protéomes de souris contrôle et *Msx1/Msx2 d/d*, Cha *et al.* ont constaté une expression différentielle de 448 protéines mesurant plus de 2 peptides au cours de la diapause chez la lignée mutante. L'analyse NPA (Network pathway analysis) de ces protéines a permis d'identifier plusieurs interactions entre des voies de signalisation inflammatoire, la principale étant la voie inflammatoire médiée par NFκB (nuclear factor kappa B), facteur de transcription impliqué dans la réponse immunitaire et la réponse au stress cellulaire (Cha *et al.*, 2015).

NFκB est un facteur de transcription qui régule de multiples aspects des fonctions immunitaires innées et adaptatives et qui sert de médiateur essentiel des réponses inflammatoires. Il induit l'expression de divers gènes pro-inflammatoires et participe à la régulation de l'inflammasome, un complexe protéique oligomérique impliqué dans l'immunité innée (T. Liu *et al.*, 2017). En étudiant cette voie inflammatoire, Cha *et al.* ont démontré qu'il y a une **augmentation de la phosphorylation de l'IKK** (IκB kinase), complexe enzymatique impliqué dans la propagation de la réponse inflammatoire, pendant la diapause chez les souris mutantes. La phosphorylation de IκB par IKK entraîne l'ubiquitination de IκB et **sa dégradation**, permettant à NFκB de se dissocier et de se transloquer vers le noyau pour activer la transcription des **médiateurs inflammatoires**. La présence accrue de NFκB nucléaire dans l'épithélium et le stroma sous-épithélial utérin est d'ailleurs observé, par immunolocalisation utérine, chez les souris mutantes. . Cox2 est également immuno-localisé dans l'épithélium luminal loin du site du blastocyste (Cha *et al.*, 2015).

Ainsi, ces résultats suggèrent que la hausse inflammatoire observée dans les utérus des souris mutantes *Msx1/Msx2 d/d* sont médiées par une augmentation de la voie de signalisation NFκB et que les gènes **MSX permettraient une inhibition de l'inflammation utérine**. Les réponses inflammatoires accrues étant délétères à un environnement utérin favorable à la diapause, **Msx permet le maintien de l'embryon en diapause** (Tableau III) (Cha *et al.*, 2013).

Msx est exprimé dans l'utérus de la souris, du vison et du wallaby de l'île Eugène pendant la diapause. Son expression doit cesser pour que la réactivation se produise. Des études de knock-out conditionnel chez la souris ont, en outre, montré que la présence de Msx dans l'épithélium luminal utérin est essentielle au maintien de la diapause en limitant réponse inflammatoire médiée par le stress (Cha *et al.*, 2013, 2015).

4.3. Effets en aval sur les blastocystes et les cellules souches

Comme souligné ci-dessus, un certain nombre de facteurs ont été impliqués dans l'induction, le maintien ou la libération de l'état de diapause. La façon dont ces facteurs agissent sur le blastocyste au niveau moléculaire n'est pas claire, bien que des études transcriptomiques et protéomiques récentes commencent à fournir quelques indices (Ajit *et al.*, 2021).

Par exemple, il a été démontré que la diapause chez les souris est associée à une diminution de l'expression des gènes de réplication de l'ADN. En utilisant des analyses de micro-réseaux de blastocystes de souris, il a été démontré que seulement 1 % des plus de 20 000 gènes examinés sont exprimés de manière différentielle, avec 80 gènes fortement

exprimés pendant la diapause et 149 gènes exprimés pendant la période d'incubation (Hamatani *et al.*, 2004).

L'analyse de l'ontologie génétique de ces 229 gènes a identifié le cycle cellulaire, la signalisation cellulaire, les molécules d'adhésion et les voies métaboliques parmi les principales catégories fonctionnelles. De même, 91 gènes sont régulés à la hausse dans le blastocyste de vison lors de la réactivation après la diapause (Fenelon *et al.*, 2016). Les données génétiques sont complétées par une analyse protéomique des blastocystes de souris pendant la diapause et après la réactivation (Fu *et al.*, 2014) qui a identifié plus de 2000 protéines régulant de manière différentielle de nombreux aspects de la biosynthèse, de la glycolyse, du métabolisme et du remodelage de la chromatine. Il serait intéressant de voir si ces facteurs, tant dans l'utérus que dans le blastocyste, jouent un rôle dans le contrôle de la diapause et de la réactivation.

La régulation à la baisse des protéines sécrétoires utérines pendant la diapause peut également permettre la régulation à la hausse de facteurs dans le blastocyste, qui sont capables d'induire et de maintenir d'autres aspects de la diapause, tels que le métabolisme basal, la biosynthèse et la pluripotence (Boroviak *et al.*, 2015), tout en maintenant sa viabilité. Les facteurs potentiels du blastocyste comprennent les membres de la famille des Forkhead box (FOXO) et les composants de la voie de l'inhibiteur 1A de la kinase dépendante de la cycline (CDKN1A) (Hamatani *et al.*, 2004; Fenelon *et al.*, 2017).

Les protéines FOXO sont importantes pour le maintien de la diapause chez les invertébrés et sont cruciales pour le maintien de la quiescence des cellules souches hématopoïétiques et neurales, ainsi que de la pluripotence des cellules souches embryonnaires (ESC) chez l'homme et la souris (Martins *et al.*, 2016). La forme activée des FOXO a été détectée dans les blastocystes de diapause de la souris, du wallaby de l'île Eugène et du vison, bien que leur fonction dans la diapause embryonnaire chez les mammifères ne soit pas encore claire (Fenelon *et al.*, 2017). Des résultats récents par analyse informatique propose que la signalisation de la prolactine peut inhiber FOXO3 directement ou indirectement par le biais des polyamines chez les espèces en diapause et signaler la réémergence de l'embryon de la diapause en reprenant la croissance cellulaire et le développement, même si cela doit être prouvé expérimentalement (Ajit *et al.*, 2021).

La voie d'inhibition du cycle cellulaire CDKN1A pourrait également jouer un rôle dans l'induction de l'arrêt mitotique pendant la diapause à la phase G0 ou G1 du cycle cellulaire (Lopes *et al.*, 2004). À l'appui de cette hypothèse, il a été démontré que les protéines sécrétrices utérines de la voie d'inhibition du cycle cellulaire CDKN1A, qui ont le potentiel d'induire l'arrêt du blastocyste en G0, sont présentes dans le fluide utérin du wallaby de l'île Eugène pendant la diapause (Martin *et al.*, 2016), bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour confirmer cette possibilité.

Les mécanismes cellulaires qui suspendent le développement de l'embryon de souris sont mal connus. Une hypothèse intéressante est que l'expression des gènes est atténuée par la dégradation des transcrits par les microARN (miARN) pendant la diapause, empêchant la traduction de l'ARNm en protéines essentielles au développement continu. Cette notion est

soutenue par l'observation récente selon laquelle quelque 38 miARN sont plus abondants dans le blastocyste en diapause, par rapport à son homologue activé (Liu et al., 2012). Cinq des neuf membres de la famille des microARN suppresseurs de tumeurs lethal-7 (let-7), qui régulent la prolifération cellulaire et inhibent la fixation, sont également régulés à la baisse lors de la réactivation. La surexpression d'un de ces miARN, Let-7a, dans des embryons de souris empêche l'implantation (Liu et al., 2012). Les cibles de Let-7a comprennent plusieurs gènes qui régulent la prolifération cellulaire (Gurtan et al., 2013) conformément à l'idée qu'il existe un épuisement d'éléments spécifiques nécessaires à la progression au-delà du stade de blastocyste (Fenelon et al., 2014) . (Liu et al., 2012).

Récemment, deux facteurs de signalisation en aval, à savoir MYC et la cible mécaniste de la rapamycine (mTOR), ont été identifiés comme étant capables d'induire un arrêt réversible du blastocyste de souris (Bulut-Karslioglu et al., 2016). L'absence de l'un ou l'autre de ces facteurs entraîne un certain nombre de caractéristiques de la diapause, notamment une réduction de la synthèse protéique et une répression transcriptionnelle. En outre, cette inhibition a un effet similaire sur les cellules souches embryonnaires de souris et entraîne un profil transcriptomique qui présente un certain nombre de similitudes avec celui des blastocystes de souris arrêtés, y compris la régulation à la baisse du métabolisme, de la biosynthèse et des voies d'expressions géniques. Il est intéressant de noter que suite à l'inhibition de MYC dans les cellules souches embryonnaires il faut environ 96 heures pour inhiber complètement la prolifération cellulaire, ce qui est similaire au délai de 3 jours observé dans les blastocystes de souris en diapause (McLaren, 1968 ; Spindler et al., 1996). En outre, l'inhibition de mTOR prolonge la survie des blastocystes in vitro pendant 9 à 12 jours, mais uniquement si les deux complexes mTOR (TORC1 et TORC2) sont inhibés (Bulut-Karslioglu et al., 2016).

Les avancées dans les technologies informatiques (NPA) permettent aujourd'hui de comparer les génome, transcriptome et protéome des blastocystes en diapause par rapport aux blastocystes réactivés. De nouvelles molécules exprimés différenciellement sont identifiées et doivent être testées en condition expérimentale avant de pouvoir confirmer l'importance de leur présence sur la diapause (Ajit et al. , 2021).

C. Régulation de la diapause par des facteurs cellulaires : arrêt du cycle cellulaire

L'embryon de mammifère se développe à partir du zygote par division et différenciation cellulaire. Le thème commun de la diapause est l'inhibition du cycle cellulaire mitotique dans les cellules embryonnaires, de sorte que la prolifération cesse ou est fortement réduite. Les cellules entrent dans un état quiescent et l'apoptose est empêchée

par le maintien du métabolisme basal, avec la synthèse des protéines et de l'ARN, ainsi que la consommation d'oxygène (Renfree and Shaw, 2000).

Kamemizu et Fujimori ont cultivé des embryons de souris *in vitro* et en utilisant l'imagerie en direct avec le marqueur de cycle cellulaire transgénique Fucci2 et la coloration Ki67 (Kamemizu and Fujimori 2019). Ils ont montré que l'arrêt du cycle cellulaire se produit d'abord dans le trophoblaste polaire, dans les régions du trophoctoderme embryonnaire et se propage à la masse cellulaire interne lorsque le blastocyste de souris entre en diapause.

On ne sait pas si les cellules cessent de se diviser au G0 ou au G1 du cycle cellulaire. Les résultats actuels suggèrent que le cycle cellulaire est progressivement arrêté à la phase G0 dans les stades ultérieurs de la diapause (Given, 1988). La quantification de l'ADN (Sherman and Barlow, 1972) suggère que l'arrêt dans les embryons de mammifères se produit avant la phase S du cycle cellulaire. L'absence d'absorption de 5-bromo-2-désoxyuridine par les embryons de vison en diapause (Desmarais *et al.*, 2004) soutient le cas de l'arrêt de G0/G1 chez cette espèce.

Ces caractéristiques, ainsi que la réversibilité de l'arrêt, sont les signes distinctifs de la quiescence classique (Renfree and Shaw, 2000). Les blastocystes de souris en diapause s'arrêteraient dans la phase G1 du cycle cellulaire (Sherman and Barlow, 1972), d'après les analyses du contenu en ADN des blastocystes de rats en diapause. Cependant, il n'est pas possible de faire la distinction entre G0 et G1 sur la seule base du contenu en ADN et il n'a pas encore été possible de déterminer si cet arrêt est réellement à G0, bien que cela semble probable d'après les études de quiescence dans d'autres types de cellules (Coller *et al.*, 2006). En outre, on ne sait pas comment cet arrêt induit une quiescence réversible dans le blastocyste plutôt qu'une différenciation terminale ou une apoptose (Coller *et al.*, 2006).

Récemment, une méthode utilisant mVenus, une protéine fluorescente, et une forme mutante de p27 (également connue sous le nom de CDKN1B) a été mise au point pour définir clairement la phase G0 de quiescence du cycle cellulaire, de sorte qu'il devrait être possible de caractériser le stade du cycle cellulaire non seulement des cellules quiescentes ou en diapause, mais aussi des cellules souches (Oki *et al.*, 2014).

Comprendre la quiescence du blastocyste en diapause constitue un enjeu. Actuellement les chercheurs supposent que le cycle cellulaire des embryons dormants est arrêté à la phase G1 ou G0.

D. Survie du blastocyste à l'état quiescent

En diapause l'embryon est libre dans l'utérus. Il n'obtient pas de soutien nutritionnel de la part de la mère comme c'est le cas lors de son développement post-implantatoire. Pourtant chez certaines espèces comme les wallabys de l'île Eugène, la diapause dure plus de 11 mois pendant lesquels il entretient une activité métabolique très ralentie pourtant existante. Il est légitime de se demander comment le blastocyste survient à ses besoins pendant cette période.

1. Autophagie

Au cours de la période quiescente, l'activité métabolique des blastocystes est ralentie mais, chez certaines espèces, une activité mitotique faible est conservée, la plupart du temps dans le trophoblaste. Comme vu préalablement, les blastocystes sont capables de reprendre leur activité et leur compétence d'implantation une fois que l'environnement utérin le permet.

L'autophagie est une voie catabolique cellulaire majeure et est le seul processus connu pour dégrader les organites intacts. C'est le principal mécanisme intracellulaire et de recyclage des protéines et des organites à longue durée de vie. Les environnements extracellulaires sous optimaux (privation de nutriments, hypoxie, surpeuplement) et le stress intracellulaire (accumulation de composants cytoplasmiques endommagés) induisent l'autophagie (Lee *et al.*, 2011).

Chez les mammifères, l'autophagie se produit également dans les processus physiologiques normaux (Mizushima and Levine, 2010). Elle est induite par un manque de nutriments ou de facteurs de croissance qui met en jeu invariablement un ensemble de gènes d'autophagie (*Atg*). L'autophagie est qualifiée « d'épée à double tranchant » dans certains contextes, car elle est nécessaire à la survie des cellules, mais des niveaux excessifs peuvent entraîner la mort cellulaire (Lim and Song, 2014)

En 2011, Lee et al ont formulé l'hypothèse que l'autophagie est activée pour la survie du blastocyste chez la souris pendant la période de dormance. Les profils d'expression génique des blastocystes dormants et activés ont montré que les composants de l'autophagie sont régulés positivement à la dormance, mais diminuent lors de l'activation du blastocyste (Hamatani *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2011).

Un ensemble de gènes d'autophagie (*Atg*) est invariablement nécessaire pour le processus. Pour la formation d'autophagosomes, deux enzymes *Atg7* E1 et *Atg10* E2 interviennent dans la conjugaison covalente de *Atg5* et *Atg12*. Une deuxième voie entraîne également la conjugaison de la phosphatidyléthanolamine à un résidu glycine de *Atg8* (chaîne légère 3) [*Atg8* (LC3)] par *Atg4*, *Atg7* et *Atg3*. La conjugaison lipidique conduit à la conversion de la forme soluble d'*Atg8* (LC3-I) en la forme associée à la vacuole autophagique (AV), LC3-II

(Mizushima, 2007). Les souris transgéniques à protéine fluorescente verte (GFP)-LC3, qui expriment de manière omniprésente la forme de fusion GFP de LC3, sont un modèle utile pour la surveillance *in vivo* de l'autophagie et leur étude a permis de mettre en évidence l'activation des gènes LC3 et Atg dans les blastocystes quiescents à la fois dans leur masse cellulaire interne et dans leur trophoblastes (Lee *et al.*, 2011).

Au moment de la réactivation des blastocystes de souris (12 heures après l'injection d'œstrogène), une régulation négative rapide de l'autophagie est observée dans les cellules de la MCI. Les auteurs ont ainsi supposé que les dommages cellulaires sont diminués dans ces cellules à l'origine de l'embryon (Lee *et al.*, 2011).

En injectant de la 3-méthyladénine, inhibiteur de la PIP3 (phosphoinositide 3-kinase de classe III) enzyme nécessaire à la formation et à la maturation des autophagosomes, les auteurs ont constaté une réduction significative du nombre de blastocystes dormants survivants à la diapause. Cette découverte soutient le rôle de l'autophagie dans la survie embryonnaire au cours de la diapause.

2. Rôle des gouttelettes lipidiques (GL) dans les embryons de mammifères en diapause

Les gouttelettes lipidiques (GL) sont stockées dans l'embryon pendant tout le développement pré-implantatoire chez une grande variété de mammifères. Jusqu'ici, le rôle de ces GL reste inconnu. Des données plus anciennes ont montré qu'elles n'étaient pas indispensables au développement. En effet, les embryons de porc dé-lipidés au stade une cellule continuant à se développer de manière normale (Nagashima *et al.*, 1995).

Arena *et al.* ont prouvé que les GL jouent un rôle crucial pour maintenir la diapause en mettant notamment en avant le fait que les blastocystes en diapause ne survivaient pas après le retrait des GL (Arena *et al.*, 2021).

Ils ont montré que les embryons en diapause présentent une libération accrue d'exosomes, petites vésicules qui une fois relâchées dans le milieu extracellulaire jouent un rôle important dans la communication intercellulaire, reflétant une signalisation embryonnaire élevée à la mère. Ils ont montré qu'au cours de la diapause embryonnaire, une diminution de la quantité de lipides est observée du fait d'un changement de métabolisme de l'embryon qui passe de la voie du métabolisme des glucides à celle du catabolisme des lipides pour créer de l'énergie. Le fait que la quantité de GL présente dans les ovocytes de divers mammifères soit en corrélation positive avec leur durée de diapause propre met encore plus en avant le rôle fonctionnel des GL dans la diapause (Figure 16) (Arena *et al.*, 2021).

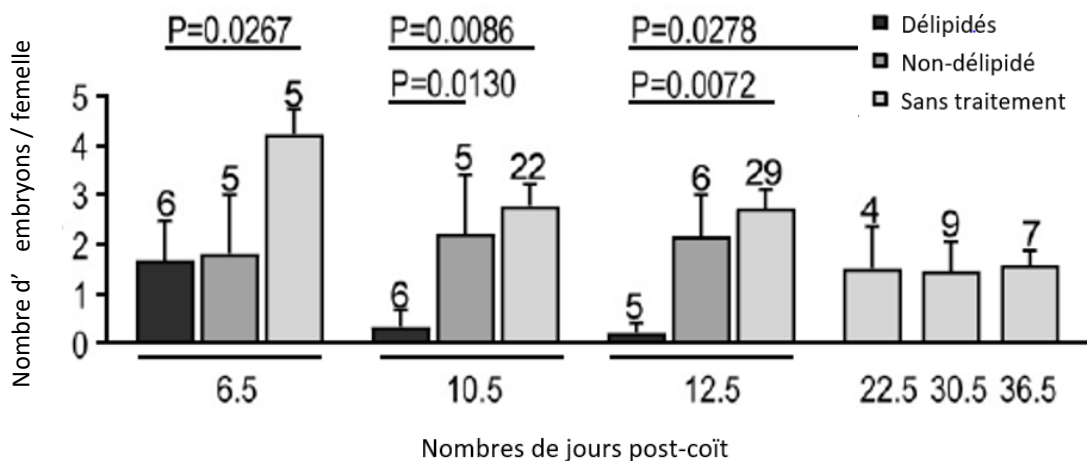


Figure 16 : Les embryons dépourvus de lipides sont incapables de survivre pendant la progression de la diapause embryonnaire(Arena *et al.*, 2021)

L'histogramme montre que seuls 3 (1,7 %) embryons dépourvus de lipides sur 176 transférés étaient encore présents dans l'utérus des femelles ovariectomisées à 10,5 et 12,5 jours post-coit. Parallèlement, des embryons non traités ont été recueillis dans l'utérus de souris ovariectomisées sans que leur survie ne diminue de manière significative jusqu'à 36,5 jours post-coit, ce qui implique un rôle crucial de la fraction lipidique dans l'extension du DE (démonstré dans la dernière partie de cette étude).

Les nombres au-dessus des colonnes indiquent le nombre de femelles portant des embryons en diapause. Les valeurs représentent la moyenne \pm SEM ; test de Mann-Whitney (Arena *et al.*, 2021).

En reliant ces informations avec la faculté des embryons en diapause à réaliser de l'autophagie, il peut être supposé que les blastocystes en diapause survivent grâce à la consommation des gouttelettes lipidiques stockées dans leur cytoplasme et qu'ils les catabolisent par autophagie.

CONCLUSION

Connue depuis le milieu du 19^{ème} siècle, la diapause embryonnaire se définit comme l'arrêt du développement de l'embryon au stade de blastocyste pour une durée variable et généralement dépendante de l'espèce. Elle serait une stratégie de reproduction élaborée chez les mammifères afin de permettre la production d'un nombre maximal de descendants au cours d'une saison sexuelle et le déroulement de la parturition lorsque les conditions environnementales sont les plus favorables à la survie de la progéniture. Par ailleurs, elle espace l'accouplement de la parturition, ce qui augmenterait le phénomène de compétition entre mâles et, ainsi, sélectionnerait les reproducteurs optimaux pour la femelle, notamment chez les espèces à faible densité de population. En ce qui concerne les animaux domestiques, le phénomène de diapause aurait été désactivé au cours de l'évolution, mais pourrait ne pas être totalement disparu.

La première description de la diapause embryonnaire chez un mammifère a été observée chez le chevreuil *Capreolus capreolus* en 1854, puis confirmée au début des années 1900. Depuis, le phénomène a été décrit chez plus de 130 espèces de mammifères de différents ordres et trois types de diapause ont ainsi pu être caractérisés : la diapause facultative de lactation chez les Rodentia (retard d'implantation induit par un stress métabolique, le plus souvent généré par la lactation), la diapause obligatoire chez les Carnivora (délai d'implantation à chaque gestation sous l'effet de la variation de luminosité saisonnière) et la diapause mixte des Marsupiala, combinaison des deux précédentes et variable en fonction de la période de l'année.

La régulation hormonale de la diapause, quel que soit son type, est régie par la prolactine, qui est libérée en réponse au stimulus de succion ou à la variation de la photopériode. Durant la diapause, la survie des blastocystes est assurée en consommant des gouttelettes lipidiques stockés dans le cytoplasme. Des protéines (FOXO) et des facteurs de signalisation (CNKN1A, MYC, mTOR) interviennent dans le maintien du stade quiescent. Lors de la réactivation embryonnaire, des facteurs de croissance (EGF, LIF, PAF, VEGF, polyamide) sont impliqués et un arrêt de l'expression des gènes de la famille MSX est observé chez la souris, le wallaby et le vison. Durant ce phénomène, une diminution des L microARN Let-7 est observée.

Si la régulation hormonale de la diapause est établie chez les principales espèces étudiées, les contrôles moléculaires et cellulaires sont encore en cours d'exploration. Une meilleure compréhension de la diapause présente un intérêt majeur en médecine. En effet, l'embryon réactivé et les cellules cancéreuses présentant de nombreuses similitudes. Ainsi, l'étude des voies de signalisation à l'origine de la quiescence cellulaire et de la reprise du cycle cellulaire chez les embryons pourrait mener à de nouvelles pistes thérapeutiques anti-cancéreuses. Des applications pratiques en médecine vétérinaire sont également envisageables, notamment chez les animaux de rente dans le cadre de transferts embryonnaires (conservation à court/moyen terme des embryons), ou encore dans la résolution de cas d'infertilité liés à des défauts d'implantation.

Bibliographie

Acar, N., Ustunel, I. and Demir, R. (2011) 'Uterine natural killer (uNK) cells and their missions during pregnancy: A review', *Acta Histochemica*, 113(2), pp. 82–91. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2009.12.001>.

Aghion, J. (1998) 'L'embryogènese précoce de la souris. Un exemple de flexibilité de développement', in *Biologie du développement Morphogénèse animale Unité et diversité des métazoaires*. Paris: ellipses, p. 113.

Aitken, R.J. (1974) 'Delayed implantaion in roe deer (*Capreolus capreolus*)', *Reproduction*, 39(1), pp. 225–233. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0390225>.

Aitken, R.J. (1977) 'Embryonic diapause', *Development in mammals, I*, pp. 307–359.

Ajit, K., Murphy, B.D. and Banerjee, A. (2021) 'Elucidating evolutionarily conserved mechanisms of diapause regulation using an *in silico* approach', *FEBS Letters*, 595(9), pp. 1350–1374. Available at: <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14064>.

Amstislavsky, S. (2009) *Reproductive Biology and Embryo Technology in Mustelidae*. thesis. Kuopio University, pp 48-49.

Amstislavsky, S., Brusentsev, E. and Kizilova, E. (2020) 'Delayed implantation combined with precocious sexual maturation in female offspring: a story of the stoat', *Bioscientifica Proceedings*, 10. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.10.014>.

Aoki, F., Worrall, D.M. and Schultz, R.M. (1997) 'Regulation of transcriptional activity during the first and second cell cycles in the preimplantation mouse embryo', *Developmental biology*, 181(2), pp. 296–307.

Appleton, R.D., Van Horn, R.C., Noyce, K.V., Spady, T.J., Swaisgood, R.R., Arcese, P., (2018) 'Phenotypic plasticity in the timing of reproduction in Andean bears', *Journal of Zoology*, 305(3), pp. 196–202. Available at: <https://doi.org/10.1111/jzo.12553>.

Arena, R., Bisogno, S., Gasior, L., Rudnicka, J., Bernhardt, L., Haaf, T., Zacchini, F., Bochenek, M., Fic, K. Bik, E., (2021) 'Lipid droplets in mammalian eggs are utilized during embryonic diapause', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(10)

Atkinson, S. (1997) 'Reproductive biology of seals', *Reviews of Reproduction* 2, pp. 175–194.

Bachvarova, R. (1985) 'Gene expression during oogenesis and oocyte development in mammals', *Oogenesis*, pp. 453–524.

Baevskii, I.B. (1967) 'Cyto-and karyometric investigation of blastocysts of the mole (*Talpa altaica*) at the period of diapause', *Doklady Akademii nauk SSSR*, 176(5), pp. 1198–1200.

Barcroft, L.C. *et al.* (2003) 'Aquaporin proteins in murine trophoblast mediate transepithelial water movements during cavitation', *Developmental biology*, 256(2), pp. 342–354.

- Beier, H.M. *et al.* (1991) 'Dissociation of corpus luteum, endometrium and blastocyst in human implantation research', *Reproduction*, 92(2), pp. 511–523. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0920511>.
- Bendall, A.J. and Abate-Shen, C. (2000) 'Roles for Msx and Dlx homeoproteins in vertebrate development', *Gene*, 247(1–2), pp. 17–31. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00081-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00081-0).
- Benos, D.J. and Balaban, R.S. (1980) 'Energy Requirements of the Developing Mammalian Blastocyst for Active Ion Transport', *Biology of reproduction* 23, 941-947, p. 7.
- Berger, P.J. (1966) 'Eleven-month "Embryonic Diapause" Marsupial', *Nature*, 211(5047), pp. 435–436. Available at: <https://doi.org/10.1038/211435a0>.
- Bernal-Ulloa, S.M. *et al.* (2020) 'Embryonic diapause modulates ovarian follicular dynamics and oocyte quality in the European roe deer (*Capreolus capreolus*)', *Bioscientifica Proceedings*, 10. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.10.015>.
- Bertram GCL. The biology of the Weddell and Crabeater seals with a study of the comparative behaviour of the Pinnipedia. In: Graham Land Expedition, 1934-1397 Scientific Reports, vol. 1. London, U.K.: Order of the Trustees of the British Museum; 1940:1–139
- Bhagwat, S.R. *et al.* (2013) 'Endometrial Receptivity: A Revisit to Functional Genomics Studies on Human Endometrium and Creation of HGEx-ERdb', *PLoS ONE*. Edited by M. Koval, 8(3). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058419>.
- Bhatt, H., Brunet, L.J. and Stewart, C.L. (1991) 'Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(24), pp. 11408–11412. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.88.24.11408>.
- Bisogno, S. *et al.* (2020) 'Lipid droplet utilization by the mouse embryo', *Bioscientifica Proceedings*, 10, pp 140-146. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.10.009>.
- Boroviak, T. *et al.* (2015) 'Lineage-specific profiling delineates the emergence and progression of naive pluripotency in Mammalian Embryogenesis', *Developmental Cell*, 35(3), pp. 366–382. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.10.011>.
- Boyd, I.L. (1984) 'The relationship between body condition and the timing of implantation in pregnant grey seals (*Halichoerus grypus*)', *Journal of Zoology*, 203(1), pp. 113–123.
- Boyd, I.L. (1991a) 'Changes in plasma progesterone and prolactin concentrations during the annual cycle and the role of prolactin in the maintenance of lactation and luteal development in the Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*)', *Reproduction*, 91(2), pp. 637–647.
- Boyd, I.L. (1991b) 'Environmental and physiological factors controlling the reproductive cycles of pinnipeds', *Canadian Journal of Zoology*, 69(5), pp. 1135–1148.
- Brambell, R. (1935) 'Reproduction in the common shrew (*Sorex araneus* Linnaeus) I-The oestrous cycle of the female'. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* (225) :pp. 1–49. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.1935.0005>.

- Brinklow, B. and Loudon, A. (1993) 'Gestation periods in the Pere David's deer (*Elaphurus davidianus*): evidence for embryonic diapause or delayed development', *Reproduction, Fertility and Development*, 5 (5), p. 567. Available at: <https://doi.org/10.1071/RD9930567>.
- Brown, N. *et al.* (2004) 'Embryo-uterine interactions via the neuregulin family of growth factors firing implantation in the mouse'. *Biology of Reproduction* (71) pp.2003-2011. DOI: 10.1095/biolreprod.104.031864
- Brzezinski, A. (1997) 'Melatonin in Humans', *The New England journal of medicine*, 336, pp. 186–95. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJM199701163360306>.
- Buchanan, G.D., Enders, A.C. and Talmage, R.V. (1956) 'Implantation in armadillos ovariectomized during the period of delayed implantation', *The Journal of Endocrinology*, 14(2), pp. 121–128. Available at: <https://doi.org/10.1677/joe.0.0140121>.
- Bulut-Karslioglu, A. *et al.* (2016) 'Inhibition of mTOR induces a paused pluripotent state', *Nature*, 540(7631), pp. 119–123. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature20578>.
- Cai, L., Zhang, J. and Duan, E. (2003) 'Dynamic distribution of epidermal growth factor during mouse embryo peri-implantation', *Cytokine*, 23(6), pp. 170–178. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1043-4666\(03\)00222-9](https://doi.org/10.1016/S1043-4666(03)00222-9).
- Canivenc, R. (1960) 'L'ovo-implantation différée des animaux sauvages', *Les fonctions de Nidation Utérine et leurs Troubles*, pp. 33–68.
- Canivenc, R. and Bonnin, M. (1979) 'Delayed implantation is under environmental control in the badger (*Meles meles* L.)', *Nature*, 278(5707), pp. 849–850. Available at: <https://doi.org/10.1038/278849a0>.
- Canivenc, R. and Bonnin, M. (1981) 'Environmental control of delayed implantation in the European badger (*Meles meles*)', *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 29, pp. 25–33.
- Canivenc, R. and Bonnin-Laffargue, M. (1963) 'Inventory of problems raised by the delayed ova implantation in the European badger (*Meles meles* L.)', *Delayed implantation*, pp. 115–128.
- Canivenc, R. and Laffargue, M. (1956) 'Présence de blastocystes libres intra-utérins au cours de la lactation chez le blaireau européen (*Meles meles*)', *Comptes rendus des séances de la société de Biologie et de ses filiales*, 150(6), pp. 1193–1196.
- Canivenc, R., Relexans, M. and Bonnin-Laffargue, M. (1962) 'Endocrinologie- sensibilité de l'ovaire du blaireau aux hormones gonadotropes', *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie des sciences*, 254(9), p. 1677.
- Cao, X. *et al.* (2019) 'Transcriptome Changes in the Mink Uterus during Blastocyst Dormancy and Reactivation', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), p. 2099. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms20092099>.
- Capalbo, A. *et al.* (2016) 'MicroRNAs in spent blastocyst culture medium are derived from trophoblast cells and can be explored for human embryo reproductive competence assessment', *Fertility and sterility*, 105(1), pp. 225–235.

- Carson, D.D. *et al.* (2000) ‘Embryo Implantation’, *Developmental Biology*, 223(2), pp. 217–237. Available at: <https://doi.org/10.1006/dbio.2000.9767>.
- Carson, R.D. (1912) ‘Retarded development in a red kangaroo’, in *Proceeding of the Zoological Society of London*, pp. 234–235.
- Cha, J. *et al.* (2013) ‘A new role for *muscle segment homeobox* genes in mammalian embryonic diapause’, *Open Biology*, 3(4), p. 130035. Available at: <https://doi.org/10.1098/rsob.130035>.
- Cha, J. *et al.* (2015) ‘Muscle Segment Homeobox Genes Direct Embryonic Diapause by Limiting Inflammation in the Uterus’, *Journal of Biological Chemistry*, 290(24), pp. 15337–15349. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.655001>.
- Cha, J. *et al.* (2020) ‘A role for *Msx* genes in mammalian embryonic diapause’, *Bioscientifica Proceedings* .pp 44-51 Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciprocs.10.002>.
- Cha, J. and Dey, S.K. (2014) ‘Cadence of procreation: Orchestrating embryo–uterine interactions’, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 34, pp. 56–64. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.05.005>.
- Cha, J., Sun, X. and Dey, S. (2012) ‘Mechanisms of implantation: Strategies for successful pregnancy’, *Nature medicine*, 18, pp. 1754–1767. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm.3012>.
- Chami, O. *et al.* (1999) ‘Platelet-activating factor may act as an endogenous pulse generator for sheep of luteolytic PGF₂arelease’, *The American journal of physiology*, 276, pp. E783-92. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1999.276.4.E783>.
- Chang, M.C. (1968) ‘Reciprocal insemination and egg transfer between ferrets and mink’, *Journal of Experimental Zoology*, 168(1), pp. 49–59. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1401680105>.
- Chen, J.R. *et al.* (2000) ‘Leukemia Inhibitory Factor Can Substitute for Nidatory Estrogen and Is Essential to Inducing a Receptive Uterus for Implantation But Is Not Essential for Subsequent Embryogenesis¹’, *Endocrinology*, 141(12), pp. 4365–4372. Available at: <https://doi.org/10.1210/endo.141.12.7855>.
- Chen, Y. *et al.* (2006) ‘Global analysis of differential luminal epithelial gene expression at mouse implantation sites’, *Journal of molecular endocrinology*, 37(1), pp. 147–161.
- Chobotova, K. *et al.* (2002) ‘Heparin-binding epidermal growth factor and its receptor ErbB4 mediate implantation of the human blastocyst’, *Mechanisms of Development*, 119(2), pp. 137–144. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(02\)00342-8](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(02)00342-8).
- Clamon Schulz, L. *et al.* (2003) ‘Induction of pseudopregnancy in the American Black Bear (*Ursus americanus*)’, *Journal of Experimental Zoology*, 298A(2), pp. 162–166. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.a.10269>.
- Clutter, M.E. (1978) *Dormancy and Developmental Arrest: Experimental Analysis in Plants and Animals*. Elsevier.

Cockburn, K. and Rossant, J. (2010) 'Making the blastocyst: lessons from the mouse', *Journal of Clinical Investigation*, 120(4), pp. 995–1003. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI41229>.

Coller, H.A., Sang, L. and Roberts, J.M. (2006) 'A New Description of Cellular Quiescence', *PLoS Biology*. Edited by S. Elledge, 4(3), p.83. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040083>.

Comizzoli, P. (2020) 'New directions to understand and learn from embryonic diapause in mammals', *Bioscientifica Proceedings*, 10, p.230-236. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciprocs.10.016>.

Conaway, C.H. (1971) 'Ecological adaptation and mammalian reproduction', *Biology of Reproduction*, 4(3), pp. 239–247. Available at: <https://doi.org/10.1093/biolreprod/4.3.239>.

Cowell, T.P. (1969) 'Implantation and development of mouse eggs transferred to the uteri of non-progestational mice', *Reproduction*, 19(2), pp. 239–245. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0190239>.

Daikoku, T. *et al.* (2011) 'Conditional deletion of Msx homeobox genes in the uterus inhibits blastocyst implantation by altering uterine receptivity', *Developmental cell*, 21(6), pp. 1014–1025.

Daniel, J. and Joseph, C. (1975) 'Concentrations of Circulating Progesterone During Early Pregnancy in the Northern Fur Seal, *Callorhinus ursinus*', *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32(1), pp. 65–66. Available at: <https://doi.org/10.1139/f75-008>.

Daniel, J.C. (1971) 'Growth of the preimplantation embryo of the northern fur seal and its correlation with changes in uterine protein', *Developmental Biology*, 26(2), pp. 316–322. Available at: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(71\)90130-8](https://doi.org/10.1016/0012-1606(71)90130-8).

Daniel, J.C. (1981) 'Delayed implantation in the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) and other pinnipeds', *Journal of reproduction and fertility Supplement*, 29, pp. 35–50.

Daniel, J.F. (1910) 'Observations on the period of gestation in white mice', *Journal of Experimental Zoology*, 9(4), pp. 865–870. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1400090407>.

Das, S. K. *et al.* (1994) 'Heparin-binding EGF-like growth factor gene is induced in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of its apposition: a possible ligand for interaction with blastocyst EGF-receptor in implantation', *Development (Cambridge, England)*, 120(5), pp. 1071–1083. Available at: <https://doi.org/10.1242/dev.120.5.1071>.

De Vries, W.N. *et al.* (2004) 'Maternal β -catenin and E-cadherin in mouse development'. *Development* 131 (18), p.4435-4446

De Ziegler, D. *et al.* (1998) 'The hormonal control of endometrial receptivity: estrogen (E2) and progesterone' Paper presented at the workshop on Paracrine Mechanisms in Female Reproduction, Seville, Spain, June 1997.1', *Journal of Reproductive Immunology*, 39(1), pp. 149–166. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0165-0378\(98\)00019-9](https://doi.org/10.1016/S0165-0378(98)00019-9).

Deng, L. *et al.* (2018) 'Research advances on embryonic diapause in mammals'. Available at: <https://sci-hub.hkvisa.net/10.1016/j.anireprosci.2018.09.009> (Accessed: 25 August 2022).

Desmarais, J.A. *et al.* (2004) 'The Escape of the Mink Embryo from Obligate Diapause1', *Biology of Reproduction*, 70(3), pp. 662–670. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.023572>.

Dey, S. *et al.* (2004) 'Molecular Cues to Implantation', *Endocrine reviews*, 25, pp. 341–73. Available at: <https://doi.org/10.1210/er.2003-0020>.

Diao, H.-L. *et al.* (2008) 'Effects of androgen on embryo implantation in the mouse delayed-implantation model', *Fertility and Sterility*, 90(4), pp. 1376–1383. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.07.1341>.

Douglas, D.A. *et al.* (1997) 'Luteal and placental characteristics of carnivore gestation: expression of genes for luteotrophic receptors and steroidogenic enzymes.', *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 51, pp. 153–166.

Douglas, D.A. *et al.* (1998) 'Luteotropic Hormone Receptors in the Ovary of the Mink (*Mustela vison*) during Delayed Implantation and Early-Postimplantation Gestation', *Biology of Reproduction*, 59(3), pp. 571–578. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod59.3.571>.

Ducibella, T. *et al.* (1977) 'Changes in cell surface and cortical cytoplasmic organization during early embryogenesis in the preimplantation mouse embryo', *The Journal of cell biology*, 74(1), pp. 153–167.

Duranthon, V. (2019) 'La période préimplantatoire du développement des mammifères: la souris est-elle un bon modèle?', *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 172(1), pp. 77–82. Available at: <https://doi.org/10.4267/2042/70669>.

Dyce, J. *et al.* (1987) 'Do trophectoderm and inner cell mass cells in the mouse blastocyst maintain discrete lineages?', *Development*, 100(4), pp. 685–698.

Emerson, M. *et al.* (2000) 'Characterization and Functional Significance of Calcium Transients in the 2-Cell Mouse Embryo Induced by an Autocrine Growth Factor', *Journal of Biological Chemistry*, 275(29), pp. 21905–21913. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M001719200>.

Enders, A.C. (1966) 'The reproductive cycle of the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*)', in *Symposia of the Zoological Society of London*, pp. 295–310.

Enders, A.C. *et al.* (1986) 'Morphological Changes in the Blastocyst of the Western Spotted Skunk during Activation from Delayed Implantation1', *Biology of Reproduction*, 34(2), pp. 423–437. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod34.2.423>.

Enders, A.C. and Mead, R.A. (1996) 'Progression of trophoblast into the endometrium during implantation in the western spotted skunk', *The Anatomical Record*, 244(3), pp. 297–315. Available at: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199603\)244:3<297::AID-AR3>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199603)244:3<297::AID-AR3>3.0.CO;2-W).

Enders, R.K., Pearson, O.P. and Pearson, A.K. (1946) 'Certain aspects of reproduction in the fur seal', *The Anatomical Record*, 94(2), pp. 213–227. Available at: <https://doi.org/10.1002/ar.1090940208>.

Fawcett, D.W. (1950) 'The development of mouse ova under the capsule of the kidney.', *Anatomical Record*, 108, pp. 71–91.

Fawcett, D.W., Wislocki, G.B. and Waldo, C.M. (1947) 'The development of mouse ova in the anterior chamber of the eye and in the abdominal cavity', *American Journal of Anatomy*, 81(3), pp. 413–443.

Fay, F.H. (1982) Ecology and biology in the pacific walrus, *Odobenus rosmarus divergens illiger*. Washington DC : United States Department of the interior Fish and Wildlife service 1-279.

Fenelon, J. *et al.* (2014) 'Paf receptor expression in the marsupial embryo and endometrium during embryonic diapause', *Reproduction (Cambridge, England)*, 147 p.21-31. Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-13-0140>.

Fenelon, J. *et al.* (2020) 'Conserved mechanisms for putting pregnancy on hold in the mouse, mink and tammar wallaby', *Bioscientifica Proceedings* , p.52-64. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.10.003>.

Fenelon, J.C. *et al.* (2016) 'Polyamine-Mediated Effects of Prolactin Dictate Emergence from Mink Obligate Embryonic Diapause', *Biology of Reproduction*, 95(1), pp. 6–6. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.139204>.

Fenelon, J.C. *et al.* (2017) 'Regulation of diapause in carnivores.', *Reproduction in Domestic Animals* 52 Supl 12-17.

Fenelon, J.C., Banerjee, A. and Murphy, B.D. (2014) 'Embryonic diapause: development on hold', *The International Journal of Developmental Biology*, 58(2-3-4), pp. 163–174. Available at: <https://doi.org/10.1387/ijdb.140074bm>.

Fenelon, J.C. and Murphy, B.D. (2017) 'Inhibition of polyamine synthesis causes entry of the mouse blastocyst into embryonic diapause†', *Biology of Reproduction*, 97(1), pp. 119–132. Available at: <https://doi.org/10.1093/biolre/iox060>.

Fenelon, J.C. and Murphy, B.D. (2019) 'Culture of Mink Preimplantation Embryos', in J.R. Herrick (ed.) *Comparative Embryo Culture*. New York, NY: Springer New York (Methods in Molecular Biology), pp. 269–277. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9566-0_19.

Fenelon, J.C. and Renfree, M.B. (2018) 'The history of the discovery of embryonic diapause in mammals', *Biology of Reproduction*, 99(1), pp. 242–251. Available at: <https://doi.org/10.1093/biolre/ioy112>.

Ferguson, S., Virgl, J. and Larivière, S. (1996) 'Evolution of delayed implantation and associated grade shifts in life history traits of North American carnivores', *Ecoscience*, 3 p.7-17.

Finnerty, J.R., Mazza, M.E. and Jezewski, P.A. (2009) 'Domain duplication, divergence, and loss events in vertebrate Msx paralogs reveal phylogenomically informed disease markers', *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), p. 18. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-18>.

Fischer, E. (1931) 'Die entwicklungsgeschichte des dachses und die frage der zwillingsbildung'. *Verb d Anat Ges erganzungsheft* 1931; 72s:22–34..

Fleming, T.P. *et al.* (1986) 'The generation of cell surface polarity in mouse 8-cell blastomeres: the role of cortical microfilaments analysed using cytochalasin D'. *The Journal of Cell Biology* 108, p.1406-1418.

Fleming, T.P. *et al.* (1989) 'Development of tight junctions de novo in the mouse early embryo: control of assembly of the tight junction-specific protein, ZO-1.', *Journal of Cell Biology*, 108(4), pp. 1407–1418. Available at: <https://doi.org/10.1083/jcb.108.4.1407>.

Fleming, T.P. *et al.* (1993) 'Localisation of tight junction protein cingulin is temporally and spatially regulated during early mouse development', *Development*, 117(3), pp. 1135–1144.

Fleming, T.P. and Pickering, S.J. (1985) 'Maturation and polarization of the endocytotic system in outside blastomeres during mouse preimplantation development', *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 89, p.175-208.

Fletcher, T.P., Shaw, G. and Renfree, M.B. (1990) 'Effects of bromocriptine at parturition in the tammar wallaby, *Macropus eugenii*', *Reproduction, Fertility and Development*, 2(1), pp. 79–88. Available at: <https://doi.org/10.1071/rd9900079>.

Foresman, K.R. and Mead, R.A. (1978) 'Luteal Control of Nidation in the Ferret (*Mustela putorius*)¹', *Biology of Reproduction*, 18(3), pp. 490–496. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod18.3.490>.

Friebe, A. *et al.* (2014) 'Factors Affecting Date of Implantation, Parturition, and Den Entry Estimated from Activity and Body Temperature in Free-Ranging Brown Bears', *PLoS ONE*, 9(7), p.e101410. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101410>.

Fries, S (1880) 'Uber die Fortpflanzung von *Meles taxus*', *Zoologischer Anzeiger*, 3, 486-492 [Preprint].

Fu, Z. *et al.* (2014) 'Integral Proteomic Analysis of Blastocysts Reveals Key Molecular Machinery Governing Embryonic Diapause and Reactivation for Implantation in Mice¹', *Biology of Reproduction*, 90(3):52, 1-11. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.115337>.

Gales, N.J. *et al.* (1997) 'Evidence for a prolonged postimplantation period in the Australian sea lion (*Neophoca cinerea*)', *Reproduction*, 111(2), pp. 159–163. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1110159>.

Gales, N.J. and Costa, D.P. (1997) 'The Australian sea lion: a review of an unusual life history', *Marine mammal research in the Southern Hemisphere*, 1, pp. 78–87.

Gellersen, B. and Brosens, J.J. (2014) 'Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure', *Endocrine reviews*, 35(6), pp. 851–905.

Given, R.L. (1988) 'DNA synthesis in the mouse blastocyst during the beginning of delayed implantation', *Journal of Experimental Zoology*, 248(3), pp. 365–370. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1402480316>.

- Gordon, K. *et al.* (1987) ‘Hypothalamo-pituitary portal blood concentrations of β -endorphin during suckling in the ewe’, *Reproduction*, 79(2), pp. 397–408. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0790397>.
- Guillomot, M. (2001) ‘L’implantation du blastocyste’, *La reproduction chez les mammifères et l’homme*. Ellipses. Paris: INRA, pp. 457–476.
- Gulyas, B.J. and Daniel, J.C. (1967) ‘Oxygen consumption in diapausing blastocysts’, *Journal of Cellular Physiology*, 70(1), pp. 33–36. Available at: <https://doi.org/10.1002/jcp.1040700105>.
- H. Ferguson, S., W. Higdon, J. and Larivière, S. (2006) ‘Does seasonality explain the evolution and maintenance of delayed implantation in the family Mustelidae (Mammalia: Carnivora)?’, *Oikos*, 114(2), pp. 249–256. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14670.x>.
- Hamatani, T. *et al.* (2004) ‘Global gene expression analysis identifies molecular pathways distinguishing blastocyst dormancy and activation’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(28), pp. 10326–10331. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0402597101>.
- Hamlett, G.W.D. (1929) ‘Delayed implantation in the mammals, and its supposed relationship to polyembryony’, *Anatomical Record*, 44, p. 251.
- Hamlett, G.W.D. (1932a) ‘Observations on the embryology of the badger’, *The Anatomical Record*, 53(3), pp. 283–303. Available at: <https://doi.org/10.1002/ar.1090530303>.
- Hamlett, G.W.D. (1932b) ‘The reproductive cycle in the armadillo’, *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 141, pp. 143–157.
- Hamlett, G.W.D. (1935a) ‘Delayed Implantation and Discontinuous Development in the Mammals’, *The Quarterly Review of Biology*, 10(4), pp. 432–447. Available at: <https://doi.org/10.1086/394493>.
- Handyside, A.H. (1978) ‘Time of commitment of inside cells isolated from preimplantation mouse embryos’ *Development* 45 (1): 37–53.
- Hannan, N.J. *et al.* (2011) ‘Analysis of Fertility-Related Soluble Mediators in Human Uterine Fluid Identifies VEGF as a Key Regulator of Embryo Implantation’, *Endocrinology*, 152(12), pp. 4948–4956. Available at: <https://doi.org/10.1210/en.2011-1248>.
- Hardy, K. and Spanos, S. (2002) ‘Growth factor expression and function in the human and mouse preimplantation embryo’, *Journal of Endocrinology*, 172(2), pp. 221–236. Available at: <https://doi.org/10.1677/joe.0.1720221>.
- Harrison, R.J. (1963) ‘A comparison of factors involved in delayed implantation in badgers and seals in Great Britain’, *Delayed implantation*, pp. 99–114.
- Harrison, R.J. and Neal, E.G. (1956) ‘Ovulation During Delayed Implantation and other Reproductive Phenomena in the Badger (*Meles Meles* L.)’, *Nature*, 177(4517), pp. 977–979. Available at: <https://doi.org/10.1038/177977a0>.

Hearn, J.P. (1974) 'The pituitary gland and implantation in the tammar wallaby, *Macropus eugenii*', *Reproduction*, 39(1), pp. 235–241. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0390235>.

Herbst, G. (1873) 'Wann ranzt der Dachs', *Aus d. Walde* .

Hinds, L.A. (1994) 'Prolactin, a hormone for all seasons: endocrine regulation of seasonal breeding in the Macropodidae.' *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 16, p. 247-299

Hirzel, D.J. *et al.* (1999) 'Changes in Uterine Expression of Leukemia Inhibitory Factor during Pregnancy in the Western Spotted Skunk¹', *Biology of Reproduction*, 60(2), pp. 484–492. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.2.484>.

Homer, H., Rice, G.E. and Salomon, C. (2017) 'Embryo- and endometrium-derived exosomes and their potential role in assisted reproductive treatments—liquid biopsies for endometrial receptivity', *Placenta*, 54, pp. 89–94.

Hondo, E. and Stewart, C.L. (2004) 'Profiling gene expression in growth-arrested mouse embryos in diapause'. *Genome Biology* 6:202

Houliston, E. and Maro, B. (1989) 'Posttranslational modification of distinct microtubule subpopulations during cell polarization and differentiation in the mouse preimplantation embryo.', *The Journal of cell biology*, 108(2), pp. 543–551.

Huang, J. *et al.* (2017) 'A comparison of transcriptomic profiles in endometrium during window of implantation between women with unexplained recurrent implantation failure and recurrent miscarriage', *Reproduction*, 153(6), pp. 749–758.

Hyafil, F. *et al.* (1980) 'A cell surface glycoprotein involved in the compaction of embryonal carcinoma cells and cleavage stage embryos', *Cell*, 21(3), pp. 927–934.

Johnson, M.H. and Maro, B. (1984) 'The distribution of cytoplasmic actin in mouse 8-cell blastomeres'. *Development* 82 (1): 97–117. Available at: <https://doi.org/10.1242/dev.82.1.97>

Johnson, M.H. and Ziomek, C.A. (1981) 'The foundation of two distinct cell lineages within the mouse morula', *Cell*, 24(1), pp. 71–80.

Judin, B.S. (1974) 'Reproduction of *Asioscalops altaica* Nikolsky, 1883', *Acta Theriologica*, 19, pp. 355–365, plates 7-9. Available at: <https://doi.org/10.4098/AT.arch.74-27>.

King, H.D. (1913) 'Some anomalies in the gestation of the albino rat (*Mus norvegicus albinus*)', *Biological Bulletin* XXIV (6) p. 377-391.

Kirby, D.R.S. (1963) 'Development of the mouse blastocyst transplanted to the spleen', *Journal of Reproduction and Fertility* 5, pp. 1–12.

Kirkham, W.B. (1916) 'The prolonged gestation period in suckling mice', *The Anatomical Record*, 11(2), pp. 31–40. Available at: <https://doi.org/10.1002/ar.1090110202>.

Knott, K.K. *et al.* (2013) 'Fecal estrogen, progestagen and glucocorticoid metabolites during the estrous cycle and pregnancy in the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*): evidence for

delayed implantation', *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(1), p. 83. Available at: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-83>.

Kojima, T. *et al.* (1993) 'Production and secretion of progesterone in vitro and presence of platelet activating factor (PAF) in early pregnancy of the marsupial, *Macropus eugenii*', *Reproduction, Fertility and Development*, 5(1), p. 15. Available at: <https://doi.org/10.1071/RD9930015>.

Kong, S. and Wang, H. (2020) 'Transcriptome analysis of blastocysts acquiring implantation competency in mice', *Bioscientifica Proceedings*, 10, p.148-155. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.10.010>.

Kurian, N.K. and Modi, D. (2019) 'Extracellular vesicle mediated embryo-endometrial cross talk during implantation and in pregnancy', *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 36(2), pp. 189–198. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1343-x>.

Lack, D. (1954) 'The natural regulation of animal numbers', *Oxford University press* 343p.

Lataste, F. (1887) *Notes prises au jour le jour sur différentes esp@eces de l'ordre des rongeurs observées en captivité*. [S.l. : s.n.]. Available at: <http://archive.org/details/notesprisesaujou00lata> (Accessed: 1 October 2022).

Lataste, F. (1891) 'Des variations de durée de la gestation chez les mammifères et des circonstances qui déterminent ces variations', *Mémento de la Société de Biologie*, 43, pp. 21–31.

Lee, J.-E. *et al.* (2011) 'Autophagy Regulates Embryonic Survival During Delayed Implantation', *Endocrinology*, 152(5), pp. 2067–2075. Available at: <https://doi.org/10.1210/en.2010-1456>.

Lefèvre, P.L.C., Palin, M.-F., Chen, G., *et al.* (2011) 'Polyamines Are Implicated in the Emergence of the Embryo from Obligate Diapause', *Endocrinology*, 152(4), pp. 1627–1639. Available at: <https://doi.org/10.1210/en.2010-0955>.

Lefèvre, P.L.C., Palin, M.-F., Beaudry, D., *et al.* (2011) 'Uterine signaling at the emergence of the embryo from obligate diapause', *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 300(5), pp. E800–E808. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00702.2010>.

Lemiere (2021) ' *Phénologie de la reproduction chez l'ours brun de scandinavie (ursus arctos) : facteurs influençant la fin de la diapause embryonnaire et conséquences sur le succès reproducteur*'. thesis. Vetagrosup campus vétérinaire. Available at: http://www2.vetagrosup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2021lyon088.pdf.

Li, L. *et al.* (1999) 'Estrogen effects on platelet-activating factor and platelet-activating factor acetylhydrolase activity in rat uterus during the late stages of pregnancy', *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 57(4), pp. 219–230. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0090-6980\(99\)00005-2](https://doi.org/10.1016/S0090-6980(99)00005-2).

Lim, H., Das, S.K. and Dey, S.K. (1998) 'erbBGenes in the Mouse Uterus: Cell-Specific Signaling by Epidermal Growth Factor (EGF) Family of Growth Factors during Implantation',

Developmental Biology, 204(1), pp. 97–110. Available at: <https://doi.org/10.1006/dbio.1998.9072>.

Lim, H.J. *et al.* (2020) ‘Autophagy and multivesicular body formation in blastocysts during the experimental diapause in mice’, *Bioscientifica Proceedings*, 10, p. 156-164. Available at: <https://doi.org/10.1530/bioscipros.10.011>.

Lim, H.J. and Song, H. (2014) ‘Evolving tales of autophagy in early reproductive events’, *International Journal of Developmental Biology*, 58(2-3-4), pp. 183–187. Available at: <https://doi.org/10.1387/ijdb.130337hl>.

Lindenfors, P., Dalèn, L. and Angerbjörn, A. (2003) ‘The monophyletic origin of delayed implantation in carnivores and its implications’, *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 57(8), pp. 1952–1956. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00601.x>.

Liu, S. *et al.* (2017) ‘The role of decidual immune cells on human pregnancy’, *Journal of Reproductive Immunology*, 124, pp. 44–53. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2017.10.045>.

Liu, T. *et al.* (2017) ‘NF-κB signaling in inflammation’, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2, p. 17023. Available at: <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>.

Liu, W.-M. *et al.* (2012) ‘Involvement of microRNA Lethal-7a in the Regulation of Embryo Implantation in Mice’, *PloS one*, 7, p. e37039. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037039>.

Lopes, F.L. *et al.* (2003) ‘Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Isoforms and Receptors Flt-1 and KDR During the Peri-Implantation Period in the Mink, *Mustela vison*1’, *Biology of Reproduction*, 68(5), pp. 1926–1933. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.013441>.

Lopes, F.L. *et al.* (2006) ‘Transcriptional Regulation of Uterine Vascular Endothelial Growth Factor during Early Gestation in a Carnivore Model, *Mustela vison*’, *Journal of Biological Chemistry*, 281(34), pp. 24602–24611. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M602146200>.

Lopes, F.L., Desmarais, J.A. and Murphy, B.D. (2004) ‘Embryonic diapause and its regulation’, *Reproduction*, 128(6), pp. 669–678. Available at: <https://doi.org/10.1530/rep.1.00444>.

Louvet, S. *et al.* (1996) ‘Ezrin becomes restricted to outer cells following asymmetrical division in the preimplantation mouse embryo’, *Developmental biology*, 177(2), pp. 568–579.

Ma, W. *et al.* (2003) ‘Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(5), pp. 2963–2968. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0530162100>.

Marois, G. (1982) ‘Inhibition of nidation in mice by modification of the environment and pheromones. Re-establishment by prolactin and thioproperazine’, *Annales d’endocrinologie*, 43(1), pp. 41–52.

Martin, F.C. *et al.* (2016) 'Uterine flushing proteome of the tammar wallaby after reactivation from diapause', *Reproduction*, 152(5), pp. 491–505. Available at: <https://doi.org/10.1530/REP-16-0154>.

Martinet, L., Allain, D. and Meunier, M. (1983) 'Regulation in pregnant mink (*Mustela vison*) of plasma progesterone and prolactin concentrations and regulation of onset of the spring moult by daylight ratio and melatonin injections', *Canadian Journal of Zoology*, 61(9), pp. 1959–1963. Available at: <https://doi.org/10.1139/z83-257>.

Martins, R., Lithgow, G.J. and Link, W. (2016) 'Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity', *Aging Cell*, 15(2), pp. 196–207. Available at: <https://doi.org/10.1111/acel.12427>.

McConnell, S.J., Tyndale-Biscoe, C.H. and Hinds, L.A. (1986) 'Change in duration of elevated concentrations of melatonin is the major factor in photoperiod response of the tammar, *Macropus eugenii*', *Reproduction*, 77(2), pp. 623–632. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0770623>.

McLaren, A. (1968) 'A study of blastocysts during delay and subsequent implantation in lactating mice', *Journal of endocrinology*, 42, 453–463.

Mead, R.A. (1968) 'Reproduction in Western Forms of the Spotted Skunk (Genus *Spilogale*)', *Journal of Mammalogy*, 49(3), p. 373. Available at: <https://doi.org/10.2307/1378196>.

Mead, R.A. (1971) 'Effects of Light and Blinding upon delayed Implantation in the Spotted Skunk', *Biology of Reproduction* 5, 214–220.

Mead, R.A. (1975) 'Effects of Hypophysectomy on Blastocyst Survival, Progesterone Secretion and Nidation in the Spotted Skunk' *Biology of Reproduction* 12 (4) p.526–533. DOI: 10.1095/biolreprod12.4.526

Mead, R.A. (1981) 'Delayed implantation in mustelids, with special emphasis on the spotted skunk', *Journal of reproduction and fertility Supplement*, 29, pp. 11–24.

Mead, R.A. (1986) 'Role of the Corpus Luteum in Controlling Implantation in Mustelid Carnivores', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 476(1 Nidation), pp. 25–35. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1986.tb20919.x>.

Mead, R.A. (1989) 'The Physiology and Evolution of Delayed Implantation in Carnivores', in J.L. Gittleman (ed.) *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution*. Boston, MA: Springer US, pp. 437–464. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4716-4_17.

Mead, R.A. (1993) 'Embryonic diapause in vertebrates', *Journal of Experimental Zoology*, 266(6), pp. 629–641. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1402660611>.

Mead, R.A. (1995) 'Hormonal control of implantation in some carnivores', *Molecular and cellular aspects of periimplantation processes*, pp. 48–66.

Mead, R.A. and Eroschenko, V.P. (1995) 'Changes in Uterine Estrogen and Progesterone Receptors during Delayed Implantation And Early Implantation in the Spotted Skunk', *Biology of Reproduction*, 53(4), pp. 827–833. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod53.4.827>.

- Mead, R.A. and Rourke, A.W. (1985) 'Accumulation of RNA in blastocysts during embryonic diapause and the periimplantation period in the western spotted skunk', *Journal of Experimental Zoology*, 235(1), pp. 65–70. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1402350109>.
- Merchant, J.C. and Calaby, J.H. (1981) 'Reproductive biology of the Red-necked wallaby (*Macropus rufogriseus banksianus*) and Bennett's wallaby (*M. r. rufogriseus*) in captivity', *Journal of Zoology*, 194(2), pp. 203–217. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1981.tb05769.x>.
- Michalak, I. (1983) 'Reproduction, maternal and social behaviour of the European water shrew under laboratory conditions', *Environmental Science* 28 (1) p.3-24 .Available at: <https://doi.org/10.4098/AT.arch.83-1>.
- Miller-Fleming, L. *et al.* (2015) 'Remaining Mysteries of Molecular Biology: The Role of Polyamines in the Cell', *Journal of Molecular Biology*, 427(21), pp. 3389–3406. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.06.020>.
- Mizushima, N. *et al.* (2004) 'In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker', *Molecular biology of the cell*, 15(3), pp. 1101–1111.
- Mizushima, N. (2007) 'Autophagy: process and function', *Genes & development*, 21(22), pp. 2861–2873.
- Mizushima, N. and Levine, B. (2010) 'Autophagy in mammalian development and differentiation', *Nature Cell Biology*, 12(9), pp. 823–830. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncb0910-823>.
- Modi, D.N. *et al.* (2012) 'Endometrial biology during trophoblast invasion', *Frontiers in Bioscience-Scholar*, 4(3), pp. 1151–1171. Available at: <https://doi.org/10.2741/S323>.
- Murphy, B. and Fenelon, J. (2020) 'Models of embryonic diapause in Carnivora', *Bioscientifica Proceedings* p.85-100. Available at: <https://doi.org/10.1530/biosciproc.10.006>.
- Murphy, B.D. *et al.* (1981) 'Prolactin: The Hypophyseal Factor That Terminates Embryonic Diapause in Mink', *Biology of Reproduction*, 25(3), pp. 487–491. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod25.3.487>.
- Murphy, B.D. *et al.* (1990) 'Interactions between melatonin and prolactin during gestation in mink (*Mustela vison*)', *Reproduction*, 89(2), pp. 423–429. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0890423>.
- Murphy, B.D. and James, D.A. (1974) 'The effects of light and sympathetic innervation to the head on nidation in mink', *Journal of Experimental Zoology*, 187(2), pp. 267–276. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1401870210>.
- Murphy, B.D. and Moger, W.H. (1977) 'Progestins of Mink Gestation: The Effects of Hypophysectomy', *Endocrine Research Communications*, 4(1), pp. 45–60. Available at: <https://doi.org/10.1080/07435807709045733>.

- Murphy, B.D., Rajkumar, K. and Silversides, D.W. (1993) 'Control of luteal function in the mink (*Mustela vison*).', *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 47, pp. 181–188.
- Nagashima, H. *et al.* (1995) 'Cryopreservation of porcine embryos', *Nature*, 374(6521), pp. 416–416. Available at: <https://doi.org/10.1038/374416a0>.
- Nancy, P. *et al.* (2012) 'Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface', *Science (New York, N.Y.)*, 336(6086), pp. 1317–1321. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1220030>.
- Nichols, J. *et al.* (1996) 'Complementary tissue-specific expression of LIF and LIF-receptor mRNAs in early mouse embryogenesis', *Mechanisms of Development*, 57(2), pp. 123–131. Available at: [https://doi.org/10.1016/0925-4773\(96\)00531-X](https://doi.org/10.1016/0925-4773(96)00531-X).
- Nichols, J. *et al.* (2001) 'Physiological rationale for responsiveness of mouse embryonic stem cells to gp130 cytokines', *Development*, 128(12), pp. 2333–2339. Available at: <https://doi.org/10.1242/dev.128.12.2333>.
- Nikas, G. and Aghajanova, L. (2002) 'Endometrial pinopodes: some more understanding on human implantation?', *Reproductive BioMedicine Online*, 4, pp. 18–23. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(12\)60111-4](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(12)60111-4).
- Nimbkar-Joshi, S. *et al.* (2012) 'Endometrial epithelial cell modifications in response to embryonic signals in bonnet monkeys (*Macaca radiata*)', *Histochemistry and cell biology*, 138(2), pp. 289–304.
- Oki, T. *et al.* (2014) 'A novel cell-cycle-indicator, mVenus-p27K, identifies quiescent cells and visualizes G0–G1 transition', *Scientific reports*, 4, p. 4012. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep04012>.
- O'Neill, C. (2005) 'The role of PAF in embryo physiology', *Human reproduction update*, 11, pp. 215–28. Available at: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi003>.
- Palmer, S.S. *et al.* (1988) 'Annual Changes in Serum Sex Steroids in Male and Female Black (*Ursus Americanus*) and Polar (*Ursus Maritimus*) Bears¹', *Biology of Reproduction*, 38(5), pp. 1044–1050. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod38.5.1044>.
- Papke, R.L. *et al.* (1980) 'Control of Luteal Function and Implantation in the Mink by Prolactin²³', *Journal of Animal Science*, 50(6), pp. 1102–1107. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas1980.5061102x>.
- Paria, B. *et al.* (1999) 'Heparin-binding EGF-like growth factor interacts with mouse blastocysts independently of ErbB1: A possible role for heparan sulfate proteoglycans and ErbB4 in blastocyst implantation', *Development (Cambridge, England)*, 126, pp. 1997–2005. Available at: <https://doi.org/10.1242/dev.126.9.1997>.
- Paria, B.C. *et al.* (1993) 'Expression of the epidermal growth factor receptor gene is regulated in mouse blastocysts during delayed implantation', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(1), pp. 55–59. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.1.55>.

Paria, B.C. *et al.* (2002) 'Deciphering the Cross-Talk of Implantation: Advances and Challenges', *Science*, 296(5576), pp. 2185–2188. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1071601>.

Paria, B.C., Huet-Hudson, Y.M. and Dey, S.K. (1993) 'Blastocyst's state of activity determines the "window" of implantation in the receptive mouse uterus.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(21), pp. 10159–10162. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.21.10159>.

Passavant, C. *et al.* (2000) 'Changes in Uterine Expression of Leukemia Inhibitory Factor Receptor Gene During Pregnancy and Its Up-Regulation by Prolactin in the Western Spotted Skunk', *Biology of reproduction*, 63, pp. 301–7. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod63.1.301>.

Patterson, J.T. (1913) 'Polyembryonic development in *Tatusia novemcincta*', *Journal of Morphology*, 24(4), pp. 559–683. Available at: <https://doi.org/10.1002/jmor.1050240405>.

Pauken, C.M. and Capco, D.G. (2000) 'The expression and stage-specific localization of protein kinase C isoforms during mouse preimplantation development', *Developmental biology*, 223(2), pp. 411–421.

Paynton, B.V., Rempel, R. and Bachvarova, R. (1988) 'Changes in state of adenylation and time course of degradation of maternal mRNAs during oocyte maturation and early embryonic development in the mouse', *Developmental biology*, 129(2), pp. 304–314.

Pearson, A.K. and Enders, R.K. (1951) 'Further observations on the reproduction of the Alaskan fur seal', *The Anatomical Record*, 111(4), pp. 695–711. Available at: <https://doi.org/10.1002/ar.1091110407>.

Pearson, O.P. and Enders, R.K. (1944) 'Duration of pregnancy in certain mustelids', *Journal of Experimental Zoology*, 95(1), pp. 21–35. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1400950104>.

Pedersen, R.A., Wu, K. and Balakier, H. (1986) 'Origin of the inner cell mass in mouse embryos: cell lineage analysis by microinjection', *Developmental biology*, 117(2), pp. 581–595.

Plusa, B. *et al.* (2005) 'Downregulation of Par3 and aPKC function directs cells towards the ICM in the preimplantation mouse embryo', *Journal of cell science*, 118(3), pp. 505–515.

Polejaeva, I.A. *et al.* (1997) 'Prolactin-induced termination of obligate diapause of mink (*Mustela vison*) blastocysts in vitro and subsequent establishment of embryonic stem-like cells', *Reproduction*, 109(2), pp. 229–236.

Potts, D.M. (1968) 'The ultrastructure of implantation in the mouse.', *Journal of Anatomy*, 103(Pt 1), pp. 77–90.

Prell, H. (1930) 'Die verlängerte Tragzeit der einheimischen Martes arten: Ein Erklärungsversuch', *Zoologischer Anzeiger*, 87, pp. 273–283.

Pritchett-Corning, K.R., Clifford, C.B. and Festing, M.F.W. (2013) 'The Effects of Shipping on Early Pregnancy in Laboratory Rats', *Birth Defects Research Part B: Developmental and*

Reproductive Toxicology, 98(2), pp. 200–205. Available at: <https://doi.org/10.1002/bdrb.21056>.

Ptak, G.E. *et al.* (2012) ‘Embryonic Diapause Is Conserved across Mammals’, *PLoS ONE*. Edited by W. Dean, 7(3), p. e33027. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033027>.

Raab, G. *et al.* (1996) ‘Mouse preimplantation blastocysts adhere to cells expressing the transmembrane form of heparin-binding EGF-like growth factor’, *Development (Cambridge, England)*, 122(2), pp. 637–645. Available at: <https://doi.org/10.1242/dev.122.2.637>.

Reeve, W.J.D. and Kelly, F.P. (1983) ‘Nuclear position in the cells of the mouse early embryo’. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 75 p.117-139

Renfree, M.B. (1979) ‘Initiation of development of diapausing embryo by mammary denervation during lactation in a marsupial’, *Nature*, 278(5704), pp. 549–551. Available at: <https://doi.org/10.1038/278549a0>.

Renfree, M.B. *et al.* (1981) ‘Abolition of seasonal embryonic diapause in a wallaby by pineal denervation’, *Nature*, 293(5828), pp. 138–139. Available at: <https://doi.org/10.1038/293138a0>.

Renfree, M.B. (1994) ‘Endocrinology of Pregnancy, Parturition and Lactation in Marsupials’, in G.E. Lamming (ed.) *Marshall’s Physiology of Reproduction*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 677–766. Available at: https://doi.org/10.1007/978-94-011-1286-4_7.

Renfree, M.B. and Fenelon, J.C. (2017) ‘The enigma of embryonic diapause’, *Development*, 144(18), pp. 3199–3210. Available at: <https://doi.org/10.1242/dev.148213>.

Renfree, M.B. and Shaw, G. (2000) ‘Diapause’, *Annual Review of Physiology*, 62(1), pp. 353–375. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.62.1.353>.

Renfree, M.B. and Tyndale-Biscoe, C.H. (1973) ‘Intrauterine development after diapause in the marsupial *Macropus eugenii*’, *Developmental Biology*, 32(1), pp. 28–40. Available at: [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(73\)90217-0](https://doi.org/10.1016/0012-1606(73)90217-0).

Riethmacher, D., Brinkmann, V. and Birchmeier, C. (1995) ‘A targeted mutation in the mouse E-cadherin gene results in defective preimplantation development.’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(3), pp. 855–859. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.3.855>.

Rosario, G. *et al.* (2014) ‘The LIF-Mediated Molecular Signature Regulating Murine Embryo Implantation’, *Biology of reproduction*, 91, p.1-18. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.118513>.

Rosario, G.X. *et al.* (2009) ‘Expression of endometrial protein kinase A during early pregnancy in bonnet monkeys (*Macaca radiata*)’, *Biology of reproduction*, 81(6), pp. 1172–1181.

Rosario, G.X. and Stewart, C.L. (2016) ‘The Multifaceted Actions of Leukaemia Inhibitory Factor in Mediating Uterine Receptivity and Embryo Implantation’, *American Journal of Reproductive Immunology*, 75(3), pp. 246–255. Available at: <https://doi.org/10.1111/aji.12474>.

- Rose, J. *et al.* (1985) 'The Effects of Photoperiod and Melatonin on Serum Prolactin Levels of Mink During the Autumn Molt', *Journal of Pineal Research*, 2(1), pp. 13–19. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.1985.tb00624.x>.
- Rourke, A.W. and Mead, R.A. (1982) 'Blastocyst protein synthesis during obligate delay of implantation and embryo activation in the western spotted skunk', *Journal of Experimental Zoology*, 221(1), pp. 87–92. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1402210111>.
- Rowlands, I.W. and Weir, B.J. (1984) 'Mammal: non primate eutherian', in *Physiology of reproduction*. G.E.Lamming. churchill livingstone, pp. 455–658.
- Rozell, M.D. and Mead, R.A. (1993) 'Effect of melatonin on pituitary secretion of prolactin in vitro during delayed implantation and the periimplantation period in the spotted skunk', *Journal of Experimental Zoology*, 267(5), pp. 524–532. Available at: <https://doi.org/10.1002/jez.1402670507>.
- Ryan, J.P. *et al.* (1989) 'Platelet activating factor (PAF) production by mouse embryos in vitro and its effect on embryonic metabolism', *Journal of Cellular Biochemistry*, 40(3), pp. 387–395. Available at: <https://doi.org/10.1002/jcb.240400314>.
- Sadleir, R.M.F.S. and Tyndale-Biscoe, C.H. (1977) 'Photoperiod and the Termination of Embryonic Diapause in the Marsupial *Macropus eugenii*', *Biology of Reproduction*, 16(5), pp. 605–608. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod16.5.605>.
- Sakurai T (1906) *Normal Plates of the Development of the Deer Embryo (Cervus capreolus)*. Jena, Germany: Fisher.
- Sandell, M. (1990) 'The Evolution of Seasonal Delayed Implantation', *The Quarterly Review of Biology*, 65(1), pp. 23–42. Available at: <https://doi.org/10.1086/416583>.
- Sato, M. *et al.* (2001) 'Changes in Sex Steroids, Gonadotropins, Prolactin, and Inhibin in Pregnant and Nonpregnant Japanese Black Bears (*Ursus thibetanus japonicus*)¹', *Biology of Reproduction*, 65(4), pp. 1006–1013. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.4.1006>.
- Sernia, C. and Tyndale-Biscoe, C.H. (1979) 'Prolactin receptors in the mammary gland, corpus luteum and other of the tammar wallaby, *Macropus eugenii*', *Journal of Endocrinology*, 83(1), pp. 79–89. Available at: <https://doi.org/10.1677/joe.0.0830079>.
- Sharman, G. and Berger, P. (1969) 'Embryonic diapause in marsupials', *Advances in reproductive physiology*, 4, 211-+ .
- Sherman, M.I. and Barlow, P.W. (1972) 'Deoxyribonucleic acid content in delayed mouse blastocysts', *Reproduction Fertility*, pp. 123–126.
- Shero, M.R. *et al.* (2018) 'Pairing ultrasonography with endocrinology to elucidate underlying mechanisms of successful pregnancy in the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*)', *General and Comparative Endocrinology*, 255, pp. 78–89. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.10.007>.

Sheth, B. *et al.* (2000) 'Differentiation of the epithelial apical junctional complex during mouse preimplantation development: a role for rab13 in the early maturation of the tight junction', *Mechanisms of development*, 97(1–2), pp. 93–104.

Smith, M.J. (1981) 'Morphological observations on the diapausing blastocyst of some macropodid marsupials', *Reproduction*, 61(2), pp. 483–486. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0610483>.

Song, J.H., Houde, A. and Murphy, B.D. (1998) 'Cloning of leukemia inhibitory factor (LIF) and its expression in the uterus during embryonic diapause and implantation in the mink (*Mustela vison*)', *Molecular Reproduction and Development*, 51(1), pp. 13–21. Available at: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(199809\)51:1<13::AID-MRD2>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(199809)51:1<13::AID-MRD2>3.0.CO;2-Z).

Spady, T.J., Lindburg, D.G. and Durrant, B.S. (2007) 'Evolution of reproductive seasonality in bears', *Mammal Review*, 37(1), pp. 21–53. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2007.00096.x>.

Stewart, C.L. *et al.* (1992) 'Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor', *Nature*, 359(6390), pp. 76–79. Available at: <https://doi.org/10.1038/359076a0>.

Stewart, F. and Tyndale-Biscoe, C.H. (1982) 'Prolactin and luteinizing hormone receptors in marsupial corpora lutea : relationship to control of luteal function', *Journal of Endocrinology*, 92(1), pp. 63–72. Available at: <https://doi.org/10.1677/joe.0.0920063>.

Stoufflet, I. *et al.* (1989) 'Patterns of plasma progesterone, androgen and oestrogen concentrations and in-vitro ovarian steroidogenesis during embryonic diapause and implantation in the mink (*Mustela vison*)', *Reproduction*, 87(1), pp. 209–221. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0870209>.

Temte, J.L. (1991) 'Precise Birth Timing in Captive Harbor Seals (*phoca Vitulina*) and California Sea Lions (*zalophus Californianus*)', *Marine Mammal Science*, 7(2), pp. 145–156. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1991.tb00561.x>.

Thibault, C., Beaumont, A. and Levasseur, M.-C. (1998) 'Conditions du développement embryonnaire, facteurs de l'environnement, endocrinologie', in *La reproduction des vertébrés*. Masson, pp. 196–215.

Thom, M.D., Johnson, D.D.P. and Macdonald, D.W. (2004) 'The evolution and maintenance of delayed implantation in the mustelidae (mammalia : carnivora)', *Evolution*, 58(1), pp. 175–183. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2004.tb01584.x>.

Tkach, M. and Théry, C. (2016) 'Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go', *Cell*, 164(6), pp. 1226–1232. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.043>.

Tyndale-Biscoe, C.E., Tyndale-Biscoe, H. and Renfree, M. (1987) *Reproductive Physiology of Marsupials*. Cambridge University Press.

Tyndale-Biscoe, C.H. (1984) 'Mammal: Marsupials', in *Physiology of reproduction*. G.E.Lamming. churchill livingstone, pp. 386–454.

Tyndale-Biscoe, C.H. (2005) *Life of Marsupials*. Csiro Publishing.

Tyndale-Biscoe, C.H. and Hinds, L.A. (1984) 'Seasonal patterns of circulating progesterone and prolactin and response to bromocriptine in the female tammar *Macropus eugenii*', *General and Comparative Endocrinology*, 53(1), pp. 58–68. Available at: [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(84\)90224-7](https://doi.org/10.1016/0016-6480(84)90224-7).

Tyndale-Biscoe, C.H., Hinds, L.A. and McConnell, S.J. (1986) 'Seasonal breeding in a marsupial: opportunities of a new species for an old problem', in *Proceedings of the 1985 Laurentian Hormone Conference*. Elsevier, pp. 471–512.

Anton Van de Putte (Ed). 2017. 'Book of abstracts : XIIth SCAR Biology Symposium', in. Leuven, Belgium: Scientific Committee on Antarctic Research (SCAR), Cambridge, United Kingdom., p. 297.

Vestweber, D. *et al.* (1987) 'Expression and distribution of cell adhesion molecule uvomorulin in mouse preimplantation embryos', *Developmental biology*, 124(2), pp. 451–456.

Vestweber, D. and Kemler, R. (1984) 'Rabbit antiserum against a purified surface glycoprotein decompacts mouse preimplantation embryos and reacts with specific adult tissues', *Experimental cell research*, 152(1), pp. 169–178.

Vinot, S. *et al.* (2005) 'Asymmetric distribution of PAR proteins in the mouse embryo begins at the 8-cell stage during compaction', *Developmental biology*, 282(2), pp. 307–319.

Vogel, P. (1981) 'Occurrence and interpretation of delayed implantation in insectivores', *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 29, pp. 51–60.

Wade-Smith, J. and Richmond, M.E. (1978) 'Induced ovulation, development of the corpus luteum, and tubal transport in the striped skunk (*Mephitis mephitis*)', *The American Journal of Anatomy*, 153(1), pp. 123–141. Available at: <https://doi.org/10.1002/aja.1001530108>.

Wang, H., Matsumoto, H., Guo, Y., Paria, B. C., Roberts, R. L. and Dey, S. K. (2003). 'Differential G protein-coupled cannabinoid receptor signaling by anandamide directs blastocyst activation for implantation.' *Proceedings of the American Philosophical Society*, 100, pp.14914-14919.

Wang, H. and Dey, S.K. (2006) 'Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models', *Nature Reviews Genetics*, 7(3), pp. 185–199.

Weir, B.J., Flint, A.P.F. and Renfree, M.B. (eds) (1981) *Embryonic diapause in mammals: proceedings of a symposium held at Thredbo, New South Wales, Australia, February 1980. Symposium on Embryonic Diapause in Mammals*, Cambridge, U.K: Journal of reproduction & fertility (Journal of reproduction and fertility. Supplement, no. 29).

Weitlauf, H.M. and Greenwald, G.S. (1968) 'Survival of blastocysts in the uteri of ovariectomized mice', *Reproduction*, 17(3), pp. 515–520. Available at: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0170515>.

Wetendorf, M. *et al.* (2017) 'Decreased epithelial progesterone receptor A at the window of receptivity is required for preparation of the endometrium for embryo attachment', *Biology of reproduction*, 96(2), pp. 313–326.

Wimsatt, W.A. (1963) 'Delayed implantation in the Ursidae, with particular reference to the black bear', *Delayed implantation*, pp. 49–86.

Wimsatt, W.A. (1975) 'Some Comparative Aspects of Implantation', *Biology of Reproduction*, 12(1), pp. 1–40. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod12.1.1>.

Wolpert, L. and Tickle, C. (2011) 'Vertebrate development I: life cycles and experimental techniques', *Principles of development*. United States of America: Oxford university press (fourth edition), pp. 109–113.

Woodroffe, R. (1995) 'Body condition affects implantation date in the European badger, *Meles meles*', *Journal of Zoology*, 236(2), pp. 183–188. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1995.tb04486.x>.

Wright, P.L. and Rausch, R. (1955) 'Reproduction in the Wolverine, *Gulo gulo*', *Journal of Mammalogy*, 36(3), pp. 346–355. Available at: <https://doi.org/10.2307/1375676>.

Yamaguchi, N., Dugdale, H.L. and Macdonald, D.W. (2006) 'Female receptivity, embryonic diapause, and superfetation in the european badger (*Meles meles*): implications for the reproductive tactics of males and females', *The Quarterly Review of Biology* 81(1), pp. 33–48. Available at: <https://doi.org/10.1086/503923>.

Yoshinaga, K. (2013) 'A sequence of events in the uterus prior to implantation in the mouse', *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 30(8), pp. 1017–1022. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0093-z>.

Zhang, H. *et al.* (2009) 'Delayed implantation in giant pandas: the first comprehensive empirical evidence', *Reproduction*, 138 979-986.

Ziegler, L. (1843) *Beobachtungen über die Brunst und den Embryo der Rehe. Ein Beitrag zur Lehre von der Zeugung*. In der helwingschen hofbuchhandlung

LA DIAPAUSE EMBRYONNAIRE ET SA REGULATION CHEZ LES MAMMIFERES, ETUDES BIBLIOGRAPHIQUE DE 1850 A NOS JOURS

Auteure

CRISTIN Charlotte

Résumé

Connue depuis le milieu du 19ème siècle, la diapause embryonnaire se définit comme l'arrêt du développement de l'embryon au stade de blastocyste pour une durée variable et généralement dépendante de l'espèce. Elle serait une stratégie de reproduction chez les mammifères pour produire un grand nombre de descendants, permettre une parturition au moment où les conditions sont optimales pour la progéniture et augmenter la compétition entre mâles lors de la saison de l'accouplement. Elle aurait ensuite été désactivée, au cours de l'évolution, chez les mammifères domestiques sans pour autant avoir totalement disparu. Le phénomène a été décrit chez plus de 130 espèces de mammifères de différents ordres et trois types de diapause ont ainsi pu être caractérisés : la diapause facultative de lactation chez les Rodentia (retard d'implantation induit par un stress métabolique, le plus souvent généré par la lactation), la diapause obligatoire chez les Carnivora (délai d'implantation à chaque gestation sous l'effet de la variation de luminosité saisonnière) et la diapause mixte des Marsupiala, combinaison des deux précédentes et variable en fonction de la période de l'année. La régulation hormonale de la diapause, quel que soit son type, est contrôlée par la prolactine, qui est libérée en réponse au stimulus de succion ou à la variation de la photopériode. Durant la diapause, la survie des blastocystes est assurée en consommant des gouttelettes lipidiques stockées dans le cytoplasme. Quant aux contrôles moléculaires et cellulaires, ils sont encore en cours d'exploration et pourraient mener à de nouvelles pistes thérapeutiques anti-cancéreuses ou à des applications pratiques en médecine vétérinaire dans la conservation des embryons ou dans la gestion des cas d'infertilité liés à des défauts d'implantation.

Mots-clés

Diapause, mammifère, régulation, évolution, embryologie, implantation

Jury

Président du jury : Pr **HAEGELEN VOGEL Claire**
1er assesseur : Pr **LEFRANC Anne-Cécile**
2ème assesseur : Pr **CADORE Jean Luc**