

ENDOCRINOLOGIE. — *Variations du 17 β œstradiol au cours du cycle œstral chez la Vache* (¹). Note (*) de MM. Francis Ectors, Jean-François Beckers, M^{lle} Patricia Ballman et M. Jules Derivaux, transmise par M. Marc Herlant.

Le dosage du 17 β œstradiol plasmatique, sans recours préalable à la chromatographie de partage, a pu être réalisé et ce en raison de la haute spécificité de l'antisérum utilisé.

Le 17 β œstradiol augmente à partir du 18^e jour du cycle jusqu'à atteindre 8,6 pg/ml (6,4 à 12,6 pg/ml) au début de l'œstrus. Outre ce pic œstral, 3 pics accessoires peuvent être détectés : le premier, pratiquement constant, se situe entre le 4^e et le 5^e jour, le second moins important et seulement retrouvé chez 75 % des sujets survient entre le 12^e et le 14^e jour. Enfin le troisième, très inconstant, se retrouve parfois au 8^e jour. Le taux basal moyen chez la Vache est de 1,75 pg/ml.

L'obtention d'immunsérums très sensibles et hautement spécifiques grâce notamment au couplage à différentes protéines porteuses, a permis la mise au point du dosage radio-immunologique de la plupart des stéroïdes plasmatiques.

La progestérone et les œstrogènes notamment le 17 β œstradiol représentent les stéroïdes sexuels les plus importants chez la femelle. Dans des travaux antérieurs, nous avons rapporté les résultats de nos recherches sur les fluctuations des gonadotropines FSH et LH et de la progestérone au cours du cycle sexuel normal de la Vache. Il restait à envisager celles du 17 β œstradiol au cours de la même période ; c'est l'objet de la présente communication.

Signalons immédiatement que, grâce à la haute spécificité de l'immunsérum utilisé nous avons pu développer une méthode de dosage direct sans qu'il fût nécessaire de recourir au préalable à la chromatographie de partage.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — *Technique.* — L'extraction s'effectue dans des tubes de 25 ml et porte sur 1 ml de sérum additionné de 7 ml de benzène fraîchement redistillé ; le mélange est ensuite agité sur « Vortex » pendant 2 mn.

Cette opération terminée, les tubes sont centrifugés pendant 10 mn à 3 000 tours afin d'obtenir une séparation parfaite entre le sérum et le benzène. 5 ml de benzène sont repris et évaporés dans une étuve à dépression. Après évaporation, les tubes sont rincés avec 0,5 ml de benzène de manière à ramasser le stéroïde se trouvant sur la paroi.

L'extrait sec est alors additionné d'antisérum et d'hormone marquée, incubé pendant 1/2 h à t^o du laboratoire et placé pendant une nuit à la glacière à 4 °C.

La séparation de la partie libre et de la partie liée de l'hormone marquée s'obtient par addition de 0,5 cc de charbon-Dextran, laissé en contact pendant 10 mn, à 4^o ; le tube est ensuite centrifugé et 0,5 cc du surnageant est repris et placé dans une fiole de comptage contenant 10 ml de liquide scintillant.

Réactifs.

1. Benzène P. A. fraîchement redistillé.
2. Tampon :

Na ₂ HPO ₄ 2 H ₂ O	7,79 g
KH ₂ PO ₄	750 mg

NaCl	9 g
Gélatine	1 g
Eau bidistillée	1 000 ml

à porter à pH = 7,5.

3. Œstradiol (6-7-H³) dont l'activité spécifique est de 41 curies/millimole.

4. Mélange charbon-Dextran :

Charbon NORIT A	130 mg
Dextran T 70	13 mg
Tampon	60 ml

5. Immunsérum : Nous avons utilisé l'immunsérum n° 3340, offert par les Laboratoires « Roussel-Uclaf ». Les tests de réactions croisées avec les divers stéroïdes témoignent de la haute spécificité de cet antisérum.

Œstriol	3,8 %
Œstrone	2,3 %
Œstradiol 17 α	0,3 %
Progestérone	0,01 %
Cortisol	0,01 %
Testostérone	0,01 %
Ethynyl œstradiol	0,3 %

Pour l'instant, un nouvel antisérum est à l'essai ; il a été obtenu sur lapin, par injection d'un 6-oxime-BSA d'après la technique de Vaitukaitis et coll. (2).

Les résultats obtenus jusqu'ici sont en tous points comparables à ceux fournis par l'immunsérum n° 3340.

Animaux d'expérience. — Notre troupeau d'expérimentation se compose de 15 vaches dont 8 de la race Pie-Noire, déjà utilisées pour la recherche de la progestérone et 7 de la race Bleu-Blanc de Moyenne Belgique ; tous les animaux ont été préalablement contrôlés quant à la régularité du cycle œstral. Diverses techniques ont été mises en œuvre pour la détection des chaleurs : examen des ovaires par fouiller rectal, appréciation de l'élasticité de la glaire cervicale, mais surtout mise en présence du taureau. Cette dernière méthode est de loin la plus certaine ; elle débute au 18^e jour du cycle et elle se poursuit jusqu'au lendemain du jour où la femelle s'est montrée d'une placidité parfaite, témoignage le plus évident de l'état d'œstrus. Le prélèvement sanguin a lieu journallement sauf pendant les 4 jours entourant l'œstrus où il est répété deux fois à 12 h d'intervalle ; il s'effectue par ponction de la jugulaire et le sang est recueilli dans des tubes héparinés soumis immédiatement à centrifugation. Le plasma est alors stocké à — 20 °C en attendant les dosages.

RÉSULTATS. — Ils portent sur 666 échantillons couvrant 17 cycles œstraux.

Le calcul de la valeur moyenne journalière conduit aux résultats suivants exprimés en picogrammes par millilitre.

Le taux du 17 β œstradiol est à son minimum, 1,75 pg/ml, au lendemain de l'œstrus ; il s'élève alors progressivement pour atteindre 3,1 (maximum 6 pg) au 5^e

Jour 0 (chaleurs)	8,6	Jour 11	1,6
1	1,7	12	2,3
2	1,8	13	1,9
3	2,2	14	2,2
4	2,9	15	1,8
5	3,1	16	2,0
6	2,3	17	2,2
7	2,1	18	2,8
8	1,9	19	5,4
9	1,8	20	7,7
10	1,9		

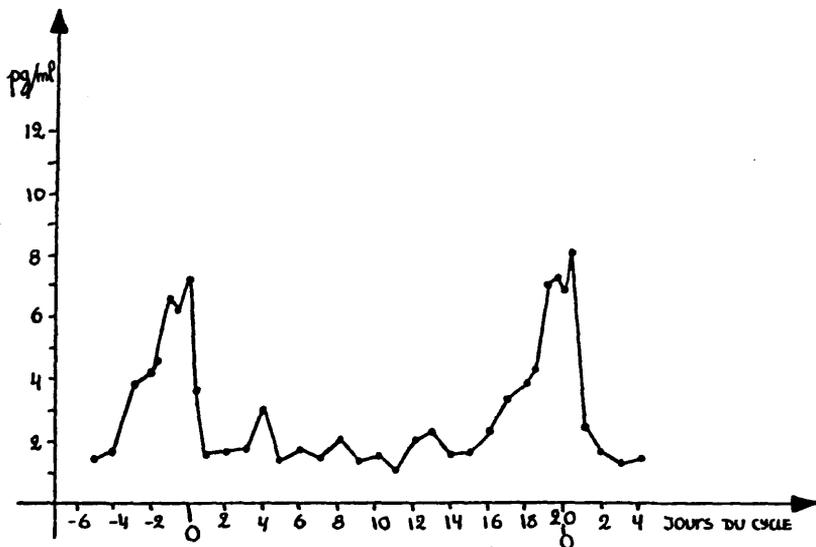


Fig. 1. — Variations du 17β œstradiol au cours du cycle œstral chez une vache parfaitement cyclée. Notez la présence d'un pic accessoire au 4^e jour (œstrus = jour 0)

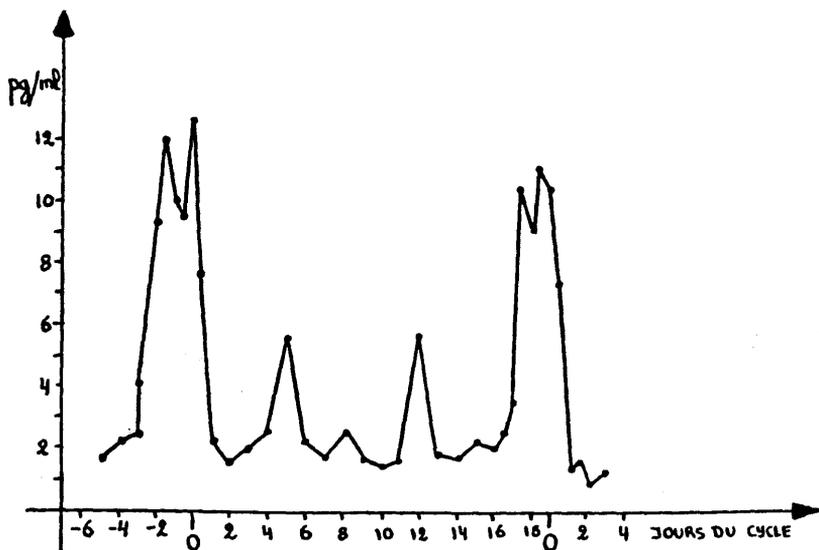


Fig. 2. — Variations du 17β œstradiol en fonction du cycle œstral. Cette figure met particulièrement bien en évidence les pics accessoires des 4^e et 12^e jours

jour, redescend ensuite pour se maintenir au taux basal entre les jours 8 et 11, remonte alors légèrement vers le 12-14^e jour, redescend encore pour s'élever progressivement à partir du 18^e jour et atteindre son pic le plus élevé soit 8,6 pg/ml (6,5 à 12,6 pg/ml) au début de l'œstrus. Chez quelques animaux une ascension légère et très passagère, atteignant 2,9 pg/ml est observée au 8^e jour. Ainsi donc la courbe de fluctuation du 17 β œstradiol se caractérise par 1 pic principal qui atteint son maximum en début de la période œstrale et trois pics accessoires se situant respectivement aux jours 4-5, 8 et 12-14 ; le petit pic du 8^e jour étant cependant assez inconstant (fig. 1 et 2).

DISCUSSION. — La grande spécificité de notre antisérum nous a permis de mettre au point le dosage du 17 β œstradiol chez la Vache sans utiliser au préalable une chromatographie de partage. Le pourcentage d'extraction est de 90 %. La sensibilité se situe entre 1,7 et 2 pg. La répétabilité dans un même dosage est excellente tandis qu'elle est de 18 % lorsqu'elle est éprouvée d'un dosage à l'autre. Dans notre système, le « blanc » analysé au moyen d'un sérum débarrassé des stéroïdes par traitement au charbon-Dextran atteint une valeur de 1,5 pg.

Des valeurs du pic œstrogénique au moment des chaleurs, comparables à celles que nous rapportons, sont signalées par Glencross et coll. (3), par Wettemann et coll. (4) et tout récemment par Chenault et coll. (5) ; elles sont inférieures à celles observées par Henricks et coll. (6) et Lemon et coll. (7) et Peterson et coll. (8).

Nous avons constaté que ce pic correspond au moment où la femelle présente le maximum de placidité en présence du mâle ; sa valeur est déjà réduite de moitié 12 h plus tard alors que cependant la vache accepte encore le taureau.

Il est vraisemblable, mais la chose reste à démontrer, que ce pic intervient en tant que facteur déclenchant de la libération des hormones gonadotropes. L'existence de pics secondaires notamment ceux du 5^e et du 14^e jour est signalée par Glencross et coll. Leur signification est difficile à préciser ; on peut seulement constater qu'ils correspondent sensiblement aux vagues de croissance folliculaire dont l'étude histologique de l'ovaire a révélé l'existence au cours du cycle [Rajakoski (9) et Mariana et coll. (10)].

(*) Séance du 22 septembre 1975.

(1) Travail réalisé grâce à l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture : IRSIA, rue de Crayer, 6, Bruxelles.

(2) J. VAITUKAITIS, J. B. ROBBINS, E. NIESCHLAG et T. ROSS, *J. Clin. Endocr.*, 33, 1971, p. 988.

(3) R. G. GLENCROSS, I. B. MUNRO, B. E. SENIOR et G. S. POPE, *Acta Endocr.*, 73, 1973, p. 374.

(4) R. P. WETTEMANN, H. D. HAFS, L. A. EDGERTON et L. V. SWANSON, *J. Anim. Sc.*, 34, 1972, p. 1020.

(5) J. R. CHENAULT, W. W. THATCHER, P. S. KALRA, R. M. ABRAMS et C. J. WILCOX, *J. Dairy Sc.*, 58, 1975, p. 709.

(6) D. M. HENRICKS, J. F. DICKEY et J. R. HILL, *Endocrinology*, 89, 1971, p. 1350.

(7) M. LEMON, J. PELLETIER, J. SAUMANDE et J. D. SIGNORET, *J. Reprod. Fert.*, 42, 1975, p. 137.

(8) A. J. PETERSON, R. J. FAIRCLOUGH et J. F. SMITH, *Steroids*, 25, 1975, p. 487.

(9) E. RAJAKOSKI, *Acta Endocr. Copenh.*, suppl. 52, 1960, p. 7.

(10) J. C. MARIANA et NGUYEN HUÏ, *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 13 hors série, 1973, p. 211.

Faculté Vétérinaire, Université de Liège,

(Prof. J. Derivaux),

Laboratoire d'Obstétrique,

rue des Vétérinaires, 45, 1070 Bruxelles, Belgique.