

## Évolution des concentrations plasmatiques de testostérone et d'insulin-like growth factor I en période péripubertaire chez le bovin cathétérisé au niveau hépatique

R Renaville <sup>1</sup>\*, X Berkans <sup>2</sup>, D Portetelle <sup>2</sup>, M Sneyers <sup>2</sup>, A Burny <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculté des sciences agronomiques, unité de biologie moléculaire et de physiologie animale,

<sup>2</sup> Faculté des sciences agronomiques, unité de microbiologie,  
passage des Déportés, 2-5800 Gembloux, Belgique

(reçu le 8 août 1989; accepté le 5 janvier 1990)

**Résumé** — Dans le but d'étudier la régulation hormonale de la croissance chez le bovin en phase pubertaire, une cathétérisation permanente des principaux vaisseaux drainant le foie a été réalisée chez des jeunes bovins mâles de race Holstein, âgés de 8 à 13 semaines. L'utilisation de cathéters en polyuréthane «gris» a permis de collecter du sang des animaux au cours d'une période de 65 j sans le moindre problème de colmatage ou de rejet. Une solution physiologique contenant au moins  $5 \times 10^5$  UI/l d'héparine-lithium a été utilisée pour rincer les cathéters. Par ailleurs, l'échographie a permis le positionnement correct et rapide des cathéters. Grâce aux cathéters placés, nous avons observé que les taux plasmatiques de testostérone et d'Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) chez le bovin en phase pubertaire étaient respectivement inférieurs au niveau portal et au niveau de la veine cave et de la veine porte à ceux mesurés au niveau des autres vaisseaux. Par ailleurs, le taux plasmatique moyen en testostérone s'est accru rapidement (1 à 2 j) chez des veaux de 13 semaines pour atteindre des taux similaires à ceux enregistrés chez l'adulte. Le taux d'IGF-I a augmenté également pendant cette phase mais il a subi de grandes variations avant d'atteindre des taux stables et élevés. Aucune relation n'a été observée entre ces 2 hormones au cours de la phase pubertaire. En conclusion, la testostérone et l'IGF-I peuvent être utilisés l'un comme l'autre comme facteur d'appréciation de l'âge à la puberté. Toutefois, des investigations sont encore nécessaires pour préciser correctement des valeurs standards pour chaque race bovine.

**puberté / bovin / cathétérisation hépatique / testostérone / IGF-I**

**Summary** — **Plasma testosterone and insulin-like growth factor I evolution around puberty in hepatic cannulated cattle.** To study endocrinal control of growth development in cattle during puberty, major hepatic vessels were cannulated in 8–13 week old Holstein male calves. In our experimental conditions, chronic hepatic cannulation with "grey" polyurethane catheters was performed for a long period (more than 65 d) without any rejection problems. A physiological washing solution containing at least  $5 \times 10^5$  UI/l heparin-lithium was required to prevent cannula occlusion. Moreover, echography was utilized for rapid and accurate introduction of catheters into the vessels. With chronic hepatic cannulation, we have observed that plasma testosterone and insulin-like growth factor I (IGF-I) levels in cattle were lower in portal and in portal and cava veins respectively than in the other vessels. Our experiment has also shown that average plasma testosterone and IGF-I concentrations sharply increased at puberty to reach adult values. However, no relation was observed between these two hormones during the pubertal period. In conclusion, both testosterone and IGF-I plasma levels can be used as predictive factor of age at puberty but more investigations are needed to establish standard values for each breed.

**puberty / cattle / testosterone / IGF-I / hepatic cannulation**

\* Correspondance et tirés à part

## INTRODUCTION

La puberté chez le bovin est un phénomène très rapide essentiellement caractérisé par un accroissement substantiel de la concentration plasmatique moyenne en testostérone (Amann et Schanbacher, 1983; Renaville *et al*, 1983). Par ailleurs, l'étude de la régulation hormonale de la croissance, en particulier au cours de la phase pubertaire, exige également un examen approfondi du rôle exercé notamment par la somatotropine, l'insuline et les somatomédines, également appelées *Insulin-Like Growth Factors* (essentiellement l'IGF-I) (Davis *et al*, 1984). En effet, au cours de cette étape importante de la vie d'un individu, il a été notamment observé chez l'humain un accroissement significatif de l'IGF-I plasmatique en relation avec l'évolution de la testostérone (Luna *et al*, 1983; Jasper, 1985).

Le lieu de synthèse des IGFs étant principalement le foie (Van Den Brande, 1986), plusieurs auteurs ont cherché à en cathétériser les principaux vaisseaux afin de préciser les relations entre les hormones précitées (Symonds et Baird, 1973; Slepatis *et al*, 1987; Durand *et al*, 1988; Reynolds *et al*, 1988). Actuellement, seuls les travaux de Slepatis *et al* (1987) et de Reynolds *et al* (1988) font état d'expériences de plus de 2 semaines chez le bovin.

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'évolution des taux de testostérone et d'IGF-I plasmatique en période péripubertaire chez des veaux cathétérisés au niveau hépatique. La première étape de notre démarche a consisté en la mise au point d'une technique de cathétérisme hépatique chez le jeune bovin permettant des essais de longue durée (plus de 8 semaines) au cours de laquelle différents types de cathéters ont été testés. Dans une seconde étude, grâce aux cathéters

placés, nous avons pu montrer que les taux plasmatiques de testostérone et d'IGF-I augmentent rapidement et simultanément en période péripubertaire avec des fluctuations pour l'IGF-I.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### *Animaux et protocoles expérimentaux*

L'évaluation des différents types de cathéters a été réalisée au cours de quatre expériences sur de jeunes veaux mâles de race Holstein dont l'âge fluctuait entre 8 et 13 semaines pour un poids préopératoire à jeun, se situant entre 75 et 120 kg (tableau I). La ration alimentaire, identique dans chaque expérience, était constituée d'un mélange commercial riche en céréales (850 VEM; 84% MS; 13% de protéines brutes digestibles, 4 % de matières grasses, 9% de cendres, 33% de (sucres + amidons) et 10% de celluloses). Les quantités distribuées quotidiennement (à 8 et 16 h) (moyenne de l'essai : 1,8 kg MS/100 kg PV) ont permis un croît moyen de  $1\,090 \pm 105$  g/j.

L'évolution des taux plasmatiques de testostérone et d'IGF-I a été suivie grâce au cathétérisme permanent des principaux vaisseaux hépatiques (expérience 4, tableau I). Quinze jours après l'intervention chirurgicale, le sang de 5 animaux, âgés de 13 semaines et pesant en moyenne  $118,5 \pm 4$  kg, a été collecté quotidiennement 2 h après le repas matinal. L'ordre des prélèvements a toujours été identique : veine sus-hépatique, veine porte, veine cave et veine jugulaire. Tous les animaux étaient impubères au début de l'expérience (vérifié par un test au LH-RH; Chantaprateep et Thibier, 1979).

Le sang, recueilli sur iodoacétate-héparinate, est immédiatement centrifugé. Le plasma est réparti en aliquotes et conservé à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  jusqu'aux analyses.

La détermination plasmatique de la testostérone et de l'IGF-I a été réalisée par radioimmunoanalyse selon les méthodes décrites précédemment par Renaville *et al* (1983) et Lemal *et al* (1989).

Les résultats obtenus sont comparés par test «T» de Student.

## Cathétérisation des vaisseaux hépatiques

### Cathéters testés

Afin de préciser la meilleure biocompatibilité ainsi que la plus grande durée d'activité, plusieurs types de cathéters ont été testés au cours de différentes expériences (tableau I).

Nous avons comparé :

— un cathéter en Tygon qualité médicale (LSS-54HL, Norton Company, États-Unis; diamètre intérieur (d i) : 1,02 mm; diamètre extérieur (d e), 1,78 mm), stérilisé par immersion de 24 h dans une solution 5% d'hibitane (ICI, Belgique) et rincé avec du sérum physiologique avant le placement;

— un cathéter en Tygon, identique au précédent mais dont la stérilisation a été effectuée par autoclavage de 30 min à 1 kg/cm<sup>2</sup> de pression et à 105 °C;

— un cathéter en polyéthylène, type Seldiflex (Plastimed, France; 20 cm de longueur, d i : 1,7 mm);

— un cathéter en polyéthylène, type Endocath (Plastimed, France; 80 cm de longueur; d i : 1,5 mm) dont la longueur a permis son extériorisation sans raccord interne;

— un cathéter en polyuréthane «blanc», type Seldiflex (Plastimed, France; 20 cm de longueur; d i : 1,5 mm);

— un cathéter en polyuréthane «gris» type Seldiflex (Plastimed, France; 20 cm de longueur; d i : 1,5 mm) dont la rigidité structurale est supérieure à celle des cathéters en polyuréthane «blanc».

### Technique chirurgicale

Après une mise à jeun de 48 h, l'animal anesthésié (prémédication au Combélène (Bayer Belgique), 1 ml/100 kgPV en i m suivie de la

**Tableau I.** Durée de fonctionnement et problèmes rencontrés avec les cathéters testés. <sup>a</sup> Cathéter stérilisé par immersion de 24 h dans une solution 5% d'hibitane. <sup>b</sup> Cathéter stérilisé par autoclavage de 30 min à 1 kg/cm<sup>2</sup> de pression et à 105 °C.

	Types de cathéters						
	Tygon <sup>a</sup> PVC	Tygon <sup>b</sup> PVC	Seldiflex poly- éthylène	Seldiflex poly- uréthane «blanc»	Endocath poly- éthylène	Seldiflex poly- éthylène	Seldiflex poly- uréthane «gris»
N° expérience	1	2	1	2	1-2	3	4
Nombre d'animaux	2	2	2	2	2	6	5
Poids moyen jeun (kg)	78 ± 3	75 ± 4	87 ± 4	95 ± 7	94 ± 6	104,5 ± 11	118,3 ± 8
Durée d'activité (j)	3	3	10 à 12	50	55	2	65
Héparine (UI/l)	1 x 10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>5</sup>	5 x 10 <sup>5</sup>	5 x 10 <sup>5</sup>
Problèmes observés au terme de l'essai							
ponction	—	—	—	—	—	—	+
perfusion	+	+	+	+	+	—	+
caillot	—	—	+	—	—	—	—
étranglement	—	—	—	—	—	+	—

narcose au Nembutal (Sanofi-Ceva, Belgique), 15 ml/100 kgPV en iv) est placé en décubitus latéral gauche sur la table d'opération. Le flanc est incisé sur une longueur de 40 cm, parallèlement et légèrement en retrait de la dernière côte.

Afin de prévenir tout épanchement sanguin, une suture en bourse (Mersilk 3/0 Ethicon) est pratiquée sur la séreuse de la veine. Le cathéter est ensuite introduit à l'aide du trocart adéquat. Pour les expériences 3 et 4, le positionnement des cathéters a été réalisé grâce à un échographe Aloka SSD-630 (Biomedic, Belgique). L'adjonction d'un prolongateur en polyéthylène (Plastimed, France; Connectub, 60 cm de longueur, d i : 1,5 mm) au niveau de l'embase des cathéters de type Seldiflex est nécessaire pour permettre leur extériorisation. Les infections postopératoires sont prévenues à l'aide de 3 injections intramusculaires de pénicilline ( $3 \times 10^6$  UI) à 24 h d'intervalle.

Au cours de la première semaine postopératoire, les cathéters sont lavés 2 fois par jour avec une solution physiologique contenant  $10^5$  UI/l d'héparine-lithium (Sigma, États-Unis, n° H0878). La concentration en héparine a toutefois été augmentée à  $5 \times 10^5$  UI/l au cours des 2 dernières expériences afin de prévenir la formation de caillots.

Les semaines suivantes, l'entretien des cathéters n'est plus effectué qu'une seule fois par jour.

### **Vaisseaux sanguins cathétérisés**

Au cours des 4 expériences, il a été procédé au cathétérisme de la veine sus-hépatique gauche, de la veine cave et de la veine porte. Cette dernière étant toutefois difficile d'accès, le cathéter a été introduit au niveau d'une veine mésentérique et dirigé jusqu'à la veine porte. Pour la veine sus-hépatique, le cathéter est introduit dans la veine cave au niveau rénal et est ensuite dirigé jusqu'à la veine sus-hépatique gauche. Afin de comparer nos observations avec les résultats endocrinologiques généralement obtenus dans le flux sanguin périphérique, un cathéter en polyéthylène de type Seldiflex (Plastimed, France; longueur : 20 cm; d i : 1,5 mm) est placé au niveau de la veine jugulaire.

## **RÉSULTATS**

### ***Mise au point de la cathétérisation des vaisseaux hépatiques***

L'emploi de l'échographie a permis de positionner les différents cathéters de manière rigoureuse (fig 1, expériences 3 et 4) et de réduire de 50% environ le temps de l'intervention chirurgicale.

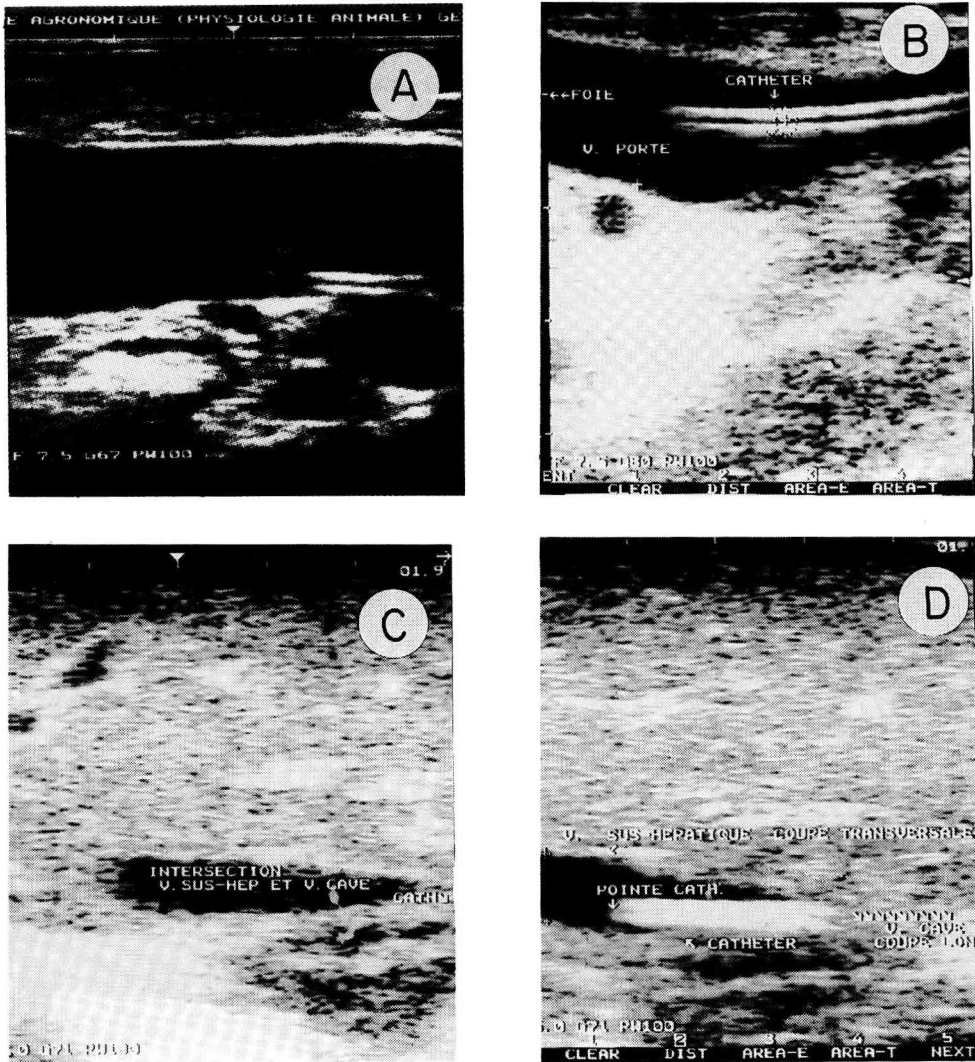
Les cathéters Seldiflex en polyuréthane «gris» ont présenté la meilleure biocompatibilité (pas de rejet observé) et, du fait de leur rigidité structurelle, aucune occlusion n'a été constatée durant une période d'essai de 65 j (tableau I).

Une concentration d'héparine de  $5.10^5$  UI/l est toutefois nécessaire pour prévenir la formation d'un caillot sanguin (tableau I).

### ***Évolution du taux plasmatique de testostérone et d'IGF-I au cours de la puberté***

Les taux plasmatiques en testostérone augmentent rapidement (en 1 à 2 j) pour atteindre une concentration moyenne supérieure à 2 ng/ml (fig 2). Cette augmentation est contemporaine de l'établissement de la puberté qui a lieu chez tous les veaux entre la 15<sup>e</sup> et la 16<sup>e</sup> semaine.

Sur l'ensemble de la période expérimentale, le taux plasmatique moyen de testostérone au niveau portal ( $2,7 \pm 0,4$  ng/ml) est plus faible que celui observé au niveau des autres vaisseaux ( $3,2 \pm 0,5$ ,  $2,9 \pm 0,3$  et  $3,25 \pm 0,4$  ng/ml) respectivement au niveau des veines sus-hépatiques, jugulaire et cave). Ces différences ne sont toutefois pas significatives.

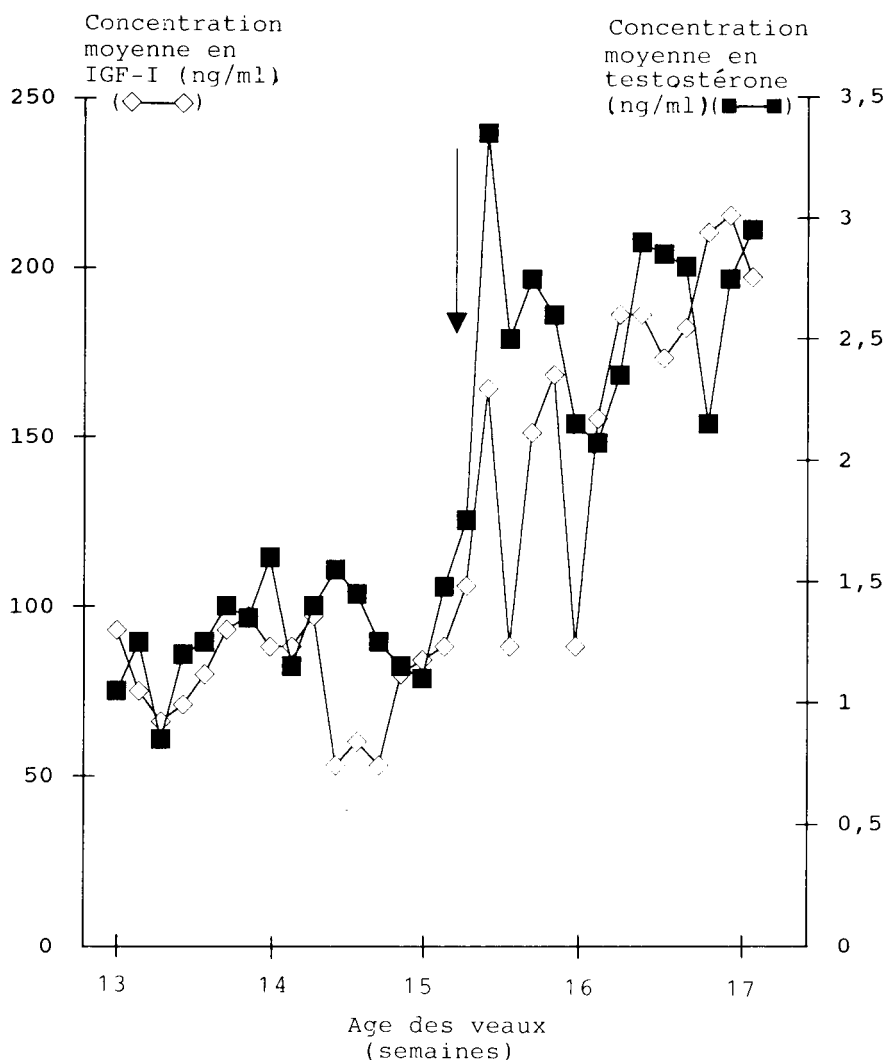


**Fig 1.** Coupe longitudinale de la veine porte avant (A) et après (B) cathétérisation et de la veine sus-hépatique avant (C) et après (D) cathétérisation (sonde échographique de 7.5 Mhz).

Les concentrations plasmatiques d'IGF-I augmentent également rapidement en période pubertaire (fig 2). Toutefois, une phase transitoire d'une dizaine de jours est observée au cours de laquelle, les taux plasmatiques d'IGF-I mesurés fluctuent quel que soit le vaisseau examiné. Après

cette période, les taux sont élevés et relativement stables.

Les concentrations d'IGF-I au niveau des veines porte et cave (respectivement,  $177 \pm 44$  et  $186 \pm 35$  ng/ml) sont plus faibles que celles observées au niveau des veines sus-hépatique et jugulaire (respecti-



**Fig 2.** Évolution de la moyenne du taux plasmatique journalier établie à partir des observations effectuées au niveau des veines cave, porte, sus-hépatique et jugulaire pour la testostérone et l'IGF-I chez le bovin en phase pubertaire. La flèche indique le jour de l'établissement de la puberté.

vement,  $239 \pm 53$  et  $248 \pm 44$  ng/ml). Quoique proche du degré de signification ( $P < 0,5$ ), les valeurs observées au niveau des 4 vaisseaux ne diffèrent pas significativement dans nos conditions expérimentales.

## DISCUSSION

L'étude de l'activité biologique de la somatotropine exige le cathétérisme des vaisseaux afférents et efférents au foie. Comme l'indique ce travail, la difficulté majeure de ce type de recherche réside dans le choix du matériel utilisé. Dans nos conditions expérimentales, seuls les cathéters en polyuréthane «gris» ont présenté des résultats probants. Placés avec soin, ils ont permis la réalisation d'expériences de longue durée sans problème notoire. Par rapport au Teflon, utilisé par Slepatis *et al* (1987) et Reynolds *et al* (1988) et au polyvinyl employé par Durand *et al* (1988), le polyuréthane a présenté une biocompatibilité supérieure et est apparu moins traumatisant au niveau de l'apex pour la paroi du vaisseau.

Confirmant les observations de Slepatis *et al* (1987), l'échographe, muni d'une sonde performante, a permis de positionner immédiatement et de manière correcte les cathéters, surtout dans le cas de la veine sus-hépatique. Dans nos conditions expérimentales, l'utilisation de ce type d'appareil a réduit le temps de l'intervention chirurgicale d'environ 50%.

Comme préconisé par Durand *et al* (1988), une concentration en héparine de la solution de rinçage avoisinant les  $5 \times 10^5$  UI/l est souhaitable afin de se prémunir contre la formation éventuelle d'un caillot.

Le cathétérisme permanent du foie a permis de suivre l'évolution plasmatique de la testostérone et de l'IGF-I. Pour l'IGF-I,

les taux plasmatiques observés au niveau de certains vaisseaux sont similaires à ceux rapportés dans la littérature (Coxam *et al*, 1988). Il est ressorti également qu'il n'existe pas dans nos conditions expérimentales, de différence significative entre les taux moyens en testostérone et en IGF-I au niveau des 4 vaisseaux examinés. Toutefois, quoique non significatifs, les taux sanguins au niveau portal pour les 2 hormones étaient systématiquement plus faibles que ceux observés dans les autres vaisseaux. De nouvelles investigations sur un nombre élevé d'animaux sont cependant nécessaires pour confirmer ou infirmer les présentes observations.

Comme il a été décrit précédemment (Amann et Schanbacher, 1983; Renaville *et al*, 1983), la puberté est un processus très rapide. Le suivi quotidien du taux sanguin en testostérone a montré que celui-ci s'est accru très rapidement pour atteindre en quelques j des valeurs identiques à celles observées chez l'adulte (Renaville *et al*, 1983).

La concentration plasmatique en IGF-I présente une évolution similaire à celle de la testostérone et confirme ainsi pour le bovin les observations réalisées chez l'homme (Luna *et al*, 1983; Jasper, 1985). Les taux sanguins en IGF-I, faibles avant la puberté, se sont accrus rapidement pour atteindre, en une dizaine de jours, des taux élevés comparables à ceux observés chez l'adulte. Cependant, si l'évolution des 2 hormones semblent se dérouler avec une certaine synergie, aucune relation significative n'a pu être mise en évidence entre les taux plasmatiques de celles-ci tant avant que pendant ou après la puberté. L'augmentation du nombre de prélèvements quotidiens devrait permettre une meilleure analyse du phénomène afin d'établir des relations éventuelles entre les deux molécules.

Disposant d'un modèle expérimental performant (le cathétérisme permanent du foie), l'étude de l'axe hypothalamo-hypophyso-hépatique en relation avec l'axe gonadique devrait s'avérer plus aisée et permettre une meilleure compréhension du processus de croissance, plus particulièrement au cours de la phase pubertaire.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé avec l'aide financière de l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA) (convention n° 5081 A).

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à la société Biomédic (Belgique) pour avoir gracieusement mis à notre disposition un échographe ALOKA SSD 630.

## RÉFÉRENCES

- Amann RP, Schanbacher BD (1983) Physiology of male reproduction. *J Anim Sci* 57 (suppl 2), 380-405
- Chantarapruteep P, Thibier M (1979) LH and testosterone responses to gonadolibérin (LRH) treatment in young bulls prior to and during puberty. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 19, 637-646
- Coxam V, Davicco MJ, Opmeer F, Beckers JF, Durand D, Bauchard D, Barlet JP (1988) Endocrine regulation of hepatic somatomedin C (IGF-1) production in young calves. In: *Fetal and neonatal physiology* (Jones CT, ed) Perinatology Press, New York, 502-505
- Davis SL, Hossner KL, Ohlson DL (1984) Endocrine regulation of growth in ruminants. In: *Manipulation of growth in farm animals* (Roche JJ, O'Callaghan D, eds) Martinus Nijhoff Dordrecht, 151-166
- Durand D, Bauchard D, Lefaiivre J, Donnat P (1988) Method for continuous measurement of blood metabolite hepatic balance in conscious preruminant calves. *J Dairy Sci* 71, 1632-1639
- Jasper HG (1985) Somatomedin response to testosterone stimulation in children with male pseudohermaphroditism, cryptorchidism, anorchia or micropenis. *J Clin Endocrinol Metab* 60, 910-922
- Lemal D, Renaville R, Claes V, Ruelle L, Fabry J, Burny A, Underwood LE, Ketelslegers JM (1989) Effects of pituitary somatotropin injections on plasma insulin-like growth factor I and somatotropin profiles in growing heifers. *J Anim Sci* 67, 2715-2723
- Luna A, Wilson D, Wibbelsman C, Brown R, Nagashima R, Hintz R, Rosenfeld R (1983) Somatomedin in adolescence: a cross-sectional study of the effect of puberty on plasma insulin-like growth factor I and II levels. *J Clin Endocrinol Metab* 57, 268-271
- Renaville R, Fabry J, Halleux V, Burny A (1983) Testosterone plasma profiles, as a function of age in young bulls from the bovine double-muscled Belgian White Blue breed. A preliminary report. *Theriogenology* 19, 159-167
- Reynolds CK, Huntington GB, Tyrell HF, Reynolds PJ (1988) Net portal-drained visceral and hepatic metabolism of glucose, L-lactate and nitrogenous compounds in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 71, 1803-1812
- Slepetis R, Cohick WS, Bauman DE, Hackett R (1987) Surgical cannulation of an hepatic vein in dairy cows utilizing diagnostic ultrasound. *J Dairy Sci* 70, 571-575
- Symonds HW, Baird GD (1973) Cannulation of an hepatic vein, the portal vein and a mesenteric vein in the cow, and its use in the measurement of blood flow rates. *Res Vet Sci* 14, 267-273
- Van Den Brande JL (1986) Les somatomédines. Structure, physiologie et clinique. *Ann Endocrinol* 47, 350-362