

Variations nycthémérales de la testostérone et de la lutropine plasmatiques chez le chien (1)

R. DE COSTER, J.F. BECKERS, P. WOUTERS-BALLMAN, F. ECTORS*

* *Chaire d'Obstétrique et des Troubles de la Reproduction, rue des Vétérinaires, 45 à 1070 Bruxelles.*

RESUME

Les variations nycthémérales de la testostérone et de la lutropine plasmatiques ont été déterminées par radioimmunoessai chez 7 chiens mâles, à l'aide de prélèvements effectués toutes les heures pendant 24 heures ou toutes les 20 minutes pendant 8 heures.

La concentration de L.H. varie de $1,2 \pm 0,6$ ng/ml (taux de base) à $3,8 \pm 1,6$ ng/ml (moyenne des pics), et celle de testostérone de $1,4 \pm 0,8$ ng/ml à $3,5 \pm 1,8$ ng/ml.

Les pics de L.H. au nombre de 5 à 8 par 24 heures sont en général suivis dans les 60 minutes par un pic de testostérone.

D'autre part, un rythme nycthéméral régulier n'a pu être mis en évidence.

INTRODUCTION

Chez l'homme, ainsi que chez les animaux domestiques, les taux plasmatiques de lutropine (L.H.) et de testostérone

présentent d'importantes et rapides fluctuations au cours de la journée. Cependant, l'existence d'un rythme nycthéméral régulier ainsi que les relations exactes entre ces deux hormones restent à préciser, notamment chez les carnivores domestiques. Dans le présent travail, nous envisagerons les variations de la L.H. et de la testostérone chez le chien au cours d'une période de 24 heures.

(1) Travail partiellement subsidié par l'I.R.S.I.A., rue de Crayer, 6 à Bruxelles.

MATERIEL ET METHODES

7 chiens mâles de race beagle, âgés de 2 à 7 ans, isolés en cages individuelles ont été utilisés pour cette expérience. Les prises de sang, effectuées à intervalle de 60 minutes pendant 24 heures ont été réalisées à différentes périodes de l'année (printemps et automne). De plus, en juillet, 3 animaux ont subi des prélèvements sanguins à intervalle de 20 minutes pendant 8 heures.

Grâce à un cathéter fixé à demeure, 5 ml de sang sont prélevés à la veine jugulaire, placés en tubes héparinés et centrifugés immédiatement. Le plasma est alors stocké à -20°C .

La testostérone et la L.H. plasmatique ont été dosées par des techniques radioimmunologiques.

a) L.H.

La L.H. est dosée par le système hétérologue décrit antérieurement (De Coster et Coll. 1979) et utilisant un standard L.H. canin (Stockell Hartree et Coll. (1972) *).

b) Testostérone

Nous avons utilisé un antisérum obtenu sur lapin immunisé avec de la testostérone 3 carboxyméthylxime couplée à la sérum albumine bovine. A une dilution initiale de 1/120.000, cet antisérum fixe 50 % des 3 500 dpm de testostérone ($1,2\text{H}^3$) dont l'activité spécifique est de 49 Curies par millimoles (Amersham). En présence d'un excès d'anticorps, la fixation du traceur est de 90 % et la liaison non spécifique se maintient au niveau de 2 %.

La sensibilité du dosage est de 5 pg d'hormone par tube, et le Bo 50 % est obtenu avec 25 pg d'hormone par tube.

L'antisérum présente les réactions croisées suivantes : Progesterone 0,0125 %, 17β Oestradiol 0,001 %, Cortisol 0,001 %, cholestérol 0,001 %, dihydrotestostérone 48 %.

* Ce standard nous a été envoyé par Mrs. Stockell Hartree que nous remercions vivement.

L'extractoin porte sur 0,1 ml de sérum additionné de 2 ml de benzène P.A. (Merck) fraîchement distillé ; le mélange est ensuite agité sur « vortex » pendant 2 minutes. Les tubes sont alors centrifugés à 2 400 g pendant 20 minutes.

En fonction des taux hormonaux attendus, des quantités variables de benzène (100, 200, 300, 500 μl) sont reprises et soumises à évaporation dans une étuve à dépression.

Chaque échantillon est dosé 2 fois, en reprenant une dose simple et une dose double de benzène. Après évaporation, on ajoute à chaque tube : 0,3 ml de tampon (phosphate 0.05 M, pH 7.6 contenant 9 % NaCl et 1 % de gélatine ; 0,1 ml de testostérone marquée ; 0,1 ml d'antisérum. On laisse incubé 1 heure à 20°C puis une nuit à 4°C .

La séparation des hormones marquées libre et liée s'effectue par addition de 0,5 cm^3 de charbon (130 mg charbon dextran/60 ml et 13 mg charbon NoritA/60 ml) laissé en contact pendant 10 minutes à 4°C . Les tubes sont alors centrifugés et 0,5 cm^3 de surnageant est repris et placé dans une fiole de comptage contenant 4 ml de liquide scintillant.

Le pourcentage d'extraction varie entre 93,5 % et 95,4 % selon que l'on ajoute de l'hormone froide ou marquée à du plasma de chienne ovariectomisée. La reproductibilité du dosage se caractérise par un coefficient de variation de 8,8 % dans un même dosage et de 11,8 % d'un dosage à l'autre.

La valeur du « blanc », calculée à partir d'un plasma débarrassé de ses stéroïdes par le traitement au charbon dextran ou à partir d'un plasma de castré est de 40 ± 5 pg/ml de plasma, dans le système utilisé.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les figures 1, 2 et 3 montrent les profils des variations des taux plasmatiques de L.H. et de testostérone pendant une période de 24 heures chez deux chiens et de 8 heures chez un animal.

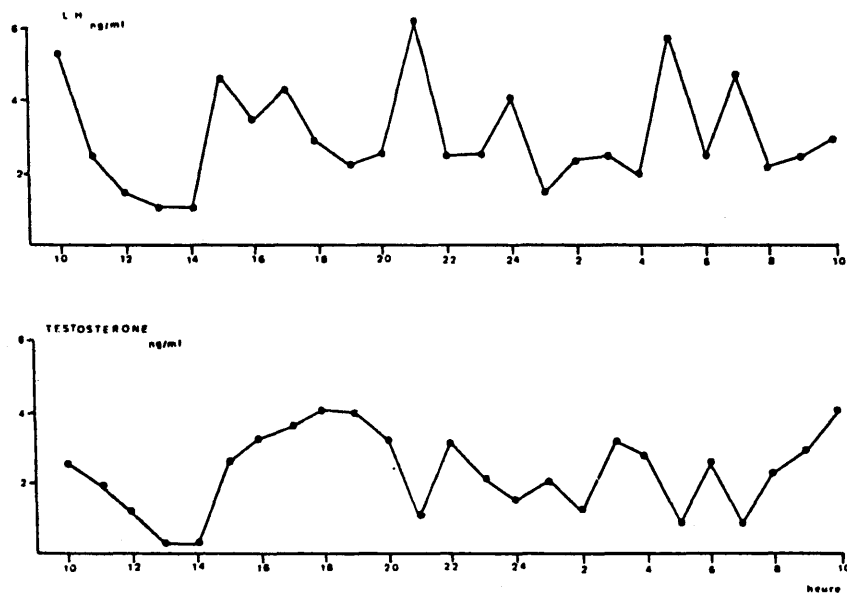


Fig. 1. — Variations plasmatiques de la lutopine et de la testostérone chez le beagle n° 6, pendant 24 heures.

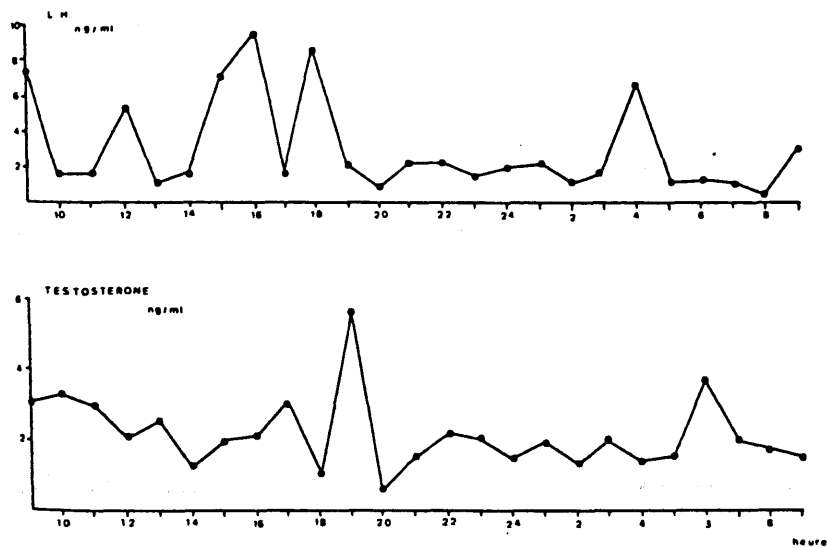


Fig. 2. — Variations plasmatiques de la lutopine et de la testostérone chez le beagle n° 10, pendant 24 heures.

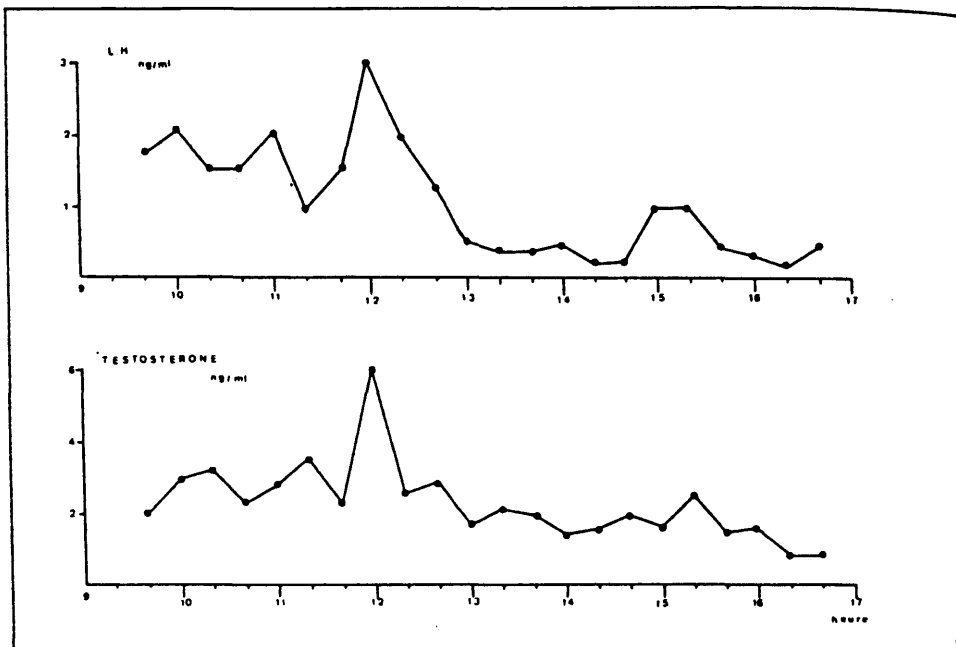


Fig. 3. — Variations plasmatiques de la lutropine et de la testostérone chez le beagle n° 9, pendant 8 heures.

Le taux de base de la L.H. est de $1,2 \pm 0,6$ ng/ml tandis que la valeur moyenne des pics sécrétoires atteint $3,8 \pm 1,6$ ng/ml (avec un maximum de 10,1 ng/ml). Le taux de base de la testostérone est de $1,4 \pm 0,8$ ng/ml et la valeur des pics s'élève à $3,5 \pm 1,8$ ng/ml (avec un maximum de 7,9 ng/ml). Les valeurs relativement peu élevées des pics s'expliquent en grande partie par le fait que les prises de sang ont été espacées à intervalle de 60 minutes et n'ont donc pas toujours été effectuées au moment où la concentration de l'hormone est maximale. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par De Palatis et coll. (1977). Toutefois, ces auteurs mentionnent des taux de L.H. plus élevés. Cette

différence est probablement liée à l'utilisation d'un autre standard L.H. canin.

Nous avons considéré comme pic toute augmentation de la concentration hormonale supérieure à 1 ng. Sur l'ensemble de l'expérience, nous avons dénombré 60 pics de L.H. et 55 pics de testostérone, au nombre de 5 à 8 par 24 heures pour les 2 hormones. La plupart des augmentations de L.H. sont accompagnées ou suivies dans les 60 minutes par une hausse du taux de testostérone. La relation entre les 2 hormones est plus nette lors de prélèvements effectués à intervalle de 20 minutes. Dans ce cas, l'augmentation de testostérone se produit 20 minutes après celle de L.H., mais est plus étalée dans le temps.

Toutefois, nous avons remarqué que 11 pics de testostérone (15,1 %) ne sont pas précédés dans l'heure par une élévation du taux de L.H. et que 5 pics de L.H. (8,3 %) ne sont pas suivis d'une libération d'androgènes. Parfois, 2 pics de L.H. successifs coïncident avec un pic de testostérone.

Des variations similaires du taux des hormones sexuelles ont été décrites chez le chien (De Palatis et Coll. 1977), le bélier (Wilson et Coll. 1977, Lincoln 1978, Schanbaker et Ford 1976), le taureau (Schmidt et Coll. 1973) et l'homme (Rowe et coll. 1975).

D'autre part, nous n'avons pas mis en évidence de rythme nycthéral régulier et identique chez tous les individus, pré-

sentant un maximum de sécrétion hormonale à un moment déterminé de la journée, contrairement à ce qui a été publié au sujet de l'étalon (Kirkpatrick et coll. 1976, Sharma 1976), du verrat (Ellendorf 1975), du singe rhésus (Beattie et coll. 1978) et de l'homme (Rowe et coll. 1975).

Les variations nycthérales de la lutropine et de la testostérone chez le chien rappellent plutôt le profil hormonal observé chez le bélier et le taureau.

REMERCIEMENT

Nous remercions vivement M^{me} Fromont-Liénard pour son excellente collaboration.

BIBLIOGRAPHIE

- BEATTIE C.W., BULLOCK B.C. Diurnal variations of serum androgen and estradiol 17 β in the adult male green monkey. (*Macaca fascicularis* sp.). *Biol. Reprod.*, 1978, 19, 36.
- DE COSTER R., BECKERS J.F., WOUTERS-BALLMAN P., ECTORS F. Variations de la L.H., de la F.S.H., du 17 β Estradiol et de la progestérone au cours du cycle oestral de la chienne. *Ann. Méd. Vét.*, 1979, 123, 177.
- DE PALATIS L., MOORE J., FALVO R.E. Plasma concentrations of testostérone and L.H. in the male dog. *J. Reprod. Fert.*, 1978, 52, 201.
- ELLENDORF F., PARVIZI N., POMERANTZ K., MARTJEN A., KONIG A., SMIDT D., ELSAESSER F. Plasma L.H. and testostérone in the adult male pig : 24 hour fluctuations and the effect of copulation. *J. Endocr.*, 1975, 67, 403.
- KIRKPATRICK J.F., VAIL R., DEVOUS S., SCHWEND S., BAKER C.B., WIESNER L. Diurnal variation of plasma testostérone in wild stallions. *Biol. Reprod.*, 1976, 15, 98.
- LINCOLN G.A. The temporal relationship between plasma levels of F.S.H. and L.H. in the ram. *J. Reprod. Fert.*, 1978, 53, 31.
- ROWE P.H., RACEY P.A., LINCOLN G.A., ELLWOOD M., LEHANE J., SHENTON J.C. The temporal relationship between the secretion of L.H. and testostérone in man. *J. Endocr.*, 1975, 64, 17.
- SHARMA O.P. Diurnal variation of plasma testostérone in stallions. *Biol. Reprod.*, 1976, 15, 158.
- SMITH O.W., MONGKONPUNYA K., HAFS M.D., CONVEY E.M., OXENDER W.D. Blood serum testostérone after sexual preparation or ejaculation, of after injections of L.H. or prolactin in bulls. *J. An. Sci.*, 1973, 37, 979.
- STOCKELL HARTREE A., BELL E.T., CHRISTIE D.W., KIRKHAM K.E. Partial purification of dog pituitary glycoprotein hormones. *J. Endocr.*, 1972, 52, 403.
- WILSON P.R., LAPWOOD K.R. Studies on hormone secretions in romney rams : L.H., testostérone and prolactin plasma profiles, L.H./testostérone interrelationships and the influence of seasons. *Theriogenology*, 1978, 9, 279.

SUMMARY

Diurnal variations of plasmatic testosterone and lutropin were determined by radioimmunoassay in seven male beagle dogs. Blood samples were withdrawn hourly during 24 hours or every 20 min. during 8 hours.

L.H. concentrations ranged from $1,2 \pm 0,6$ ng/ml (basal level) to $3,8 \pm 1,6$ ng/ml (peak level). Testosterone concentration varied from $1,4 \pm 0,8$ ng/ml to $3,5 \pm 1,8$ ng/ml.

5 to 8 L.H. peaks were observed during the 24 hours period and they were generally followed, after about 60 minutes by corresponding testosterone peaks.

On the other hand, no regular nycthemeral rythm could be established.