

## FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE

# Utilisation répétée des gonadotropines exogènes dans le contrôle de la reproduction: justifications, relations structure-activité biologique, effets secondaires potentiels. Une synthèse.

DRION P.V.\* , REMY B.\* , HOUTAIN J.Y.\* , MC NAMARA M. \*\* , BARIL G.\*\*\* , HEYMAN Y.\*\*\*\*\* , COGNIE Y.\*\*\* , THEAU-CLEMENT M.C.\*\*\*\* , LEBŒUF B.\*\*\*\*\* , ECTORS F.\* , SEGERS K.\*\*\*\*\* , BECKERS J.F.\*

\* Université de Liège – Faculté de Médecine Vétérinaire – Physiologie de la Reproduction – B-4000 Sart-Tilman (Belgium)

\*\* Université de Liège – Faculté de Médecine – Biochimie B-4000 Sart-Tilman (Belgium)

\*\*\* INRA – PRMD-57380 Nouzilly (France)

\*\*\*\* INRA – Station d'Amélioration Génétique des Animaux – 31320 Castanet Tolosan (France)

\*\*\*\*\* INRA – Biologie du développement – 78350 Jouy en Josas (France)

\*\*\*\*\* INRA – SEIA – 86480 Rouillé (France)

\*\*\*\*\* Université de Liège – Faculté de Médecine Vétérinaire – Dpt. Génétique (Belgium)

**RESUME.** Les gonadotropines pituitaires (follitropine -FSH-; lutropine -LH-; human Menopausal Gonadotropin -hMG-) et placentaires (human Chorionic Gonadotropin -hCG- encore appelée pregnant Urine gonadotropin -pU-; equine Chorionic Gonadotropin -eCG- encore appelée Pregnant Mare Serum Gonadotropin -PMSG-) sont couramment utilisées dans le traitement de l'infertilité ou dans la maîtrise de la sexualité chez les mammifères des espèces bovine, canine, caprine, cunicole, équine, féline, ovine, porcine et humaine... Cet article décrit leurs utilisations principales (induction et synchronisation de l'œstrus, induction de l'ovulation, superovulation, augmentation de la fertilité, traitement de certaines formes d'ancœstrus, induction de la réceptivité), éclairées d'une relation historique de leur découverte (gonadotropines chorioniques équine et humaine) et de la description de leurs principales propriétés biochimiques. La description de la production d'anticorps anti-gonadotropines chez les différentes espèces soumises à des expositions répétées à ces molécules exogènes est éclairée par une approche biochimique de leurs structures respectives, mettant en évidence le haut pourcentage d'homologie des séquences d'acides-aminés les composant (conservation de séquences types au cours de l'évolution). Ainsi, les séquences en acides-aminés des différentes gonadotropines (dans un même espèce et entre espèces) sont suffisamment conservées que pour que l'hormone induise une réponse chez un animal traité, mais sont en même temps suffisamment différentes que pour provoquer une réaction immune chez l'animal d'une espèce plus éloignée qui y serait répétitivement exposé. Un bref rappel de notions d'immunologie de base permet au lecteur de recentrer ses connaissances sur les principaux mécanismes physiologiques impliqués dans la pathogénie d'une réaction anaphylactique ou d'immunorésistance. Enfin, une réflexion soulignant l'influence de la distance phylogénétique entre l'espèce source (humaine ou équine) et l'espèce traitée sur l'intensité de la réaction immunitaire termine la revue; elle pourra orienter les praticiens vers une utilisation plus raisonnée des gonadotropines.

## INTRODUCTION

De nombreuses substances pharmacologiques ainsi que des molécules incluant des stéroïdes, des peptides et des glycoprotéines potentiellement immunogènes sont fréquemment utilisées dans les programmes

thérapeutiques ou de gestion de la reproduction chez les animaux domestiques et dans les programmes de procréation assistée chez l'homme.

Ainsi, la FSH, la LH, l'hMG (gonadotropines pituitaires) et l'hCG

-pU-, l'eCG -PMSG- (gonadotropines placentaires) ont été et sont encore utilisées dans les espèces bovines, équinnes, ovines, caprines, canines, porcines et humaines, tant pour l'induction et la synchronisation de l'œstrus, que l'induction de l'ovulation, la superovulation, l'aug-

mentation de la fertilité, le traitement de certaines formes d'œstrus et même l'induction de la réceptivité chez les lapines. Durant ces dernières années, notre laboratoire a réalisé de nombreuses investigations non invasives dans différentes espèces en vue de récolter des informations objectives sur les effets secondaires possibles d'administrations répétées de gonadotropines exogènes, tels la présence d'anticorps circulants et la diminution de la réponse biologique aux traitements. Nos recherches ont ainsi enregistré chez la chèvre les performances de reproduction (fertilité, prolificité, nombre d'ovulations, survenue de l'œstrus, survenue du pic préovulatoire de LH, mortalité embryonnaire...) et les ont placés en parallèle avec le dosage des anticorps plasmatiques réalisés *in vitro* par une méthode radiométrique (RIA-Radio-Immuno-Assay) (Bodin *et al.*, 1997; Baril *et al.*, 1998).

De même, chez le lapin l'induction de la réceptivité, le nombre d'ovulations, la fécondité, la fertilité, la taille de portée, le poids de la portée à la naissance et au sevrage,... ont été corrélés avec le type de molécule(s) utilisée(s) ainsi que la dose (Lebas *et al.*, 1996; Theau-Clément *et al.*, 1998).

De manière synthétique, il apparaît que l'exposition répétée d'un animal à une molécule gonadotrope exogène, entraîne chez celui-ci la formation d'anticorps spécifiques dirigés contre cette molécule. Ainsi, des vaches soumises à l'ovum pick-up (ponction trans-vaginale échoguidée de follicules ovariens) et recevant hebdomadairement 1000 UI d'eCG présentent des taux plasmatiques en anticorps anti-eCG significativement élevés dès la troisième injection et apparemment suffisants que pour compromettre une réponse biologique lors d'injections ultérieures (Drion *et al.*, 1997). Il en va de même dans les autres espèces, la réponse immune variant cependant suivant l'espèce cible, l'espèce source, la dose utilisée et la demi-vie de l'hormone employée. De même, des études en cours chez le lapin (Theau-Clément *et al.*, résultats personnels) suggèrent une influence de la voie d'administration de la molécule et du solvant utilisé.

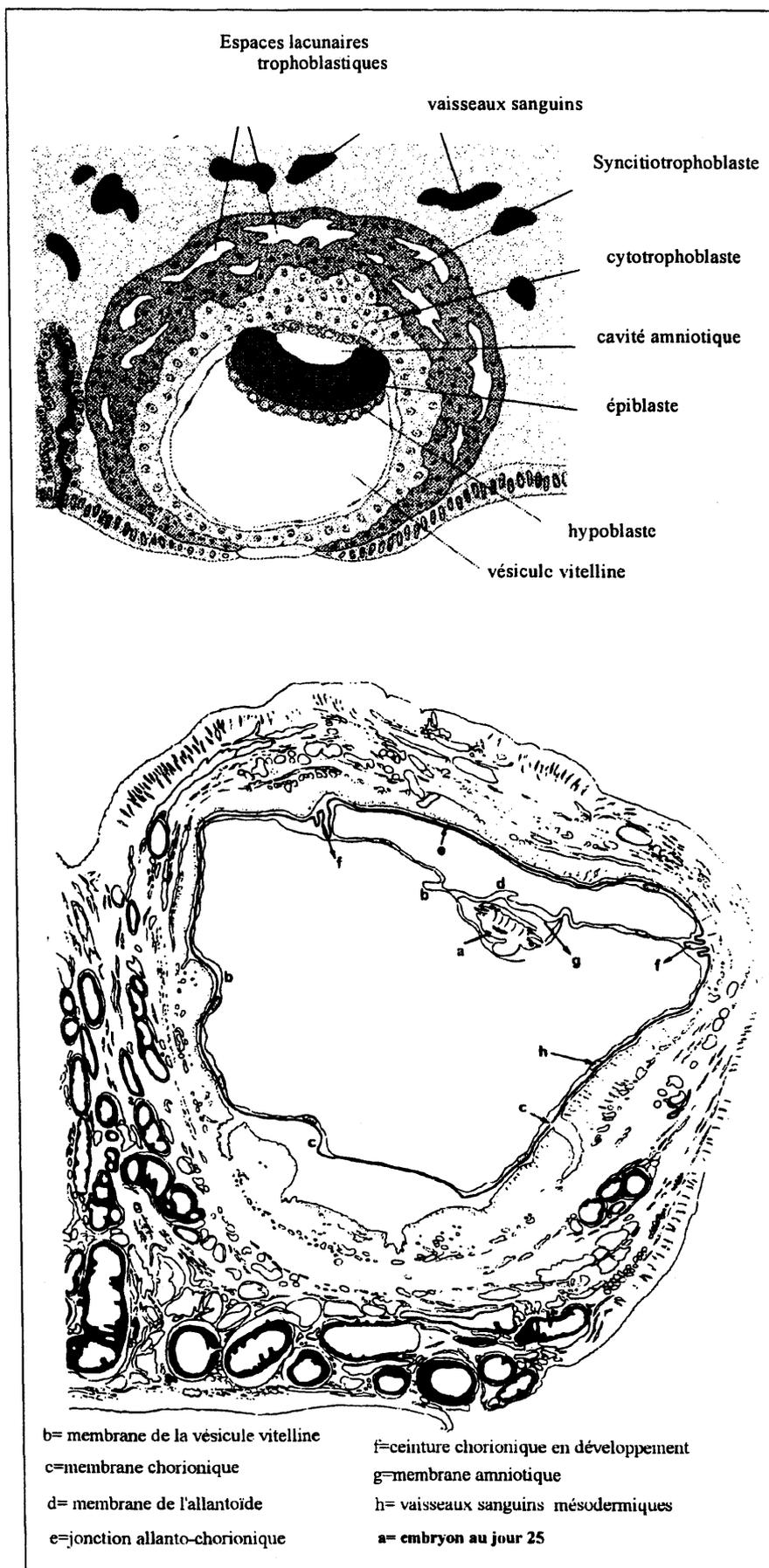


Figure 1

Schéma d'un blastocyste humain -a- (situation des cyto- et syncytio-trophoblastes) et coupe transversale d'un utérus de jument gravide -b- au jour 25 après ovulation.  
 -a- Langmann. Embryologie médicale. Ed. Masson, 1994, 443 p.  
 -b- Allen & Stewart. Equin chorionic Gonadotropin. In: Equine Reproduction. Eds. McKinnon & Voss. Lea & febiger Pub. Philadelphia, London, 1993, 81-96.

Cependant, les taux de liaison des anticorps plasmatiques aux gonadotropines injectées ne suffisent pas à expliquer l'intégralité d'une modification des performances de reproduction. La littérature portant sur les programmes d'immunisation contre les stéroïdes ou l'inhibine – utilisés pour améliorer les performances de reproduction – constitue une bonne illustration du contrôle multifactoriel de telles régulations et de la difficulté à obtenir les effets souhaités.

## LES GONADOTROPINES PLACENTAIRES

### Découverte des gonadotropines placentaires

#### L'hormone Chorionique Gonadotrope humaine (hCG)

La première description d'une hormone à activité LH-like dans l'urine de femme enceinte a été publiée en 1927 par Aschheim et Zondeck. Bien que l'extrait urinaire semblât identique aux extraits pituitaires au niveau des effets biologiques observés, des expériences complémentaires établirent sa simple activité LH-like et non FSH-like. Cette hormone placentaire fut appelée hCG pour *human Chorionic Gonadotropin* ou encore pU pour *pregnant Urine gonadotropin* vu son excrétion urinaire majeure.

#### L'hormone Chorionique Gonadotrope équine ou eCG

Les expériences de Cole (1931), Brouha (1930) et Aschheim & Zondeck (1927; 1928<sup>a</sup>) permirent de démontrer les effets du sérum de jument gestante sur la maturation du tractus génital, des ovaires et des glandes annexes chez des rats et des lapins immatures.

Ainsi, Cole démontra l'activité FSH- et LH-like de ce sérum, telle la stimulation de la croissance folliculaire, la sécrétion folliculaire d'œstrogènes et leur influence consécutive sur l'utérus et la maturation du vagin. Ce sérum pouvait également induire l'ovulation et la lutéinisation de follicules en évolution.

Le terme abrégé de PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonado-*

*trophin*) fut d'abord utilisé pour décrire cette hormone avant que les scientifiques ne choisissent de la décrire en fonction de son origine dans les cellules chorioniques sous le terme d'eCG (*équine Chorionic Gonadotropin*) (Cole *et al.*, 1931; Moore et Ward, 1980<sup>a</sup> & 1980<sup>b</sup>; Moore *et al.*, 1980).

### Origine des gonadotropines placentaires, concentrations sériques et urinaires

#### Embryologie: mise en place des unités sécrétantes

Le développement embryonnaire des œufs fécondés des mammifères marsupiaux et euthériens passe par une étape de segmentation constituant le préliminaire à la formation d'un organisme pluricellulaire. Cette segmentation consiste en de nombreuses divisions mitotiques de l'œuf qui génèrent finalement une morula, constituée d'un grand nombre de blastomères. Ceux-ci sont répartis en deux sous-populations: la première, également dénommée masse cellulaire interne (*inner cell mass* = ICM) représente le futur embryon ainsi que quelques-unes de ses annexes; la seconde, plus externe constitue le trophoblaste qui donnera l'épithélium du chorion.

Le trophoblaste est défini comme la couche externe de l'embryon et se divise lui-même en deux couches. L'interne, plus fine, est le cytotrophoblaste encore appelée hypoblaste; l'externe, plus épaisse, le syncytiotrophoblaste ou épiblaste (figure 1). Le placenta est en fait constitué par la réunion des villosités trophoblastiques avec la muqueuse utérine.

Chez la femme, le syncytiotrophoblaste traverse la couche du conjonctif utérin ainsi que l'endothélium des vaisseaux pour réaliser l'implantation à partir du septième jour suivant la fécondation.

Chez la jument (figure 2 a, b, c), un phénomène particulier d'épaississement circulaire du trophoblaste au niveau de sa zone équatoriale donne naissance à une structure appelée «*chorionic girdle*» ou ceinture chorionique. Cette formation apparaît histologiquement au jour 25 suivant

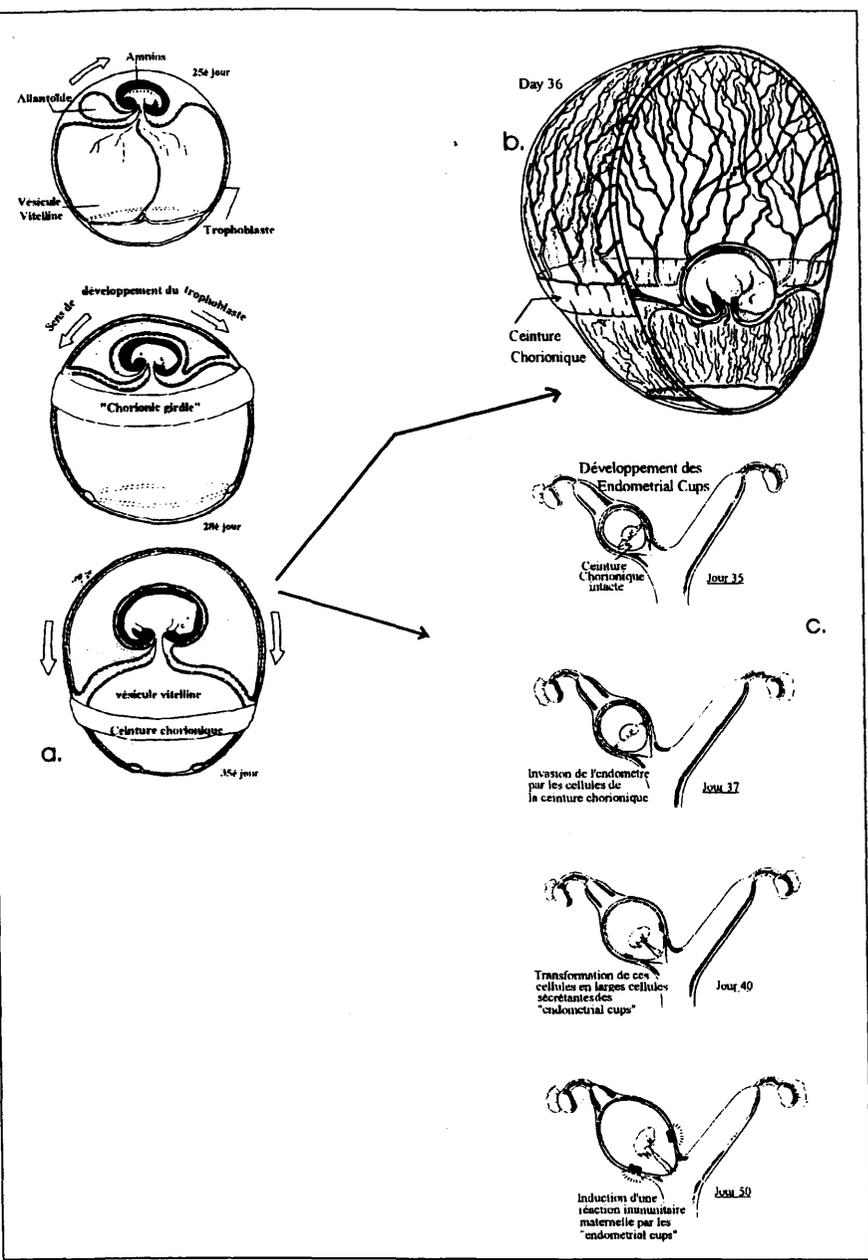
l'ovulation et se développe ensuite progressivement par multiplication des cellules la constituant. Les cellules hypertrophiées constituant cet «*appendice*» trophoblastique envahissent alors (jours 36 et 38) l'épithélium utérin, qu'elles dissocient et parfois phagocytent. L'envahissement des glandes endométriales est concomitante de la destruction de la basale de l'épithélium, destruction permettant à ces cellules trophoblastiques de coloniser le stroma utérin, de s'y arrêter dans leur progression, de s'agrandir fortement et de s'unir entre elles pour former les cupules endométriales proprement dites (Allen WR *et al.*, 1993).

#### Cinétique de production, taux circulants

Les cellules trophoblastiques (figure 1) sont la source tant d'hCG que d'eCG.

Chez la femme, la sécrétion d'hCG débute avant l'implantation (8<sup>e</sup> jour) (Fishel *et al.*, 1984; Lenton *et al.*, 1982) et l'hormone peut être détectée rapidement après la fertilisation. Chez celle-ci, les concentrations urinaires et plasmatiques en hCG sont élevées durant le premier trimestre de la grossesse (35-40 UI/ml). Ensuite, les taux plasmatiques décroissent et des valeurs faibles sont détectables jusqu'à l'accouchement (~5 UI/ml) (figure 3b).

Dans l'espèce équine, l'eCG apparaît dans le sérum de la jument gestante entre le 37<sup>e</sup> et le 40<sup>e</sup> jour qui suit la fécondation, c'est à dire après la migration des cellules binucléées depuis le compartiment fœtal vers l'interstitium endométrial (Allen *et al.*, 1973) (figure 2 a,b,c). De ~20 à 30 UI/ml, sa concentration plasmatique augmente ensuite et les valeurs les plus élevées sont détectables entre les jours 55 et 65 (~100 UI/ml). Une décroissance progressive est ensuite observée avec les valeurs les plus basses (~5-10 UI/ml) trouvées entre les jours 120 et 130 (figure 3a) (Rowlands, 1963). Cette chronologie de disparition de l'hormone du sang maternel est corrélée avec le fait que les cupules endométriales, décrites comme des structures en cratères (Scauder, 1912), persistent jusqu'au 150<sup>e</sup> jour de gestation



**Figure 2**

Formation de la ceinture chorionique chez la jument et invasion de l'endomètre pour constituer les «endometrial cups».

(D'après: Allen WR, Stewart F. Equine Chorionic Gonadotropin. In: Equine Reproduction. Eds Mc Kinnon, Voss. Lea & Febiger Pub. Philadelphia, London, 1993, 83-96.)

(Allen et Stewart, in Mc Kinnon). Une réaction immunitaire maternelle dirigée contre les antigènes majeurs d'histocompatibilité de type paternel qui sont exprimés par les cellules trophoblastiques semble être responsable de leur disparition (Allen, 1975<sup>b</sup>). Les concentrations trouvées dans le sang fœtal sont par contre très faibles (Cole *et al.*, 1935).

Les sources d'hCG et d'eCG pour la préparation de solutions commerciales sont constituées respectivement par l'urine de la femme enceinte et le sérum de la jument gestante.

### Structure des gonadotropines placentaires

#### Classification

Les hormones chorioniques gonadotropes humaines et équines font partie d'une famille d'hormones glycoprotéiques reprenant également FSH, LH et TSH. Toutes ces glycoprotéines présentent des poids moléculaires (PM) allant de 25.000 à 64.000 Daltons (Da) (tableau 3). Tant leur nature protéique que glucidique interviennent dans leur complexité biochimique (Closset *et al.*, 1975; Pierce et Parsons, 1981).

Les deux sous-unités ( $\alpha$  et  $\beta$ ) les composant, sont associées de manière non covalente et leur dissociation est observée en milieu acide ou basique ou lors de chauffage (Combarrous, 1994; Talamantes et Ogren, 1988).

Dans une même espèce, les sous-unités  $\alpha$  de la LH, de la FSH et des gonadotropines chorioniques placentaires sont similaires tandis que la composition en acides aminés et carbohydrates varie pour les sous-unités  $\beta$ . La sous-unité  $\beta$  est d'ailleurs classiquement tenue responsable de la spécificité des propriétés biologiques de l'hormone.

Enfin, entre espèces, peu de différences existent dans la séquence en acides aminés des sous-unités  $\alpha$ .

Ainsi, quatre vingt pourcents d'homologies de séquence existent entre l'hCG et la LH humaine -hLH- (121 premiers aa considérés) tandis qu'une moindre homologie est trouvée entre la  $\beta$ hCG, la  $\beta$ FSH et la  $\beta$ TSH (tableau 3).

Les pourcentages en hydrates de carbone par rapport au poids de la molécule sont respectivement de 30 pour l'hCG et 45 pour l'eCG (Pierce et Parsons, 1981).

#### Séquences en Acides Aminés

**Gonadotropine Chorionique humaine.** La sous-unité  $\alpha$  de l'hCG comporte 92 acides aminés et 2 oligosaccharides en position 52 et 78. La sous-unité  $\beta$  quant à elle contient 145 acides aminés et six unités saccharidiques (Morgan *et al.*, 1973). Chez les animaux, la sous-unité  $\alpha$  des gonadotropines contient 4 acides aminés en plus. On retrouve 5 ponts disulfures dans la sous-unité  $\alpha$  et 6 dans la sous-unité  $\beta$ , les groupements cystéines impliqués dans ces ponts disulfures étant identiques pour chaque sous-unité  $\alpha$  chez les différentes espèces (Derivaux et Ectors, 1989; McNamara, 1993).

L'association des deux sous-unités est indispensable à la manifestation de l'effet biologique des hormones glycoprotéiques et leur dissociation est suivie d'une modification de la conformation tri-dimensionnelle de chaque sous-unité. De plus, la conformation tridimensionnelle des

différentes hormones glycoprotéiques semble identique chez différentes espèces, phénomène attribuable à une conservation du nombre et de la situation des ponts disulfures dans les molécules tout au long de l'évolution (figure 4).

**Gonadotropine Chorionique équine.**

La sous-unité  $\alpha$  de l'eCG contient 96 acides aminés (Ward *et al.*, 1982; Combarrous, 1994; Derivaux et Ectors, 1989) et 10 résidus cystéines impliqués dans la formation des ponts disulfures. La sous-unité  $\beta$  contient 145 acides aminés.

En fait, la eLH mise à part, les sous-unités  $\beta$  des glycoprotéines hypophysaires contiennent 121 acides aminés alors que celles des chorionotropines et de la eLH en contiennent 145.

L'estimation imprécise du poids moléculaire de l'eCG (45.000 à 64.000 Da) ne repose plus sur l'ignorance de la séquence complète en acides aminés de la molécule mais bien sur les difficultés techniques rencontrées pour la détermination des poids moléculaires de protéines hautement glycosylées.

Enfin, différents variants de l'eCG ont été décrits dans le sérum, dans du milieu de culture du tissu trophoblastique, et dans les «*endometrial cups*» (Aggarwal *et al.*, 1980). Leurs plus faibles pourcentages en hydrates de carbone, les différences observées dans leurs séquences en acides aminés et leur poids moléculaires plus élevés confèrent à ces variants des différences biochimiques et fonctionnelles. La signification

biologique de ce polymorphisme dans la structure de l'eCG n'est pas encore vraiment claire mais reflète peut-être la variation génétique existant dans les races équines (Aggarwal *et al.*, 1980; McNamara, 1993). Une autre hypothèse serait l'existence d'une dualité structurale pour l'hormone stockée ou sécrétée.

**Interaction entre l'hormone et son récepteur**

Les études portant sur la structure tridimensionnelle des gonadotropines ont montré que chaque sous-unité ( $\alpha$  et  $\beta$ ) de ces glycoprotéines hétérodimériques est organisée en trois boucles polypeptidiques par l'association des ponts disulfures dont trois forment un véritable nœud, l'un des ponts passant à travers le cadre formé par les deux autres (Combarrous *et al.*, 1994) (figure 4). Les récepteurs des hormones glycoprotéiques sont constitués de 7 domaines peptidiques successifs insérés lors de repliements successifs dans l'épaisseur de la membrane cellulaire et interagissant avec un système d'enzymes membranaires ou sous-membranaires

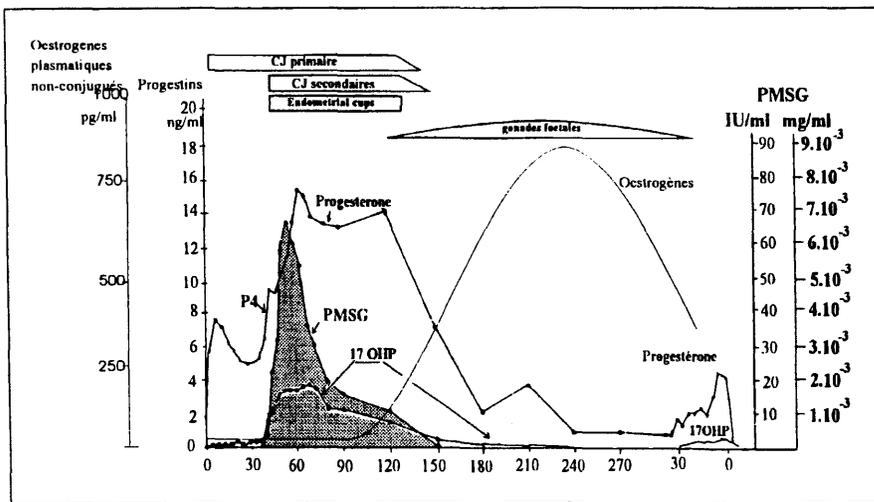


Figure 3 a

Profil sanguin de la PMSG, de la progestérone et de la 17- $\alpha$ -hydroxy progestérone chez la jument (d'après Vaissaire et Mc Kinnon) au cours de la gestation.

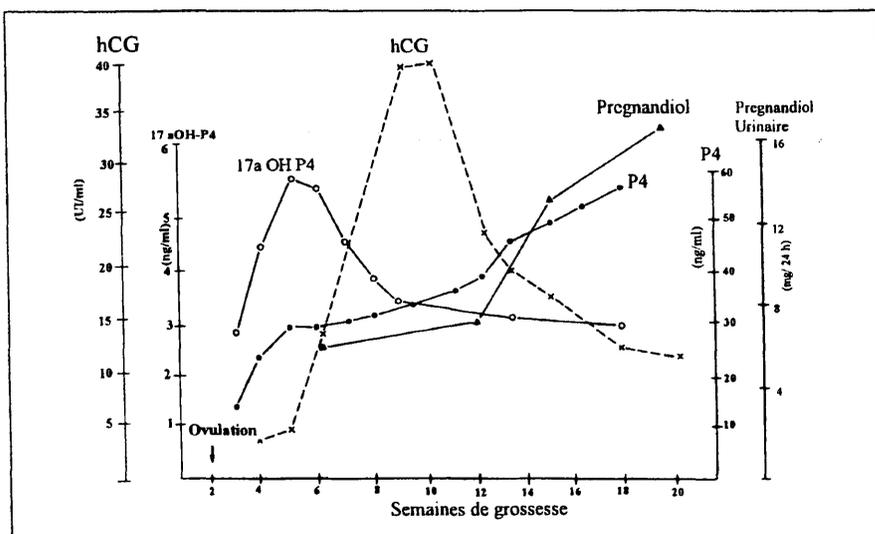


Figure 3 b

Profil sanguin de l'hCG, de la progestérone et de son métabolite, le prégnandiol, au cours de la grossesse chez la femme.

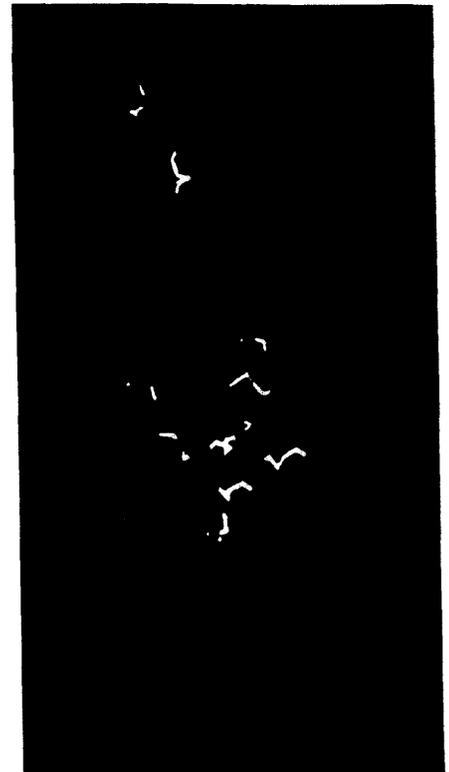


Figure 4

Structure tridimensionnelle de l'hCG (d'après Wu, Structure 1994; 2(6): 545-558).

En bleu: sous-unité  $\beta$ .

En rouge: sous-unité  $\alpha$ .

En jaune: ponts disulfures.

adénylate-cyclase ou phospholipase C. L'activation du système lié à la protéine-G constitue en fait la première réponse à la stimulation du récepteur et est suivie de la cascade d'activation des messagers secondaires intra-cellulaires.

Un manque relatif de spécificité de liaison avec le récepteur correspondant est décrit pour les gonadotropines, expliquant par exemple la liaison possible de la LH équine avec le récepteur de la FSH. De la même manière, l'eCG a une très faible affinité pour le récepteur à FSH chez le cheval alors qu'elle lie très facilement les récepteurs à LH (il faut sans doute à ce propos se rappeler l'homologie de séquence entre eCG et eLH). Enfin, l'activité FSH-like de l'eCG dans les espèces bovines, canines, ovines, caprines n'exclut peut-être pas une dualité d'action dans l'espèce source.

#### **Métabolisme des gonadotropines** (Combarrous *et al.*, 1994)

La synergie entre le métabolisme plus ou moins rapide des gonadotropines et leur caractère immunogénique (taille supérieure à 1000 Da, voir infra) constitue un élément primordial dans l'explication de la possibilité pour une espèce donnée de répondre à des administrations répétées à ces antigènes par une production d'immunoglobulines.

Comme rappelé ci plus-haut, la demi-vie des gonadotropines s'étend de quelques minutes (LH) à plusieurs jours (eCG).

Le pourcentage d'acide sialique porté par la molécule est directement lié à la persistance dans l'organisme de la molécule envisagée et par conséquent à une exposition plus ou moins prolongée de celui-ci à l'antigène. L'élimination des résidus terminaux d'acide sialique des gonadotropines chorioniques leur fait perdre leur activité biologique *in vivo* par réduction considérable de leur demi-vie.

Les mécanismes métaboliques impliqués reposent, tout comme pour les protéines sériques, sur une captation, une internalisation puis une dégradation hépatiques suite à la reconnaissance par une lectine située

sur la membrane de l'hépatocyte de leurs résidus galactoses devenus terminaux une fois l'acide sialique disparu (Moore et Ward, 1980<sup>a</sup> & 1980<sup>b</sup>).

Le rein constitue la deuxième voie d'élimination des gonadotropines sériques telles que LH, FSH et hCG, l'eCG ne passant pas le filtre rénal vu sa taille trop importante. Les trois premières, une fois débarrassées de leurs résidus d'acide sialique (chargé négativement), présentent un encombrement bien plus faible en solution, en même temps qu'elles voient leur charge électrostatique diminuée, menant à une réduction de la répulsion électrostatique avec la membrane glomérulaire, elle aussi chargée négativement (Moore et Ward, 1980<sup>a</sup> & 1980<sup>b</sup>).

#### **Rôles biologiques des gonadotropines placentaires dans l'espèce source**

##### **hCG chez la femme**

L'effet biologique de l'hCG est fréquemment comparé à celui de la LH. L'effet principal de l'hormone chorionique humaine chez la femme enceinte consiste en la régulation de la stéroïdogénèse lutéale.

En fait, durant la grossesse, tant les compartiments fœtaux que maternels sont le siège de la production de stéroïdes qui proviennent respectivement, des ovaires et du placenta chez la mère et des testicules et des surrénales chez le fœtus (Reyes *et al.*, 1974; Jaffe *et al.*, 1977).

La première cible de l'activité LH-like de l'hCG est le corps jaune (Tu *et al.*, 1978; Fritz *et al.*, 1992) qui contient un nombre élevé de récepteurs à cette hormone. La sécrétion d'hCG dès le 10<sup>e</sup> jour après fécondation permet au corps jaune de survivre au delà de la période habituelle de régression spontanée existant lors de cycles infertiles. L'hCG stimule directement la synthèse de progestérone par les cellules lutéales et cette influence passe par l'activation de l'adénylate cyclase. L'intervention de l'hCG dans la production de progestérone par le corps jaune semble pouvoir être considérée comme un moyen d'éviter une régression lutéale qui serait fatale à la grossesse.

Dans l'espèce humaine, le relais placentaire pour la sécrétion de progestérone devient effectif aux alentours du 50<sup>e</sup> jour qui suit la fécondation. La présence du corps jaune est donc requise au moins jusqu'à ce moment pour que la grossesse se poursuive normalement. La seconde action d'hCG sur le corps jaune consiste en une stimulation de la sécrétion d'œstrogènes lutéaux en début de grossesse (Lenton *et al.*, 1988)

Une autre action de l'hCG sur l'ovaire consiste en la stimulation de la sécrétion de relaxine et d'inhibine. La première, bien que d'origine placentaire également, semble bien influencée dans sa sécrétion par l'hCG, les expériences d'injections d'hCG chez des femmes cyclées mais non enceintes (Quagliarello *et al.*, 1980) ou chez des femmes enceintes mais avant l'implantation montrant bien une élévation des taux circulants de relaxine (Johnson *et al.*, 1991).

Enfin, l'hCG influence la sécrétion d'inhibine par les cellules lutéales, tant *in vitro* (Wang *et al.*, 1992), qu'*in vivo* (McLachlan *et al.*, 1989), cette inhibine freinant alors la folliculogénèse au début de la gestation.

Les testicules d'un conceptus mâle et ses surrénales interviennent aussi dans la stéroïdogénèse. La sécrétion de testostérone par le fœtus dépend de la présence d'hCG et une corrélation positive existe entre la concentration d'hCG dans le fluide amniotique et la production de testostérone par le fœtus.

Enfin, certains auteurs (Reyes *et al.*, 1974) suggèrent une intervention de l'hCG dans la stimulation de la production de dé-hydro-épi-androstérone (DHEA) par les surrénales, stéroïde considéré comme le précurseur principal de la synthèse d'œstriol par le placenta.

##### **eCG chez la jument**

A l'inverse de la seule activité LH-like de l'hCG, une activité FSH et LH-like a été mise en évidence lors de l'utilisation de l'eCG dans d'autres espèces que l'espèce équine. Le mécanisme d'action de l'eCG dans l'espèce équine repose sur la liaison aux récepteurs membranaires

des cellules lutéales et folliculaire, engendrant l'activation des cascades de messagers secondaires intracellulaires comme décrit ci-plus haut.

En fait, même si l'affinité de l'eCG pour les récepteurs à la LH est dix fois moindre que celle de la eLH pour les mêmes récepteurs, l'eCG est largement impliquée dans la formation des corps jaunes dits «secondaires» dont l'existence est bien connue chez la jument. Ceux-ci résultent de la lutéinisation de follicules non ovulés ou même de follicules qui ovulent et se lutéinisent (Cole *et al.*, 1931; Cole et Goss, 1943). Le corps jaune primaire est actif chez la jument jusqu'au jour 160 de la gestation alors que les corps jaunes dits «secondaires» le sont jusqu'au jour 220 (Squires et Ginther, 1975). Bien que ces derniers ne semblent pas être indispensables au maintien de la gestation, ils constituent en quelque sorte une mesure de protection contre une régression prématurée du corps jaune primaire (McNamara, 1993).

Lorsque l'on regarde attentivement la chronologie de la formation ou la lutéinisation des tout premiers corps jaunes secondaires, il faut cependant pondérer quelque peu le rôle imparti à l'eCG dans ce phénomène: en effet, ces corps jaune commencent à se développer des jours 17 à 23 de la gestation c'est à dire, 20 jours avant que les cellules qui secrètent l'eCG ne se soient développées. De plus, l'existence d'une sécrétion pulsatile de FSH durant le début de la gestation a été décrite, suggérant le rôle possible des sécrétions hypophysaires dans le développement folliculaire du début de la gestation (Evans et Irvine, 1975; Farmer et Papkoff, 1979).

La concentration de l'eCG varie suivant les races, les individus. Elle serait inversement proportionnelle à la taille et au développement corporel.

Les croisements interspécifiques chez les équidés, de 4 types – a) jument x étalon; b) jument x âne; c) anesse x étalon; d) anesse x âne – ont mis en évidence quelques différences quant aux types de profils sérologiques de la gonadotropine chorionique. Le type de croisement influence les taux de sécrétion, du

plus élevé au plus bas: bardot > pou-lain > ânon > mulet, l'hormone disparaissant 40 jours plus tôt chez les juments porteuses d'un mulet que dans les trois autres croisements (poneys: 200-400 UI/ml; ânesse x étalon (bardot): 200-250 UI/ml; jument x étalon: 5-135-180 UI/ml (identique à przewalski x cheval); jument x zèbre: 0.5-1.5 UI/ml; âne x zèbre: 7-22 UI/ml; mule x étalon: 40-360 UI/ml; mule x âne: 5 UI/ml).

Une réaction immune plus intense à l'interface endomètre-trophoblaste, amène une régression plus rapide des *endometrial cups* dans les cas du croisement jument x âne (Allen, 1975).

## GONADOTROPINES PITUITAIRES: HMG

### Human menopausal gonadotropin (hMG)

Aux environs de la moitié de leur vie, les primates – femme incluse – manifestent un déclin dans leur fertilité, avant que ne se produise un arrêt total des cycles menstruels, plus communément appelé ménopause.

Le suivi hormonal des femelles concernées montre une augmentation des gonadotropines (FSH et LH) sériques et urinaires dont les taux sont corrélés avec des modifications dans les régulations hormonales de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique de la femelle. En fait, la chute des taux circulants d'œstradiol folliculaire (Davidson *et al.*, 1982 & 1983), qui exerçait un rétro-contrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, donne lieu à une augmentation de libération de gonadotropines hypophysaires (Fabris N., 1977; Dierschke *et al.*, 1983; Hodgen *et al.*, 1977; Ravnkar *et al.*, 1984). Ce même phénomène se retrouve chez les femelles ovariectomisées. Ces hormones se retrouvent dans le sang et peuvent passer dans l'urine par filtration rénale.

La purification de ces molécules dans l'urine de femme ménopausée permet de les proposer en tant qu'agents pharmacologiques en procréation assistée humaine ou en médecine vétérinaire.

## CONTRÔLE DE LA SEXUALITE: DE L'USAGE DES GONADOTROPINES DANS LA REPRODUCTION

Différents protocoles à base de gonadotropines sont appliqués ou l'ont été dans le contrôle de la sexualité de la femelle et du mâle dans de nombreuses espèces: bovine, équine, ovine, caprine, canine, porcine et humaine. Ils incluent, du fait de l'activité FSH, LH, FSH-like et/ou LH-like des préparations de gonadotropines utilisées, l'induction de l'œstrus (animal non cyclé), la synchronisation de l'œstrus (animal cyclé), l'ovulation, la superovulation et, dans les espèces à ovulation provoquée – espèce canine... –, l'induction de la réceptivité au mâle (Tableau 1, a et b).

Ils sont également utilisés dans le traitement de certaines pathologies telles les follicules kystiques (défaut d'ovulation) chez les vaches, juments et femmes, l'anœstrus (absence de fonctionnement ovarien cyclique) chez les chèvres, les brebis et les truies et les faibles niveaux de fertilité (production d'un nombre insuffisants de follicules ovulatoires par rapport aux normes physiologiques) dans la majorité des espèces (Tableau 1, a et b).

Différentes spécialités pharmaceutiques contenant de l'hCG et/ou de l'eCG comme substances actives sont disponibles.

Leurs effets tant LH- que FSH-like en font des candidats potentiels pour le contrôle de la reproduction dans les différentes espèces animales. De plus, leur demi-vie étant bien plus longue que celles des gonadotropines hypophysaires (quelques heures ou jours par rapport à 20-300 minutes – tableau 3), elles présentent un avantage certain si on considère la moindre fréquence des injections pour un même effet.

Les molécules les plus couramment utilisées dans ces différentes applications sont renseignées dans le tableau 2.

Chez les primates, les ruminants et les rongeurs gestants, d'autres hormones placentaires, à activité prolactine-like, somatotropine-like et

lutéotrope ont également été mises en évidence et appelées: hCS pour *human Chorionic Somatomammotropin* (ou encore hPL pour *human Placental Lactogen*), bCS (bPL), oCS (oPL), cCS (cPL) respectivement pour la femme, la vache, la brebis et la chèvre (Talamantes et Ogren, 1988). Ces molécules interviennent dans une série de régulations complexes qui gouvernent la croissance fœtale, le développement de la glande mammaire et la maintenance ou la trophicité du corps jaune (*Corpus Luteum*=CL). Aucune de

ces Placental Lactogen n'a été utilisée comme agent pharmacologique dans le contrôle de la reproduction.

### hCG chez le mâle

Chez le mâle, il est possible de pratiquer un examen non-invasif de la fonction testiculaire dans les cas de cryptorchidisme lorsque l'on se rappelle l'influence de la LH sur la production de testostérone par les cellules de Leydig (Parkes, 1943): 6 prélèvements de sang respectivement avant et 30, 60, 90, 120 et

240 minutes après une injection intraveineuse de ~10.000 U.I. d'hCG, accompagnés de la détermination des valeurs plasmatiques en testostérone permettent de confirmer ou infirmer la présence d'un testicule inguinal ou abdominal (Silberzhan *et al.*, 1989; England *et al.*, 1988; Picket *et al.*, 1979). Dans le premier cas, l'hCG injectée (LH-like) provoquera une augmentation des valeurs plasmatiques en androgènes.

Chez le mâle, l'hCG est également utilisée pour accentuer les caractères

**Tableau 1a.**  
Indications d'usage de l'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG).  
M = Mâle • Non spécifié = Femelle

Espèces	Indications Majeures	Indications Mineures	Réaction Immune
Humaine	- Follicules kystiques (1) - Aménorrhée (1) - Cryptorchidie M, diagnostic (2) traitement (3) - Hypogonadisme M (4)	- Absence d'ovulation en procréation assistée (5)	-
Bovine	- Follicules kystiques (6) - nymphomanie (associée à la progestérone) (7) - Anœstrus (8)	- Faibles taux de conception (9)	±
Equine	- Follicules kystiques (10) - Avancement de la saison de monte (11) - Cryptorchidisme M (12)	- Anœstrus (10)	+
Caprine/Ovine	- Follicules kystiques (13) - Induction de l'ovulation (brebis)	- Anœstrus (avec traitement à la PMSG) - Induction de l'ovulation (chèvres): ponctuel, non recommandé en routine	±//+
Canine	- Œstrus prolongé (14) - Induction de l'œstrus (15) - Cryptorchidisme M (16) - Manque de libido M		+
Féline	- Induction de l'œstrus (17) - Induction de l'ovulation (17)		+
Porcine	En association avec PMSG - Reprise de cycle (18) - Induction de l'œstrus (19) - Augmentation de la taille de portée (20) - Superovulation (21) - Anœstrus (22) - Follicules kystiques (23)		+
Cunicole	- Induction de l'ovulation (24) n'est plus utilisé car réaction immunitaire +++		+++

1 Thau	7 Kupfer, Gavernick	13 Higaki	19 Schnurrbusch, Schlegel
2 Wensing	8 Godke, Guibault	14 Arnold	20 Hennies
3 Wisard, Jardin	9 Donaldson, Humblot	15 Kusuma, Thun, Weilenmann, Leyva	21 Pinkert
4 Huhtaniemi	10 Michel	16 Kawakami	22 Cole, Foxcrott
5 Epelboin, Bulwa, Smitz	11 Allen, Lewis, Palmer	17 Chakraborty, Swanson	23 Schnurrbusch
6 Britt, Ijaz, Drost	12 Silberzhan	18 Cole, Foxcrott	24 Hulot, Parez, Theau- Clément

sexuels primaires et secondaires par le biais de la production de testostérone.

Enfin, la connaissance de la dépendance vis à vis de la LH et des androgènes du phénomène de migration testiculaire (Wensing *et al.*, 1988; Baumans *et al.*, 1985; Ibach *et al.*, 1975) a poussé à recommander l'utilisation d'hCG chez le chien et le chat cryptorchides (3 x 500 à 1500 UI à une semaine d'intervalle) en vue de provoquer activement la descente du (des) testicules qui serai(en)t resté(s) en position inguinale ou abdominale. En plus de résultats inconstants (multiplicité des causes), la justification thérapeutique de ces traitements reste discutable, le caractère héréditaire de cette affection justifiant plutôt un retrait des mâles atteints (castration bilatérale) de la filière de la reproduction.

### Gonadotropines placentaires chez les femelles

L'activité LH de l'hCG permet de stimuler la croissance et la maturation folliculaire, en plus d'induire l'ovulation, la lutéinisation de follicules ovulés, la lutéinisation de follicules qui ne peuvent ovuler et l'optimisation de la production de progestérone par les corps jaunes.

### Les gonadotropines chez la vache (tableaux 1a et 1b)

Des déséquilibres survenant dans la complexe régulation de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique peuvent mener à des dysfonctionnements observés soit dans la folliculogenèse, soit dans l'ovulation soit dans la formation du corps jaune. Les pathologies les plus fréquentes consistent en l'apparition de structures folliculaires de type kystiques (Britt *et al.*, 1977)

ou en l'absence de manifestations de chaleurs après la parturition. La persistance de follicules qui n'évoluent pas ou qui n'ovulent pas mène à un anœstrus fonctionnel pathologique dont les effets négatifs peuvent donner lieu à une diminution de la rentabilité économique des exploitations lorsque de nombreuses femelles sont concernées.

Un œstrus exacerbé est parfois observable lors de kystes folliculaires et cette pathologie, décrite sous le nom de nymphomanie, est corrélée à des taux d'œstradiol circulant trop élevés et persistants. Les premiers traitements des follicules kystiques se sont basés sur l'injection d'hCG, seule ou couplée à de la progestérone, cette dernière diminuant quelque peu les phénomènes comportementaux en même temps quelle promeut la lutéinisation des cellules constitutives du follicule (Ijaz *et al.*, 1987).

**Tableau 1b.**  
Indications d'usage de l'hormone chorionique gonadotrope équine (eCG ou PMSG).

Espèces	Indications Majeures	Indications Mineures	Réaction Immune
Humaine	N'est plus utilisé (1)	N'est plus utilisé	++
Bovine	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Induction de l'œstrus (2)</li> <li>- Synchronisation de l'œstrus (après progestagènes et PGF2<math>\alpha</math>) (3)</li> <li>- Faible niveau de fertilité en combinaison avec des progestagènes</li> <li>- Superovulation (4)</li> </ul>		++
Caprine/Ovine	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Induction de l'œstrus (5)</li> <li>- Synchronisation de l'œstrus en combinaison avec progestagènes et PGF2<math>\alpha</math>) (5,6)</li> </ul>	- Induction de la superovulation (5)	+++ / ++
Canine	- Induction de l'œstrus (7)		+
Féline	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Induction de l'œstrus (8)</li> <li>- Induction de l'ovulation (9)</li> </ul>		+
Porcine	<ul style="list-style-type: none"> <li>En association avec hCG</li> <li>- Reprise de cycle (10)</li> <li>- Augmentation de la taille de portée (11)</li> <li>- Superovulation</li> <li>- Anœstrus (10)</li> </ul>	Induction de l'œstrus (12)	+
Cunicole	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Induction de la réceptivité au mâle (13)</li> <li>- Superovulation</li> </ul>		

1 Ostergaard  
2 Nell, Rosen, Donaldson, Humblot  
3 Hasler, Kiracofe, McMillan  
4 Guibault  
5 Cognié, Thimonier  
6 Mohrand, Corteel  
7 Whright, Thun, Weilenmann, Leyva

8 Chakraborty, Swanson  
9 Evans, Wildt, Leins  
10 Cole, Foxcrott  
11 Hennies  
12 Tilton  
13 Hulot, Parez, Theau- Clément

Une alternative thérapeutique repose sur l'utilisation de GnRH (décapeptide) (Britt *et al.*, 1977), directement (et indirectement) impliqué dans l'ovulation ou la lutéinisation des follicules par le pic de LH qu'il provoque: la lutéinisation des follicules kystiques est ainsi obtenue pour 60 à 100% des vaches traitées (Drost *et al.*, 1992). L'avantage du GnRH par rapport à l'hCG réside dans son faible poids moléculaire (~1000Da) et son absence d'immunogénicité. Son intervention indirecte dans le mécanisme de l'ovulation consiste en la stimulation de la libération d'acide arachidonique, précurseur des prostaglandines F2 $\alpha$ : l'injection de GnRH induit la stimulation de la libération de l'hormone LH. Le récepteur membranaire à la LH est couplé à une protéine-G intracellulaire, la liaison de l'hormone à son récepteur provoquant une activation de l'adénylate cyclase intracellulaire, avec augmentation concomitante de la concentration en AMPc (Mc Farland *et al.*, 1989). La

phosphorylation de tels récepteurs et de leur protéine-G associée, mène à l'activation des phospholipases membranaires. Celles-ci, agissant en tant que relais, amplifient le signal en hydrolysant les phospholipides membranaires qui peuvent alors servir de substrats pour la formation de seconds messagers (Espey, 1992; Simon *et al.*, 1991), type IP3 (Inositol tri-phosphate) et DAG (Diacylglycérol). Le DAG peut être hydrolysé par une Diacylglycérol-phospholipase en acide arachidonique, cette voie de formation de l'acide arachidonique restant accessoire par rapport à sa formation directe par la phospholipase A<sub>2</sub> à partir de la phosphatidylcholine et la phosphatidyléanolamine, les principaux (75%) phospholipides membranaires.

Les femelles présentant des périodes d'œstrus anormalement longues ou celles utilisées dans les programmes de transfert embryonnaire ont été également traitées avec de

l'hCG (associée à l'eCG) pour stimuler le développement et la maturation folliculaire ainsi que l'ovulation chez les premières et la superovulation chez les secondes (Godke *et al.*, 1990; Guibault *et al.*, 1991).

Plus récemment, des traitements identiques ont été appliqués en vue de synchroniser les œstrus, par commodité dans les grandes exploitations ou pour synchroniser donneuses et receveuses dans les mêmes programmes de transfert embryonnaire (Hasler *et al.*, 1992; Kiracofe GH, 1988; Mac Millan *et al.*, 1977). Ainsi, l'administration d'eCG suit généralement les traitements aux progestagènes (spiraies vaginales, CIDR, implants sous-cutanés) et permet, en association avec l'utilisation de prostaglandines F2 $\alpha$  de promouvoir le développement folliculaire et la réapparition rapide d'un œstrus (Nell *et al.*, 1990; Rosen *et al.*, 1988; Donaldson LE; Humblot *et al.*, 1981;).

**Tableau 2**  
Molécules les plus fréquemment utilisées dans le contrôle de la reproduction (liste non exhaustive)

Famille	Molécule	Famille	Molécule
<b>Progestérone</b>	Naturelle & Dérivés - Médroxy (MAP) - Acétone (CAP) - FGA - Mélengestrol (MGA) - Mégestrol (MA)	<b>Gonadolibérine</b>	Décapeptide & Analogues Synthétiques - Gonadoreline - Buséreline - Fertireline
<b>Oestrogènes</b>	Oestradiol & Dérivés - Benzoate - Cypionate - Valérate	<b>GnRH antagonistes</b>	Décapeptide: plus de cent molécules telle: (Dphe <sup>2</sup> , DTrp <sup>3</sup> , DPhe <sup>6</sup> )LHRH ...
<b>Prostaglandines</b>	F2a & Dérivés - Alfaprostol - Cloprosténol - Dinoprost - Luprostiol - Tiaprost	<b>Gonadotropines</b>	hCG (pU) eCG (PMSG) hMG Extraits pituitaires (FSH/LH): porcine-équine-ovine Gonadotropines recombinantes (disponible en médecine humaine)

**Tableau 3**  
Composition et comparaison des 1/2 vies de hCG, hLH, eCG et hFSH.  
(Closset *et al.*, 1975; Combarous *et al.*, 1994; Derivaux *et al.*, 1989; Giudice *et al.*, 1978; Pierce *et al.*, 1981).

	hLH	hCG	hFSH	eCG
sous-unité a	89 aa	92 aa	89 aa	96 aa
sous-unité b	115 aa	145 aa	115 aa	145 aa
Carbohydrates (%)	~10	~30	~25	46-47
Acide Sialique (%)	~1	9-12	~5	10-13.5
poids Mol. (Da)	30,000	37,600	32,000	45,000 à 64,000
Point Isoélectrique (I.P.)	7-9.4	3.8-5.1	3.3-4.8	<3
Demi-vie	12-50 min.	~8 heures	3-5 heures	4-6 jours

### *Les gonadotropines chez la jument*

L'avancement de la saison de monte chez la jument a été obtenue par l'exposition de la femelle à des périodes de luminosité plus étendues, associées à l'utilisation d'hormone chorionique gonadotrope humaine (Allen *et al.*, 1990; Lowis *et al.*, 1991; Palmer *et al.*, 1982). LeCG n'est pas utilisée comme agent pharmacologique dans cette espèce vu le manque évident d'affinité de l'hormone pour les récepteurs à FSH et à LH en comparaison avec l'hormone gonadotrope hypophysaire respective (Michel *et al.*, 1986).

L'induction de l'ovulation dans le cas de follicules kystiques est également traité par l'administration d'hCG.

### *Les gonadotropines chez la chienne et la chatte*

Les gonadotropines sont utilisées dans ces espèces, tant dans les programmes de gestion assistée de la reproduction (Evans, 1976) que dans des buts thérapeutiques (infertilité) (Lein *et al.*, 1983; Larsen *et al.*, 1980; Olson *et al.*, 1983).

L'induction de l'œstrus et de l'ovulation chez la chienne a été réalisée par différentes méthodes, dont l'utilisation de l'hCG (en combinaison avec l'eCG et éventuellement la métergoline) (Kusuma *et al.*, 1993), des gonadotropines pituitaires (Shille *et al.*, 1984), de l'eCG (Whright *et al.*, 1982), de combinaison d'hCG et eCG (Whright *et al.*, 1980; Thun *et al.*, 1976 & 1977; Weilenmann *et al.*, 1993; Leyva *et al.*, 1993). England *et al.* (1991) ont étudié la répétabilité des séquences hormonales et comportementales se produisant lors d'œstrus spontané ou induits par des gonadotropines. La longue demi-vie de la PMSG (6 jours) a été incriminée quant à elle dans l'hyperœstrogénisme induit par les traitements à cette hormone chez des chiennes soumises à une étude portant sur les tailles de portées et l'induction de l'œstrus (Arnold *et al.*, 1989).

Chez la chatte, l'ovulation est qualifiée de «provoquée». Son déclenchement repose sur une succession de coïts, indispensables au déclenchement du réflexe neuro-endocrinien qui initiera la cascade hormo-

nale préovulatoire. La connaissance de la physiologie de la reproduction de cette espèce (Feldman *et al.*, 1987) et de ce mécanisme en particulier permet l'utilisation de l'hCG en vue de provoquer l'ovulation, l'injection de l'hormone plongeant la femelle dans une phase hormonale dite de «pseudo-gestation», caractérisée par la présence de corps jaunes persistant 35 à 40 jours sur les ovaires (vs 60-62 jours pour les corps jaunes gestatifs) (Evans, 1976; Wildt *et al.*, 1978; Lein *et al.*, 1983).

Dans cette espèce également, l'induction de l'œstrus a été réalisée par administration d'eCG, à laquelle faisait suite celle d'hCG utilisée pour ses propriétés ovulatoires (LH-like) (Chakraborty, 1982; Swanson, 1995 & 1996). Des alternatives thérapeutiques se basant sur l'utilisation de LHRH (GnRH) ont été également décrites dans cette espèce (Chakraborty, 1979).

### *Les gonadotropines chez la brebis et la chèvre*

L'induction de l'œstrus, sa synchronisation et la superovulation sont les plus fréquentes raisons d'utilisation de l'eCG dans les espèces caprines et ovines. Elle est fréquemment associée à un traitement préliminaire aux progestagènes basé sur la mise en place, pour une durée équivalente à celle du corps jaune cyclique de l'espèce (sauf chez la chèvre où la durée du traitement aux progestagènes (11 jours) est inférieure à la durée de la phase lutéale), d'une éponge vaginale imprégnée d'Acétate de Fluorogestone (FGA). Ces traitements utilisés à grande échelle sont en général appliqués une fois par an en vue d'optimiser la rentabilité des élevages. De même, mais de manière beaucoup plus ponctuelle que chez les bovins (vu la faible diffusion du transfert embryonnaire chez les petits ruminants), des traitements de superovulation à base d'eCG sont appliqués toutes les six semaines chez des femelles donneuses permanentes.

Chez la brebis, une injection d'eCG au retrait de l'éponge avance le début de l'œstrus (par rapport aux femelles n'en recevant pas), promeut le développement folliculaire, augmente le taux d'ovulation et permet

une meilleure synchronisation des ovulations (Cognié *et al.*, 1977). Suite aux traitements progestagènes-eCG, tant la taille de portée que les proportions de brebis qui mettent bas après saillie naturelle augmentent en parallèle avec le nombre d'ovulations. Cependant, afin de limiter les pertes fœtales et des tailles de portées trop importantes, la dose de gonadotrope doit être précisément adaptée, en fonction du moment de l'année et de l'état physiologique des brebis (Thimonier et Cognié, 1977). Lorsque l'injection d'eCG est réalisée deux jours avant le retrait de l'éponge, l'œstrus survient plus tôt (que chez les femelles traitées au retrait de l'éponge) et le taux d'ovulation augmente sans toutefois augmenter la taille de portée. Une réduction de fertilité est cependant constatée lorsque l'on compare ce protocole à celui décrit précédemment (Cognié et Mauléon, 1983).

Les traitements sont largement utilisés en vue de contrôler le moment d'ovulation et permettent ainsi l'insémination artificielle de plusieurs femelles à un moment déterminé.

Dans l'espèce caprine, le désaisonnement des femelles vise à étaler la production de lait sur l'ensemble des mois de l'année. De plus, l'utilisation des techniques visant à déplacer la saison de reproduction a permis de mettre en évidence une meilleure persistance de la lactation chez les chèvres mettant-bas en automne (Morand-Fehr *et al.*, 1986; Corteel, 1985). Le protocole repose sur la mise en place, durant 11 jours, d'une éponge vaginale imprégnée de Fluorogestone acétate. Une injection d'eCG est faite 2 jours avant le retrait et est accompagnée de l'administration d'un analogue de PGF2 $\alpha$ . Chez la chèvre, en effet, au contraire de chez la brebis, l'administration d'un progestagène ne diminue pas la longévité du corps jaune naturel (Bosu *et al.*, 1978).

### *Les gonadotropines chez la truie et les cochettes*

L'utilisation simultanée d'eCG et d'hCG a été recommandée chez la truie en vue de relancer les cycles sexuels précocement après le sevrage et d'augmenter la taille de

portée (Cole *et al.*, 1982; Foxcroft *et al.*, 1985) ou de les initier en période prépubertaire (Tilton, 1995). L'œstrus pathologique du post-partum peut également être traité par la combinaison des effets FSH- et LH-like du mélange de gonadotropines présentes dans la préparation: l'eCG promeut le développement folliculaire alors que l'hCG induit l'ovulation et la formation de corps jaunes.

#### *Les gonadotropines chez la lapine*

Leur utilisation dans cette espèce est soumise aux particularités de la sexualité de la femelle (Boussit *et al.*, 1989) chez qui l'ovulation est dite «provoquée», en opposition à la majorité des espèces chez qui l'ovulation est spontanée. Chez la lapine, on parle d'une période de réceptivité sexuelle qui coïncide avec la présence sur l'ovaire de follicules en croissance terminale sécrétant des quantités abondantes d'œstrogènes. A l'inverse, un état «réfractaire» est décrit et correspond à l'absence de follicules terminaux sur les ovaires ainsi qu'à l'absence d'œstrogènes circulants.

L'ovulation est provoquée par le coït (stimulation du vagin et du cervix) qui détermine, dans les 2 heures, *via* un arc réflexe neurovégétatif, une décharge hypophysaire de grande amplitude de LH. Ce pic plasmatique en LH active une cascade de mécanismes menant à l'ovulation 10 à 12 heures après. Le follicule mûr émet un ovocyte en métaphase de 2<sup>e</sup> division méiotique.

La majorité des accouplements infertiles sont dus à un manque de réceptivité de la lapine. L'induction et le contrôle de la réceptivité de celle-ci sont rendus possibles par l'utilisation de gonadotropines parmi lesquelles l'eCG est sans doute la plus employée (Hulot *et al.*, 1976; Parez, 1992 & 1992'). Injectée 48 heures avant saillie ou insémination artificielle (Theau-Clément *et al.*, 1989), elle promeut le développement folliculaire terminal et permet à la femelle de rentrer en réceptivité maximale, stade physiologique considéré comme le plus favorable à une fécondation. L'insémination artificielle ne provoquant pas à elle seule la libération d'un pic plasmatique de

LH, elle est complétée d'une injection de GnRH ou d'hCG.

### **EFFETS SECONDAIRES DE L'ADMINISTRATION DE MOLECULES EXOGENES**

#### **Effets secondaires possibles de l'administration de préparations contenant des protéines: allergénicité/immunogénicité de molécules théoriquement non-allergiques/immunogènes**

De nombreuses molécules sont utilisées pour leurs différentes vertus pharmacologiques en médecine vétérinaire. Ces molécules, testées largement avant d'être mises sur le marché (Gustin *et al.*, 1998), se veulent avant tout dépourvues d'effets secondaires («*primum, non nocere*»). Celui d'entraîner à leur encontre une réaction allergique, voire immunologique de l'organisme qui s'y trouve exposé se rencontre occasionnellement.

#### **Réponse immune non spécifique**

De rares cas de réactions de type anaphylactique ont été décrites suite à l'administration de telles préparations.

Les réactions allergiques ou réactions d'hypersensibilité immédiate ou retardée dépendent du déclenchement d'une réponse immune inappropriée dirigée contre un composant environnemental dépourvu d'effet nocif intrinsèque et communément appelé allergène (Sedlacek *et al.*, 1995; Davies, 1997). L'organisme allergique, préalablement sensibilisé à l'allergène – par inhalation, ingestion ou injection –, a élaboré des Immunoglobulines E (IgE) spécifiquement dirigées contre cette molécule. Ces IgE circulent dans le sang et se lient aux récepteurs à haute affinité présents sur les basophiles et mastocytes de différents tissus. La ré-exposition de l'organisme à l'antigène active la libération de médiateurs vasoactifs (histamine, leucotriènes, prostaglandines, Platelet Activating factor) contenus dans les vésicules cytoplasmiques de ces cellules (dégranulation). Ce phénomène donne lieu à une vasodilatation

générale avec augmentation de la perméabilité vasculaire, œdème, contraction des muscles lisses (utérus, bronches, artéioles – rate –, veines – foie) et production importante de mucus (tube digestif et tractus respiratoire).

Le traitement de la réaction allergique aiguë repose sur l'administration de médiateurs vasoactifs (antihistaminiques H1 ou H2, adrénaline 0.1-0.2 mg/kg) et de corticostéroïdes (suppression immune ou régulation – Méthyl Prednisolone à 25 mg/kg).

Les protéines contenues dans des préparations pharmacologiques constituent également des allergènes potentiels qui peuvent prendre part de manière indirecte au déclenchement d'une réaction allergique induite par les xénobiotiques pour qui elles joueraient le rôle de carrier. Un exemple éducatif de ce phénomène est constitué par la formation d'un métabolite allergénique à partir de la pénicilline (Wal, 1996).

Les xénobiotiques sont généralement des molécules de faibles poids moléculaires qui agissent en tant qu'haptènes, c'est à dire qui ne peuvent à elles seules déclencher une réaction immunitaire. L'acquisition par ces molécules d'un pouvoir immunogène est conditionnée par leur liaison préliminaire à une macromolécule, par exemple une protéine. La liaison covalente obtenue par la combinaison des groupes électrophiles portés par le xénobiotique (ex: la molécule de pénicilline) avec des résidus basiques d'acides aminés d'une protéine (ex: la sérum-albumine) mène à la formation d'un complexe potentiellement allergénique. Ce complexe peut se lier aux IgE en déclenchant alors l'accident allergique.

Le groupe benzyl-penicilloyl obtenu après scission du cycle  $\beta$ -lactame de la pénicilline se lie de manière covalente à un acide aminé libre de la sérum-albumine. Ce conjugué perd alors ses propriétés antibiotiques au profit de propriétés immunogéniques. La ré-exposition de l'animal à la même molécule déclenche la cascade allergique. Les accidents se produisant chez l'homme après injection de pénicilline ou ingestion de

viande provenant d'animaux traités (résidus) sont en général reliés à la présence de conjugués benzyl-pénicilloyl-protéine.

### Réaction immunitaire spécifique à l'encontre des gonadotropines

Les traitements à base d'hCG et d'eCG sont utilisés depuis de nombreuses années dans des espèces aussi variées que les bovins (Staigmiller *et al.*, 1992), les équins, les ovins et caprins, les chiens (Kafawi *et al.*, 1974), les porcs, et plus récemment les lapins (Boiti *et al.*, 1995; Stradaioi *et al.*, 1994; Theau-Clément et Lebas, 1994), les primates (Bavister *et al.*, 1986) et les humains (Thau *et al.*, 1988).

Des alternatives à leur utilisation existent, basées sur l'administration d'extraits pituitaires pour stimuler la fonction ovarienne (Bruyas *et al.*, 1993; Casida *et al.*, 1943; Remy *et al.*, 1991; Staigmiller *et al.*, 1992; Willet *et al.*, 1953). Les extraits pituitaires porcins peuvent par exemple être utilisés comme source d'activité FSH. Ainsi, chez les bovins, les caprins et ovins, de bons résultats furent obtenus après application d'un rapport élevé FSH/LH 2 jours de suite puis en rapport inverse le troisième jour (Cognié *et al.*, 1986; Baril *et al.*, 1989; Staigmiller *et al.*, 1992). Pour synchroniser l'œstrus dans ces mêmes espèces, le recours à l'eCG est préféré en raison de sa longue demi-vie (possibilité d'une administration unique) et de son faible coût.

Les premières observations d'immunisation active contre les gonadotropines ont été reportées dans les années 30: en 1937, Harington, Rowlands et Zondek et plus tard, en 1939 et 1941, Katzman et Thompson décrivent l'apparition de résistance aux traitements gonadotropes répétés chez de nombreuses espèces (caprine, ovine, canine et bovine). De tels phénomènes furent de nouveau observés les années qui suivirent. Les études menées par Mirsky (1952), Yallow et Berson (1959; 1978) sur le sérum de patients diabétiques résistants aux traitements répétés à l'insuline permirent notamment le développement du Radio-Immuno-Assay (RIA).

La répétition des traitements semble déterminer la production d'anticorps par l'organisme qui ne répond dès lors plus (ou moins bien) à l'application des traitements ultérieurs (humains: Ostergaard et Hamburger, 1949; primates: Bavister *et al.*, 1986; bovins: Jainudeen *et al.*, 1966; Leathem, 1949; Willet *et al.*, 1953; équins: Roser *et al.*, 1979; Wilson *et al.*, 1990; caprins: Baril *et al.*, 1992; Remy *et al.*, 1991; ovins: Clarke, 1973; Pignon *et al.*, 1960; espèce canine: Lebas *et al.*, 1996; porcins: Hennies *et al.*, 1996; canins: Pineda, 1972; Faulkner; 1976; Kafawi *et al.*, 1974; Lunnen, 1974; espèce féline: Swanson, 1995 & 1996).

Un aperçu de la chronologie des observations portant sur les effets des traitements répétés aux gonadotropines dans les différentes espèces, humaine et animales, est donné dans le tableau 4.

**Le système immunitaire des chèvres** semble, au vu de la littérature s'y rapportant et sans explication fonctionnelle ou constitutive, être le plus réactif aux administrations répétées de gonadotropines (Baril *et al.*, 1992). L'utilisation répétée de l'eCG durant la vie de la femelle ou durant une même année donne lieu à la production d'anticorps anti-eCG dont les effets neutralisants peuvent encore se produire lors de l'administration des traitements ultérieurs un an plus tard. Les études de Baril (Baril *et al.*, 1992) portant sur une utilisation intensive du traitement (chèvres traitées chaque année dès la première mise à la reproduction et recevant un deuxième traitement dans la même année quand elles étaient diagnostiquées non gestantes suite au premier traitement) ont montré que 36 % des chèvres multipares présentaient une réaction immunitaire suffisante pour compromettre le succès d'un traitement d'induction de l'œstrus. Une autre étude portant sur 524 chèvres (Baril *et al.*, 1996) recevant un traitement par an a montré que la réaction immunitaire résiduelle provoquait une augmentation de la fréquence des venues en chaleurs tardives, elle même associée à une faible fertilité après IA. Dans des cas d'utilisation extrêmement intensive du traitement

à l'eCG, la réaction immunitaire semble pouvoir mener à l'absence de retours en chaleurs.

**L'utilisation des gonadotropines exogènes est fréquente chez les brebis** (Clarke, 1973; Gherardi et Martin, 1978; Jabour et Evans, 1991) et l'immunisation des femelles vis à vis de ces molécules a été bien démontrée (Boland et Gordon, 1982; Clarke, 1973; Gherardi et Martin, 1978; Squires et Ginther 1975). Clarke a montré en 1973 que des injections répétées d'eCG aux mêmes animaux les rendaient progressivement moins réceptifs aux traitements. Bodin *et al.* (1995) ont montré que la réponse immédiate à ces traitements à l'eCG produisaient une élévation des anticorps dirigés contre cette hormone mais trop tard cependant que pour interférer négativement avec le cycle reproducteur en cours. Ces anticorps produisent leurs effets négatifs lorsqu'un second traitement est appliqué durant la même saison de reproduction. Des anticorps résiduels sont encore présents un an après le traitement et en quantités plus importantes chez les femelles les plus âgées (ayant reçu un nombre plus élevé de traitements) de par leur accumulation au long des traitements successifs. Ces anticorps résiduels constituent un élément important de résistance aux traitements.

**Diverses justifications d'utilisation des gonadotropines existent pour l'espèce équine** (Bourdillon *et al.*, 1992; Sullivan *et al.*, 1973; Wilson *et al.*, 1990) et des anticorps ont également été mis en évidence suite à des administrations répétées (Roser *et al.*, 1979; Sullivan *et al.*, 1973; Wilson *et al.*, 1990) chez la jument. Différents essais ont été menés, notamment d'association de l'hCG à de la dexaméthasone (en vue d'une modulation du phénomène immunitaire), sans jamais pour autant parvenir à écarter ce problème. Des solutions alternatives ont été proposées par certains auteurs, pour l'induction de l'ovulation par exemple (Duchamps *et al.*, 1987), basées sur l'utilisation d'extraits pituitaires équins purs.

**L'espèce bovine** constitue sans doute la première espèce chez qui des administrations répétées (au cours

**Tableau 4**  
Chronologie de la mise en évidence de la résistance des femelles aux traitements répétés aux gonadotropines exogènes.

Espèce étudiée	Hormone	Observation	Hypothèse ou Conclusion	Auteurs
Bovine	Gonadotropines pituitaires ovine	Faible résistance aux traitements chez certaines vaches traitées quotidiennement durant 6 semaines	Certains animaux répondent moins aux traitements et ce de manière inexplicquée	Casida, 1943.
Humaine	Gonadotropine Chorionique	Résistance aux traitements	Introduit le problème du développement d'une «antihormone» dans les thérapies endocriniennes	Leatham, 1949.
Humaine	PMS- «Hormone»	Résistance aux traitements	Formation d'une «anti-hormone» chez les femmes traitées à la PMSG	Ostergaard, 1949.
Cunicole	Gonadotropines	Réponse diminuée aux traitements répétés à base de gonadotropines	Existence d'une «substance anti-gonadotrope»	Deutsch, 1950.
Humaine	Insuline	Insulino-résistance progressive de certains patients diabétiques répétitivement traités	Existence d'une insulinasé dans le sang	Mirsky, 1952.
Bovine	FSH, PMSG, hCG	a) Diminution du nombre de corps jaunes suite aux traitements répétés b) De longues périodes sans traitements ne permettent pas de dépasser l'état réfractaire c) La résistance aux traitements peut être transitoirement et incomplètement vaincue par un accroissement des doses	Développement d'une «anti-substance» aux gonadotropines	Willet, 1953.
Humaine	Insuline	Insulino-résistance de certains patients diabétiques	Existence d'une «globuline liant l'insuline», Développement de la méthode RIA	Berson & Yalow, 1956.
Bovine	Gonadotropines	Diminution de l'efficacité de traitements répétés.	Développement d'«anti-gonadotropines»	Cole, 1957.
Humaine	Insuline	Insulino-résistance de certains patients diabétiques	Quantification des «ANTICORPS anti-insuline»	Yalow & Berson, 1959.
Ovine	Gonadotropines	Résistance aux traitements	Suggère l'existence d'un effet des «anti-gonadotropines» sur les systèmes endocrine et reproducteur	Pignon, 1960.
Bovine	PMSG	Diminution – maximale après la quatrième injection – des taux d'ovulation chez les vaches traitées répétitivement	Suggère l'existence d'une «activité anti-gonadotrope» localisée dans les fractions eu- et pseudo-globulines du sang (sérum)	Jainudeen, 1966.
Rats	Sérum de vaches présentant une résistance aux traitements à la PMSG	Des rates soumises à un prétraitement à base de sérum de vaches résistantes aux gonadotropines voient leur réponse biologique à une dose standard de PMSG (stimulation ovarienne) diminuée.	Mise au point d'un test biologique pour la confirmation de l'existence d'une activité anti-gonadotrope dans le sérum	Jainudeen, 1966.
Cunicole	Trois groupes de lapines, traitées répétitivement avec a) FSH+LH b) PMSG+hCG c) LH	a) Les femelles injectées répétitivement présentent une diminution de la réponse aux traitements de superovulation. b) Les femelles traitées par PMSG/hCG semblent développer rapidement une résistance au traitement. c) Présence de follicules rupturés au niveau des ovaires.  d) Les lapines qui ont développé une résistance à l'hCG répondent encore aux traitements FSH/pLH. Plus précisément, les animaux restent sensibles aux autres gonadotropines, tant hétérologues que endogènes.	a') Les résultats suggèrent la production d'une «anti-hormone»  b') L'administration de l'association PMSG/hCG peut induire un état de résistance à ce traitement c') Une réponse de l'organisme de type «anti-hCG» fut la première cause de l'absence d'ovulation d') La capacité des ovaires à répondre à d'autres traitements n'est pas altérée mais l'hormone exogène hCG est neutralisée d'') Les anticorps formés sont spécifiques de la protéine injectée	Maurer, 1968.
Ovine	PMSG	a) Les taux d'ovulation diminuent avec le nombre de traitements consécutifs de superovulation. b) Les réponses les plus normales aux traitements sont obtenues chez les brebis qui n'ont reçu qu'un traitement unique ou un traitement lors de deux cycles, chacun séparé par un cycle sans traitement.	a) Les traitements répétés induisent une réponse humorale  b) La chute des taux d'ovulation peut être partiellement résolue en traitant les femelles à cycles alternés.	Clarke, 1973.

Equine	hCG	<p>a) L'injection d'hCG induit l'ovulation des follicules en phase terminale.</p> <p>b) La présence d'anticorps est plus importante lorsque la femelle a reçu plus de 2 à 5 traitements.</p> <p>c) La demi-vie des anticorps oscille entre 30 jours et plusieurs mois.</p> <p>d) Les femelles possédant des anticorps anti-hCG restent capables d'ovuler.</p>	<p>a) Confirmation de l'effet LH-Like d'hCG pour l'induction de l'ovulation</p> <p>b) Le caractère exogène d'hCG induit la formation d'anticorps chez les juments traitées</p> <p>d) La répétition des traitements mène à une diminution de l'efficacité d'hCG, mais l'ovulation, dépendante de eLH reste possible Il n'y a pas de réaction croisée entre les anticorps anti-hCG et la eLH.</p>	Roser, 1979.
Ovine	Extraits anté-hypophysaires équins	Le taux de récupération d'ovocytes diminue avec la répétition des traitements et, plus encore, lorsque ceux-ci sont espacés de moins de deux mois.	<p>a) Les brebis peuvent être superovulées avec succès trois fois dans une période de six mois.</p> <p>b) Un délai supérieur à deux mois entre traitements successifs permet la persistance d'une bonne réponse aux traitements.</p>	Boland, 1982.
Rats	PMSG + hCG	Les injections répétées font diminuer la réponse en terme d'ovulation et de nombre de follicules recrutés.	Suggère l'apparition d'une réponse immunitaire vis-à-vis de l'hormone exogène.	Ishibashi, 1985.
Cunicole	PMSG	Existence d'anticorps anti-PMSG	Recommandations telle l'usage raisonnable de la PMSG, la réduction des doses et l'espacement des traitements dans le temps.	Contera, 1989.
Caprine	FSH porcine	<p>a) La réponse ovarienne diminue de manière évidente avec la répétition des traitements.</p> <p>b) Les taux élevés d'anticorps anti-pFSH sont retrouvés chez les chèvres qui ne répondent plus ou qui répondent moins bien aux traitements.</p>	Suspicion de l'existence d'une corrélation positive entre les taux d'anticorps et la diminution de la réponse à la superovulation.	Beckers, 1990.
Cunicole	PMSG	Démonstration de l'augmentation des anticorps anti-PMSG avec la répétition des traitements et simultanément diminution des performances de reproduction des lapines.	Dans des conditions d'élevage intensif, les lapines non gestantes reçoivent un plus grand nombre de traitements à intervalles rapprochés et présentent une plus grande probabilité de développer une réponse immunologique	Canali <i>et al.</i> , 1989, 1990, 1991.
Caprine	FSH porcine (injections toutes les 6 sem. durant 7 mois)	<p>a) Possibilité d'une apparition rapide d'anticorps, même après la première injection.</p> <p>b) La répétition des traitements provoque une élévation du taux d'anticorps.</p> <p>c) La réponse aux traitements de superovulation diminue avec leur nombre.</p>	Les traitements répétés augmentent la production d'anticorps. La résistance aux traitements est associée à des taux élevés d'anticorps.	Remy, 1991.
Caprine	PMSG	<p>a) La répétition des traitements met en évidence une diminution des manifestations de l'oestrus ou un retard du moment d'apparition de l'oestrus</p> <p>b) Présence d'anticorps anti-PMSG après les traitements répétitifs.</p>	L'usage répété de PMSG durant la vie reproductive de la femelle ou durant une même année provoque une immunisation active qui diminue l'efficacité de la stimulation ovarienne et conduit à une baisse de fertilité après IA	Baril, 1992 & 1996.
Caprine	PMSG	Dosage des anticorps anti-PMSG dans le lait des mères immunisées et chez leurs chevreaux après la première tétée.	Chez la chèvre, les anticorps anti-PMSG sont transmis aux nouveaux-nés via le colostrum.	Beckers, 1995.
Cunicole	PMSG (30 UI)	Augmentation des taux circulants des anticorps anti-PMSG avec la répétition des traitements (au delà de 3 injections)	Pas d'observation d'effets négatifs (ne sont pas allés au delà de 4 inj.) mais recommandations pour limiter la PMSG aux lapines primipares.	Bourdillon <i>et al.</i> , 1992.

Cunicole	PMSG (25 UI)	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Les lapines traitées présentent une meilleure réceptivité sexuelle que les non traitées.</li> <li>b) Augmentation des taux circulants d'anticorps anti-PMSG avec la répétition des traitements</li> <li>c) Les femelles traitées sont + réceptives et jusqu'en 4<sup>e</sup> série, la fertilité des traitées &gt; témoins. Plus de diff. entre témoins et traitées après 4<sup>e</sup> inj. càd plus d'effets visibles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Confirmation de l'efficacité de la PMSG pour induire la réceptivité chez la lapine</li> <li>b) Pas d'effet négatif des anticorps circulants sur la réceptivité des femelles.</li> <li>c) Recommandation: usage limité de la PMSG aux lapines allaitantes</li> </ul>	Theau-Clément <i>et al.</i> , 1994.
Cunicole	PMSG (20 UI) (7 traitements à intervalles de 45 jours)	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Les lapines traitées présentent une meilleure réceptivité que les non traitées.</li> <li>b) Les taux d'anticorps anti-PMSG augmentent avec la répétition des traitements.</li> <li>c) La répétition des traitements ne diminue pas l'efficacité de la PMSG à induire la réceptivité des femelles</li> <li>d) Les femelles réceptives présentent des taux de fertilité plus élevés que les non réceptives (non traitées).</li> <li>e) Les femelles hyper-immunes (hyper traitées) présentent une diminution de leur fertilité et de leur taille de portée avec le nombre de traitements.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Confirmation de l'efficacité de la PMSG pour induire la réceptivité chez la lapine</li> <li>d) L'effet de la PMSG sur la synchronisation de l'œstrus n'est pas influencé négativement par les anticorps anti-PMSG</li> <li>e) La plus grande proportion de follicules hémorragiques chez les femelles traitées peut expliquer la moindre qualité des embryons récupérés (croissance folliculaire altérée par tts hormonaux avec ovulation d'ovocytes pas tout à fait matures?)</li> </ul>	Boiti, 1995.

d'une même année ou d'année en année) de gonadotropines exogènes furent appliquées à un grand nombre d'animaux. Des traitements de superovulation et de stimulation de la folliculogénèse ont en effet été largement mis en œuvre pour des raisons économiques depuis plus de 50 ans. Willet en 1953 et Jainudeen (1966) ont ainsi décrit l'apparition rapide de résistance aux traitements répétés à l'eCG ainsi qu'une diminution du taux d'ovulation. De plus, cette résistance ne semble pas disparaître quand ces femelles ne reçoivent plus de traitement durant un certain temps (Casida *et al.*, 1943; Christie *et al.*, 1979). Jainudeen qui étudiait l'ovaire bovin superovulé au moyen d'injections répétées d'eCG a constaté une diminution de la réponse aux traitements avec leur répétition. L'administration de sérum issu des vaches traitées associé à des quantités connues d'eCG normalement active à des rates immatures hypophysectomisées a révélé un effet antigonadotrope de ce sérum, maximal lorsque les vaches avaient reçu au moins 4 injections d'eCG. Chez ces femelles, les injections ultérieures d'eCG devenaient ineffectives. Les

travaux de Parkes en 1943 et Adams en 1953 avaient déjà établi la résistance de lapines (Berson *et al.*, 1956; Lebas *et al.*, 1996; Stradaoli *et al.*, 1994) aux hormones gonadotropes exogènes et décrivaient la chute de réponse aux traitements comme une courbe asymptotique similaire à celle précédemment démontrée par Willet chez les vaches.

Dans cette espèce, et pour tenter de remédier à la («trop») longue demi-vie de l'eCG, l'utilisation de préparations commerciales à base d'anticorps monoclonaux anti-eCG produit *in vitro* sur murins a vu le jour. Ces anticorps en solution sont injectés par voie intra-veineuse, 4 à 5 jours après l'administration d'eCG, en vue de neutraliser la gonadotropine et d'éviter ainsi une trop longue exposition des ovaires de la femelle à son action stimulatrice sur la croissance folliculaire (Dieleman *et al.*, 1987). Le moment d'injection de l'antisérum respecte un protocole bien précis. Ainsi, il a été clairement démontré (Boryczko, 1994) que, lors de superovulation à base d'eCG, l'injection des anticorps anti-eCG 108 heures après l'administration

d'eCG provoquait indirectement l'atrésie des follicules non ovulés de diamètre supérieur à 10 mm avec une chute concomitante des taux d'œstradiol circulant (Dieleman *et al.*, 1993). De plus, la capacité des follicules à ovuler ne diffère pas entre les vaches n'ayant reçu que de l'eCG et celles ayant reçu en complément l'antisérum. Par contre, l'injection trop précoce de l'antisérum (72 heures) inhibe complètement la superovulation. Les études portant sur le nombre d'embryons récupérés dans les deux types de traitements montrent qu'ils ne sont pas influencés par l'injection de l'antisérum (Bever, 1993). Enfin, il semblerait que la qualité des embryons récupérés lors de traitement mixtes (eCG & anti eCG) soit supérieure à celle obtenue lors de traitements ne comportant que l'eCG, par suppression de l'environnement œstrogénique trop élevé qui suivrait l'ovulation dans ce deuxième cas (Nakajima, 1992).

## CONCLUSION

Bien que non exhaustive, cette revue de la littérature suggère implicitement une certaine prudence à tenir

face à une utilisation non raisonnée des gonadotropines exogènes dans le contrôle de la reproduction des différentes espèces, tant animales qu'humaine. Une attention particulière doit être accordée à des administrations répétées d'hormones aux femelles, menant à une réduction de leur effet biologique, voire à une résistance au traitement. Il serait dès lors judicieux pour le vétérinaire et l'éleveur, de tenir, pour chaque femelle, une fiche reprenant son identification, ses origines, ainsi que l'historique des divers traitements reçus au cours de sa vie reproductive.

Il semble que le degré de dénaturation des molécules et la distance phylogénétique existant entre l'espèce source (humaine ou équine) et l'espèce traitée ait une influence sur l'intensité de la réponse immunitaire. L'utilisation d'hormones homologues de l'espèce à traiter et non dénaturée constituerait sans doute la meilleure solution à ces problèmes.

Encore faudrait-il la développer pour chacune des espèces intéressées: bovine, canine, caprine, cynocole, équine, féline, ovine, porcine et humaine.....

## ABSTRACT

### Management of reproduction: indications of gonadotropin use and possible side effects of repeated administration : a review

Gonadotropins of pituitary origin (follitropin -FSH-, lutropin -LH-, human menopausal gonadotropin -hMG) or trophoblastic origin (human chorionic gonadotropin -hCG- also called pregnant urine gonadotropin -pU-, equine chorionic gonadotropin -eCG- also called pregnant mare serum gonadotropin -PMSG-) are largely used to treat infertility or to better control sexuality in various species of mammals: bovine, canine, caprine, equine, feline, human,

ovine, porcine, rabbit, ... This manuscript reports the discovery of these molecules, describes their biochemical characteristics and gives the main indications (e.g. œstrus induction and synchronization, ovulation, superovulation, fertility improvement, anœstrus treatment, receptivity induction) in animals and human. Litterature data reporting on effects and possible side effects of their repeated use are presented. Due to slight differences in amino acids sequences, carbohydrates contents and tridimensionnal structures, repeated use of exogeneous gonadotropins may induce immunological reactions leading to non specific reactions and lower biological response. A reflection concludes this revue, pointing out the positive influence of the philogenetic distance existing between the species origin of the gonadotropin (human or equine) and the treated one, on the intensity of the immune reaction.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS C.E. Inhibition of superovulation in the rabbit. *Nature*, 1953, London, 172-82.
- AGGARWAL B.B., FARMER S.W., PAPKOFF H., STEWARD F., ALLEN W.R. Purification and characterization of the gonadotropin secreted by culture horse trophoblast cells. *Endocrinology*, 1980, 106, 1755-1759.
- ALLEN W.R., HAMILTON D.W., MOOR R.M. The origine of the equin endometrial cups. II. Invasion of the endometrium by trophoblast. *Anat. Rec.*, 1973, 177, 485-502.
- ALLEN W.R. the influence of fetal genotype upon endometrial cup developpement and PMSG and progestagen production in equids. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*, 1975; 23, 405-413.
- ALLEN W.R. Immunological aspects of the equine endometrial cup reaction. In: *Immunology of trophoblasts*. Eds. R.G. Edwards, C.W.S. Howe and M.H. Johnson. Cambridge University Press, 1975<sup>b</sup>, 217-253.
- ALLEN W.R. Exogenous hormonal control of the mare's œstrus cycle. *Symposium reproduction horse*. Gent, Belgium, 1990.
- ALLEN W.R., STEWART F. Equin Chorionic gonadotropin. In: *Equine Reproduction*. Eds. Mc Kinnon A.O., Voss J.L. Lea & febiger Publisher, Philadelphia, London, 1993, 81-96.
- ARNOLD S. Effect of duration of PMSG treatment on induction of œstrus, pregnancy rates and the complications of hyperœstrogenism in dogs. *J. Reprod. Fertil. ( Suppl.)*, 1989, 39, 115-122.
- ASCHHEIM S., ZONDECK B. Hypophysenvorderlappen-hormon und ovarial hormone im harn von Schwangeren. *Klinische Wochenschrift*, 1927, 6, 1322-1322.
- ASCHHEIM S., ZONDECK B. Schangerschaftsdiagnose aus dem Harn (durch hormonnachweis). *Klin. Wochenschrift*, 1928<sup>a</sup>, 7, 8-9.
- BARIL G., CASAMITJANA P., PERRIN J., VALLET J.C. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthyg*, 1989, 24, 101-115.
- BARIL G., REMY B., VALLET J.C., BECKERS J.F., SAUMANDE J. Comparison of pFSH, cFSH and oFSH to induce repeated superovulation in goats. VIII<sup>e</sup> Colloque Scientifique de l'Association Européenne de Transfert Embryonnaire, 1992, Abstract, 126.
- BARIL G., REMY B., VALLET J.C., BECKERS J.F. Effect of repeated use of progestagenPMSG treatment for estrus control in dairy goats out of breeding season. *Reprod. Dom. Anim.*, 1992, 27, 161-168.
- BARIL G., REMY B., LEBŒUF B., BECKERS J.F. AND SAUMANDE J. Synchronization of œstrus in goats: the relationship between eCG bindoing in plasma, time occurrence of œstrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*, 1996, 45, 1553-1559.
- BARIL G., LEBŒUF B., REMY B., DRION P.V., BRENELAS D., BONNE J.L., POUGNARD J.L., SAUMANDE J., BECKERS J.F. Effets de la répétition des traitements Progstagènes/PMSG chez la chèvre. *Reproduction Caprine: nouveaux contextes, derniers acquis*. Colloque de Niort, 30 avril 1998, F1- F10.
- BAUMANS V. Testosterone secretion during gubernacular development and testicular descent in the dog. *J. Reprod. Fertil.*, 1985, 73(1), 21-25.
- BAVISTER B.D., DEES C., SCHULTZ R. Refractoriness of Rhesus monkeys to repeated ovarian stimulation by exogenous gonadotropins is caused by nonprecipitating antibodies. *Am. J. of Reproductive Immunology and Microbiology*, 1986, 11-16.
- BECKERS J.F., BARIL G., VALLET J.C., CHUPIN D., REMY B., SAUMANDE J. Are porcine follicle stimulating hormone antibodies associated with decreased superovulatory response in the goat? *Theriogenology*, 1990, 33, Abstract, 192.
- BECKERS J.F., REMY B., BARIL G., FIGUEIREDO J.R., BUREAU F., SULON J., SAUMANDE J. Anti-eCG antibodies are transmitted via the colostrum in goats. *Theriogenology*, 1995, 43(1), 165.

- BERSON S.A., YALOW R.S., BAUMAN A., ROTHSCHILD M.A., NUVERLY K. Insulin-<sup>125</sup>I metabolism in human subjects: demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. *J. Clin. Invest.*, 1956, **35**, 170-190.
- BEVERS M.M. Yield of embryos in PMSG superovulated cows treated with anti-PMSG six or 18 hours after the peak of luteinising hormone. *Vet. Rec.*, 1993, **132**(8), 186-189.
- BODIN L., BRICE G., REMY B., MAUREL M.C., BECKERS J.F. Effects of repeated PMSG treatments on sheep reproduction. 46th Annual Meeting of the European Association for Animal Reproduction. 4-7 septembre 1995, Prague, Abstract.
- BODIN L., DRION P.V., REMY B., BRICE G., COGNIE Y., BECKERS J.F. Anti-PMSG in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. *Reproduction Nutrition Development*, 1997, **37**, 651-660.
- BOITI C., CASTELLINI C., CANALI C., ZAMPINI D., MONACI M. Long term effect of PMSG on rabbit does reproductive performances. *World Rabbit Science*, 1995, **3**(2), 51-56.
- BOLAND P.M., GORDON I. Effect of repeated horse anterior pituitary extract treatment on ovulatory response in the ewe. *The Veterinary Record*, 1982, **111**, 391-392.
- BORYCZKO Z. Morphological and hormonal changes after superovulation in cows treated with NeutraPMSG. *Arch. Vet. Pol.*, 1994, **34**(12), 117-126.
- BOUSSIT D. Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. Editions AFC, 1989, 254 pages.
- BOSU W.T.K., SERNA J., BARKER C.A.V. Peripheral plasma levels of progesterone in goats treated with fluorogestone acetate and prostaglandin F<sub>2α</sub> during the oestrus cycle. *Theriogenology*, 1978, **9**, 371-390.
- BOURDILLON A., CHMITELIN F., JARRIN D., PAREZ V., ROUILLER H. Effect of PMSG treatment on breeding result of artificial inseminated rabbits. *J. Appl. Rab Res.*, 1992, **15**, 530-537.
- BRITT J.H. Frequency of ovarian follicular cysts, reasons for culling and fertility in Holstein-Friesian cows following postpartum treatment with gonadotrophin releasing hormone at two weeks after parturition. *Am. J. Vet. Res.*, 1977, **50**, 749-751.
- BROUHA L. et coll. La fonction sexuelle de l'hypophyse. *Arch. Int. Physiol.*, 1930, **33**, 1-59.
- BRUYAS J.F., REMY B., BECKERS J.F., HURSAULT A., FIENI F., TAINTURIER T. Increased ovulation rates in donor mares treated with equine FSH: first results. IX<sup>e</sup> Colloque Scientifique de l'Association Européenne de Transfert Embryonnaire, 1993, Abstract, 172.
- BULWA S. Medically assisted procreation. Medical Viewpoint. *Soins Gynecol. Obstet. Pueric. Pediatr.*, 1993, **143**, 3-12.
- BULWA S. Medically assisted procreation. Techniques and results. *Soins Gynecol. Obstet. Pueric. Pediatr.*, 1993, **143**, 13-21.
- CANALI C., BOITI C., CASTELLINI C., ZAMPINI D. Effetti del PMSG sulle prestazioni riproduttive delle fratrici cunicole. *Coniglicoltura*, 1990, **27**(3), 21-23.
- CANALI C., BOITI C., ZAMPINI D., CASTELLINI C., BATTAGLINI M. Correlazione tra fertilità e titolo anticorpale anti-PMSG di coniglie trattate ripetutamente con gonadotropine nel corso della loro carriera riproduttiva. Atti IX Congresso Nazionale ASPA, 1991, 671-678.
- CANALI C., BOITI C., CASTELLINI C., BATTAGLINI M., ZAMPINI D. Effetto immunizzazione in coniglie trattate ripetutamente con PMSG. In Proc. II meeting sullo studio della efficienza riproduttiva degli animali di interess zootecnico. Bergamo 24 Nov. 1989, 103-108.
- CASIDA L.E., MEYER R.K., MC SHAN W.H., WLANICKY W. Effects of pituitary gonadotropins on the ovaries and the induction of superfecundity in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1943, **4**, 76-94.
- CHAKRABORTY P.K. Serum luteinizing hormone and ovulatory response to luteinizing hormone releasing hormone in the estrous and anestrus domestic cat. *Lab. Anim. Sci.*, 1979; **29**(3): 338-344.
- CHAKRABORTY P.K. Induction of oestrus and ovulation in the cat and in the dog. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1982; **12**(1): 85-92.
- CHRISTIE W.B., NEWCOMB R., ROWSON L.E.A. Ovulation rate and egg recovery in cattle treated repeatedly with PMSG and prostaglandin. *The Veterinary Record*, 1979, **31**, 281-283.
- CLARKE I.J. Repeated gonadotrophic stimulation of ewes. *N. Z. Soc. Anim. Prod.*, 1973, **33**, 204.
- CLOSSET J., COMBARNOUS Y., VANDELEM J.L., MAGHUIN-ROGISTER G., HENNEN G. Human and animal gonadotropins: Characterization, Structure, Immunochemical studies and clinical applications. In: *Atti delle Giornate Endocrinologiche senesi*. Eds. Muller and Piazzi, Edizione ISVT «SCAVO», Sienna, Italy, 1975, 45-62.
- COGNIE Y., MARIANA J.C., THIMONIER J. Etude du moment d'ovulation chez la brebis normale ou traitée par un progestagène associé ou non à une injection de PMSG. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 1977, **10**, 15-24.
- COGNIE Y., MAULÉON P. Control of reproduction in the ewe. In: *Sheep production*. Ed. Haresign. W. Butterworth, Londres, 1983, 381-392.
- COGNIE Y., CHUPIN D., SAUMANDE J. The effect of modifying the FSH/LH ratio during the superovulatory treatment in ewes. *Theriogenology*, 1986, **25**, 148 (Abstract).
- COLE D.J.A., FOXCROFT G.R. Control of pig reproduction. London: Butterworth pub., 1982.
- COLE H.H., HOWELL C.E., HART G.H. The change occurring in the ovary of the mare during pregnancy. *Anatomical Record* 1931, **49**, 199-209.
- COLE H.H., GOSS H. The source of equin gonadotropin. In: *Essays in honour of H M Evans*, University of California Press, Berkeley, 1943.
- COLE H.H., HAMBURGER C., NIEMAN-SØRENSEN A. Studies on antigonadotrophins with emphasis on their formation in cattle. *Acta Endocrinol.*, 1957, **26**, 286-302.
- COLE H.H., SAUNDER F.J. Levels of gonad-stimulating hormone in blood serum and of oestrin in the urine throughout pregnancy in the mare. *Endocrinology*, 1935; **19**: 199-208
- COMBARNOUS Y. Structures et relations structure-activité des médiateurs. In: *Biochimie des communications cellulaires*. Editions Médicales Internationales. Lavoisier Tec and Doc, Cachan Cedex, France, 1994, 33-61.
- CONTERA A.C. Management ed efficienza riproduttiva. *Coniglicoltura*, 1989, **26**(6), 17-20.
- CORTEEL J.M. Maîtrise de la reproduction des caprins à vocation laitière, à des fins économiques. CR 1<sup>er</sup> colloque International sur la Reproduction des caprins. Drummondville, Québec, Canada, 1985, 45-68.
- DAVIDSON J., ROSS R.K., PAGANINI-HILL A., HAMMOND C.D., SIITERI P.K., JUDD H.L. Total and free estrogen and androgens in postmenopausal women with hip fractures. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1982, **54**, 115-120.
- DAVIDSON J.M., GRAY G.D., SMITH E.R. The sexual psychoendocrinology of aging. In: *Neuroendocrinology of aging*. Ed. Meites J. New York, Plenum Press, 1983, 221-258.
- DAVIES H. Introductory Immunobiology. Chapman & Hall, Eds. London, 1997, 394 p.
- DERIVAUX J., ECTORS F. Hormones hypophysaires. In: *Reproduction chez les animaux domestiques*. Ed: Academia, Louvain-la-Neuve, Belgium, 1989, 202-225.
- DEUTSCH H.F., MC SHAN W.H., ELY C.A., MEYER R.K. Time of appearance and properties of antigonadotrophic and progonadotrophic substances of rabbit serum. *Am. J. Physiol.*, 1950, **162**, 393-405.
- DIELEMAN S.J., BEVERS M.M., VOS P., DE LOOS F. PMSG/anti-PMSG in cattle: a simple and efficient superovulatory treatment? *Theriogenology*, 1993, **39**, 5-41.
- DIELEMAN S.J. Effects of monoclonal antibody against PMSG administered shortly after the preovulatory LH surge on time and number of ovulations in PMSG/PG treated cows. *J. Reprod. Fertil.*, 1987; **81**(2): 533-542.
- DIERSCHKE D.J., KOENIG J., KRUEGGER G., ROBINSON J.A. Reproductive and hormonal patterns in perimenopausal Rhesus monkeys. 65th Annual Meeting. Endocrine Society, 1983, 250.

- DONALDSON L.E. The effect of PGF $_{2\alpha}$  treatments in superovulated cattle on œstrus response and embryo production. *Theriogenology*, 1983; **20**: 270-285.
- DRION P.V., DE ROOVER R., HOUTAIN J.Y., REMY B., SULON J., DESSY F., BECKERS J.F. Repeated high doses administration of eCG in cows submitted to an ovum pick up experimental protocol: plasmatic eCG binding rates follow up. 13<sup>e</sup> Colloque Association Européenne de Transfert Embryonnaire, Abstract, p146. Lyon-12 et 13 septembre 1997.
- DROST M., THATCHER W.W. Application of gonadotrophin releasing hormone as therapeutic agent in animal reproduction. In: *Clinical trends and basic research in animal reproduction*. Eds. Dieleman SJ, Colenbrander B, Booman P, Lende T. Amsterdam, Elsevier, 1992, 11-19.
- DUCHAMPS G., BOUR B., COMBARNOUS Y., PALMER E. Alternative solutions to hCG induction of ovulation in the mare. *J. Reprod. Fert.*, 1987, **35**(Suppl), 221-228.
- ENGLAND G.C.W., ALLEN W.E. Therapy using reproductive hormones in the dog and bitch. In: *Practice*, 1988, 215-214.
- ENGLAND G.C. Repeatability of events during spontaneous and gonadotrophin-induced œstrus in bitches. *J. Reprod. Fert.*, 1991, **93**(2), 443-448.
- EPELBOIN S. Multiple pregnancy in medically assisted procretaion. Information and informed consent. *Soins Gynecol. Obstet. Pueric. Pediatr.*, 1993, **143**, 39-42.
- EPSEY L.L. A review of factors that could influence membrane potentials of ovarian follicular cells during mammalian ovulation. *Acta Endocrinol.*, 1992, **2**(suppl), 1-31.
- EVANS M.J., IRVINE C.H.G. The serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the estrous cycle and early pregnancy in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1975, **23**(Suppl), 193-200.
- EVANS J.M. Œstrus control in bitches and queen. In: *The Veterinary annual*. Eds. Grunsell CSG, Hill FGW, Bristol: Whright Publ, 1976, **16**, 207.
- KUSUMA P.S. Comparison of induction of œstrus in dogs using metergoline, metergoline plus human chorionic gonadotrophin, or pregnant mares' serum gonadotrophin. *J. Reprod. Fert.* (Suppl.), 1995, **47**, 363-370.
- FABRIS N. Hormones and aging. In: *Immunology and aging, comprehensive immunology*. Eds. Makinod NT, Yumis E, **3**, New York, Plenum Press, 1977, 72-89.
- FARMER & PAPKOFF. Immunochemical studies with pregnant mare serum gonadotropin. *Biology of Reproduction*, 1979, **21**, 425-431.
- FAULKNER L.C. Immunization against gonadotropins in the dog. In: Nieschlag E, Ed. Immunization with hormones in reproduction research. Amst., 1976, 199-216.
- FELDMAN E.C., NELSON R.W. Feline reproduction. In: Canine and feline endocrinology and reproduction. Ed. Pedersen D, Philadelphia: WB Saunders, 1987, 399-480.
- FISHEL S.B., EDWARDS R.G., EVANS C.J. Human chorionic gonadotropin secreted by preimplantation embryos cultured *in vitro*. *Science*, 1984, **223**, 816.
- FOX-CROFT G.R., COLE D.J.A., WEIR B.J. Control of pig reproduction. II. *J. of Reprod. and fertility*, 1985, suppl.33.
- FRITZ M.A., HESS D.L., PATTON P.E. influence of corpus luteum age on the steroidogenic response to exogenous human chorionic gonadotropin in normal cycling women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1992; **167**: 709-716.
- GARVERICK H.A. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1997, **80**(5), 995-1004.
- GHERARDI P.G., MARTIN G.B. The effect of multiple injections of Pregnant Mare Serum Gonadotrophin on the ovarian activity of Merino ewes. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 1978, **12**, 260.
- GIUDICE L.C., PIERCE J.G. In: *Structure and function of the gonadotropins*. Ed: McKerns K.W., Plenum Press, New York, 1978, 88-102.
- GODKE R.A., POOL S.H., RORIE R.W. Follicular development, superovulation and artificial insemination in embryo donor cattle. *The bovine practitioner*, 1990, **25**, 102-109.
- GUIBAULT L.A., GRASSON F., LUSSIER J.G., TOUILLIER P., MATTON P. Decreased superovulatory response in heifers superovulated in the presence of a dominant follicle. *J. Reprod. Fert.*, 1991, **91**, 81.
- GUSTIN P., LAURIER L., PLUME C. Le vétérinaire et les médicaments: cadre légal actuel. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 1998, **142**, 55-70.
- HARINGTON C.R., ROWLANDS I.W. Fraction of antithyrotropic and antigonadotropic sera. *Biochem. J.*, 1937, **31**, 2049-2054.
- HASLER J.F. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1992, **75**, 2857-2879.
- HENNIES M.G., MANN E., WALLENHORST S., HOLTZ W. Antibody formation in gilts after repeated superovulation with PMSG. *Reproduction Domestic Animals*, 1996, **30**, 414.
- HIGAKI S. Ovarian cysts in domestic animals. *Hormon To Rinsho*, 1969, **17**(11), 917-923.
- HODGEN G.D., GOODMAN A.L., O'CONNOR A., JOHNSON D.K. Menopause in Rhesus monkeys: model for study of disorders in the human climateric. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1977, **127**, 581-584.
- HULOT F., POUJARDIEU B. Induction artificielle de l'ovulation et fertilité chez la lapine allaitante ou non. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 1976, **16**(5), 655-643.
- HUMBLOT P., THIBIER M. Utilisation de la gonadolibérine (LHRH) dans le traitement des bovins repeat breeders. Proceedings of the 10th World Buiatric Congress. Mexico, 1978, 141-148.
- HUHTANIEMI I.T., KORENBROT C., JAFFE R.B. hCG binding and stimulation of testosterone biosynthesis in the human fetal testis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1977, **44**, 963-967.
- IBACH B. Effect of human chorionic gonadotrophin on the dog seminiferous tubule, with and without experimental unilateral cryptorchism. *Urol. Res.*, 1975, **3**(1), 25-30.
- IJAZ A., FAHNING M.L., ZEMJANIS R. Treatment and control of cystic ovarian disease in dairy cattle: a review. *Br. Vet. J.*, 1987, **143**, 226-237.
- ISHIBASHI I., HIKINO T. Effect of the repetition of PMSG and hCG treatment on the ovulatory response and the number of follicles in adult rats. *Japan J. Anim. Reprod.*, 1985, **31**, 141-146.
- JABOUR H.N., EVANS G. Ovarian and endocrine response of Merino Ewes following treatment with PMSG and GnRH or PMSG antiserum. *An. Reprod. Science*, 1991, **24**(3-4), 259-270.
- JAFFE R.B., SERON-FERRE M., HUHTANIEMI I., KORENBROT C. Regulation of the fetal adrenal glands and testis *in vitro* and *in vivo*. *J. Steroid. Biochem.*, 1977, **8**, 479-490.
- JAINUDEEN H.R., HAFEZ E.S.E., GOLLMICK P.D., MOUSTAFA L.F. Antigonadotropins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. *Am. J. Vet. Res.*, 1966, **27**(118), 669-675.
- JARDIN A. Treatment of male infertility. *Presse med.*, 1995, **24**(32), 1511-1513.
- JOHNSON M.R., OKOKON E., COLLINS W.P., SHARMA V., LIGHTMAN S.L. The effect of human chorionic gonadotropin and pregnancy on circulating level of relaxin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1991, **72**, 1042-1047.
- KAFAWI A., HOPWOOD M.L., PINEDA M.H., FAULKNER L.L. Immunization of dogs against human chorionic gonadotropin. *Am. J. Vet. Res.*, 1974, **35**, 261-264.
- KATZMAN P.A., WADE N. J., DOISY E.A. Progonadotropic sera of animals treated with hypophysal extracts. *Endocrinology*, 1939, **25**, 554-567.
- KAWAKAWI E. Pituitary response of cryptorchids dogs to LH-RH-analogue before and after sexual maturation. *J. Vet. Med. Sci.*, 1993, **55**(1), 147-148.
- KIRACOFÉ G.H. Œstrus synchronization in beef cattle. *Compendium Food Animal*, 1988, **10**, 57-60.
- KUPFER U. The effect of hCG-progesterone combination therapy in cows with ovarian cysts. *Schweiz Arch. Tierheilkd*, 1991, **133**(8), 365-369.

- LARSEN RE, JOHNSON S.D. Management of canine infertility. In: *Current Veterinary Therapy VII*. Ed. Kirk RW. Philadelphia: Saunders WB, Publ. 1980: 1126.
- LEATHEM J.H. The anti-hormone problem in endocrine therapy. *Rec. Prog. Hormone Res.*, 1949, 4, 115-152.
- LEATHEM J.H., BRADBURY J.T. Antihormone formation during chorionic gonadotropic therapy. *J. Clin. Endocrinol.*, 1949, 9, 384-385.
- LEBAS F., THEAU-CLEMENT M., REMY B., DRION P. AND BECKERS J.F. Production of anti-PMMSG antibodies and its relation to the productivity of rabbit does. *World Rabbit Science*, 1996, 4 (2), 57-62.
- LEIN D.H., CONCANNON P.W. Infertility and fertility treatments and management in the queen and tomcat. In: *Current Veterinary Therapy VIII*. Ed. Kirk RW, Philadelphia: Saunders WB, 1983.
- LENTON E.A., NEAL L.M., SULAIMAN R. Plasma concentrations of human chorionic gonadotropin from the time of implantation until the second week of pregnancy. *Fertil. Steril.*, 1982, 37, 773-778.
- LENTON E.A., WOODWARD A.J. The endocrinology of conception cycles and implantation in women. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*, 1988, 36, 1-15.
- LEYVA-OCARIZ H. Effect of hyperadrenocorticism and diabetes mellitus on serum progesterone concentrations during early metæstrus of pregnant and nonpregnant cycles induced by pregnant mares' serum gonadotrophin in domestic dogs. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*, 1993, 47, 371-377.
- LOWIS T.C., HYLAND J.H. The effect of an extended artificial photoperiod and gonadotrophin-releasing hormone infusions in inducing fertile œstrus in anœstrous mares. *Australian Veterinary Journal*, 1991, 68(12), 400-402.
- LUNNEN J.E. Immunization of dogs with bovine luteinizing hormone. *Biol. Reprod.*, 1974; 10(4): 453-460.
- MAC MILLAN K.L., CURNOW R.J., MORRIS G.R. Œstrus synchronization with a prostaglandin analogue: 1. Systems in lactating dairy cattle. *New Zealand Vet. J.*, 1977, 25, 366-372.
- MAURER R.R., HUNT W.L., FOOTE R.H. Repeated superovulation following administration of exogenous gonadotropins in Dutchbeited rabbits. *J. Reprod. Fert.*, 1968, 15, 93-102.
- MC FARLAND K.C., SPRENGEL R., PHILLIPS H.S. Lutropin chorionic gonadotropin receptor: an unusual member of the G protein-coupled receptor family. *Science*, 1989, 245, 494-499.
- MCLACHLAN R.I., COHEN N.L., VALE W.W. The importance of luteinizing hormone in the control of inhibin and progesterone secretion by the human corpus luteum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1989, 68, 1078-1085.
- McNAMARA E.M. Kinetic Studies on equine Chorionic Gonadotropin. Thesis. Biochemistry Department, University College, Galway, 1993, 42-49.
- MICHEL T.H., ROSSDALE P.D., CASH R.S.G. Efficacy of human chorionic gonadotrophin releasing hormone for hastening ovulation in Thoroughbred mares. *Equine Vet. J.*, 1986, 18(6), 438-442.
- MIRSKY I.A. The etiology of diabetes mellitus in man. *Recent Prog. Horm. Res.*, 1952, 7, 437-465.
- MORAND-FEHR P., BLANCHART G., LE MENS P., REMEUF F., SAUVANT D., LENOIR J., LAMBERET G., LE JAOUEN J.C. Données récentes sur la composition du lait de chèvres. 11<sup>e</sup> journée de la Recherche Ovine et Caprine, 2-3 décembre, INRA-ITOVIC, Paris, 1986, 253-298.
- MOORE W.T. JR, WARD D.N. Pregnant mare serum gonadotropin. Rapid chromatographic procedures for the purification of the intact hormone and isolation of the subunits. *J. of Biological Chemistry*, 1980<sup>a</sup>, 255, 6923-6929.
- MOORE W.T. JR, WARD D.N. Pregnant mare serum gonadotropin an *in vitro* biological characterization of the lutropin- follitropin dual activity. *J. of Biological Chemistry*, 1980<sup>b</sup>, 255, 6930-6936.
- MOORE W.T., BURLEIGH B.D., WARD D.N. Chorionic gonadotropins: Comparative studies and glycoprotein hormones. In: *Chorionic Gonadotropin*. Ed: Segal SJ, Plenum Press, New York, USA. 1980. 89-126.
- MORGAN F.J., BIRKEN S., CANFIELD R.E. Letter: Human Chorionic Gonadotropin: a proposal for the amino acid sequence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1975, 2, 97-99.
- NAKAJIMA A. The use of bovine antiPMMSG serum in beef cattle after PMMSG superovulation. *J. Vet. Med. Sci.*, 1992, 54(1), 95-98.
- NELL T., ROERINK H., GIELEN J. Use of a synchro-mate B implant system to induce œstrus in dairy cattle. Proceedings of the 16th World Buiatrics Congress, Salvador de Bahia, 1990, 203-207.
- OLSON P.N. Infertility in the bitch. In: *Current Veterinary Therapy VIII*. Ed. Kirk RW, Philadelphia: Saunders WB, 1983, 925.
- OSTERGAARD E., HAMBURGER C. The formation of antihormone in women treated with Pregnant Mares' Serum Hormone. *Acta Endocrinol.*, 1949, 2, 148-164.
- PALMER E., DRIANCOURT M.A., ORTAVANT R. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anœstrus. *J. Reprod. Fert.*, 1982, suppl 32, 275-282.
- PAREZ V. AND CHMITELIN F. Effect of a PMMSG treatment on reproduction in the rabbit. Proceedings of the 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, The Netherlands, 1992, 1166.
- PAREZ V. Effets de l'utilisation de la PMMSG sur la reproduction de la lapine. *Cuniculture*, 1992, 19, 275-276.
- PARKES A.S. Induction of superovulation and superfecundation in rabbits. *J. Endocrinology*, 1943, 3, 268.
- PICKETT B.W., SQUIRES E.L., VOSS J.L., WALLACH M.S., WALLACH S.R.J. Factors affecting the sexual behavior of the equine male; *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. Miami Beach, Florida, 1979.
- PIERCE J.G., PARSONS T.F. Glycoprotein hormones: Structure and function. *Ann. Rev. Biochem.*, 1981, 50, 465-495.
- PIGNON H., CLEGG M.T., COLE H.H. The formation of antigonadotropin in sheep and its effects on the endocrines and reproductive system. *Acta endocrinologica*, 1960, 35, 253-260.
- PINEDA M.H. Cross-reactions of anti-bovine luteinizing hormone serums. *Am. J. Vet. Res.*, 1972; 33(1): 45-50.
- PINKERT C.A. In-vitro development of zygotes from superovulated prepubertal and mature gilts. *J. Reprod. Fertil.*, 1989, 87(1), 63-66.
- QUAGLIARELLO J., GOLDSMITH L., STEINETS B., LUSTIG D.S., WEISS G. Induction of relaxin secretion in nonpregnant women by human chorionic gonadotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1980, 51, 74-77.
- RAVNIKAR V., ELKIND-HIRSCH K., SCHIFF I., RYAN K.J., TULCHINSKY D. Vasomotor flushes and the release of peripheral immunoreactive luteinizing hormone-releasing hormone in postmenopausal women. *Fertil. Steril.*, 1984, 41, 881-887.
- REMY B., BARIL G., VALLET J.C., DUFOUR R., CHOUVET C., SAUMANDE J., CHUPIN D., BECKERS J.F. Are antibodies responsible for a decrease superovulatory response in goats which have been treated repeatedly with porcine folliclestimulating hormone? *Theriogenology*, 1991, 36(3), 389-399.
- REYES F.I., BORODITSKY R.S., WINTER J.S.D., FAIMAN C. Studies on human sexual development. II. Fetal and maternal serum gonadotropin and sex steroid concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1974, 38, 612-617.
- ROWLANDS IW: Levels of gonadotropins in tissues and biological fluids with emphasis on domestic animals. In: *Gonadotropins: their chemical and biological properties and secretory control*. Ed: Cole HH, San Francisc, 1963: 75-107.
- ROSEN S., STURMAN H. The effect of a norgestomet implant on the fertility of repeat breeder cows. Proceedings of the 11th International Congress on Animal reproduction. Dublin, 1988, 2, 456.
- ROSER J.F., KIEFER B.L., EVANS J.W., NEELY D.P., PACHECO C.A. The development of antibodies to human chorionic gonadotropin following its repeated injections in the cyclic mare. *J. Reprod. Fert.*, 1979, 27, 173-179.
- SCAUDER W. Untersuchungen über die Eihäute und Embryotrophe des Pferders. *Arch. Anat. Physiol.*, 1912, 259-302.
- SCHLEGEL W. Ovulation in gilts following biotechnical puberty induction and followed by ovulation stimulation. *Arch. Exp. Veterinarmed.*, 1978, 32(6), 873-877.

- SCHNURBUSCH U. Effect of a single gonadotropin injection on the uterus of prepubertal gilts. *Arch. Exp. Veterinarmed.*, 1980, **34**(4), 483-504.
- SCHNURBUSCH U. The occurrence of different forms of ovarian cysts in swine with special reference to their effect on the estrus cycle. *Tierarztl Prax.*, 1991, **19**(6), 635-643.
- SEIDLACEK H.H., MÖRÖY T. Allergic diseases. In: *Immune Reaction*. Ed. Springer, New York, 1995, 295-309.
- SHILLE V.M. Efforts to induce estrus in the bitch, using pituitary gonadotropins. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984, **184**(12): 1469-1473.
- SILBERZAHN P., POURET E.-M., ZWAIN I. Androgen and oestrogen response to a single injection of hCG in cryptorchid horses. *Equine Vet. J.*, 1989, **21**(2), 126-129.
- SIMON M.I., STRATHMANN M.P., GAUTAM N. Diversity of G proteins in signal transduction. *Science*, 1991, **252**, 802-808.
- SMITZ J. The use of gonadotrophin releasing hormone agonists for *in vitro* fertilization and other assisted procreation techniques: experiences from three centres. *Hum. Reprod.*, 1992, **7**(suppl.1), 49-66.
- SQUIRES L., GINTHER O.J. Follicular and luteal development in pregnant mares. *J. of Reprod and Fertil.*, 1975, **23**(Suppl), 429-433.
- S'TAIGMILLER R.B., BELLOWS R.A., ANDERSON G.B., SEIDEL G.E. JR, FOOTE W.D., MENINO A.R. JR, WRIGHT R.W. JR. Superovulation of cattle with equine pituitary extract and porcine FSH. *Theriogenology*, 1992, **37**, 1091-1099.
- S'TRADAIOLI G., CASTELLINI C., MONACI M., CANALI C., VERINI SUPPLIZI A., BOITI C. Effetti del PMSG sulle prestazioni riproduttive delle coniglie: risultati di un quadriennio di sperimentazione. VIe meeting nazionale. Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico, Bergamo, 29 aprile 1994, 153-157.
- SULLIVAN J.J., PARKER W.G., LARSON L.L. Duration of estrus and ovulation time in nonlactating mares given human chorionic gonadotropin during three successive estrus periods. *J. Am. Vet. M.A.*, 1973, **162**, 895-898.
- SWANSON W.F. Production of exogenous gonadotrophin neutralizing immunoglobulins in cats after repeated eCG/hCG treatment and relevance for assisted reproduction in felids. *J. Reprod. Fertil.*, 1995, **105**(1), 3541.
- SWANSON W.F. Kinetics of the humoral immune response to multiple treatments with exogenous gonadotropins and relation to ovarian responsiveness in domestic cats. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**(3), 302-307.
- TALAMANTES F., OGREN L. Chorionic gonadotropins. In: *The physiology of Reproduction*. Ed: Knobil, Neill. New York, USA, Raven Press, 1988, **2**, 2093-2144.
- THAU R., GOLDSTEIN M., YAMAMOTOI Y., BURROW G.N., PHILLIPS D., BARDIN C.W. Failure of gonadotropins therapy secondary to chorionic gonadotropin induced antibodies. *J. of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1988, **66**, 862-864.
- THEAU-CLEMENT M., VRILLON J.L. Le point sur l'insémination artificielle. *Cuniculture*. 1989, **16**, 141-149.
- THEAU-CLÉMENT M., LEBAS F. Etude de l'efficacité de la Ciclogonine (PMSG) pour induire la réceptivité chez la lapine. *Cuniculture*, 1994, **115**(21), 5-11.
- THEAU-CLÉMENT M., LEBAS F., DRION P., BECKERS J.F. Evolution de la production d'anticorps anti-PMSG en fonction de la dose et du nombre d'injections. Relation avec la productivité des lapines. 7<sup>th</sup> Journées de la Recherche Cunicole. Lyon, France, 1998, 225-228.
- THIMONIER J., COGNIE Y. Application of control of reproduction of sheep. Proc. Symp. Management of Reproduction in sheep and goats. Madison, Wisconsin, E-U. 24-25/7/1977, 109-118.
- THOMPSON K.W. Antihormones. *Physiol. Rev.*, 1941, **21**, 588-631.
- THUN R. Induction of estrus and ovulation in the bitch, using exogenous gonadotropins. *Am. J. Vet. Res.*, 1977, **38**(4), 483-486.
- THUN R. Studies on reproduction in the dog. Induction of oestrus by hormonal treatment and results of the following inseminations. *Japan. J. Anim. Reprod.*, 1976, **22**, 71.
- TILTON S.L. Evaluation of response to hormonal therapy in prepubertal gilts of different genetic lines. *J. Anim. Sci.*, 1995, **73**(10), 3062-3068.
- TU B.K. Effects of hCG on human corpus luteum of menstruation and early gestation. *Endocrinology Jpn.*, 1978, **25**, 569-574.
- WAL J.M. Structures des protéines impliquées dans les allergies alimentaires. *Cahiers-Agricultures*, 1996, **5**, 403-413.
- WANG H.Z., LU S.H., XAN X.J. Control of inhibin production by dispersed human luteal cells *in vitro*. *Reprod. Fertil. Dev.*, 1992, **4**, 67-75.
- WARD D.N., MOORE W.T., BURLEIGH B.D. Structural studies on equin chorionic gonadotropin. *J. Protein. Chem.*, 1982, **1**, 263-280.
- WEILENMANN R. Estrus induction in bitches by the administration of PMSG and HCG. *Schweiz Arch. Tierheilkd.*, 1993, **135**(8), 236-241.
- WENSINA C.J. The embryology of testicular descent. *Horm. Res.*, 1988, **30**(45), 144-152. Review.
- WILDT D.E., KINNEY G.M., SEAGER S.W.J. Gonadotropin-induced reproductive cyclicity in the domestic cat. *Lab. Anim. Sci.*, 1978, **28**, 301-307.
- WILLET E.L., BUCKNER P.J., MCSHAN W.H. Refractoriness of cows repeatedly superovulated with gonadotropins. *J. Dairy Sc.*, 1953, **36**, 1083-1087.
- WILSON C.G., DOWNIE C.R., HUGHES J.P., ROSER J.F. Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency mares. *J. Eq. Vet. Sci.*, 1990, **10**, 301-306.
- WISARD M. Diagnostic and therapeutic approach to male sterility. *Schweiz Rundsch Med. Prax.*, 1997, **86**(44), 1744-1748.
- WRIGHT P.J. The induction of oestrus in the bitch using daily injections of pregnant mare serum gonadotrophin. *Aust. Vet. J.*, 1982, **59**(4), 123-124.
- WRIGHT P.J. The induction of oestrus and ovulation in the bitch using pregnant mare serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin. *Aust. Vet. J.*, 1980, **56**(3), 137-140.
- YALOW R.S., BERSON S.A. Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. *Nature*, 1959, **184**, 1648-1649.
- YALOW R.S. Radioimmunoassay: a probe for the fine structure of biologic systems. *Science*, 1978, **200**, 1236-1245.
- ZONDEK B., SULMAN F. The antigonadotropic factor. Origin and preparation. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1937, **46**, 708-712.