

Variations de la LH, de la FSH, du 17 β œstradiol et de la progestérone au cours du cycle œstral de la chienne⁽¹⁾

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

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

RESUME

Les taux plasmatiques de progestérone, 17 β Œstradiol, L.H. et F.S.H. ont été déterminés par radioimmunoessai chez 5 chiennes au cours de deux cycles œstraux successifs.

La progestéronémie augmente dès la fin du proœstrus pour atteindre 30 à 40 ng/ml puis elle redescend progressivement et rejoint son taux de base (0,64 ng/ml) entre les jours 80 à 100 après l'œstrus.

Le pic de 17 β Œstradiol se situe pendant le proœstrus (75,1 pg/ml) et atteint son sommet 24 heures avant le pic de L.H.

La chute des œstrogènes induit la décharge des gonadotropines, étalées sur 48 à 72 heures, le pic de F.S.H. atteignant son maximum 48 heures après celui du L.H.

La gestation n'influence pas le profil sécrétoire de ces hormones, à l'exception de la progestérone dont le taux chute peu avant l'accouchement.

(1) Travail partiellement subsidié par l'IRSIA,
rue de Crayer, 6 à Bruxelles.
Manuscrit déposé le 23-1-1979.

INTRODUCTION

La chienne est une espèce monoœstrienne saisonnière, l'intervalle compris entre deux cycles étant approximativement de 6 mois. L'ensemble des manifestations œstrales dure 3 semaines et se compose d'un proœstrus et d'un œstrus de longueur sensiblement égale. L'œstrus proprement dit correspond à la période d'acceptation du mâle et débute 10 jours environ après l'apparition des pertes sanguines (Bell et coll., 1971 ; Holst et coll., 1975).

L'ovulation spontanée survient au 2^e ou 3^e jour de l'œstrus (Phemister et coll., 1973) et est suivie de l'établissement de la phase lutéale appelée diœstrus par analogie avec les autres espèces (Mc Donald, 1969 ; Holst et coll., 1974).

En effet, le métœstrus ou période de formation du corps jaune est confondu avec la fin de l'œstrus chez la chienne. Le diœstrus, ou phase d'état du corps jaune, dure 80 à 120 jours chez une femelle non gestante. La gestation est longue de 57 à 62 jours et ne modifie en rien le déroulement du cycle.

L'anœstrus est une période d'inactivité ovarienne qui se termine au proœstrus suivant.

Dans cet article, nous nous sommes proposé de suivre les variations plasmatiques de la Progèstérone, du 17 β œstradiol, de la F.S.H. et de la L.H. au cours du cycle œstral.

MATERIEL ET METHODES

5 chiennes de race beagle, âgées de 1 à 4 ans, ont été observées pendant 2 cycles successifs. Des prises de sang journalières ont été réalisées pendant les chaleurs et 2 ou 3 fois par semaine pour le restant du cycle.

Lors de chaque prélèvement 10 ml de sang sont prélevés à la veine jugulaire, placés en tubes héparinés et centrifugés immédiatement. Le plasma est alors stocké à -20°C .

Des frottis vaginaux réguliers et la mise au contact d'un mâle (vasectomisé ou non) ont permis de déceler le début et la fin de l'œstrus.

La moitié des chiennes d'expérience sont entrées en gestation et ont accouché normalement.

La progèstérone, le 17 β œstradiol, la L.H. et la F.S.H. plasmatiques ont été dosés par des techniques radioimmunologiques:

a) *progèstérone* : la méthode utilisée est celle décrite par Beckers et coll. (1975) à laquelle nous avons apporté les modifications suivantes : en fonction des taux hormonaux attendus, des quantités variables d'hexane (100-300-500-1 000 μl) sont reprises et soumises à évaporation.

Pour améliorer la précision du dosage chaque échantillon est dosé deux fois en reprenant une dose simple et une dose double d'hexane.

En outre deux plasmas de références ($0,5 \pm 0,3$ ng/ml et $5,8 \pm 0,3$ ng/ml) sont ajoutés à chaque dosage.

b) 17 β *œstradiol* : la technique utilisée est celle décrite par Ectors et coll. (1975). Toutefois, l'extraction au benzène ne porte que sur 500 μl de plasma et un échantillon de référence est inclus dans chaque dosage ($14,8 \pm 2,5$ pg/ml).

c) *L.H.* : la L.H. plasmatique est dosée par le système hétérologue de Ectors et coll. (1974) modifié par Beckers et coll. (1978) utilisant de la L.H. rat NIH marquée et un antiserum anti L.H. ovin, mais nous avons employé de la L.H. canine comme standard de référence (Stockell Hartree 1972). Ce système ne détecte ni la F.S.H. bovine ni la F.S.H. porcine mais est sensible à la L.H. de rat, de porc et de bovin ce qui témoigne de la parenté antigénique entre la L.H. de différentes espèces.

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

D'autre part, les courbes de dilutions de 2 sérums de chien riches en L.H. sont parallèles aux courbes de dilutions des standards.

Le rapport des activités respectives de la L.H. bovine et de la L.H. canine dans le système est de 0,61.

Deux plasmas de référence sont inclus dans chaque dosage : $0,6 \pm 0,4$ ng/ml et $6,8 \pm 0,8$ ng/ml.

d) *F.S.H.* : le profil des variations de la *F.S.H.* plasmatique a été déterminé par le système hétérologue de Derivaux et coll. (1974) : *F.S.H.* rat marqué et antisérum anti *F.S.H.* ovin. Nous ne disposons pas encore à ce jour de standard *F.S.H.* canin, mais les standards *F.S.H.* bovins (Beckers et coll., 1978) et *F.S.H.* porcins (Closset et coll., 1978) provoquent des déplacements parallèles à la *F.S.H.* de rat marquée.

Les courbes de dilution des 2 sérums riches en *F.S.H.* sont parallèles à celle de la courbe standard. La spécificité de ce système vis-à-vis des hormones bovines a été décrite par Derivaux et coll. (1974).

La L.H. canine quant à elle ne déplace pas la *F.S.H.* rat ($\leq 1,2$ % par rapport aux *FSH* bovine et porcine).

RESULTATS

Les variations des taux des hormones sexuelles calculés à partir de la moyenne des 10 cycles observés sont reprises dans le tableau n° 1 et représentées par les schémas n° 2 et 3 (pour plus de facilité, nous choisirons le jour 0 comme étant celui du pic de L.H.).

Progestérone

Le taux plasmatique de la progestérone augmente nettement avant l'ovulation partant de $0,64 \pm 0,2$ ng/ml au début de proœstrus pour arriver à $2,7 \pm 0,9$ ng/ml au moment du pic de la L.H. Ensuite, il croît rapidement pour atteindre des valeurs oscillant entre 30 et 40 ng/ml

entre les jours 10 et 25 ; puis il diminue progressivement pour rejoindre son niveau de base entre le 80^e et le 100^e jour.

Aucune différence significative du taux du progestérone n'a pu être relevée entre les 5 chiennes gestantes et les 5 chiennes non gestantes. Toutefois 24 à 48 heures avant l'accouchement, le taux de progestérone chute brutalement pour revenir à son taux de base nettement plus tôt que lors de cycle infertile.

17 β Œstradiol

Pendant toute la période anœstrale, le taux plasmatique du 17β Œstradiol reste à son niveau de base ($14,7 \text{ pg} \pm 2,9 \text{ pg/ml}$). A partir du jour - 8, donc pendant le proœstrus, il augmente pour atteindre au jour - 1 un maximum de $75,1 \pm 16,4 \text{ pg/ml}$. Durant les 4 jours suivants il retombe à des valeurs légèrement supérieures au niveau de base (18 à 21 pg/ml) et ce taux se maintient pendant environ 60 jours. Ici encore aucune différence significative ne peut être établie entre les chiennes gestantes et non gestantes. Au moment du part, aucune modification du taux du 17β Œstradiol n'a pu être relevée, mais le rythme de nos prélèvements était peut-être inadapté.

L.H.

Le pic œstral du L.H. est étalé sur 48 à 72 heures et atteint des valeurs maximales de $7,2 \pm 2,6 \text{ ng/ml}$ 24 heures après le pic œstrogénique. La phase ascendante du pic de l'hormone lutéïnante est assez brève, après quoi sa concentration retombe en 24 ou 48 heures à son niveau de base ($0,8 \pm 0,3 \text{ ng/ml}$) qu'elle gardera durant tout le cycle, à l'exception de quelques pics secondaires (2 à 5 ng/ml) observés principalement à la fin de la phase lutéale et en période anœstrale.

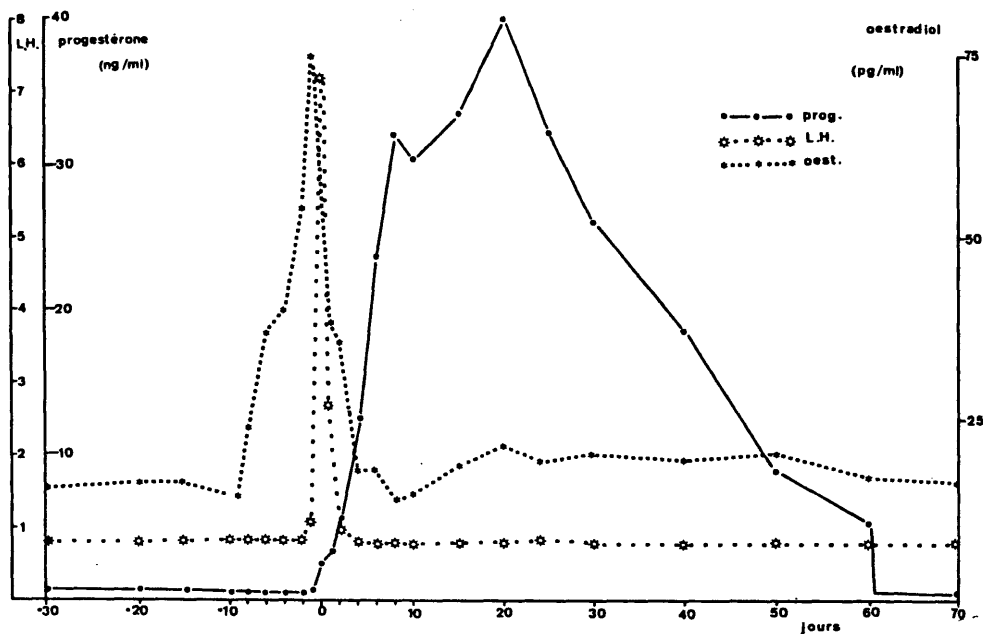


Fig. 1. — Variation de la progestérone, du 17β œstradiol, et de la LH au cours du cycle. A partir du jour 60, seuls les taux de progestérone des chiennes gestantes sont représentés.

F.S.H.

Comme nous ne disposons pas actuellement d'un standard F.S.H. canin purifié, les taux plasmatiques réels de cette hormone ne peuvent être précisés. Toutefois, exprimée en F.S.H. bovine pure (Beckers et coll., 1978) on peut estimer la valeur du taux de base à 2,3 ng/ml et celle du pic à 4,5 ng/ml. En examinant le profil de la sécrétion de F.S.H., on constate en fin d'œstrus (du jour - 30 à - 8) la présence de 2 ou 3 pics accessoires successifs d'une valeur égale à celle du pic œstral.

Pendant le proœstrus et simultanément à la décharge œstrogénique, la sécrétion plasmatique de F.S.H. est fortement diminuée.

Le pic œstral se superpose à celui du L.H., mais atteint son maximum 24 à 48 heures plus tard. Après quoi, la F.S.H. revient à son niveau de base, qu'elle conserve pendant tout le cycle, à l'exception des petites augmentations souvent superposées aux pics accessoires de L.H.

DISCUSSION

En ce qui concerne la progestérone, nos résultats concordent parfaitement avec ceux décrits par la plupart des auteurs, tant en ce qui concerne le profil sécrétoire que les taux obtenus (Smith et Mac Donald, 1974; Concannon et coll., 1975; Edqvist et coll., 1975; Austad et coll., 1976; Mellin et coll., 1976).

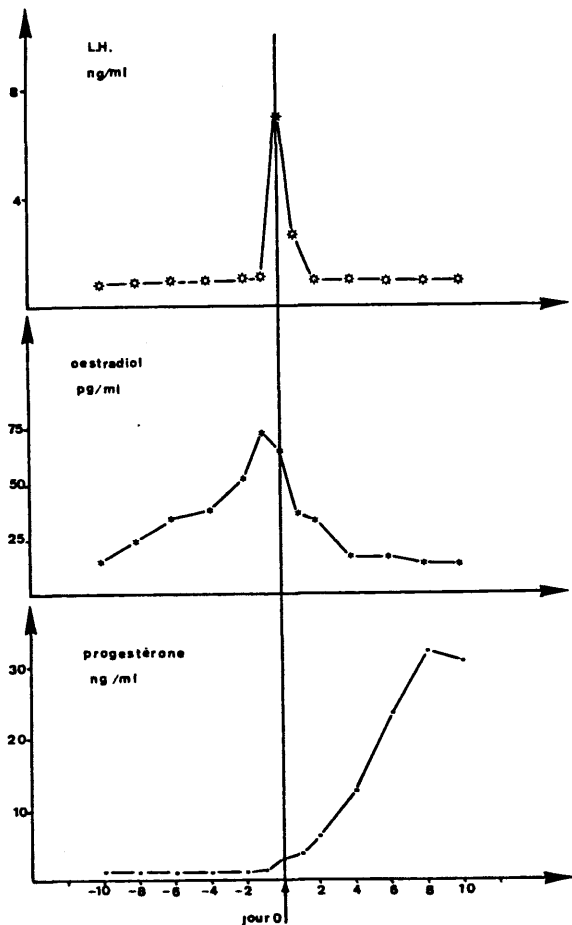


Fig. 2. — Variations de la progestérone, du 17β œstradiol et de la LH pendant le proœstrus et l'œstrus.

Les valeurs plus élevées trouvées chez les chiennes gestantes par Smith et coll. (1977) n'ont pas pu être confirmées.

Les valeurs du taux de base et du pic proœstral du 17β œstradiol sont semblables à celles décrites par Nett et coll. (1975) et Austad et coll. (1976). Elles sont toutefois plus élevées que celles obtenues par Jones et coll. (1973) et Edqvist et coll. (1976).

Dans nos essais, le taux du 17β œstradiol plasmatique est légèrement supérieur au taux de base (18 à 20 pg/ml par rapport à $14,5 \pm 2,9$ pg/ml) entre les jours 15 et 50 du cycle. Les travaux de Jones et coll. (1973), Edqvist et coll. (1975) et Nett et coll. (1975) confirment ces données.

Par contre Austad et coll. (1976) ne signalent pas cette augmentation.

TABLEAU 1. — Variations des taux des hormones sexuelles calculés à partir de la moyenne des 10 cycles.

Jour du cycle	Progesterone ng/ml		17 β œstradiol pg/ml	L.H. ng/ml	F.S.H. ng/ml exprimée en F.S.H. bovine
	gestante	Non Gestante			
- 30	0,6 \pm 0,2		15,7 \pm 3,0	0,8 \pm 0,2	3,2 \pm 0,8
- 15	0,7 \pm 0,3		16,3 \pm 6,7	1,0 \pm 0,4	3,3 \pm 0,6
- 10	0,6 \pm 0,2		14,5 \pm 4,7	0,8 \pm 0,3	3,2 \pm 1,1
- 8	0,5 \pm 0,2		24,2 \pm 2,8	0,8 \pm 0,4	2,7 \pm 0,6
- 6	0,6 \pm 0,3		36,8 \pm 4,9	0,8 \pm 0,4	2,0 \pm 0,5
- 4	0,7 \pm 0,1		39,6 \pm 3,7	0,7 \pm 0,3	2,0 \pm 0,2
- 2	0,9 \pm 0,2		54,8 \pm 10,0	0,8 \pm 0,3	1,7 \pm 0,1
- 1	1,5 \pm 0,6		75,1 \pm 16,4	1,1 \pm 0,5	1,8 \pm 0,2
0	2,7 \pm 0,9		68,8 \pm 19,2	7,2 \pm 2,4	2,8 \pm 0,9
+ 1	3,9 \pm 1,4		38,8 \pm 7,4	2,7 \pm 1,3	4,4 \pm 0,9
+ 2	5,8 \pm 2,2		35,8 \pm 5,6	1,0 \pm 0,6	4,5 \pm 1,2
+ 4	12,8 \pm 6,2		18,0 \pm 3,0	0,8 \pm 0,3	2,4 \pm 0,7
+ 6	23,5 \pm 7,9		18,3 \pm 5,4	0,7 \pm 0,3	2,2 \pm 0,4
+ 8	32,4 \pm 10,1		14,8 \pm 2,7	0,8 \pm 0,2	2,1 \pm 0,4
+ 10	30,7 \pm 8,9		15,5 \pm 4,8	0,7 \pm 0,4	2,6 \pm 0,4
+ 15	33,6 \pm 7,7		18,7 \pm 3,4	0,6 \pm 0,3	2,7 \pm 0,3
+ 20	40,2 \pm 7,3		21,5 \pm 4,0	0,9 \pm 0,4	2,0 \pm 0,3
+ 25	32,2 \pm 8,0		19,6 \pm 4,1	0,8 \pm 0,3	2,5 \pm 0,5
+ 30	25,9 \pm 8,2		20,5 \pm 5,8	0,6 \pm 0,4	2,3 \pm 0,4
+ 40	18,2 \pm 7,3		19,4 \pm 4,8	0,8 \pm 0,4	2,2 \pm 0,4
+ 50	8,9 \pm 4,2		20,4 \pm 2,8	0,8 \pm 0,2	2,3 \pm 0,2
+ 60	5,7 \pm 2,4		17,0 \pm 4,5	0,9 \pm 0,3	2,3 \pm 0,3
+ 70	0,9 \pm 0,2	3,9 \pm 2,3	16,5 \pm 4,5	0,6 \pm 0,3	2,5 \pm 0,3
+ 80	0,5 \pm 0,2	2,5 \pm 1,7	14,9 \pm 2,9	0,7 \pm 0,2	2,2 \pm 0,5
+ 90	0,5 \pm 0,1	1,6 \pm 1,0	14,7 \pm 4,8	0,8 \pm 0,3	2,1 \pm 0,2
+ 100	0,6 \pm 0,2	1,1 \pm 0,4	14,5 \pm 2,0	0,9 \pm 0,2	2,0 \pm 0,4
+ 120	0,6 \pm 0,2	0,6 \pm 0,2	12,8 \pm 2,8	0,7 \pm 0,5	2,3 \pm 0,4

Les taux de la L.H. observés dans notre système de dosage sont tout à fait semblables à ceux obtenus dans le système homologue de Boyns et coll. (1973) et Jones et coll. (1973) mais sont nettement inférieurs à ceux décrits par Mellin et coll. (1976) et Smith et coll. (1974). Ces divergences résultent probablement de l'utilisation de standards L.H. canin différents.

Le profil de la sécrétion de la F.S.H. plasmatique subit des fluctuations assez importantes en fin d'anœstrus. Ces augmentations sont probablement responsables du déclenchement de l'activité ovarienne. Au moment du proœstrus l'œstradiol sécrété en assez grande quantité par les follicules en croissance inhibe la sécrétion de F.S.H. qui descend à des valeurs légèrement inférieures à son taux de base.

Au moment où le taux des œstrogènes diminue, l'hypophyse libère ses gonadotropines qui induisent l'ovulation, laquelle survient 24 à 72 heures après le pic de la L.H. (Wildt et coll., 1978 ; Concannon et coll., 1977).

En conclusion, ces résultats permettent de dire que le cycle sexuel de la chienne se caractérise :

- 1) par une augmentation précoce de la progestérone, avant l'ovulation et par une phase lutéale fort longue.
- 2) par une phase œstrogénique d'une durée de 10 jours.
- 3) par un pic de gonadotropines étalé sur 48 heures au moins, commençant dès la chute du taux du 17β Œstradiol plasmatique.

Nos remerciements vont à M^{me} Fromont-Liénard pour son aide technique.

BIBLIOGRAPHIE

- AUSTAD R., LUNDE A., SJAASTAD V. Peripheral plasma levels of estradiol 17β and progesterone in the bitch during the estrous cycle, in normal pregnancy and after dexamethasone treatment. *J.R.F.* 1976, 46, 129.
- BECKERS J.F., BALLMAN P., ECTORS F., DERIVAUX J. Le dosage radio-immunologique de la progestérone plasmatique chez la vache. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 1975, 280, 335.
- BECKERS J.F., CLOSSET J., MAGHUIN-ROGISTER G., HENNEN G. Bovine follitropin: isolation and characterization of the native hormone and its α and β subunits. *Biochimie*, 1977, 59, 825.
- BECKERS J.F., WOUTERS-BALLMAN P., ECTORS F., DERIVAUX J. Induction de l'œstrus chez les génisses en anœstrus fonctionnel. *Ann. Méd. Vét.*, 1978, 122, 597.
- BELL E.T., CHRISTIE D.W. Duration of proœstrus, estrus and vulval bleeding in the beagle bitch. *Br. Vét. J.*, 1971, 127, 25.
- BOYNS A.R., JONES G.E., BELL E.T., CHRISTIE D.W., PARKES H.F. Development of a radioimmunoassay for canine L.H. *J. Endocr.*, 1972, 55, 279.
- CLOSSET J., HENNEN G. Porcine follitropin: isolation and characterization of the native hormone and its α and β subunits. *European Journal Biochemistry*, 1978, 86, 105.
- CONCANNON P., HANSEL W., VISEK J. The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, L.H. and progesterone. *Biol. Repr.*, 1975, 13, 112.
- CONCANNON P., HANSEL H., Mc ENTEE K. Changes in L.H., Progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinisation in the bitch. *Biol. Repr.*, 1977, 17, 604.
- DERIVAUX J., ECTORS F., HENDRICK J.C., FRANCHIMONT P. Détermination de la F.S.H. plasmatique chez les bovins. *Annales d'Endocr.*, 1974, 35, 614.
- Mc DONALD L.E. Reproductive patterns of dogs. In *Veterinary Endocrinology and reproduction. Lea and Febiger Philadelphia P.A.*, 1969, 378.
- ECTORS F., HENDRICK J.C., FRANCHIMONT P., DERIVAUX J. Recherches radioimmunologiques sur la teneur plasmatique en L.H. chez les bovins. *Annales d'Endocr.* 1974, 35, 489.

- ECTORS, BECKERS J.F., BALLMAN P., DERIVAUX J.: Variation du 17 β œstradiol au cours du cycle œstral chez la vache. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 1975, **281**, 1257.
- EDQVIST L.E., JOHANSON E.D.B., KARSTRÖM H., OLSSON S.E., RICKKIND H. Blood plasma levels of progesterone and estradiol in the dog during the estrous cycle and pregnancy. *Acta. Endocrin.*, 1975, **78**, 554.
- HADLEY J.C. Total unconjugated œstrogen and progesterone concentrations in peripheral blood during the estrous cycle of the dog. *J.R.F.*, 1975, **44**, 445.
- HOLST P.A., PHEMISTER R.D. Onset of diœstrus in the beagle bitch: definition and significance. *Am. J. Vet. Res.*, 1974, **35**, 401.
- HOLST P.A., PHEMISTER R.D. temporal sequence of events in the estrous cycle of the bitch. *Am. J. Vet. Res.*, 1975, **36**, 705.
- JONES G.E., BOYNS A.R., CAMERON E.M.D., BELL E.T., CHRISTIE P.W. PERKES M.F. Plasma œstradiol, L.H. and progesterone during the estrous cycle in the beagle bitch. *J. Endocr.*, 1973, **57**, 331.
- MELLIN T.N., ORCZYK G.P., HICHENS M., BEHRMAN H.R. Serum profiles of L.H., progesterone and total œstrogens during the canine estrous cycle. *Theriogenology*, 1976, **5**, 175.
- PHEMISTER R.D., HOLST P.A., SPANO J.S., HOPWOOD M.L. Time of ovulation in the beagle bitch. *Biol. of Repr.*, 1973, **8**, 74.
- SMITH S., Mac DONALD L.E. Serum levels of L.H. and progesterone during the estrous cycle of the dog, pseudopregnancy and pregnancy. *Endocrinology*, 1974, **94**, 404.
- STOCKELL HARTREE A., BELL E.T., CHRISTIE D.W., KIRKHAM K.E. Partial purification of dog glycoprotein hormones. *J. Endocr.*, 1972, **52**, 403.
- WILDT D.E., CHAKRABORTY P.K., PANKO W.B., SEAGER S.W.J. Relationship of reproductive behavior serum L.H. and time of ovulation in the bitch. *Biol. Repr.*, 1978, **18**, 561.

SUMMARY

Plasma levels of progesterone, 17 β œstradiol, L.H. and F.S.H. were measured by radioimmunoassay in five beagle bitches during two consecutive estrous cycles.

Progesterone level rises at the end of prœstrus to reach 40 to 50 ng/ml and then decreases progressively to its basal level (0,64 ng/ml), attained 80 to 100 days after œstrus.

A 17 β œstradiol peak (75,1 pg/ml) is evident in prœstrus and reaches its maximum level 24 h. before L.H. surge. The fall of estrogen leads to a discharge of gonadotropins lasting 48 to 72 hours.

The F.S.H. surge reaches his maximum level 48 h after that of L.H.

Pregnancy does not change the secretory pattern of these hormones but progesterone falls just before parturition.