

EXCRÉTION URINAIRE D'ŒSTROGÈNES CHEZ LA TRUIE PENDANT LA GESTATION

P. ROMBAUTS

avec la collaboration technique de Ginette LÉPINE et Françoise THURET

*Station de Biochimie et de Nutrition,
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise).*

SOMMAIRE

La détermination quantitative des œstrogènes urinaires chez la Truie par la méthode chimique de BROWN montre que l'œstrone est la principale hormone œstrogène excrétée pendant la gestation. Alors que dans toutes les espèces étudiées l'excrétion n'augmente que pendant la dernière partie de la gestation, la Truie présente deux périodes d'excrétion nettement distinctes. Le premier maximum situé entre 28 et 31 jours peut permettre de diagnostiquer la gestation à cette époque. Ensuite l'excrétion tombe à des valeurs très faibles, voisines de celles du cycle œstrien. Elle augmente rapidement à partir de 80 jours de gestation et se maintient à des taux élevés jusqu'à la parturition.

INTRODUCTION

En 1958, WRIGHT constatait que, si la nature des hormones stéroïdes excrétées dans l'urine était fréquemment étudiée chez la Femme, il n'en était pas de même chez les animaux domestiques. Il signalait d'ailleurs les difficultés de cette étude dues à la nature différente des stéroïdes suivant les espèces et à la présence de substances interférentes en quantités souvent plus importantes que dans l'urine humaine. C'est pendant la gestation que les excrétions d'hormones stéroïdes sont le mieux connues et ROBINSON (1957) a pu comparer les courbes d'excrétion d'œstrogènes chez la Jument, la Vache, la Brebis, et la Truie. Mais pour la Truie on ne connaissait que l'activité œstrogénique totale mesurée à l'aide des tests biologiques, notamment par KÜST, STRUCK (1934) et FEIERMARCK (1935).

Le premier test chimique utilisé fut celui de CUBONI (1934). Il fut appliqué au diagnostic de la gestation chez la Truie par ROTH, MAYER et BOGART (1941). RAESIDE (1961) a récemment étudié l'excrétion des phénolstéroïdes au cours du cycle œstrien. Mais les seules déterminations chimiques, avec séparation des différents œstrogènes, que nous connaissons pendant la gestation de la Truie sont celles de

BREDECK et MAYER (1958) et de VELLE (1958, 1959, 1960). Mais tandis que BREDECK et MAYER trouvent des quantités importantes d'œstriol, VELLE estime que l'œstrone est le constituant essentiel excrété par cette espèce. Les dates des maxima d'excrétion ne concordent pas non plus chez ces auteurs.

Dans le but de rechercher les corrélations entre les productions hormonales de gravidité et l'anabolisme de gestation, nous présentons donc quelques résultats préliminaires concernant la nature et le taux des excrétions d'œstrogènes chez la Truie au cours de la gestation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

a) Collecte des échantillons

Les urines sont récoltées quantitativement sur des animaux maintenus en cage à métabolisme, dans des bacs en polyéthylène avec une quantité d'acide chlorhydrique suffisante pour obtenir un pH final de 4 à 5. Dans les cas où les dosages n'ont pu être effectués immédiatement, les urines ont été conservées à -15° C. Nous avons constaté qu'il n'y avait pas de pertes d'œstrogènes dans ces conditions, même au bout de plusieurs semaines.

b) Méthode de dosage

Nous avons utilisé la méthode de BROWN (1955) qui permet la séparation des fractions œstrone, œstradiol et œstriol. Nous avons également adopté l'étape supplémentaire de saponification utilisée par BAULD (1956) et préconisée ensuite par BROWN, BULBROOK et GREENWOOD (1957). Mais l'hydrolyse acide, avec HCl 15 p. 100 pendant 1 heure à 100° C, conditions nécessaires à une hydrolyse complète chez la Truie (VELLE, 1958), libère de nombreuses substances interférentes et surtout entraîne parfois des pertes appréciables.

Nous avons donc pratiqué l'hydrolyse enzymatique comme le recommandent JAYLE et al. (1959). On amène les urines à pH 4,8, ajoute 1/20 de leur volume de tampon acétate 2 M et on laisse incuber 24 heures sur B.M. à 37° C avec du suc d'*Helix Pomatia* (750 U. Fishmann de β -glycuronidase et 375 U. Whitehead de sulfatase par ml d'urine).

RÉSULTATS

Nous n'avons pas détecté d'œstriol dans l'urine de Truie et nous n'avons décelé que de très faibles quantités d'œstradiol. Ces quantités étant à la limite de sensibilité de la méthode, nous ne donnerons que les résultats concernant l'œstrone. Ce stéroïde a été identifié par les critères suivants : coefficients de partition, comportement chromatographique sur alumine et établissement du spectre d'absorption du composé méthylé dans le réactif de Kober.

Une étude plus systématique des autres métabolites urinaires, méthoxy-œstrone, 16-epi-œstriol et dérivés de l'équiénine, va être entreprise incessamment par la méthode de GIVNER, BAULD et VAGI (1960) et par chromatographie sur papier selon AXELROD (1953 et 1954). Mais étant donné les quantités importantes d'œstrone excrétées, il est très probable que ce stéroïde est l'œstrogène prédominant de l'urine de Truie. Nos résultats confirment donc les conclusions de VELLE (1959). RAESIDE (1961) estime d'autre part que l'œstrone est également le principal œstrogène urinaire au cours du cycle œstrien ce que nous avons également vérifié.

Comme on l'avait déjà constaté par les dosages biologiques (cf la courbe moyenne établie par ROBINSON en 1957) l'excrétion d'œstrogènes chez la Truie au cours de la gestation est très différente de celle des autres espèces domestiques. Chez celles-ci, l'excrétion augmente plus ou moins tardivement mais s'accroît alors rapidement jusqu'à une valeur maximum maintenue jusqu'à la parturition. Chez la Truie, par contre, il faut distinguer 2 périodes d'excrétion importante : l'une à la fin du premier mois, mais de courte durée, l'autre le quatrième mois correspondant au plateau classique des autres espèces.

Avant le 20^e jour les quantités d'œstrone excrétées sont semblables à celles du cycle œstrien, soit de 5 à 20 μg par jour environ. Pendant les 15 premiers jours après l'œstrus les modifications histologiques de l'utérus sont d'ailleurs les mêmes chez l'animal gestant que chez celui non gravide.

Du 20^e au 35^e jour les quantités sont plus importantes avec un maximum, en général très marqué, entre le 28^e et le 31^e jour (graphiques 1, 2, 3 et 5). A ce maximum, l'excrétion d'œstrone peut atteindre 2 000 à 3 000 μg par 24 heures, mais on peut avoir quelque difficulté à le déceler car il ne dure que 1 à 2 jours. Ainsi pour la truie 1251 (graphique 5) on a un pic à 28 jours. Malgré la courte durée de ce maximum, on voit qu'entre 25 et 31 jours de gestation les quantités d'œstrone sont très supérieures à celles excrétées pendant le cycle. On peut donc conclure avec VELLE (1960) qu'un dosage à cette époque permettra à coup sûr de déterminer si l'animal est gravide ou non. Le maximum est beaucoup moins net pour la truie 1240 (graphique 3). Cet animal est d'ailleurs mort brusquement à 40 jours de gestation, avec une portée apparemment normale, sans que nous puissions établir toutefois de relation de cause à effet entre la mort et cette faible excrétion d'œstrone à 30 jours de gestation.

Excrétion urinaire d'œstrogènes chez la Truie pendant la gestation

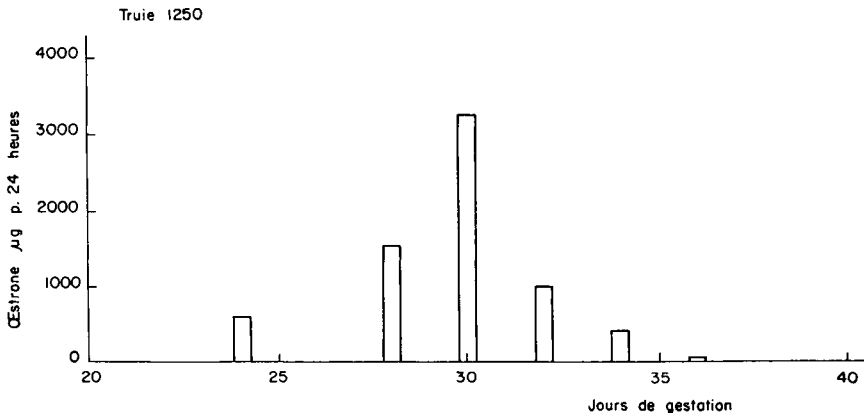


FIG. 1. — Œstrone urinaire en début de gestation

La signification physiologique de ce premier pic est encore obscure. A cette époque l'embryon est déjà fixé. On peut toutefois noter que cette période de 27 à 30 jours correspond au maximum des mortalités embryonnaires et que, d'autre part, on constate souvent à ce moment des retours de chaleur tardifs.

Du 35^e au 75^e jour de gestation, l'excrétion d'œstrogènes est très faible (graphique 5). Les valeurs sont voisines de celles observées pendant le cycle œstrien et restent presque toujours inférieures à 50 µg par jour. Pour la truie 1251, nous avons déterminé les valeurs suivantes :

Jours de gestation	Œstrone en µg par 24 heures	Jours de gestation	Œstrone en µg par 24 heures
47	25	70	70
54	28	72	35
61	40	74	110
68	40	78	150

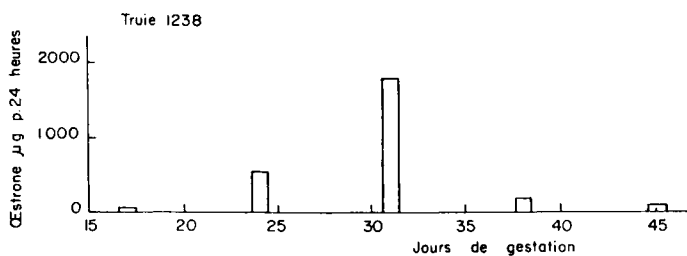


FIG. 2. — Œstrone urinaire en début de gestation

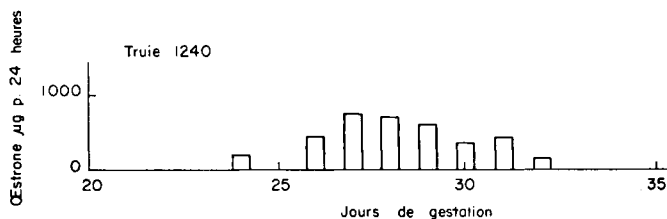


FIG. 3. — Œstrone urinaire en début de gestation

Enfin, à partir du 75^{eme} jour environ, l'excrétion d'œstrone augmente rapidement à des valeurs élevées, atteignant 6 à 7 mg par 24 heures (graphique 4 et 5), et se maintient ainsi en plateau jusqu'aux derniers jours de gestation où l'on constate alors un deuxième pic net.

Dès la parturition les quantités d'œstrone diminuent très rapidement (graphique 5). Au 118^e jour on ne trouve plus que 350 µg d'œstrone dans l'urine de 24 heures.

Remarquons au passage que l'augmentation d'excrétion d'œstrone en fin de gestation correspond à l'époque où l'anabolisme s'accroît, entre la 10^e et la 11^e semaine (ROMBAUTS, 1962). C'est aussi la période où le poids de la portée prend une importance de plus en plus grande.

Si ces premiers résultats n'excluent pas des variations individuelles probables

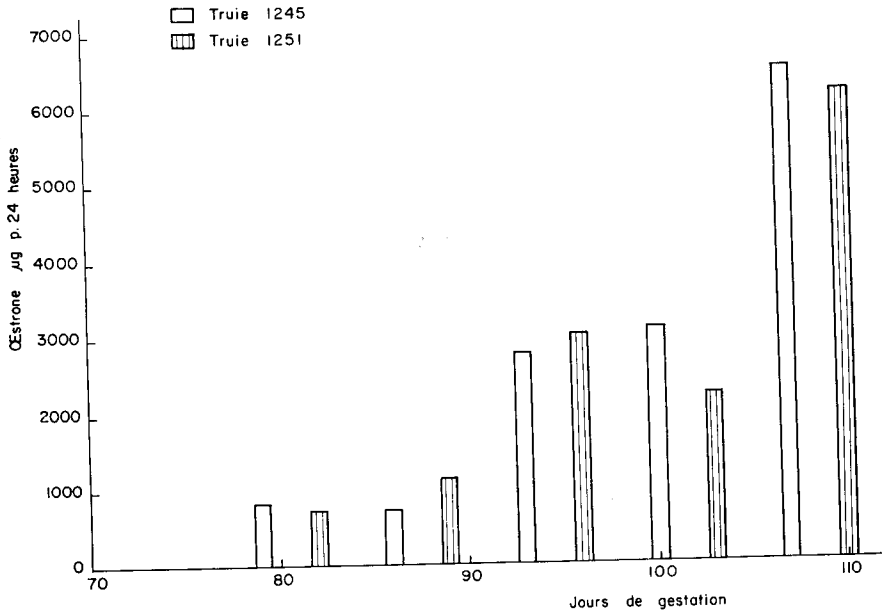


FIG. 4. — *Oestrone urinaire en fin de gestation*

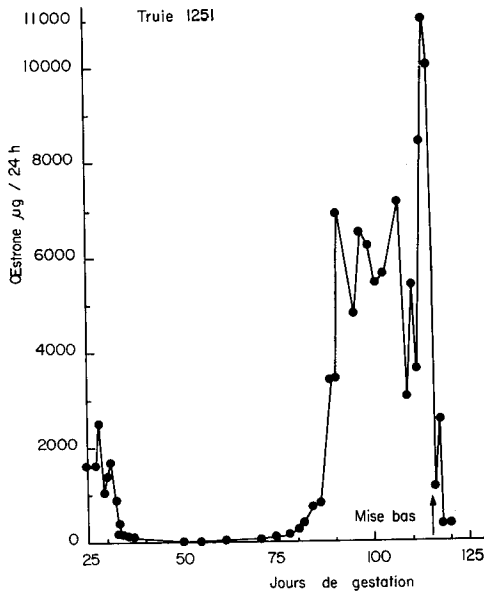


FIG. 5. — *Excrétion urinaire d'œstrone pendant la gestation*

des quantités d'œstrogènes excrétées dans l'urine de truie gestante, on peut néanmoins en tirer les conclusions suivantes :

1° L'œstrone est le principal œstrogène de l'urine pendant la gestation.

2° Un premier pic d'excrétion se manifeste de façon constante avec un maximum entre 28 et 31 jours.

3° En fin de gestation l'excrétion augmente à partir du 75^e jour environ, et se maintient à des valeurs élevées. Le taux chute par contre très vite dès la parturition.

Reçu en mars 1962.

SUMMARY

URINARY EXCRETION OF ŒSTROGENS IN THE SOW DURING PREGANCY

The quantitative determination of urinary œstrogens in the sow by the chemical method of BROWN shows that œstrone is the principal œstrogen excreted during pregnancy. Whilst in all the species studied the excretion increases only during the last part of pregnancy, the sow shows two clearly distinct periods of excretion. The first maximum, situated between 28 and 31 days may make it possible to diagnose pregnancy at this stage. It reaches 1 to 2 mg of œstrone per 24 hours (fig. 1, 2, 3 and 5). Then the excretion falls to very low values, near to those of the œstrus cycle. It increases rapidly from 80 days of pregnancy and remains at a very high level until parturition — 4 to 6 mg per 24 hours — (fig. 4 and 5).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AXELROD L. R., 1953. The quantitative separation of estrogens by paper chromatography. *J. Biol. Chem.*, **201**, 59-69.
- AXELROD L. R., 1954. The chromatographic fractionation and identification of compounds related to the estrogens. *Recent. Prog. Horm. Res.*, **9**, 69-89.
- BAULD W. S., 1956. A method for the détermination of œstriol, œstrone and œstradiol-17 β in human urine by partition chromatography and colorimetric estimation. *Biochem. J.*, **63**, 488-495.
- BREDECK H. E., MAYER D. T., 1958. Estrogenic steroids in swine pregnancy urine. *Reproduction and infertility*. III Symposium, 157-166, Pergamon Press, Paris.
- BROWN J. B., 1955. A chemical method for the determination of œstriol, œstrone and œstradiol in human urine. *Biochem. J.*, **60**, 185-93.
- BROWN J. B., BULBROOK R. D., GREENWOOD F. C., 1958. An evaluation of a chemical method for the estimation of œstriol, œstrone and œstradiol-17 β in human urine. *J. Endocrinol.*, **16**, 41-49.
- CUBONI E., 1934. A simple rapid chemical hormonal pregnancy diagnosis. *Klin. Wochenschr.*, **13**, 302-303, in *Anim. Breed. Abst.*, **2**, 5.
- FAIERMARCK S. E., 1935. Hormonal pregnancy diagnosis in the sow (russe). *Probl. Zootech. Eksp. Endokrin.*, **2**, 48-58. in *Anim. Breed. Abst.*, **4**, 62.
- GIVNER M. L., BAULD W. S., VAGI K., 1960. A chemical method for the quantitative determination of 2-methoxy-œstrone, œstrone, Ring D α -Ketolic œstrogens, œstradiol-17 β , 16-epi-œstriol and œstriol in human urine. *Biochem. J.*, **77**, 406-415.
- JAYLE M. F., SCHOLLER R., JARRIGE P., METAY S., 1959. Hydrolyse des phénostéroïdes conjugués urinaires. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **41**, 1593-1603.
- KÜST, STRUCK M., 1934. Untersuchungen über die Sexualhormonausscheidung im Harn und im Blute tragender sauen. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, **42**, 54-56, in *Anim. Breed. Abst.*, **3**, 158.
- RAESIDE J. I., 1961. Estrus and urinary estrogen excretion in the sow. *J. Anim. Sci.*, **20**, 977.
- ROBINSON T. J., HAMMOND J., 1957. *Progress in the physiology of farm animals* vol. 3, 792-904, Butterworths Sc. Public. London.
- ROMBAUTS P., 1962. Évolution de l'anabolisme gravidique chez la truie en fonction de l'âge de l'animal. *Ann. Zootech.* (sous presse).
- ROTH S. Y., MAYER D. T., BOGART R., 1941. Pregnancy diagnosis in swine by a chemical test. *Amer. J. Veter. Res.*, **2**, 436-438.
- VELLE W., 1958. *Recherches sur les œstrogènes naturels chez les ruminants et les porcins* (norvégien). Thèse doct. Norges Veterinaer-hogskole, Oslo.
- VELLE W., 1959. Isolation of œstrone from the urine of the pregnant sow. *Acta. Vet. Scand.*, **1**, 19-26.
- VELLE W., 1960. Early pregnancy diagnosis in the sow. *Veter. Rec.*, **72**, 116-118.
- WRIGHT A. A., 1958. The excretion of steroids by animals. *Veter. Rec.*, **70**, 1-6.