

Article de recherche

Suppression par la lutectomie de l'accroissement
simultané de la pression intramammaire
et de l'ocytocinémie, induit par l'injection de $\text{PGF}_{2\alpha}$,
chez la brebis

J Labussièrè ¹, MC Lacroix ², JF Combaud ¹,
FA de La Chevalerie ¹, P Thomas ¹

avec la collaboration technique de M Chorho, G Guionneau,
P Lambion, P Rolland

¹ Laboratoire de la traite, INRA, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes Cedex;

² Unité d'endocrinologie cellulaire et moléculaire, INRA, 78350 Jouy-en-Josas, France

(Reçu le 26 janvier 1989; accepté le 26 octobre 1989)

Résumé — Au 19^e jour de leur gravidité (J19), 7 brebis Lacaune en lactation subissent, soit une lutectomie complète (compensée à partir de ce stade par une complémentation quotidienne de 25 mg de progestérone afin d'assurer la survie embryonnaire; lot 1 : 4 animaux) soit une laparotomie témoin (lot 2 : 3 animaux). L'injection intrajugulaire de 200 µg d'un analogue synthétique de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Dinolytic, Upjohn) ne provoque une augmentation de pression intramammaire (PIM) et l'élévation concomitante de l'ocytocinémie qu'en présence d'un corps jaune, c'est-à-dire sur toutes les brebis des lots 1 et 2 avant J19, et seulement sur celles du lot 2 après ce stade. Ces expériences confirment que c'est le corps jaune, et non les autres compartiments ovariens, qui libère l'ocytocine sous l'action de la prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$.

brebis / lutectomie / pression intramammaire / ocytocinémie / prostaglandine $\text{F}_{2\alpha}$

Summary — Lutectomy in the ewe and suppression of the simultaneous rise in intramammary pressure and oxytocinaemia induced by intra-jugular injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$. Seven lactating Lacaune ewes underwent either a total luteectomy on day 19 of pregnancy (D19) (compensated from that stage by a daily progesterone supplementation of 25 mg to ensure embryonic survival; group 1: 4 animals) or a control laparotomy (group 2: 3 animals). Intra-jugular injection of 200 µg of a synthetic $\text{PGF}_{2\alpha}$ analogue (Dinolytic, Upjohn) caused an increase in the intramammary pressure (IMP) and a concomitant rise in oxytocinaemia only in the presence of a corpus luteum, ie in all ewes of groups 1 and 2 before D19 and only in those of group 2 after that stage. These experiments confirm that the corpus luteum, and not the other ovarian compartments, releases oxytocin when prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ is administered.

ewe / luteectomy / intramammary pressure / oxytocinaemia / prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$

INTRODUCTION

L'injection intrajugulaire de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ne provoque une éjection du lait que pendant la phase lutéale du cycle sexuel de la brebis (Labussière *et al*, 1983) et de la vache, (Labussière *et al*, 1982) ou seulement pendant les 6 et 8 premières semaines de leur gravidité respective (Labussière *et al*, 1988a et b). Ces réponses sont abolies par une castration bilatérale, sans qu'il soit possible de les rétablir par une complémentation œstroprogestative (Labussière *et al*, 1986); on peut donc supposer qu'elles résultent d'une libération d'ocytocine lutéale. Il est en effet maintenant bien établi que le corps jaune de la plupart des espèces sécrète et stocke cette hormone (*cf.* revue de Wathes *et al*, 1986) dont la décharge peut être induite par $\text{PGF}_{2\alpha}$ chez la femme (Gillepsie *et al*, 1972), la truie (Ellendorff *et al*, 1979), la chèvre (Cooke *et al*, 1984), la brebis (Flint et Sheldrick, 1982) ou la vache (Schams *et al*, 1985).

L'objectif de ce travail est de prouver chez des brebis gestantes que :

— l'augmentation de pression intramammaire consécutive à l'injection de $\text{PGF}_{2\alpha}$ coïncide avec un accroissement de l'ocytocinémie;

— la lutectomie abolit ces réponses et que l'ocytocine provient bien exclusivement du corps jaune et non d'une autre structure ovarienne, ou de l'embryon qui pourrait sécréter une substance *ocytocine-like* entre le 14^e et le 21^e jour (Lacroix *et al*, 1988).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Deux mois environ après la parturition, l'ovulation de 7 brebis Lacaune en lactation (traitées à la machine 2 fois par jour) est induite à l'aide d'éponges vaginales en polyuréthane imbibées de 30 mg de FGA (Intervet). Leur retrait, 12 jours plus tard, est accompagné d'une injection

intramusculaire de 600 UI de PMSG. L'œstrus (qui apparaît après un délai d'environ 30 h) définit le stade J0. Les brebis sont saillies 2 fois, 12 et 24 h après cette apparition, et sont alors réparties dans 2 lots :

— *le lot 1* : 4 femelles gestantes sont lutectomisées à J19 et reçoivent à partir de ce stade une complémentation journalière de 25 mg de progestérone (laboratoires Sigma) afin d'assurer la survie des embryons;

— *le lot 2* : 3 femelles gestantes subissent à J19 une simple «laparotomie témoin».

L'évolution des variations de pression intramammaire (PIM) provoquées par l'injection intrajugulaire de 2 ml d'une solution de NaCl 0,9% contenant 200 μg d'un analogue de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Dinolytic, Upjohn) est observée de J0 à J28 pour le lot 1 et de J0 à J60 pour le lot 2. Jusqu'à J28, les enregistrements (réalisés selon la méthode déjà décrite par Labussière *et al*, 1988a) ont lieu tous les 2 ou 3 jours à 9 h 00 (la traite du matin étant légèrement retardée). Ils sont ensuite espacés de 3 à 6 jours entre J28 et J60 sur le lot 2 qui, seul, continue à être contrôlé.

La progestérone plasmatique est évaluée chaque jour entre J0 et J28 puis chaque jour d'enregistrement de PIM entre J28 et J60. Le sang est prélevé dans l'une des veines jugulaires (10 ml) à l'aide d'un vacutainer hépariné. Les échantillons sont centrifugés (3 000 tr/min pendant 15 min), le surnageant prélevé (5 ml environ) et stocké à -20°C en vue du dosage RIA de la progestérone selon la méthode proposée par Saumande *et al* (1985) et modifiée (immunoprécipitation de 12 h) par André (1986, communication personnelle).

L'ocytocinémie est mesurée en même temps que les enregistrements de PIM sur 2 brebis du lot 1 la veille (J18) et le lendemain (J20) de la lutectomie. A chaque contrôle, 3 prélèvements sanguins sont réalisés dans la veine jugulaire 12, 7 et 2 min avant l'injection de Dinolytic, puis 5 prélèvements suivent cette administration (3, 8, 13, 18 et 28 min après l'injection). Les échantillons sanguins sont traités de la même façon que pour la progestérone et les plasmas conservés au congélateur en vue d'un dosage RIA de l'ocytocine (Geenen *et al*, 1985).

Les interventions chirurgicales sont toujours pratiquées à J19 sous anesthésie générale (Labussière *et al*, 1986). Après laparotomie le long de la ligne blanche, les ovaires sont extériorisés :

— pour le lot 2 : ils sont laissés intacts et replacés immédiatement dans la cavité abdominale qui est refermée;

— pour lot 1 : ils sont incisés superficiellement afin de dégager et d'extirper les corps jaunes par compression digitale, puis également replacés dans l'abdomen après cautérisation des afférences vasculaires et suture des lèvres du cratère résultant de l'ablation lutéale.

RÉSULTATS

La figure 1 indique que :

1) à J18, en présence d'un corps jaune, l'injection intrajugulaire de 200 μg de Dinyolytic provoque l'augmentation simultanée de la pression intramammaire et de l'ocyto-cinémie (il importe de remarquer que le taux plasmatique de cette hormone est multiplié par 10 chez la brebis 5747, possédant 4 corps jaunes et seulement par 2,5 chez la brebis 4801, qui n'en a qu'un seul);

2) à J20, après la lutectomie pratiquée à J19, l'administration de prostaglandines $F_{2\alpha}$ reste sans effet.

Il apparaît à la figure 2 qu'après J19, les accroissements de pression intramammaire ne sont abolis que dans le lot 1 (lutectomisé) alors qu'ils persistent dans le lot 2 (témoin). Dans ce groupe, la diminution progressive des réponses et leur disparition vers la fin du 2^e mois de gravidité est en effet comparable à ce qui a été précédemment observé chez des brebis gestantes de la même race (Labussière *et al*, 1988a).

La supplémentation progestéronique (25 mg/jour) apportée à partir de J19 aux brebis lutectomisées ne semble pas avoir été suffisante pour compenser l'ablation du corps jaune puisque les taux de progestérone plasmatique restent généralement inférieurs à 2 ng/ml alors qu'ils atteignaient plus de 4 ng/ml avant l'intervention et qu'ils

se maintiennent à plus de 5 ng/ml chez les brebis fictivement opérées du lot 2 (fig 3).

DISCUSSION – CONCLUSION

Ce travail prouve que l'éjection du lait observée après l'administration intraveineuse de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Labussière *et al*, 1983, 1986, 1988a) est bien le résultat d'une décharge d'ocytocine, puisque les taux plasmatiques de cette hormone et les niveaux de pression intramammaire s'élèvent simultanément.

L'abolition des 2 types de réponses après l'ablation des corps jaunes plaide en faveur de l'origine lutéale de l'ocytocine. Toutefois, l'origine embryonnaire ne peut être définitivement écartée puisque la faiblesse de notre complémentation progestéronique a pu compromettre la survie des blastocystes, ce qui n'a pu malheureusement être vérifié. Mais il est à notre avis peu probable que les quantités d'ocytocine éventuellement libérées par ceux-ci soient assez importantes pour agir directement au-delà de la sphère utéro-ovarienne. C'est pourquoi, dans l'état actuel de nos connaissances, il est plus plausible d'admettre que la recrudescence des réponses mammaires déjà observées (Labussière *et al*, 1988) après le 15^e jour de gravidité est principalement permise par la reconstitution des stocks lutéaux d'ocytocine (Sheldrick et Flint, 1981a, 1983), même si la synthèse de cette hormone par le corps jaune devient alors faible (Harrisson *et al*, 1987).

Comme à J16 ou J17, les brebis «vides» ne présentent aucune éjection de lait lorsqu'on leur administre la même dose (non lutéolytique) de $\text{PGF}_{2\alpha}$, il est donc envisageable d'utiliser ce test simple, rapide et peu onéreux d'éjection lactée, pour diagnostiquer précocement l'absence de gestation.

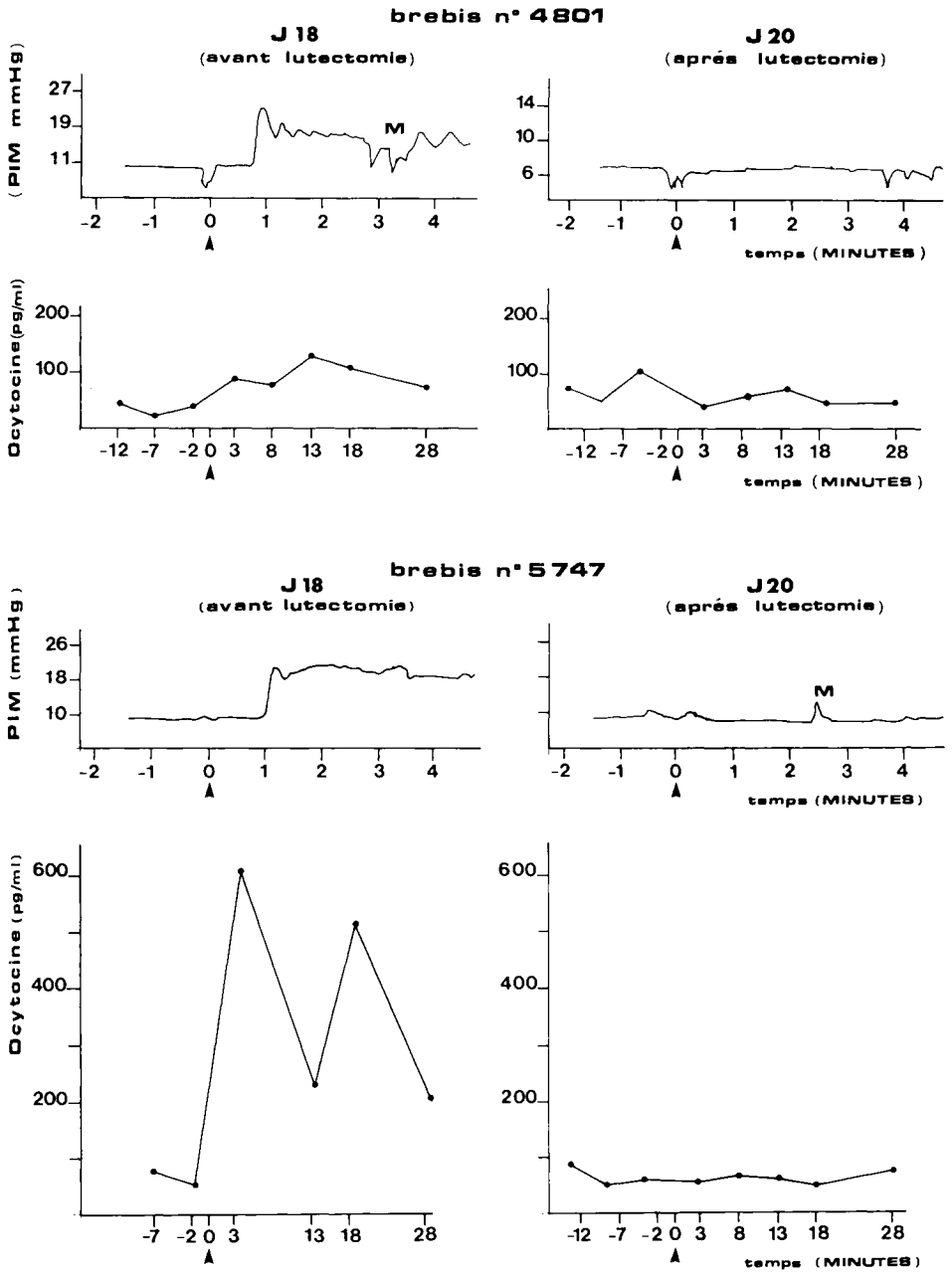


Fig 1. Effets de l'injection intrajugulaire de $PGF_{2\alpha}$ sur la pression intramammaire et l'ocytocinémie. \blacktriangle : injection de 200 μ g de Dinolytic; M : mouvement de la brebis.

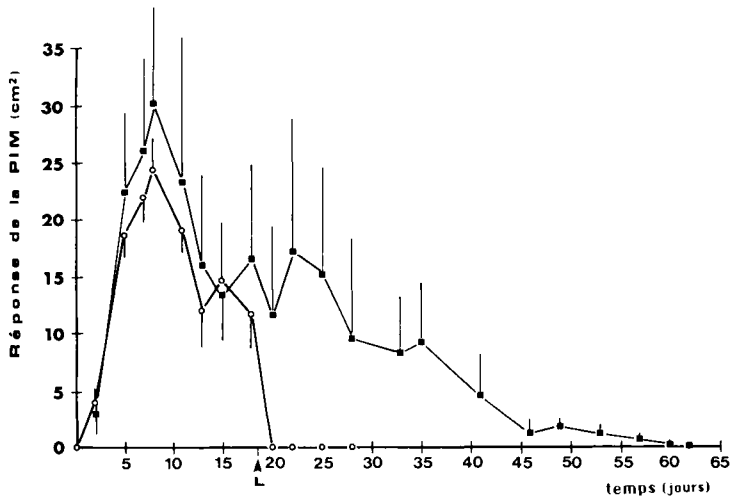


Fig 2. Réponse de la pression intramammaire à l'injection intrajugulaire de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (200 μg de Dinolytic). ■—■ : brebis gestantes subissant une laparotomie témoin ($n = 3$); ○—○ : brebis lutectomisées maintenues en gestation par une complémentation journalière de 25 mg de progestérone ($n = 4$). Les valeurs moyennes sont accompagnées de $S\sqrt{n}$; L : stade de la lutectomie (J19) ou de la laparotomie témoin et début de la complémentation progestéronique sur les brebis lutectomisées; le paramètre choisi pour mesurer la réponse de pression intramammaire est la surface située sous la courbe d'enregistrement pendant les 4 premières minutes qui suivent le début de l'accroissement de pression; le jour J0 est celui de l'oestrus.

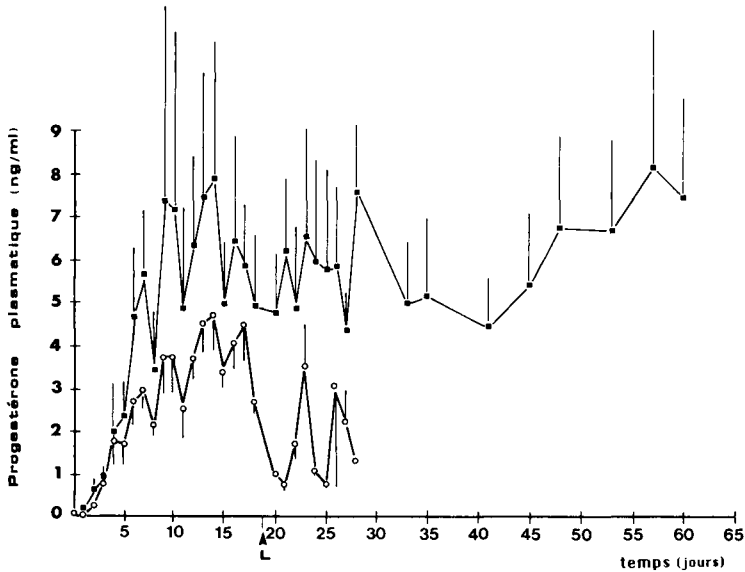


Fig 3. Evolution des taux plasmatiques de progestérone des brebis gestantes subissant une laparotomie témoin (■—■) et des brebis lutectomisées (○—○) maintenues en gestation par une complémentation journalière de 25 mg de progestérone. Les valeurs moyennes sont accompagnées de $S\sqrt{n}$; L : stade de la lutectomie (J19) ou de la laparotomie témoin et début de la complémentation progestéronique sur les brebis lutectomisées; le jour J0 est celui de l'oestrus.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier M. D André (INRA, Nouzilly) et M. A Briand (INRA, Rennes) pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée lors de la réalisation de ce travail.

RÉFÉRENCES

- Cooke RG, Homeida AM, Watkins WB (1984) Simultaneous release of neurophysin and ovarian oxytocin during luteolysis in goat. *J Physiol (London)* 354
- Ellendorff F, Forsling M, Parvizi N, Williams H, Taverne M, Smid D (1979) Plasma oxytocin and vasopressin concentrations in response to prostaglandin injection in the pig. *J Reprod Fert* 56, 573-577
- Flint APF, Sheldrick EL (1982) Ovarian secretion of oxytocin is stimulated by prostaglandin. *Nature* 297, 587-588
- Geenen V, Legros JJ, Hazee-Hagelstein MT, Louis-Hohn S, Leconte-Yerna MJ, Demoulin A, Franchimont P (1985) Release of immunoreactive oxytocin and neurophysin 1 by cultured luteinising bovin granulosa cells. *Acta Endocrinol* 110, 263-270
- Gillepsie A, Brummer HC, Chard T (1972) Oxytocin release by infused prostaglandin. *Br Med J* 1, 543-544
- Harrisson LM, Kenny N, Niswender GD (1987) Progesterone production, LH receptors and oxytocin secretion by ovine luteal cell types on days 6, 10 and 15 of the oestrous cycle and day 25 of pregnancy. *J Reprod Fert* 79, 539-548
- Labussière J, Philibert C, Combaud JF, Dotchewski D (1982) Etude de l'efficacité de PGF_{2α} sur l'éjection du lait au cours du cycle sexuel de la vache. *Reprod Nutr Dev* 22, 49-63
- Labussière J, Philibert C, Dotchewski D, Combaud JF, de La Chevalerie FA, Bernabé J (1983) Effets des prostaglandines F_{2α} sur l'éjection du lait de la brebis. Variations au cours du cycle sexuel. *Proceedings of the 111rd Symposium International "Ordeño Mecánico de Pequeños Rumiñantes"*. Sever Cuesta, Valladolid, Espagne, 64-80
- Labussière J, Eyi Ngui V, Combaud JF (1986) Effets des prostaglandines PGF_{2α} sur l'éjection du lait de la brebis. Conséquences de l'ovariectomie accompagnée ou non d'une complémentation œstroprogestative. *Reprod Nutr Dev* 26, 933-942
- Labussière J, Combaud JF, de La Chevalerie FA (1988a) PGF_{2α} induced milk ejection in ewes having cyclic of pregnant corpora lutea. *Reprod Nutr Dev* 28, 541-552
- Labussière J, Thomas P, Combaud JF, de La Chevalerie FA (1988b) Ejection du lait induite par PGF_{2α} pendant les 2 premiers mois qui suivent l'insémination des vaches. Application à un diagnostic de gravidité. *Reprod Nutr Dev* 28, 899-907
- Lacroix MC, Charpigny G, Reinaud P (1988) Is oxytocin of conceptus origin involved in inhibition of luteal regression in early pregnancy in ewes? *J Endocrinol* 118, R17-R20
- Saumande J, Tamboura D, Chupin D (1985) Changes in milk and plasma concentration of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationships with number of ovulation and of embryos collected. *Theriogenology* 23, 719-731
- Schams D, Schallenberger E, Legros JJ (1985) Evidence for the secretion of immunoreactive neurophysin 1 in addition to oxytocin from the ovary in cattle. *J Reprod Fert* 73, 165-171
- Sheldrick EL, Flint APF (1981) Circulating concentrations of oxytocin during the oestrous cycle and early pregnancy in sheep. *Prostaglandins* 22, 631-636
- Sheldrick EL, Flint APF (1983) Luteal concentrations of oxytocin decline during early pregnancy in the ewe. *J Reprod Fert* 68, 477-480
- Wathes DC, Swann RW (1982) Is oxytocin an ovarian hormone? *Nature (London)* 297, 225-227
- Wathes DC, Swann RW, Porter DG, Pickering BT (1986) Oxytocin as an ovarian hormone. In: *Current Topics in Neuroendocrinology. Vol. 6 : Neurobiology of Oxytocin*. Ganten D, 6900 Heidelberg, RFA, 129-152