

## Modèle mathématique de l'évolution de progestérone chez la vache : application et mise en évidence de différence entre races

par A. YENIKOYE (1), J. C. MARIANA, J. P. LEY \*, E. JOLIVET \*, M. TERQUI, Meredith LEMON-RESPLANDY

Station de Physiologie de la Reproduction, I.N.R.A.  
Nouzilly 37380 Monnaie, France

\* Laboratoire de Biométrie, I.N.R.A.  
78350 Jouy en Josas, France.

**Summary.** *A mathematical model of the cow progesterone pattern : application and proof of breed differences.*

Peripheral plasma progesterone levels were compared in « Normande » (6), « Charolaise » (6) and French Friesian (6) heifers. The progesterone curves were fitted to mathematical models for the luteal phase (a logistic function) and for the luteolytic phase (an exponential model).

1. Discriminating and multivariate analyses showed a breed difference in luteal phase duration ( $17.8 \pm 1.1$ ,  $16.8 \pm 2.3$ ,  $16.1 \pm 1.06$  days, respectively, for Normande, Charolaise and French Friesian heifers) and in the rate of progesterone level increase ( $1.1 \pm 0.4$ ,  $1.09 \pm 0.3$ ,  $1.3 \pm 0.3$  ng/ml/day, respectively) ( $\chi^2 = 22.5$  ;  $P < 0.02$ ).

2. Progressive multiple regression showed the duration of the luteal phase was highly correlated to oestrous cycle duration ( $20.8 \pm 1.7$ ,  $20.5 \pm 2.8$ ,  $19.2 \pm 1.5$  days, respectively) ( $r = 0.89$ ).

It appears that breed differences in bovine oestrous cycle duration are due to differences in luteal phase duration.

3. The rate of progesterone level increase reached a maximum at  $7.2 \pm 0.8$ ,  $6.9 \pm 1.1$  and  $6.4 \pm 0.6$  days, respectively, concomitant with maximal corpus luteum secretion.

4. The reproducibility of these parameters, summarizing the progesterone pattern during two consecutive oestrous cycles, showed that each animal had an individual secretion pattern.

### Introduction.

L'évolution du niveau de progestérone dans le plasma de sang périphérique au cours du cycle œstral chez les bovins (Stabenfeldt *et al.*, 1969 ; Donaldson *et al.*, 1970 ; Shemesh *et al.*, 1971 ; Henricks *et al.*, 1971 ; Christensen *et al.*, 1974 ; Smith *et al.*, 1975) reflète assez bien les périodes d'activité sécrétrice et d'involution du corps jaune (Erb *et al.*, 1971 ; Lemon et Thimonier, 1973).

(1) Adresse actuelle : Université de Niamey, Service de Biologie, B. P. 10662, Niamey, Niger.

Stabenfeldt *et al.* (1969), Donaldson *et al.* (1970), Lemon et Thimonier (1973) signalent chez les bovins, des variations individuelles importantes de cette activité au début de la phase lutéale du cycle œstral et pendant la lutéolyse. Lamond *et al.* (1971) montrent que la durée du proœstrus chez les bovins varie suivant les races, mais la vitesse de décroissance du niveau de progestérone ne diffère pas de manière significative.

Ces études comparatives ne portent que sur une partie de l'évolution de la progestérone au cours du cycle, d'où une perte importante d'informations. Nous avons donc tout d'abord recherché un modèle mathématique qui rende compte de l'ensemble des variations de la progestérone au cours du cycle œstral de la vache. A l'aide de ce modèle, nous avons analysé la variabilité entre animaux d'une même race et entre les races Normande, Charolaise et Frisonne.

### Matériel et méthodes.

I. *Les animaux.* — L'étude a porté sur 18 génisses, âgées de 18 à 21 mois de 3 races (FFPN, Charolaise et Normande); il y avait 6 animaux par race, et la détection de l'œstrus a été effectuée matin et soir avec, soit un taureau vasectomisé pour la race Normande, soit une vache traitée par les androgènes (Signoret, 1975) pour les races Charolaise et Frisonne.

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau de la veine jugulaire à 8 h 30 et 16 h 30 pendant au moins 2 cycles œstraux consécutifs. Le sang est centrifugé et le plasma recueilli est stocké à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment de la réalisation des dosages de progestérone.

II. *Dosage radioimmunologique de progestérone.* — Le dosage est réalisé à partir de 0,5 ou 1 ml de plasma selon le stade du cycle; dans tous les cas, la progestérone est extraite par 5 ml d'hexane avec une agitation horizontale pendant 1 h à température ambiante.

0,5 ou 2 ml d'hexane sont prélevés et transférés dans des tubes en verre lorsque le volume de plasma traité est respectivement de 1 ou 0,5 ml. Le solvant est ensuite évaporé; à chaque tube sont ajoutés 0,5 ml d'une solution constituée de 1, 2, 6, 7 N<sup>3</sup>H progestérone (95 Ci/mMole), de sérum antiprogestérone 11 $\alpha$ -succinyl BSA (dilution 1/20 000) et de  $\gamma$ -globulines de lapin (8 mg/l) dans un tampon phosphate à pH 7 (0,1 M, azoture de Na 1 p. 1000; gélatine 1 p. 1 000).

Après agitation et incubation pendant 4 h à  $+4^{\circ}\text{C}$ , 0,02 ml de sérum de mouton anti  $\gamma$ -globuline de lapin sont ajoutés. Après une nuit d'incubation, 1 ml de tampon phosphate est ajouté et l'immunoprécipité est séparé par centrifugation pendant 30 min à 2 900 g. Le surnageant (fraction d'hormone libre) est collecté dans des fioles auxquelles sont ajoutés 10 ml de solution dans le toluène de PPO (4 g/l) et de diméthyl POPOP (60 mg/l).

III. *Critères analytiques de validité.* — Ces critères de validité sont: la spécificité, l'exactitude, la précision et la sensibilité.

III.1. *Spécificité.* L'interférence éventuelle de substances étrangères a été étudiée en comparant une courbe étalon de progestérone à celle qui a été obtenue à partir de volumes croissants de plasma. Le parallélisme des droites de régression correspon-

dantes (Dagnélie, 1966) montre qu'il n'y a pas d'interférence de substances étrangères dans le dosage après extraction.

Le test de réactions croisées de l'antisérum vis-à-vis d'autres stéroïdes plasmatiques, montre que la prégnénolone, la  $20\alpha$ -hydroxyprogestérone d'une part et la  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone d'autre part, présentent des réactions croisées respectivement de 3 et 9 p. 100. Ces hormones sont en faibles proportions dans le corps jaune (Axelson *et al.*, 1975) et dans le sang périphérique (Thibier *et al.*, 1973) par rapport à la progestérone. La  $20\beta$ -DPH progestérone, l'œstradiol- $17\beta$  et la testostérone ne déplacent pas la progestérone dans la gamme des concentrations utilisées ; seule la  $5\alpha$ -dihydroprogestérone ( $5\alpha$ -DHP) présente une réaction croisée. Nous avons estimé, après chromatographie sur couche mince dans un système acétate d'éthyle/chloroforme (Karavolas et Herf, 1971), la quantité de  $5\alpha$ -dihydroprogestérone ( $R_f = 0,83$ ) par rapport à celle de progestérone. Le rapport  $5\alpha$ -DHP/progestérone est de 0/18,6 pg/ml pendant l'œstrus et de 36/2 200 pg/ml au 15<sup>e</sup> jour du cycle.

III.2. *Exactitude.* Des quantités croissantes de progestérone étalon correspondant à 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 ; 400 ; 800 et 1 600 pg ont été ajoutées à un plasma de vache en œstrus. L'équation de la droite de régression de la quantité de progestérone récupérée (Y) en fonction de la quantité de progestérone ajoutée (X) est  $Y = 1,1 X + 0,07$ .

III.3. *Sensibilité et précision.* Dans nos conditions de dosage, la sensibilité est de 0,03 ng/ml. La précision intra-dosage exprimée par la valeur du coefficient de variation est respectivement de 40 et 8,5 p. 100 pour des concentrations de 0,03 ng/ml et 16 ng/ml (10 répétitions par concentration). Les coefficients de variation inter-dosage sont respectivement de 40 et de 20 p. 100 pour les 2 concentrations.

IV. *Méthodes d'analyses statistiques.* — Afin de schématiser les  $n = 60$  courbes de progestérone, nous avons recherché le modèle mathématique décrivant au mieux l'évolution de la quantité de progestérone au cours du cycle. Nous avons alors calculé, pour chaque animal et pour chaque cycle, 5 paramètres caractéristiques des courbes de sécrétions,  $\theta_1$ ,  $\Phi$ ,  $T_i$ ,  $P_i$ ,  $P_d$ , dont la signification biologique est donnée plus loin (paragr. II.3 de Résultats) ; les analyses statistiques pour tester l'effet des facteurs : race (3 niveaux), cycle (2 niveaux), moment du prélèvement (2 niveaux) sont réalisées sur les 5 variables précédentes.

IV.1. *Les moyennes et écart-types* de chacune des 5 variables ont été calculés pour chaque race.

IV.2. *Corrélation totale entre les variables et régression multiple progressive.* Parmi les 5 variables, nous avons recherché celles qui permettaient de prédire la longueur du cycle avec la meilleure précision.

IV.3. *Analyse en composantes principales.* C'est une méthode d'approche qui permet de visualiser graphiquement les rapports qui peuvent exister entre p variables mesurées sur un échantillon de n observations. Dans notre étude  $p = 5$  et  $n = 60 =$  nombre total des cycles œstraux.

IV.4. *Analyse de variance multivariate et analyse discriminante.* L'analyse de variance multivariate est une analyse de variance effectuée sur les 5 variables simulta-

nément. Elle a été utilisée pour tester l'hypothèse d'homogénéité des races, des cycles et des moments de prélèvement. Quant à l'analyse discriminante, elle nous a permis de calculer une combinaison linéaire des 5 paramètres qui assurait la meilleure séparation des races.

## Résultats.

I. *Evolution du niveau de progestérone.* — On peut distinguer 2 phases importantes dans l'évolution du niveau plasmatique de progestérone chez la génisse au cours du cycle (fig. 1) :

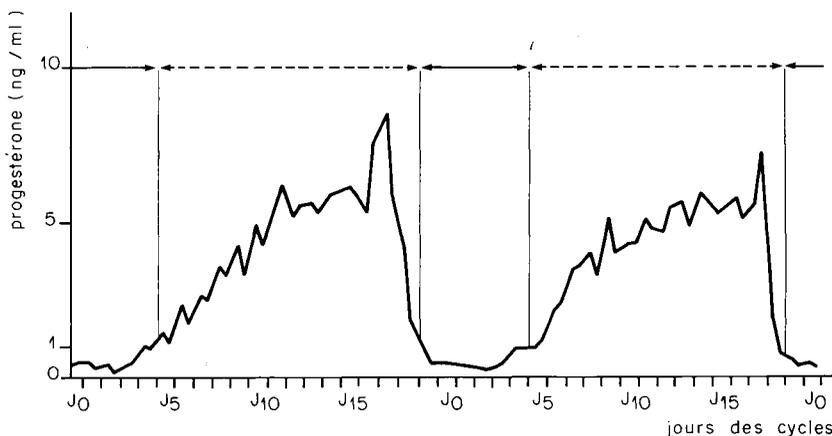


FIG. 1. — Courbe de sécrétion de progestérone au cours de 2 cycles consécutifs (génisse Normande). ——— période de faible concentration plasmatique de progestérone ; - - - - période de concentration plasmatique élevée ; J<sub>0</sub> : jour de l'œstrus.

— Une phase de croissance ou lutéosécrétion qui débute 3 à 4 jours après l'œstrus et qui caractérise l'état fonctionnel du corps jaune. La durée de cette phase peut varier entre 15 et 17 jours. Elle est d'abord marquée par une augmentation rapide du niveau de progestérone (la concentration passe de 0,4 ng/ml au 3<sup>e</sup> jour du cycle à 3,8 ng/ml au 6<sup>e</sup> jour), puis par une croissance plus lente (de 3,8 ng/ml au 6<sup>e</sup> jour à 9 ng/ml au 12<sup>e</sup> jour), la concentration tendant vers un maximum (entre 6 et 10 ng/ml) atteint vers le 12<sup>e</sup> jour du cycle, d'où l'allure sigmoïde de cette évolution.

— Une phase de décroissance de courte durée (1 à 2 jours) qui démarre vers le 17<sup>e</sup> jour du cycle et qui caractérise l'état d'involution du corps jaune. La concentration de progestérone passe de 10 ng/ml à 0,2 ng/ml.

## II. Modèle d'ajustement des courbes expérimentales.

II.1. *Méthode d'ajustement.* L'allure sigmoïde de la courbe des concentrations plasmatiques ( $u$ ) nous a amené à étudier la variation de l'accroissement de ces concentrations  $du/dt$  au cours du cycle (fig. 2).

La variation  $du/dt$  de l'accroissement absolu en fonction du niveau atteint par  $u$  présente un maximum (fig. 2a) et la variation de l'accroissement relatif est décroissante (fig. 2b).

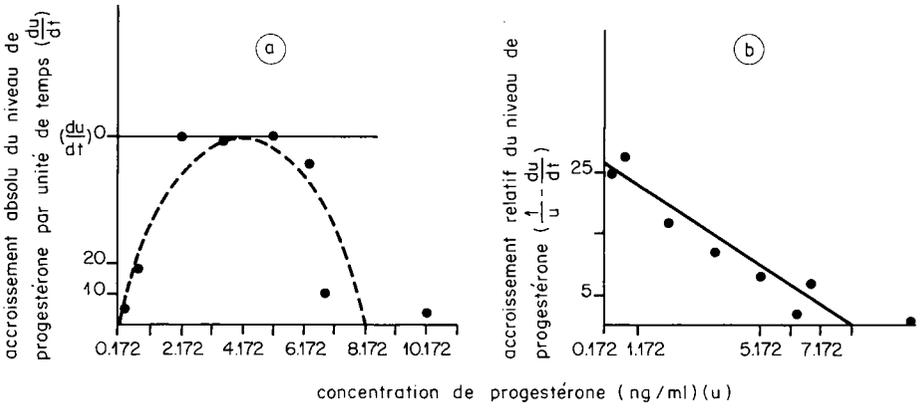


FIG. 2. — Variation, en fonction de la concentration en progestérone, a) de l'accroissement absolu par unité de temps, b) de l'accroissement relatif.

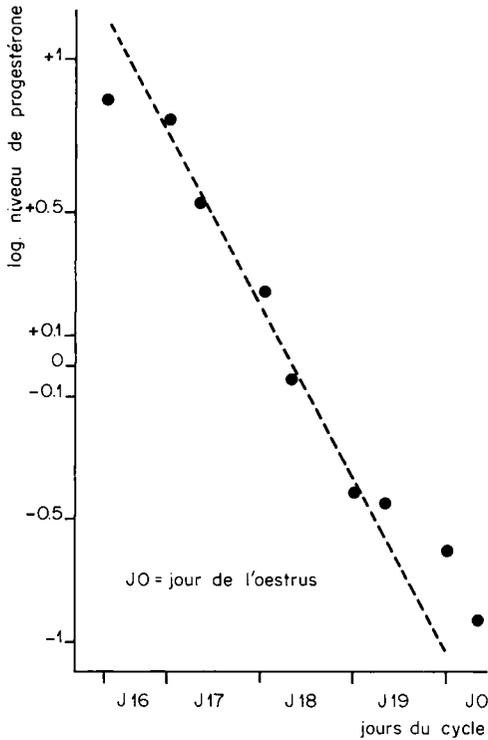


FIG. 3. — Tendence exponentielle du niveau de progestérone en fin de cycle œstral.

La fonction logistique a ces deux propriétés. A la suite de cette phase de croissance, on observe une phase de décroissance brutale et brève du niveau de progestérone. La disparition de la progestérone dans le sang devrait être de ce fait assez bien rendue par un modèle exponentiel. On observe en effet que le logarithme des concentrations décroît linéairement avec le temps (fig. 3).

Il semble donc que l'ensemble des points expérimentaux d'une courbe d'évolution du niveau de progestérone puisse être représenté par un modèle qui tient compte de ces 2 tendances de l'évolution du niveau de la progestérone circulant au cours du cycle (fig. 4). Si on appelle  $\Phi$ , l'instant où s'amorce la décroissance du niveau de progestérone, les équations du modèle sont les suivantes :

$$\begin{aligned} t < \Phi & \quad f(t, \theta) = \frac{\theta_1}{1 + \theta_2 e^{-\theta_3 t}} \\ t = \Phi & \quad f(\Phi, \theta) = \frac{\theta_1}{1 + \theta_2 e^{-\theta_3 \Phi}} \\ t > \Phi & \quad f(t, \theta) = f(\Phi, \theta) e^{-\theta_4 (t - \Phi)}. \end{aligned}$$

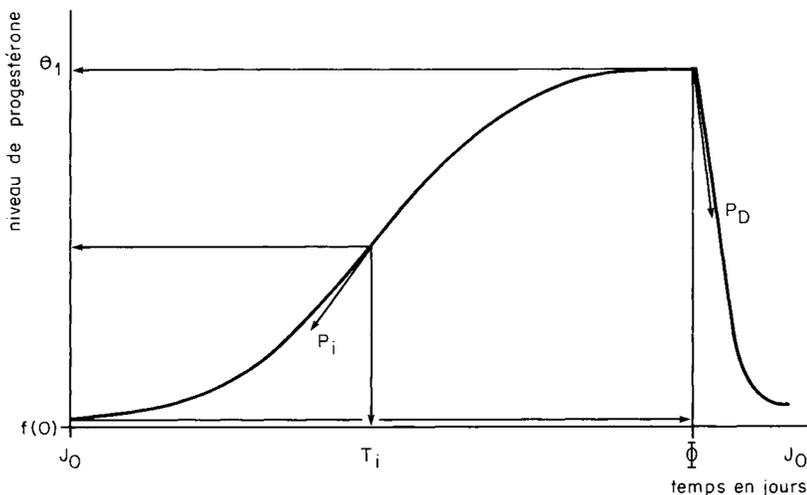


FIG. 4. — Paramètres du modèle d'ajustement (courbe logistique et exponentielle décroissante) (Signification des paramètres dans le texte).

L'origine des temps  $t = 0$  correspond à l'instant où on observe l'œstrus. La première expression (1) de ce modèle est une fonction logistique. La seconde expression (2) est la valeur de la fonction au point de rupture  $\Phi$ . La troisième expression (3) est une fonction exponentielle décroissante. L'interprétation des paramètres est la suivante :

—  $\theta_1$  est la valeur de la limite supérieure de la fonction logistique,  $\theta_1$  est exprimée en nanogrammes ;

—  $\theta_2$  est fonction de  $\theta_1$  et du niveau initial  $f(0)$  ;  $\theta_2 = \frac{\theta_1 - f(0)}{f(0)}$  c'est un coefficient dans dimension.

- $\theta_3$  est un paramètre de « forme » de la courbe.
- $\Phi$  est le moment d'inversion du phénomène ou temps de rupture exprimé en jours.
- $\theta_4$  est le paramètre de décroissance exprimé en nanogrammes de progestérone secrétée par unité de temps.

L'ajustement des courbes expérimentales est réalisé de telle façon que la somme des carrés des écarts entre les valeurs observées  $y_i$  à l'instant  $t_i$  et les valeurs prises par  $f(t_i, \theta)$  soit minimum. On cherche donc à minimiser par rapport à  $\theta_1, \dots, \theta_4$  simultanément, la fonction :  $M(\theta) = \sum (y_i - f(t_i, \theta))^2$ , où  $\theta_t = (\theta_1, \dots, \theta_4)$  représente l'ensemble des paramètres du modèle, et  $n$  le nombre de mesures effectuées. Ceci est obtenu à l'aide de la méthode itérative de Gauss-Marquard. On notera  $y_i$ , la valeur prise par  $f(t_i, \theta_i)$  pour l'ensemble de valeurs  $\theta_1, \dots, \theta_4$  satisfaisant au critère de minimisation de  $M(\theta)$ . On obtient ainsi une courbe ajustée aux points expérimentaux (fig. 5).

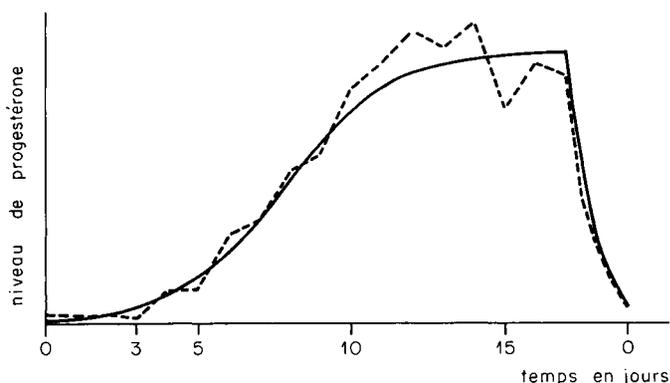


FIG. 5. — Ajustement de la courbe de sécrétion de progestérone chez la génisse normande, par la méthode d'optimisation (courbe logistique et exponentielle négative).  
 - - - - courbe expérimentale ; — courbe ajustée.

II.2. *Pondération sur l'ajustement.* Dans l'ajustement des courbes d'évolution du niveau de progestérone, il a été tenu compte de la précision du dosage radioimmunologique, car elle n'est pas la même sur toute l'étendue des concentrations de progestérone. Il a fallu pondérer les mesures par leur précision. La pondération consiste à attribuer un poids  $W_i$  différent aux divers écarts  $(y_i - \hat{y}_i)$  ; on est alors conduit à minimiser l'expression :  $M(\theta) = \sum W_i (y_i - \hat{y}_i)^2$  où  $W_i$  est une fonction de pondération dépendant de la précision de la mesure  $W_i = 1/(\Delta y_i)^2$  avec  $\Delta y_i =$  erreur absolue sur la mesure  $y_i$ .

II.3. *Choix des paramètres d'étude.* Pour rendre plus claire l'interprétation biologique, on a choisi un ensemble de 5 paramètres dont 3 sont différents des précédents (fig. 4).

- 1)  $\theta_1$  est le niveau maximum de progestérone pratiquement atteint à l'instant  $\Phi$ .

- 2)  $\Phi$  est la durée de la phase de croissance du niveau de progestérone. Les trois autres paramètres suivants sont déduits de  $\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4$ .
- 3)  $T_i = \ln \theta_2/\theta_3$  est le moment où la vitesse de croissance du taux de progestérone dans le plasma atteint son maximum, soit encore le moment où la courbe d'évolution du niveau de progestérone présente un point d'inflexion.
- 4)  $P_i = \theta_1 \times \theta_3/4$  est la pente de la fonction logistique à l'instant  $T_i$ , soit encore la valeur maximale du taux d'accroissement du niveau de progestérone.
- 5)  $P_d = -f(\Phi, \theta) \cdot \theta_4$  est la valeur de la pente négative en début de décroissance du niveau de progestérone.

Nous avons choisi de résumer l'évolution du niveau de progestérone plasmatique par les cinq paramètres :  $\theta_1$  ;  $\Phi$  ;  $T_i$  ;  $P_i$  ;  $P_d$  mais ce choix n'est pas unique. Les analyses statistiques sont réalisées à partir de ces nouvelles variables.

### III. Application à l'évolution du niveau de progestérone au cours du cycle œstral.

III.1. *Les paramètres du modèle.* Les valeurs des paramètres ont été calculées pour chaque animal et les moyennes pour chaque race sont présentées dans le tableau I.

TABLEAU 1

*Paramètres des courbes de sécrétion de progestérone*

Races	Paramètres *								
	f(0) (ng/ml)	$\theta_1$ (ng/ml)	$\Phi$ (j)	$T_i$ (j)	$P_i$ (ng/ml/j)	PD (ng/ml/j)	$\bar{x}$ (j)	Nbre cycles	Nbre génisses
Normande ..	0,11 (0,06)	7,2 (0,9)	17,8 (1,1)	7,2 (0,8)	1,1 (0,4)	— 12,7 (6,5)	20,8 (1,7)	24	6
Charolaise ..	0,15 (0,11)	7,08 (1,7)	16,8 (2,3)	6,9 (1,1)	1,09 (0,3)	— 10,7 (3,8)	20,5 (2,8)	18	6
Frisonne ....	0,05 (0,03)	6,6 (1,08)	16,1 (1,06)	6,4 (0,6)	1,3 (0,3)	— 11,3 (4,4)	19,2 (1,5)	18	6

( ) Ecart-type des observations ; \* Signification biologique des paramètres ; f(0) : niveau de progestérone à l'œstrus ;  $\theta_1$  : niveau maximum de progestérone ;  $\Phi$  : durée de la phase lutéale ; T : temps d'inflexion ; P : pente au point d'inflexion ; PD : pente en début de décroissance ;  $\bar{x}$  : durée moyenne des cycles.

Chez les génisses de race Normande, par exemple, le niveau de base de progestérone (niveau à l'œstrus) est très faible : 0,11 ng/ml. Il augmente rapidement au taux de 1,1 ng/ml/jour jusqu'au 7<sup>e</sup> jour du cycle et ensuite plus lentement pour atteindre la valeur maximale de 7,2 ng/ml au 17-18<sup>e</sup> jour du cycle. La décroissance du taux de progestérone est rapide (12,7 ng/ml/jour) et s'amorce au 17-18<sup>e</sup> jour. L'évolution du taux est comparable dans les 2 autres races (fig. 6). Les cinq paramètres qui caractérisent chaque courbe ont été comparés deux à deux sur l'ensemble des animaux (tabl. 2). Il n'y a aucun coefficient de corrélation significatif à 5 p. 100.

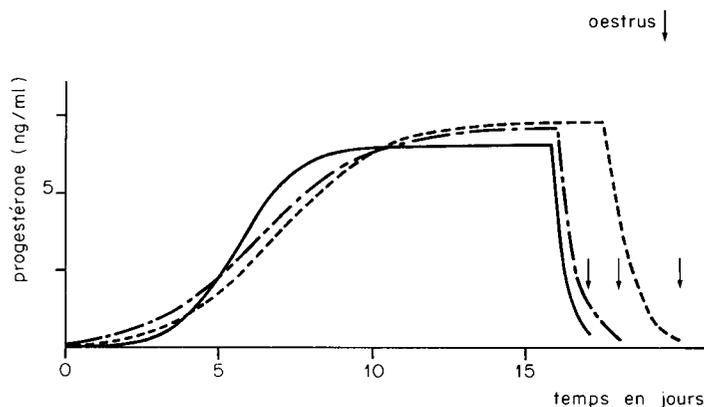


FIG. 6. — Evolution de la sécrétion de progéstérone chez 3 races de génisses (courbes ajustées).  
 - - - - - normande, - · - · - · charolaise, ——— frisonne.

TABLEAU 2

Coefficients de corrélation totale entre les paramètres

	Pd	$\theta_1$	$\Phi$	Ti	Pi
Pd .....	1				
$\theta_1$ .....	0,504	1			
$\Phi$ .....	0,351	0,331	1		
Ti .....	0,111	0,429	0,556	1	
Pi .....	0,323	0,325	0,265	-0,149	1

Pd : vitesse de décroissance ;  $\theta_1$  : niveau maximum de progéstérone ;  $\Phi$  : durée de la phase lutéale ; Ti : temps d'inflexion ; Pi : vitesse d'accroissement du niveau de progéstérone.

III.2. Relations entre les paramètres et la longueur du cycle. On cherche maintenant à estimer la longueur du cycle en fonction des paramètres que l'on vient d'estimer. On note une corrélation importante et significative ( $r = 0,89$ ) entre la longueur du cycle et la durée  $\Phi$  de la phase lutéale (tabl. 3). La deuxième variable que l'on peut considé-

TABLEAU 3

Coefficients de corrélation totale entre la longueur du cycle et les paramètres

Longueur du cycle				
0.25	0.89	0.52	0.27	0.08
$\theta_1$	$\Phi$	Ti	Pi	Pd
Niveau maximum de progéstérone	Durée de phase lutéale	Temps d'inflexion	Pente à l'inflexion	Pente en début de décroissance

rer lorsque la précédente est déjà prise en compte est la vitesse de décroissance du niveau de progestérone (Pd) ; le coefficient de corrélation multiple est alors de 0,929. La prise en compte des autres paramètres n'augmente pas significativement la valeur du coefficient de corrélation multiple entre la longueur du cycle et la meilleure combinaison possible de l'ensemble de ces variables.

La durée de la phase lutéale et la vitesse de décroissance apparaissent comme étant les meilleurs paramètres qui permettent de prédire la longueur du cycle. L'équation de régression correspondante est : longueur du cycle = 1,182  $\Phi$  - 0,133 Pd.

Nous avons utilisé cette équation pour estimer la longueur du cycle chez chacun des animaux en expérience et comparé les valeurs obtenues avec celles que l'on obtient expérimentalement. La régression de la longueur du cycle estimée en fonction de la longueur effectivement observée (fig. 7) montre une faible sous-estimation des valeurs observées et un coefficient de corrélation très élevé et significatif ( $r = 0,929$  ;  $P < 0,001$ ).

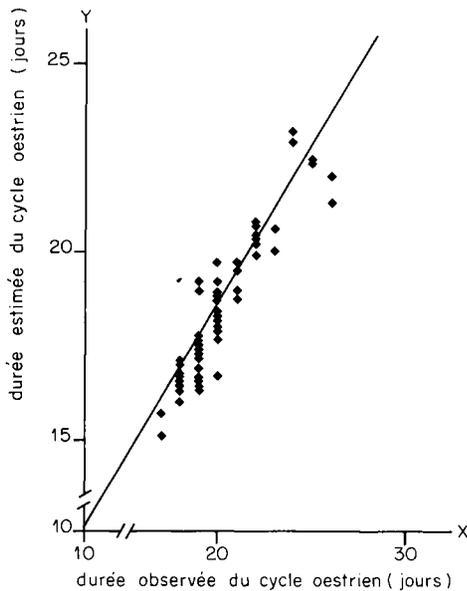


FIG. 7. — Régression de la durée du cycle en fonction de la durée observée du cycle. Equation de la droite de régression :  $Y = 0,83 X + 1,76$ . Coefficient de corrélation :  $r = 0,926$ .

III.3. *Répétabilité d'un cycle à l'autre.* Le test d'analyse de variance multivariée appliqué aux paramètres mesurés sur l'ensemble des 60 courbes de progestérone ne permet pas de conclure qu'il y a une variation significative d'un cycle à l'autre ( $\chi^2 = 4,4$  ;  $DL = 5$  ;  $P > 0,05$ ). L'évolution du niveau de progestérone résumée par les paramètres du modèle est donc comparable d'un cycle à l'autre au cours de 2 cycles oestriques consécutifs.

L'analyse en composantes principales des observations (fig. 8) montre un regroupement des points correspondants aux cycles et aux moments de prélèvement d'un

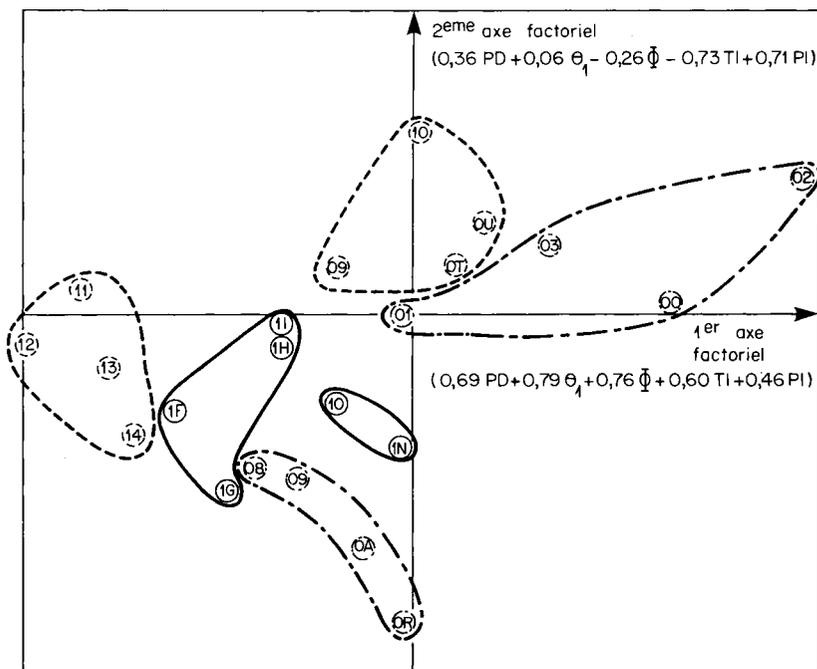


FIG. 8. — Analyse en composante principale. Projection des observations sur les axes factoriels 1 et 2.  
 - - - - - 00 : 2<sup>e</sup> cycle, matin ; 01 : 2<sup>e</sup> cycle, soir ; 02 : 1<sup>er</sup> cycle, matin ; 03 : 1<sup>er</sup> cycle, soir (Génisse n° 2535, race Normande).  
 ——— 1F : 2<sup>e</sup> cycle, matin ; 1G : 2<sup>e</sup> cycle, soir ; 1H : 1<sup>er</sup> cycle, matin ; 1I : 1<sup>er</sup> cycle, soir (Génisse n° 648, race Frisonne).  
 - - - - - 11 : 2<sup>e</sup> cycle, matin ; 12 : 2<sup>e</sup> cycle, soir ; 13 : 1<sup>er</sup> cycle, matin ; 14 : 1<sup>er</sup> cycle, soir (Génisse : 48, race Charolaise).

même animal. Chaque animal semble avoir un « motif » d'évolution du niveau de progestérone, qui se conserve et qui est différent d'un animal à l'autre.

On a vu précédemment que la durée de la phase lutéale et la vitesse de décroissance du niveau de progestérone intervenaient significativement dans la durée du cycle œstral et l'équation de régression correspondante est  $L = 1,182 \Phi - 0,133 Pd$ . Nous avons examiné si cette combinaison linéaire variait d'un cycle au suivant. La variation n'est pas significative ( $\chi^2 = 4,8$  ;  $DL = 2$  ;  $P > 0,05$ ).

III. 4. *Différence entre races.* L'analyse de variance multivariée sur l'ensemble des paramètres montre une différence significative entre les races ( $\chi^2 = 22,45$  ;  $DL = 10$  ;  $P < 0,01$ ). On a donc cherché la combinaison linéaire des paramètres qui séparait le mieux les races (analyse discriminante). On peut juger de l'importance relative des paramètres dans chaque combinaison linéaire en examinant leur coefficient ; la statistique lambda de Wilks permet d'en tester la signification.

1) *combinaison linéaire :*

$$0,17 Pd - 0,56 \theta_1 - 1,02 \Phi + 0,25 Ti + 0,9 Pi \quad (\chi^2 = 22,54 ; DL = 10) ;$$

2) *combinaison linéaire* :

$$0,67 Pd - 0,82 \theta_1 - 0,25 \Phi + 0,37 Ti + 0,62 Pi \quad (\chi^2 = 3,26 ; DL = 4).$$

La 2<sup>e</sup> combinaison linéaire des paramètres n'est pas significative malgré le coefficient élevé associé à  $\theta_1$ . Le niveau maximum de progestérone au cours du cycle ne semble pas être un bon critère de différence entre les races.

La 1<sup>re</sup> combinaison linéaire est par contre significative au seuil 1 p. 100 ; dans cette combinaison, les paramètres qui caractérisent le mieux la variabilité entre les races sont : a) la durée de la phase lutéale ( $\Phi$ ) et b) la valeur maximale du taux d'accroissement du niveau de progestérone  $Pi$ .

La distribution des valeurs de la 1<sup>re</sup> fonction linéaire discriminante de chaque cycle (fig. 9) est différente pour la race Normande, de celle qui est obtenue pour la race Frisonne. En revanche, pour les femelles « Charolaises » cette distribution recouvre les 2 distributions précédentes.

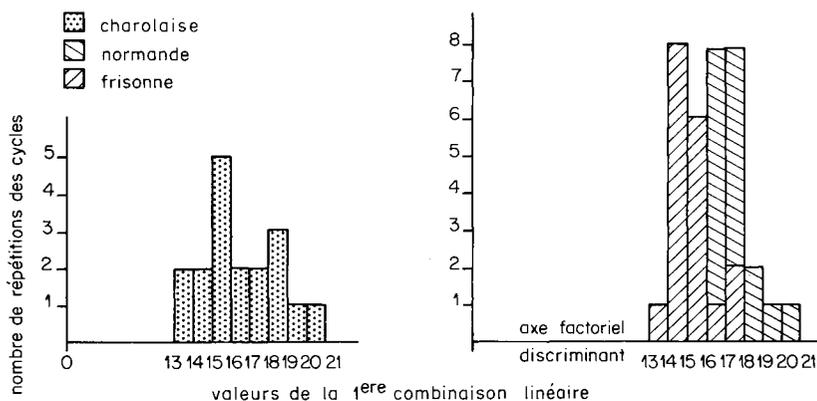


FIG. 9. — Distribution du nombre de cycles par race en fonction des valeurs de la première combinaison linéaire discriminante.

Comme la durée de la phase lutéale est significativement différente entre les races, et que ce paramètre est corrélé avec la longueur du cycle, nous avons effectué une analyse de variance sur la durée des cycles œstraux, le seul facteur considéré étant la race. Le résultat de ce test montre une différence significative au seuil 5 p. 100 pour la longueur du cycle œstral selon les différentes races.

## Discussion.

Les concentrations de progestérone que nous avons déterminées au cours du cycle œstral sont tout à fait comparables à celles obtenues par d'autres auteurs : le niveau de base de progestérone pendant l'œstrus est similaire à celui de la vache ovariectomisée (Donaldson *et al.*, 1970 ; Hafs *et al.*, 1975 ; Beck *et al.*, 1976). Les estimations du niveau maximum atteint au cours du cycle (6,6 à 7,2 ng/ml) et de la durée de la phase lutéale (16 à 17,8 jours) pendant la période de croissance du niveau de progestérone, sont

comparables aux valeurs rapportées par Christensen *et al.* (1974) chez la vache à viande, par Shemesh *et al.* (1971) ; Stabenfeldt *et al.* (1969) chez la vache laitière.

L'originalité du modèle présenté tient dans le fait que l'on représente l'évolution du niveau de progestérone au cours du temps, par un nombre réduit de paramètres. Une difficulté réside dans le choix de ces paramètres. Nous avons retenu les paramètres ayant une signification biologique ; il est possible que d'autres paramètres, analytiquement dépendants ou indépendants de ceux qui ont été étudiés mais directement liés au modèle, aient permis de mettre en évidence d'autres aspects de la sécrétion de progestérone au cours du cycle et de réaliser un autre type de discrimination des animaux. Toutefois, à l'aide de ces paramètres, il a été possible de définir une phase importante d'activité sécrétoire du corps jaune. Cette phase se situe entre le 6<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> jour chez les 3 races de génisses étudiées et correspond à la période où l'accroissement du niveau de progestérone par unité de temps atteint son maximum. Cela concorde avec les résultats d'Axelson *et al.* (1975) qui montrent que la production de progestérone par gramme de tissu est maximale au 7<sup>e</sup> jour ; cela coïncide aussi avec l'apparition de la sensibilité du corps jaune aux agents lutéolytiques tels que les prostaglandines (Rowson *et al.*, 1972 ; Louis *et al.*, 1973), l'ocytocine (Donaldson *et al.*, 1970), les œstrogènes (Roberts *et al.*, 1975).

A partir du moment de l'inflexion jusqu'à la fin de la phase lutéale, la sécrétion de progestérone par unité de temps diminue progressivement, ce qui est en accord avec les résultats d'Axelson *et al.* (1975). A la différence des conclusions de Lemon et Thimonnier (1973), cette période au cours de laquelle la progestéronémie est maximale n'est pas celle de l'activité sécrétoire maximale du corps jaune. Cette phase s'achève par une chute très rapide de la progestérone.

Stabenfeldt *et al.* (1969), Donaldson *et al.* (1970) observent des variations individuelles importantes dans le niveau de progestérone au cours de la lutéolyse chez la vache. Cependant, ces auteurs ne déterminent pas l'origine des variations observées. Nos résultats suggèrent qu'il existe des variations individuelles dans la vitesse de décroissance du taux de progestérone : 12,7 ( $\pm$  6,5) ng/ml/jour ; 10,7 ( $\pm$  3,8) ng/ml/jour et 11,3 ( $\pm$  4,4) ng/ml/jour respectivement pour les génisses de races Normande, Charolaise et Frisonne. Bien que nous n'ayons pas observé de corrélation sur l'ensemble des animaux entre le niveau maximum de progestérone et la vitesse de décroissance de la progestérone dans la dernière phase de la vie du corps jaune, il est possible que, chez certains animaux, un niveau élevé de progestérone pendant la phase lutéale, soit associé à une vitesse de décroissance plus importante ; ceci expliquerait en partie les variations individuelles observées.

L'involution du corps jaune est due à l'apparition des facteurs lutéolytiques utérins vers la fin du cycle œstral. Ces facteurs ont été identifiés chez la brebis comme étant des prostaglandines  $F_{2\alpha}$  (cf. revue de Horton et Poyser, 1976 ; Roberts *et al.*, 1975 ; Scaramuzzi et Baird, 1976).

Le délai entre la libération des facteurs lutéolytiques utérins et la chute de progestérone étant très court (cf. revue de Horton et Poyser, 1976), il est probable que le moment de libération des PGF par l'utérus est différent selon les races étudiées.

Nos résultats montrent également que la longueur de la phase lutéale est fortement corrélée à la longueur du cycle œstral.

Cette longueur du cycle est significativement différente entre les races étudiées.

Ainsi, contrairement aux conclusions de Lamond *et al.* (1971), nous suggérons que les différences raciales dans la durée du cycle œstral ne sont pas dues à des différences de durée de proœstrus, mais essentiellement à des différences dans la durée de la phase lutéale.

Madej et Stupnicki (1975) observent des différences entre races dans le niveau plasmatique de LH chez les bovins. On sait que LH stimule *in vivo* (Schomberg *et al.*, 1967) et *in vitro* (Armstrong et King, 1970) la synthèse de progestérone par le corps jaune de vache.

Aussi, les différences que nous observons au niveau du taux de sécrétion de la progestérone, dans les 3 races étudiées, peuvent être dues à des niveaux différents de gonadotropine déchargée quelques heures avant l'ovulation (Moor *et al.*, 1975)

Le taux de sécrétion peut dépendre également de la sensibilité des cellules lutéales aux gonadotropines. Il est possible que des cellules provenant de lignées différentes aient des différences de sensibilité aux hormones hypophysaires (Clark *et al.*, 1972) mais l'importance relative de ces 2 hypothèses ne peut être estimée à partir de nos résultats.

Notre étude montre clairement le risque qu'il y a à isoler quelques points « à l'œil » sur une courbe représentant l'évolution du niveau de progestérone plasmatique au cours du cycle.

Ces points sont peut-être déjà eux-mêmes des sous-produits très dégradés d'un mécanisme actif mis en place à un moment précis du cycle avant qu'en soient observés les effets les plus visibles.

Le modèle proposé qui est simple, permet de caractériser l'évolution du niveau de la progestérone au cours du cycle par cinq paramètres. Il est alors possible d'utiliser ces 5 paramètres pour analyser les effets race, âge, traitement sur des groupes d'animaux.

Reçu en septembre 1979.

Accepté en mars 1981.

## Références

- ARMSTRONG D. T., KING E. R., 1970. Conversion of progesterone to  $5\alpha$ -pregnan-3,20 dione ( $5\alpha$ -P) by uterine nuclei and its possible significance. *Fed. Proc.*, **29**, 250 (Abstr.).
- AXELSON M., SCHUMACHER G., SJOVALL J., GUSTAFSSON B., LINDELL J. O., 1975. Identification and quantitative determination of steroids in bovine corpus luteum during œstrous cycle and pregnancy. *Acta endocrinol.*, **80**, 149-164.
- BECK T. W., SMITH V. G., SEGUIN B. E., CONVEY E. M., 1976. Bovine serum LH, GH and prolactin following chronic implantation of ovarian steroids and subsequent ovariectomy. *J. anim. Sci.*, **42**, 461-467.
- CHRISTENSEN D. S., HOPWOOD M. L., WILTBANK J. N., 1974. Levels of hormones in the serum of cycling beef cows. *J. anim. Sci.*, **38**, 577-583.
- CLARK J. L., JONES K., GOSPODAROWICZ D., SATO G. H., 1972. Growth response to hormones by a new rat ovary cell line. *Nature New Biol.*, **236**, 180-181.
- DAGNÉLIE P., 1966. *Cours de statistique mathématique*. Association et Maison des Etudiants, Fac. Sc. agron. Etat, Gembloux.
- DONALDSON L. E., BASSETT J. M., THORBURN G. D., 1970. Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, œstrous cycle, pregnancy and lactation and the effects of under-nutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration. *J. Endocrinol.*, **48**, 599-614.

- ERB R. E., RANDEL R. D., CALLAHAN C. J., 1971. Female sex steroid changes during the reproductive cycle. *J. anim. Sci.*, **32**, 80-101.
- HAFS H. D., LOUIS T. M., STELLFLUG J. N., CONVEY E. M., BRITT J. H., 1975. Blood LH after PGF<sub>2α</sub> in diestrous and ovariectomized cattle. *Prostaglandins*, **10**, 1001-1009.
- HENRICKS D. M., DICKEY J. F., HILL J. R., 1971. Plasma œstrogen and progesterone levels in cows prior to and during œstrous. *Endocrinology*, **89**, 1350-1355.
- HORTON E. W., POYSER N. L., 1976. Uterine luteolytic hormone : a Physiological role for prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Physiol. Rev.*, **56**, 595-621.
- KARAVOLAS H. J., HERF S. M., 1971. Conversion of progesterone by rat medial basal hypothalamic tissue to 5α-pregnane-3,20 dione. *Endocrinology*, **89**, 940-942.
- LAMOND D. R., HENRICKS D. M., HILL J. R., DICKEY J. F., 1971. Breed differences in plasma progesterone concentration in the bovine during præstrus. *Biol. Reprod.*, **5**, 258-261.
- LEMON M., THIMONIER J., 1973. Evolution de la progesterone plasmatique pendant le cycle et la gestation chez les ruminants. In *Le corps jaune*, Ed. Masson et C<sup>o</sup>, 51-65.
- LOUIS T. M., HAFS H. D., SEGUIN B. E., 1973. Progesterone, LH, œstrous and ovulation after prostaglandin F<sub>2α</sub> in heifers. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **143**, 152-155.
- MADEJ A., STUPNICKI R., 1975. Peripheral plasma levels of LH in the cow throughout the estrus cycle. *Endokrinologie*, **65**, 121-125.
- MOOR R. M., HAY M. F., SEAMARK R. F., 1975. The sheep ovary regulation of steroidogenic haemodynamic and structural changes in the largest follicle and adjacent tissue before ovulation. *J. Reprod. Fert.*, **45**, 595-604.
- ROWSON L. E. A., TERVIT R., BRAND A., 1972. The use of prostaglandins for synchronization of œstrus in cattle. *J. Reprod. Fert.*, **29**, 145 (Abstr.).
- ROBERTS J. S., BARCIKOWSKI B., WILSON L., SKARNES R. C., McCracken J. A., 1975. Hormonal and related factors affecting the release of prostaglandin F<sub>2α</sub> from the uterus. *J. Ster. Biochem.*, **6**, 1091-1097.
- SCARAMUZZI R. J., BAIRD D. T., 1976. The œstrus cycle of the ewe after active immunization against prostaglandin F<sub>2α</sub>. *J. Reprod. Fert.*, **46**, 39-47.
- SCHOMBERG D. W., COUDERT S. P., SHORT R. V., 1967. Effects of bovine luteinizing hormone and human chorionic gonadotrophin on the bovine corpus luteum *in vivo*. *J. Reprod. Fert.*, **14**, 277-285.
- SHEMESH M., LINDNER H. R., AYALON N., 1971. Competitive protein-binding assay of progesterone in bovine jugular venous plasma during the œstrous cycle. *J. Reprod. Fert.*, **26**, 167-174.
- SIGNORET J. P., 1975. Nouvelle méthode de détection de l'œstrus chez les bovins. *Ann. Zootech.*, **24**, 125-127.
- SMITH J. F., FAIRCLOUGH R. J., PAYNE E., PETERSON A. J., 1975. Plasma hormone levels in the cow. *J. agric. Res.*, **18**, 123-129.
- STABENFELDT G. H., EWING L. L., MC DONALD L. E., 1969. Peripheral plasma progesterone levels during the bovine œstrous cycle. *J. Reprod. Fert.*, **19**, 433-442.
- THIBIER M., CASTANIER M., TEA N. T., SCHOLLER R., 1973. Concentrations plasmatiques de la 17-hydroxyprogesterone au cours du cycle de la vache. *C. R. Acad. Sci. Paris, sér. D*, **276**, 3049-3052.