



Cinétique de libération in vitro de 17α hydroxy- 20β dihydroprogestérone par des follicules de Truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*

Alexis Fostier, Bernard Jalabert, Christopher Campbell, Michel Terqui,
Bernard Breton

► To cite this version:

Alexis Fostier, Bernard Jalabert, Christopher Campbell, Michel Terqui, Bernard Breton. Cinétique de libération in vitro de 17α hydroxy- 20β dihydroprogestérone par des follicules de Truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*. Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série III, Sciences de la vie, 1981, 292, pp.777-780. hal-01600997

HAL Id: hal-01600997

<https://hal.science/hal-01600997>

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

ENDOCRINOLOGIE. — *Cinétique de libération in vitro de 17α hydroxy- 20β dihydroprogestérone par des follicules de Truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*. Note (*) de Alexis Fostier, Bernard Jalabert, Christopher Campbell, Michel Terqui et Bernard Breton, présentée par Maurice Fontaine.*

Un dosage radioimmunologique spécifique a été utilisé pour suivre la libération de 17α hydroxy- 20β dihydroprogestérone par des follicules ovariens entiers de 2 truites arc-en-ciel, au cours de la maturation ovocytaire, induite *in vitro* par la gonadotropine glycoprotéique maturante de salmonidé (s-GtH). Sans stimulation gonadotrope, la production de ce progestagène reste très faible. Elle s'accroît fortement avec l'augmentation des niveaux de s-GtH maintenus dans le milieu. A chacun de ces niveaux, elle est plus importante pour des follicules provenant de la femelle donneuse la plus proche de sa date d'ovulation supposée. Par ailleurs les fortes quantités de progestagène produites sont en accord avec les fortes teneurs mesurées dans le plasma d'animaux prêts à ovuler.

A specific radioimmunoassay has been used to follow the synthesis of the 17α hydroxy- 20β dihydroprogesterone in vitro by ovarian follicles of 2 Rainbow Trout, during the oocyte maturation stimulated with a pure salmon glycoproteic maturational gonadotropin. Very low levels have been measured without stimulation. The progestagen production was increasing with the level of GtH dose used. It was much higher with ovarian follicles coming from the female sacrificed near the period of ovulation. The high quantities, produced were in good agreement with the high levels found in plasma of ovulating females.

En 1960, Idler, Fagerlund et Ronald isolaient et identifiaient la 17α hydroxy- 20β dihydroprogestérone (17α 20β OHP) à partir de plasma de Saumons du Pacifique, *Oncorhynchus nerka*, capturés pendant leur saison de reproduction [1]. Son efficacité s'est révélée prédominante sur la maturation *in vitro* d'ovocytes de Truite, *Salmo gairdnerii* [2]. Par ailleurs, la comparaison des cinétiques de maturation induite soit par la 17α 20β OHP, soit par la gonadotropine glycoprotéique (GtH) ([3], [4]), ainsi que l'étude des phases sensibles aux antibiotiques [5], conduisent à penser que la 17α 20β OHP est le relais folliculaire de la GtH. Aussi avons nous recherché, à l'aide d'un dosage radioimmunologique spécifique, l'existence d'une stimulation de la production de 17α 20β OHP dans des milieux de culture d'ovocytes de Truite, soumis à l'action maturante de la GtH.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — *Hormones et antiserum.* — La gonadotropine utilisée a été purifiée à partir d'hypophyses de Saumon, *Oncorhynchus tshawytscha*, capturés au moment de leur ponte [3] : 1 μ g a la même activité sur la maturation ovocytaire [4] que 30 μ g de protéine d'un extrait hypophysaire aqueux total.

L'immunsérum anti 17α 20β OHP a été obtenu par immunisation de 1 lapin par le dérivé 3-Ométhylcarboxyméthylxime [6] couplé à l'albumine sérique bovine [7].

La 17α 20β OHP tritiée a été préparée par réduction de la 1.2.6.7- 3 H- 17α OHP (Amersham Centre a. s. = 2,52 TBq/mM) [8].

Dosage radioimmunologique. — Il a été effectué dans les mêmes conditions que celles décrites pour le dosage de l'œstradiol- 17β [9], excepté la séparation des fractions liées et libres de l'hormone réalisée ici à l'aide de polyéthylène glycol [10]. Considérant les rapports des concentrations de stéroïdes inhibant à 50 % la liaison du traceur tritié [11] ou les rapports de décroissance de liaison par rapport au point 0 de la courbe d'étalonnage pour 0,100 ng de stéroïde par tube de dosage [12], les indices de compétition de la 20β dihydroprogestérone sont respectivement de 2 et 20 %. Par ailleurs 100 ng de progestérone, prègnénolone, 17α hydroxyprogestérone, 20α dihydroprogestérone, cortisone, 20β dihydrocortisone ou de déoxycorticostérone déplacent moins le traceur que 0,020 ng de 17α 20β OHP. Enfin aucun déplacement n'est obtenu avec le cortisol, la corticostérone, la testostérone, la 11 cétotestostérone, l'œstradiol- 17β et l'œstrone, essayés jusqu'à 100 ng par tube de dosage.

La sensibilité du dosage est estimée à 0,012 ng par tube. Deux échantillons dosés plusieurs fois ont permis d'estimer les coefficients de variation suivants : 3 % ($n=6$) pour 81 ng/ml et 4 % ($n=5$) pour 3 ng/ml.

Cultures. — Les ovaires ont été prélevés au mois de décembre sur deux femelles âgées de 3 ans. Pour chaque femelle et pour chaque niveau de GtH deux cultures de cent ovocytes, dans leur follicule, ont été préparées dans 20 ml de milieu minéral sans antibiotique [5]; et maintenues à 12,5°C dans des caissons oxygénés. L'une a servi aux prélèvements de 0, 1, 2, 3, 6 et 12 h d'incubation; l'autre à ceux de 0, 24, 36, 48 et 72 h. Chaque prélèvement portait sur 1 ml de milieu. Les doses suivantes de GtH ont été choisies : 0,4 et 20 ng/ml, correspondant à des concentrations plasmatiques trouvées avant l'ovulation chez la Truite arc-en-ciel [9]; 50 et 100 ng/ml, correspondant à celles trouvées après l'ovulation [13]; et 250 ng/ml.

TABLEAU

Caractéristiques des femelles sacrifiées (le 20/12/79) et de leurs ovaires

	♀ n° 1	♀ n° 2
Poids du corps en gramme.	800	700
Rapport gonadosomatique en pour cent.	17,8	17,6
Rapport hépatosomatique en pour cent.	2,0	1,5
Stade de migration du noyau.	En périphérie	Fin migration
Dose efficace à 50 % de maturation (ng/ml) :		
par la s-GtH.	43	93
par la 17 α 20 β OHP.	9,4	36

RÉSULTATS. — L'analyse des stades de migration du noyau ovocytaire [14], ainsi que celle des réponses aux inductions hormonales (tableau), laissent penser que la femelle n° 1 est plus précoce que la femelle n° 2.

Dans les incubations témoins les niveaux de 17 α 20 β OHP restent faibles pour les deux femelles (inférieurs à 0,80 ng/ml), la production estimée par follicule après 72 h de culture étant de 0,09 ng pour la femelle n° 1 et de 0,13 ng/ml pour la n° 2. Une stimulation par la plus faible dose de GtH utilisée (4 ng/ml) est détectable à 36 h pour la n° 1 et à 72 h pour la n° 2. Cette avance dans la détection de la stimulation de la femelle n° 1 se retrouve pour les autres doses de GtH (fig. 1).

Dans la limite des doses essayées, la production de 17 α 20 β OHP croît avec la concentration en GtH établie dans le milieu, et cela pour les deux femelles (fig. 2). Il apparaît cependant un phénomène de saturation, plus marqué pour la femelle la moins sensible (n° 2).

Enfin, pour toutes les doses de GtH, les réponses de la femelle la plus précoce (n° 1) sont les plus amples.

DISCUSSION. — L'absence de détection de 17 α 20 β OHP par van Bohemen et Lambert [15] dans des incubations d'ovaire de Truite, sans stimulation gonadotrope, en présence de précurseurs tritiés s'explique sans doute par le choix de stades physiologiques éloignés de l'ovulation. Par ailleurs sa libération spontanée, sans stimulation gonadotrope, reste faible : une centaine de picogrammes/follicule après 72 h de culture.

Le délai minimal nécessaire, dans nos conditions de mesure, à une détection de la stimulation (12 h) par des fortes doses de GtH est en accord avec le retard d'une douzaine d'heures constaté entre une maturation induite par la GtH et celle induite par la 17 α 20 β OHP [5].

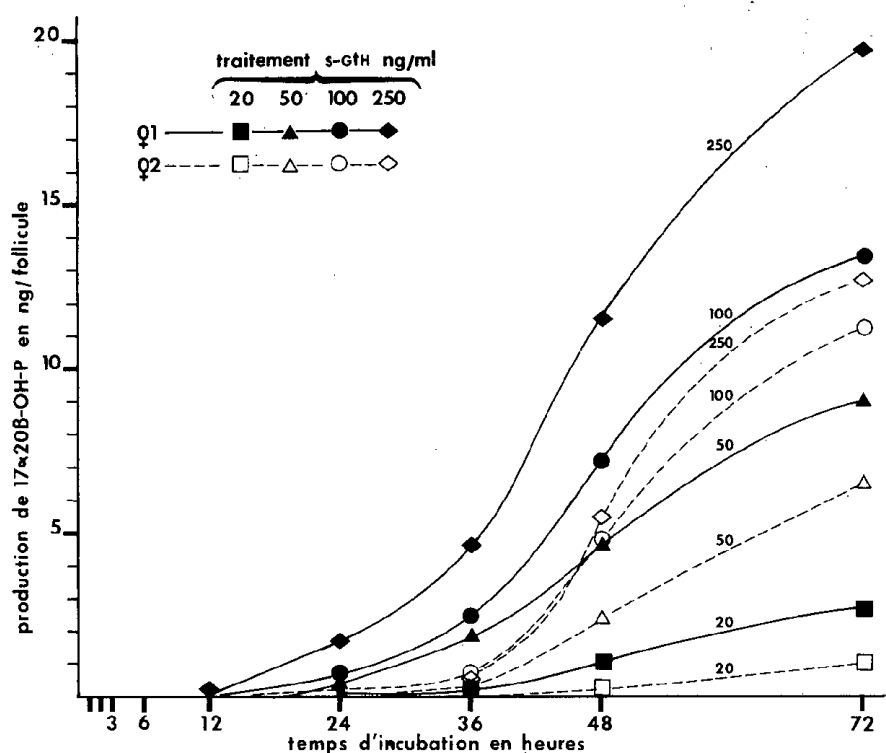


Fig. 1. — Cinétique de libération de $17\alpha 20\beta$ OHP dans les milieux de cultures d'ovocytes de Truite, en présence de concentrations croissantes de GtH (les cultures de contrôle, sans GtH, correspondent à une production de 0,09 et 0,13 ng respectivement pour la femelle n° 1 et n° 2 après 72 h d'incubation).

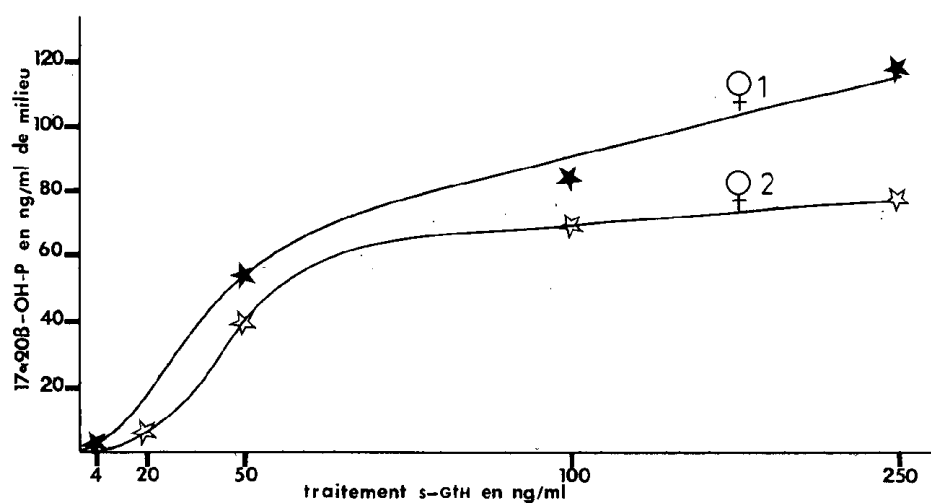


Fig. 2 — Concentrations en $17\alpha 20\beta$ OHP après 72 h de cultures d'ovocytes de Truite en présence de concentrations croissantes de GtH.

Si l'on considère qu'un ovaire de 1 truite de la taille de celles utilisées ici contient de 2 000 à 3 000 follicules, la production de 2,8 ng/follicule après 72 h de culture, chez un animal proche de l'ovulation et pour une concentration en GtH physiologique (20 ng/ml), est compatible avec les fortes teneurs mesurées par dilution isotopique dans le plasma de Truites prélevées à cette même période du cycle sexuel (420 ng/ml) [16].

La gonadotropine glycoprotéique maturante, hautement purifiée, de salmonidé, est donc capable, à elle seule, de stimuler non seulement la synthèse d'œstradiol-17 β chez la femelle en vitellogenèse ([17], [18]), mais également celle de 17 α hydroxy-20 β dihydroprogestérone chez la femelle prête à entrer en maturation méiotique. Ce stéroïde apparaît donc bien comme le relais de l'action de la GtH sur la maturation ovocytaire.

(*) Remise le 23 février 1981, acceptée après révision le 9 mars 1981.

- [1] D. R. IDLER, U. H. M. FAGERLUND et A. P. RONALD, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2, 1960, p. 133.
- [2] A. FOSTIER, B. JALABERT et M. TERQUI, *Comptes rendus*, 277, série D, 1973, p. 421.
- [3] B. BRETON, B. JALABERT et P. REINAUD, *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 16, 1976, p. 25.
- [4] B. JALABERT, B. BRETON et R. BILLARD, *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 14, 1974, p. 217.
- [5] B. JALABERT, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 33, 1976, p. 974.
- [6] T. H. SIMPSON et R. S. WRIGHT, *Steroids*, 29, 1977, p. 383.
- [7] F. DRAY, M. TERQUI, B. DESFOSSES, J. M. CHAUFFOURNIER, I. MOWSZOWICZ, D. KAHN, P. ROMBAUTS et M. F. JAYLE, *Comptes rendus*, 273, série D, 1971, p. 2380.
- [8] L. L. SMITH, M. MARX, H. MENDELSON, T. FOELL et J. J. GOODMAN, *J. Amer. Chem. Soc.*, 84, 1962, p. 1265.
- [9] A. FOSTIER, C. WEIL, M. TERQUI, B. BRETON et B. JALABERT, *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18, 1978, p. 929.
- [10] W. D. CREIGHTON, P. H. LAMBERT et P. A. MIESCHER, *J. Immun.*, 111, 1973, p. 1219.
- [11] G. E. ABRAHAM, *J. Clin. Endocr. Metab.*, 29, 1969, p. 866.
- [12] S. DE LAUZON, N. CITTANOVA, B. DESFOSSES et M. F. JAYLE, *Steroids*, 22, 1973, p. 747.
- [13] B. JALABERT et B. BRETON, *Comptes rendus*, 290, série D, 1980, p. 799.
- [14] B. JALABERT, B. BRETON, E. BRUZUSKA, A. FOSTIER et J. WIENIAWSKI, *Aquaculture*, 10, 1977, p. 353.
- [15] C. G. VAN BOHEMEN et J. G. D. LAMBERT, *J. Endocrinol.*, 80, 1979, p. 37 (résumé).
- [16] C. M. CAMPBELL, A. F. FOSTIER, B. JALABERT et B. TRUSCOTT, *J. Endocrinol.*, 85, 1980, p. 371.
- [17] R. BILLARD, B. BRETON, A. FOSTIER, B. JALABERT et C. WEIL, dans *Comparative Endocrinology*, GAILLARD P. T. ET BOER H. H., éd., Elsevier/North Holland-Biomedical Press, Amsterdam., 1978, p. 37.
- [18] D. R. IDLER et C. M. CAMPBELL, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 41, 1980, p. 384.

A. F., B. J. et B. B. : Laboratoire de Physiologie des Poissons,
Institut national de la Recherche agronomique, Bât. n° A, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes;

C. C. : Newfoundland Ocean Research and Development Corporation,
P. O. Box 8833, Saint-John's, Newfoundland, Canada A7B 3T2;

M. T. : Station de Physiologie de la Reproduction,
Institut national de la Recherche agronomique, 37380 Monnaie.