

## Essais d'induction artificielle de la lactation chez des génisses âgées de 6 à 7 mois

NCHARE A.\*, SALAHEDDINE M.\*\*\*, DESBULEUX H.\*, SULON J.\*, BECKERS J.F.\*

\* Physiologie de la reproduction, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Bd de Colonster, 20 (B41) Sart-Tilman B-4000 Liège, Belgique

\*\* Pharming Niels Bohweg, 11-13 2333 CA Leiden Netherlands

Correspondance : BECKERS J.F. (Email : jfbeckers@ulg.ac.be ; Tel : 32 4 366 4161 , Fax : 32 4 366 4165)

**RESUME :** Les taux de réussite des manipulations génétiques sont très faibles chez les grands mammifères domestiques ; ces animaux sont en plus caractérisés par un grand intervalle de génération qui allonge les délais de sélection des individus véritablement transgéniques dans une descendance issue d'embryons génétiquement modifiés, lorsque ceux-ci doivent être identifiés sur la base du contrôle de leur lait. En les induisant en lactation de manière précoce, on gagnerait du temps.

Dans ce cadre, 2 essais d'induction de lactation basés sur un traitement hormonal de courte durée ont été menés entre novembre 1999 et avril 2000 sur des génisses non transgéniques âgées de 6 à 7 mois, dans le but de vérifier l'efficacité d'une induction artificielle de lactation sur des femelles impubères, et contribuer à déterminer un schéma de traitement hormonal simple, fiable et applicable sur jeunes animaux.

Ces essais ont engendré des lactations intéressantes (35 à 974 ml/jour). Les deux essais ont donné par ailleurs des résultats différents, en relation avec la forme galénique de la progestérone utilisée (rémanente ou non-rémanente) et la chronologie des traitements hormonaux appliqués : les enseignements qui en sont tirés apportent une contribution à la conception d'un protocole d'induction de lactation efficace chez des jeunes animaux.

### INTRODUCTION

Les laboratoires pharmaceutiques utilisent depuis longtemps les micro-organismes recombinants pour la synthèse de certains médicaments et des protéines d'intérêt médical dont la plus connue est l'insuline. Mais certaines protéines tels que l'érythropoïétine humaine et le facteur de coagulation, qui est déficient chez les hémophiles, nécessitent des modifications post-transductionnelles qui se déroulent dans des cellules animales spécialisées (Panthier et Delouis, 1993; Houdebine, 1998). Ces modifications ne peuvent être assurées par les micro-organismes et dans ces cas, ceux-ci sont remplacés par des grandes espèces animales transgéniques, notamment les mammifères domestiques (Wall *et al.*, 1997; Pintado et Guitierrez-Adan, 1999). Les faibles taux de réussite des manipulations génétiques chez les mam-

mifères et le devenir incertain des gènes modifiés, même après une manipulation parfaitement réussie au stade embryonnaire (Pennisi et Vogel, 2000), nécessitent qu'un contrôle soit effectué après la naissance pour identifier les animaux transgéniques.

Le lait est actuellement la meilleure sécrétion vers laquelle l'excrétion des produits bio-synthétisés peut être orientée afin d'en faciliter la récolte. De nombreux gènes modifiés sont ainsi programmés pour s'exprimer dans le lait (Wilmot *et al.*, 1990; Gershon, 1991; Wall *et al.*, 1997; Enserink, 1998). Il suffirait dans ces conditions de contrôler le lait d'animaux issus d'embryons génétiquement modifiés pour sélectionner ceux qui sont véritablement transgéniques et répondent aux objectifs visés. Cependant, le grand intervalle de génération qui caractérise la plupart des mammifères domestiques retarde considérablement cette sélection qui,

dans les conditions naturelles, n'est effective qu'à la première lactation c'est-à-dire 24 mois environ après la naissance dans l'espèce bovine. L'induction artificielle de la lactation à l'âge de 6-7 mois peut dans ces cas servir à gagner du temps.

Par le passé, la connaissance du mécanisme hormonal de la mammo-genèse et de la lactogenèse a permis la reproduction artificielle de la lactation chez certaines femelles laitières, par un traitement hormonal à base de stéroïdes ovariens et d'hormones corticoïdes. Ce fut le cas pour des sujets présentant des malformations congénitales de l'appareil reproducteur, les empêchant d'être gestantes et d'avoir une lactation naturelle (Smith et Schanbacher, 1974; Pont et Delouis, 1987). Plusieurs schémas d'induction de la lactation ont été proposés par les chercheurs (Turner *et al.*, 1956; Smith et Schanbacher, 1973; Peel *et al.*, 1979; Davis *et al.*, 1983), mais les

Tableau I: Données expérimentales sur les animaux de l'essai 1

Animaux (N°)	Race	Age en début d'essai(mois)	Poids en début d'essai (kg)	Etat général des animaux
209	<i>Red Holstein</i>	6,5	147	Bon
210	<i>Red Holstein</i>	6	103	Maigre
579	<i>Friesian Holstein</i>	6	116	Satisfaisant
1654	<i>Friesian Holstein</i>	7	122	Satisfaisant
2792	<i>Red Holstein</i>	6	138	Bon
<b>Moyenne du lot</b>		<b>6,3</b>	<b>125,2</b>	-

Tableau II: Données expérimentales sur les animaux de l'essai 2

Animaux (N°)	Race	Age en début d'essai(mois)	Poids en début d'essai (kg)	Etat général des animaux
319	<i>Friesian Holstein</i>	6	116	Bon
2465	<i>Red Holstein</i>	7	165	Satisfaisant
3267	<i>Red Holstein</i>	7	120	Bon
3826	<i>Friesian Holstein</i>	6,5	105	Bon
9609	<i>Friesian Holstein</i>	6,5	108	Bon
<b>Moyenne du lot</b>		<b>6,6</b>	<b>122,8</b>	-

expérimentations ont été effectuées exclusivement sur des animaux adultes. Afin de vérifier l'efficacité d'une induction artificielle de la lactation sur des femelles impubères, nous avons effectué à la Faculté de Médecine Vétérinaire (ULg), 2 essais d'induction de lactation sur des génisses non transgéniques de 6 à 7 mois, entre les mois de novembre 1999 et d'avril 2000. Ces essais sont basés sur un traitement hormonal de courte durée (Smith et Schanbacher, 1974). Ils devaient par ailleurs contribuer à définir un schéma d'induction simple et fiable, applicable sur des jeunes animaux.

## MATERIEL ET METHODES

### LES ANIMAUX

Dans chaque essai, 5 génisses Holstein (*Red Holstein* et *Friesian Holstein*) maintenues en stabulation dans des boxes individuels ont été utilisées. Elles étaient âgées de 6 à 7 mois et pesaient entre 103 et 165 kg en début d'essai (tableaux I et II). Leur alimentation était constituée de foin à volonté, complété de 300 à 500 g de concentré par individu et par jour.

Les boucles auriculaires attribuées dans le système Sanitel ont servi pour l'identification des génisses durant les essais.

### SUBSTANCES MEDICAMENTEUSES UTILISEES

- CIDR (*Controlled Intravaginal Drug Release*). Le CIDR, dispositif en Y imprégné de 1,94 g de progestérone et recouvert de silicone d'élastomère, est utilisé par voie intravaginale (InterAg, Hamilton, New Zealand).
- Progestérone et oestradiol 17 $\beta$ , solubilisés dans de l'hydroxyethyl amidon-NaCl 0,9 % et dosant respectivement 10 mg/ml et 5 g/ml (Sigma-Aldrich, Bornem, Belgique).
- Hydrocortisone (125 mg/ml) (Upjohn, Puurs, Belgique).
- Dexaméthasone (dexaméthasone natri-phosphate: 1,32 mg/ml – dexaméthasone phenyl-propionate: 2,67 mg/ml) (Intervet, Pays-Bas).

### CONDUITE DES ESSAIS

#### ESSAI 1

L'essai a débuté par l'insertion vaginale de CIDR chez les génisses à l'aide d'un applicateur aseptisé; les deux bras du dispositif ont été écourtés afin de les adapter à la taille réduite du vagin des animaux en essai. Le traitement au CIDR a duré 7 jours pour permettre une imprégnation progestéronique suffisante des génisses. Pendant la même période, elles ont reçu des injections intra musculaires

d'oestradiol 17 $\beta$ . Deux doses différentes de cette hormone ont été employées dans le premier essai: 0,05 mg/kg injecté 2 fois par jour (matin et soir) chez les génisses 209, 210 et 1654 (Smith et Schanbacher, 1974; Pont et Delouis, 1987), et une injection unique de 0,05 mg/kg/jour administrée le matin chez les génisses 579 et 2792 (Erb *et al.*, 1976; Diane *et al.*, 1981).

Après le retrait des CIDR et la cessation des injections d'oestradiol 17 $\beta$  c'est-à-dire le huitième jour, tous les animaux ont été traités à l'hydrocortisone injectée 2 fois à 4 heures d'intervalle à la dose de 25 mg/animal. Ce traitement adjuvant fut poursuivi 7 à 10 jours plus tard par 3 injections de dexaméthasone administrée à la dose de 0,08 mg/kg/jour. Les *Red Holstein* (209, 210 et 2792) ont été les premières traitées par la dexaméthasone, et c'est en fonction de leurs résultats que ce traitement a été étendu aux *Friesian Holstein* (579 et 1654), avec un décalage de 3 jours.

#### ESSAI 2

Dans le second essai, les CIDR ont été remplacés par des injections de progestérone en suspension administrée à la dose de 0,25 mg/kg/jour (Smith et Schanbacher, 1974; Chakriyarat *et al.*, 1978; Peel *et al.*, 1979), dose fractionnée en 2 injections matin et soir. Simultanément les génisses ont reçu des injections d'oestradiol 17 $\beta$  comme au premier essai, mais cette fois-ci, tous les animaux ont été traités avec une même dose d'oestradiol soit 0,05 mg/kg injecté 2 fois par jour, matin et soir.

Le traitement par les hormones stéroïdes ovariennes (progestérone et oestradiol 17 $\beta$ ) a également duré 7 jours; une période de repos de 5 jours a suivi, puis ce traitement a été complété par des injections de dexaméthasone, administrée à la dose de 0,16 mg/kg/jour pendant 2 à 3 jours.

### ECHANTILLONNAGE SANGUIN ET DOSAGE DE LA PROGESTERONE PLASMATIQUE

Deux prélèvements sanguins servant à établir les valeurs de référence de base ont précédé le début de chaque essai. La collecte du sang s'est ensuite déroulée tous les jours durant la période de traitement par les stéroïdes ovariens, et elle a continué quelque

Tableau III: Quantités de lait récoltées au cours de l'essai 1

Animaux (N°)	Lactation par rapport au début du traitement hormonal	Quantité moyenne par jour (en ml) ± erreur standard	Valeur initiale (en ml)	Valeur maximale (en ml)
209	16 <sup>ème</sup> jour	974 ± 52	20	1700
210	18 <sup>ème</sup> jour	43 ± 6	10	75
579	18 <sup>ème</sup> jour	363 ± 19	10	700
1654	18 <sup>ème</sup> jour	381 ± 23	10	770
2792	19 <sup>ème</sup> jour	153 ± 20	10	250
<b>Moyenne générale du premier essai</b>		<b>509 ± 30</b>	<b>12</b>	<b>699</b>

Tableau IV: Quantités de lait récoltées au cours de l'essai 2

Animaux (N°)	Lactation par rapport au début du traitement hormonal	Quantité moyenne par jour (en ml) ± erreur standard	Valeur initiale (en ml)	Valeur maximale (en ml)
319	13 <sup>ème</sup> jour	335 ± 25	30	520
3267	13 <sup>ème</sup> jour	88 ± 6	10	120
3826	13 <sup>ème</sup> jour	95 ± 9	10	155
9609	13 <sup>ème</sup> jour	35 ± 4	10	60
<b>Moyenne générale du premier essai</b>		<b>144 ± 14</b>	<b>15</b>	<b>213,75</b>

temps après cette période. Le sang était prélevé à la jugulaire dans des tubes vacutainer de 10 ml contenant de l'héparine. Le plasma obtenu après centrifugation des prélèvements à 4°C, était congelé jusqu'au moment du dosage. Ce dosage a concerné uniquement la progestérone plasmatique; il a été effectué par RIA (Radio-immunoassay) en se servant du "Progestérone RIA kit" (ICN pharmaceuticals, Costa Mesa, California).

### TRAITE DES GENISSES

Dans les 2 essais, la traite a commencé 24 heures après le début du traitement aux hormones corticoïdes

(hydrocortisone ou dexaméthasone). D'une façon générale, de petits massages de trayon appliqués pendant la période de repos ont précédé le début de la traite. Les animaux étaient traités manuellement une fois par jour, et uniquement le matin.

## RESULTATS

### ESSAI 1

#### DEVELOPPEMENT DE LA MAMELLE

Avant les essais, seuls de petits tétons peu visibles à distance (photos 1 et 2) constituaient l'essentiel de la mamelle

le des génisses. Durant la période du traitement au CIDR et à l'œstradiol 17β, la mamelle a progressivement augmenté de volume. A la fin de ce traitement, elle était nettement plus visible, constituée de 4 quartiers bien distincts et de trayons saillants (photos 3, 4 et 5). Les tentatives de traite effectuées à ce moment n'ont cependant rien donné. Les génisses 209 et 210 ont eu une mamelle plus développée par rapport au reste du groupe.

### LACTATION

La lactation a commencé dès la seconde injection de dexaméthasone située entre le 16<sup>e</sup> et le 19<sup>e</sup> jour après le début de l'essai, selon les génisses (tableau III). Les animaux 209, 579 et 1654 ont eu une lactation progressivement croissante pendant 2 semaines environ; elle s'est ensuite stabilisée les semaines suivantes. Néanmoins, de petits pics sporadiques ont continué d'être relevés notamment chez l'animal 209 (figure 1). Ces génisses ont été maintenues en lactation pendant 7 semaines. Les 2 autres (210 et 2792) n'ont eu qu'une très faible lactation. Elles ont été tarées volontairement au bout de 2 semaines de lactation. Durant cette période, les quantités de lait récoltées n'ont pas varié.

#### EVOLUTION DES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE PROGESTERONE AU COURS DE

### ESSAI 1

Partant d'une valeur initiale nulle en début d'essai, les concentrations plas-



Photos 1 et 2 : Mamelle inapparente avant le traitement hormonal

Photos 3, 4 et 5 : Mamelle développée après le traitement hormonal

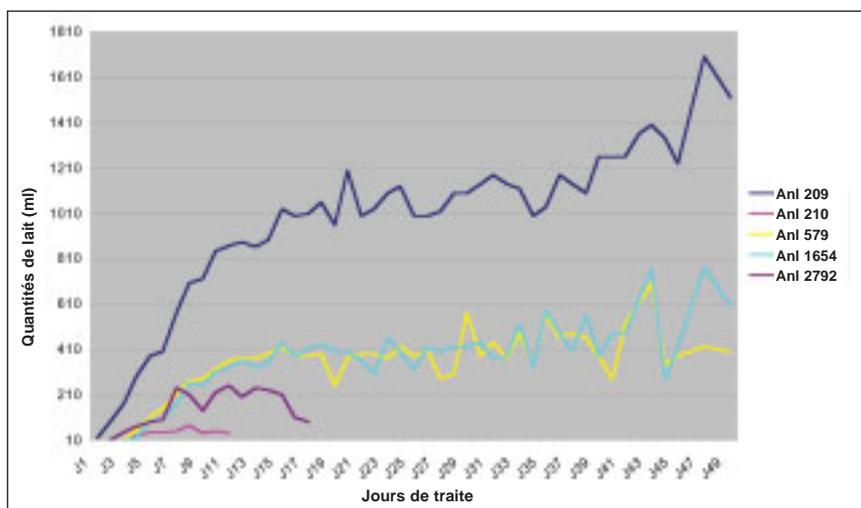


Figure 1: Evolution de la lactation à l'essai 1

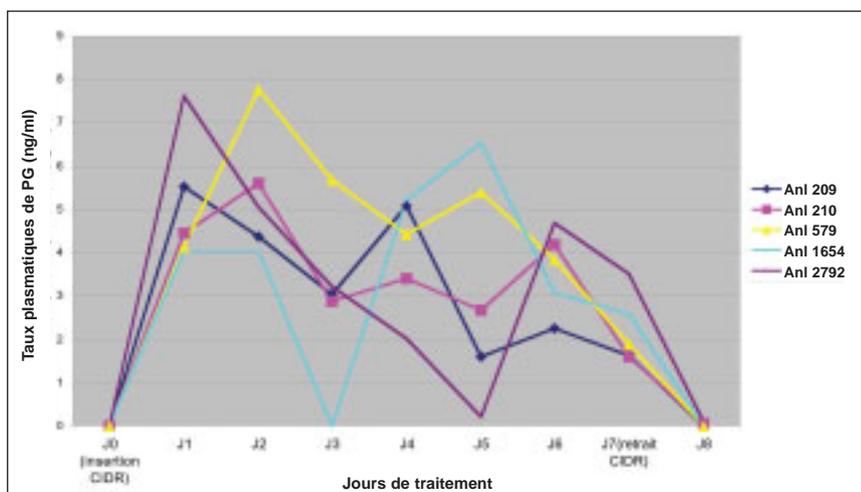


Figure 2: Courbes de progestérone (PG) au cours de l'essai 1

matiques de progestérone ont rapidement atteint des taux de 4 à 7 ng/ml 24 à 48 heures après l'insertion des CIDR. Ces taux se sont maintenus pendant 2 à 3 jours avant de chuter progressivement à partir du 6<sup>e</sup>-7<sup>e</sup> jour de traitement. Ils sont finalement tombés à zéro 24 heures après le retrait des CIDR (figure 2).

Les génisses 1654 et 2792 ont perdu leurs CIDR respectivement au 3<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> jour de traitement (figure 2); ceux-ci ont été réinsérés pour la suite de l'essai.

## ESSAI 2

### DEVELOPPEMENT DE LA MAMELLE

Dans le second essai, l'animal 319 est la seule génisse à avoir eu une mamelle bien développée en fin de traitement hormonal. Chez les autres, la différenciation des 4 quartiers mammaires est apparue moins nette;

mais une bonne turgescence des trayons a été observée.

### LACTATION

Les animaux du second essai ont eu une lactation moins satisfaisante à l'exception de la génisse 319 qui a produit des quantités de lait appréciables (tableau IV). Les génisses de cet essai ont été maintenues en lactation pendant 3 semaines environ (figure 3), durant lesquelles le niveau général de la lactation n'a pas beaucoup évolué. L'animal 2465 a été éliminé du groupe avant la phase de lactation pour des raisons indépendantes de l'expérience.

### EVOLUTION DES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE PROGESTERONE AU COURS DE L'ESSAI 2

Les concentrations plasmatiques de progestérone ont également atteint des taux de 4 à 7 ng/ml dans cet essai,

pendant les injections de stéroïdes ovariens; mais ces taux se sont maintenus plus longtemps par rapport au premier essai, avant de décroître. Des concentrations élevées de progestérone ont par ailleurs été enregistrées 24 heures après l'arrêt des injections (Figure 4).

## DISCUSSION ET CONCLUSIONS

En se référant aux lactations obtenues, on peut affirmer que l'induction artificielle de la lactation chez des femelles impubères est possible en appliquant un traitement hormonal de courte durée (Smith et Schanbacher, 1973; Collier *et al.*, 1976; Pont et Delouis, 1987). Les quantités de lait récoltées sont cependant très faibles comparativement aux performances réalisées par des animaux adultes (Davis *et al.*, 1983; Fulkerson et McDowell, 1975; Pont et Delouis, 1987). La mise en lactation prématurée des jeunes femelles à des fins spéculatives n'est donc pas d'actualité. L'objectif premier de ces essais est cependant atteint; les lactations précoces pouvant assurer la mise en œuvre d'un test diagnostique d'animaux transgéniques.

A l'issue de ces essais, plusieurs observations peuvent être faites concernant notamment les traitements hormonaux effectués.

L'administration de l'hydrocortisone au premier essai a suivi immédiatement la fin du traitement par les stéroïdes ovariens, par souci de se rapprocher d'avantage des conditions naturelles et de synchroniser l'injection de l'hormone corticoïde avec la chute du taux de progestérone (Head *et al.*, 1982). Ce traitement corticoïde ne fut suivi d'aucune lactation.

L'administration supplémentaire de dexaméthasone 7 à 10 jours plus tard (voir conduite de l'essai 1), déclencha la lactation chez toutes les génisses dès la seconde injection. Il est probable que l'hydrocortisone de courte demi-vie et dont le rôle dans la synthèse des protéines du lait n'est que complémentaire à celui de la prolactine, ait interféré avec les concentrations résiduelles de progestérone. Celle-ci est connue pour son puissant effet inhibiteur sur la sécrétion de prolactine.

Par ailleurs, il faut rappeler que seules les cellules épithéliales mam-

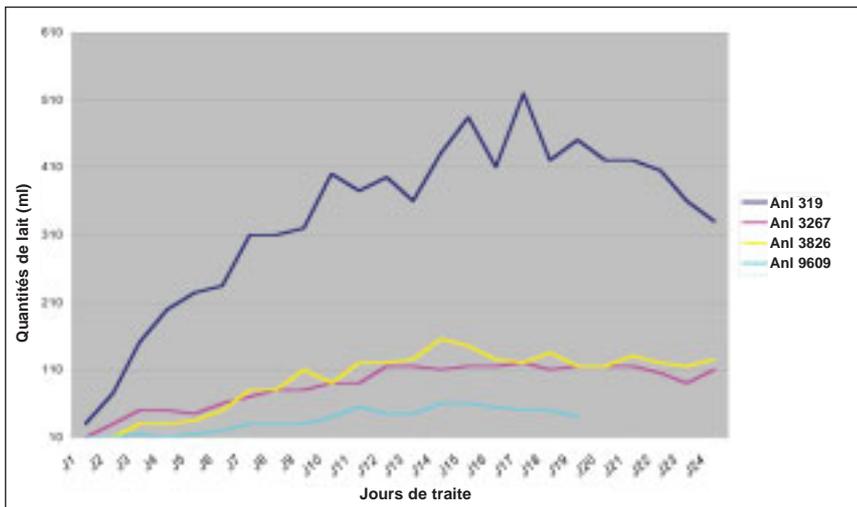


Figure 3: Evolution de la lactation à l'essai 2

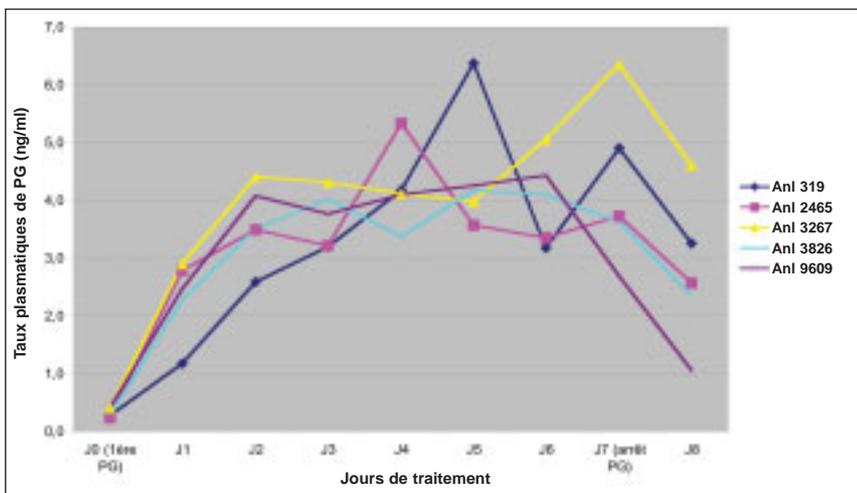


Figure 4: Courbes de progestérone au cours de l'essai 2

maires différenciées ont une activité sécrétrice. Au cours d'une induction artificielle de la lactation, cette différenciation n'aurait véritablement lieu qu'au-delà de 7 jours de traitement par les stéroïdes ovariens (Croom *et al.*, 1976; Fleming *et al.*, 1986). C'est pendant cette période qu'il y a multiplication des récepteurs à la prolactine (Deis *et al.*, 1993; Linzer *et al.*, 1993). La combinaison de ces facteurs pourrait justifier l'inefficacité d'un traitement corticoïde précoce. L'échec du traitement précoce à l'hydrocortisone montre par conséquent l'intérêt d'une pause suffisante entre l'administration des stéroïdes ovariens et celle d'hormones corticoïdes, lorsqu'on adopte un schéma d'induction de très courte durée.

Le second essai a engendré une lactation moins satisfaisante malgré une durée égale de traitement et des concentrations plasmatiques de progestérone d'un niveau appréciable et

en accord avec les données de la littérature (Willett *et al.*, 1974; Chakriyarat *et al.*, 1978; Erb *et al.*, 1976; Head *et al.*, 1982). Mais, la persistance de la progestérone observée 24 heures après l'arrêt des injections, mime mal les modifications physiologiques de fin de gestation qu'on cherche à reproduire, c'est-à-dire une chute rapide de la progestérone plasmatique se traduisant par la levée de l'inhibition exercée sur la prolactine, hormone essentielle de la lactogénèse (Smith *et al.*, 1973; Erb *et al.*, 1976; Collier *et al.*, 1976; Head *et al.*, 1982). Cette rémanence non souhaitée peut de toute évidence être associée à la forme galénique de la progestérone utilisée au second essai: une suspension aqueuse de l'hormone constituée de nombreux microcristaux ayant tendance à s'accumuler dans les masses musculaires au fil des injections. Leur résorption est très lente (Smith et Schanbacher, 1974). L'effet retard de la progestérone en

suspension pourrait expliquer le faible niveau de lactation enregistré au second essai.

S'agissant de la réponse à la stimulation hormonale, l'utilisation de faibles doses d'œstradiol (Erb *et al.*, 1976; Peel *et al.*, 1979; Diane *et al.*, 1981) ne semble pas affecter le niveau de lactation. Dans le premier essai, les génisses 579 et 2792 traitées avec des demi-doses d'œstradiol 17 $\beta$ , n'ont pas produit de quantités de lait inférieures.

Les effets de l'âge et du poids sur les résultats obtenus sont difficilement mesurables compte tenu de l'effectif réduit des animaux d'essai, et des faibles écarts d'âge et de poids entre les génisses. Ces effets peuvent être à l'origine des faibles performances de l'animal 210 qui en début d'essai accusait un retard de croissance par rapport aux autres animaux du groupe.

La génisse 209 a montré des signes d'hyper œstrus (Smith et Schanbacher, 1973; Narendran *et al.*, 1974; Chakriyarat *et al.*, 1978) au cours du premier essai, en dépit de la courte durée du traitement et de l'administration de doses modérées d'œstradiol. L'hypothèse d'une génisse précocement cyclée avait été avancée; elle n'a pas été confirmée par les contrôles hormonaux réalisés plus tard. C'est cependant le sujet qui a produit le plus de lait.

Considérant le faible niveau de lactation engendré, l'intérêt d'une induction artificielle de la lactation chez des femelles impubères reste avant tout scientifique. Elle nécessite comme chez les adultes une bonne maîtrise des effets des hormones stéroïdes utilisées et le respect d'une certaine chronologie dans l'administration des différentes substances médicamenteuses.

Tout semble se jouer en fin de traitement par les stéroïdes ovariens, notamment pendant la période de décroissance de la progestérone, dont la vitesse de disparition dans le sang influence le niveau de la future lactation. Ainsi, les formes galéniques de progestérone de courte demi-vie, donnent des résultats meilleurs par rapport aux formes rémanentes. Le CIDR est plus pratique; il est non-rémanent et son utilisation diminue les contraintes et stress engendrés par les injections répétées. Il présente cependant l'inconvénient de ne pas

adhérer convenablement aux parois vaginales. Il pourrait être remplacé par des spirales ou des éponges vaginales imprégnées de progestérone, qui ont donné des résultats satisfaisants chez les adultes (Davis *et al.*, 1983).

Une autre solution consisterait à solubiliser les stéroïdes dans de l'alcool puis dans de l'huile médicinale; mais pour ce qui concerne la progestérone, cette opération est malaisée du fait d'une saturation rapide de la solution. Par ailleurs, l'injection d'une forme galénique solubilisée dans de l'alcool absolu ne répond pas aux recommandations en matière du bien-être animal.

D'autres essais pourront suivre afin de mieux comprendre les points restés obscurs à l'issue de cette expérience notamment l'étude du processus de croissance et de différenciation des cellules sécrétrices mammaires chez les jeunes femelles, et l'évaluation des conséquences possibles d'une induction hormonale sur les performances de reproduction futures des femelles précocement induites. En attendant, les génisses 209, 1654 et 579, ont été facilement inséminées à leur puberté et les naissances ont été enregistrées au cours des mois de juin et juillet 2001. Les mises-bas ont été suivies de lactations remarquables.

L'insémination n'a cependant pas été possible chez la génisse 319 retenue également pour les tests de reproduction. Son examen clinique a permis

de déceler une atrésie vaginale après le méat urinaire, la présence d'une seule corne utérine atrophiée et d'un seul ovaire palpable mais de volume normal. Cette génisse est un parfait exemple de femelle souffrant de malformations congénitales de l'appareil reproducteur, qui peut cependant être induite artificiellement en lactation.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient :

**Dr Steve Goode**, managing director of Biotronics Limited Unit 1, qui a mis gracieusement à leur disposition les CIDR utilisés.

**Madame Brigitte Evrard et Monsieur Michel Deprez** du CHU-Pharmacie (ULg), pour l'aide apportée à la solubilisation de la progestérone et l'oestradiol 17 $\beta$ .

**Catherine Blum et Sylvie Vandervecken**, étudiantes à la faculté de médecine vétérinaire (ULg) qui ont assuré une partie du suivi et les soins aux animaux.

## SUMMARY

### Artificial induction of lactation in heifers aged from 6 to 7 months

The rates of successful gene's manipulations are very low in

domestic mammals. In addition the period between generations in cows is long. Artificial induction of lactation in young animals could improve manipulation yield for genes what are expressed in the udder, by anticipating the control of transgen expression in milk, a long time before the beginning of the milk production in normal condition. Using this method, the early selection of real transgenic animals would be possible.

Between November 1999 and April 2000, lactation was induced in non-transgenic heifers aged from 6 to 7 months, in 2 trials based on short time hormonal treatment, with the goal of verifying the efficiency of the technique on immature heifers, and setting up a simple and reliable treatment scheme applicable on young animals. Interesting lactations (35 to 974 ml/day) were obtained, but the milk yield was low compared to adult performances.

Results of the 2 trials were different, in relation with the galenical form of progesterone used and the frequency of drugs administration. So, these trials provide an efficient treatment scheme for induction of lactation in young heifers.

---

## BIBLIOGRAPHIE

- CHAKRIYARAT S., HEAD H.H., THATCHER W.W., NEAL F.C., WILCOX C.J. Induction of Lactation: Lactational, Physiological, and Hormonal Responses in the Bovine. *J. Dairy Sci.*, 1978, **61**, 1715-1724.
- COLLIER R.J., BAUMAN D.E., HAYS R.L. Effect of Reserpine on Milk Production and Serum Prolactin of Cows Hormonally Induced Into Lactation. *J. Dairy Sci.*, 1976, **60**, 896-900.
- CONVEY E.M. Serum Hormone Concentrations in Ruminants During Mammary Growth, Lactogenesis, and Lactation: a Review. *J. Dairy Sci.*, 1973, **57**, 905-915.
- CROOM W.J., COLLIER R.J., BAUMAN D.E., HAYS R.L. Cellular Studies of Mammary Tissue from Cows Hormonally Induced into Lactation: Histology and Ultrastructure. *J. Dairy Sci.*, 1976, **59**, 1232-1245.
- DAVIS S.R., WELCH R.A.S., PEARCE M.G., PETERSON A.J. Induction of lactation in non pregnant cows by oestradiol 17 $\beta$  and progesterone from intravaginal sponge. *J. Dairy Sci.*, 1983, **66**, 450-457.
- DEIS R.P., JAHN G.A., PERIER A. Physiologie et biochimie de la lactogénèse. Stimulation de la montée laiteuse par les antiprogestatifs. In : Martinet J., Houdebine J.M. Biologie de la lactation. INSERM/INRA Editions : Paris, 1993, 179-192.
- DIANE L.J., ERB R.E., MALVEN P.V., CALLAHAN C.J., VEENHUIZEN E.L. Artificial Induction of Lactation In Cattle: Effect of Modified Treatments on Milk Yield, Fertility, And Hormones In Blood Plasma And Milk. *Theriogenology*, 1981, **16**, 315-326.
- ENSERINK M. Dutch Pull the Plug on cow cloning. *Science*, 1998, 279, 1444.
- ERB R.E., MALVEN P.V., MONK E.L., MOLLETT T.A., SMITH K.L., SCHANBACHER F.L. Hormone induced lactation in the cow. IV. Relationships between lactational Performance and Hormone Concentrations in Blood Plasma. *J. Dairy Sci.*, 1976, **59**, 1420-1428.
- FLEMING J.R., HEAD H.H., BACHMAN K.C., BECKER H.N., WILCOX C.J. Induction of Lactation: Histological

- and Biochemical Development of Mammary Tissue and Milk Yields of cows Injected with Estradiol-17 $\beta$  and Progesterone for 21 Days. *J. Dairy Sci.*, 1986, **69**, 3008-3021.
- FULKERSON W.J., Mc DOWELL. Artificial Induction of Lactation in Cattle by Use of Dexamethasone Trimethylacetate. *Aust. J. Biol. Sci.*, 1975, **28**, 183-187.
- GERSHON D. Will milk shake up industry? *Nature*, 1991, **353**, 7.
- HEAD H.H., CHAKRIYARAT S., THATCHER W.W., WILCOX C.J., BECKER H.N. Induction of Lactation: Comparison of Injections of Estradiol-17 $\beta$  and Progesterone for 7 or 21 Days on Prolactin Response to Thyrotropin Releasing Hormone and Milk Yield in Dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1979, **65**, 927-936.
- HEAD H.H., DELOUIS C., FEVRE J., KANN G., TERQUI M., DJIANE J. Hormone levels in plasma of ewes induced into lactation. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 1982, **22**, 641-650.
- HOUBEINE L-M. Les animaux transgéniques. Tec et Doc Lavoisier et Editions médicales internationales : Paris, 1998, 157-168.
- LINZER D.I., DAVIS J.A., CLARKE D.L., YOUNG K. Structure, fonction et expression du récepteur de la prolactine chez les mammifères. In : Martinet J., Houdebine J-M., Biologie de la lactation. INSERM/INRA Editions: Paris, 1993, 167-176.
- NARENDRAN, HACKER R. Hormonal Induction of Lactation in Heifers and cows. *J. Dairy Sci.*, 1974, **57**, 635-638.
- PANTHIER J.J., DELOUIS C. Ciblage de l'expression génique dans la glande mammaire. *Rec. Méd. Vét.*, 1993, **169**, 21-28.
- PEEL C.J., TALOR J.W., ROBINSON I.B., HOOLEY R.D. The Use of Oestrogen, Progesterone and Reserpine in the Artificial Induction of Lactation in Cattle. *Aust. J. Biol. Sci.*, 1979, **32**, 251-259.
- PENNISI E., VOGEL G. Clonage: la nature résiste. *La Recherche*, 2000, **334**, 28-72.
- PINTADO B., GUTIERREZ-ADAN A. Transgenesis in large domestic species: future development for milk modification. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 1999, **39**, 535-544.
- PONT J., DELOUIS C. Induction hormonale de la lactation chez la vache: résultats de trois années d'expérimentation en ferme. *Ann. Zootech.*, 1987, **36**, 237-248.
- SMITH K.L., SCHANBACHER F.L. Hormone induced lactation in the bovine. I. Lactational performance following injections of 17 $\beta$ -oestradiol and progesterone. *J. Dairy Sci.*, 1973, **56**, 738-743.
- SMITH K.L., SCHANBACHER F.L. Hormone Induced Lactation in the Bovine. II. Responses of Nulligravida Heifers to Modified Oestrogen-Progesterone Treatment. *J. Dairy Sci.*, 1974, **57**, 296.
- SMITH V.G., EDGERTON L.A., HAFS H.D., CONVEY E.M. Bovine Serum Estrogens, Progestins and Glucocorticoids During Late Pregnancy, Parturition And Early Lactation. *J. Anim. Sci.*, 1973, **36**, 391-396.
- TURNER C.W., YAMAMOTO H., RUPPERT H.L., JR. The experimental induction of growth of the cow's udder and the initiation of milk secretion. *J. Dairy Sci.*, 1956, **39**, 1717-1728.
- WALL R.J., KERR D.E., BONDIOLI K.R. Transgenic Dairy Cattle: Genetic Engineering on a Large Scale. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 2213-2224.
- WILLETT L.B., SMITH K.L., ERB E.L., MONK T.A. Plasma hormone profiles during hormonally induced lactations. *J. Dairy Sci.*, 1974, **57**, 636-637.
- WILMUT I., ARCHIBALD A.L., HARRIS S., McCLENAGHAN M., SIMONS J.P., WHITELAW C.B.A., CLARK A.J. Modification of milk composition. *J. Reprod. Fert., Suppl.*, 1990, **41**, 135-146.