

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

Résumé

- Orientation:** Médecine vétérinaire
- Titre de la thèse en français :** Nouvelles investigations sur les protéines trophoblastiques, hormones hypophysaires et gonadiques durant le premier trimestre de la gestation chez le bovin
- Titre de la thèse en anglais :** New investigations on trophoblastic proteins, pituitary and gonadic hormones during the first trimester of bovine pregnancy
- Candidat :** Abdelhanine AYAD
- Promoteur :** Professeur Jean-François BECKERS
- Co-promoteur :** Docteur Jean-Luc HORNICK
- Département et Service :** Département des Sciences fonctionnelles, Secteur de Physiologie de la Reproduction animale, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique
- Date de la défense publique :** 15 juin 2007
- Composition du Jury :**
- Membres du comité de thèse :*
Professeur J.-F. Beckers (Promoteur), Dr J. Hornick, Dr J. Sulon, Dr K. Touati, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique
- Membres extérieurs à la faculté :*
Professeur Chr. Burvenich, Département de Physiologie et de Biométrie, Faculté de Médecine vétérinaire, Gand, Belgique
Professeur P. Renaville, Faculté universitaire des Sciences agronomiques, Gembloux, Belgique
- Membres internes à la faculté de Médecine vétérinaire :*
Dr I. Dufrasne, Professeurs L. Grobet, Chr. Hanzen, P Leroy, F. Rollin, P. Lekeux (Président du Jury)

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

Les protéines associées à la gestation (PAGs) constituent une grande famille de protéinases aspartiques exprimées dans les cellules épithéliales de la couche superficielle du placenta des artiodactyles et plus précisément dans les granules des cellules binucléées. Des investigations par biologie moléculaire (clonage et séquençage) ont permis de montrer que les protéines de la gestation font partie de la grande

famille des protéases aspartiques tout comme le pepsinogène, la pepsine, la chymosine, les cathepsines D et E, et la rénine. La détermination des concentrations en PAG par radioimmunoassay dans le sérum ou dans le plasma est actuellement employée comme méthode sérologique spécifique pour le diagnostic de gestation chez le bovin dès le 28^e jour après la conception. Au-delà de ce délai, les dosages des PAGs peuvent également être utilisés pour assurer le suivi de la

gestation notamment dans le cadre de l'étude de la mortalité embryonnaire précoce ou tardive et de la mortalité fœtale.

Au moment d'entreprendre nos investigations expérimentales, une attention particulière a été portée à notre maîtrise des systèmes de dosages radioimmunologiques notamment dans les zones des faibles concentrations de PAG caractérisant le premier trimestre de la gestation chez les bovins. C'est ainsi que les deux premières études

sur lesquelles repose ce travail de thèse ont visé à tester de nouveaux antisérums dirigés contre la PAG et à comparer leurs performances en milieu sérique ou plasmatique. Ensuite, cinq différents systèmes de dosages (utilisant différents antisérums) ont été comparés quant à leur sensibilité, spécificité, exactitude des diagnostics positifs et exactitude des diagnostics négatifs, sur des séries de plasmas provenant de femelles non gestantes et de femelles gestantes durant le premier trimestre de la gestation. Dans une troisième étude, les concentrations de PAG, d'hormone lutéotrope (LH) et de prolactine ont été interprétées en fonction d'une classification basée sur le niveau de progestérone mesuré chez les femelles à jour 21.

Dans la première étude, l'objectif a été de déterminer les paramètres de limite minimale de détection, reproductibilité, exactitude, spécificité et parallélisme des dilutions caractérisant les cinq systèmes radioimmunologiques différents : RIA-497, RIA-706, RIA-780, RIA-809 et RIA-Pool. Ensuite, leur capacité à distinguer les femelles non gestantes et gestantes prélevées au 30^e jour suivant l'insémination artificielle a été analysée dans le détail. L'étude a été menée sur un effectif de 40 femelles de race Holstein-Frisonne d'âge et de parité mélangés dont la gestation a été confirmée par exploration rectale réalisée entre le 2^e et le 3^e mois après l'insémination. Un groupe contrôle composé de dix vaches maintenues en stabulation entravée confirmées non gestantes par examen échographique et exploration rectale a été utilisé simultanément. Les caractéristiques générales des différents systèmes étaient satisfaisantes. Leur spécificité était excellente à l'exception du système RIA-809 ayant montré une très

légère interférence de l'acide sialique et de la gonadotropine chorionique humaine (hCG). Les concentrations mesurées dans le plasma des femelles non gestantes sont restées inférieures à 0,5 ng/mL excepté celles qui étaient mesurées dans les systèmes RIA-780 et RIA-809. Seuls les systèmes RIA-497, RIA-706 et RIA-Pool ont fourni des valeurs de sensibilité, spécificité, exactitude des diagnostics positifs, exactitude des diagnostics négatifs égales à 100 %.

Dans la deuxième étude, les cinq systèmes de dosage ont été utilisés pour déterminer les concentrations de PAG dans le plasma aux jours 30, 45, 60 et 80. Les corrélations ont été calculées entre les systèmes ainsi que les rapports de concentrations mesurées par chacun d'eux : les systèmes RIA-706, RIA-780, RIA-809 et RIA-Pool ont révélé des valeurs plus élevées que le RIA-497 à tous les stades étudiés.

La troisième étude a visé à vérifier une hypothèse formulée à plusieurs reprises par différents auteurs : le niveau de concentration en progestérone atteint en début de gestation est-il susceptible d'interagir avec les concentrations de protéines trophoblastiques, de LH et de prolactine mesurées plus tard durant le premier trimestre de la gestation ? Dans cette étude, nous avons déterminé les concentrations de l'ensemble des paramètres sur les prélèvements correspondant aux jours 0, 21, 30, 45, 60 et 80 de 37 femelles gestantes. Les femelles ont été réparties en deux sous groupes : celles dont la progestérone au jour 21 était inférieure à la moyenne (*Low-P4*) et celles dont la même progestérone était supérieure à la moyenne au jour 21 (*High-P4*). Lorsque les deux sous groupes ont été suivis aux périodes ultérieures

(jours 30, 45, 60 et 80), il est apparu que les concentrations de PAG ont eu tendance à être plus élevées dans tous les systèmes chez les vaches du groupe *High-P4*. Une différence significative est atteinte en utilisant le RIA-497 au jour 80. Les concentrations en LH et prolactine ont eu tendance à être plus faibles à toutes les périodes chez les vaches faisant partie du groupe *High-P4*. La différence a été significative pour la LH à jour 60 et pour la prolactine à jour 21.

Dans leur ensemble, les résultats de ce travail montrent que le diagnostic de gestation peut être amélioré (sensibilité, spécificité, exactitude des diagnostics positifs, exactitude des diagnostics négatifs) en sélectionnant soigneusement les antisérums et en les mélangeant de façon appropriée. Ces systèmes sont utilisables pour suivre les concentrations de PAG durant le premier trimestre de la gestation, les résultats étant fortement corrélés tout en montrant des profils différents. Associées au dosage de la progestérone, de la LH et de la prolactine, les investigations sur les PAGs permettent de progresser dans l'étude des régulations qui relie l'hypophyse, les gonades et le trophoblaste durant le premier trimestre de la gestation.

REFERENCES

- AYAD A., SOUSA N.M., SULON J., IGUER-OUADA M., BECKERS J.-F. Comparison of five radioimmunoassay systems for PAG measurement: ability to detect early pregnancy in cows. *Reprod. Domest. Anim.*, 2007, **42**, 433-440.
- AYAD A., SOUSA N.M., SULON J., HORNICK J.-L., WATTS J., LOPEZ-GATIUS F., IGUER-OUADA M., BECKERS J.-F. Influence of progesterone concentrations on secretory function of trophoblast and pituitary during the first of pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*, 2007, **67**, 1503–1511.
- AYAD A., SOUSA N.M., SULON J., HORNICK J.-L., TOUATI K., IGUER-OUADA M., BECKERS J.-F. Endocrinologie de la gestation chez la vache : signaux embryonnaires, hormones et protéines placentaires. *Ann. Med. Vet.*, 2006, **150**, 212-226.
- AYAD A., SOUSA N.M., SULON J., IGUER-OUADA M., BECKERS J.-F. Correlation of five radioimmunoassay systems for measurement of bovine plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations at early pregnancy period. *Res. Vet. Sci.*, soumis pour publication.