

# Dosage de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) bovine par ELISA et son application aux études endocriniennes chez la vache

## A bovine follicle stimulating hormone (FSH) enzyme immunoassay and its application to endocrine studies in cow

LAINÉ A.-L. (1), LACLIE C. (1), MONNIAUX D. (1).

(1) INRAE, UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly

### INTRODUCTION

L'hormone folliculo-stimulante (FSH), gonadotrophine synthétisée par l'antéhypophyse, agit sur l'ovaire chez la femelle. La FSH est essentielle dans le développement folliculaire en stimulant la maturation des follicules ovariens (Ginther, 2016). La sécrétion des hormones hypophysaires, FSH et l'hormone lutéinisante (LH), est régulée par la progestérone (P4) et l'œstradiol.

Pour doser cette glycoprotéine, composée de deux sous-unités, nous avons développé et validé un dosage enzymo-immunologique de la FSH bovine plasmatique.

Ce travail a permis de quantifier la concentration de FSH chez la vache au cours du cycle œstrien (Lainé et al, 2019).

### 1. MATERIEL ET METHODES

Les prélèvements sanguins ont été effectués sur tubes héparinés au niveau de la veine jugulaire sur 2 lots :

- Lot 1 : 18 vaches de race Prim'holstein pour la validation du dosage et l'étude sur le cycle œstrien,

- Lot 2 : 4 vaches de race Rouge des Prés ayant reçu un traitement hormonal de synchronisation pour l'étude de la pulsativité des gonadotrophines durant la période pré-ovulatoire.

Après centrifugation à 3600g pendant 15 minutes à 4°C, les plasmas ont été stockés à -20°C jusqu'au dosage.

Pour le dosage ELISA, deux anticorps dirigés contre les 2 sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  ont été sélectionnés afin de répondre aux différents critères : limite de quantification, spécificité, justesse. L'anticorps dirigé contre la sous-unité  $\beta$  est l'anticorps de capture, celui contre la sous-unité  $\alpha$  marqué à la biotine permet la révélation.

200 $\mu$ l d'échantillon, de point de gamme de FSH bovine purifiée de 0,1 à 3,2 ng.ml<sup>-1</sup> et du contrôle à 1 ng.ml<sup>-1</sup> sont déposés lors de chaque dosage. La spécificité a été évaluée par tests des réactions croisées avec la LH bovine et la TSH bovine, gonadotrophines ayant une sous-unité commune à la FSH. Pour l'exactitude, 13 plasmas de vaches ont été surchargés avec 5 concentrations connues de FSH allant de 0,5 à 2,5 ng.ml<sup>-1</sup>. Le contrôle déposé sur chaque plaque permet le calcul de la répétabilité des résultats.

Les dosages plasmatiques de LH (Faure et al, 2005), et P4 ont été réalisés par ELISA (Canepa et al, 2008).

### 2. RESULTATS

#### 2.1. VALIDATION DE LA METHODE

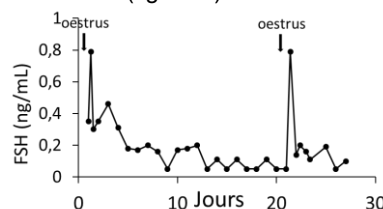
La limite de quantification du dosage de la FSH bovine est de 0,2 ng.ml<sup>-1</sup>. Les réactions croisées de ce dosage avec la TSH bovine et la LH bovine sont très faibles, respectivement de 0,4% et 0,01%. Les coefficients de variation intra et inter-dosage pour l'échantillon contrôle à 1 ng.ml<sup>-1</sup> sont de 13,9% (n=8) et de 10% (n=5). L'exactitude du dosage évaluée par un test de surcharge montre la justesse de ce dosage (tableau 1).

Surcharge (ng.ml <sup>-1</sup> )		+0,5	+1	+1,5	+2	+2,5
Concentration obtenue (ng.ml <sup>-1</sup> )	moy	0,55	1,13	1,63	2,08	2,46
	sem	0,04	0,04	0,11	0,07	0,10
Effectif		6	13	8	13	8

**Tableau 1** : Test de surcharge. Valeurs obtenues des plasmas de vache surchargés avec une concentration connue de FSH.

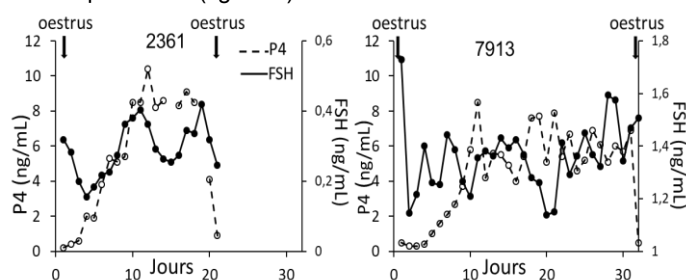
#### 2.2. ETUDE DU CYCLE OVULATOIRE

Les vaches du lot 1 sont soumises à des prélèvements sanguins journaliers durant un cycle. Un pic pré-ovulatoire avec une augmentation importante de la concentration de FSH est observée environ 8 heures après la 1<sup>ère</sup> détection du comportement d'œstrus (figure 1).



**Figure 1** : Concentration plasmatique de la FSH d'une vache.

Le suivi de la P4 permet avec son augmentation après l'œstrus, de confirmer la survenue d'une ovulation, et de visualiser la fin de la phase lutéale caractérisée par la chute de sa concentration peu de temps avant l'œstrus. Des fluctuations du taux de FSH au cours du cycle, avec des niveaux plus élevés les jours 1 et 11, ont été observées et mises en relation avec l'émergence des vagues folliculaires. La vache 7913 montre une phase lutéale anormalement longue (œstrus au jour 32) due au développement d'un follicule persistant (figure 2).



**Figure 2** : Concentration plasmatique de la FSH et P4.

#### 2.3. ETUDE DE LA PULSATILITE DE FSH ET LH

Après synchronisation hormonale du cycle des animaux du lot 2, des prélèvements toutes les 10 minutes pendant 5h ont permis l'analyse des profils de sécrétion de FSH et LH pendant la période pré-ovulatoire. L'intervalle de temps entre deux pics successifs était similaire entre LH et FSH (LH : 50,00 $\pm$ 1,85min, n=32, FSH : 50,69 $\pm$ 3,78min, n=29), mais la concomitance des pics de FSH et LH n'était que de 17,3%.

### DISCUSSION - CONCLUSION

Nous avons montré la spécificité, la sensibilité et la justesse de ce dosage de FSH par ELISA dans le plasma bovin. Ce dosage ne détecte pas les hormones de la même famille, telles que la LH et TSH. Grâce à des mesures quotidiennes au cours d'un cycle œstrien, nous avons confirmé chez la vache l'existence de fluctuations de la sécrétion de FSH agissant sur les vagues folliculaires. Pendant la phase pré-ovulatoire, seulement 17% des pulses de FSH et LH se produisent de façon synchrone chez la vache, comme observé préalablement chez la brebis (Clarke et al, 2002).

Canepa S., et al., 2008. Cahier des Techniques de l'Inra 64, 19–30  
 Clarke I., et al., 2002. Endocrinology 143, 117-126  
 Faure M.O., et al., 2005. Journal of Endocrinology 186, 109–121  
 Ginther O.J., 2016. Domestic Animal Endocrinology 57, 85–99  
 Lainé A.L., et al., 2019. Animal, 13:8,1666–1675