

ACTION DE L'ŒSTRADIOL ET DE LA PROGESTÉRONNE  
SUR LES ACTIVITÉS PHOSPHATASIQUE (ALCALINE) ET PEPTIDASIQUE  
DU LIGAMENT PUBIEN ET ÉVOLUTION DE LA SYMPHYSE  
CHEZ LE COBAYE

par

J. ROCHE, B. NATAF ET M. MAROIS

---

INTRODUCTION

La symphyse pubienne du cobaye femelle se relâche à la fin de la gestation et se referme immédiatement après l'accouchement.

Pour HISAW (1) une hormone spécifique, extraite du corps jaune de truie ou du sérum de lapine gestante, la relaxine, est responsable de ce relâchement. On peut reproduire expérimentalement les phénomènes d'ouverture et de fermeture du pubis. L'injection simultanée d'œstradiol et de progestérone à des cobayes ovariectomisés provoque le relâchement de la symphyse et l'arrêt du traitement entraîne la fermeture progressive de celle-ci. L'intervention de l'utérus a été mise en cause par HISAW (2), contestée par FUGO (3) et affirmée par COURRIER et MAROIS (4). L'œstradiol en synergie avec la progestérone ouvre la symphyse chez l'animal castré ayant conservé son utérus. Ce traitement est inefficace chez l'animal hystérectomisé ; un fragment utérin suffit alors à l'action de l'hormone. L'hystérectomie pratiquée chez un cobaye à symphyse ouverte entraîne la fermeture de la symphyse malgré la continuation des injections d'hormones (4). Un utérus kystique ou involué ne permet plus l'ouverture symphysaire (5). Enfin, la progestérone mise en œuvre localement, au contact même de la muqueuse utérine chez un animal sensibilisé par l'œstradiol, déclenche l'ouverture de la symphyse à des doses totalement inefficaces par voie générale (6).

OBJET DU TRAVAIL

L'objet de ce travail est d'étudier quelques aspects de l'activité enzymatique de la symphyse pubienne.

L'ouverture physiologique de la symphyse est un phénomène lent et le traitement synergique par l'œstradiol et la progestérone exige un

délat de treize jours pour reproduire cette ouverture. La fermeture physiologique ou expérimentale de la symphyse est beaucoup plus rapide. Si les activités enzymatiques symphysaires varient pendant ces deux processus, leurs modifications seront plus faciles à saisir au cours d'un remaniement rapide. C'est pourquoi nous avons préféré les étudier lors de la fermeture plutôt que de l'ouverture de la symphyse pubienne et il nous a paru qu'il y aurait intérêt à déclencher expérimentalement la première afin d'en mieux contrôler le déterminisme.

Nous avons recherché si le taux de la phosphatase alcaline et des peptidases, présente des variations au cours de la fermeture pubienne.

Un petit nombre d'observations histochimiques a montré que le ligament pubien en voie de relâchement renferme de la phosphatase alcaline (7, 8), mais est dépourvu de phosphatase acide (8), en sorte qu'il nous a paru intéressant d'étudier l'évolution du taux de la première.

La recherche de modifications de l'activité phosphatasique alcaline du ligament pubien au cours de sa prolifération ou de sa résorption, a été suggérée par de multiples faits, montrant que la formation de fibres protéiques dans les tissus ou au cours de sécrétions diverses va de pair avec l'apparition et l'augmentation du taux de la phosphatase alcaline, manifestées surtout dans des recherches histochimiques. Parmi celles-ci, qu'il ne saurait être question de passer ici en revue, il convient de rappeler celles sur la régénération de la peau (DANIELLI et FELL (9, 10)), sur le développement de l'utérus et du vagin après injection d'œstradiol à des souris femelles castrées (JEENER (11, 12)), sur le développement des embryons de mammifères (MOOG (13)), sur la glande à soie de *Bombyx mori* (BRADFIELD (14)).

En outre, la régression du ligament pubien pouvant comporter une protéolyse, nous avons dosé la teneur en peptidase de ce tissu au cours de son évolution. Nous espérons que, si des variations régulières de l'une ou de l'autre activité enzymatique pouvaient être observées, leur mise en évidence pourrait par la suite conduire à l'établissement d'une méthode de dosage biologique de la relaxine.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des cobayes femelles adultes castrées reçoivent quotidiennement en injections sous-cutanées 10  $\gamma$  d'œstradiol et 2,5 mg de progestérone en solution dans l'huile d'olive neutre. Ce traitement disloque, le plus souvent, la symphyse au neuvième jour ; il l'ouvre à partir du treizième, mais il est important de noter une grande variabilité individuelle dans la réponse des animaux aux injections. Une fois la symphyse ouverte, la fermeture a été obtenue dans une première série d'expériences par arrêt du traitement. Dans une deuxième série d'essais, la fermeture a été provoquée par hystérectomie sans interruption de l'administration d'hormones, l'écartement pubien étant estimé par palpation dans l'un

et l'autre des groupes d'animaux. La fermeture a été obtenue par hystérectomie, mais nous avons alors remplacé la palpation par la radiographie (voir mémoire précédent). Dans une troisième série d'expériences, la fermeture a été obtenue par hystérectomie, et la radiographie de la symphyse a été opérée avant l'hystérectomie et avant que les animaux soient sacrifiés, chaque animal étant ainsi son propre témoin.

Dans toutes les séries d'expériences des cobayes à symphyse ouverte étaient conservés pour comparer l'évolution du pubis en l'absence d'intervention. Après saignée des animaux non anesthésiés, nous avons prélevé le ligament symphysaire en évitant soigneusement l'os pubien. La symphyse a alors été divisée en plusieurs fragments homogènes destinés l'un à la détermination de la teneur en eau et dans certains cas au dosage de N protéique, un autre à l'étude de l'activité phosphatasique selon la méthode BRIGGS-ROBISON, après hydrolyse de quatre heures et de vingt-quatre heures du  $\beta$  glycérophosphate de sodium M/10, à pH = 8,8 et à 37°. Un dernier fragment a été réservé à la mesure de l'activité peptidasique selon la méthode de FOLIN modifiée par DANIELSON (15), après une incubation de quatre heures en présence de L-leucylglycine M/10 à pH = 6,8 et à 37°. Quelques symphyses ouvertes ont été utilisées pour la recherche histochimique de la phosphatase alcaline (méthode de RUYTER et NEUMANN (16)).

## RÉSULTATS

Les résultats obtenus sont exprimés, pour les peptidasas, en milligrammes N (NH<sup>2</sup>) libérés après quatre heures d'hydrolyse et, pour les phosphatasas, en milligrammes P libérés après quatre heures et vingt-quatre heures d'hydrolyse. Ils sont rapportés à la symphyse totale et à 100 milligrammes de symphyse sèche.

Les résultats biochimiques et radiographiques ont été rassemblés dans les tableaux I, II, III, IV, et dans les figures 1, 2, 3 et 4.

1° *Fermeture de la symphyse après arrêt du traitement à l'œstradiol et à la progestérone.* Nous avons prélevé les symphyses le jour de l'arrêt du traitement et les quatrième, cinquième et septième jour qui suivent. Celles en voie de fermeture présentaient à l'autopsie un nodule cartilagineux dans le ligament.

La teneur en phosphatase tend à diminuer chez les animaux dont la symphyse se referme, mais nous n'avons observé aucune modification significative de l'activité peptidasique et il y a lieu de remarquer en outre que, chez les animaux témoins, le degré d'ouverture de la symphyse présente une grande variabilité (17).

TABLEAU I  
 Activités phosphatasique alcaline et peptidasique des symphyse pubiennes en voie de fermeture par arrêt du traitement  
 (1<sup>re</sup> serie d'expériences).

N°	POIDS DES SYMPHYSES (mg)	HUMIDITÉ (%)	N PROTEIQUF DANS SYMPHYSE TOTALE	PEPTIDASE (4 h) mg N (NH <sub>4</sub> ) par symphyse totale	PEPTIDASE (4 h) mg N (NH <sub>4</sub> ) pour 100 mg symphyse sèche	PHOSPHAT. (4 h) mg P par symphyse totale	PHOSPHAT. (24 h) mg P par 100 mg symphyse sèche	ÉTAT DES SYMPHYSES					
								à l'arrêt du traitement	en fin d'expérience				
<i>Animaux sacrifiés le jour de l'arrêt du traitement (témoins)</i>													
691 (724 g)	546,7	81,1		8,2	7,9	1,4	2,6	+	+	+	+	+	+
692 (504 g)	575,0	84,6		6,8	7,7	1,4	6,0	+	+	+	+	+	+
693 (468 g)	334,1	79,4	51,9	6,7	9,7	0,8	2,9	+	+	+	+	+	+
<i>Animaux sacrifiés le 4<sup>e</sup> jour après l'arrêt du traitement</i>													
696 (611 g)	396,9	80,1		5,3	6,7		1,4	+	+	+	+	+	+
697 (536 g)	499,4	76,0		8,0	6,7		1,4	+	+	+	+	+	+
<i>Animaux sacrifiés le 5<sup>e</sup> jour après l'arrêt du traitement</i>													
710 (727 g)	295,3	69,8		8,6	9,6		0,4	v	+	+	+	+	+
<i>Animaux sacrifiés le 6<sup>e</sup> jour après l'arrêt du traitement</i>													
711 (645 g)	364,0	74,8	65,8	9,4	10,2	0,9	1,9	+	+	+	+	+	+
712 (370 g)	589,4	77,5	111,3	13,4	10,1		1,3	+	+	+	+	+	+

