



Physiologie/Physiology

Évaluation du contenu surrénalien en androstènedione et effets de la castration chez le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*)*Evaluation of androstenedione adrenal content and effects of castration on the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)*

Faroudja Kandsi-Bouhadad*, Fatima Hadj-Bekkouche

Laboratoire LBPO, FSB, USTHB, BP, 32 Bab-Ezzouar, 1611 Alger, Algérie

I N F O A R T I C L E

Historique de l'article :

Reçu le 7 janvier 2010

Accepté après révision le 9 mars 2010

Disponible sur internet le 3 juillet 2010

Mots clés :

Surrénales

Androstènedione

Androgènes

Lapin

R É S U M É

DHEA, SDHEA et androstènedione sont des stéroïdes en C19 sécrétés par la glande surrénale. Chez l'homme, ces hormones sont produites en quantités importantes, notamment pendant la période prépubertaire. Chez les animaux domestiques et de laboratoire, la sécrétion de ces hormones demeure relativement faible. Au cours de ce travail, l'androstènedione est évaluée par *radio immunoassay* (RIA) dans le plasma et dans la glande surrénale du lapin à différents âges. Les effets de la castration de 28 jours chez l'adulte sont constatés sur des coupes histologiques colorées au trichrome de Masson. La teneur plasmatique en androstènedione est plus importante chez l'adulte par rapport au prépubère et au jeune, cependant, chez le lapin prépubère, le contenu surrénalien en cette hormone est respectivement de 1,5 et trois fois supérieur à celui du jeune et de l'adulte. La hauteur de la zone réticulée chez le lapin castré augmente de 79,27 % ($p < 0,001$) par rapport au témoin. L'androstènedione pourrait intervenir dans l'installation de la puberté et, en absence des androgènes testiculaires, la zone réticulée serait stimulée pour pallier à cette insuffisance.

© 2010 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

A B S T R A C T

DHEA, DHEA sulphate and androstenedione are C19 steroids secreted by the adrenal cortex. These hormones with a weak androgen activity are precursors of estrogens and androgens. In human and other primates these hormones are produced in important quantities, even though, in domestic and laboratory animals, a few secretion is measured. In this survey, the androstenedione is quantified both in plasma and adrenal gland of young, prepubertal and adult rabbits and the castration effects on adrenal cortex histology are noted too. The absolute weight (AW) of the left adrenal gland is slightly higher than the right ($p > 0,05$) for all animals and the gland absolute weight (AW) for the adult rabbit is superior to the young and prepubertal rabbits ($p < 0,05$). The castration effect in adult increases the adrenal weight ($p < 0,001$). A zonation of adrenal cortex for young rabbits is observed. The zona fasciculata is important for young and prepubertal rabbits whereas, the zona reticularis is thicker for the adults. Thickness of glomerulosa, fasciculata and reticularis zones increased with 6.55% ($p > 0,05$), 15.9% ($p < 0,01$) and 79.21% ($p < 0,001$) for the castrated adult rabbits and histological modifications were observed in the zona

Keywords:

Adrenal

Androstenedione

Androgens

Rabbit

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : kandsif@yahoo.fr (F. Kandsi-Bouhadad).

reticularis. The plasma androstenedione is negligible for the young (0.060 ± 0.01 ng/mL), weak for the prepubertal (0.152 ± 0.03 ng/mL) and reaches (0.263 ± 0.03 ng/mL) for the adult. The androstenedione relative content (ng/100 mg of adrenal weight) is 2.90 ± 0.30 ; 4.54 ± 0.82 and 1.34 ± 0.36 for the young, prepubertal and adult rabbits. In this work, an increase of the androstenedione adrenal content is observed for the prepubertal rabbits, which could intervene in the process of puberty.

© 2010 Académie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Abridged English version

In primates, a high level of C19 steroids, called adrenal androgens (DHEA, DHEA sulphate and androstenedione) is secreted by the adrenal cortex. These hormones characterised by a weak androgen activity are precursors of estrogens and androgens. In human and other primates, high amounts of androgens are produced by the reticularis zona according to the adrenarche process, which occurs before the gonadotrope axis maturity. In this study, the androstenedione is quantified both in plasma and adrenal gland of young, prepubertal and adult rabbits and the castration effects on adrenal cortex histology are noted too. The absolute weight (AW) of the left adrenal gland is slightly higher than the right ($p > 0.05$) for all animals and the gland absolute weight (AW) for the adult rabbit is superior to the young and prepubertal rabbits ($p < 0.05$). The castration effect in adult increases the adrenal weight ($p < 0.001$). A zonation of adrenal cortex for young rabbits is observed. The zona fasciculata is important for young and prepubertal rabbits whereas, the zona reticularis is thicker for the adult. Thickness of glomerulosa, fasciculata and reticularis zonas increased with 6.55% ($p > 0.05$), 15.9% ($p < 0.01$) and 79.21% ($p < 0.001$) for the castrated adult rabbits and histological modifications were observed in the zona reticularis. The plasma androstenedione is negligible for the young (0.060 ± 0.01 ng/mL), weak for the prepubertal (0.152 ± 0.03 ng/mL) and reaches (0.263 ± 0.03 ng/mL) for adults. The androstenedione relative content (ng/100 mg of adrenal weight) is 2.90 ± 0.30 ; 4.54 ± 0.82 and 1.34 ± 0.36 for the young, prepubertal and adult rabbits. The adrenal androgen concentrations and their secretion profiles are different between species. It is known that these hormones increase during the prepubertal period, before the increase of testicular androgens (man, chimpanzee, hamster and rat). However, in rabbits, results show a growth of adrenal cortex from 37th day until the adult age (6 months). The androstenedione adrenal content is important for the prepubertal animals. Results complete those showed, in rabbits, a DHEA increase during sexual maturation and a development of the zona reticularis considered as the adrenal androgens zona producer. The adrenal cortex hypertrophy and the important thickness of the zona reticularis observed after 28 days of castration in rabbit are comparable to the laboratory and the sand rat (*P. obesus*), after one month of castration. The adrenal cortex histological modification, after castration, induced the increase of androstenedione production. We suggest that the evaluated plasma androstenedione for the adult rabbit has a testicular origin. These results corroborate those obtained after one week adult rabbit castration, whereas the DHEA and the

androstenedione became undetectable. The adrenarche process clearly described for the man and as a similar process for the rat could be real for the rabbit. The prepubertal period could be an activation step of the 17-hydroxylase activity. In adults, testicular androgens would inhibit the production of androgens by the adrenal gland. In this work, an increase of the androstenedione adrenal content is observed for the prepubertal rabbits, which could intervene in the process of puberty. In the absence of testicular androgens, the zona reticularis would be stimulated to synthesize this hormone.

1. Introduction

Le cortex surrénalien des primates sécrète un taux élevé de stéroïdes en C19 : DHEA, DHEA sulfate et l'androstènedione. Ces hormones, appelées androgènes surrénaliens, ont une faible activité androgénique, mais sont considérés comme des précurseurs des estrogènes et des androgènes. Chez l'homme, peu avant la puberté, la DHEA et le SDHEA sont produites par la zone réticulée en quantité importante [1–6], ce processus représente l'adrénarche [4,7–9], il a été décrit chez l'homme et d'autres primates et se produit avant la maturité de l'axe gonadotrope.

Les androgènes surrénaliens ont été détectés dans le sang des animaux domestiques et de laboratoire à des taux faibles par rapport à ceux trouvés chez l'homme [10]. Chez le rat, la CYP17, responsable de la formation de la DHEA, est considérée comme absente dans le cortex surrénalien [11,12], cependant d'autres auteurs [13] ont observé, chez le rat prépubère, un pic d'androstènedione et un pic de mRNA codant pour la CYP17. Chez le lapin, le développement de la zone réticulée et l'augmentation de la DHEA et de l'androstènedione plasmatique ont été constatés pendant la période post-pubertaire. La castration du lapin adulte réduit la DHEA et l'androstènedione plasmatiques à des taux indétectables suggérant que ces hormones pourraient alors être d'origine testiculaire [14]. Dans ce travail, l'androstènedione est évaluée dans le plasma et la glande surrénale du lapin jeune, prépubère et adulte ainsi que les effets de la castration du lapin adulte sur l'histologie du cortex surrénalien sont rapportés.

2. Matériel et méthodes

2.1. Animaux

L'étude est réalisée sur 27 lapins mâles de populations locales provenant de l'Institut technologique des élevages (ITELV, Alger). Ils sont placés dans des salles avec des températures de 20–22 °C et sous une photopériode

naturelle. Les animaux sont répartis selon leur âge en trois lots : les jeunes (lot 1, $n = 7$, âge : 37 jours), les prépubères (lot 2, $n = 7$, âge : deux mois) et les adultes (lot 3, $n = 7$, âge : six mois). Leur poids corporel moyen en kilogramme sont respectivement de $0,502 \pm 0,152$; $1,480 \pm 0,212$ et $2,436 \pm 0,321$.

Dans le quatrième lot de lapins adultes ($n = 6$, âge : six mois et de poids corporel $1,76 \pm 0,085$ kg), quatre lapins sont castrés par voie scrotale, sous anesthésie locale par du chlorhydrate de lidocaïne et deux lapins servent de témoins. Tous les animaux sont sacrifiés entre 9 h et 11 h du matin. Les castrés et leurs témoins sont sacrifiés 28 jours après castration.

Le sang recueilli dans des tubes à EDTA (2 %) est centrifugé, le plasma récupéré est congelé à -20°C pour les dosages hormonaux. Les glandes surrénales droites sont prélevées rapidement et congelées, elles sont broyées dans du tampon phosphate pH = 7,4 avant les dosages hormonaux.

2.2. Dosages de l'androstènedione

La concentration plasmatique et le contenu surrénalien en androstènedione sont évalués par la méthode *radioimmunoassay* (RIA) sur kit Immunotech.

2.3. Histologie

Les glandes surrénales gauches sont fixées dans le Bouin Hollande, les coupes de paraffine de $5\ \mu\text{m}$ d'épaisseur sont colorées par le trichrome de Masson et observées au microscope photonique Zeiss dont un oculaire est gradué.

2.4. Analyse statistique

Les poids surrénaux et l'androstènedione mesurée sont présentés sous forme de moyennes arithmétique \pm ESM. La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test (*t*) de Fisher-Student, la signification est considérée à $p < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Poids absolu (PA) de la glande surrénale

Les PA des glandes surrénales gauches (Fig. 1) sont légèrement plus élevés que ceux des surrénales droites ($p > 0,05$) chez tous les lapins étudiés. Le PA de la glande du lapin adulte est supérieur à celui de la glande du lapin jeune et prépubère ($p < 0,05$). La castration chez l'adulte entraîne une augmentation significative ($p < 0,001$) du poids de la glande surrénale (Fig. 2).

3.2. Morphologie de la glande surrénale

Les hauteurs des zones du cortex surrénalien sont exprimées en pourcentage par rapport à la hauteur totale du cortex surrénalien (Fig. 3). Les résultats montrent que la zonation du cortex surrénalien est très nette chez les jeunes. La zone fasciculée est particulièrement développée

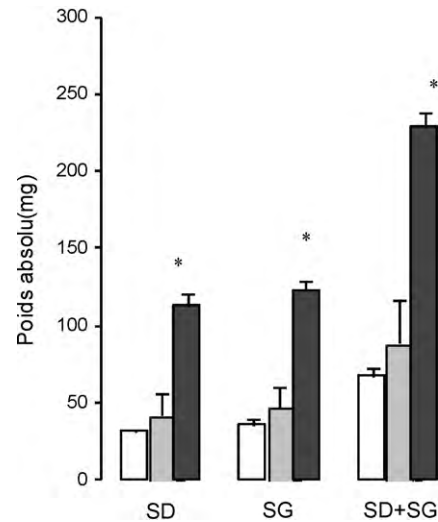


Fig. 1. Poids absolu des surrénales droite (SD), gauche (SG) et droite + gauche (2S) chez les lapins mâles âgés de 37 jours (□), 60 jours (■) et six mois (■), * $P < 0,05$.

chez le jeune et le prépubère alors que la zone réticulée est plus épaisse chez l'adulte.

Chez le lapin adulte castré, les hauteurs des zones glomérulée, fasciculée et réticulée augmentent respectivement de 6,55 % ($p > 0,05$), 15,9 % ($p < 0,01$) et 79,21 % ($p < 0,001$) (Fig. 4). La zone réticulée montre des modifications histologiques chez le lapin castré (Fig. 5) par rapport au témoin (Fig. 6). Le nombre de cellules dans cette zone est plus important, le cytoplasme est clair et les noyaux plus volumineux avec une chromatine claire.

La teneur plasmatique en androstènedione (Fig. 7) est pratiquement négligeable ($0,060 \pm 0,01$ ng/mL) chez le

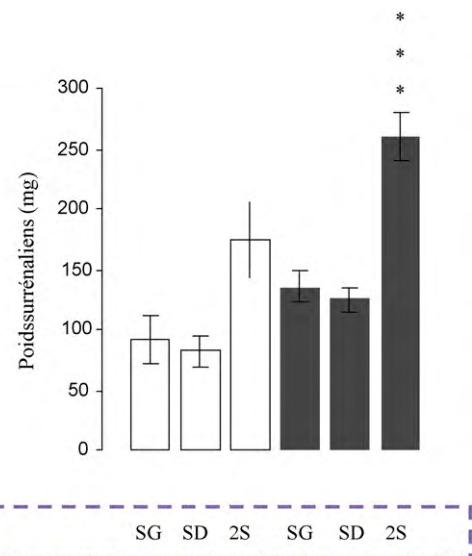


Fig. 2. Poids absolu (mg) des surrénales gauches (SG), surrénales droites (SD) et des deux surrénales (SD+SG) chez les lapins mâles adultes témoins (□) et castrés (■), *** $P < 0,001$.

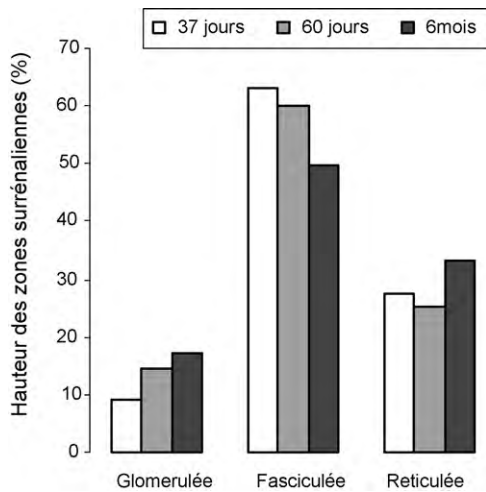


Fig. 3. Hauteurs (%) des zones glomérulée, fasciculée et réticulée chez les lapins mâles de 37 jours, 60 jours et six mois.

jeune, faible chez le prépubère ($0,152 \pm 0,03$ ng/mL) et atteint ($0,263 \pm 0,03$ ng/mL) chez l'adulte.

Le contenu moyen en androstènedione relatif à 100 mg de poids surrénalien (Fig. 8) est de $2,90 \pm 0,30$ ng ; $4,54 \pm 0,82$ ng et $1,34 \pm 0,36$ ng respectivement chez le lapin jeune, prépubère et adulte. Chez le prépubère, la valeur est respectivement de 1,5 et trois fois supérieure à celle du jeune et de l'adulte.

4. Discussion

La concentration des androgènes surrénaliens et leurs profils de sécrétion sont différents d'une espèce à une

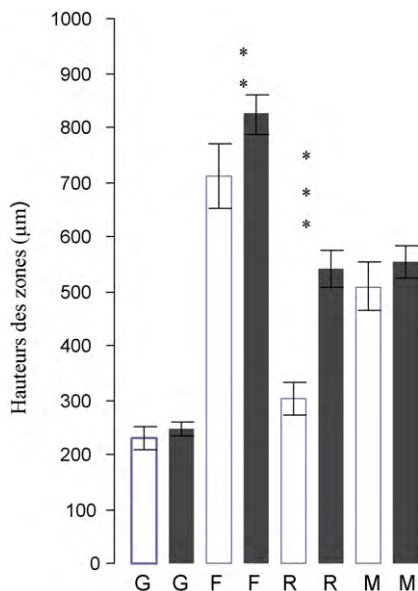


Fig. 4. Hauteurs (µm) de la zone glomérulée (G), zone fasciculée (F) zone réticulée (R) et la médulla (M) des lapins mâles adultes témoins (□) castrés (■), ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

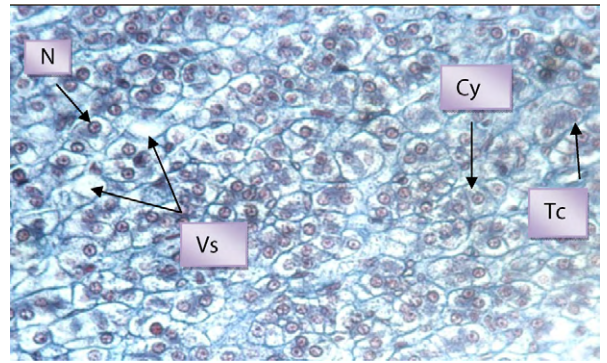


Fig. 5. Zone réticulée de la glande surrénale du lapin mâle castré, N : noyau, Cy : cytoplasme, Tc : travée conjonctive, Vs : vaisseau sanguin, $G \times 400$.

autre. Chez l'homme, la DHEA et le SDHEA sont produites en grande quantité [15] comparativement aux animaux de laboratoire et domestique [10,13,16,17]. Ces hormones subissent une nette augmentation pendant la période prépubertaire, avant l'augmentation des androgènes testiculaires comme c'est le cas chez l'homme [15], le chimpanzé [10], le hamster [17] et le rat [13]. Chez le lapin, les résultats obtenus montrent une croissance du cortex surrénalien durant le passage de l'âge de 37 jours à l'âge adulte (six mois) avec un contenu surrénalien en androstènedione plus important chez l'animal prépubère que le jeune et l'adulte. Les résultats complètent ceux de [10] qui montrent une augmentation de la DHEA pendant la maturation sexuelle chez le lapin ainsi que le développement de la zone réticulée [14] considérée comme étant la zone productrice des androgènes surrénaliens. Ces hormones sont produites in vitro après stimulation des cellules surrénaliennes de lapin par l'ACTH [18]. L'hypertrophie du cortex surrénalien avec une augmentation de la hauteur de la zone réticulée observée chez le lapin castré depuis 28 jours est comparable à celle observée chez le rat de laboratoire [19], le rat des sables (*P. obesus*) [20,21] et chez les Méridiens sahariens [22,23], après castration. L'aspect clair du cytoplasme des cellules de la zone réticulée des lapins castrés est expliqué par la présence

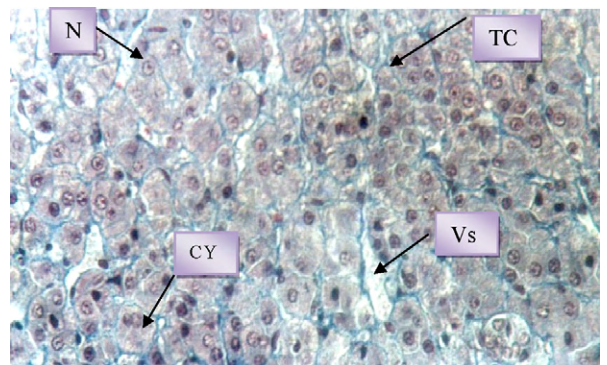


Fig. 6. Zone réticulée de la glande surrénale du lapin mâle adulte témoin, N : noyau, Cy : cytoplasme, Tc : travée conjonctive, Vs : vaisseau sanguin, $G \times 400$.

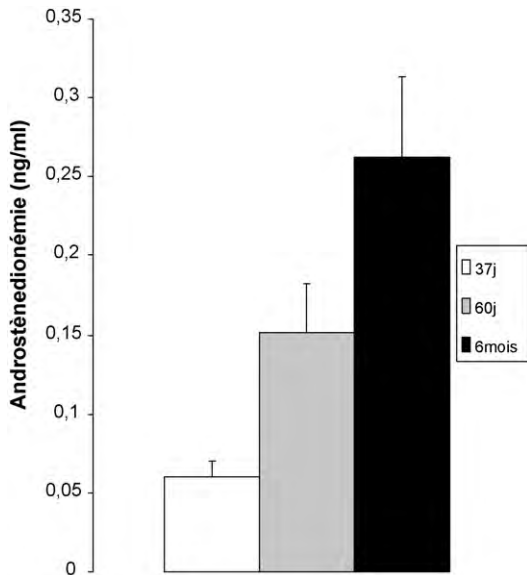


Fig. 7. Androstènedionémie (ng/ml) chez les lapins mâles de 37 jours, 60 jours et six mois.

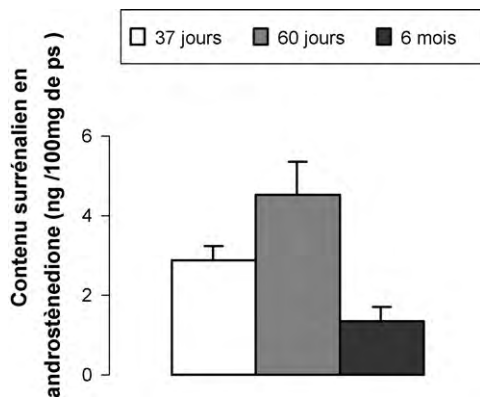


Fig. 8. Contenu surrénalien en androstènedione (ng/100mg de poids surrénalien) chez les lapins mâles de 37 jours, 60 jours et six mois.

de lipides dans le cytoplasme de ces cellules, qui sont mis en évidence par la coloration au noir Soudan B [20,21]. Ces lipides sont la source nécessaire à la synthèse des androgènes. L'augmentation de la production de l'androstènedione est en effet constaté après castration [19,20]. In vivo, la concentration plasmatique en androstènedione est significativement importante chez le lapin adulte par rapport au jeune et au prépubère. Il a été suggéré que chez l'adulte, l'androstènedione évaluée au niveau plasmatique est d'origine testiculaire. Ces résultats sont en accord à ceux obtenus après castration d'une semaine du lapin adulte alors que la DHEA et l'androstènedione deviennent indétectables [14]. Le processus d'adrénarchie décrit clairement chez l'homme [5,8,9] et le phénomène semblable connu chez le rat [13] peut être aussi une réalité chez le lapin. En effet, la période prépubertaire pourrait être une période d'activation de l'activité de la 17-hydroxylase.

Chez l'adulte, les androgènes testiculaires inhiberaient la production des androgènes au niveau de la glande surrénale.

En conclusion, cette étude montre que le contenu surrénalien en androstènedione augmente chez le lapin prépubère, cette hormone pourrait intervenir au cours de la puberté. En absence des androgènes testiculaires, la zone réticulée serait stimulée pour la synthèse de cette hormone.

Références

- [1] R. Rosenfield, W. Eberlein, Plasma 17 ketosteroid levels during adolescence, *J. Pediatrics* 74 (6) (1969) 932–936.
- [2] B. Hopper, S. Yen, Circulating concentrations of DHA and DHAS during puberty, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40 (3) (1975) 458–461.
- [3] P. Lee, C. Migeon, Puberty in boys: correlation of plasma levels of gonadotropins (LH and FSH), Androgens (Testosterone, Androstenedione, DHA, and DHAs) Estrogens (Estrone and Estradiol) and Progestins (Progesterone and 17 OH progesterone), *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41 (3) (1975) 556–562.
- [4] L. Parker, J. Sack, D. Fisher, W. Odell, The adrenarche: Prolactin, gonadotropins, adrenal androgens and Cortisol, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46 (1978) 396–401.
- [5] L. Parker, W. Odell, Control of adrenal androgen secretion, *Endocrinol. Rev.* 1 (1980) 392–410.
- [6] R. Perez-Fernandez, F. Facchinetti, A. Beiras, L. Lima, G. Gaudiero, A. Genazzani, J. Devesa, Morphological and functional stimulation of adrenal reticularis zone by dopaminergic blockade in dogs, *J. Steroid Biochem. Mol. Bio.* 28 (5) (1987) 465–470.
- [7] F. Albright, P. Smith, R. Fraser, A syndrome characterised by primary ovarian insufficiency and decreased stature: report of 11 cases with a digression on hormonal control of axillary and pubic hair, *Am. J. Med. Sci.* 204 (1942) 625–648.
- [8] G. Dhom, The prepubertal and pubertal growth of the adrenal (adrenarche), *Beit. Zur Path.* 150 (1973) 357–377.
- [9] L. Parker, Adrenarche, *Endocrin. Clin. N. Am.* 20 (1991) 71–83.
- [10] G. Cutler, M. Glenn, M. Bush, G. Hodgen, C. Graham, L. Loriaux, Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals and primates, *Endocrinology* 103 (6) (1978) 2112–2118.
- [11] W. Van Weerden, H. Bierings, G. Steenbrugge, F. Jong, F. Schroder, Adrenal glands of mouse and rat do not synthesize androgens, *Life Sci.* 50 (12) (1992) 857–861.
- [12] G. Pelletier, S. Li, V. Luu-The, Y. Tremblay, A. Belanger, F. Labrie, Immunoelectron microscopic localization of three key steroidogenic enzymes (cytochrome P450 scc, 3 beta hydroxysteroid dehydrogenase and cytochrome P450 c17) in rat adrenal cortex and gonads, *J. Endocrinol.* 171 (2001) 373–383.
- [13] D. Pignatelli, F. Xiao, A.M. Gouveira, J.G. Ferreira, G.P. Vinson, Adrenarche in the rat, *J. Endocrinol.* 191 (2006) 301–308.
- [14] R.J. Schiebinger, B.D. Alberton, K.M. Bornes, G.B. Cutler, D. Loriaux, Developmental changes in rabbit and dog adrenal function: a possible homologue of adrenarche in the dog, *Am. J. Physiol. Endocrinol.* 240 (6) (1981) 694–699.
- [15] E. Reiter, V. Fuldauer, A. Root, Secretion of the adrenal androgen, DHAS, during normal infancy, childhood and adolescence in sick infants and in children with endocrinological abnormalities, *J. Pediatrics* 90 (1977) 766–770.
- [16] B. Belanger, J. Couture, S. Caron, P. Bodou, J. Fiet, A. Belanger, Production and secretion of C-19 steroids by rat and guinea pig adrenals, *Steroids* 55 (8) (1990) 360–365.
- [17] D.R. Pieper, C.A. Lobocki, Characterization of serum dehydroepiandrosterone secretion in Golden hamster, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 224 (2000) 278–284.
- [18] J. Kolanouski, N. Ortega, J. Crabbe, Chronic treatment with corticotrophin increases the capacity of rabbit adrenocortical cells to convert pregnenolone into androgens, *J. Steroid Biochem.* 26 (2) (1987) 291–296.
- [19] S. Ando, M. Canonaco, A. Valenti, S. Aquila, R. Tavolaro, M. Maggolini, M. Panno, F. Dessi-Fulgheri, The *in vitro* conversion of 3H- androstenedione to testosterone and dihydrotestosterone in the adrenal gland of castrated male rat: influence of gonadal steroid administration, *Exp. Clin. Endocrinol.* 93 (1) (1989) 83–89.
- [20] T. Gernigon, R. Dhaoui, D. Boudoucha, F. Kandsi, Effets cytologiques et biochimiques de la castration d'un rongeur saharien à cycle saisonnier *Psammomys obesus*, *Bull. Soc. Zool. Fr.* 117 (1992) 343.

- [21] A. Benmouloud, S. Zahaf, F. Khammar, Z. Amirat, Influence de la castration sur la surrénale du rat des sables *Psammomys obesus* mâle adulte. Colloque algéro-français : « mécanismes adaptatifs des petits vertébrés des zones arides et semi-arides », Soc. Hist. Nat. Af. Nord 76 (2006) 197–205.
- [22] M. Belhocine, T. Gernigon, Effets de la castration sur l'appareil génital mâle et la surrénale de Mérions sahariens, Bull. Soc. Zool. Fr. 121 (1) (1996) 107–110.
- [23] M. Belhocine, A. Belkacemi, S. Bouchouika, D. Bouhali, H. Guermat, T. Gernigon, Male reproductive tract and adrenal gland of nocturnal Gerbillidae (*Meriones crassus*, *Meriones libycus* and *Gerbillus gerbillus*) living in Beni Abbes area, Algeria during the non breeding season and after castration, Actes colloque "Rodens & Spatium" Editions Rabat (1996) 139–148.