

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2010 - Thèse n°



Subfertilité d'origine utérine chez la jument : méthodes actuelles de diagnostic et application à l'échographie Doppler

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD – LYON 1

(Médecine- Pharmacie)

et soutenue publiquement le 22 Janvier 2010

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Pauline LOUGUET

Née le 14 Octobre 1985

à Lille (59)



DEPARTEMENT ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ENVL
Directeur : Stéphane MARTINOT

	PR EX	PR 1	PR 2	ISPV, MC, MC(HC)	Contractuel, Associé, IPAC	Praticiens hospitaliers
DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE						
Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. KODJO	Y. GUERIN-FAUBLEE (HC) D. GREZEL	Z. DIELOUADJI	
Pathologie Infectieuse		M. ARTOIS		J. VIALARD (HC)		
Parasitologie et Maladies Parasitaires		G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT-CARDINAL L. ZENNER G. BOURGOIN		
Qualité et Sécurité des Aliments			P. DEMONT	A. GONTHIER		
Législation et Jurisprudence			C. VERNOZY	S. COLARDELLE (ISPV) D. SERGENTET		
Bio-informatique - Bio-statistique		A. LACHERETZ		P. SABATIER (HC)		
			E. GILLOT-FROMONT	K. CHALVET-MONERAY		
DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE						
Anatomie		T. ROGER		S. SAWAYA C. BOULGOUCHER (stabilisé)		
Chirurgie et Anesthésiologie		JP. GENEVOIS E. VIGUIER	D. FAU	C. CAROZZO K. PORTIER		
Anatomie pathologique/Dermatologie-Cancérologie			D. REMY	S. JUNOT T. MARCHEL	P. BELLI D. WATRELOT-VIRIEUX	
Hématologie		C. FOURNEL		D. PIN S. BELLICCO (stabilisé)		
Médecine interne		JL. CADORE	L. CHABANNE	F. PONCE M. HUGONNARD C. ESCRIOU	L. BUBLOT C. POUZOT (stamu)	
Imagerie Médicale					J. SONET	
DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES						
Zootéchnie, Ethologie et Economie Rurale		M. FRANCK		L. MOUNIER	L. COMMUN	
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER (HC) L. ALVES DE OLIVEIRA G. EGRON S. BUFF		
Biologie et Pathologie de Reproduction		F. BADINAND	P. GUERIN	AC. LEFRANC (HC)		
Pathologie Animaux de Production		T. ALOGNINOUNA		R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND C. BECKER (stabilisé)	P. BRUYERE	G. LESOBRE P. DEBARNOT P. OTZ P. BERGERON
DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES						
Physiologie/Thérapeutique			J.M. BONNET-GARIN	J.J. TREBOUT (PR) V. LOUZIER		
Biophysique/Biochimie		E. BENOIT F. GARNIER		T. BURONFOSSE (HC)		
Génétique et Biologie moléculaire		G. KRECK	F. GRAIN	V. LAMBERT		
Pharmacologie/Toxicologie Législation du Médicament		P. MAUSSAID	P. BERNY	C. PROUILLAC		
Langues					T. AVISON (IPAC) G. MARTIN (IPAC)	
DEPARTEMENT HIPPIQUE						
Pathologie équine		JL. CADORE		A. BENAMOU-SMITH	I. DESJARDINS	
Clinique équine		O. LEPAGE	A. LEBLOND		M. GANGL	

Remerciements

A Monsieur le Professeur Michel Berland,
De la faculté de Médecine de Lyon,
Qui nous a fait l'honneur de présider cette thèse,
Hommages respectueux.

A Madame le Docteur Anne-Cécile Lefranc,
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de diriger cette thèse,
Pour son aide et ses précieux conseils,
Pour avoir accepté les exigences de mon emploi du temps,
Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Pierre Guérin,
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse,
Qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Jean-Luc Cadoré,
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse,
Pour votre enseignement passionné,
Pour les nombreux conseils que vous m'avez prodigué au cours de ma scolarité,
Avec toute mon estime, sincères remerciements.

A ma Maman,
Sans qui mon rêve de devenir vétérinaire n'aurait jamais été réalisable,
Car chacun de tes petits gestes du quotidien a fait la personne que je suis aujourd'hui,
Merci d'avoir fait passer nos vies avant la tienne,
Avec tout mon amour, infinis remerciements.

A mon père,
Qui, malgré tout, a toujours voulu ma réussite et a su être là pour moi,
Mille mercis.

A Robin,
Qui, sans les mots, a toujours su me soutenir.

A Agathe,
Mon petit clone,
Pour qui le mot « grande sœur » prend toute son importance.

A Bonne Maman,
Pour sa générosité et sa gentillesse.

A toute ma famille,
Qui a toujours cru en moi.

A Aline, Stouf et Héléna,
Parce qu'elles sont trop ékouiiiines,
Merci de m'avoir fait découvrir ce que l'amitié voulait dire.

A Marie,
Pour son sourire infatigable, pour m'avoir ouvert les yeux et remis sur la bonne pente.

A Méloche et Math,
Toujours là pour m'écouter autour d'un verre de Lambrusco ou quelques petits sushis.

A Céline,
Qui ne dira jamais non à une p'tite Leffe ! A notre amitié !

A Fifon,
La fille la plus fofolle que je connaisse,
Pour sa bonne humeur et surtout pour son attitude « à l'arrache ».

A Capucine,
Pour sa fidélité en amitié et sa bonne humeur.

A Lauren,
Pour toutes nos bonnes soirées et ses bons conseils.

A Jenif, Océ et MC,
Pour tous ces bons moments.

A Tchoco et Pioupiou,
Les Fidèles Compères,
Sur qui je peux toujours compter,
Avec ou sans verre de vin, elle est comment cette amitié ? Elle est bo... !

A Biloute,
Spéciale dédicace parce que, lui, il vient du Ch'Nord !
Merci pour tous tes coups de main et ton sens de l'humour inépuisable !

A Alex, Bibi, Toc, Beubeu, Syd,
Qui m'ont fait revoir ma théorie du « vrai mec ».

A Arno,
Pour m'avoir « épaulée » dès mon premier jour d'école.

A tous mes amis de l'Ecole pour tous ces moments inoubliables !!!

A KitKat ...

Table des Matières

Table des illustrations.....	16
Abréviations.....	19
Introduction.....	21
Première partie - L'utérus.....	23
A. Anatomie et histologie de l'utérus.....	25
1. Anatomie.....	25
2. Structure histologique.....	29
B. Physiologie et endocrinologie sexuelles.....	32
1. Physiologie sexuelle de la jument.....	32
2. Endocrinologie sexuelle lors du cycle œstral.....	33
2.1. Hormones hypothalamo-hypophysaires.....	33
2.2. Hormones stéroïdiennes.....	33
C. Changements morphologiques et histologiques au niveau de l'utérus.....	36
1. Variations morphologiques.....	36
2. Variations histologiques.....	37
2.1. Myomètre.....	37
2.2. Endomètre.....	37
2.3. Les vaisseaux sanguins.....	39
D. L'utérus en début de gestation (jusqu'au 40 ^e jour).....	39
1. Physiologie du début de gestation.....	39
2. Endocrinologie du début de gestation.....	41
3. Changements morphologiques et histologiques de l'utérus en début de gestation.....	42
Deuxième partie - Subfertilité d'origine utérine : approches étiologique et diagnostique..	45
A. Etiologies des subfertilités d'origine utérine.....	47
1. Age.....	47
2. Endométrite.....	49
2.1. Endométrite infectieuse	50
2.1.1. Endométrite induite par une contamination sexuelle par des germes très pathogènes.....	50
2.1.2. Endométrite induite par des germes opportunistes.....	51
2.1.3. Endométrite fongique.....	51
2.2. Endométrite dégénérative ou chronique non infectieuse.....	52

2.3. Endométrite infectieuse chronique.....	55
2.4. Endométrite post saillie ou post insémination.....	55
3. Métrite, pyomètre, mucomètre.....	57
4. Kystes	57
4.1. Lacunes lymphatiques.....	58
4.2. Dilatation kystique des glandes.....	58
4.3. Prévalence, incidence.....	59
5. Anomalies utérines.....	60
5.1. Anomalies chromosomiques.....	60
5.2. Atrophie, hypoplasie et hyperplasie glandulaire.....	60
5.3. Développement anormal.....	61
6. Autres.....	62
6.1. Tumeurs.....	62
6.2. Hématomes.....	62
6.3. Adhérences.....	62
6.4. Abcès.....	62
6.5. Involution anormale et accumulation de fluides intra-utérins.....	63
6.6. Dilatation utérine ventrale.....	63
6.7. Corps étrangers.....	64
6.8. Affections virales.....	64
B. Approche diagnostique de la subfertilité d'origine utérine chez la jument.....	65
1. Anamnèse, commémoratifs.....	65
2. Examen général et gynécologique.....	66
3. Palpation transrectale.....	67
4. Echographie transrectale.....	68
4.1. Indications et méthodologie.....	68
4.2. Images échographiques physiologiques de l'utérus.....	68
4.3. Images échographiques pathologiques de l'utérus.....	70
5. Endoscopie.....	74
5.1. Indications et méthodologie.....	74
5.2. Images physiologiques.....	75
5.3. Images pathologiques.....	75
6. Examen bactériologique.....	76
6.1. Indications.....	76
6.2. Moment du prélèvement.....	77
6.3. Méthodes de prélèvement.....	77
6.4. Gestion du prélèvement.....	79
6.5. Interprétation des résultats.....	79
6.6. Limites.....	79
7. Examen cytologique.....	80
7.1. Indications.....	81

7.2. Moment du prélèvement.....	81
7.3. Techniques de prélèvement.....	81
7.4. Coloration.....	83
7.5. Interprétation	84
7.5.1. Cytologie qualitative.....	84
7.5.2. Cytologie quantitative.....	88
7.6. Corrélation entre cytologie et bactériologie	90
8. Biopsie de l'endomètre.....	91
8.1. Indications.....	91
8.2. Moment du prélèvement.....	92
8.3. Technique de prélèvement.....	92
8.4. Site de prélèvement.....	93
8.5. Evaluation de l'échantillon	93
8.5.1. Estimation du stade du cycle œstral	93
8.5.1.1. Œstrus.....	93
8.5.1.2. Diœstrus.....	94
8.5.1.3. Anœstrus	95
8.5.2. Détermination des changements pathologiques	95
8.5.2.1. Inflammations : endométrite aigüe, chronique.....	97
8.5.2.2. Fibrose.....	99
8.5.2.3. Dystrophies endométriales : atrophie, hyperplasie, hypoplasie.....	100
8.5.2.4. Dilatation kystique des glandes et lacunes lymphatiques.....	101
8.5.2.5. Modifications des vaisseaux sanguins	102
8.5.3. Signification clinique des lésions observées et incidence sur la fertilité.....	103
8.5.3.1. Système de classification des biopsies utérines.....	103
8.5.3.2. Lien entre fertilité et les différentes catégories.....	106
8.6. Corrélation entre cytologie, bactériologie et histologie.....	107
9. Autres investigations	108
9.1. Caryotype	108
9.2. Analyses sérologiques et PCR.....	108
9.3. Techniques de laboratoire.....	108

**Troisième partie - Application de l'échographie Doppler au diagnostic de certaines
subfertilités d'origine utérine.....111**

A. Principes généraux du Doppler.....	113
1. Principes physiques et analyse de l'effet Doppler.....	113
1.1. Principes physiques.....	113
1.2. Analyse de l'effet Doppler.....	115
1.2.1. Analyse auditive.....	115
1.2.2. Analyse graphique.....	116
1.2.3. Analyse colorimétrique.....	116

2.	Les différents modes Doppler.....	117
2.1.	Doppler continu.....	117
2.2.	Doppler pulsé.....	118
2.3.	Doppler couleur.....	119
2.4.	Doppler puissance.....	120
3.	Les artéfacts de l'échographie Doppler.....	121
3.1.	Les artéfacts de mouvement.....	121
3.2.	L'effet « aliaising ».....	121
3.3.	Le décalage temporel entre l'image bidimensionnelle et la cartographie Doppler.....	123
3.4.	Les artéfacts d'images-miroir.....	123
4.	Les paramètres étudiés en échographie Doppler.....	123
4.1.	La vitesse du flux sanguin.....	124
4.2.	Les index de résistance.....	125
4.2.1.	L'index de résistivité (IR).....	126
4.2.2.	L'index de pulsatilité (IP).....	126
4.2.3.	Corrélation entre IR et IP.....	127
4.3.	La mesure de l'aire colorée.....	127
4.4.	La mesure du volume sanguin.....	128
5.	Facteurs influençant la justesse.....	129
5.1.	L'estimation de l'aire de section du vaisseau étudié.....	129
5.2.	L'estimation de l'angle d'approche.....	129
5.3.	Le choix du volume échantillon.....	129
6.	En pratique.....	129
B.	Apport de l'échographie Doppler dans l'étude du flux sanguin utérin.....	131
1.	Modalités pratiques.....	131
2.	Variations physiologiques.....	132
2.1.	Au cours du cycle œstral.....	132
2.1.1.	Variations cycliques normales du flux sanguin utérin.....	132
2.1.1.1.	Mesure de l'index de résistivité (IR).....	132
2.1.1.2.	Mesure de l'index de pulsatilité (IP).....	133
2.1.1.3.	Mesure des vitesses de flux sanguin.....	134
2.1.1.4.	Relation avec le flux sanguin des artères ovariennes.....	134
2.1.2.	Variations des vaisseaux utérins.....	135
2.2.	Au cours du cycle fécondant.....	136
2.2.1.	Variations retrouvées en début de gestation.....	136
2.2.2.	Variations du flux sanguin utérin et ombilical lors de la gestation.....	138
2.2.2.1.	Flux utérin.....	138
2.2.2.2.	Flux ombilical.....	140
2.3.	Variations individuelles.....	141
2.3.1.	Facteur jument.....	141
2.3.2.	Facteur âge.....	141

2.3.3. Facteur parité.....	141
2.4. Après divers traitements.....	142
2.4.1. Traitement à base de PGF2 α ou d'hCG.....	142
2.4.2. Traitement à d'acide acétylsalicylique ou de captopril.....	143
2.4.3. Traitement de super-ovulation dans l'espèce bovine.....	143
3. Facteurs impliqués dans la régulation du flux sanguin et leur contrôle.....	144
3.1. Hormones stéroïdiennes.....	144
3.1.1. Administration exogène d'hormones stéroïdiennes.....	145
3.1.2. Mécanisme d'action des hormones stéroïdiennes.....	147
3.1.2.1. Récepteurs hormonaux.....	147
3.1.2.2. Régulation nerveuse.....	148
3.1.3. Hormones stéroïdiennes pendant la gestation.....	148
3.2. Facteur de croissance endothéliale.....	149
3.3. Monoxyde d'azote.....	150
3.4. Rôle de la vésicule embryonnaire.....	150
3.4.1. Régulation par des substances vasoactives sécrétées par l'embryon.....	152
3.4.2. Effet mécanique de la vésicule embryonnaire.....	153
3.5. Autres	153
3.5.1. Hypoxie.....	153
3.5.2. Tonus utérin.....	153
3.5.3. Rôle des spermatozoïdes.....	154
 C. Apport de l'échographie Doppler dans l'étude de variations pathologiques de l'utérus susceptibles d'être à l'origine de subfertilité.....	 155
1. Altérations vasculaires.....	155
2. Fibrose périglandulaire.....	157
3. Kystes	157
4. Endométrite.....	161
5. Diminution de clairance utérine.....	163
6. Mort embryonnaire précoce et avortement.....	163
6.1. Relation entre une mauvaise perfusion et un défaut d'implantation	163
6.2. Interférence des kystes avec le développement embryonnaire.....	164
6.3. Relation entre un mauvais apport ombilical et le développement fœtal.....	164
7. Période post partum et mauvaise involution utérine.....	164
8. Phase lutéale perturbée.....	166
9. Etablissement d'un pronostic.....	166
9.1. Etude Doppler quantitative : index de pulsatilité et taux de grossesse	166
9.2. Etude Doppler qualitative : forme de la courbe (notch protodiastolique).....	167
9.3. Utilisation du Doppler couleur puissance.....	169
Discussion.....	171
Conclusion.....	173
Bibliographie.....	175

Table des illustrations

Table des images

Image 1 - Appareil génital de la jument. Conformation extérieure.....	25
Image 2 - Vascularisation de l'utérus de jument en lien avec la vascularisation ovarienne.....	29
Image 3 - Plis de l'endomètre lors de l'œstrus. Œdème et aspect brillant des plis.....	36
Image 4 - Plis de l'endomètre lors du diœstrus. Disparition de l'œdème.....	37
Image 5 - Section d'endomètre d'une jument en œstrus.....	38
Image 6 - Section d'endomètre d'une jument en diœstrus.....	38
Image 7 - Section d'endomètre d'une jument en anœstrus.....	39
Image 8 - Endomètre de jument souffrant de changements dégénératifs et d'inflammation chronique sévère.....	53
Image 9 - Lacune lymphatique.....	58
Image 10 - Dilatation kystique glandulaire et fibrose périglandulaire sévère.....	59
Image 11 - Coupes transversales de corne utérine en œstrus.....	69
Image 12 - Image échographique d'un embryon avec la présence des deux artéfacts.....	70
Image 13 - Liquide physiologique d'œdème en œstrus (<2cm).....	71
Image 14 - Accumulation anormale de fluides intra-utérins visualisée par échographie transrectale.....	72
Image 15 - Uromètre chez une jument visualisé par échographie transrectale.....	72
Image 16 - Image échographique d'un kyste utérin isolé.....	73
Image 17 - Images échographiques de kystes encloisonnés.....	73
Image 18 - Vue endoscopique d'un kyste utérin intraluminal chez une jument.....	75
Image 19 - Vue endoscopique d'adhérences intra utérines chez une jument.....	76
Image 20 - Ecouvillon protégé.....	78
Image 21 - Insertion du cathéter d'insémination en avant du col utérin.....	83
Image 22 - Cellules épithéliales.....	85
Image 23 - Polynucléaires neutrophiles à différents stades de maturation.....	85
Image 24 - Polynucléaire neutrophile dégénéré, lymphocyte et macrophage au sein de cellules épithéliales lysées.....	86
Image 25 - Cytologie utérine d'une jument souffrant d'endométrite bactérienne.....	87
Image 26 - Levures dans un prélèvement cytologique utérin.....	87
Image 27 - Cristaux de carbonate de calcium d'un uro utérus consécutif à un urovagin.....	88
Image 28 - Cellules épithéliales et polynucléaires neutrophiles, observation d'une endométrite pathologique.....	89
Image 29 - Cytologie utérine réalisée à partir d'un petit volume de lavage utérin (x400): <5% neutrophiles, pas de bactéries, 25% de débris.....	89
Image 30 - Cytologie utérine réalisée à partir d'un petit volume de lavage utérin (x400): >30% neutrophiles, nombreuses bactéries, <25% de débris.....	90
Image 31 - Pince à biopsie.....	92
Image 32 - Différents types d'endométrite chronique.....	99

Image 33 - Fibrose périglandulaire regroupant plusieurs branches glandulaires (nid de fibrose).....	100
Image 34 - Fibrose diffuse de canaux glandulaires isolés.....	100
Image 35 - Endomètre de jument. Catégorie I (normal).....	104
Image 36 - Endomètre de jument en catégorie III : fibrose périglandulaire sévère et dilatation kystique glandulaire modérée.....	105
Image 37 - Vascularisation d'un follicule ovulatoire visualisé par analyse colorimétrique...117	
Images 38 - Deux images échographiques de corps jaune observés à l'aide d'un mode Doppler couleur et d'un mode Doppler puissance.....	120
Image 39 - Représentation de l'effet « aliasing » et résolution de l'artéfact par l'augmentation de la PRF.....	122
Image 40 - Extraction des aires colorées à partir d'une image échographique obtenue au Doppler couleur.....	128
Image 41 - Sélection du volume échantillon au niveau d'une artère et obtention de l'analyse spectrale.....	130
Image 42 - Flux sanguin de l'artère utérine ipsilatérale au conceptus lors de la deuxième semaine de gestation visualisé grâce à l'échographie et analysé avec le mode Doppler.....	139
Image 43 - Deux sections de cornes utérines montrant une évolution de la perfusion utérine par l'augmentation des aires colorées correspondant aux signaux Doppler.....	151
Image 44 - Diagramme d'un utérus de jument avec présence de kystes.....	159
Image 45 - Sections de cornes utérines avec présence ou absence de kystes. Mesures effectuées au Doppler puissance.....	160
Image 46 - Analyses spectrales obtenues grâce au Doppler couleur réalisées au niveau d'un vaisseau mésométrial chez une jument indemne et une jument présentant des kystes.....	160
Image 47 - Différentes formes de courbe vélocimétrique étudiées au niveau de l'artère utérine chez la femme.....	167

Table des figures

Figure 1 - Appareil génital de la jument en vue ventrale	26
Figure 2 - Vascularisation de l'appareil génital de la jument.....	27
Figure 3 - Représentation schématique de la distribution des vaisseaux sanguins au niveau de l'utérus et anastomoses veineuses.....	28
Figure 4 - Coupe de corne utérine de jument.....	30
Figure 5 - Représentation schématique d'une vue en coupe d'utérus de jument.....	31
Figure 6 - Représentation d'une coupe d'artère, de veine et de leurs trois tuniques.....	32
Figure 7 - Endocrinologie du cycle œstral.....	34
Figure 8 - Changements hormonaux pendant le cycle œstral.....	35
Figure 9 - Profil hormonal lors du premier tiers de gestation chez la jument.....	42
Figure 10 - Evolution de la concentration en œstrogènes au cours de la gestation chez la jument.....	42
Figure 11 - Représentation schématique de la placentation chez la jument. Importance du système de vascularisation.....	44
Figure 12 - Représentation schématique des différentes lésions de l'endomètre.....	102
Figure 12 - Illustration de l'effet Doppler.....	114
Figure 13 - Illustration de la fréquence Doppler.....	114
Figure 14 - Illustration de l'angle θ	115

Figure 15 - Représentation graphique des vitesses.....	116
Figure 16 - Schématisation du Doppler continu.....	117
Figure 17 - Schématisation du Doppler pulsé.....	118
Figure 18 - Schématisation du Doppler couleur.....	119
Figure 19 - Représentation schématique d'un spectre de vitesse.....	124
Figure 20 - Flux laminaire et turbulent.....	125
Figure 21 - Méthode de calcul des index de résistance et de pulsatilité.....	127

Table des graphiques et tableau

Tableau 1 - Changements cycliques normaux dans l'architecture de l'endomètre de la jument.....	95
Graphique 1 - Variations de l'index de résistance de l'artère utérine chez la jument.....	133
Graphique 2 - Variations de l'index de pulsatilité au cours du dioestrus chez la jument.....	134
Graphique 3 - Comparaison des variations de l'index de résistance mesuré au niveau des artères utérines en début gestation et au cours d'un cycle œstral chez la jument.....	137
Graphique 4 - Comparaison des variations de TAMV (cm/s) des artères utérines en début de gestation et au cours du cycle œstral chez la jument.....	137

Abréviations

2D : bidimensionnel

A : aire

asa : acide acétylsalicylique

c : vitesse de propagation des ultrasons dans les tissus mous (1540 m/s)

CEM : métrite contagieuse équine

D=EDV : end diastolic velocity

DI : diamètre interne

eCG : equine Chorionic Gonadotrophin

eNOs : enzymes endothéliales responsables de la synthèse du monoxyde d'azote

Fd : fréquence Doppler

Fdmax : fréquence Doppler maximale mesurable

Fo : fréquence d'émission

FSH : Follicule Stimulating Hormone

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone

hCG : human Chorionic Gonadotrophin

iNOs : enzymes inductibles responsables de la synthèse du monoxyde d'azote

IP : index de pulsatilité

IR : index de résistivité

LH : Luteinizing Hormone

p : niveau de significativité pour les probabilités

PCR : polymerase chain reaction

PGF2 α : Prostaglandine F2 α

PMSG : Pregnant Mare Serum Gonadotrophin (=eCG)

PRF : Pulse Repetition Frequency

r : coefficient de corrélation de Pearson

RVU : résistance vasculaire utérine

S=PSV : peak systolic velocity

Se : sensibilité d'un test

Sp : spécificité d'un test

TAMV : time average maximum velocity

UI : unité internationale

v : vitesse du flux sanguin (en m/s)

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor = facteur de croissance endothéliale

Vmax : vitesse maximale (limite de Nyquist)

vol : volume

Zc : impédance caractéristique

Δf : variation de fréquence

Introduction

La jument est une espèce polyœstrienne saisonnière de « jours longs ». Son activité sexuelle est régulée par la photopériode mais aussi par la nutrition et le climat. Dans le monde de l'élevage, une poulinière doit produire systématiquement un poulain viable chaque année pour être économiquement rentable. Pour atteindre cet objectif, elle a besoin d'être dans de bonnes conditions physiques, de présenter des cycles œstraux réguliers ainsi que pouvoir concevoir et maintenir une gestation jusqu'à son terme.

La partie tubulaire du tractus reproducteur, composée de la vulve, du vestibule, du vagin, du col, de l'utérus et des oviductes, est fondamentale pour garantir une fertilité optimale en assurant un environnement favorable à la fécondation ainsi qu'au développement embryonnaire et fœtal. Toute défaillance dans les étapes conduisant à la gestation entrainera une incapacité temporaire ou permanente de la jument à se reproduire avec un potentiel maximal, incapacité dénommée subfertilité. Nous nous intéresserons ici uniquement aux affections de l'utérus sensu stricto, à savoir le corps utérin et les cornes utérines, responsables de subfertilité. De plus, nous ne tiendrons compte que des affections ayant des répercussions avant le 40^e jour de gestation.

Dans un premier temps, nous rappellerons l'anatomie de l'utérus ainsi que la physiologie sexuelle de la jument. Dans un deuxième temps, nous verrons qu'il existe de nombreuses causes d'origine utérine responsables de subfertilité ainsi que plusieurs méthodes de diagnostic. Nous insisterons particulièrement sur l'importance d'une vascularisation utérine efficace et les changements pathologiques associés en cas de défaillance de cette dernière. Cependant, nous montrerons qu'à l'heure actuelle aucune méthode non invasive ne permet d'évaluer l'efficacité de la perfusion utérine. C'est pourquoi, nous traiterons dans une troisième partie de l'échographie Doppler, technologie émergente dans le milieu de la reproduction équine. Nous détaillerons les principes de cette méthode non invasive, les informations qu'elle peut nous apporter sur la perfusion de l'utérus et enfin ses possibles applications dans le diagnostic des troubles de la fertilité en lien avec la vascularisation utérine et l'établissement d'un pronostic des capacités reproductives de la jument.

Première partie

L'utérus

I. L'utérus

A. Anatomie et histologie de l'utérus

1. Anatomie

Conformation extérieure

L'utérus de jument est de type bicornis avec une forme de Y (Barone, 2001 ; Image 1 ; Figure 1) :

- Les deux cornes utérines sont de section circulaire avec un diamètre d'environ 5 cm et une longueur allant de 12 à 20 cm. Elles possèdent deux faces convexes ainsi que deux bords, l'un dit mésométrial et donnant attache au ligament large, l'autre dit libre. Le sommet de chaque corne est relié à la trompe utérine correspondante et la base est rattachée au corps utérin.
- Le corps utérin est de forme cylindroïde avec un diamètre d'environ 10-12 cm et une longueur d'environ 20 centimètres. Son extrémité caudale se rétrécit pour se poursuivre par le col utérin.

L'utérus est relié au vagin par le col de l'utérus, ou cervix, qui se situe au niveau du bassin et mesure 5 à 8 cm de long, et aux ovaires par les trompes utérines ou salpinx (Barone, 2001; Collin, 2005). L'utérus est rattaché à la paroi dorsale de l'abdomen et du bassin par l'intermédiaire des ligaments larges. La partie crâniale de ces derniers est fusionnée avec le mésovarium qui soutient l'ovaire et la trompe utérine. La partie s'insérant sur l'utérus s'appelle le mésométrium et est renforcée de structures conjonctivo-élastiques permettant une meilleure fixité de l'appareil génital (Barone, 2001; Figure 1).



Image 1 - Appareil génital de la jument. Conformation extérieure (photo ENVL)

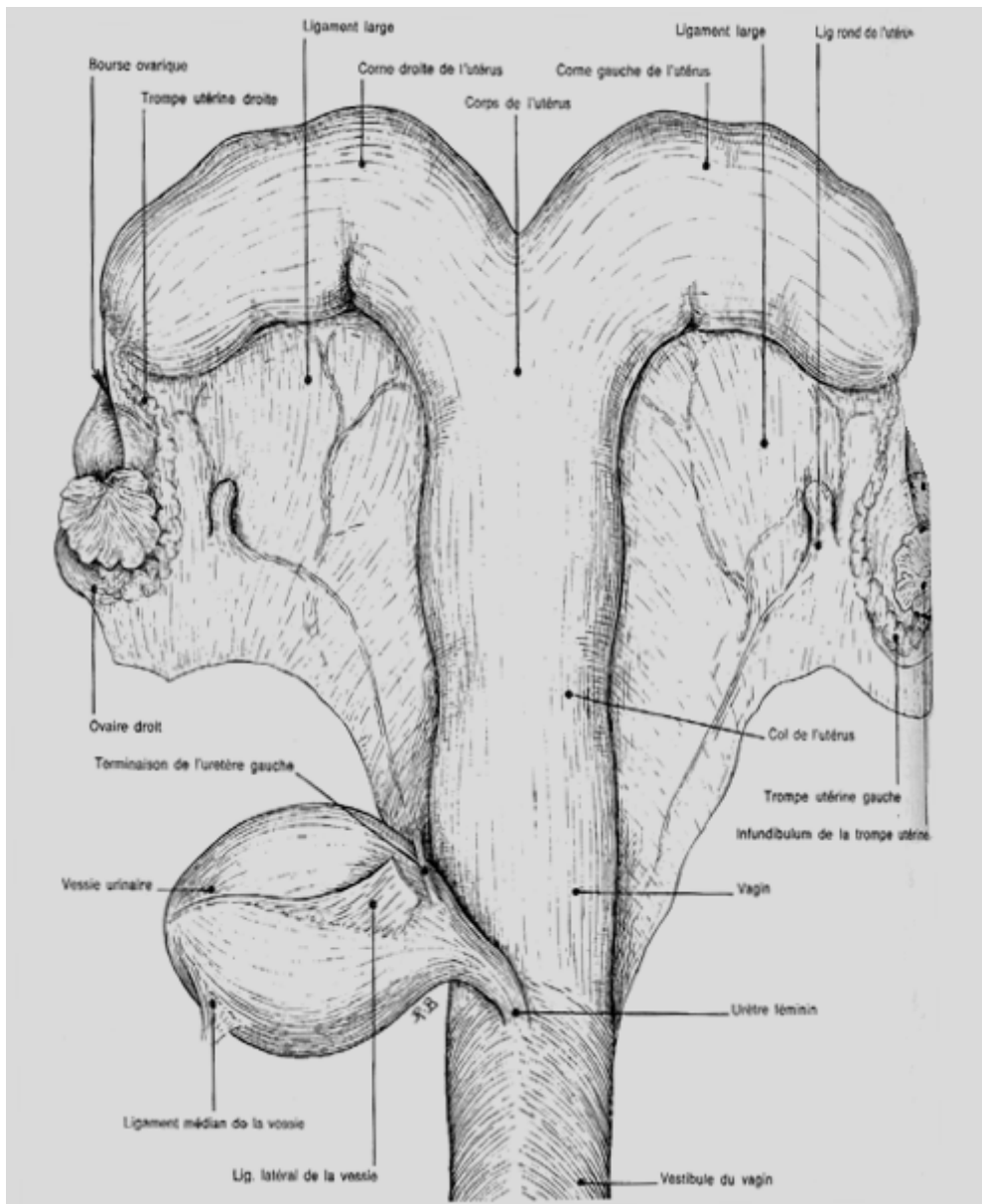


Figure 1 - Appareil génital de la jument en vue ventrale (Barone, 2001)

Conformation intérieure

Le corps et les cornes présentent une cavité, appelée cavum utérin, quasi virtuelle en dehors de la gestation. Celle-ci renferme du mucus en quantité variable selon les phases du cycle et est tapissée par une muqueuse jaune ocré ou rougeâtre, devenant sombre à ecchymotique au cours de l'œstrus. Cette muqueuse est l'objet de plis qui sont au nombre de 12 à 14 au niveau de chaque corne et de 8 à 10 au niveau du corps utérin ; ils font défaut 2 cm autour de la papille utéro-tubaire lieu où s'insère la trompe utérine (Barone, 2001).

Vascularisation de l'utérus

L'utérus est alimenté par deux artères utérines, la gauche et la droite. L'artère utérine prend naissance au niveau de la partie initiale de l'artère iliaque externe. Elle pénètre dans la partie crâniale du ligament large et poursuit son trajet en direction ventro-caudale, en se divisant en trois rameaux (Kainer, 1993 ; Ginther, 1993 ; Barone 1996 ; Barone 2001 ; Figures 2 et 3 ; Image 2) :

- L'artère utérine crâniale pour l'irrigation de la partie crâniale de la corne. Elle est anastomosée au rameau utérin de l'artère ovarienne.
- L'artère utérine moyenne pour l'irrigation de la partie moyenne de la corne. Elle fournit le principal apport sanguin au niveau de l'utérus et se divise en deux branches, une pour la partie caudale de la corne et l'autre pour le corps utérin.
- L'artère utérine caudale pour l'irrigation du corps de l'utérus. Elle rejoint le rameau utérin de l'artère vaginale au niveau du corps utérin.

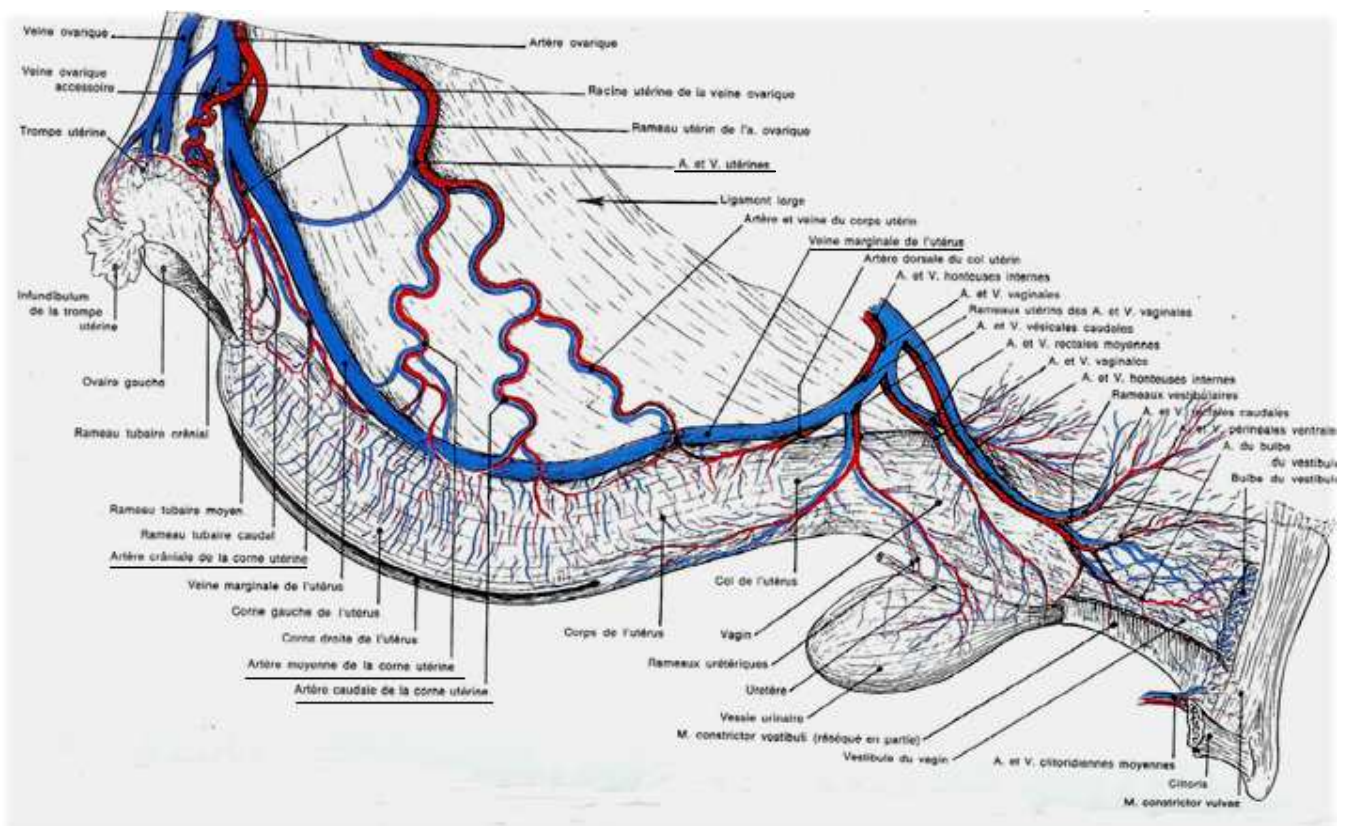


Figure 2 - Vascularisation de l'appareil génital de la jument (Barone, 2001)

Chez la jument, les anastomoses entre les artères sont peu nombreuses et se limitent à des anastomoses transversales au niveau du corps et du col surtout en face dorsale.

Chaque rameau fournit de nombreuses divisions tout au long de la paroi utérine. Les rameaux artériels se répartissent au niveau du paramétrium, où se forme un réseau sous-séreux. Puis naissent des branches qui alimentent un réseau myométrial très important (*stratum vasculosum*) et enfin des rameaux sont émis en direction du réseau endométrial. En effet, le *stratum vasculosum* du myomètre fournit des rameaux perforants qui se subdivisent en artères basales dans la profondeur de l'endomètre. De ce réseau partent des précapillaires qui alimentent les plexus périglandulaires et aussi des artéioles qui montent directement vers la partie superficielle où se constitue un réseau d'une extrême richesse (Barone, 1996 ; Barone, 2001).

Contrairement aux artères, les veines utérines présentent des anastomoses et se rejoignent au niveau de la « veine marginale de l'utérus » (Figure 2). Le long du paramétrium se forme une grande arcade anastomotique drainant l'utérus : celle-ci s'étend de la racine utérine de la veine ovarique à la racine utérine de la veine vaginale et émet au niveau de sa partie moyenne trois racines d'une veine utérine. Les réseaux veineux sont similaires aux réseaux artériels mais sont plus denses, les veines sont ensuite satellites des artères au cours de leur trajet au niveau des ligaments larges (Ginther, 1993 ; Barone, 1996 ; Barone, 2001 ; Figure 3).

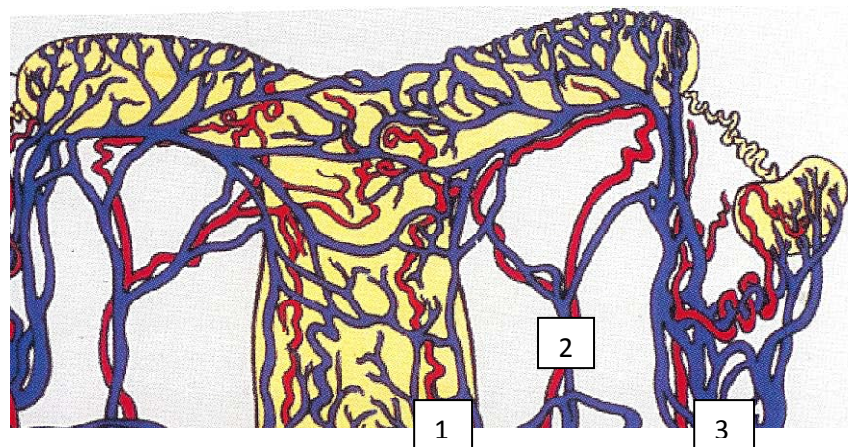


Figure 3 - Représentation schématique de la distribution des vaisseaux sanguins au niveau de l'utérus et anastomoses veineuses : 1. Artère et veine vaginale ; 2. Artère et veine utérine ; 3. Artère et veine ovarienne (Ginther, 1993)

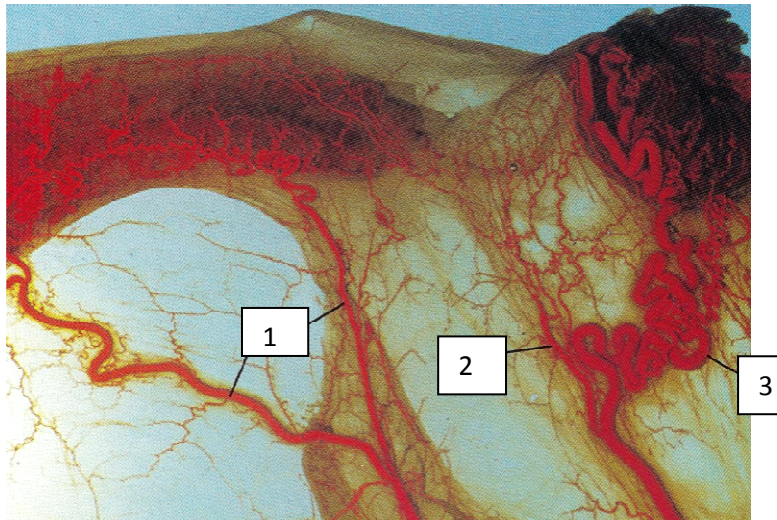


Image 2 - Vascularisation de l'utérus de jument: 1. Artère utérine ; 2. Branche utérine de l'artère ovarienne ; 3. Artère ovarienne (Ginther, 1993)

2. Structure histologique

La paroi de l'utérus est composée de trois couches : une séreuse, une musculuse et une muqueuse appelées respectivement : périmétrium, myomètre et endomètre (Kainer, 1993 ; Barone, 2001 ; Figure 4) :

- ❖ Le **périmétrium** est un tissu conjonctivo-élastique riche en structures vasculo-nerveuses. Sa richesse en fibres musculaires lisses fait qu'il est parfois qualifié de « paramétrium ».
- ❖ Le **myomètre** est relativement épais et possède une organisation complexe. Il contient trois couches d'importance inégale et sujettes à de nombreuses variations au cours du cycle œstral ou lors de la gestation :
 - La couche superficielle, ou longitudinale, renferme des faisceaux de fibres lisses dont l'orientation générale est longitudinale.
 - La couche moyenne contient un important plexus vasculaire autour duquel s'organisent des faisceaux musculaires qui participent ainsi à l'hyperhémie de la muqueuse. Ce plexus vasculaire est le plus important de la paroi utérine.
 - La couche profonde, ou circulaire, possède une disposition sphinctérielle relativement épaisse et concourt à former la plus grande partie du col utérin.

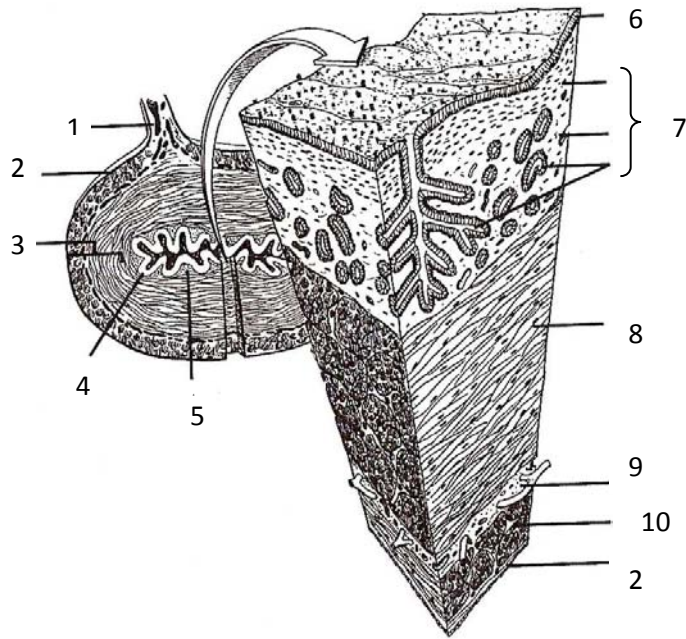


Figure 4 - Coupe de corne utérine de jument : 1. Mésométrium ; 2. Périmétrium ; 3. Myomètre ; 4. Endomètre ; 5. Tissu conjonctif ; 6. Surface de l'épithélium ; 7. Endomètre et glandes endométriales ; 8. Couche superficielle du myomètre ; 9. Couche moyenne ; 10. Couche profonde (Kainer, 1993)

❖ **L'endomètre** constitue la muqueuse et est composé d'un épithélium et d'une *propria* épaisse qui joue le rôle de sous-muqueuse (Kenney, 1978 ; Figure 5) :

- L'épithélium est de type colonnaire simple mais peut être cubique en période de dioestrus ou d'anœstrus. Il contient deux types d'épithélioctes : les ciliés et les non ciliés de type sécrétoire.
- La *propria mucosae* qualifiée de stroma endométrial est relativement épaisse et se divise en deux couches :
 - Une couche fonctionnelle, très riche en cellules (fibroblastes, globules blancs) dans laquelle se développent les glandes utérines et de nombreux micro vaisseaux. Celle-ci est elle-même divisible en deux couches secondaires :
 - Le *stratum compactum*, de type conjonctif, contient uniquement les tubes glandulaires
 - Le *stratum spongiosum* loge les parties ramifiées et contournées des tubes glandulaires
 - Une couche profonde, basale, mince, très adhérente au myomètre et ayant un rôle de régénération vis-à-vis de la couche superficielle. Elle renferme la partie caudale des glandes et les plus gros vaisseaux qui permettent une vascularisation intense lors de la gestation.

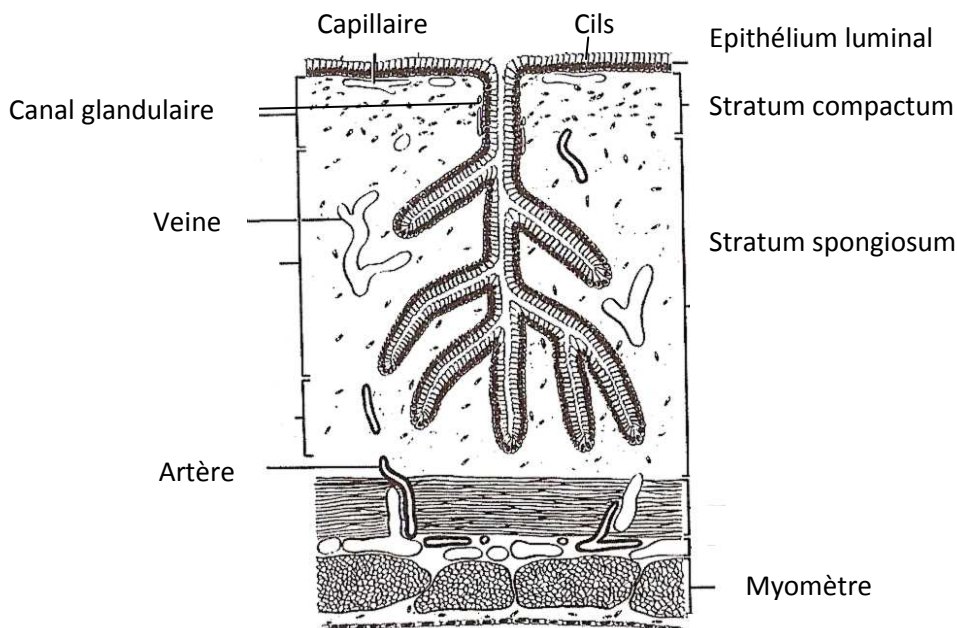


Figure 5 - Représentation schématique d'une vue en coupe d'utérus de jument (Kenney, 1978)

Les vaisseaux sanguins

Les vaisseaux sanguins sont constitués de trois couches ou tuniques qui sont moins bien définies pour les veines et petits vaisseaux (artérioles, capillaires et veinules). Elles correspondent à l'intima, la média et l'adventice (Figure 6).

L'intima est la mince couche interne de la paroi vasculaire, elle est composée de cellules endothéliales et repose sur une membrane basale sous laquelle se trouve une mince couche de fibres de collagène et quelques fibres élastiques, qui dans les gros vaisseaux peuvent fusionner pour donner une limitante élastique interne. L'intima des grosses artères supporte toute la force de l'éjection systolique lorsque la pression est maximale, elle est donc susceptible de présenter des lésions mécaniques liées aux forces de cisaillement des jets de sang. La média constitue la couche moyenne, elle est constituée soit de fibres élastiques organisées de façon circulaire pour pouvoir résister à la distension du vaisseau pendant la systole au niveau des grosses artères dites artères élastiques, soit de cellules musculaires lisses en vue d'une contraction pour les artères dites musculaires. L'adventice constitue la couche externe, elle est composée en grande partie de collagène et parfois de quelques cellules musculaires lisses (Samuelson, 2007).

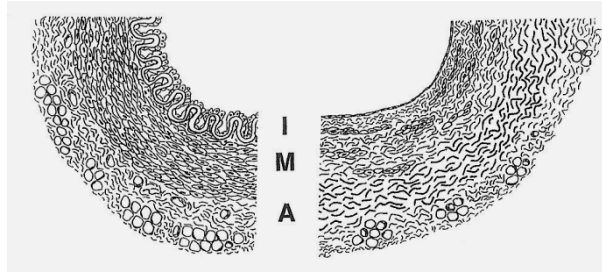


Figure 6 - Représentation d'une coupe d'artère (image de gauche), de veine (image de droite) et de leurs trois tuniques. I : intima ; M : média ; A : adventice (Samuelson, 2007)

B. Physiologie et endocrinologie sexuelles

1. Physiologie sexuelle de la jument

L'activité reproductive est régulée par la photopériode mais aussi par la nutrition et le climat, principalement la température (Daels et Hughes, 1993).

La jument est une espèce polyoestrienne saisonnière de jours « longs », à savoir que les cycles sexuels se succèdent sans interruption au cours du printemps et de l'été (saison sexuelle). Le cycle œstral est défini comme l'ensemble des modifications périodiques morphologiques, histologiques et physiologiques des organes génitaux et de la glande mammaire auxquelles sont jointes des modifications comportementales. Ces modifications créent toutes des conditions favorables à l'accouplement, la migration des gamètes, la fécondation, la nidation et la gestation. Ce cycle, dure en moyenne 21 jours et comprend deux phases (Hughes et al., 1975 ; Daels et Hughes, 1993) :

- **L'œstrus** (5 à 7 jours) correspond à une période de réceptivité de la femelle au mâle et de préparation du tractus génital à recevoir la semence. Durant cette phase, un ou plusieurs follicules dominants croient jusqu'à se rompre (ovulation) 24 à 48 heures avant la fin de l'œstrus.
- Le **diœstrus** est une période de refus de l'étalon par la jument et de préparation du tractus génital à recevoir et nourrir le conceptus. Suite à l'ovulation, le follicule rompu laisse place à un corps jaune, ou corps lutéinique, qui persiste 14 à 15 jours avant de régresser (lutéolyse) en l'absence de gestation.

Durant les jours « courts » (d'octobre à février), la jument présente une période d'inactivité ovarienne. Entre ces deux périodes, la reprise ou l'arrêt des cycles se fait de façon progressive au cours de périodes dites de transition printanière et automnale : des croissances folliculaires sont présentes mais sans ovulation d'où une durée d'œstrus allongée (Hughes et al., 1975 ; Sharp et Davis, 1993).

2. Endocrinologie sexuelle lors du cycle œstral

2.1. Hormones hypothalamo-hypophysaires

L'augmentation de la durée d'éclairement lors des « jours » longs entraîne une inhibition de la sécrétion de mélatonine. Cette dernière exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire durant la période de repos sexuel. Cela aboutit à une reprise d'activité de l'hypothalamus : la **GnRH** (gonadotrophin releasing hormone) est alors sécrétée de façon pulsatile et agit sur l'hypophyse antérieure par l'intermédiaire du système porte hypothalamo-hypophysaire. La synthèse des gonadotrophines, **FSH** (Follicule Stimulating hormone) et **LH** (Luteinizing Hormone), est ainsi stimulée. Ces dernières atteignent la circulation systémique pour agir au niveau de l'ovaire (Evans et Irvine, 1975 ; Daels et Hughes, 1993 ; Figure 7).

L'état nutritionnel de la jument peut modifier la fonction gonadotrope, avec un arrêt complet possible des cycles œstraux si la jument est trop maigre. Le tissu adipeux sécrète de la leptine qui induit la synthèse du neuropeptide Y qui à son tour stimule la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus (Daels et Hughes, 1993).

La **FSH** est libérée pendant l'œstrus et permet la croissance folliculaire ainsi que la sélection d'un ou plusieurs follicules dominants. Elle est aussi responsable de la sécrétion d'œstrogènes par le follicule ainsi que de la formation des récepteurs à LH. Des vagues de croissance folliculaire vont se succéder au cours des cycles, avec un deuxième pic de FSH observé lors du diœstrus (Evans et Irvine, 1975 ; Daels et Hughes, 1993 ; Figures 7 et 8).

La **LH** provoque la synthèse d'œstrogènes par les follicules et joue un rôle majeur dans le phénomène ovulatoire. Sa sécrétion, longue et progressive, atteint un seuil élevé pendant plusieurs jours avec un seuil maximal 24 à 36 heures après l'ovulation. En phase lutéale, la LH exerce une action lutéinisante sur les cellules du corps jaune (celles de la thèque rompue car elles sont les seules à posséder des récepteurs pour cette hormone), et favorise son maintien et son fonctionnement (Noden et al., 1975 ; Daels et Hughes, 1993 ; Figures 7 et 8).

2.2. Hormones stéroïdiennes

Les œstrogènes

Pendant l'œstrus, le(s) follicule(s) dominant(s) sécrètent des **œstrogènes** qui ont un effet anti-FSH sur la croissance des autres follicules et qui exercent un rétrocontrôle positif sur la sécrétion hypophysaire de LH à l'origine du « pic » de LH et donc de l'ovulation. Leur sécrétion atteint un pic 1 à 2 jours avant l'ovulation. Plus un follicule est de diamètre important, plus la sécrétion d'œstrogènes est importante, ce qui amplifie le phénomène d'inhibition de croissance des follicules voisins (Noden et al., 1975 ; Daels et Hughes, 1993 ; Figure 7).

La progestérone

Pendant le diœstrus, le corps jaune (les cellules de la granulosa et de la thèque interne) sécrète de la **progestérone** qui exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et empêche le démarrage d'un nouveau cycle. La sécrétion de progestérone augmente progressivement pour se stabiliser ensuite en plateau (Evans et Irvine, 1975 ; Daels et Hughes, 1993, Figure 8). La progestérone a besoin d'une imprégnation préalable en œstrogènes pour stimuler la synthèse de ses récepteurs. Cette hormone, seule ou combinée aux œstrogènes, est responsable de modifications au niveau des sécrétions utérines avec une baisse du titre en anticorps de celles-ci et une augmentation du tonus utérin (Daels et Hughes, 1993 ; Squires, 1993 ; Figure 7).

En fin de cycle, s'il n'y a pas eu de fécondation, l'utérus sécrète la **prostaglandine F2 α** (PGF2 α), qui est responsable de la lutéolyse et de la contractilité utérine. Cette production de prostaglandines par l'utérus serait influencée par les œstrogènes qui agissent sur l'expression des récepteurs à l'ocytocine au niveau du muscle lisse utérin. L'**ocytocine** stimule alors les contractions utérines et la production d'acide arachidonique, précurseur de la prostaglandine. La chute de progestérone en fin de diœstrus stimule la production de FSH par l'hypophyse et initie un nouveau cycle (Daels et Hughes, 1993 ; Katila, 2007 ; Figure 8).

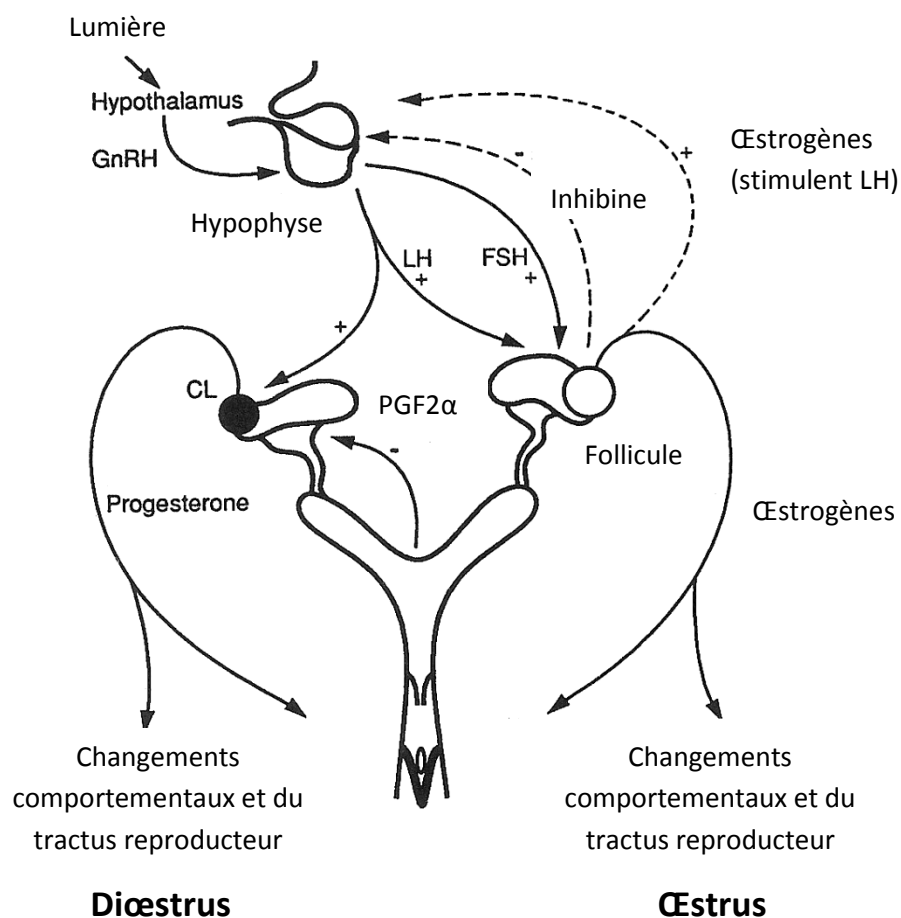


Figure 7 – Endocrinologie du cycle œstral (Daels et Hughes, 1993)

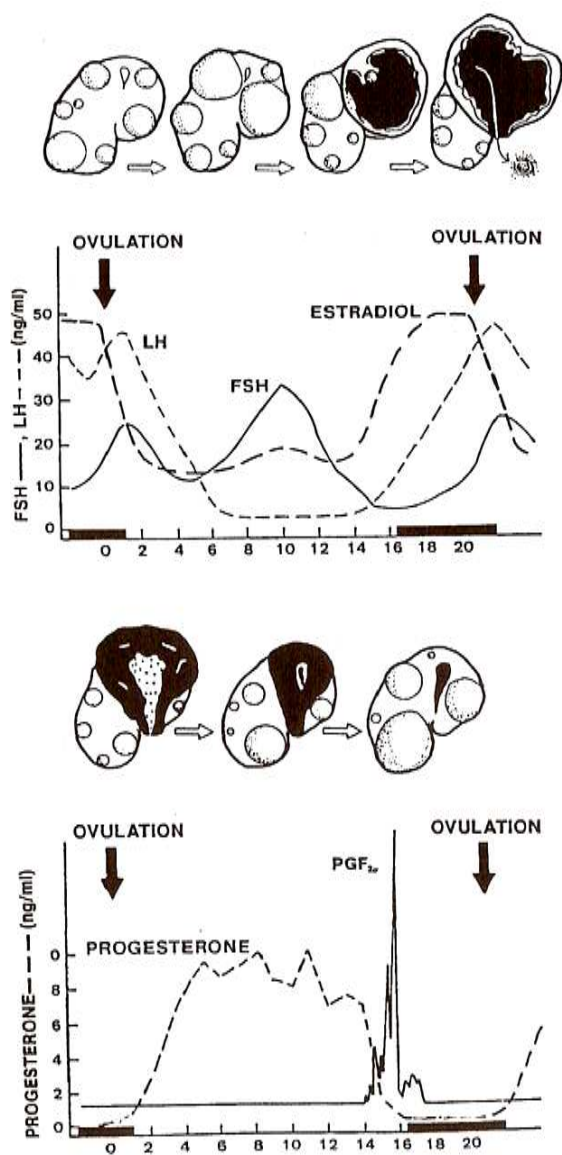


Figure 8 - Changements hormonaux pendant le cycle œstral (Daels et Hughes, 1993)

C. Changements morphologiques et histologiques au niveau de l'utérus

Les changements au niveau de l'utérus pendant le cycle œstral sont essentiellement contrôlés par la progestérone et les œstrogènes (Allen, 1988 ; Samper et Pycock, 2007).

1. Variations morphologiques

Au cours de l'œstrus, les modifications suivantes vont apparaître (Barone et Poirier, 1955 ; Hughes et Stabenfeldt, 1975 ; Daels et Hughes, 1993 ; Ginther, 1993 ; Barone, 2001 ; Samper et Pycock, 2007 ; Katila, 2007 ; Image 3) :

- une absence de tonus utérin
- un développement de l'œdème utérin
- la congestion et l'hyperhémie de la muqueuse utérine
- une contractilité de l'utérus pour faciliter le transport de la semence et l'élimination des déchets, excédents de semence, bactéries et produits de l'inflammation
- l'abondance des sécrétions utérines et la baisse de viscosité
- la mise en place d'invaginations glandulaires
- le développement des plis endométriaux qui deviennent hauts, épais, d'aspect œdématié et hémorragique

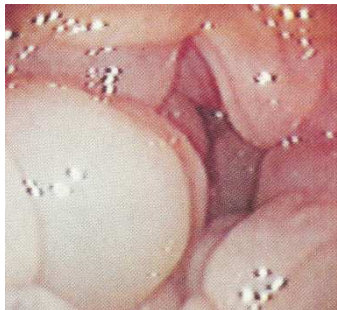


Image 3 - Plis de l'endomètre lors de l'œstrus. Œdème et aspect brillant des plis (Ginther, 1993)

Au cours du diœstrus, les modifications suivantes vont apparaître (Hughes et Stabenfeldt, 1975 ; Squires, 1993 ; Ginther, 1993 ; Samper et Pycock, 2007 ; Katila, 2007 ; Image 4) :

- une augmentation du tonus utérin
- la disparition de l'œdème utérin
- une augmentation de l'épaisseur de la paroi utérine
- une inhibition des contractions utérines

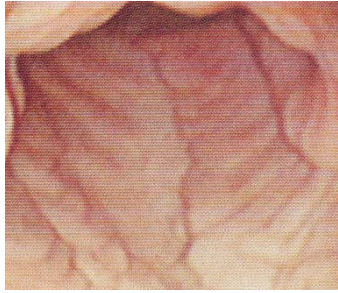


Image 4 - Plis de l'endomètre lors du diœstrus. Disparition de l'œdème (Ginther, 1993)

La dynamique utérine va dépendre ensuite de l'état gestant ou non. S'il n'y a pas de gestation, il y a alors involution lente et progressive de l'utérus (Squires, 1993 ; Samper et Pycock, 2007).

2. Variations histologiques

Les changements morphologiques observés au cours du cycle œstral sont accompagnés de modifications histologiques (Barone, 2001).

2.1. Myomètre

Sous l'action des œstrogènes, l'épaisseur du myomètre augmente. Le *stratum vasculare* fait l'objet de variations au cours de l'œstrus, il se développe de façon remarquable. Les faisceaux musculaires semblent agir sur la circulation sanguine : en comprimant les gros éléments veineux, ils contribuent avec la dilatation active des artères (imprégnation oestrogénique) à l'hyperhémie de la muqueuse. Celui-ci va en réalité particulièrement se développer dans la région où s'effectue l'implantation : la base des cornes utérines (Barone, 2001).

2.2. Endomètre

Au niveau de l'endomètre, les modifications suivantes sont rencontrées (Barone et Poirier, 1955 ; Kenney, 1978 ; Doig et Waelchli, 1993 ; Barone, 2001 ; Images 5,6 et 7) :

- l'**épithélium** est colonnaire, en général, simple mais il peut être cubique lors des périodes d'anœstrus ou de diœstrus. Sa taille est maximale en période œstrale, il peut atteindre jusqu'à 50µm. La proportion des deux types d'épithéliocytes va aussi être l'objet de variations selon les périodes. Les épithéliocytes ciliés se raréfient au cours de l'œstrus mais deviennent nombreux lors du diœstrus. Les non ciliés acquièrent quant à eux des villosités plus longues et plus importantes en période œstrale.
- le *stratum compactum* : cette couche sous épithéliale est peu sujette aux variations

- le *stratum spongiosum* est la couche la plus sujette aux variations notamment d'épaisseur et d'aspect au cours du cycle œstral. Lors de l'œstrus, son épaisseur est maximale et la vascularisation devient extrêmement dense. Il est alors possible d'observer un œdème stromal. Les glandes utérines, de type tubaire simple ou peu ramifiées, s'allongent, se ramifient et deviennent très flexueuses. D'autre part, du fait de l'œdème stromal, lors de l'œstrus, elles apparaissent plus éparées et moins nombreuses. Progressivement, leur épithélium devient plus haut, les cellules de celui-ci se multiplient et prennent des caractères sécrétoires. L'endomètre passe alors dans une phase sécrétoire active.

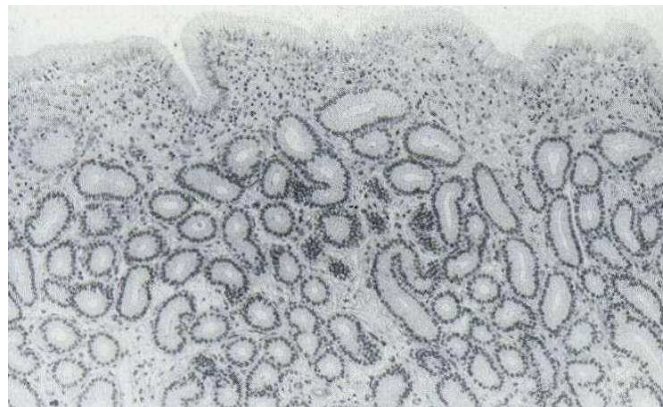


Image 5 - Section d'endomètre d'une jument en œstrus (Doig et Waelchli, 1993)

En diœstrus, la couche est qualifiée de « basse », elle est alors peu riche en glandes et est moins vascularisée. L'œdème stromal diminue, ce qui donne une impression de densité glandulaire plus importante (Barone et Poirier, 1955 ; Kenney, 1978 ; Doig et Waelchli, 1993 ; Barone, 2001 ; Image 6).



Image 6 - Section d'endomètre d'une jument en diœstrus, aspect tortueux des glandes en coupe (collier de perles) (Doig et Waelchli, 1993)

Lors des périodes de repos (anoestrus), les glandes deviennent peu flexueuses, plus courtes et étroites. Leur épithélium perd ses caractères sécrétoires et reprend le type colonnaire bas ou cubique (Barone et Poirier, 1955 ; Kenney, 1978 ; Doig et Waelchli, 1993 ; Barone, 2001 ; Image 7)

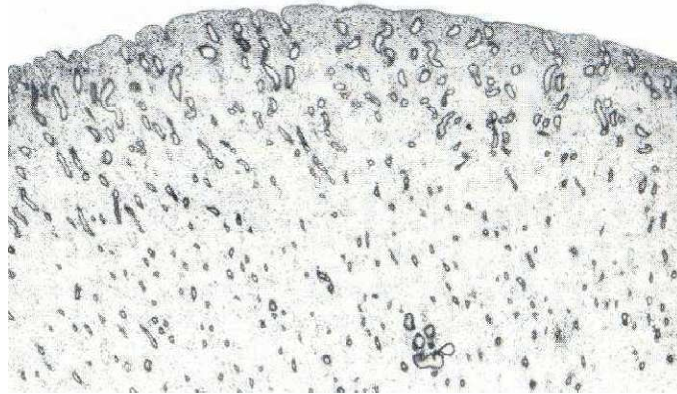


Image 7 - Section d'endomètre d'une jument en anœstrus, glandes inactives (Doig et Waelchli, 1993)

2.3. Les vaisseaux sanguins

Les **vaisseaux** sanguins et lymphatiques de l'endomètre vont beaucoup s'accroître au cours de l'œstrus. Une dilatation active des artères est constatée sous l'influence des œstrogènes. Tout ceci résulte en une accumulation de liquide interstitiel au sein de l'endomètre lui conférant un caractère œdématisé. Le chorion sera très vascularisé lors de l'œstrus, il sera parfois possible d'observer en certains points de véritables lacs sanguins. De plus, une accumulation de leucocytes dans les veinules vers la lumière utérine se produit. Lors du diœstrus, la vascularisation sanguine se fait plus discrète et les vaisseaux lymphatiques ne sont plus discernables (Barone et Poirier, 1955 ; Kenney, 1978 ; Barone, 2001).

D. L'utérus en début de gestation (jusqu'au 40^e jour)

1. Physiologie du début de gestation

La gestation est définie comme le temps nécessaire au développement de l'œuf fécondé au sein de l'organisme maternel jusqu'à son expulsion (parturition). Deux phases sont distinguées : la phase de pro-gestation au cours de laquelle l'œuf est libre puis la gestation au sens strict qui débute par l'implantation de l'œuf dans l'utérus suivie de la formation du placenta et se termine à la parturition (Allen, 1988; Flood, 1993).

Chez la jument, la durée de la gestation est comprise entre 320 et 350 jours soit environ onze mois. La période pendant laquelle l'embryon est non implanté peut se diviser en deux phases : la phase tubaire (en moyenne 5 à 6 jours) et la phase utérine, qui se termine lorsque le trophoblaste et l'épithélium utérin adhèrent l'un à l'autre au 40^e jour de gestation (Allen, 1988; Flood, 1993).

Après l'ovulation, l'ovocyte bloqué en métaphase II arrive dans l'oviducte dans les 6 à 8 heures suivant cet événement. La fécondation a lieu dans l'ampoule après l'arrivée des spermatozoïdes capotés. L'ovocyte fécondé va alors migrer dans la trompe utérine vers l'utérus tout en continuant son développement embryonnaire. Son transport à travers l'oviducte serait permis par des contractions du myosalpinx initiées par les prostaglandines E2 libérées par la vésicule embryonnaire. Les divisions successives le transforment en une morula après 4 ou 5 jours suivant l'ovulation puis en un blastocyste (7^e jour) (Allen, 1988; Flood, 1993).

Après son arrivée dans l'utérus, le 6^e jour de gestation, l'embryon de forme sphérique, va s'entourer d'une capsule faite de glycoprotéines qui jouerait un rôle de protection mécanique lors de sa migration intra-utérine. La vésicule embryonnaire est particulièrement mobile dans l'espèce équine, avec une phase de mobilité maximale entre le 11^e et le 14^e jour de gestation. Ces phases migratoires permises par les contractions utérines le transportent dans toutes les parties de l'utérus, que ce soient le corps ou les cornes. Ces migrations sont indispensables à la reconnaissance maternelle de la gestation, c'est ainsi que toutes les parties de l'endomètre reçoivent le signal émis par l'embryon. Ainsi, le corps jaune est maintenu et la gestation peut se poursuivre (Allen, 1988; Flood, 1993).

Progressivement, la mobilité de la vésicule diminue, elle entre dans une phase de stagnation et, du fait de l'augmentation de son volume, elle se retrouve en quelque sorte « coincée » à la base d'une des cornes utérines. Il est alors possible d'observer une phase d'orientation de la vésicule embryonnaire (entre le 17^e et le 20^e jour) de sorte que le disque embryonnaire rentre en contact avec l'endomètre. Puis, il y a fixation de la vésicule, l'embryon se détache progressivement de la paroi trophoblastique et se retrouve alors au pôle ventral de la vésicule. Par la suite, le développement de l'allantoïde va faire migrer l'embryon dorsalement. L'organogenèse de ce dernier sera complète au bout de 35 jours de gestation (Allen, 1988; Flood, 1993).

L'implantation a donc lieu à la base d'une des cornes utérines du côté antimésométral. La portion endométriale sur laquelle va venir se fixer l'embryon n'est pas manifestement différente d'une autre, mais la base des cornes utérines reçoit à ce niveau une large branche de l'artère utérine (Allen, 1988; Flood, 1993).

Les interactions entre le conceptus et l'endomètre sont impossibles tant que la capsule est présente. C'est pourquoi les cellules trophoblastiques entourant celui-ci vont

progressivement se transformer : il est alors possible d'observer un trophoblaste transparent entourant la majeure partie du conceptus ainsi qu'une bande blanche de cellules trophoblastiques hyperplasiées correspondant à la ceinture chorionique. Cette dernière atteint sa maturité vers le 35^e jour de gestation. A partir du 36^e ou 37^e jour, les cellules de cette ceinture migrent, viennent envahir et détruire l'épithélium de l'endomètre pour s'implanter dans le stroma sous forme d'amas cellulaires denses qui donnent naissance aux **cupules endométriales**. Celles-ci vont persister au maximum jusqu'au 100-150^e jour de gestation et sont à l'origine de la sécrétion de **eCG** (equine Chorionic Gonadotrophin) anciennement dénommée PMSG (pregnant mare serum gonadotrophin) (Allen, 1988; Flood, 1993).

Le trophoblaste très vascularisé est en contact étroit avec l'endomètre dès le 25^e jour. Un début d'interaction entre les microvillosités des cellules du trophoblaste et l'épithélium utérin a été décrit dès le 38-40^e jour. Des macrovillosités fœtales (qui deviendront des microcotylédons) commencent à apparaître dès le 45^e jour comme des structures rudimentaires qui se développent progressivement jusqu'à la formation d'une véritable attache placentaire constituée de microcotylédons fœtaux et de microcaroncules maternelles (Allen, 1988; Flood, 1993).

2. Endocrinologie du début de gestation

Les 14 premiers jours de la gestation sont similaires d'un point de vue endocrinologique à la phase lutéale d'une jument non gestante. Le corps jaune issu de l'ovulation sécrète de la progestérone. Grâce au signal de reconnaissance maternelle émis par l'embryon, l'utérus ne sécrète pas de prostaglandines F2 α : le corps jaune n'est donc pas lysé au 14^e-15^e jour post-ovulation, le taux de progestérone reste élevé. Ce corps jaune primaire continuera sa production d'hormones stéroïdiennes pendant 25 jours supplémentaires et sera maintenu jusqu'au 120^e jour de gestation. Dans l'espèce équine, des corps jaunes secondaires ou accessoires sont formés vers le 40^e jour de gestation afin de maintenir une sécrétion de progestérone suffisante : un deuxième pic de progestérone est ainsi observé vers le 40^e jour de gestation. La progestérone d'origine ovarienne est ainsi maintenue jusqu'au 150^e jour de gestation avant que le placenta ne prenne complètement le relais. En réalité, la sécrétion de progestérone d'origine fœto-placentaire semblerait débuter dès le 30^e jour de gestation (Ganjam et al, 1975 ; Allen, 1988 ; Figure 9).

Une autre spécificité de la jument réside dans la sécrétion d'eCG par les cupules endométriales : elle est détectée dans le sang maternel à partir du 35^e-42^e jour de gestation, atteint sa concentration maximale vers 55 à 65 jours puis diminue progressivement jusqu'à 100-150 jours de gestation. Celle-ci possède plusieurs rôles : le maintien du corps jaune primaire, la formation de corps jaunes secondaires et un rôle immunorégulateur dans le maintien de la gestation. L'existence de cupules endométriales est un élément important à prendre en compte lors d'arrêts précoces de gestation. Si l'arrêt de la gestation survient

après la formation des cupules endométriales, la sécrétion d'eCG se poursuit et la jument peut ne pas revenir en chaleur pendant trois mois du fait de la présence de corps jaunes (Allen, 1988 ; Flood, 1993 ; Figures 9 et 10).

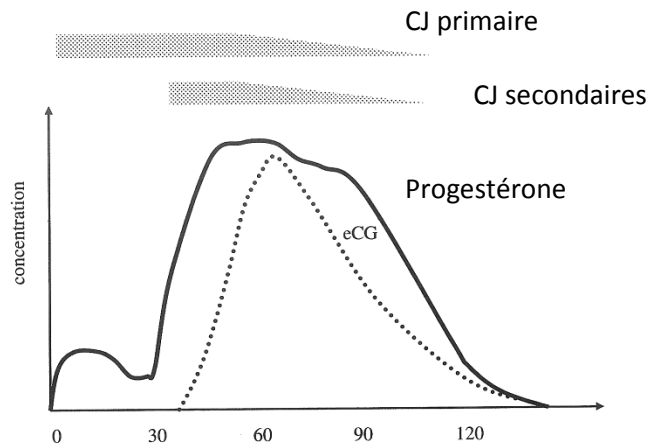


Figure 9 - Profil hormonal lors du premier tiers de gestation chez la jument (Allen, 1988)

Concernant les œstrogènes, plusieurs sources existent chez la jument gestante : ceux produits localement par le conceptus vers le 12^e jour de gestation, mais qui n'atteignent pas la circulation générale, ceux produits par l'ovaire qui augmentent en parallèle à la production d'eCG et ceux produits par l'unité fœto-placentaire qui augmenteront à partir de 60 jours de gestation (Allen, 1988 ; Flood, 1993 ; Figure 10).

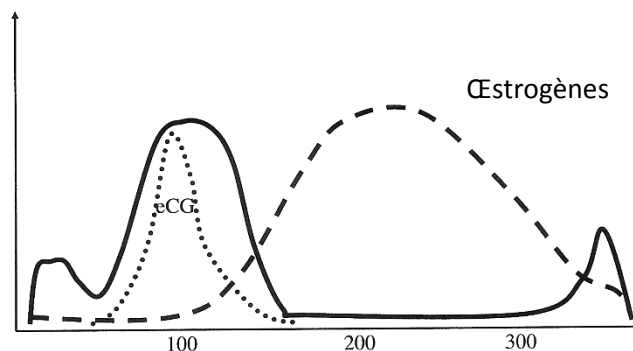


Figure 10 - Evolution de la concentration en œstrogènes au cours de la gestation chez la jument (Allen, 1988)

3. Changements morphologiques et histologiques de l'utérus en début de gestation

Lors de l'arrivée de la vésicule embryonnaire 5 à 6 jours après la fécondation, le milieu utérin doit être préparé à la recevoir. Des changements caractéristiques de l'utérus vont alors se produire.

L'utérus gravide maintient sa forte tonicité au delà du 16^e-18^e jour post-ovulation. Il est probable que l'augmentation de tonicité utérine en début de gestation conduit à un contact étroit entre la vésicule embryonnaire et l'endomètre qui optimise sans doute les transferts de nutriments vers la vésicule non encore fixée. De plus, grâce à cette augmentation locale de turgidité, la réduction du diamètre utérin est accentuée, ce qui contribue à la fixation de cette dernière (Allen, 1988 ; Silva et al., 2005).

L'utérus devient donc progressivement turgescant, tonique et plus étroit entre les 15^e et 21^e jour post ovulation. Le corps et les cornes utérines prennent ensuite l'aspect de « tuyau » rigide suite à l'augmentation du tonus utérin. A partir de 21 jours, il est possible de constater une « enflure » de 3 à 5 cm de diamètre à la base d'une corne. Au fur et à mesure que le conceptus grossit, celle-ci devient plus large mais reste globalement sphérique (Allen, 1988).

Pour promouvoir la migration du conceptus au sein de la cavité utérine, des contractions myométriales sont mises en place. Celles-ci sembleraient être initiées par des stimulations locales du conceptus (Silva, et al., 2005). Le myomètre voit donc ses fibres musculaires s'épaissir et leur longueur se décupler (Barone, 2001).

Ensuite, la fixation de la vésicule se produit dans un lieu où la mobilité est restreinte : la base des cornes. Des changements morphologiques sont de nouveau constatés. Le développement de la corne gravide devient rapidement prépondérant, son volume augmente, la paroi de l'utérus s'épaissit surtout au niveau myométrial afin d'acquérir une plus grande force contractile en vue de la parturition. Les fibres du myomètre sont le siège d'une hypertrophie et d'une hyperplasie, elles se renforcent et se multiplient. En réalité, ce sont la partie moyenne et la base de la corne gravide (qui correspondent au territoire de distribution de l'artère utérine) qui présentent le plus grand développement. Cependant malgré cette forte croissance de l'organe, la paroi utérine s'épaissit modérément jusqu'au 16^e jour. Ce n'est que par la suite qu'elle subira un épaissement plus marqué. Ses constituants vont être renforcés (hypertrophie) et multipliés (hyperplasie) en même temps que ses vaisseaux prennent un volume considérable (Barone, 2001).

Avec la gestation, les vaisseaux du myomètre vont particulièrement se développer afin de fournir un apport sanguin adéquat pour le conceptus. L'abondance des vaisseaux donne alors à la musculature une coloration rosée. Le *stratum vasculare* va particulièrement croître au lieu de l'implantation future de l'embryon, à savoir la base des cornes. Il fournit de nombreuses ramifications permettant la création de réseaux. En effet, de longues artères vont migrer du plexus vasculaire entre les glandes utérines vers la surface pour venir approvisionner les microcaroncules (Figure 11). Une vascularisation et une perfusion utérine correctes sont donc indispensables aux futurs échanges entre la mère et son fœtus (Barone, 2001). Suite à la parturition, il se produira une reconstruction, un remodelage de la paroi des vaisseaux mais avec l'augmentation du nombre de gestation mais aussi avec l'âge, les vaisseaux ne subissent plus une involution correcte et des lésions vasculaires dégénératives apparaissent. Celles-ci semblent être plus sévères au niveau des vaisseaux myométriaux que

des vaisseaux de l'endomètre (Grüninger, et al., 1998). Parallèlement, se développent les ligaments larges et les vaisseaux sanguins qu'ils contiennent, leur diamètre augmente et le débit sanguin est multiplié. L'expansion de la vascularisation utérine à l'intérieur de ces ligaments lors de la gestation est extrêmement importante et n'est retrouvée nulle part ailleurs dans l'organisme. Les modifications apportées par la gestation sont si importantes que l'utérus ne retrouvera en réalité jamais intégralement son état primitif. Les vaisseaux vont demeurer plus gros et surtout plus longs, les artères étant particulièrement flexueuses (Barone, 2001).

L'endomètre subit aussi des modifications profondes : il s'épaissit, devient hyperhémique. Il montre une congestion intense avec parfois de petites hémorragies interstitielles (Barone et Poirier, 1955). Le chorion devient très riche en gros vaisseaux sanguins et lymphatiques. Les changements de perfusion vasculaire de l'endomètre en début de gestation semblent de même se produire de façon concomitante avec les changements de localisation du conceptus (Silva, et al., 2005). La sécrétion des glandes endométriales produit un véritable lait utérin ou embryotrophe destiné à la nutrition de l'embryon avant la formation du placenta (Barone et Poirier, 1955 ; Barone, 2001 ; Collin, 2005 ; Ginther, 1995 ; Figure 11).

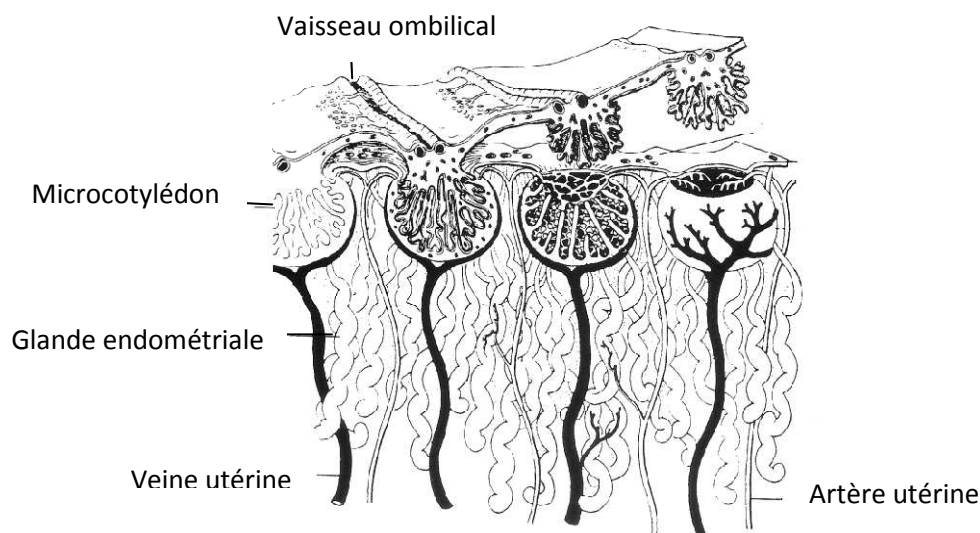


Figure 11 - Représentation schématique de la placentation chez la jument. Importance du système de vascularisation (Ginther, 1993)

L'utérus est donc un organe qui est sujet à de nombreuses variations au cours de la période d'activité sexuelle et de la gestation. Ces changements, sous contrôle hormonal, aboutissent à la création d'un environnement utérin viable pour l'arrivée de l'embryon et assurent par la suite sa nutrition avant la formation du placenta. Néanmoins, tout élément venant modifier l'anatomie de l'utérus, tout particulièrement dans le cadre de notre sujet sa vascularisation, peut engendrer des troubles de la fertilité chez la jument. C'est pourquoi nous allons nous intéresser aux principaux facteurs intrinsèques de subfertilité impliquant l'utérus chez la jument, en mettant l'accent sur les perturbations de sa vascularisation.

Deuxième partie

Subfertilité d'origine utérine : approches étiologique et diagnostique

II. Subfertilité d'origine utérine : approches étiologique et diagnostique

La subfertilité correspond à l'incapacité à se reproduire à un potentiel maximal de façon temporaire ou permanente (Ricketts et Troedsson, 2007 ; Davies Morel, 2008). Kenney (1978) considère qu'une jument est subfertile, si elle n'est pas gravide après trois chaleurs « correctement utilisées », à savoir avec des ovulations constatées au plus tard 48 heures après la saillie ou l'insémination par un étalon fertile (Kenney, 1978; Betsch, 1992). La mortalité embryonnaire ou la mort embryonnaire précoce (se produisant avant 40 jours de gestation) sera aussi considérée comme responsable de subfertilité (Davies Morel, 2008).

A. Etiologies des subfertilités d'origine utérine

Chez la jument, une fois les causes extrinsèques responsables de subfertilité éliminées (état de santé, état nutritionnel et de stress, fertilité propre de l'étalon, qualité de la semence congelée ou réfrigérée, hygiène des locaux, qualité du suivi gynécologique et facteurs environnementaux), les causes intrinsèques doivent être investiguées (Betsch, 1992 ; Plante et Jimenez Escobar, 1999 ; Davies Morel, 2008). Ces dernières peuvent se situer à chacune des différentes étapes conduisant à la gestation : ovulation, fécondation, viabilité de l'embryon, transport dans l'oviducte, nidation et croissance de l'embryon dans une corne utérine, puis placentation et développement du fœtus (Betsch, 1992). Nous n'évoquerons que les résorptions embryonnaires précoces (avant 14 jours) ou tardives (14-60 jours) ayant pour origine une pathologie utérine, à savoir lorsque la nutrition du fœtus dépend étroitement des sécrétions glandulaires de l'endomètre (Betsch, 1992), sécrétions qui ne sont permises que par un apport sanguin adéquat.

1. Age

La fertilité d'une jument baisse de façon progressive à partir de l'âge de 12-13 ans, et la mortalité embryonnaire précoce augmente avec l'âge, mais elle est particulièrement difficile à apprécier car elle est difficilement objectivable (Betsch, 1992; Davies Morel, 2008). Différents facteurs peuvent être incriminés : une incompetence du col utérin à se dilater correctement suite à de la fibrose, des changements dégénératifs glandulaires, de la fibrose endométriale, des changements sclérotiques vasculaires et périvasculaires ainsi que l'accumulation de fluides intra-utérins. Toutes ces conditions sont favorables au développement d'endométrite (Grüniger et al, 1998 ; Pycock, 2007).

Concernant les altérations vasculaires, il est possible de constater progressivement avec l'âge un épaissement de la paroi des larges artères élastiques probablement en réponse aux ajustements vis-à-vis de l'hémodynamique utérine. Cette augmentation d'épaisseur est permise par la prolifération de fibres élastiques et de collagène voire de cellules musculaires

lisses. Cependant, ces réorganisations peuvent être perturbées avec le temps et laisser place à des altérations irréversibles (Rooney et Roberston, 1996).

Les artères utérines peuvent faire l'objet d'altérations de type sclérotique. Celles-ci sont retrouvées chez de nombreuses espèces et sont reconnues comme étant des changements vasculaires post-partum. Elles ont été décrites chez de nombreuses juments multipares. Les altérations sclérotiques vasculaires sont considérées comme étant un renforcement de la paroi des vaisseaux afin de lutter contre leur baisse de résistance face au stress mécanique imposé par l'importante demande circulatoire de la gestation. Mais cette diminution de résistance serait aussi due à l'apparition d'une certaine atrophie de la média en relation avec l'âge de l'animal (Grüninger, et al., 1998). La couche musculaire de la média des juments âgées multipares est progressivement remplacée par du tissu fibreux. Cette altération est retrouvée dans la partie extra utérine des artères utérines et par extension dans les artères du myomètre. Mais elle est peu retrouvée dans les vaisseaux de l'endomètre car celui-ci n'est pas riche en artères musculaires (Rooney et Roberston, 1996).

Les altérations vasculaires endométriales se caractérisent par diverses modifications telles que des inflammations, surtout périvasculaires et des lésions dégénératives mais elles restent encore mal expliquées. Leur sévérité est décrite comme étant reliée au nombre de gestation sans tenir compte de l'âge de l'animal. Or, il est possible de retrouver ce type d'altérations vasculaires chez de vieilles juments maiden. En effet, Grüninger et al. (1998) ont montré que l'incidence et le degré des angiopathies augmentent avec la parité et que les juments maiden ne présentent pas de changements vasculaires sévères. Cependant, parmi ces dernières, les individus âgés (>13 ans) présentent tout de même de légères dégénération se caractérisant par de la sclérose à la fois de l'intima et périvasculaire. Donc, il est vrai que l'incidence et la sévérité des angiopathies augmentent avec le nombre des précédentes gestations mais aussi avec l'âge de l'animal. Ces altérations sont caractérisées par : un effilochage de la membrane élastique interne, une atrophie de la média, une perte d'élasticité et une fibrose des différentes couches (intima, média, adventice) ainsi que par des processus de calcification au sein de la média (Grüninger, et al., 1998).

Les changements hormonaux ainsi que les variations dans l'hémodynamique utérine lors de la gestation et la période d'involution sont responsables de remodelages vasculaires. En effet, les demandes fonctionnelles et l'augmentation des concentrations hormonales lors de la gestation induisent une croissance artérielle et un remodelage de la paroi des vaisseaux, ceci résultant en une hyperplasie de la média, une résorption des tissus élastiques et une augmentation de leur diamètre interne. Lors du post-partum, les vaisseaux subissent une involution suivie d'une reconstruction. Cependant, ces cycles de croissance-régression en relation avec les multiples gestations induisent des changements dégénératifs vasculaires. De plus, comme l'âge réduit les capacités régénératives des parois des vaisseaux, ceci intensifie le phénomène. La circulation utérine se trouve donc fortement altérée et cette diminution de perfusion est à relier avec la subfertilité d'origine utérine. En effet, suite à cette mauvaise perfusion sanguine, les cellules stromales endométriales et épithéliales

glandulaires se retrouvent mal approvisionnées, ce qui interfère avec la fonction des glandes mais aussi avec la création d'un environnement utérin favorable à une implantation embryonnaire. D'autre part, ces angiopathies sont progressivement accompagnées par de la phlébectasie et de la lymphangiectasie, ce qui réduit la capacité de drainage de l'utérus. Les angiopathies chez les juments âgées multipares peuvent par conséquent être intimement liées à de la subfertilité (Grüninger, et al., 1998).

2. Endométrite

L'endométrite ou inflammation de l'endomètre, a été reconnue comme la troisième affection médicale communément rencontrée dans l'espèce équine (Lu et Morresey, 2006). Elle est caractérisée par un excès de mucus, un taux leucocytaire élevé, une augmentation du flux sanguin utérin et un œdème suite à l'accumulation de fluides (Davies Morel, 2008). Les signes cliniques ne sont pas systématiques (Mair, et al., 1998).

L'utérus possède des barrières physiques pour se protéger vis-à-vis du milieu extérieur : les lèvres vulvaires, l'anneau vestibulaire et le col utérin. Si une de ces barrières se trouve rompue, cela devient propice au développement d'une contamination de l'utérus (Wolfsdorf et Caudle, 2007).

L'introduction de n'importe quel type de substance dans l'utérus, même de l'eau physiologique, entraîne une réaction inflammatoire impliquant une rapide migration de polynucléaires dans la lumière utérine puis une migration tissulaire de lymphocytes et de macrophages en cas de chronicité. Lors de l'œstrus, les polynucléaires neutrophiles migrent dans les capillaires sous-épithéliaux mais ce n'est qu'en cas de contamination utérine qu'ils migreront ensuite dans la lumière utérine (Asbury et Lyle, 1993 ; Katila, 1996). Une jument saine doit être capable d'éliminer toute infection utérine en moins de 96 heures, elle sera alors considérée comme « résistante » (Katila, 1996).

La jument est beaucoup plus sensible aux infections sous imprégnation progestéronique que sous l'influence des œstrogènes (Katila, 1996) : les juments traitées avec de la progestérone présentent une clairance diminuée vis-à-vis des bactéries ou des marqueurs contrairement aux juments traitées aux œstrogènes (Troedsson et Liu, 1991).

Différents éléments sont retrouvés au niveau de la réaction inflammatoire développée par l'utérus (Katila, 1996), essentiellement des polynucléaires neutrophiles et des protéines sériques (Asbury et Lyle, 1993). Des activités d'opsonisation et de phagocytose vont se mettre en place afin d'éliminer tout agent infectieux introduit. Il semblerait que les neutrophiles provenant directement de l'utérus soient plus efficaces dans la phagocytose des bactéries que ceux provenant du sang circulant (Katila, 1996).

Afin de se défendre contre l'infection, l'utérus met également en place une « clairance » mécanique grâce à l'augmentation de l'activité myométriale via l'action des

prostaglandines sécrétées par les polynucléaires activés (Katila, 1996; Troedsson, 1999; Pycock, 2007). Via les nombreux vaisseaux lymphatiques parcourant la muqueuse utérine, un drainage lymphatique est aussi impliqué afin de drainer l'excès de fluides accumulés dans la lumière utérine. Tout ceci n'est efficace que si une dilatation cervicale adéquate est présente (Katila, 1996).

En conclusion, la vascularisation sanguine et lymphatique de l'utérus joue un rôle primordial dans les mécanismes de défense utérine grâce à l'apport des cellules de l'inflammation mais aussi au drainage mis en place.

La classification d'ordre étiologique et pathogénique des endométrites qui est actuellement reconnue tient compte à la fois des germes en cause et des défauts de moyens de défense de l'organisme (Bruyas, 2005).

2.1. Endométrite infectieuse

2.1.1. Endométrite induite par une contamination sexuelle par des germes très pathogènes

Lors de maladies vénériennes, l'étalon joue le rôle de vecteur, porteur inapparent. Différents germes peuvent être incriminés : *Taylorella equigenitalis*, *Klebsiella pneumoniae*, certains sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa*. En raison du pouvoir pathogène élevé de ces agents bactériens, une infection utérine avec des signes cliniques souvent marqués, tels que des sécrétions utérines plus ou moins abondantes, à l'origine parfois d'écoulements vulvaires et le plus souvent d'une accumulation liquidienne de volume variable dans la lumière de l'utérus, sont observés (Bruyas, 2005).

Taylorella equigenitalis, anciennement appelé *Haemophilus equigenitalis* (Swerczek et Caudle, 2007), est un coccobacille Gram négatif, microaérophile, extrêmement contagieux, agent de la métrite contagieuse équine (CEM). La contamination se fait par voie vénérienne ou par transmission indirecte via des équipements contaminés par le personnel manipulant à la fois des juments et des étalons (Wolfsdorf et Caudle, 2007 ; Swerczek et Caudle, 2007). Lors d'infection, il est observé chez la jument, une endométrite aiguë sévère avec des sécrétions utérines, cervicales et vaginales, grisâtres et mucopurulentes (Mair, et al., 1998; Davies Morel, 2008). Des périodes dioestrales raccourcies sont généralement constatées. Des infections chroniques sans signes cliniques de même qu'un état porteur asymptomatique (portage au niveau des sinus clitoridiens) peuvent être rencontrés (Mair et al., 1998 ; Wolfsdorf et Caudle, 2007).

Klebsiella pneumoniae, associée à des endométrites aiguës ou chroniques, est relativement insensible aux antibiotiques et antiseptiques (Davies Morel, 2008).

Pseudomonas aeruginosa n'est en général pas responsable de symptômes évidents. Chez les juments âgées, il sera possible d'observer des écoulements allant du bleu-vert au jaune-verdâtre (Davies Morel, 2008).

2.1.2. Endométrite induite par des germes opportunistes

Les bactéries opportunistes sont retrouvées dans l'environnement de la jument et sont responsables d'une infection due à des ruptures de la microflore naturelle suite à des traitements antibiotiques, du stress, un excès d'utilisation d'antiseptiques. Elles sont introduites via des saillies, inséminations artificielles, examens gynécologiques ou poulinages. Elles provoquent une endométrite aigüe. Il est alors possible d'objectiver des hémorragies internes, des dégénérescences cellulaires des couches endométriales profondes dans les cas sévères, et parfois des hypertrophies et abcédations glandulaires (Davies Morel, 2008).

Parmi ces agents, il est fréquemment retrouvé :

- *Streptococcus equi subsp zoepidemicus*, rencontré dans 75% des endométrites aigües, promeut la prolifération d'autres bactéries à l'intérieur du tractus génital (Davies Morel, 2008). Il est aussi l'agent causal le plus communément retrouvé comme cause d'avortement à n'importe quel stade de la gestation (Swerczek et Caudle, 2007)
- *Escherichia Coli*, fréquemment retrouvé lors de contamination fécale du tractus génital, est responsable d'endométrite aigüe mais aussi de sévères infections systémiques (Davies Morel, 2008).
- *Staphylococcus aureus*, retrouvé moins communément, fait irruption suite à des ruptures de microflore naturelle, maladies ou stress (Davies Morel, 2008).

Il est aussi possible d'isoler *Corynebacterium spp.*, *Proteus spp.*, qui seront considérés comme pathogènes si l'examen cytologique met en évidence une inflammation utérine (Swerczek et Caudle, 2007). Certaines bactéries anaérobies, comme *Bacteroides fragilis*, peuvent être rencontrées notamment lors d'endométrite aigüe pendant les chaleurs de poulinage chez des juments subfertiles (Asbury et Lyle, 1993 ; Ricketts et Troedsson, 2007 ; Swerczek et Caudle, 2007).

Lors d'endométrite aigüe sévère, la durée du dioestrus est souvent plus courte du fait d'une libération prématurée de PGF2 α (Betsch, 1992).

2.1.3. Endométrite fongique

Des infections fongiques peuvent potentiellement être transférées par voie vénérienne et causer des endométrites. Les champignons les plus fréquemment isolés sont

Chlamydia spp. et *Mycoplasma spp.* Des levures peuvent aussi être retrouvées, telles que *Candida spp.* et *Aspergillus spp.* (Davies Morel, 2008).

Chez la jument infectée, il sera observé une accumulation utérine de fluides avec une décharge vulvaire grisâtre, sans autres signes cliniques apparents (Dascanio, 2007).

Les endométrites fongiques, ou mycoses de l'endomètre, restent rares et sont souvent associées à des traitements antibiotiques répétés (Betsch, 1992), immunosuppresseurs (Dascanio, 2007) ou de progestérone. Elles sont fréquemment rencontrées chez les juments présentant une/des brèche(s) des barrières anatomiques de protection de l'utérus (LeBlanc, 2008). En effet, l'incompétence des barrières physiques de protection utérine favorise la contamination du tractus reproducteur par les matières fécales (Dascanio, 2007).

Les champignons sont responsables de la création d'un biofilm qui facilite le développement de colonies bactériennes, des infections mixtes sont alors envisageables (LeBlanc, 2008).

Les endométrites infectieuses peuvent donc être d'origines diverses et sont souvent rencontrées lors de la rupture d'une ou plusieurs barrières de défense de l'utérus. Celles-ci provoquent un appel de cellules inflammatoires qui, nous le verrons par la suite, peut être un facteur déclenchant dans l'apparition d'angiopathies endométriales (Grüninger, et al., 1998; Hoffmann, et al., 2009).

2.2. Endométrite dégénérative ou chronique non infectieuse

Ce type d'affection correspond à une endométrite associée à des lésions dégénératives chroniques (fibrose) de l'endomètre (Hoffmann, et al., 2009). Ce type d'endométrite est plus fréquemment rencontré chez les juments âgées (Davies Morel, 2008; Betsch, 1992), mais aussi chez les juments multipares, car il semblerait que le nombre de couches de fibrose périglandulaire soit proportionnel au nombre d'années de gestation (Leishman, et al., 1982). Elle peut aussi être retrouvée chez des juments présentant une incompétence cervicale ou un utérus pendulaire (LeBlanc, 2008). D'autre part, les infusions à base de polyvidone iodée ou de saline hypertonique semblent être incriminées dans l'apparition progressive d'une telle fibrose de l'endomètre (Asbury et Lyle, 1993). De même, l'endométrite infectieuse semble être un facteur favorisant (Hoffmann, et al., 2009).

En réalité, cette qualification a été introduite par Kenney (1978), elle résumait les différentes altérations de l'endomètre de la jument, puis a été reprise par Schoon et al. (2000) afin de distinguer les différentes mal différenciations endométriales. Les différents types d'endométrites chroniques représentent en réalité les différents stades du processus

de fibrose. Parfois, la classification d'endomérite chronique active ou inactive, destructive ou non destructive est employée (Hoffmann, et al., 2009).

Il est distingué en général deux types d'endométrites chroniques (Davies Morel, 2008):

- les endométrites chroniques infiltratives : il est possible d'observer un contingent important de cellules mononuclées, telles les histiocytes et lymphocytes, au niveau de la biopsie de l'endomètre (Ricketts et Troedsson, 2007)
- les endométrites chroniques dégénératives : elles sont associées à une dégénérescence des glandes endométriales, celles-ci ne retrouvant pas leur état normal et ayant tendance à se remplir de lymphe et de sécrétions (Davies Morel, 2008). Il est retrouvé des « nids » ainsi que des kystes glandulaires associés à de la fibrose périglandulaire mais aussi à de la fibrose diffuse au niveau du stroma (Ricketts et Alonso, 1991 ; Image 8). Les juments présentant de telles lésions dégénératives de l'endomètre souffrent d'endométrites fréquentes récidivantes évoluant sur un mode clinique de type chronique. Ces lésions sont en effet un facteur de prédisposition à de nouvelles réactions inflammatoires (Bruyas, 2005). L'endomérite chronique dégénérative est beaucoup plus fréquente chez les juments âgées, avec des lésions plus sévères apparaissant au-delà de 17 ans d'âge. L'effet « âge » semble plus important que l'effet « parité » sur l'apparition de cette affection (Ricketts et Alonso, 1991).

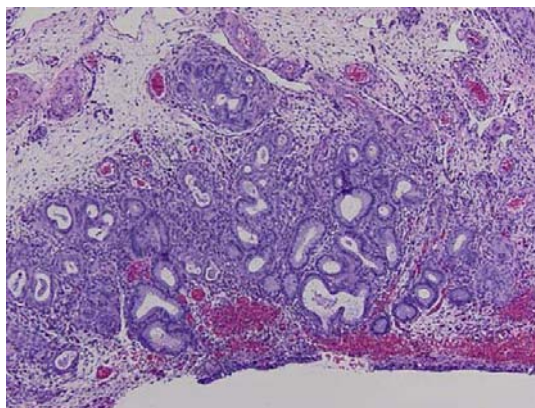


Image 8 - Endomètre de jument souffrant de changements dégénératifs et d'inflammation chronique sévère (McCue, 2008)

Les lésions de fibrose périglandulaire sont irréversibles et se caractérisent par des changements fibrotiques autour des glandes endométriales favorisant la formation de nids glandulaires (Davies Morel, 2008). Des altérations périvasculaires et des angiopathies sont également observées lors d'endomérite dégénérative (Ricketts et Troedsson, 2007). Grüninger et al. (1998) ont analysé la morphologie des vaisseaux utérins par microscopie

électronique à partir de biopsies de juments d'âge différents mais avec un passé de subfertilité. 67 juments sur les 69 présentant des lésions d'endométrite chronique (observées lors de biopsies conventionnelles) présentaient des lésions de dégénérescence de type « angiose ». Le degré de sévérité de l'endométrite chronique semble être associé à une plus grande incidence et un plus grand degré de sévérité de cette affection (Grüninger, et al., 1998).

Grâce à la microscopie électronique, ils ont pu analyser plus finement les angiopathies endométriales. Ils ont constaté que l'infiltration périvasculaire de cellules inflammatoires est fréquemment retrouvée. Cette périvasculite résulte d'infections, de réactions immunitaires vasculaires spécifiques ou de l'extension d'une zone d'inflammation endométriale. En effet, il a été remarqué que le contact rapproché entre les cellules inflammatoires périvasculaires et les fibroblastes engendre la synthèse de protéines collagéniques initiant les premières phases du processus fibroprolifératif endométrial et vasculaire. Progressivement, il est observé une dégénérescence endothéliale avec de sévères dommages de la paroi des vaisseaux : lésions de la limitante élastique interne, hyperplasie de l'intima, atrophie et fibrose de la média et fibrose de l'adventice (Grüninger, et al., 1998).

La perfusion utérine se trouve alors fortement altérée et des insuffisances veineuses apparaissent. Ces dernières sont responsables de l'apparition de congestion suivie de stase lymphatique. De même, l'incidence des changements lymphatiques est associée avec l'augmentation de l'incidence et du degré des lésions des vaisseaux sanguins (Grüninger, et al., 1998).

Chez la jument, la fréquente association entre angiose endométriale, endométrite chronique et lymphangiectasie suggère une relation de pathogenèse entre ces désordres. La congestion veineuse chronique accompagnée de stase lymphatique, suivie par conséquent d'un œdème persistant de l'endomètre, favorise le processus fibroprolifératif (fibrose stromale et périglandulaire) au niveau de ce dernier (Grüninger, et al., 1998). D'autre part, les angiopathies telles que l'angiosclérose pourraient être responsables d'une déficience locale en oxygène initiant le processus de fibrose de l'endomètre (Hoffmann, et al., 2009).

Lors d'endométrite chronique, les chances pour la jument de porter un poulain à son terme diminuent car les résorptions embryonnaires sont fréquentes (Betsch, 1992). Les conséquences de la fibrose dépendent essentiellement de son étendue (nombre de glandes et de vaisseaux atteints) et de sa sévérité (importance du dépôt de collagène), car la fibrose représente une véritable barrière aux échanges cellulaires. En effet, elle empêche une nutrition correcte des cellules stromales endométriales et des cellules épithéliales glandulaires, qui jouent un rôle dans la création d'un environnement utérin viable pour l'embryon (nutrition et implantation) (Grüninger, et al., 1998).

2.3. Endométrite infectieuse chronique

Les endométrites infectieuses chroniques sont dues à des germes de l'environnement de la jument : *Streptococcus equi subsp zooepidemicus*, retrouvé dans 66% des infections (Watson, 2000 ; Lu et Morresey, 2006), *E. Coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, levures... Elles sont retrouvées suite à des endométrites infectieuses aiguës, non traitées ou traitées de façon inappropriée (Bruyas, 2005 ; Lu et Morresey, 2006).

Ce type d'endométrite fait aussi souvent suite à une endométrite post saillie ou post insémination artificielle (Watson, 2000). Cependant, il s'agit en général de juments présentant des difficultés à combattre l'infection primaire, ayant des défauts dans les mécanismes de défense utérine mais aussi présentant des anomalies de conformation ou des lésions acquises du périnée, de la vulve, du vagin ou du col. Ceci étant favorable à des contaminations continues de l'appareil génital par de l'air, de l'urine ou des fèces. Cette affection est plus souvent rencontrée chez des juments âgées et multipares (Bruyas, 2005; Davies Morel, 2008). Cette affection peut faire suite aussi bien à une infection fongique que bactérienne et est extrêmement endommageante pour l'endomètre (Davies Morel, 2008).

2.4. Endométrite post saillie ou post insémination

Ces endométrites constituent une cause majeure de subfertilité chez la jument (Watson, 2000; Bruyas, 2005). La saillie ou l'insémination artificielle entraîne une réaction physiologique d'inflammation de l'endomètre au contact des spermatozoïdes. Les juments en œstrus vont alors éliminer cette contamination en quelques heures, via des contractions utérines et une résorption par voie lymphatique, afin que l'endomètre soit apte à recevoir l'embryon le 6^e jour post-ovulation. Certaines juments dites « sensibles » sont cependant incapables d'éliminer cette contamination et vont ainsi développer une endométrite (Bruyas, 2005). Plusieurs hypothèses ont été émises quant à cette susceptibilité :

Juments « résistantes » / « sensibles »

- une inefficacité des défenses immunitaires cellulaires et humorales en phase aiguë pour permettre une élimination complète des micro-organismes (Betsch, 1992) : la quantité de neutrophiles reste à un niveau élevé chez les juments résistantes alors qu'elle décline chez les juments « sensibles » (Watson, 2000).
- une activité réduite du myomètre conduisant à une diminution de la clairance utérine (Troedsson et Liu, 1991 ; Leblanc et al., 1994 ; Troedsson, 1999).
- la présence de monoxyde d'azote en quantité importante dans les sécrétions utérines des juments « sensibles » en réponse à l'inflammation. Ce dernier est en effet responsable de la relaxation du muscle lisse et donc potentiellement de

l'altération du drainage mécanique de l'utérus par les contractions musculaires du myomètre (Lu et Morresey, 2006).

- des changements vasculaires utérins de type dégénératif (Wolfsdorf et Caudle, 2007 ; Pycock, 2007): la diminution de l'apport sanguin au niveau du myomètre pourrait être responsable de sa diminution d'activité (Troedsson, 1999). Ces désordres vasculaires sont généralement accompagnés de congestion veineuse et de lymphangiectasie ne permettant ni un drainage efficace de l'utérus ni un apport sanguin adéquat pour répondre à l'inflammation (Grüninger, et al., 1998; LeBlanc, 2008).
- une altération des contractions myométriales via les fibres nerveuses de type adrénergique (Watson, 2000 ; Lu et Morresey, 2006 ; Troedsson, 2006 ; Pycock, 2007). La différence de clairance ne semble pas être due à un défaut de réponse à l'ocytocine (Cadario, et al., 1999).

Certaines juments semblent donc être prédisposées à cette affection, probablement suite à une déficience de contractions utérines et/ou une anomalie de résorption par voie lymphatique du contenu liquidien de l'utérus (Troedsson, 1999). Il est admis que toute jument présentant une accumulation liquidienne utérine avant même d'être saillie ou inséminée, sera considérée comme « suspecte ». Si cette accumulation persiste plus de douze heures après l'introduction de semence, le diagnostic de prédisposition sera établi (Watson, 2000 ; Bruyas, 2005 ; Wolfsdorf et Caudle, 2007).

L'incidence à court terme de l'endométrite est en général une absence de gestation. En effet, l'inflammation endométriale persistante génère un milieu utérin dysgénésique pour l'éventuel embryon qui atteindra la cavité utérine six jours après ovulation (Bruyas, 2005). La mort de l'embryon intervient le plus souvent au cours des deux premières semaines. Celle-ci étant due à l'environnement inflammatoire et infectieux de l'utérus ou indirectement à une libération de PGF2 α d'origine utérine (Betsch, 1992). D'autre part, l'inflammation de l'endomètre peut se compliquer en phénomène infectieux voire en endométrite infectieuse chronique (Bruyas, 2005). L'accumulation de fluides chez les juments « susceptibles » ainsi que la formation de lacunes lymphatiques sont préjudiciables à une future gestation et peuvent provoquer de sévères changements histopathologiques, notamment au niveau de l'endomètre mais aussi au niveau vasculaire (Wolfsdorf et Caudle, 2007 ; Pycock, 2007). Généralement, les juments « sensibles » présentent de grandes difficultés à la conception, et sont qualifiées de « repeat breeders » (Pycock, 2007).

En conclusion, après avoir détaillé les différents types d'endométrite que peut développer la jument, nous avons pu constater qu'une perfusion utérine défailante pouvait être un facteur de prédisposition à ce type d'affection qu'elle soit dégénérative ou inflammatoire. D'autre part, dans le cas d'endométrite infectieuse ou inflammatoire aiguë, une circulation utérine adéquate est indispensable pour lutter contre l'affection.

3. Métrite, pyomètre, mucomètre

La **métrite** correspond à une inflammation du myomètre, celle-ci se traduisant le plus souvent par l'apparition de symptômes généraux (anorexie, hyperthermie). La circonstance la plus courante est la métrite post-partum, où il est observé une inflammation et une contamination massive de toute la paroi de l'utérus (Betsch, 1992). Cela fait fréquemment suite à des rétentions de placenta et de tissus fœtaux qui, en se décomposant, favorisent la croissance bactérienne, surtout les germes Gram négatif, ce qui s'accompagne de la production de toxines. Le passage de ces toxines dans le sang entraîne une métrite septique pouvant s'étendre à la cavité péritonéale (Asbury et Lyle, 1993 ; Mair et al., 1998 ; Wolfsdorf et Caudle, 2007 ; Davies Morel, 2008).

Le **pyomètre** est une affection rare chez la jument (Betsch, 1992). Il correspond à une accumulation volumineuse de liquide purulent dans l'utérus sans vidange de ce dernier (Bruyas, 2005). Il est souvent associé à une cervicite occlusive avec non ouverture du canal cervical, le col utérin étant le siège de lésions cicatricielles, de fibrose ou d'adhérences (Asbury et Lyle, 1993 ; Mair et al., 1998 ; Bruyas, 2005). Selon l'ouverture du col utérin, il s'agira d'un pyomètre ouvert, où il est possible d'observer des décharges purulentes au niveau vulvaire, ou fermé (Pycock, 2007). Généralement, une endométrite chronique active associée à une fibrose glandulaire importante est observée en parallèle avec une atrophie glandulaire plus ou moins conséquente (Asbury et Lyle, 1993). Les infections fongiques représentent un facteur prédisposant à ce type d'affection (Pycock, 2007). Selon l'étendue des lésions, les sécrétions utérines de PGF 2α peuvent être réduites ou stimulées, cela se traduisant par des périodes diœstrales raccourcies ou prolongées (Betsch, 1992; Davies Morel, 2008). Dans les cas d'une légère destruction de l'endomètre, une libération prématurée de prostaglandines aura lieu et aura pour conséquence la réduction de la phase diœstrale. En cas d'affection chronique, la destruction endométriale est si importante que la sécrétion de prostaglandines n'est pas suffisante et la phase lutéale se voit alors prolongée (Daels et Hughes, 1993 ; Pycock, 2007).

Le **mucomètre** est une forme particulière et rare d'accumulation de mucus et de fluides intra-utérins. Il est décrit comme la présence de liquide visqueux, stérile, amorphe, et éosinophile, identique à celui des sécrétions glandulaires (Betsch, 1992). Il est associé à des dilatations kystiques et des infiltrations lymphocytaires. Il peut être secondaire à une persistance de l'hymen ou à des adhésions cervicales. Suite à cette accumulation de larges volumes de fluides, la structure et la fonction de l'endomètre peuvent se trouver fortement altérées (Immegart, 2007).

4. Kystes

Les kystes endométriaux constituent une forme commune de lésion de l'utérus. Ils sont très variables en taille, remplis de lymphes et peuvent être uniques ou multiples (Allen, 1988;

Davies Morel, 2008). Ils sont le plus fréquemment rencontrés chez les juments de plus de 10 ans, leur incidence augmentant avec l'âge et la parité (Stanton, et al., 2004).

4.1. Lacunes lymphatiques

Lors de la dilatation des vaisseaux lymphatiques de l'endomètre ou du myomètre, des lacunes lymphatiques de taille variable se forment (Image 9). Celles-ci peuvent confluer et prendre l'aspect de kystes, visibles à l'échographie et parfois palpables par voie transrectale. Leur taille est variable, de quelques millimètres à une vingtaine de centimètres, ils peuvent être sphériques ou cylindriques, pédiculés ou sessiles (Stanton, et al., 2004).

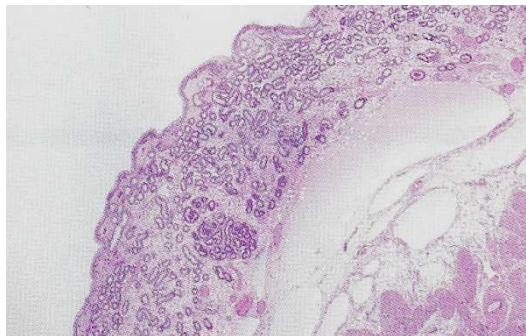


Image 9 - Lacune lymphatique (Ginther, 1993)

Un défaut de motricité de l'utérus pourrait être un facteur prédisposant à l'apparition des lacunes lymphatiques (Betsch, 1992 ; Stanton et al., 2004). Cependant, les lacunes lymphatiques, regroupant la lymphangiectasie et les kystes lymphatiques, sont très souvent observées en combinaison avec l'angiose endométriale. Ils sont donc interprétés comme étant des symptômes d'une mauvaise perfusion utérine due aux désordres vasculaires (Grüninger, et al., 1998).

4.2. Dilatation kystique des glandes

Cette pathologie microscopique touche les glandes de l'endomètre qui se dilatent exagérément sous l'effet de l'étranglement et de l'obstruction de leur canal (Holyoak et Ley, 2007). Leur lumière contient souvent une sécrétion amorphe et éosinophile. Ces structures sont de petite taille, allant de 5 à 10 mm et sont localisées dans la lamina propria (Ginther, 1993 ; Stanton et al., 2004 ; Image 10).



Image 10 - Dilatation kystique glandulaire et fibrose périglandulaire sévère (« nid ») (Ginther, 1993)

La fibrose périglandulaire y est souvent associée et présente un facteur prédisposant (Betsch, 1992). Il a été montré une relation positive entre le degré de la fibrose endométriale et la présence de ces zones kystiques (Grüninger et al., 1998 ; Stanton et al., 2004 ; Holyoak et Ley, 2007). Des défauts dans la contractilité du myomètre seraient aussi responsables de leur apparition (Stanton, et al., 2004; Holyoak, et al., 2007).

4.3. Prévalence, Incidence

La prévalence des kystes augmente avec l'âge, avec une fréquence plus élevée pour les juments de plus de 14 ans (Ferreira, et al., 2008).

L'incidence de cette pathologie sur la fertilité de la jument dépend de son étendue, de la taille des kystes et de leur localisation (Stanton, et al., 2004). En effet, ils peuvent interférer avec la mobilité de l'embryon, la reconnaissance maternelle de celui-ci, mais aussi avec sa fixation, contribuant ainsi à augmenter le taux de perte embryonnaire (Stanton, et al., 2004; Davies Morel, 2008). Les kystes sont en général associés à des morts embryonnaires entre le 22^e et le 44^e jour de gestation (Holyoak et Ley, 2007).

Une dilatation kystique glandulaire importante et diffuse peut être responsable de subfertilité (Betsch, 1992), suite à l'incapacité de subvenir aux besoins nutritionnels de l'embryon (Holyoak et Ley, 2007). De plus, la présence de kystes est susceptible d'interférer avec un apport sanguin adéquat pour le conceptus. En effet, les kystes s'implantent préférentiellement au niveau de la base des cornes utérines, zone qui reçoit une des branches principale de l'artère utérine et où la vésicule embryonnaire vient s'implanter (Stanton, et al., 2004).

En conclusion, les kystes peuvent être à la fois la cause et la conséquence d'une mauvaise perfusion utérine. En effet, leur présence peut résulter de désordres vasculaires mais peut aussi en engendrer. Leur présence pourra donc faire suspecter un défaut de circulation sanguine au sein de l'utérus potentiellement responsable de subfertilité.

5. Anomalies utérines

5.1. Anomalies chromosomiques

L'espèce équine possède 32 paires de chromosomes. Il est possible de rencontrer diverses anomalies chromosomiques, telles que le « syndrome de Turner » correspondant à une jument ayant un seul chromosome X (Davies Morel, 2008). Cette anomalie chromosomique est la plus courante. Ces juments possèdent un utérus anormalement développé, des glandes endométriales hypoplasiques, aucune activité ovarienne et sont en anœstrus permanent. De plus, elles ont tendance à être de petite stature (Immegart, 2007).

La seconde anomalie fréquemment rencontrée correspond au renversement sexuel : la jument possède les chromosomes XY et présente un tractus génital de femelle normal à hypoplasique voire aplasique, le plus souvent sans cycles normaux (Immegart, 2007).

D'autres conditions peuvent être rencontrées lors de subfertilité, telles que les animaux mosaïques, chimères, les individus XXY. Ils présentent en général des anomalies de développement du tractus génital (Immegart, 2007).

Le faible développement utérin associé à une anomalie au niveau des gamètes sont généralement incompatibles avec une gestation normale et sont souvent source de perte embryonnaire précoce (Davies Morel, 2008).

5.2. Atrophie, hypoplasie et hyperplasie glandulaire

L'**atrophie** est une condition résultant en une diminution progressive du nombre de glandes utérines associée à une hypotrophie de leur épithélium. Cette diminution est due soit à une atrophie vraie, soit à une incapacité à se régénérer. Les conséquences sur la fertilité de la jument dépendent essentiellement de son étendue. Ce phénomène peut être relié à un dysynchronisme entre le taux d'hormones circulantes et la réponse tissulaire de l'endomètre. Alors que le fonctionnement ovarien semble normal, l'endomètre devient progressivement atrophique, particulièrement en fin de saison de reproduction (Betsch, 1992; Davies Morel, 2008). Les juments souffrant de cette pathologie sont qualifiées de « repeat breeder ». Si aucune anomalie chromosomique n'a pu être mise en évidence, il s'agit généralement de pathologies rencontrées en fin de saison, ou chez des juments multipares, voire débilitées (Davies Morel, 2008).

L'**hypoplasie glandulaire** est physiologique lors des périodes d'anœstrus, mais est considérée comme pathologique en dehors. Cependant, en l'absence de caryotype, celle-ci est difficile à différencier de l'atrophie glandulaire (Betsch, 1992). Elle serait à relier avec une immaturité génitale (Ricketts et Troedsson, 2007) ainsi qu'à une mauvaise réponse aux stimulations des hormones stéroïdiennes au cours de la différenciation des glandes endométriales (Immegart, 2007).

L'**hyperplasie glandulaire** avec hypersécrétion est physiologique lors du dioestrus ou suite à une gestation mais devient pathologique si elle se prolonge dans le temps et peut alors se compliquer en endométrite aigüe (Ricketts et Troedsson, 2007).

Schoon et al. (2000) ont caractérisé les différents types de maldifférenciation de l'endomètre via des analyses histopathologiques et immunohistologiques à partir de biopsies de juments subfertiles depuis au moins un an. Ils ont pu observer au niveau des biopsies deux types majeurs d'altérations à savoir des différenciations inégales, correspondant à des zones focales d'atrophie, d'hypoplasie ou d'hyperplasie glandulaire, non concordantes avec le stade du cycle œstral, et des différenciations irrégulières où sont retrouvées au niveau de toutes, ou de la plupart des glandes endométriales, des anomalies structurelles et sécrétoires. Ils ont montré que ces altérations n'étaient pas reliées à la parité ni à la saison. De plus, grâce aux analyses de l'expression des récepteurs hormonaux, ils ont pu mettre en évidence des relations entre les anomalies de sécrétion et de différenciation des glandes avec l'expression inhibée ou exacerbée de ces récepteurs. Il semblerait que les foyers de fibrose expriment de façon moins prononcée les récepteurs aux hormones stéroïdiennes, les rendant inaptés à répondre aux changements cycliques endocriniens. Cependant l'étiopathogénèse de ces maldifférenciations reste encore mal expliquée (Schoon, et al., 2000).

5.3. Développement anormal

L'**hyperplasie de l'utérus** peut être rencontrée suite à son surdéveloppement ou plus souvent suite à une mauvaise involution post-partum. Ce défaut d'involution est généralement temporaire mais peut causer des pertes embryonnaires précoces (Davies Morel, 2008).

L'**hypoplasie utérine** peut être observée suite à un développement anormal. L'âge auquel l'utérus arrive à maturité dépend fortement de chaque individu, et peut être atteint entre l'âge de 18 mois et 4 ans. Au-delà de cette période, l'hypoplasie sera considérée comme source de problème de fertilité et la perte embryonnaire précoce se produit fréquemment malgré un fonctionnement ovarien normal (Davies Morel, 2008).

Il est aussi possible de rencontrer des aplasies segmentaires et des duplications utérines (Immegart, 2007).

6. Autres

6.1. Tumeurs

Les tumeurs de l'endomètre et du myomètre sont particulièrement rares. Les tumeurs bénignes les plus fréquentes sont les léiomyomes, fibromes ou fibroléiomyomes (Betsch, 1992; Immegart, 2007). Elles se présentent sous forme de nodules uniques ou multiples et peuvent être responsables d'hémorragie persistante (Davies Morel, 2008). Néanmoins, leur taille modérée et leur caractère peu invasif les rendent rarement responsables de subfertilité (Betsch, 1992). Enfin, des tumeurs malignes ont été rapportées telles que des léiomyosarcomes, rhabdomyosarcomes, lymphosarcomes et adénocarcinomes (Immegart, 2007).

6.2. Hématomes

Les hématomes peuvent être retrouvés au niveau des ligaments larges et se produisent souvent suite au poulinage. Leur incidence sur la fertilité n'est effective que lors d'hématomes volumineux et déplaçant la position anatomique de l'utérus. Les hématomes intra-muraux sont quant à eux beaucoup plus rares et leurs conséquences dépendent de leur position et de leur forme (Betsch, 1992).

6.3. Adhérences

Les adhérences de l'endomètre consistent en des brides fibreuses, bandes de tissus, reliant des parties de l'endomètre entre elles. Cette pathologie est liée à des traumatismes utérins faisant suite à des dystocies, de sévères endométrites, des infusions avec des solutions caustiques (chlorhexidine, gentamicine) ou des manipulations gynécologiques agressives. Ces adhérences, selon leur étendue, peuvent affecter les capacités reproductives de la jument, altérer la mobilité embryonnaire et donc provoquer des pertes embryonnaires précoces (Betsch, 1992; Davies Morel, 2008). Elles peuvent aussi être responsables de l'apparition de pyomètre (Mair, et al., 1998).

Des adhérences péri utérines peuvent altérer la position ou la motilité de cet organe résultant en un risque d'accumulation de fluides intra utérins et donc une susceptibilité à développer une endométrite (Newcombe, 1998).

6.4. Abscess

Les abscess utérins sont rares et peuvent être secondaires à une dystocie, une insémination artificielle, une sévère endométrite ou une thérapie utérine. En phase aigüe,

des signes systémiques, tels que fièvre, péritonite, leucocytose neutrophilique peuvent être rencontrés. Le pronostic pour une gestation future est alors faible (Mair, et al., 1998).

6.5. Involution anormale et accumulation de fluides intra-utérins

Une accumulation liquidienne peut aussi se rencontrer au cours des chaleurs de poulinage, lorsque l'involution utérine n'est pas encore complète suite à la parturition. Une étude d'Agricola et al. (2006) montre que 3 semaines sont nécessaires afin que l'utérus retourne à son état pré gravide et que l'involution des glandes utérines soit achevée. Si ces dernières se maintiennent dans leur état dilaté et sécrétoire, cela résulte en une mauvaise adaptation de l'endomètre pour une nouvelle gestation (Agricola, et al., 2006).

Concernant l'involution des vaisseaux, des études ultra structurales ont été menées chez des juments en post-partum. Après le poulinage ou une résorption embryonnaire, les artères utérines observées en microscopie électronique montrent des signes de vasculite et de dégénérescence endothéliale (rupture de la limitante élastique interne, œdème de l'espace subendothélial, accumulation de matrice hyaline dans la média) et les veines présentent des changements au niveau de leur média. En réalité, après une gestation, une reconstruction de la paroi des vaisseaux se produit surtout au niveau de la limitante élastique interne. Mais avec l'âge ou l'endométrite post-partum, il est possible que ces réparations ne soient pas correctement effectuées et des lésions vasculaires dégénératives apparaissent. Les défauts de perfusion et de drainage consécutifs à ces changements vasculaires favorisent alors la persistance de l'œdème stromal (Grüniger, et al., 1998).

A nouveau, on constate l'importance d'un arbre vasculaire en bon état associé à une perfusion sanguine correcte pour retrouver une cyclicité normale.

6.6. Dilatation utérine ventrale

Les dilatations utérines ventrales ou sacculations sont causées par une atrophie de la muqueuse, voire une atonie locale du myomètre, le plus souvent à la jonction des cornes utérines avec le corps utérin (Immegart, 2007). Ces dilatations vont alors se remplir de fluides. Cette affection est rencontrée plus communément chez les juments âgées et se développe en général au lieu d'une future implantation embryonnaire. D'autre part, l'accumulation de fluides prédispose la jument aux endométrites chroniques voire aux pyomètres (Mair, et al., 1998; Davies Morel, 2008).

6.7. Corps étrangers

Les corps étrangers peuvent être multiples : os fœtaux, extrémité d'éouvillon utérin, paillettes de semence congelée. Ces derniers sont à l'origine d'endométrites aiguë et chronique (Davies Morel, 2008).

6.8. Affections virales

Il est retrouvé principalement deux types de virus, à savoir le virus de l'artérite virale équine et l'herpès virus équin de type 3, agent de l'exanthème coïtal (Davies Morel, 2008).

Le virus de l'artérite virale équine est responsable d'avortement entre le 5^e et le 10^e mois de gestation suite à un sévère œdème et une nécrose de l'endomètre (Davies Morel, 2008).

L'herpès virus de type 3 est transmis de façon vénérienne mais aussi par du matériel infecté, lors d'inséminations artificielles ou d'examens gynécologiques (Davies Morel, 2008). Il cause des lésions périnéales et vulvaires se présentant sous la forme de papules, vésicules et érosions (Mair, et al., 1998).

L'herpèsvirus de type 1 est communément diagnostiqué comme cause d'avortement en fin de gestation (Davies Morel, 2008).

En réalité, l'impact des virus sur l'infertilité d'origine utérine n'est à l'heure actuelle pas réellement démontrée (Betsch, 1992).

Après avoir envisagé quelles étaient les causes responsables de subfertilité d'origine utérine chez la jument en s'efforçant de montrer l'impact des altérations vasculaires sur le fonctionnement utérin, il est important de répertorier les moyens dont dispose le praticien à l'heure actuelle pour diagnostiquer ces diverses affections. Nous allons montrer que le clinicien devra inclure l'examen de la fonction de reproduction au sein d'un bilan complet comprenant le recueil de l'anamnèse et des commémoratifs, l'examen général de l'animal, l'examen gynécologique ainsi que la réalisation d'examens complémentaires. Cependant, nous verrons que certains désordres vasculaires utérins, notamment les défauts de perfusion, ne peuvent être objectivés par les examens conventionnels et nécessiteront d'avoir recours à des études cliniques sur la circulation et la microcirculation utérine.

B. Approche diagnostique de la subfertilité d'origine utérine chez la jument

1. Anamnèse, commémoratifs

L'anamnèse d'une jument subfertile doit être la préoccupation première du clinicien. En effet, l'obtention d'informations pertinentes constitue l'une des étapes les plus importantes lors de l'investigation d'un trouble de la fertilité (Betsch, 1992).

La première étape est de considérer les méthodes de gestion de la reproduction. Il est important de savoir si la détection des chaleurs se fait de façon optimale afin de ne pas considérer la jument comme subfertile alors qu'elle présente uniquement des chaleurs silencieuses. Une investigation complète de l'élevage est donc nécessaire afin d'identifier les causes extrinsèques et de fournir des informations relatives aux autres animaux, aux entrées et sorties de l'élevage, aux programmes de vaccination et de vermifugation, aux problèmes de santé et plus précisément aux problèmes de reproduction du troupeau et de la jument en question (Plante et Jimenez Escobar, 1999).

Il convient ensuite de se renseigner sur le statut et le passé reproducteur de cette jument en insistant sur les points suivants (Shideler, 1993 a; McCue, 2008) :

- son âge
- sa race
- quelle est la durée de la subfertilité et la date de la dernière saison d'activité de reproduction ?
- quel est le nombre de cycles lors de la dernière saison de reproduction ? La cyclicité était-elle régulière ou irrégulière ?
- quelle est la technique de reproduction employée (naturelle, insémination artificielle, transfert d'embryon) ?
- quelles sont les date et durée de la dernière gestation ?
- quelles sont les circonstances du dernier poulinage ? Y a-t-il eu d'éventuelles anomalies de parturition, une rétention placentaire ?
- quel est le stade de parité de la jument (nombre de poulinages au cours de sa carrière reproductive) ?
- Y a-t-ils eu des épisodes de subfertilité, de cycles anormaux déjà rencontrés dans le passé ?
- Y a-t-il connaissance d'histoires de pertes embryonnaires et/ou d'avortements ?
- A-t-elle subi des pathologies, infections utérines et quels ont été les traitements instaurés ?
- A-t-elle subi des interventions chirurgicales au niveau du tractus reproducteur ?

Il conviendra de se renseigner également sur l'état de santé général de l'animal, la présence de douleurs chroniques, son état de stress (Shideler, 1993 a).

Les commémoratifs et l'anamnèse sont très utiles pour orienter le choix des examens complémentaires, ainsi que pour leur interprétation et le pronostic qu'il sera possible de donner au propriétaire (Shideler, 1993 a). Suite à ce recueil d'informations le plus précis possible, il est primordial de réaliser un examen clinique complet.

2. Examen général et gynécologique

Lors d'une consultation pour subfertilité, il convient de ne pas uniquement se focaliser sur l'appareil reproducteur, mais également de réaliser un examen général complet. Différents points sont alors évalués (Shideler, 1993 b) :

- l'état d'embonpoint : une maigreur ou une obésité marquées peuvent diminuer les performances reproductives d'une poulinière
- l'examen de tous les appareils (digestif, respiratoire, nerveux, locomoteur, ...) afin de mettre en évidence une affection influençant l'état général de la jument pouvant avoir d'éventuelles répercussions directes ou indirectes sur la fertilité
- la stature et l'attitude : elles peuvent être en relation avec certaines anomalies chromosomiques
- la conformation : une hyperlordose prédispose à la formation de pneumovagin et d'uovagin

A la suite de cet examen, il sera possible d'effectuer des tests de laboratoires courants choisis de manière raisonnée afin de détecter certaines affections (test de Coggins, analyse d'urine, analyse sanguine, coproscopie) (Shideler, 1993 b). Ensuite, un examen attentif de l'appareil génital sera entrepris.

Lors d'un examen gynécologique, il faut prendre le temps d'assurer une contention correcte, afin de prévenir les risques de préjudices que peuvent subir aussi bien le vétérinaire que l'animal ou l'entourage. La contention se fera préférentiellement dans des barres, un travail ou dans une stalle. Pour limiter au maximum les risques de contamination, la queue sera protégée à l'aide d'un gant obstétrique ou d'un bandage et relevée. La région vulvo-périnéale sera nettoyée avec un antiseptique doux, rincée à l'eau claire et séchée avec du papier absorbant (LeBlanc, 1993 b).

Le premier temps de l'examen gynécologique comprend en réalité un examen complet de l'appareil génital externe avec l'évaluation de la conformation vulvaire, périnéale et anale (Betsch, 1992), puis un examen du tractus génital interne caudal (vestibule, vagin, col utérin) avec (LeBlanc, 1993 b):

- un examen visuel direct grâce à un spéculum et à une source lumineuse qui permet d'observer la couleur des tissus, la présence de sécrétions, d'urines ou de varices ainsi que la position et l'ouverture du col utérin

- une palpation directe à l'aide d'une main gantée stérile qui permet d'évaluer la compétence de l'anneau vestibulaire, l'absence de bandes fibreuses, de blessures ou de fistules recto-vaginales au niveau du vagin et l'absence d'adhésions, lacérations ou occlusions au niveau du col utérin.

Nous ne développerons pas ces techniques d'examen de l'appareil génital externe et interne caudal dans le cadre de notre sujet. Seuls seront décrits les examens réalisables sur l'utérus proprement dit, à savoir la palpation transrectale, l'échographie transrectale, l'endoscopie ainsi que les analyses bactériologique, cytologique et histologique.

3. Palpation transrectale

La palpation transrectale est une étape fondamentale et précieuse dans l'examen de la fonction de reproduction chez la jument (Betsch, 1992). Si cette technique d'examen n'est pas invasive, les complications majeures pouvant en résulter (lacérations rectales) peuvent compromettre le pronostic vital de la jument. De ce fait, avant d'entreprendre cet examen, des mesures de sécurité doivent être mises en place concernant aussi bien la jument que le vétérinaire. Face à un animal stressé voire violent, l'utilisation du tord-nez ou d'une tranquillisation doit être envisagée sans hésitation (Shideler, 1993 c). La jument doit être restreinte dans un espace clos sans danger. La queue pourra être entourée d'un gant d'obstétrique ou d'un bandage puis relevée afin de faciliter les manipulations de l'opérateur et d'éviter d'introduire des crins dans le rectum.

Cette palpation s'effectue à l'aide d'un gant gynécologique correctement lubrifié pour faciliter le passage de la main et du bras de l'opérateur. La progression dans le rectum se fait de façon douce, sans jamais s'opposer aux contractions intestinales afin de prévenir d'éventuelles lésions de la muqueuse, d'irritations ou lacérations rectales et/ou coliques. Les crottins, gênant la palpation, seront retirés très précautionneusement (Shideler, 1993 c).

La palpation du corps et des cornes utérines est réalisée très méthodiquement par palpation pression entre le pouce et les doigts. L'utérus revêt une consistance œdématisée et flasque en œstrus, tubulaire en diœstrus, tonique lors de la gestation et atone lors des périodes d'anœstrus ou de transition (Shideler, 1993 c). Une localisation anormale de l'utérus dans la cavité pelvienne sera notée (LeBlanc, 2008).

La présence et la consistance des replis de l'endomètre seront ensuite appréciées. Ils sont très fins et non palpables en anœstrus et très perceptibles au cours de la saison de reproduction. L'absence de replis peut être le signe d'un anœstrus prématuré, une altération du fonctionnement ovarien ou un défaut de réponse des récepteurs tissulaires utérins aux hormones circulantes (Shideler, 1993 c).

En résumé, les principales affections de l'utérus qui peuvent être mises en évidence lors de la palpation transrectale sont : une dilatation anormale de l'utérus, une finesse voire une

absence des replis endométriaux, des masses anormales (tumeurs, kystes volumineux, hématomes utérins), un défaut d'involution utérine post partum, un pyomètre, des sacculations utérines et des hématomes des ligaments larges (Betsch, 1992; Shideler, 1993 c). Des techniques d'imagerie vont venir compléter ces quelques observations objectivables par palpation transrectale.

4. Echographie transrectale

4.1. Indications et méthodologie

L'échographie du tractus génital est l'étape diagnostique nécessaire faisant suite à la palpation transrectale. Cet examen permet d'apprécier les modifications physiologiques et pathologiques de l'utérus, de visualiser certaines anomalies et de préciser leur taille et leur localisation. Il est non invasif et offre la possibilité d'estimer l'étendue des lésions palpables par voie transrectale (Ginther, 1995).

Les examens de juments non gravide ou en début de gestation sont effectués habituellement avec une sonde linéaire de 5 MHz. Une sonde linéaire de 7.5 ou 10 MHz pourra être utilisée pour obtenir plus de détails ou visualiser des structures plus proches de la sonde (Reef, et al., 1998). Il est préférable de couvrir la sonde d'une gaine sanitaire en plastique ou d'un gant d'obstétrique recouvert de gel lubrifiant afin de faciliter le nettoyage mais aussi de prévenir les dommages de cette dernière. La sonde sera introduite avec précaution dans le rectum, avec la main la coiffant, sans forcer afin d'éviter tout risque de lacération ou de perforation rectale (Kähn, 1994 ; Reef et al., 1998).

Un examen de l'utérus dans son intégralité doit être entrepris : le praticien commence par examiner le corps utérin puis remonte latéralement le long de chacune des cornes jusqu'à ce que l'ovaire soit visible. Le corps et le col de l'utérus seront vus en coupe longitudinale alors que les cornes seront en coupe transversale. La sonde sera déplacée le plus lentement possible (Kähn, 1994 ; Ginther, 1995 ; Reef et al., 1998) en gardant à l'esprit qu'une légère rotation de la sonde entraîne un déplacement latéral considérable du plan de coupe en profondeur (Kähn, 1994).

4.2. Images échographiques physiologiques de l'utérus

Les images échographiques de l'utérus sont profondément influencées par le stade du cycle, ces changements étant attribués aux variations hormonales (Ginther, 1995). Au fur et à mesure de l'avancée du cycle œstral, des modifications de l'utérus pourront donc être objectivées.

Lors de l'œstrus, les replis endométriaux deviennent œdémateux, et les sécrétions endométriales sont plus importantes. L'image de l'utérus obtenue est hétérogène, elle

apparaît plissée, avec des alternances de zones hyperéchogènes et des zones hypoéchogènes. Les premières correspondant aux portions denses de tissu épithélial des replis endométriaux et les secondes aux parties oedématisées de ces deniers. Au niveau des cornes utérines, la coupe transversale forme alors une image dite en « quartier d'orange » (Image 11). L'aspect œdématisé a tendance à diminuer avant que l'ovulation ne se produise (Mc Kinnon et al., 1993 ; Kähn, 1994 ; Ginther, 1995 ; Reef et al., 1998 ; Buisson, 2008).



Image 11 – Coupes transversales de corne utérine en œstrus (Buisson, 2008)

Après l'ovulation et pendant toute la durée du dioestrus, le tonus utérin augmente, l'œdème diminue et l'utérus devient uniformément échogène, les replis endométriaux ne sont alors plus bien définis. L'utérus apparaît homogène, la lumière utérine est virtuelle, l'affrontement de la muqueuse est alors matérialisé par une ligne blanche en coupe longitudinale et par un spot en coupe transversale suite aux réflexions des ultrasons sur ces surfaces planes. En anœstrus, l'utérus apparaît également homogène, d'une échogénicité moyenne et devient difficile à discerner des autres organes pelviens. En effet, les replis endométriaux deviennent moins visualisables et présentent une échogénicité avec une fine apparence granuleuse (Mc Kinnon et al., 1993 ; Kähn, 1994 ; Ginther, 1995 ; Reef et al., 1998 ; Buisson, 2008).

Il est aussi possible de distinguer différentes couches au sein de la paroi utérine, celles-ci correspondent aux différences d'échogénicité entre l'endomètre et le myomètre ou à la présence de structures vasculaires entre les couches musculaires circulaires et longitudinales (Ginther, 1995).

Les sécrétions des glandes endométriales lors de l'œstrus sont plus importantes et se concentrent dans la lumière utérine. Toutefois, la distinction entre un volume de liquide physiologique ou pathologique n'est pas toujours aisée. Cette distinction reste donc à l'appréciation du clinicien en fonction de son expérience propre mais aussi selon les commémoratifs de la jument (gestation antérieure, antécédents de résorptions embryonnaires, antécédents d'insémination artificielle ou de saillie) et des autres signes cliniques (Betsch, 1992).

L'échographie va aussi permettre le diagnostic de gestation, qui a en général lieu 14 jours après l'ovulation si la date d'ovulation est connue, sinon elle sera réalisée 15 jours après le premier refus du mâle ou 19 jours après la première saillie. L'embryon apparaît comme une vésicule anéchogène sphérique d'environ 15 mm de diamètre avec la présence de deux artéfacts hyperéchogènes aux pôles (Image 12). Cet examen peut s'avérer difficile étant donné que la vésicule est encore mobile à ce stade.

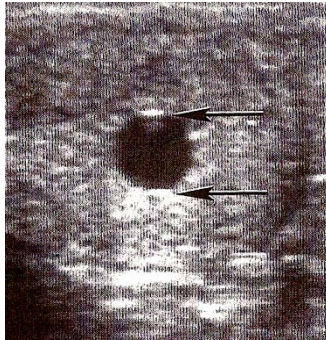


Image 12 - Image échographique d'un embryon avec la présence des deux artéfacts (McKinnon, et al., 1993)

Au 20^e jour, il sera possible de visualiser l'embryon, au 25^e jour ses battements cardiaques seront objectivables. Au 28^e jour, le sac vitellin et l'allantoïde seront identifiables, il sera observé une ascension de l'embryon au sein de ces annexes puis une descente suite à la formation du cordon ombilical (Flood, 1993).

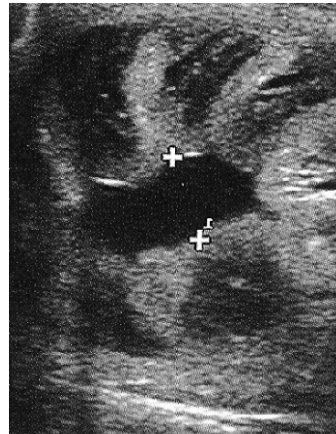
4.3. Images échographiques pathologiques de l'utérus

Lors de l'examen d'une jument subfertile, différentes observations peuvent être fournies par l'examen échographique afin de préciser le diagnostic de certaines pathologies utérines (McKinnon, et al., 1993).

Il est possible d'évaluer l'aspect des replis de l'endomètre ainsi que de grader l'œdème utérin (Samper et Pycock, 2007), mais aussi de constater une mauvaise involution utérine post partum (Betsch, 1992; Buisson, 2008). Ce défaut d'involution sera objectivé de préférence à la jonction du corps avec les cornes utérines (McKinnon, et al., 1993).

La présence de fluides intra-utérins retiendra l'attention du clinicien, car la présence de fluides en quantité modérée lors de l'œstrus est acceptable (Image 13) alors qu'en quantité importante - >2 cm de hauteur (LeBlanc, 2008) - ou lors du dioëstrus, sera considérée comme pathologique. En effet, il a été constaté une relation entre la présence de fluides intra-utérins et le raccourcissement des intervalles interovulatoires suite à des régressions prématurées du corps jaune consécutives à l'inflammation qui provoque la libération prématurée de prostaglandines (Kähn, 1994 ; Ginther, 1995). Il convient alors de noter l'échogénicité, la présence de particules hyperéchogènes, et le diamètre de ces zones

liquidiennes (Reef, et al., 1998). Il sera important de faire la différence entre sécrétions utérines, liquides inflammatoires ou exsudats (Ginther, 1995). En réalité, il existe un système de grades permettant de classer les différents types d'accumulations liquidiennes selon leur volume et leur échogénicité (reliée à la quantité de débris ou de cellules inflammatoires). Il est alors envisageable par la suite de relier ce grade à la fertilité de la jument (McKinnon, et al., 1993).



*Image 13 – Liquide physiologique d'œdème en œstrus (<2cm) (coupe transversale de corps utérin)
(Buisson, 2008)*

Il sera de même important de distinguer lors de suivi de reproduction, la présence de liquides intra-utérins au-delà de 18 heures post saillie ou post insémination artificielle, caractérisant la susceptibilité de la jument à développer une endométrite (Buisson, 2008). En cas d'inflammation de l'endomètre, la collection liquidienne présente une forme caractéristique en festons. Sur une coupe transversale de corne remplie de liquide, il est possible de voir les plis de l'endomètre formant des bourrelets saillants dans la lumière utérine. La ligne de séparation entre sécrétions et paroi utérine est souvent ondulée ou festonnée (Image 14). D'autre part, les sécrétions utérines lors d'endométrite apparaissent fortement échogènes. Il conviendra de bien les différencier d'autres liquides utérins de par leur échogénicité, leur localisation et leur forme, cela étant plus facile en milieu ou fin de dioestrus (Kähn, 1994).



Image 14 - Accumulation anormale de fluides intra-utérins visualisée par échographie transrectale (Buisson, 2008)

Les larges collections liquidiennes seront attribuées à un pyomètre si elles comprennent des particules hyperéchogènes en position déclive, ou plus rarement à un mucomètre (Kähn, 1994 ; Ginther, 1995 ; Buisson, 2008). Lors de persistance de l'hymen, il est aussi possible que des fluides s'accumulent en amont de cette membrane, ceci résultant en un hydromètre, visualisable par la présence de liquides légèrement échogènes à l'échographie (Reef, et al., 1998; Buisson, 2008). En cas d'anomalies anatomiques, telles que l'abaissement du vagin et de l'utérus associé à l'ouverture du col utérin, un uromètre est susceptible de se développer. L'utérus apparaît alors rempli de liquide et fortement dilaté. L'échogénicité caractéristique de l'urine de l'espèce équine fait apparaître des images en flocons dans le contenu utérin (Kähn, 1994 ; Image 15).



Image 15 - Uromètre chez une jument visualisé par échographie transrectale (Kähn, 1994)

La présence d'air sera considérée comme pathologique si elle est retrouvée au-delà de 48 heures après la saillie ou l'insémination artificielle, elle se caractérise par la présence de spots hyperéchogènes dans la lumière utérine (Buisson, 2008).

Les kystes utérins seront aussi visualisés grâce à l'échographie. Ils apparaissent comme des structures anéchogènes, compartimentées ou multilobées, se trouvant à la surface de l'endomètre ou plus profondément dans la paroi utérine (Ginther, 1995 ; Reef et al., 1998 ; Buisson, 2008 ; Images 16 et 17). Leur paroi externe et leurs éventuelles cloisons

internes possèdent la même échogénicité que la paroi utérine (Kähn, 1994). Leur localisation, taille et nombre seront notés avec précision afin de ne pas les confondre avec une vésicule embryonnaire lors d'un diagnostic précoce de gestation (Buisson, 2008). Les différences seront basées sur la mobilité et la croissance de ces structures. Ils peuvent également être différenciés des collections liquidiennes de par leur contour régulier et leur compartimentation, la présence d'artéfacts ainsi que le remodelage de la paroi utérine (Kähn, 1994).

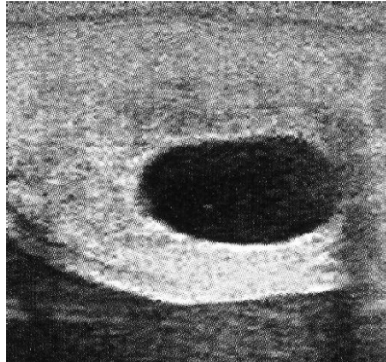


Image 16 - Image échographique d'un kyste utérin isolé (Buisson, 2008)

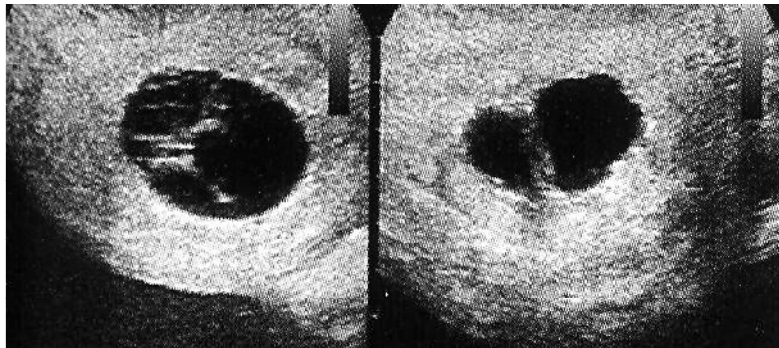


Image 17 - Images échographiques de kystes encloués (Buisson, 2008)

Les hématomes de la paroi utérine ou des ligaments larges se manifestent par une cavité remplie de liquide plus ou moins anéchogène contenant des débris hyperéchogènes (Buisson, 2008). Il sera parfois possible de visualiser des abcès ou des tumeurs (McKinnon, et al., 1993).

Des fœtus momifiés, des rétentions de membranes fœtales et des cupules endométriales calcifiées pourront aussi être imagées. Ces éléments sont retrouvés suite à des pertes fœtales, ils sont souvent visualisés en association avec des collections liquidiennes voire des adhésions et apparaissant sous forme d'ombre (Ginther, 1995; Reef,

et al., 1998). Des corps étrangers tels que des extrémités d'écouvillons peuvent aussi apparaître sous forme de corps hyperéchogènes (McKinnon, et al., 1993).

L'échographie transrectale nous permet de visualiser l'utérus de manière « indirecte » et permet de diagnostiquer de nombreuses affections. Elle peut être complétée par une observation directe de l'utérus qui est rendue possible grâce à l'endoscopie.

5. Endoscopie

5.1. Indications et méthodologie

L'examen endoscopique doit être considéré lorsque les anomalies utérines détectées par palpation transrectale ou par échographie nécessitent des identifications supplémentaires ou lorsque la cause de la subfertilité n'a pas pu être mise en évidence par les autres procédures diagnostiques (Leblanc, 1993 a; Threlfall et Carleton, 1997).

L'endoscopie sera pratiquée après un examen complet de l'appareil génital et de préférence lors du dioestrus, où la tonicité du col utérin permet une meilleure distension de l'utérus (Bracher et Allen, 1992 ; Leblanc, 1993 a).

L'avantage majeur de l'hystéroscopie est qu'elle permet de diagnostiquer certaines pathologies non évaluables par d'autres moyens, tels que les adhérences transluminales, les kystes de petite taille, des aplasies focales, des tumeurs et des anomalies des jonctions utéro tubaires (Bracher et Mathias, 1992). Cet examen peut donc constituer un outil diagnostique efficace, grâce à sa simplicité, rapidité et répétabilité (Bracher et Allen, 1992). De plus, il permet d'effectuer d'autres gestes techniques tels que des prélèvements pour examens cytologiques, bactériologiques et histologiques de façon plus ciblée (Bracher et Allen, 1992). Cependant, son utilisation doit être raisonnée étant donné la possibilité d'irritation et d'introduction de germes au sein d'un utérus particulièrement sensible en dioestrus car sous imprégnation progestéronique (Threlfall et Carleton, 1997).

La préparation de la jument est similaire à toute procédure gynécologique. Il sera pratiqué un nettoyage de la région périnéale à l'aide de savon antiseptique. La jument sera tranquilisée avant l'introduction de l'endoscope, avec de préférence la xylazine pour son important effet analgésique sur la douleur viscérale. Des mesures d'asepsie concernant l'opérateur et le matériel d'endoscopie seront aussi employées. Il est possible d'utiliser des endoscopes rigides ou des endoscopes à fibre optique. De façon générale, le vidéoendoscope sera préféré : il s'agit d'un endoscope flexible, d'une longueur minimale d'un mètre, de diamètre allant de 12 à 14 mm, avec la présence d'un système d'instillation d'eau ou d'air et de succion ainsi que d'un canal opérateur. La source lumineuse devra être puissante étant donné la taille importante de la lumière utérine. Cette dernière sera distendue par du liquide physiologique ou du gaz inerte tel que le dioxyde de carbone (Leblanc, 1993 a; Threlfall et Carleton, 1997).

5.2. Images physiologiques

Au cours d'une hystérocopie, l'aspect de l'endomètre est examiné : il doit apparaître rose, plus ou moins soutenu selon le stade du cycle œstral et indemne d'exsudats. L'insufflation d'air dans l'utérus peut provoquer une hyperhémie de la muqueuse (Leblanc, 1993 a; Threlfall et Carleton, 1997).

Il est important de s'assurer de la correspondance entre l'état des différents organes (couleur, œdème) et le stade du cycle œstral (Bracher et Allen, 1992). Lors de l'œstrus, l'endomètre apparaît rose, d'aspect luisant et velouté, les plis endométriaux sont épaissis et œdémateux. Lors du dioestrus, l'endomètre paraît plus pâle, ses plis sont plus fins, aucune accumulation liquidienne ne doit être constatée (Bracher et Allen, 1992).

5.3. Images pathologiques

Les lésions typiques qui pourront être observées sont les structures kystiques, des corps étrangers, des restes de cupules endométriales, des adhésions, des masses tumorales, des accumulations de fluides intra-utérins, des changements de couleur et de texture de l'endomètre, des atrophies de replis endométriaux et des anomalies morphologiques des jonctions utéro tubaires (Images 18 et 19). Les zones hyperhémiques reflètent des changements inflammatoires, les zones blanches correspondent à des diminutions locales de vascularisation. Il sera possible de différencier les kystes lymphatiques et glandulaires par leur forme, taille, position, et localisation (Bracher et Mathias, 1992 ; Threlfall et Carleton, 1997).

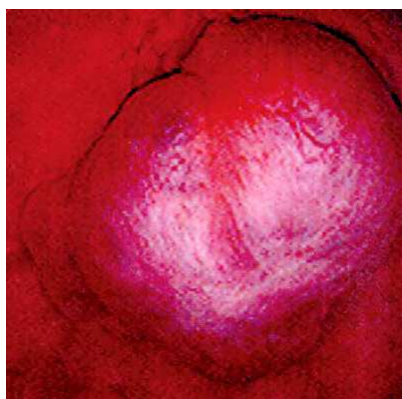


Image 18 - Vue endoscopique d'un kyste utérin intraluminal chez une jument (Stanton, et al., 2004)

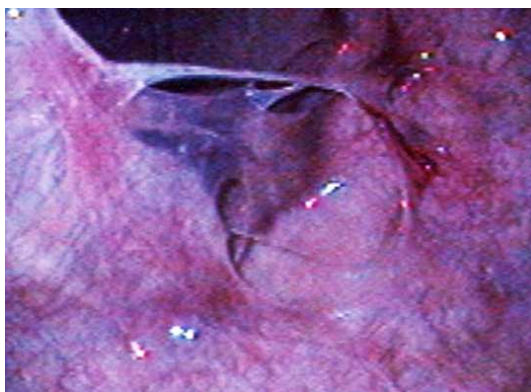


Image 19 - Vue endoscopique d'adhérences intra utérines chez une jument (McCue, 2008)

Les examens décrits précédemment permettent de diagnostiquer de nombreuses affections de l'utérus responsables de subfertilité mais ne permettent pas d'identifier toutes les causes. En effet, l'examen d'une jument subfertile fera souvent appel à d'autres examens complémentaires qui nous renseignent sur le statut de l'utérus à d'autres échelles, à savoir tissulaire et cellulaire.

6. Examen bactériologique

Les infections bactériennes du tractus génital sont une cause majeure de subfertilité chez la jument et l'analyse bactériologique est donc une investigation de choix dans l'examen des troubles de la reproduction de cette espèce (Swerczek et Caudle, 2007).

Etant donné le faible nombre de microorganismes retrouvés dans l'utérus, il est admis que l'utérus sain ne possède pas de flore bactérienne (Swerczek et Caudle, 2007 ; Wolfsdorf et Caudle, 2007).

Le but du prélèvement utérin, suivi d'une mise en culture, est la recherche de bactéries dans la lumière utérine. Sur le plan pratique, la recherche initiale se limite très souvent aux bactéries aérobies courantes et ne concerne pas les anaérobies, mycoplasmes, champignons et virus. Il est important de fournir un maximum de commémoratifs au laboratoire et de veiller à adapter le milieu et les conditions de transport au type de recherche demandée (Betsch, 1992 ; Swerczek et Caudle, 2007).

6.1. Indications

Dans le cadre de notre sujet, les indications principales pour réaliser une bactériologie utérine sont : les juments subfertiles retournant en chaleur, celles ayant présenté des mortalités embryonnaires précoces ou sur lesquelles ont été observées des pertes cervicales

ou vaginales. De plus, l'analyse bactériologique devra être effectuée dans le cas de suspicion de maladies vénériennes ou d'endométrite aiguë (Ricketts, et al., 1993).

6.2. Moment du prélèvement

Le choix de la période d'activité sexuelle optimale pour la mise en évidence de bactéries intra utérines peut varier. Lors de l'œstrus, les défenses immunitaires de l'utérus sont accrues et les sécrétions plus importantes. Certaines bactéries pathogènes, telles que *Taylorella equigenitalis*, sont beaucoup plus facilement mises en évidence lors de cette période (Guérin, 1992). En effet, la présence de sécrétions glandulaires constitue un facteur favorisant pour la mise en évidence de bactéries pathogènes. D'autre part, les défenses immunitaires optimisées à ce moment permettent de limiter la contamination du prélèvement. Le diœstrus, considéré comme une période de moindre résistance aux infections et physiologiquement « stérile », peut tout de même présenter des avantages. En effet, dans le cadre d'un examen d'une jument dite « susceptible », qui a tendance à accumuler des fluides intra-utérins, celle-ci peut présenter une faible population bactérienne intra utérine du fait de la dilution des microorganismes dans les sécrétions intra utérines. De plus, ces juments présentent souvent une population bactérienne anormale lors du diœstrus qu'elles évacuent au cours de l'œstrus suivant. C'est pourquoi, le prélèvement au cours de du diœstrus se justifie chez ce type de jument. Par ailleurs, certains auteurs recommandent de réaliser le prélèvement le premier jour de relaxation du col ou le premier jour de l'œstrus, c'est-à-dire juste avant l'élimination de bactéries potentiellement présentes dans l'utérus et avant que les défenses utérines ne se mettent en place (Betsch, 1992).

6.3. Méthodes de prélèvement

En théorie, il conviendrait de réaliser le prélèvement pour l'examen cytologique en premier, afin de constater si une inflammation existe, puis si nécessaire un prélèvement pour l'examen bactériologique afin de juger si une bactérie peut être responsable de cette inflammation. En pratique, le prélèvement destiné à la bactériologie est réalisé en premier (Betsch, 1992).

La préparation de la jument s'effectuera de manière classique comme pour tout examen gynécologique. Trois lavages de la vulve seront effectués mais sans utilisation de désinfectants pour les prélèvements clitoridiens et vestibulaires (Ricketts, et al., 1993).

Ensuite, il faut garder à l'esprit que les résultats de laboratoire seront fonction de la qualité et de la représentativité du prélèvement. Il convient donc de choisir une technique et du matériel approprié (Ricketts, et al., 1993).

Un prélèvement clitoridien (sinus central, sinus latéraux et fosse clitoridienne) est souvent réalisé en complément du prélèvement utérin. Ceci est notamment utile dans le cas

d'infection utérine récidivante ou d'endométrite chronique active avec isolement répété d'une même souche bactérienne malgré les traitements (Betsch, 1992; Ricketts, et al., 1993).

Différentes méthodes de prélèvement bactériologique au niveau de l'utérus existent (Betsch, 1992; Ricketts, et al., 1993; LeBlanc, 2008) :

- écouvillon et spéculum : un écouvillon est passé au travers d'un spéculum stérile afin de limiter la contamination du prélèvement. Il s'agit ensuite de passer le col utérin, puis d'effectuer des mouvements de rotation pendant au moins 30 secondes, une fois la cavité utérine atteinte afin d'en récupérer des sécrétions. L'échantillon sera retiré du spéculum avec précaution et placé immédiatement dans un milieu de transport.
- écouvillon protégé : les extrémités de l'écouvillon sont protégées ou occluses dans un gant de protection stérile. L'extrémité de l'écouvillon est maintenue dans sa protection jusqu'à ce qu'il soit en contact avec l'endomètre, le prélèvement est réalisé, puis la gaine externe est de nouveau rétractée afin de prévenir de toute contamination lors du retrait du matériel. Cette technique rend l'examen bactériologique intra-utérin très fiable en réduisant le risque de faux-positifs par contamination bactérienne vaginale (Image 20).



Image 20 - Ecouvillon protégé (ENVL)

- lavage utérin : si la lumière utérine contient des fluides ou du matériel purulent, il est possible de les prélever par aspiration à l'aide d'un cathéter à insémination artificielle. Si l'utérus ne contient pas ce type de substance, il sera préférable d'utiliser la technique du lavage utérin. Le prélèvement réalisé à partir de lavage utérin est plus représentatif de l'éventuelle population bactérienne intra-utérine. Une solution saline stérile est introduite dans la cavité utérine à l'aide d'un cathéter d'insémination artificielle puis réaspirée. Un examen bactériologique du sédiment obtenu par centrifugation à partir du lavage est alors entrepris. Chez les juments présentant des infections à germes Gram négatif ou fongiques, il est possible que les écouvillonnages classiques ne les détectent pas, car l'infection peut être focale ou ne pas s'être diffusée dans l'endomètre. La technique utilisant un petit volume de

fluides pour un lavage utérin en vue de l'isolation de ces microorganismes peut alors être envisagée.

- biopsie endométriale : des analyses bactériologiques peuvent être effectuées à partir des échantillons prélevés en vue d'une biopsie utérine.

6.4. Gestion du prélèvement

Si un délai existe entre le prélèvement et l'analyse, un milieu de transport spécifique devra être utilisé. L'échantillon sera ensuite porté au laboratoire sous 48 heures à l'abri de la lumière et des fortes températures.

La bactériologie gynécologique équine est très spécialisée. La standardisation des méthodes doit être suffisante pour assurer précision et qualité, deux qualités essentielles à l'interprétation des résultats par le praticien (Ricketts, et al., 1993).

6.5. Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats de l'examen bactériologique n'est pas uniquement basée sur la nature des bactéries isolées, mais également sur l'historique clinique et les autres examens gynécologiques. En présence d'une endométrite clinique (écoulement vulvaire d'origine utérine, liquide intra-utérin abondant) ou confirmée par cytologie ou biopsie, l'interprétation bactériologique est facilitée. Le prélèvement doit être considéré comme contaminé si plus de deux genres bactériens différents sont mis en évidence, et peut être considéré comme douteux en présence de deux genres bactériens. Lors de la culture d'un seul genre de bactéries, la présence de moins de dix colonies bactériennes peut également être considérée comme douteuse mise à part pour les organismes pathogènes responsables de maladies vénériennes. En théorie, n'importe quelle bactérie isolée en culture pure et abondante pourrait être considérée comme responsable de la dite endométrite (Betsch, 1992; Ricketts, et al., 1993).

6.6. Limites

L'analyse bactériologique présente des limites, notamment dans le cas du diagnostic des endométrites aiguës, où il est fréquent d'isoler une bactérie sans qu'elle n'en soit la cause ou de faire face à un échec d'isolation (Swerczek et Caudle, 2007).

Les causes les plus fréquentes de résultats faussement positifs sont (Betsch, 1992 ; Swerczek et Caudle, 2007) :

- la contamination du prélèvement par des bactéries présentes dans l'environnement, dans la région vulvaire, vaginale, clitoridienne ou la partie caudale du col
- une interprétation incorrecte de la signification de la présence de bactéries

Les causes les plus fréquentes de faux négatifs sont (Betsch, 1992 ; Swerczek et Caudle, 2007) :

- la présence d'endométrite aigüe stérile
- l'élimination des bactéries par les défenses utérines alors que des signes d'inflammation sont toujours présents
- un échec d'isolation suite au faible nombre de bactéries présentes, des bactéries situées en profondeur dans l'endomètre, une insuffisance de contact avec l'écouvillon
- un échec de préservation des bactéries ou l'utilisation d'un milieu de transport inapproprié
- l'utilisation d'un milieu de culture inapproprié

En conclusion, l'examen bactériologique est un acte simple, indolore qui permet d'affiner le diagnostic d'endométrite. Mais la bactériologie seule ne permet d'identifier que 50% des endométrites d'où la nécessité de lui associer des analyses cytologiques et histologiques (Swerczek et Caudle, 2007).

7. Examen cytologique

Bien que l'analyse bactériologique soit reconnue comme une aide au diagnostic des endométrites, des résultats faussement positifs peuvent résulter d'une contamination par l'environnement, ou par contact avec la vulve, le vagin ou la partie caudale du canal cervical. Il est pour cela recommandé, pour établir un diagnostic fiable, d'inclure la bactériologie dans une série d'examens et d'interpréter les résultats de la mise en culture à la lumière des observations de la cytologie et de la biopsie de l'endomètre, le prélèvement cytologique ayant pour but l'étude de la population cellulaire présente dans la lumière utérine (Betsch, 1992).

7.1. Indications

Un examen cytologique peut se révéler d'une grande utilité dans de nombreuses situations (Betsch, 2003 a) :

- suspicion d'endométrite quel que soit le stade
- présence de liquide utérin douteux en œstrus
- présence de liquide utérin en diœstrus
- écoulements vulvaires suspects
- jument restant vide après trois cycles « correctement » utilisés
- en début de saison de monte pour une jument restée vide

Néanmoins, il existe aussi des contre indications à cet examen, essentiellement lorsque la jument développe une endométrite physiologique notamment lors des 15 jours suivant le poulinage, dans les 5 jours suivant une saillie ou une insémination ou dans les 10 jours suivant un traitement utérin (Betsch, 2003 a).

7.2. Moment du prélèvement

Il existe différentes opinions concernant la période idéale en vue d'un prélèvement pour analyse cytologique. Néanmoins, il apparaît que l'examen semble le plus représentatif en milieu d'œstrus. De plus, les défenses utérines sont maximales à cette période donc la découverte de polynucléaires neutrophiles et/ou de bactéries dans le prélèvement à ce moment sera caractéristique de l'existence d'un véritable problème. D'autre part, toute infection iatrogène de l'utérus sera ainsi minimalisée (Brook, 1993).

7.3. Techniques de prélèvement

Les principes généraux de technique de prélèvement sont similaires à ceux évoqués pour le prélèvement bactériologique (Betsch, 1992). Il existe trois techniques classiques de récolte du prélèvement cytologique : (Betsch, 1992 ; Brook, 1993 ; Betsch a, 2003 ; Aguilar et al., 2006) :

- technique du doigt : le doigt ganté et stérile de l'opérateur est passé à travers du col utérin. C'est la technique la plus simple et la plus rapide, mais elle ne permet de mettre en évidence qu'une population de cellules cervico-utérines, voire vaginales, parfois peu représentatives de celle de la lumière utérine. Cette technique est satisfaisante lors d'endométrite aiguë ou chronique active mais ne permet pas toujours le diagnostic des endométrites chroniques peu actives. Dans certains cas, la cellularité du prélèvement s'avère très faible du fait de l'absence de mucus ou d'une perte de prélèvement lors du retrait du doigt. Une étude récente montre que les prélèvements obtenus à partir de cette technique sont très souvent contaminés par les neutrophiles provenant essentiellement du vagin mais aussi du vestibule ou du col utérin, conduisant à un diagnostic erroné d'endométrite. En effet, la proportion

de polynucléaires neutrophiles décroît depuis le vestibule jusqu'au col utérin. C'est pourquoi l'utilisation d'échantillons protégés semblent préférable afin d'éviter la contamination par des cellules provenant d'autres parties du tractus génital.

- écouvillonnage : l'utilisation d'un écouvillon intra-utérin (ou d'une cytobrosse) présente les avantages de la simplicité, d'une bonne représentativité de la population cellulaire intra-utérine et d'une contamination limitée de l'utérus. Il est préférable d'utiliser un écouvillon protégé car le col et le vagin sont en communication directe avec la région périnéale qui est elle-même constamment contaminée par des microorganismes et des corps étrangers. Une fois dans l'utérus, l'écouvillon est poussé vers l'avant afin de percer le capuchon protecteur, la tige est alors déplacée d'avant en arrière, en maintenant l'extrémité de l'instrument au contact de l'endomètre pendant au moins 30 secondes. Ce dernier est ensuite retiré en ayant pris soin de le rétracter dans sa gaine protectrice. L'instrument est ensuite appliqué sur une lame de microscope propre parfois préalablement humidifiée afin de limiter la déshydratation des cellules prélevées. La fixation du prélèvement est réalisée immédiatement et l'échantillon ainsi stabilisé peut attendre 24 à 48 heures avant d'être coloré. L'inconvénient majeur de cette technique est que le prélèvement n'est représentatif que d'une partie localisée de l'utérus. Elle n'est donc pas adaptée pour une observation fine et détaillée du contenu cellulaire utérin mais s'avère tout à fait satisfaisante dans la mise en évidence de la présence ou non de polynucléaires neutrophiles.
- lavage utérin : cette technique présente l'avantage d'être représentative de l'état inflammatoire de toute la lumière utérine. Cette méthode requiert l'utilisation d'un cathéter d'insémination stérile, d'une seringue, de liquide physiologique stérile ainsi que de gants stériles. Le cathéter est introduit en avant du col utérin (Image 21) puis le liquide physiologique est instillé (l'utérus est alors massé par voie transrectale pendant 30 secondes) et récupéré à l'aide de la seringue en effectuant des petits mouvements de va-et-vient. Le prélèvement recueilli est versé dans un tube puis centrifugé. A partir du culot de centrifugation remis en suspension homogène, un étalement sur lame est pratiqué afin d'obtenir une couche de cellules adéquate en vue d'une coloration. Dans la grande majorité des cas, la cellularité du prélèvement est très importante.

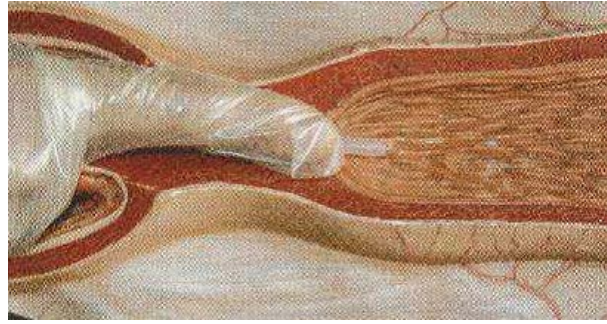


Image 21 - Insertion du cathéter d'insémination en avant du col utérin (Betsch, 2003 a)

Les inconvénients de la technique de lavage sont la possibilité d'une contamination utérine et la nécessité d'une centrifugation avant coloration. Néanmoins, une fois la technique acquise, il est possible d'utiliser de plus petits volumes de lavage (60 mL) qui s'avèrent tout aussi représentatifs de l'état inflammatoire utérin. Cette technique est rapide, exacte, plus sensible et spécifique que la technique de l'écouvillon dans le diagnostic d'endométrite et permet également de détecter les juments présentant une endométrite chronique (LeBlanc, et al., 2007). Elle sera d'ailleurs préférée pour l'évaluation des juments subfertiles, notamment dans la détection des endométrites subcliniques chez des sujets chroniquement infectés (Leblanc et al., 2007 ; Liu et Troedsson, 2008).

7.4. Coloration

Différentes colorations peuvent être utilisées à savoir les colorations de type « Romanovsky » et de type Trichome :

- la coloration de type « Romanovsky » utilise des dérivés du bleu de méthylène pour la coloration du noyau et l'éosine pour la coloration du cytoplasme. Cette coloration possède diverses appellations commerciales telles que Giemsa, Giemsa rapide, Hémacolor.
- les colorations de type Trichome utilisent au moins trois colorants et nécessitent de nombreux bains (une douzaine). Ils sont plus chronophages et peuvent poser quelques problèmes de techniques notamment de déshydratation mais ils permettent une interprétation plus fine de la structure du noyau et du cytoplasme. Chez la jument, il est ainsi possible de distinguer certaines dégénérescences et atypies cellulaires (Betsch, 1992).

D'autres colorations peuvent être pratiquées, telles que des colorations de Gram, en attendant les résultats de la mise en culture et de l'antibiogramme, mais aussi de simples colorations au bleu de méthylène afin de mettre en évidence d'éventuelles capsules bactériennes (Brook, 1993).

Une fois fixés et colorés, les frottis sont examinés pour établir la présence ou l'absence de polynucléaires neutrophiles, et les divers types de cellules endométriales sont inventoriés (Betsch, 2003 a).

7.5. Interprétation

L'aspect macroscopique du prélèvement est d'abord évalué, à savoir s'il se présente comme clair, trouble ou muqueux. La mesure du pH peut aussi donner des indications supplémentaires quant à la présence d'une inflammation car des modifications de pH sont rencontrées lors de présence de microorganismes pathogènes (LeBlanc, et al., 2007).

L'observation au microscope du prélèvement se fait en plusieurs temps : tout d'abord au plus faible grossissement afin de repérer la répartition des cellules, puis au plus fort grossissement pour répertorier les différents types de cellules ; enfin, le pourcentage de cellules inflammatoires présentes sur le prélèvement est déterminé au grossissement intermédiaire, en établissant un ratio polynucléaires neutrophiles/cellules épithéliales. Pour une interprétation correcte et précise, il est recommandé d'examiner au moins 30 champs au fort grossissement (Betsch, 2003 a).

7.5.1. Cytologie qualitative

L'examen microscopique va permettre de mettre en évidence des cellules épithéliales, des filaments de mucus, des cellules inflammatoires, des débris cellulaires, des éléments « étrangers » tels que des globules rouges, bactéries, champignons et cristaux urinaires (Betsch, 1992).

Les **cellules épithéliales** sont les plus couramment observées, elles correspondent à une exfoliation de la surface de l'endomètre (Betsch, 2004 ; Image 22). La présence de cellules épithéliales de plusieurs types associées à quelques très rares cellules inflammatoires témoigne d'un prélèvement utérin de jument saine. Les prélèvements des juments maiden présentent souvent un grand nombre de cellules épithéliales avec une structure en nid d'abeille (Brook, 1993). Les cellules épithéliales peuvent subir de considérables déformations suite à la méthode de prélèvement. De même la technique de fixation peut engendrer des modifications telles que des défauts de cytoplasme. Des cellules kératinisées peuvent aussi être rencontrées mais celles-ci témoignent d'une contamination vaginale ou cervicale du prélèvement voire d'un urovagin (Brook, 1993 ; Betsch, 2004). Les caractéristiques des cellules épithéliales contribuent à évaluer la sévérité du cas, les modifications pouvant aller d'une atypie modérée à marquée (Brook, 1993).

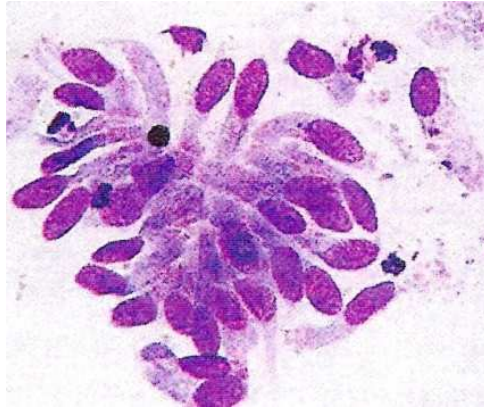


Image 22 - Cellules épithéliales (RAL x400) (Betsch, 2004)

Les **polynucléaires neutrophiles** sont les premières lignes de défense locale et sont souvent associés à un processus inflammatoire aigu. Ils témoignent des premières phases de ce processus et peuvent apparaître de façon physiologique après une saillie ou une insémination, un poulinage ou une manipulation utérine. Ils peuvent être retrouvés de façon isolée ou entourant les cellules épithéliales. Un polynucléaire mature hypersegmenté est généralement le témoin d'une inflammation aseptique alors qu'un polynucléaire pycnotique ou caryolytique semble traduire un processus infectieux. Néanmoins il est parfois très difficile de faire la différence entre une cellule épithéliale et un polynucléaire neutrophile dégénéré. Il s'avère très important de relever la morphologie de ces derniers ainsi que d'estimer approximativement leur nombre (Brook, 1993 ; Betsch, 2004 ; Image 23). La présence de débris qui correspondent aux neutrophiles, cellules épithéliales dégénérés, résidus inflammatoires est aussi relevée. Leur quantité est plus importante chez les juments subfertiles, d'où l'intérêt de les quantifier : absent, quantité faible, modérée ou importante (Betsch 2004 ; Card, 2005 ; Leblanc et al., 2007 ; Riddle et al., 2007).



Image 23 - Polynucléaires neutrophiles à différents stades de maturation (Betsch, 2004)

Les **polynucléaires éosinophiles** sont très rarement observés sur des frottis d'endomètre de jument, néanmoins leur présence est rapportée lors d'urovagin, de pneumovagin, de pneumoutéris voire de mycose. Cela serait lié à des mécanismes d'hypersensibilité de type 1 suite à l'introduction d'air ou de cristaux d'urine (Betsch, 1992).

Les **lymphocytes** sont relativement rares et difficiles à distinguer des polynucléaires neutrophiles immatures (Image 24). Cependant, s'ils sont associés à d'autres cellules inflammatoires, une affection chronique ou un défaut de drainage lymphatique de l'endomètre seront alors suspectés (Brook, 1993).

Les **macrophages** sont retrouvés communément après le poulinage. Ces cellules sont larges, polynuclées et vacuolisées (Image 24). Leur présence en dehors de toute endométrite physiologique post-partum semble être liée à un processus inflammatoire chronique ou à certaines mycoses (Betsch, 1992; Brook, 1993).

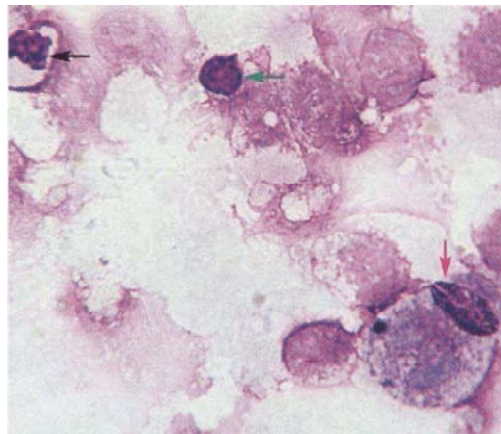


Image 24 - Polynucléaire neutrophile dégénéré (flèche noire) lymphocyte (flèche verte) macrophage (flèche rose) au sein de cellules épithéliales lysées (Betsch, 2004)

Des **globules rouges** peuvent être observés suite à la parturition, un prélèvement traumatisant de l'endomètre, mais aussi pendant la période d'œstrus, période au cours de laquelle l'hyperhémie physiologique de l'endomètre est importante et associée à une fragilité des capillaires sanguins. Mais ils sont aussi retrouvés lors d'endométrite aiguë sévère (Brook, 1993).

Il est possible de rencontrer des **bactéries** ou des **champignons** en employant la technique d'huile à immersion. Ces organismes sont généralement accompagnés de polynucléaires neutrophiles (Brook, 1993 ; Images 25 et 26). Cependant, parmi les juments ayant une analyse bactériologique positive ou présentant des bactéries au niveau de leurs prélèvements histologiques, il est possible de visualiser des bactéries uniquement pour 45% d'entre elles (LeBlanc, et al., 2007; LeBlanc, 2008).

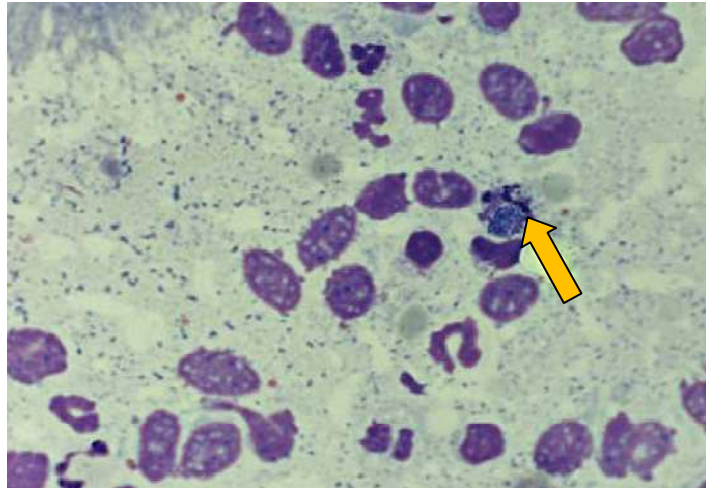


Image 25 - Cytologie utérine d'une jument souffrant d'endométrite bactérienne. La flèche indique un polynucléaire neutrophile avec des bactéries intracellulaires (Lu et Morresey, 2006)

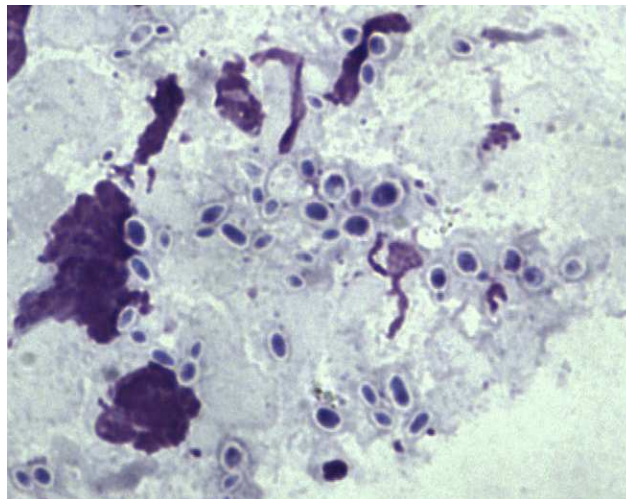


Image 26 - Levures dans un prélèvement cytologique utérin (McCue, 2008)

Le **mucus** est observé en quantité variable selon le stade du cycle œstral de la jument : il est en général abondant en œstrus (Betsch, 1992).

Des **cristaux urinaires** de carbonate de calcium sont occasionnellement observés lors d'urovagin ou d'uro-utérus, mais leur observation est insuffisante pour affirmer l'existence d'un problème (Image 27). En effet, ils doivent être associés à d'autres signes cliniques évocateurs, tels qu'une conformation anormale du vagin et la présence d'urine dans ce dernier (Brook, 1993).

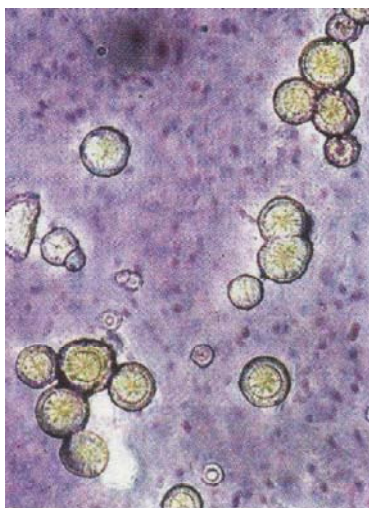


Image 27 - Cristaux de carbonate de calcium d'un uro utérus consécutif à un urovagin (Betsch, 2003 a)

Des artéfacts peuvent être visualisés, tels que des amas de gel ou des fibres de coton provenant de l'écouvillon (Betsch, 2004).

7.5.2. Cytologie quantitative

La cytologie renseigne correctement sur l'existence ou non d'une inflammation pathologique et sur son caractère actif. Il est admis que l'endomètre est (Betsch, 2004):

- non inflammatoire si de rares polynucléaires sont présents, c'est-à-dire moins de un polynucléaire tous les huit à dix champs observés au fort grossissement ($\times 400$)
- douteux si quelques polynucléaires sont présents, à savoir un tous les cinq à huit champs
- inflammatoire lorsqu'un polynucléaire est visible tous les quatre à cinq champs

Cependant l'interprétation quantitative est fortement dépendante de la technique de prélèvement et de coloration, c'est pourquoi différentes estimations quantitatives ont été proposées. Il reste donc à chaque praticien de définir lui-même ses critères d'interprétation selon sa technique et sa propre expérience (Betsch, 1992).

Il est possible d'établir comme Asbury et al. (1982) des ratios polynucléaires neutrophiles/cellules épithéliales, ou comme Ricketts et Mackintosh (1989) des pourcentages de polynucléaires neutrophiles par rapport à la quantité totale de cellules observées (Brook, 1993 ; Image 28). En réalité, de multiples méthodes quantitatives existent qui utilisent le nombre de neutrophiles observés par champ ($\times 400$), le nombre de neutrophiles par lame, le ratio neutrophiles/cellules épithéliales ou le pourcentage de neutrophiles (<5% non inflammatoire ; 5-15% inflammation légère ; 15-30% inflammation modérée ; >30 % inflammation sévère) (Images 29 et 30). Ensuite, différents systèmes de classification sont possibles, utilisant différentes dénominations telles que cytologie positive

ou négative, ou inflammation endométriale légère, modérée, sévère. En effet, il n'existe pas à l'heure actuelle de méthode de prélèvement et d'interprétation standardisées (Card, 2005).

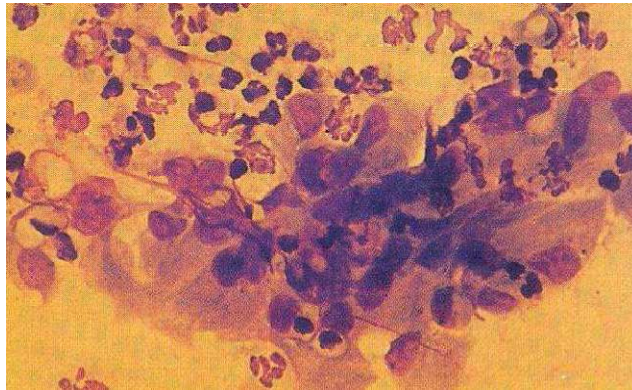


Image 28 - Cellules épithéliales et polynucléaires neutrophiles, observation d'une endométrite pathologique (>1 PNN tous les 5 champs $\times 400$) (Brook, 1993)

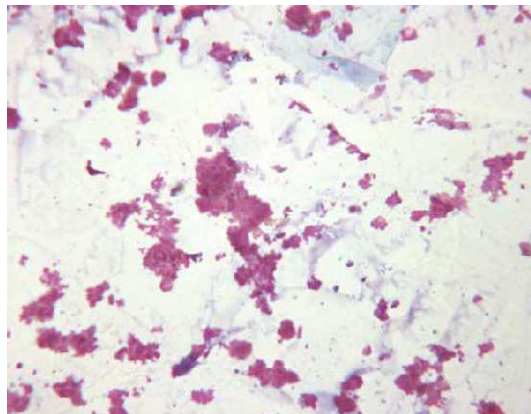


Image 29 - Cytologie utérine réalisée à partir d'un petit volume de lavage utérin ($\times 400$): <5% neutrophiles, pas de bactéries, 25% de débris (Card, 2005)

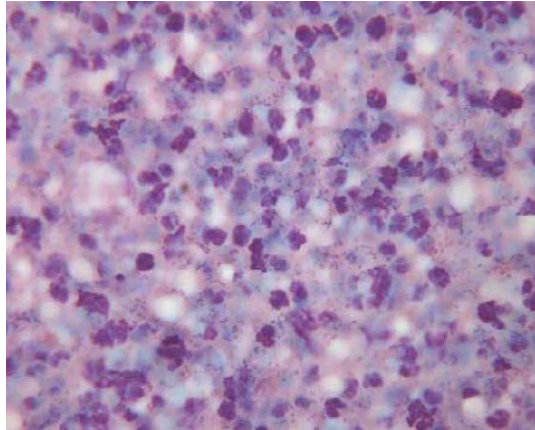


Image 30 - Cytologie utérine réalisée à partir d'un petit volume de lavage utérin ($\times 400$): $>30\%$ neutrophiles, nombreuses bactéries, $<25\%$ de débris (Card, 2005)

Selon les observations fournies par le prélèvement, le clinicien pourra donc conclure à la présence ou non d'une endométrite, qui permettra de justifier la mise en œuvre d'un examen bactériologique : si aucune inflammation utérine n'est présente, il est en effet très peu probable qu'il y ait une infection utérine sous jacente (Betsch, 1992).

7.6. Corrélation entre cytologie et bactériologie

Depuis plusieurs années, des problèmes de corrélation entre les résultats de la bactériologie et de la cytologie ont été soulevés. Lors d'examens de routine, des bactéries ont été isolées pour 65 % des écouvillons utérins réalisés sur des juments, alors que seuls 18% de ces prélèvements montraient des signes d'inflammation aiguë à la cytologie (Ricketts, et al., 1993).

Face à la présence de tels faux-négatifs, plusieurs hypothèses doivent être prises en compte : il peut s'agir de substances antimicrobiennes présentes dans l'utérus de la jument prélevée, d'une irritation non infectieuse suite à un pneumovagin ou à la présence de corps étrangers, d'une localisation profonde de l'agent infectieux, de la présence de bactéries anaérobies, de mycoplasmes ou d'autres organismes non décelés par les techniques de mise en culture courantes ou d'une période de post-partum (Brook, 1993). D'autre part, une mise en culture peut s'avérer positive en l'absence d'endométrite confirmée à la cytologie, cela correspond alors soit à une absence de réaction tissulaire, soit à une contamination du prélèvement (Betsch, 1992).

Par ailleurs, des relations ont pu être établies entre les résultats bactériologiques, cytologiques et les taux de gestation. Il a été montré que les chances pour une jument de porter un poulain étaient meilleures si la cytologie était négative et qu'aucune bactérie n'était isolée. Les chances de gestation diminuent avec la sévérité de l'inflammation utérine

et la présence d'organismes pathogènes, elles sont de 48% avec une inflammation modérée de l'endomètre et de 21% avec une inflammation sévère (Riddle, et al., 2007).

En conclusion, l'analyse cytologique est une technique simple et non invasive qui peut être employée lors de tout examen de routine. L'interprétation de l'analyse bactériologique se fera à la lumière des signes cliniques et des résultats de cette évaluation cytologique (Card, 2005). Cependant, la quantité de polynucléaires neutrophiles présents dans le prélèvement ne préjuge que de l'intensité de la réaction inflammatoire et non de sa profondeur dans l'endomètre, cette dernière déterminant la durée du traitement de l'endométrite. Ce sera grâce à l'analyse histologique qu'il sera possible de la déterminer (Betsch, 1992 ; Betsch, 2003 a).

8. Biopsie de l'endomètre

La biopsie de l'endomètre est une étape diagnostique essentielle chez la jument subfertile, elle permet l'examen histologique de lésions qui sont fréquemment causes de subfertilité et qui ne peuvent pas être appréciées par d'autres prélèvements ou examens (Kenney, 1978).

8.1. Indications

Les juments pouvant être sélectionnées pour un examen histologique dans le cadre de notre sujet sont (Kenney, 1978; Betsch, 2003 b):

- les juments présentant des anomalies du tractus génital interne détectées grâce à l'observation directe, la palpation et/ou par échographie
- les juments présentant de façon anormale des fluides intra-utérins voire un pyomètre ou un mucomètre
- les juments restées vides après trois cycles correctement exploités ou depuis plus d'une saison de monte
- les juments ayant vécu un ou des épisodes de résorption embryonnaire et/ou d'avortement
- les juments suspectes d'endométrite chronique récidivante
- les juments ne présentant pas un comportement de chaleurs normal
- les juments stériles sans cause évidente

8.2. Moment du prélèvement

La biopsie de l'endomètre peut être effectuée à n'importe quel stade du cycle, mais il est indispensable de s'assurer que la jument ne soit pas gestante (Kenney, 1978). Le prélèvement en milieu de dioestrus semble être préféré car il se rapproche le plus de l'état gestant, mais les défenses utérines sont faibles. Toute manipulation intra-utérine en dioestrus devra obligatoirement être suivie d'une injection d'un analogue de la prostaglandine F2 α pour provoquer une lutéolyse et ainsi éviter le développement d'une endométrite. En période œstrale, le risque de contamination est moins élevé, mais les modifications physiologiques intervenant sont susceptibles de rendre les interprétations plus difficiles (Ricketts, 1975 ; Kenney, 1978 ; Ricketts, 1989). En anœstrus, il a été vu qu'il existait une certaine atrophie glandulaire physiologique, celle-ci pouvant rendre la distinction d'un phénomène d'atrophie pathologique plus délicate (Ricketts, 1989). Comme l'architecture de l'endomètre change avec les saisons et les périodes du cycle sexuel, il sera donc primordial d'indiquer sur le prélèvement le moment au cours duquel a été réalisée la biopsie (Doig et Waelchli, 1993).

8.3. Technique de prélèvement

La biopsie de l'utérus consiste à prélever un fragment d'endomètre afin d'en examiner la structure histologique. L'acte est indolore étant donné l'absence de fibres nerveuses au niveau de ce tissu, néanmoins les méthodes classiques de contention d'un examen gynécologique ainsi que de préparation de la région vulvo-périnéale seront appliquées. Cet examen se réalise sur jument debout par voie transcervicale (Betsch, 1992; Betsch, 2003).

La pince doit être suffisamment longue pour atteindre la base des cornes utérines (60-70 cm) et permettre un prélèvement d'au moins 20×3×3 mm (Image 31).



Image 31 – Pince à biopsie (ENVL)

Grâce à la technique du double gant, la pince est introduite avec les mors fermés à travers le col de l'utérus puis poussée délicatement jusqu'à la base d'une corne, préférentiellement celle où a été constatée des anomalies (liquide, kystes, zone hyperéchogène). La main externe non gantée maintenant la pince est alors basculée à 90° pour placer les mors dans un plan horizontal. La main gantée est alors retirée du vagin pour aller suivre la pince grâce à une palpation transrectale et pousser le tissu entre les mors de la pince. Le fragment obtenu est placé directement dans du liquide de Bouin ou du formol 10%. Après inclusion, coupe, montage sur lame et coloration, le prélèvement est interprété (Betsch, 1992; Betsch, 2003 b). Il est admis que cet échantillon de petite taille par rapport à la surface endométriale est représentatif de l'endomètre dans son ensemble (Kenney, 1978). Néanmoins, il n'est pas représentatif de l'utérus en entier et nous verrons par la suite que cela peut constituer une limite dans l'analyse des angiopathies utérines.

8.4. Site du prélèvement

Le prélèvement est réalisé à la base d'une ou des deux cornes utérines : si une seule corne est prélevée, ceci se fera de façon indifférente entre la gauche et la droite. Cependant, si des anomalies macroscopiques ont été constatées au cours des examens antérieurs, la biopsie s'effectuera préférentiellement au niveau du site anormal (Kenney, 1978 ; Betsch b, 2003).

8.5. Evaluation de l'échantillon

Après s'être assuré de la taille convenable du prélèvement (>2 cm), la première étape consiste à estimer la période du cycle au cours de laquelle il a été prélevé, les changements pathologiques étant évalués par la suite (Kenney, 1978).

8.5.1. Estimation du stade du cycle œstral

Les caractéristiques qui sont relevés au cours de l'observation sont : la hauteur de l'épithélium luminal, la conformation des glandes et l'importance de l'œdème au niveau de la lamina propria. Il sera possible de rencontrer divers changements artéfactuels reliables à la technique de prélèvement, tels que de l'œdème, de l'hyperhémie et de l'hémorragie voire des défauts partiels ou totaux de l'épithélium luminal (Kenney, 1978).

8.5.1.1. Œstrus

L'épithélium luminal passe d'une épaisseur faible à modérée en début d'œstrus à une hauteur maximale en œstrus (jusqu'à 50 µm). Une vacuolisation cytoplasmique des cellules

épithéliales est fréquemment rencontrée notamment en région basale. Sa structure va évoluer de simple à pseudostratifiée. Une marginalisation des polynucléaires neutrophiles est observée à partir des vaisseaux vers la lumière utérine, mais ce phénomène n'est pas restreint à la période œstrale et peut s'observer lors de phénomènes inflammatoires. En raison de l'œdème stromal, la densité des glandes apparaît moins importante par rapport aux autres périodes du cycle. Néanmoins, les canaux glandulaires apparaissent rectilignes, non sinueux et de large diamètre. Les glandes s'organisent occasionnellement en « nids » du fait du développement de l'œdème stromal autour de ces dernières. Il conviendra de faire la différence entre la forme normale de ce type de « nid » par rapport à leur forme pathologique rencontrée lors de fibrose périglandulaire (Kenney, 1978).

8.5.1.2. Dioestrus

Au début du dioestrus, l'épaisseur de l'épithélium luminal varie de 10 à 20 μm , puis sept jours plus tard, cela tend à s'uniformiser pour atteindre 20 μm . Les cellules épithéliales sont cubiques et apparaissent plus foncées. La densité des glandes augmente car la tortuosité de ces dernières est importante suite à l'augmentation de la taille de leurs canaux mais aussi suite à la diminution de l'œdème stromal (Kenney, 1978).

En résumé, les changements les plus notables au cours du cycle œstral auxquels il faudra s'attacher vont concerner la configuration des glandes, le caractère des sécrétions, la présence d'œdème dans la lamina propria et la hauteur de l'épithélium luminal (Leishman et al., 1982 ; Tableau 1).

	Epithélium luminal	Stroma	Canaux glandulaires	Glandes
Œstrus	<ul style="list-style-type: none"> • Simple/pseudostratifié • Grandes cellules allongées • Hauteur maximale (jusqu'à 50 µm) • Faible coloration du cytoplasme vacuolisé 	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de la vascularisation et de l'œdème • Infiltration diffuse de polynucléaires neutrophiles et de cellules mononuclées 	Courts et étroits	<ul style="list-style-type: none"> • Non tortueuses • Groupées en nids • Contiennent du matériel amorphe • Grandes cellules épithéliales faiblement colorées
Dicœstrus	<ul style="list-style-type: none"> • Columnaire/cubique • Coloration soutenue du cytoplasme 	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution de la vascularisation et de l'œdème • Faible infiltration cellulaire 	Longs et tortueux	<ul style="list-style-type: none"> • Dispersées • Petites et inactives • Petites cellules épithéliales faiblement colorées

Tableau 1- Changements cycliques normaux dans l'architecture de l'endomètre de la jument (Ricketts, 1975)

8.5.1.3. Anœstrus

L'endomètre entre dans un certain degré d'atrophie durant l'anœstrus saisonnier avec : des cellules cubiques au niveau de l'épithélium luminal, une lamina propria non œdématiée, des glandes de faible diamètre et inactives. Des sécrétions composées de matériel amorphe, granulaire, hyalin ou éosinophile, tendent à s'accumuler à la jonction entre les canaux et la partie supérieure des glandes. Lors de la sortie d'anœstrus, les activités glandulaires et mitotiques reprennent, cependant le nombre de cycles œstraux nécessaires afin que l'endomètre sorte de cet état atrophie va varier selon chaque jument (Kenney, 1978).

8.5.2. Détermination des changements pathologiques

Les éventuelles modifications pathologiques sont recherchées avec méthodologie en commençant par observer la lumière utérine puis en progressant vers l'épithélium luminal, les *stratum compactum* et *spongiosum*, les glandes, les vaisseaux pour finir par le myomètre (Kenney, 1978).

Les réactions tissulaires se traduisent par des modifications inflammatoires et fibreuses qui sont classées selon le modèle suivant (Kenney, 1978):

- Classification selon le mode de distribution des lésions
 - Répartition générale des lésions
 - Etendues
 - Eparses
 - Fréquentes
 - Modérément fréquentes
 - Rares
 - Répartition anatomique
 - Stratum compactum*
 - Stratum spongiosum*
 - Périvasculaire
 - Périglandulaire
 - Autour des canaux des glandes
 - Région glandulaire moyenne
 - A la base des glandes
- Classification selon le type de cellules inflammatoires
 - Type de cellules
 - Polynucléaires neutrophiles
 - Lymphocytes
 - Macrophages
 - Sidérocytes
 - Plasmocytes
 - Polynucléaires éosinophiles
 - Mastocytes
 - Caractéristiques des foyers
 - Distincts
 - Diffus
- Classification en fonction de la sévérité des lésions
 - Inflammation
 - Légère < 120 μm
 - Modérée 120-300 μm
 - Importante >300 μm
 - Fibrose périglandulaire
 - Légère = 1 à 3 couches de dépôt fibreux de collagène périglandulaire
 - Modérée = 4 à 10 couches de dépôt fibreux de collagène périglandulaire
 - Sévère = 11 couches et plus de dépôt fibreux de collagène périglandulaire.

Les lésions étendues correspondent à des lésions nombreuses réparties régulièrement, les lésions éparses sont peu nombreuses et irrégulières. Concernant la fréquence des lésions, il s'agit d'examiner le prélèvement au faible grossissement en observant le plus de champs possible (Kenney, 1978).

Les cellules inflammatoires observées sont également classées en indiquant le type cellulaire prédominant. Ceci renseignera sur le caractère aigu (polynucléaires neutrophiles) ou chronique (lymphocytes) de l'inflammation (Kenney, 1978). L'infiltration de polynucléaires neutrophiles dans le prélèvement tissulaire est considérée comme le « gold standard » du diagnostic de l'endométrite (Nielsen, 2005). Il s'agira ensuite de qualifier ces accumulations cellulaires, à savoir si elles sont distinctes, nettement délimitées ou alors diffuses.

Le degré de sévérité des foyers cellulaires est évalué arbitrairement par leur taille. Une inflammation sera par exemple considérée comme légère si le foyer d'accumulation cellulaire est inférieure à 120 µm. Cette accumulation a préférentiellement lieu au niveau du *stratum compactum*, néanmoins lors d'affections chroniques le *stratum spongiosum* se trouve aussi envahi, et les réactions peuvent aussi être vues en régions périglandulaire ou périvasculaire et plus rarement au niveau des vaisseaux lymphatiques (Kenney, 1978).

Les variations histopathologiques sont habituellement classées comme inflammatoires (endométrite aigüe et chronique) et non inflammatoires (hypoplasie, hyperplasie, atrophie de l'endomètre, changements dégénératifs chroniques) (Ricketts, et al., 2007).

8.5.2.1. Inflammations : endométrite aigüe, chronique

Une endométrite peut être aigüe ou chronique. Lors de réaction aigüe, les polynucléaires neutrophiles sont retrouvés de manière plus fréquente que les lymphocytes dans les infiltrations leucocytaires. Ils ont tendance à envahir préférentiellement l'épithélium luminal et le *stratum compactum* (Kenney, 1978). Suite à cette invasion, il sera possible d'observer des dégénérescences des cellules épithéliales, stromales et très rarement des nécroses et abcédations stromales. Avec le temps une hyperplasie glandulaire se développe (Ricketts, 1975 ; Kenney, 1978 ; Ricketts, 1989).

Une augmentation de la vascularisation ainsi qu'une congestion des vaisseaux du stroma superficiel sont constatées. Des infiltrations leucocytaires sont visibles à leur périphérie (Ricketts, 1975 ; Kenney, 1978 ; Ricketts, 1989). Grüniger et al. (1998) ont montré sur des biopsies de juments souffrant d'endométrite que les lésions inflammatoires vasculaires sont observées avec une fréquence de 20% et que les infiltrations périvasculaires sont très communes. De plus, l'endométrite peut être un facteur favorisant dans l'apparition

de changements dégénératifs des parois des vaisseaux (par l'apport de cellules inflammatoires interférant avec les fibroblastes) : il sera ainsi possible d'observer des signes de vasculite, périvasculite et de dégénérescence endothéliale (Grüniger, et al., 1998).

Ensuite, le type cellulaire peut donner des informations sur les causes d'inflammation (Kenney, 1978):

- les macrophages sont présents en post-partum pendant une durée d'un mois maximum. Leur rôle est de phagocyter les hématies présentes suite aux hémorragies induites par la parturition

- les plasmocytes, acteurs de la défense humorale, seront retrouvés lors du passage d'antigènes bactériens

- les polynucléaires éosinophiles sont fréquemment associés à des affections telles que des pneumovagin ou pneumo-utérus

Lors d'endométrite chronique, les cellules mononuclées prédominent sur le frottis et deux catégories sont distinguées :

- l'endométrite chronique infiltrative : toutes les aires stromales sont envahies par des cellules mononuclées, surtout de manière périglandulaire, mais aussi au niveau de l'épithélium luminal et de sa membrane basale, de façon diffuse ou localisée (Ricketts, 1975; Ricketts, 1989). En l'absence d'autres anomalies, cette affection est considérée comme une réponse immune locale naturelle et aucun traitement n'est indiqué (Ricketts, et al., 2007).
- l'endométrite chronique dégénérative : une infiltration cellulaire accompagnée d'une dégénérescence glandulaire ainsi qu'une fibrose stromale sont observées. Les dégénérescences glandulaires correspondent soit à la formation de « nids » de glandes car ces dernières se retrouvent circonscrites par des lamelles de tissu fibreux, soit à des altérations kystiques glandulaires se caractérisant par une hyperplasie de l'épithélium glandulaire associée à une distension des canaux glandulaires par du matériel amorphe (Image 32). La fibrose périglandulaire est accompagnée de fibrose stromale diffuse, périvasculaire, d'angiopathies voire de lacunes lymphatiques (Ricketts, 1975 ; Ricketts, 1989 ; Ricketts et al., 2007). L'évolution progressive de cette affection est associée au vieillissement de l'animal, aux irritations répétées (par la semence, les microorganismes, les débris environnementaux et génitaux externes) et aux gestations multiples (Ricketts, 1989 ; Ricketts et al., 2007).

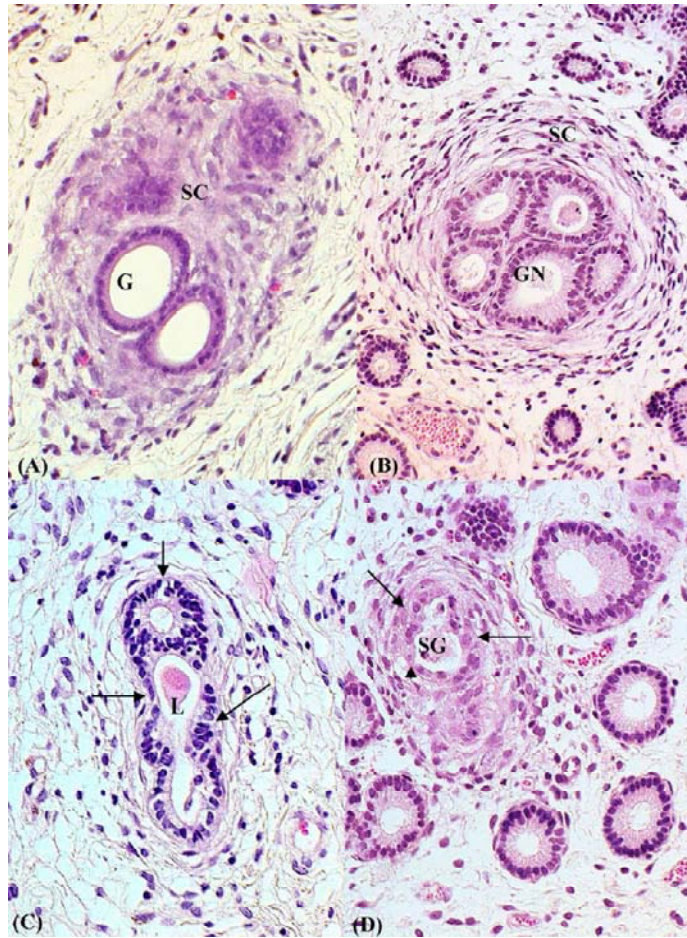


Image 32 - Différents types d'endométrite chronique : (A) active, (B) inactive montrant un nid glandulaire, (C) inactive avec destruction des cellules épithéliales (flèches), (D) active et destructive, les cellules stromales fibrosées sont invasives et pénètrent la lumière des glandes (Hoffmann, et al., 2009)

8.5.2.2. Fibrose

Cette affection est due aux cellules stromales qui se mettent à déposer du collagène de façon anormale en réponse à une inflammation chronique ou à d'autres stimuli. La fibrose s'organise autour des glandes ou en association avec la membrane basale de l'épithélium luminal. Elle se caractérise par une désorganisation structurale progressive et une perte d'agencement des cellules stromales. Comme il a été vu, les foyers de fibrose peuvent inclure les canaux glandulaires individuellement ou peuvent former des « nids » de canaux glandulaires (Images 33 et 34). Il convient de schématiser et d'estimer le degré de sévérité de ces modifications fibreuses ainsi que d'évaluer une moyenne du nombre de ces foyers en les observant au faible grossissement. Ceci permettra de conclure sur les capacités futures de la jument à maintenir une gestation jusqu'à son terme. En effet, cette fibrose compromet fortement les échanges entre les cellules et les capillaires adjacents (Kenney, 1978 ; Kenney et Doig, 1986).

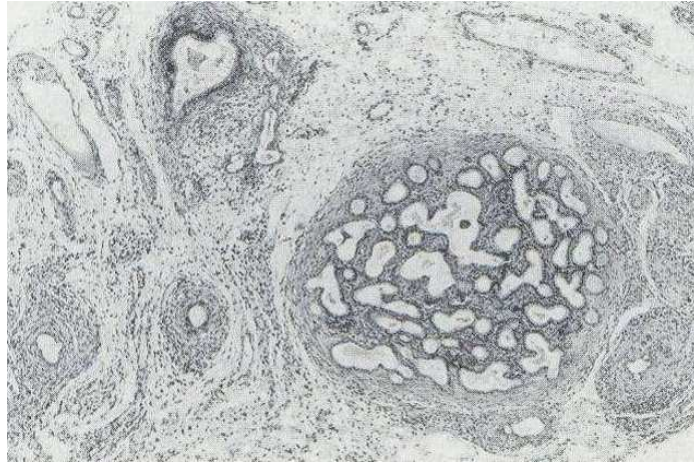


Image 33 - Fibrose périglandulaire regroupant plusieurs branches glandulaires (nid de fibrose)
(Doig et Waelchli, 1993)

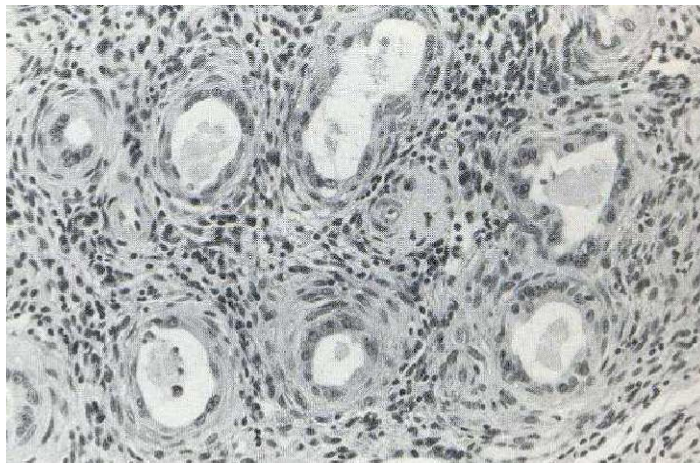


Image 34 - Fibrose diffuse de canaux glandulaires isolés (Doig et Waelchli, 1993)

8.5.2.3. Dystrophies endométriales : atrophie, hyperplasie, hypoplasie

L'hyperplasie de l'endomètre est caractérisée par une hyperplasie diffuse glandulaire ainsi qu'une hypersécrétion glandulaire en l'absence d'œdème stromal. Elle est fréquemment rencontrée pendant le premier mois de l'involution utérine suite à une gestation ou un avortement mais lorsqu'elle est observée au-delà d'un mois ou de façon non physiologique, elle peut être le signe d'une inflammation et/ou d'une infection (Ricketts, 1975; Ricketts, 1989).

L'hypoplasie de l'endomètre se caractérise par un sous développement diffus glandulaire. Les canaux glandulaires sont courts, les glandes sont non ramifiées et se situent uniquement dans le *stratum compactum*. Cette affection est retrouvée fréquemment chez les jeunes juments maiden qui présentent en général des immaturités génitales voire des anomalies chromosomiques (Kenney, 1978 ; Ricketts, 1989).

L'atrophie de l'endomètre se caractérise par des glandes en faible nombre, éparses et inactives ainsi que par un endomètre infiltré par des cellules mononuclées et fibrosé. Elle est à différencier de l'anœstrus saisonnier profond. Cette affection sera fortement suspectée après des changements notables à la palpation tels que des atrophies des replis endométriaux (Kenney, 1978; Ricketts, 1989). Elle peut aussi être rencontrée chez de jeunes juments après une infection aigüe à *Pseudomonas aeruginosa* (Ricketts et Troedsson, 2007).

8.5.2.4. Dilatation kystique des glandes et lacunes lymphatiques

Lors de la formation des kystes glandulaires, les sécrétions glandulaires s'accumulent. La lumière des glandes apparaît d'abord vide puis remplie d'un matériel amorphe, hyalin, granulaire ou éosinophile. Les cellules épithéliales des glandes subissent alors des changements morphologiques probablement sous l'effet de la pression des sécrétions accumulées (Kenney, 1978).

Il convient de bien vérifier que ces lacunes lymphatiques ne résident pas au sein d'une plage d'œdème et ne contiennent pas d'hématies afin de les différencier d'un dommage provoqué à l'endomètre par la technique chirurgicale de prélèvement (Kenney, 1978). Chez des juments subfertiles, elles sont observées avec une incidence de 16% (Grüninger, et al., 1998).

La figure 12 résume les différentes lésions de l'endomètre que nous venons de décrire.

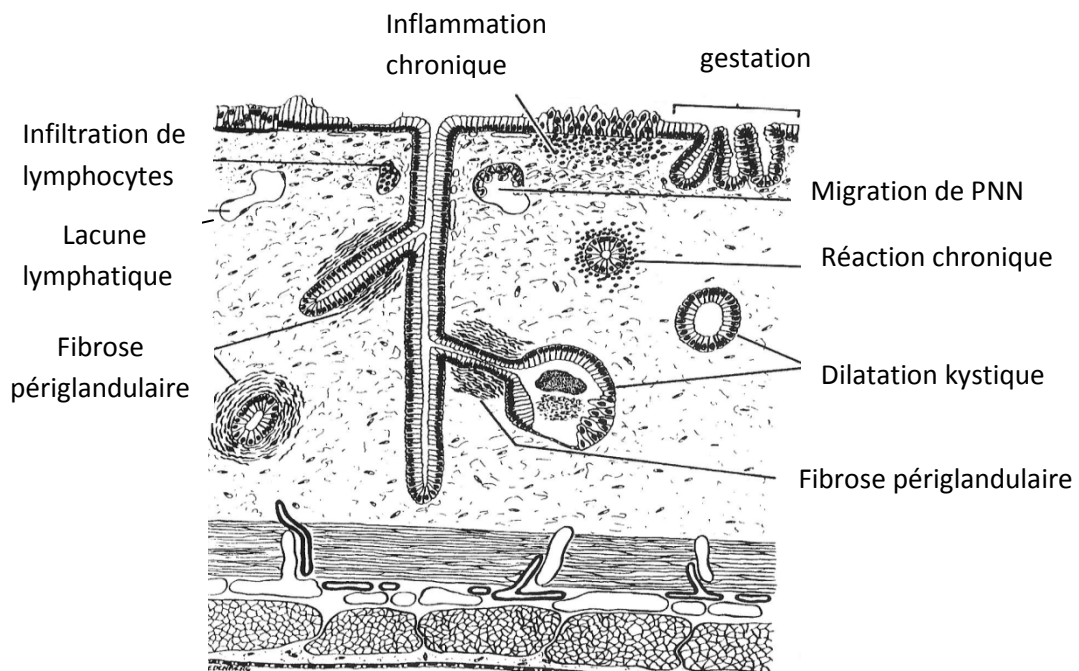


Figure 12 - Représentation schématique des différentes lésions de l'endomètre (Ginther, 1993)

8.5.2.5. Modifications des vaisseaux sanguins

La technique de biopsie conventionnelle permet à l'heure actuelle de détecter certaines altérations vasculaires. Les modifications fréquemment observables sont les manchons lymphocytaires autour des artérioles et des veinules. Des changements au niveau de la média des artères peuvent aussi être objectivés au fort grossissement, il s'agit d'hyperplasie des cellules musculaires lisses associée à une augmentation des fibres élastiques (Schalfer, 2007). Cependant lorsque les altérations vasculaires sont légères il faut faire appel à des techniques plus poussées telles que la microscopie électronique.

Les lésions qui peuvent être observées à plus fort grossissement sur des échantillons de biopsie endométriale sont les suivantes : vasculite (infiltration de cellules inflammatoires et présence de nécrose fibrinoïde dans la paroi du vaisseau), périvasculite (infiltration de cellules inflammatoires dans l'adventice), hypertrophie de l'intima ou de la média, élastose, fibrose, fibroélastose des différentes couches des parois vasculaires. La dégénérescence des parois est qualifiée d'angiose, elle se caractérise par des changements au niveau de la limitante élastique interne, des augmentations de fibres élastiques ou collagéniques dans les différentes couches de la paroi des vaisseaux. Lorsqu'elle est très sévère, elle aboutit à la sclérose voire à la destruction des parois (Grüniger, et al., 1998).

Une gradation semi quantitative permet de juger de la sévérité de ces différentes lésions : nulle, légère (légers changements disséminés ou changement modéré très localisé), modérée (changements modérés disséminés ou changement sévère très localisé) ou sévère (changements sévères observés à plus d'un endroit ou lésions destructives).

Grüniger et al. (1998), ont répertorié les incidences suivantes concernant les angiopathies endométriales : la périvasculite est observée sur 20.5% des échantillons, la vasculite est observée seulement sur deux cas, mais l'angiose est observée à hauteur de 88.9%. L'incidence de cette dernière affection augmente avec l'âge et la parité. Des analyses ultrastructurales ont montré que les altérations vasculaires artérielles diffèrent des altérations veineuses qui semblent moins sévères (Grüniger, et al., 1998).

En pratique courante, l'analyse des variations morphologiques des vaisseaux sanguins utérins s'avère tout de même difficile car elle fait appel à des techniques de laboratoire. De plus, elle ne renseigne que sur des altérations morphologiques et non sur des altérations fonctionnelles. Or, c'est l'efficacité de la perfusion utérine qui intéresse le clinicien, c'est pourquoi d'autres types d'examen évaluant la circulation sanguine pourraient trouver leur place en vue d'évaluer l'impact des altérations vasculaires utérines sur la fertilité de la jument.

Après avoir détaillé les différents types de lésions pouvant être identifiés grâce à la biopsie de l'utérus, nous allons nous intéresser à l'impact de celles-ci sur la fertilité de la jument.

8.5.3. Signification clinique des lésions observées et incidence sur la fertilité

L'interprétation du prélèvement histologique se fait dans le but d'estimer la capacité de l'endomètre à conduire une gestation jusqu'à son terme. Une très bonne corrélation est rapportée entre la sévérité des lésions observées et les capacités ultérieures de la jument à produire une descendance (Kenney, 1978). Il est ainsi possible d'établir une valeur pronostic à partir de la détermination du degré de sévérité des lésions (Leishman, et al., 1982), d'où l'utilisation d'un système de classification (Kenney, 1978).

8.5.3.1. Système de classification des biopsies utérines

Kenney (1978) a tout d'abord classé les endomètres selon trois catégories en se basant sur l'extension et l'incidence des anomalies histologiques, puis a comparé les chances de mener une gestation à son terme entre ces différentes catégories. Cette classification fut modifiée par Kenney et Doig en 1986 et a permis d'introduire une nouvelle catégorie d'endomètre. Les catégories décrites sont les suivantes :

Catégorie I

L'endomètre ne présente pas d'hypoplasie, d'atrophie ou de modifications pathologiques. S'il existe des changements, ils sont considérés comme insignifiants et n'interfèrent pas avec les capacités de la jument à porter un fœtus jusqu'à son terme (Kenney, 1978 ; Image 35).

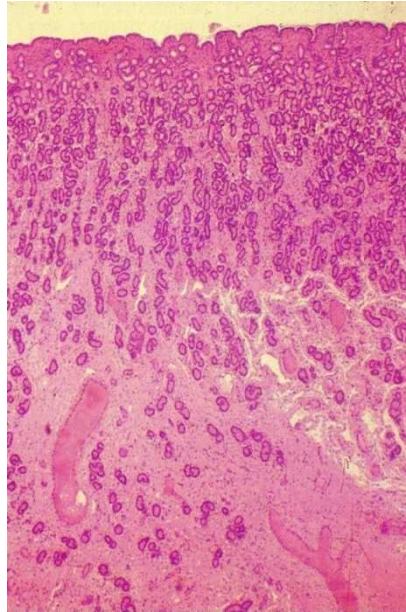


Image 35 – Endomètre de jument (×100) Catégorie I (Normal) (Betsch, 1992)

Catégorie II

Les endomètres classés dans ce groupe présentent des lésions plus étendues et plus sévères que dans la catégorie précédente mais insuffisantes pour être classées en catégorie III. Les lésions inflammatoires pouvant être rencontrées sont les infiltrations diffuses modérées du *stratum compactum* ou éparses mais fréquentes dans les *stratums compactum* et *spongiosum*. Les modifications fibreuses sont retrouvées de façon dispersée quel que soit leur degré de sévérité. Les foyers fibreux sont observés avec une moyenne de 3 par champ au faible grossissement. Il est possible de retrouver des lacunes lymphatiques éparses voire étendues. En effet, ces lésions classent les endomètres affectés par celles-ci en catégorie II, toutefois la perte de ces lacunes les ferait régresser de catégorie. De même, un endomètre atrophié sera classé dans cette catégorie jusqu'à ce que cette anomalie régresse et sera alors qualifié de catégorie I (Kenney, 1978).

Les changements inflammatoires et fibreux décrits précédemment sont suffisamment importants pour altérer les capacités de l'endomètre à maintenir une gestation jusqu'à son terme. Cependant, les lésions inflammatoires restent réversibles et peuvent faire l'objet d'un traitement (Kenney, 1978).

Par la suite, une division en deux classes a été appliquée par Kenney et Doig (1986) à la catégorie II :

Catégorie IIA avec les lésions suivantes :

- Infiltration de cellules inflammatoires diffuse, légère à modérée du *stratum compactum* ou foyers clairsemés et fréquents dans le *stratum compactum*
- Modifications fibreuses fréquentes et éparses (couches de fibrose entourant individuellement les canaux des glandes inférieures à 3 et moyenne de nids

glandulaires fibreux observés par champ sur au moins 4 champs au faible grossissement inférieure à 2)

- Possibilité d'observer des distensions glandulaires kystiques, des lacunes lymphatiques et une atrophie glandulaire.

Catégorie IIB avec les lésions suivantes :

- Infiltration de cellules inflammatoires étendue, diffuse et modérée ou quelques foyers de sévérité modérée
- Modifications fibreuses étendues et modérées (> 4 couches de fibrose périglandulaire et 2 à 4 nids en moyenne par champ)
- Dégénérescence glandulaire kystique étendue et modérée plus ou moins associée à de l'atrophie glandulaire.

Catégorie III

Les lésions affectant les endomètres classés dans cette catégorie sont non seulement des lésions sévères car elles influencent la fertilité de la jument mais aussi ne pouvant faire l'objet d'un traitement (Image 36). Il est possible de retrouver les lésions suivantes (Kenney, 1978):

- de la fibrose périglandulaire étendue : plus elle est importante, plus le pronostic de fertilité s'assombrit (> 5 nids fibreux par champ sur au moins 4 champs observés au faible grossissement)
- des lésions inflammatoires étendues sous forme d'infiltration continue : s'il s'agit d'infiltration plasmocytaire cela péjore à nouveau le pronostic
- des lacunes lymphatiques suffisamment étendues pour donner une consistance flasque à la paroi utérine.

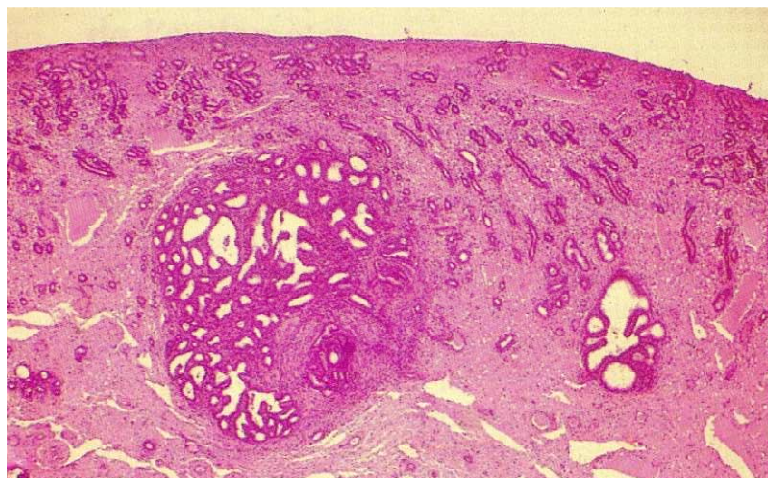


Image 36 – Endomètre de jument en catégorie III : fibrose périglandulaire sévère et dilatation kystique glandulaire modérée (Betsch, 1992)

Sont aussi intégrées dans cette catégorie les juments souffrant d'hypoplasie gonadique associée à des anomalies chromosomiques. De même, les juments souffrant de pyomètre ou d'accumulation liquidienne trop importante sont classées dans celle-ci car il y a peu d'espoir de guérison de leur endomètre (Kenney, 1978 ; Kenney et Doig, 1986).

Cette classification utilise une évaluation semi quantitative et subjective de l'état de fibrose périglandulaire de l'endomètre et présente un manque de reproductibilité.

Evans et al. (1998) ont établi une méthode quantitative objective pour l'étude de cette fibrose grâce à une analyse morphométrique s'intéressant à la fraction du volume de collagène endométrial périglandulaire (%EPCVF) au cours d'analyses microscopiques. Cette technique permet une évaluation plus fine de la taille des nids fibreux et du nombre de couches de fibrose. Ils ont ainsi pu mettre en évidence que cette fraction était corrélée aux catégories modifiées proposées par Kenney et Doig (1986). Cette méthode pourrait ainsi être utilisée dans l'évaluation des juments subfertiles au niveau du suivi de la progression de la fibrose périglandulaire et de la réponse aux traitements éventuels. Néanmoins, cette évaluation nécessite des appareils de microscopie électronique ainsi que des analyseurs automatiques et ne sont donc pas applicables en pratique courante (Evans, et al., 1998).

Schoon et al. (2000) ont aussi amélioré cette qualification en introduisant la notion de « maldifférenciation » et ont établi l'existence de deux types majeurs d'altérations : des différenciations inégales, correspondant à des zones focales d'atrophie, d'hypoplasie ou d'hyperplasie glandulaire, non concordantes avec le stade du cycle œstral, et des différenciations irrégulières où toutes ou la plupart des glandes endométriales sont atteintes d'anomalies structurelles et sécrétoires.

8.5.3.2. Lien entre fertilité et les différentes catégories

Kenney et Doig (1986) ont évalué le pourcentage de mise bas chez des juments selon les catégories des biopsies endométriales. Il ressort que le pourcentage de mise bas dans la catégorie I est compris entre 70 et 92 %, entre 50 à 80% pour la catégorie IIA, entre 10 à 50% pour la catégorie IIB et inférieur à 10% dans la catégorie III. Cependant, une jument classée en catégorie III n'est pas jugée comme stérile et inversement, une jument en catégorie I ne donnera pas forcément naissance à un poulain. En effet, le taux de fertilité n'est pas uniquement corrélé à l'état de l'endomètre mais aussi à de nombreux autres facteurs à la fois individuels et zootechniques, tout aussi important à prendre en considération lors de l'évaluation d'une jument subfertile (Kenney, 1978 ; Kenney et Doig, 1986 ; Betsch, 1992).

De plus, Ricketts et al. (1991) ont montré que ce pronostic de gestation pouvait être fortement ajusté suite à un traitement adapté. Ils recommandent aussi de pratiquer une biopsie utérine avant et après le traitement afin de préciser le plus possible le pronostic. En effet, après avoir réalisé deux séries de biopsies, il est possible de juger à la fois la capacité

de l'endomètre à répondre ou non à un traitement utérin approprié ainsi que sa capacité à mener une gestation jusqu'à son terme.

8.6. Corrélation entre cytologie, bactériologie et histologie

Reiswig et al. (1993) ont montré que la corrélation entre la cytologie et la culture bactérienne est de 76% alors que celle entre la biopsie endométriale et la culture bactérienne s'élève à 75%.

Il a aussi été montré que la sensibilité (capacité d'un test à donner un résultat positif quand la condition est présente) de la bactériologie obtenue à partir d'une biopsie endométriale ($Se=0.82$) était supérieure à la fois à celle obtenue à partir d'un examen cytologique ($Se=0.77$) et à celle obtenue lors d'un examen bactériologique par écouvillonnage ($Se=0.34$). De plus, la sensibilité et la spécificité (capacité d'un test à donner un résultat négatif quand la condition n'est pas présente) de la biopsie dans la détection des polynucléaires neutrophiles lors d'inflammation est aussi très bonne. Donc cette technique pourrait être à la fois utilisée pour le diagnostic d'inflammation utérine et la détection d'agents pathogènes mais aussi pour l'évaluation des changements chroniques dégénératifs utérins. Cependant, elle présente le désavantage majeur d'un délai important entre le prélèvement et les résultats de laboratoire (Nielsen, 2005).

En conclusion, la biopsie se présente comme un acte simple permettant d'apporter des informations fondamentales mais aussi de détecter des causes de subfertilité non objectivables par d'autres examens. Néanmoins, elle fait partie intégrante d'une série d'examens complémentaires et doit être interprétée à la lumière des informations fondamentales fournies par l'anamnèse et les commémoratifs ainsi que par les examens clinique et gynécologique. Elle permettra d'affiner un diagnostic étiologique afin d'établir un traitement efficace et de préciser le pronostic (Kenney, 1978 ; Nielsen, 2005). Mais, concernant les altérations vasculaires potentiellement responsables de subfertilité, la biopsie ne permet que de juger des altérations des vaisseaux de l'endomètre et non ceux de l'utérus entier. Or, il semblerait que ce soient les vaisseaux myométriaux qui soient les plus atteints (Grüninger, et al., 1998). D'autre part, celle-ci ne donne aucun renseignement sur la fonctionnalité des vaisseaux, c'est pourquoi cette technique doit être complétée par des études d'hémodynamique pour juger du véritable impact d'une mauvaise perfusion utérine sur la fertilité de la jument.

9. Autres investigations

9.1. Caryotype

Les anomalies chromosomiques chez la jument infertile consistent en des problèmes de nombre ou de structure des chromosomes sexuels et ne peuvent être détectés qu'à l'aide d'un caryotype car les modifications phénotypiques ne sont pas toujours objectivables. Certaines affections seront compatibles avec le maintien d'une gestation contrairement à d'autres, où des anomalies de formation des gamètes empêchent dès le départ une fécondation normale.

Un caryotype peut être obtenu à partir de n'importe quel tissu contenant des cellules en division, tel que la moelle osseuse, ou à partir de tissus dont la division sera stimulée en laboratoire, tels que des biopsies par exemple. Il est aussi possible d'utiliser les lymphocytes du sang périphérique prélevé dans un tube citraté ou hépariné (Bowling et Hughes, 1993).

9.2. Analyses sérologiques et PCR

Des analyses PCR (Polymerase Chain Reaction) et sérologiques peuvent à l'heure actuelle être entreprises afin d'identifier *Taylorella equigenitalis*. Les anticorps étant détectables pendant les 40 jours suivant l'infection (Swerczek et Caudle, 2007).

9.3. Techniques de laboratoire

De nombreuses autres techniques ont été développées afin d'étudier plus finement l'utérus :

- des études ultra structurales (microscopie électronique) pour analyser l'épaisseur, la proportion, la taille des glandes et la présence de nids fibreux, de zones d'inflammation, de dégénérescence (Ferreira-Dias, et al., 1994). Mais, ces techniques trouvent aussi leur justification dans l'analyse des changements vasculaires microscopiques. En effet, quand les altérations sont légères, les techniques de microscopie classique ne permettent pas de les apprécier, ces dernières permettent seulement de repérer les infiltrations ou les fibroses. Ici, il est possible de juger de la localisation et de la sévérité de l'atteinte de la paroi des vaisseaux notamment l'atteinte de la limitante élastique interne, la présence de fibres de collagène en quantité anormale voire dysplasiques, le dépôt de corps calcifiés qui semblent être responsables du processus de nécrose des cellules musculaires lisses (Ferreira-Dias, et al., 1994; Grüniger, et al., 1998)
- des techniques biochimiques pour quantifier le taux de protéines des sécrétions utérines et les variations rencontrées lors d'endométrites (Schalfer, 2007)

- des techniques immunohistochimiques pour l'étude des dépôts de collagène (Evans, et al., 1998), des anticorps spécifiques présents dans les sécrétions utérines en réponse à une infection, des facteurs de croissance présents dans les tissus endométriaux
- des techniques de digestion enzymatique des fibres élastiques des vaisseaux sanguins au niveau d'échantillons de biopsie endométriale afin de pouvoir juger de leur importance, leur localisation au sein de la paroi des vaisseaux mais aussi du degré d'élastose de ces derniers
- le diagnostic moléculaire par la technique PCR pour la détection d'agents pathogènes mais aussi dans la compréhension de certains mécanismes tels que la fibrose endométriale, les phénomènes inflammatoires via l'analyse des cytokines (Schalfer, 2007).

Lors de l'examen d'une jument subfertile, il est donc important de considérer chaque étape comme faisant partie intégrante d'un tout. L'examen général permet de constater les retentissements sur l'état de la jument et l'examen palpatoire de l'utérus permet de distinguer des anomalies macroscopiques qui peuvent ensuite être précisées par l'examen échographique voire endoscopique. Par la suite, d'autres examens complémentaires (bactériologie, cytologie, biopsie) peuvent être mis en œuvre afin de confirmer la présence ou non d'une inflammation utérine puis d'en diagnostiquer éventuellement la cause ainsi que la gravité et l'étendue. Néanmoins, il semble que des altérations vasculaires soient communément retrouvées au niveau des biopsies des juments subfertiles (Grüninger, et al., 1998). Or, exceptées les techniques de microscopie électronique, il n'existe pas à l'heure actuelle de techniques courantes non invasives permettant de repérer ces altérations vasculaires ainsi que de juger de leur impact sur la fertilité de la jument. C'est pourquoi, nous nous proposons de relater les diverses études menées avec l'échographie Doppler dans l'évaluation de la circulation sanguine utérine chez la jument afin d'étudier sa possible application en gynécologie équine et dans le diagnostic de subfertilité d'origine utérine.

Troisième partie

Application de l'échographie Doppler au diagnostic de certaines subfertilités d'origine utérine

III. Application de l'échographie Doppler au diagnostic de certaines subfertilités d'origine utérine

Le mode Doppler est un outil nous permettant de visualiser et d'analyser le flux sanguin, il nous renseigne sur la direction, la vitesse et les caractéristiques de celui-ci (Chetboul, et al., 1999).

A. Principes généraux du Doppler

1. Principes physiques et analyse de l'effet Doppler

1.1. Principes physiques

L'effet Doppler a été décrit pour la première fois par Johann Christian Doppler. Ce physicien avait analysé le mouvement des étoiles par rapport à la Terre et l'effet de ce mouvement sur une onde lumineuse. Il avait noté que celles se déplaçant vers notre planète apparaissaient bleues, alors que celles qui s'en éloignaient apparaissaient rouges. Il a ainsi démontré que tout type d'onde (lumière, son ...) change de longueur d'onde quand la position entre la source et le récepteur de l'onde varie. Par exemple, lorsqu'un individu se déplace vers la source d'un son, la fréquence de ce son augmente. A l'inverse, lorsqu'il s'éloigne de la source, la fréquence diminue. Cette variation de fréquence entre le son transmis et le son reçu correspond à l'**effet Doppler** (Chetboul et al., 1999).

La chauve-souris utilise l'effet Doppler pour rechercher ses proies, celle-ci émet des ondes et les réceptionne. Elle joue donc le rôle d'émetteur et de récepteur d'ondes, sa proie quant à elle constitue la surface de réflexion. Quand les deux sont immobiles, les longueurs d'ondes transmises et réfléchies sont identiques, mais lorsque la proie se déplace vers la chauve souris, les ondes sonores rencontrent plus souvent la proie augmentant le nombre d'ondes réfléchies vers la chauve-souris (donc l'augmentation de la fréquence). A l'inverse, lorsque la proie s'éloigne, le nombre d'ondes réfléchies vers la chauve souris et la fréquence du signal diminue (Boon, 1998 ; Figure 12).

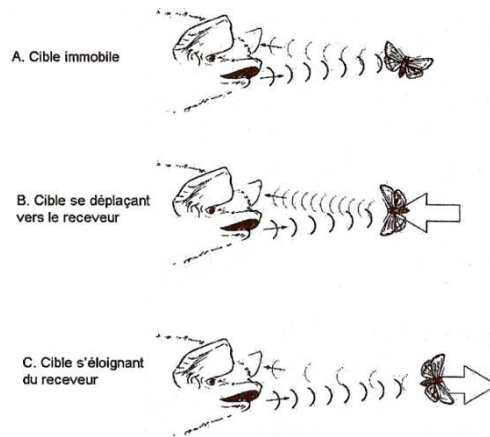


Figure 12 - Illustration de l'effet Doppler (Boon, 1998)

Lors d'examen vasculaire, l'émetteur et le récepteur final sont représentés par la sonde alors que le flux sanguin ou plus précisément les globules rouges présents dans le vaisseau étudié constituent la surface réfléchissante. La « collision » entre les ultrasons et le flux sanguin entraîne une modification de la fréquence ultrasonique. La fréquence des échos réfléchis augmente lorsque les globules rouges se dirigent vers la sonde et diminue lorsqu'ils s'en éloignent (Figure 13). Cette variation de fréquence encore appelée glissement de fréquence ou **fréquence Doppler** (ou Doppler shift par les Anglo-saxons) dépend de plusieurs paramètres dont la vitesse de l'élément mobile.

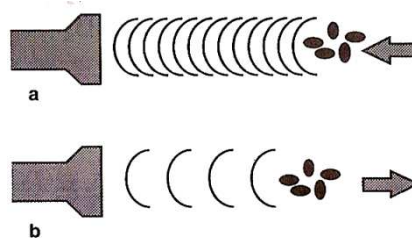


Figure 13 – Illustration de la fréquence Doppler (Chetboul, et al., 1999)

Cette différence de fréquence peut être calculée par la formule suivante (Chetboul, et al., 1999) :

$$\Delta f = (2 \times F_0 \times v \times \cos \theta) / c$$

Où Δf correspond à la variation de fréquence (en Hz), F_0 est la fréquence d'émission, v la vitesse du flux sanguin (en m/s), θ l'angle entre le faisceau d'ultrasons émis et le vecteur du flux sanguin, c la vitesse de propagation des ultrasons dans les tissus mous (1540 m/s) (Reef, et al., 1998). En effet, la vitesse ou vélocité est constante au sein d'un milieu donné, la vélocité étant définie par la formule suivante (Chetboul, et al., 1999):

$$\text{Vélocité} = \text{fréquence} \times \text{longueur d'onde}$$

La vitesse du flux sanguin est par extraction égale à :

$$v = c \times \Delta f / (2 \times F_0 \times \cos \theta)$$

Par cette formule, il est aisé de comprendre que pour mesurer la vitesse maximale, le faisceau émis doit être parallèle au flux récepteur de telle sorte que θ soit nul et son cosinus soit égal à 1. Plus θ augmente, plus la vitesse du flux sanguin est sous estimée : un angle de 20° provoque ainsi un facteur d'erreur de 6%, un angle de 30° de 13% et un angle de 35° de 18%. En pratique, l'angle θ doit être compris entre 0 et 20° (Reef et al., 1998 ; Chetboul et al., 1999 ; Figure 14). Ceci différencie l'image Doppler de l'image échographique simple. En effet, pour obtenir les meilleures images en échographie classique, il est conseillé d'avoir un faisceau d'ultrasons arrivant perpendiculairement aux structures examinées. En mode Doppler, en revanche, le faisceau d'ultrasons doit être le plus parallèle possible au flux sanguin pour en mesurer la vitesse maximale. Il est donc difficile d'obtenir simultanément une image échographique de bonne qualité associée au meilleur signal Doppler (Chetboul, et al., 1999).

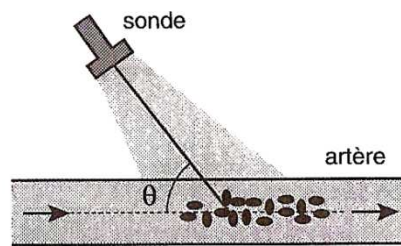


Figure 14 - Illustration de l'angle ϑ (Chetboul, et al., 1999)

1.2. Analyse de l'effet Doppler

En pratique, l'analyse des glissements de fréquence donc des vitesses s'effectue de trois façons : auditive, graphique et colorimétrique (Chetboul, et al., 1999).

1.2.1. Analyse auditive

Le signal Doppler ou glissement de fréquence peut être transformé en signal acoustique car il se situe en zone audible entre 20 et 20000 Hz. Ce signal est amplifié puis envoyé à un haut parleur. La tonalité sera différente selon que le flux a un écoulement laminaire ou turbulent. Il sera doux dans le premier cas et au contraire rude et intense dans le second cas (Chetboul, et al., 1999).

Le signal acoustique est un excellent guide pour obtenir un spectre de vitesses. Le signal le plus clairement audible correspond à la vitesse maximale du flux sanguin. L'oreille

humaine arrive à percevoir nettement les différences entre flux normal et anormal et cela sera plus aisé que de repérer des zones de turbulences sur un tracé (Reef, et al., 1998).

1.2.2. Analyse graphique

Les différentes vitesses de flux sanguin peuvent être représentées sous forme de graphiques dans les modes Doppler continu et pulsé.

Deux modes de représentation graphique de vitesses sont possibles :

- La représentation de la moyenne des vitesses du ou des flux sanguin(s) traversé(s) en fonction du temps. Néanmoins, ce mode de représentation est source d'erreur car en présence de deux flux inverses, la vitesse moyenne devient nulle et ne reflète donc pas la réalité hémodynamique (Chetboul et al., 1999 ; Figure 15).
- La représentation du spectre de l'ensemble des vitesses sanguines en temps réel. Cette technique est rendue possible par la technique de transformation rapide de Fourier. Le signal Doppler est ainsi transformé en un spectre de vitesses. Ces vitesses sont enregistrées sous forme de courbes selon leur valeur absolue en m/s, et selon leur direction de part et d'autre de la ligne du zéro. Un flux s'éloignant de la sonde, dit rétrograde, est par convention négatif, donc situé en dessous de la ligne du zéro. Inversement, un flux s'approchant de la sonde, dit antérograde, est positif, donc situé au dessus de la ligne du zéro. A l'analyse spectrale par transformation de Fourier, s'ajoute un codage en modulation de brillance : les vitesses les plus représentées sont les plus lumineuses et les plus brillantes (Chetboul et al., 1999 ; Figure 15).

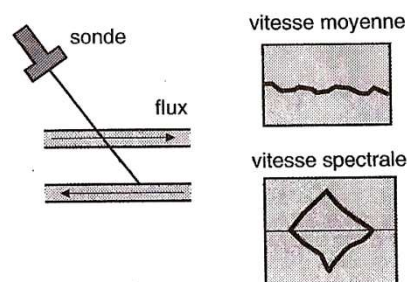


Figure 15 - Représentation graphique des vitesses (Chetboul, et al., 1999)

1.2.3. Analyse colorimétrique

Les signaux Doppler peuvent être codés en couleur. Conventionnellement, les flux laminaires antérogrades apparaissent en rouge et les flux laminaires rétrogrades en bleu. Les flux turbulents sont codés en vert. Le ton de la couleur est fortement influencé par la qualité du signal, la vitesse du flux et la brillance est proportionnelle à la valeur absolue de la

vitesse. Cette technique permet d'apprécier directement à l'écran la vascularisation d'un territoire (Chetboul et al., 1999 ; Ginther et Matthew, 2004 ; Image 37).

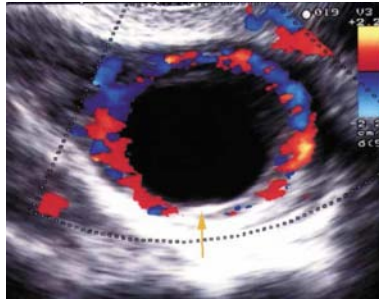


Image 37 - Vascularisation d'un follicule ovulatoire visualisé par analyse colorimétrique (Ardaens, et al., 2002)

Il existe en échographie différents modes Doppler qui possèdent des fonctionnements et des modes de représentation du flux sanguin différents.

2. Les différents modes Doppler

2.1. Doppler continu

La sonde utilisée comporte deux cristaux spécialisés dans deux fonctions différentes (Figure 16):

- un cristal émetteur dont le rôle est de produire de façon continue des ondes ultrasonores : elles vont se propager et se réfléchir sur les différentes structures rencontrées
- un cristal récepteur dont le rôle est de recevoir de façon continue les ondes ultrasonores émises et de transformer les variations de pression ultrasonique en variation de potentiels électriques

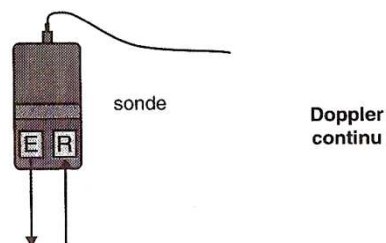


Figure 16 - Schématisation du Doppler continu (Chetboul, et al., 1999)
E = émetteur / R = récepteur

L'avantage de ce mode d'enregistrement continu (émission et réception permanentes) est de mesurer toutes les variations de fréquence donc toutes les vitesses, même les plus élevées. Nous verrons que cela constitue un avantage par rapport au Doppler pulsé (aliasing). Cependant il est impossible de connaître la profondeur de la surface réfléchissante à l'origine du signal Doppler, ceci est appelé manque de résolution spatiale. En effet, à l'inverse du mode pulsé, ici aucun volume-échantillon, de profondeur connue, n'est déterminé à l'avance par l'opérateur sur une image échographique bidimensionnelle.

La technique de Doppler continu peut être utilisée seule, sans repérage échographique ou couplée artificiellement à l'imagerie bidimensionnelle (Chetboul, et al., 1999).

2.2. Doppler pulsé

Avec ce système, l'émission et la réception des ultrasons ne s'effectuent pas de manière continue mais de façon séquentielle. Les ultrasons sont émis par pulses dans les tissus par un cristal piézo-électrique unique vers une profondeur déterminée. Les signaux réfléchis provenant de cette profondeur doivent être reçus par la sonde avant l'émission du pulse suivant (Figure 17). Le problème de résolution spatiale du Doppler continu est ainsi réglé.

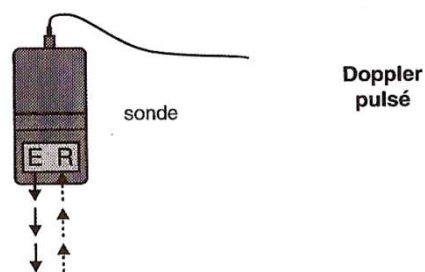


Figure 17 - Schématisation du Doppler pulsé (Chetboul, et al., 1999)

E = émetteur / R = récepteur

La fréquence avec laquelle le cristal est activé définit la « fréquence de répétition » ou **PRF** (Pulse Repetition Frequency) ou encore récurrence des impulsions. Elle correspond au nombre d'« émission-réception » par seconde (Chetboul, et al., 1999). La PRF est déterminée par la distance entre la sonde et le flux sanguin à analyser (Reef, et al., 1998). En raison de cette PRF, les vitesses ne sont mesurées que dans un volume-échantillon ou « porte Doppler » dont il est possible de choisir à la fois la taille et la profondeur par rapport aux repères échographiques en deux dimensions. Cependant la taille de ce volume échantillon constitue une limite de ce système car elle doit être petite comparée au diamètre du vaisseau (Gill, 1985).

La PRF étant inversement proportionnelle à la profondeur du flux analysé, plus l'échantillon à étudier sera situé loin de la sonde, plus la PRF sera faible et inversement. En effet, plus une structure est située en profondeur plus le temps d'aller-retour du signal ultrasonore est long. En pratique, la profondeur de l'échantillon est choisie par l'opérateur sur l'image 2D, ceci détermine la valeur de la PRF. D'autre part, la taille de l'échantillon (« gate size ») définit la durée de l'impulsion et du temps d'écoute (réception). Puis en déplaçant progressivement ce volume d'échantillonnage, il est possible d'analyser l'expansion d'un flux sanguin (méthode de cartographie ou « mapping ») (Chetboul, et al., 1999)

2.3. Doppler couleur

En Doppler couleur, les images 2D en temps réel et la cartographie des flux sanguins sont visualisées au même moment grâce à une alternance d'ultrasons dédiés à l'image 2D et d'autres consacrés au signal Doppler (Reef, et al., 1998).

Ce type de Doppler est une forme particulière de Doppler pulsé : à la place d'un simple volume-échantillon disposé sur une seule ligne de tir, une image bidimensionnelle du flux est obtenue grâce à l'utilisation de plusieurs lignes de tir et pour chacune d'entre elles plusieurs volumes-échantillons (Chetboul et al., 1999 ; Figure 18). Il est aussi appelé Doppler « multiligne-multiporte ». L'image obtenue à l'écran est le résultat de l'analyse simultanée de ces portes Doppler. Les signaux Doppler venant des surfaces mobiles, ceux venant des surfaces immobiles étant éliminés, sont soumis à une analyse qui calcule la vitesse moyenne au sein de chaque groupe de pulses (Ginther et Matthew, 2004).

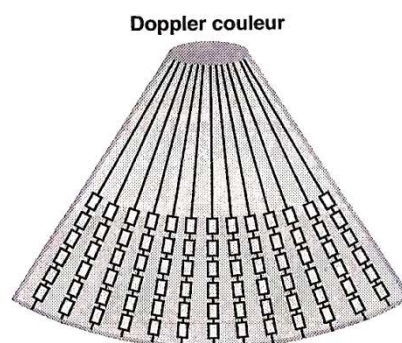


Figure 18 - Schématisation du Doppler couleur (Chetboul, et al., 1999)

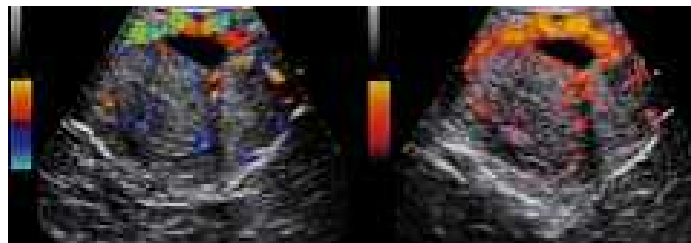
Les signaux Doppler dans chaque porte ne sont pas ici traduits en graphiques mais sont codés en couleur en fonction de trois paramètres : la direction du flux sanguin, sa vitesse et son caractère laminaire ou turbulent (Chetboul, et al., 1999) :

- les flux laminaires se dirigeant vers la sonde sont par convention colorés en rouge et ceux s'en éloignant en bleu
- plus la vitesse du flux sanguin sera importante plus le ton de la couleur sera marqué
- les flux turbulents seront codés en vert, l'intensité sera proportionnelle au degré de variation du spectre des vitesses enregistrées

Ces différentes couleurs sont couplées à l'image anatomique correspondant au plan de coupe bidimensionnel. Il est donc possible d'obtenir une véritable cartographie des flux sanguins superposée à l'image bidimensionnelle (Chetboul, et al., 1999).

2.4. Doppler puissance

Ce système est un mode Doppler récent qui permet de visualiser les flux sanguins circulant à basse vitesse et à basse énergie ainsi que dans des vaisseaux de faible diamètre. Les données relatives à la fréquence, c'est-à-dire à la vitesse d'écoulement du sang et à son sens ne sont pas prises en compte. Seule est retenue la puissance du signal Doppler, qui est proportionnelle au nombre de globules rouges dans le volume de sang mesuré, quelles que soient leur vitesse et leur direction. L'intensité de la couleur sera donc proportionnelle à la puissance du signal Doppler (Ginther et Matthew, 2004 ; Image 38).



Images 38 - Deux images échographiques de corps jaune observés à l'aide d'un mode Doppler couleur (gauche) et d'un mode Doppler puissance (droite) (Ginther et Matthew, 2004)

Le Doppler puissance est indépendant de l'angle d'incidence des ondes et l'effet « aliasing » (cf §3.2.) n'affecte pas l'affichage de la couleur. Il possède un meilleur rapport signal/bruit que le Doppler couleur, mais ne donne pas de renseignement sur le sens d'écoulement du sang et s'atténue en profondeur (Reef, et al., 1998).

Le Doppler puissance est très utile dans l'évaluation du flux sanguin d'un organe et de la vascularisation associée à une néoplasie (Reef, et al., 1998).

Après avoir décrit le principe du Doppler et en avoir distingué les différents modes, nous allons voir que cette technique d'examen présente de nombreux artéfacts.

3. Les artéfacts de l'échographie Doppler

3.1. Les artéfacts de mouvement

Le mode Doppler sert à l'analyse du mouvement des globules rouges, mais il reste sensible à tout autre type de mouvement. Ainsi des images de mouvement artéfactuelles peuvent apparaître. Elles peuvent être dues au mouvement de l'animal ou à des mouvements d'organes comme le péristaltisme intestinal qui est susceptible de provoquer des artéfacts lors d'échographie Doppler transrectale chez la jument (Ginther et Matthew, 2004). Les vibrations du sang contre la paroi des vaisseaux ou l'interférence avec des vaisseaux voisins peuvent aussi dégrader la qualité du signal (Gill, 1985). Il sera donc intéressant de filtrer les fréquences « parasites » (Ginther et Matthew, 2004) ou de supprimer les fréquences provenant d'un vaisseau non étudié (Gill, 1985).

3.2. L'effet « aliasing »

Cette limite intervient lors d'utilisation de Doppler pulsé. En effet, avec ce système, toutes les vitesses ne peuvent pas être enregistrées : les vitesses les plus élevées ne sont plus détectées. De plus, en Doppler pulsé, la contrainte est double car la profondeur examinée détermine et limite la fréquence de répétition ou PRF, qui à son tour limite la fréquence Doppler ou la vitesse maximale mesurable sans ambiguïté (V_{max}) encore appelée limite de Nyquist. La vitesse maximale mesurable est d'autant plus haute que la PRF est élevée. Lorsque la PRF est basse, inférieure à deux fois la fréquence Doppler analysée, il se produit sur le graphique une inversion artéfactuelle de la vitesse du flux sanguin. Ce repliement spectral est appelé « aliasing » (Chetboul, et al., 1999).

Pour imager le phénomène, prenons l'exemple d'une caméra dont les images sont déclenchées à une certaine cadence, cette fréquence de déclenchement d'images équivaut à la PRF ou fréquence de répétition des tirs Doppler. Cette caméra filme un objet en rotation sur un disque tournant à une certaine fréquence, équivalent de la **fréquence Doppler (F_d)**. Si les images sont déclenchées tous les quart de tour de l'objet, son sens de rotation ainsi que sa vitesse de rotation sont correctement reproduits. Mais si les images sont déclenchées tous les demi tours, l'objet sera observé en deux points diamétralement opposés sans qu'il soit possible de connaître le sens de rotation du disque. Le mouvement de l'objet restitué par la caméra sera donc ambigu (Chetboul, et al., 1999).

Dans la deuxième situation, la fréquence de déclenchement des images (PRF) est égale à deux fois la fréquence de rotation du disque (F_d) ($PRF = 2 \times F_d$). Il s'agit de la limite maximale de fréquence de rotation du disque mesurable correctement, tel que :

$$F_{dmax} = PRF/2$$

C'est donc la PRF qui fixe la fréquence maximale mesurable et donc la vitesse maximale mesurable (Chetboul, et al., 1999).

De plus, plus la structure est située en profondeur, plus le temps d'aller-retour du signal ultrasonore est long. Comme le signal transmis doit être reçu avant qu'un suivant ne soit émis, la PRF est abaissée. Ceci a pour conséquence d'abaisser la valeur de la vitesse maximale mesurable sans aliasing. En résumé, pour une même fréquence d'émission, plus l'objet se situe profondément, moins la vitesse maximale détectable est élevée (Chetboul, et al., 1999).

De surcroît, sachant que $v = c \times \Delta f / (2 \times F_0 \times \cos\theta)$, la vitesse maximale mesurable sera d'autant plus élevée que F_0 , la fréquence d'émission, sera basse. Pour une profondeur donnée, un transducteur de basse fréquence (2 à 3.5 MHz) permet donc de détecter des vitesses plus élevées qu'un transducteur de plus haute fréquence (5 à 7.5 MHz) (Chetboul, et al., 1999).

Pour s'affranchir de l'effet « aliasing », il s'agit de choisir une PRF au moins égale au double de la fréquence du signal Doppler (Ginther et Matthew, 2004 ; Image 39). De plus, pour augmenter la vitesse maximale mesurable, il est possible aussi d'avoir recours au « mode pulsé à haute PRF », c'est-à-dire que plusieurs paquets d'ondes ultrasonores se propagent en même temps sur toute la longueur du faisceau ultrasonore. L'augmentation de la PRF permet de mesurer des vitesses plus élevées mais la localisation des flux enregistrés est moins précise (Chetboul, et al., 1999). Ce mode sera utilisé préférentiellement pour des zones peu profondes où la vitesse du flux sanguin est importante (Reef et al., 1998 ; Ginther et Matthew, 2004).

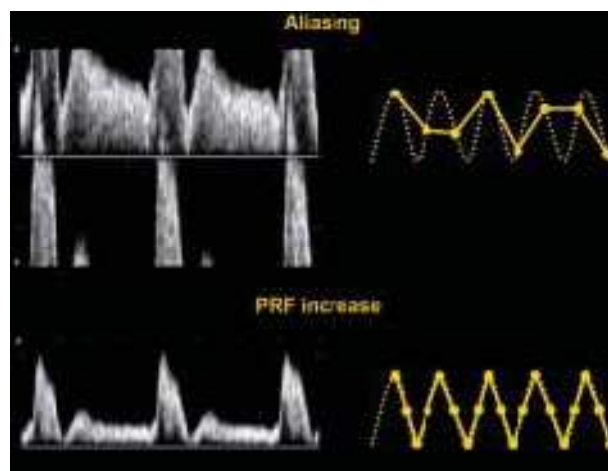


Image 39 - Représentation de l'effet « aliasing » et résolution de l'artéfact par l'augmentation de la PRF (Ginther et Matthew, 2004)

Le mode Doppler couleur étant basé sur le Doppler pulsé, l'«aliasing» est aussi présent avec ce mode. Sur la cartographie établie par ce type d'enregistrement, l'«aliasing» apparaît à partir d'une fréquence Doppler égale à $PRF/2$ et se manifeste par une inversion de couleur. Le flux semble « emprunter » une direction inverse de celle qu'il a réellement. Si la limite de Nyquist est atteinte, une échelle complète de codage est shuntée et une vitesse rétrograde habituellement bleue peut apparaître rouge sombre (Chetboul, et al., 1999).

Cet artéfact constitue une source classique d'erreur d'interprétation des flux. En pratique, lorsqu'un phénomène d'aliasing est constaté (écrêtage de courbe de replis spectral en mode doppler pulsé, inversion de couleur ou mosaïque en mode doppler couleur), les vitesses doivent être mesurées au Doppler continu. En échographie gynécologique, cet artéfact est habituellement géré par les réglages de PRF et le choix d'une sonde de plus basse fréquence (Ginther et Matthew, 2004).

3.3. Le décalage temporel entre l'image bidimensionnelle et la cartographie Doppler

Le mode Doppler couleur associe une image bidimensionnelle à une image Doppler, or ces deux types d'images ne sont pas construites en même temps et sont donc décalées dans le temps. Ce décalage peut parfois devenir important et donner des images aberrantes où le flux sanguin n'est plus contenu dans le vaisseau (Chetboul, et al., 1999).

3.4. Les artéfacts d'images-miroir

Ces artéfacts se produisent fréquemment lors de l'utilisation de gains Doppler élevés ou lorsque l'angle Doppler approche 90° (Ginther et Matthew, 2004). Le spectre obtenu est situé de part et d'autre de la ligne de base. En fonction de la localisation de la porte Doppler, il est toujours possible de distinguer le spectre réel de celui « miroir », car ce dernier est symétrique et de faible intensité par rapport au spectre réel (Reef, et al., 1998).

Après avoir décrit l'échographie Doppler et les problèmes qui peuvent être rencontrés lors de la mise en place d'un tel examen, intéressons nous aux paramètres qui peuvent être évalués grâce à cette technique.

4. Les paramètres étudiés en échographie Doppler

L'anatomie vasculaire et le flux sanguin sont les objets d'étude principaux de l'échographie Doppler.

4.1. La vitesse du flux sanguin

Le flux sanguin est la valeur quantitative la plus importante car il reflète la qualité de l'irrigation sanguine d'un organe ou d'une région. Le flux dans un vaisseau est défini par la quantité de sang passant dans une section donnée du vaisseau pendant un temps donné (Gill, 1985):

$$\text{Flux (cm}^3/\text{s)} = \text{vitesse moyenne (cm/s)} \times \text{aire (cm}^2\text{)}$$

Le flux peut être évalué grâce à la mesure de distribution des vitesses. En effet, la fréquence Doppler est transformée en vitesse, puis un spectre de vitesses du flux sanguin est dessiné à l'écran. L'échelle des vitesses étudiées est réglée par l'opérateur pour minimiser les artéfacts et pour optimiser le signal de l'écran (cas du repliement spectral).

Rappelons aussi que le flux sanguin artériel de tout organe suit les variations synchrones des cycles cardiaques. A partir du spectre, il est possible de mesurer (Figure 19):

- la vitesse maximale du flux au cours du cycle cardiaque étudié, qui correspond au pic de vitesse systolique
- la vitesse minimale du flux au cours du cycle cardiaque étudié, qui correspond à la vitesse de fin de diastole
- la moyenne des vitesses maximales du flux sur plusieurs cycles cardiaques

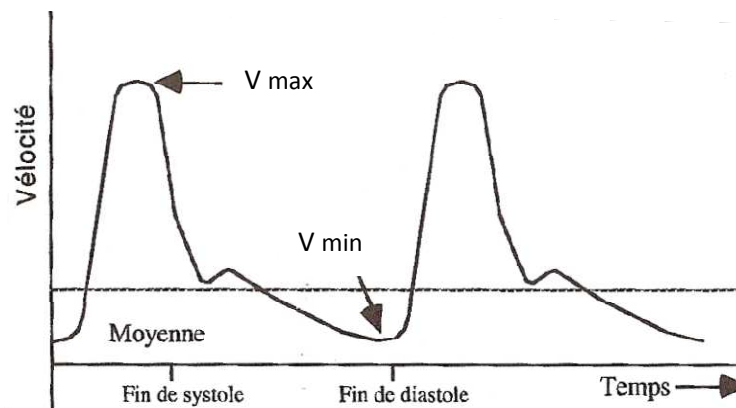


Figure 19 - Représentation schématique d'un spectre de vitesse (Bollwein, et al., 2002 b)

Comme il a été vu dans les principes physiques du Doppler, l'angle d'incidence des ondes ultrasonores (θ) a une importance capitale dans la mesure des vitesses. Ainsi, sur un même vaisseau, des vitesses maximales très différentes peuvent être obtenues en changeant cet angle. Pour minimiser cette erreur, il est conseillé d'utiliser un angle θ compris entre 0 et 20° (Reef, et al., 1998).

D'autre part, il existe différents types de flux dans un vaisseau sanguin : tubulaire (si tout le sang se déplace à la même vitesse), laminaire (si le sang près des parois est plus lent que celui au centre) ainsi que turbulent (si le vaisseau présente des variations de diamètre) (Figure 20). La tendance à l'apparition de turbulences va dépendre de la vitesse, de la viscosité du sang ainsi que du rayon du vaisseau. Cela entraîne alors une mauvaise estimation de la réflectivité du sang et donc de la vitesse (Gill, 1985). L'apparition de turbulences s'accompagne généralement d'un élargissement du spectre des vitesses tout comme lors d'analyse de zones/échantillons où est observée une accélération du flux sanguin (Ginther et Matthew, 2004).

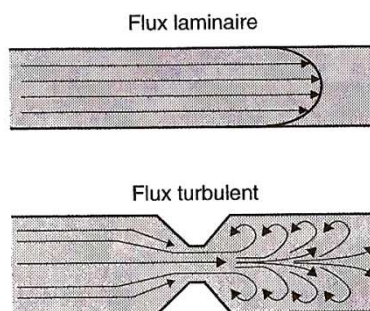


Figure 20 - Flux laminaire et turbulent (Chetboul, et al., 1999)

En résumé, l'analyse du spectre des vitesses nous renseigne sur la perfusion d'un territoire. Un spectre Doppler qui a un large profil systolique qui décroît progressivement vers la fin de la diastole caractérise une pulsatilité lente et indique que le vaisseau alimente un lit vasculaire de faible résistance ; à l'inverse, un spectre Doppler avec un profil systolique « tranchant » et un profil diastolique inversé ou absent indique une résistance périphérique importante (Ginther, et al., 2004).

4.2. Les index de résistance

Ils constituent une alternative à la mesure des vitesses. Ils sont utilisés lorsque l'opérateur souhaite étudier le flux dans des petits vaisseaux tortueux pour lesquels il est impossible de trouver un échantillon rectiligne et pour lesquels l'estimation de l'angle θ s'avère compliquée. Comme ces index sont des rapports de mesures de vitesse, ils sont donc indépendants de la mesure de l'angle Doppler (Ginther et Matthew, 2004). De plus, ces indices dépendent de l'hémodynamique de la zone examinée et pourront renseigner le manipulateur sur d'éventuelles obstructions en amont ou sur l'extension de la perfusion avale (Bollwein, et al., 1998).

4.2.1. L'index de résistivité (IR)

Cet index est aussi appelé index de Pourcelot et est exprimé par la formule suivante :

$$IR=(S-D)/S$$

Où S (ou PSV = peak systolic velocity) représente la vitesse maximale en systole, D (ou EDV = end diastolic velocity) la vitesse minimale ou de fin de diastole.

En considérant que certains facteurs tels que la performance cardiaque, la compliance des vaisseaux, la viscosité sanguine et la pression de perfusion sont sujets à des variations, une diminution de l'index de résistance pourra être associée à une augmentation proportionnelle du flux sanguin (Bollwein, et al., 2000).

En résumé, plus l'IR du flux sanguin étudié est élevé, plus la perfusion des tissus en aval est faible et inversement (Ginther et Matthew, 2004).

4.2.2. L'index de pulsatilité (IP)

Il s'exprime de la façon suivante :

$$IP= (S-D)/ \text{moyenne des vitesses maximales}$$

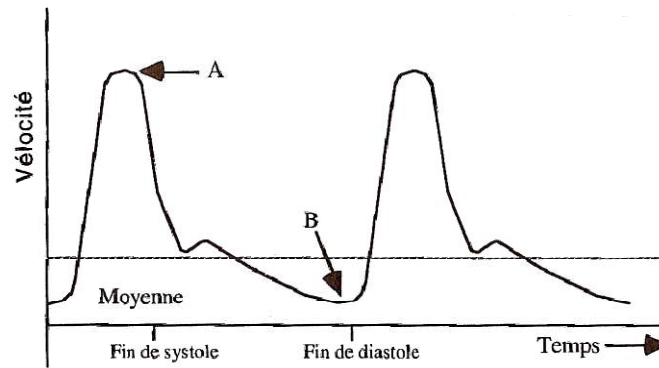
La moyenne des vitesses maximales (ou TAMV = time average maximum velocity) est obtenue généralement sur trois ou quatre cycles cardiaques. En réalité, les valeurs de TAMV sont calculées à partir des valeurs TAMF (time average maximum frequency) obtenues sur le spectre des vitesses du flux sanguin au cours de plusieurs cycles cardiaques. Puis en utilisant la formule :

$$TAMV= TAMF \times c/ 2F \times \cos\theta$$

Où c représente la vitesse de propagation dans les tissus mous, F la fréquence d'émission et θ l'angle entre le faisceau d'ultrasons et la direction du flux sanguin.

Une augmentation de l'IP indique une diminution de la perfusion des tissus (Bollwein et al., 2000 ; Bollwein et al., 2002 ; Ginther et Matthew, 2004).

La Figure 21 résume les méthodes de calcul des index de résistance :



$$\text{Index de résistance} \quad \frac{(A - B)}{A}$$

$$\text{Index de pulsatilité} \quad \frac{(A - B)}{\text{Moyenne}}$$

Figure 21 - Méthode de calcul des index de résistance et de pulsatilité (Bollwein, et al., 2002 b)

4.2.3. Corrélation entre IR et IP

Ces deux index sont fortement corrélés (coefficient de corrélation > 0.9). En effet, leur augmentation ou leur diminution ont la même signification : elles indiquent respectivement une diminution ou une augmentation de la perfusion tissulaire (Ginther et Matthew, 2004).

4.3. La mesure de l'aire colorée

La cartographie obtenue par le mode Doppler couleur permet d'estimer l'étendue de la perfusion locale directement à l'échelle du tissu ou de la structure d'intérêt. Ici la structure est considérée dans son ensemble et non pas seulement au niveau d'une porte échantillon dans un vaisseau donné. Les aires colorées obtenues peuvent être quantifiées de différentes façons. Il est possible d'utiliser une échelle de score allant de 0 correspondant à l'absence de pixels à 4 correspondant à un nombre important de pixels. Il est ensuite possible de calculer un pourcentage de zones colorées par rapport à une structure entière en se déplaçant tout en effectuant des images échographiques de celle-ci. Cette approche est utilisée pour évaluer la perfusion endométriale. Cette quantification reste néanmoins très subjective.

L'étendue de la perfusion peut néanmoins être évaluée de façon plus objective grâce à des logiciels informatiques de traitement d'images (Adobe Photoshop 8.0 puis Image J 1.31). Ils peuvent aider l'opérateur à calculer l'aire de la zone colorée qu'il aura sélectionnée. Néanmoins cela introduit un biais lors de la sélection des zones (Ginther et Matthew, 2004 ; Image 40).

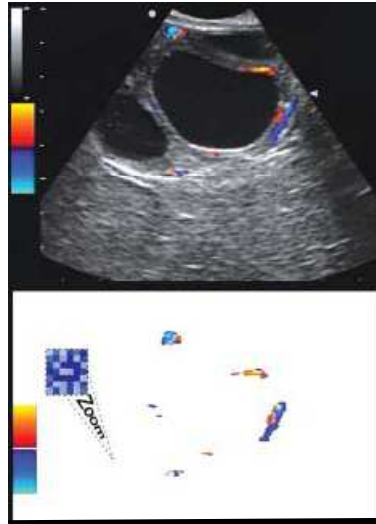


Image 40 - Extraction des aires colorées à partir d'une image échographique obtenue au Doppler couleur (Ginther et Matthew, 2004)

L'avantage important de ces estimations est qu'une structure entière ou une portion peuvent être évaluées en temps réel pendant que les aires colorées sont scannées systématiquement (Ginther et Matthew, 2004).

4.4. La mesure du volume sanguin

Des mesures du volume sanguin peuvent être envisagées. Il s'agit de connaître la mesure précise de l'aire de la section choisie du vaisseau où a été effectuée la mesure de vitesse (A , en cm^2). Ensuite, la mesure des vitesses moyennes (en cm/s) qui a été obtenue et intégrée dans la formule suivante, permettant de calculer le volume sanguin (VOL) en mL/min (Panarace, et al., 2006) :

$$\text{VOL} = (\text{vitesse moyenne} \times A) \times 60$$

Cependant cette mesure de volume est fortement dépendante de la mesure de la vitesse ainsi que de l'aire de la section du vaisseau étudié. Des erreurs minimales de mesure d'angle dans l'estimation de la vitesse ou de mesure d'aire peuvent entraîner des modifications importantes. Une sous estimation de l'aire de 10% entraîne une diminution dans le calcul du volume sanguin de 35% (Panarace, et al., 2006).

Il a été vu que différents paramètres du flux sanguin peuvent être étudiés (vitesse, index, volume) mais les mesures obtenues sont sujettes à de nombreuses variations qui sont dues aux variations physiologiques des vaisseaux ou sont « opérateur-dépendante ».

5. Facteurs influençant la justesse

5.1. L'estimation de l'aire de section du vaisseau étudié

Il s'agit de connaître la mesure précise de l'aire de la section choisie du vaisseau où a été effectuée la mesure de vitesse. Mais cela reste une opération difficile pour les vaisseaux de petite taille, ainsi que ceux soumis à des variations de diamètre avec le temps (activité cardiaque) ou de section inconstante. D'autre part cela dépend de la façon dont est réalisée la mesure et l'angle d'approche utilisé : plus le faisceau d'ondes sera perpendiculaire au vaisseau, meilleure sera l'estimation du diamètre (Gill, 1985).

5.2. L'estimation de l'angle d'approche

L'angle θ ne peut être négligé car il peut engendrer des sous estimations de la vitesse du flux. Si le mode Doppler est intégré au système ultrasonique, l'opérateur va pouvoir mesurer cet angle en plaçant un trait coloré dans l'axe du vaisseau, l'appareil réalisant le calcul de l'angulation entre la sonde et le vaisseau. Ici les erreurs sont surtout dues à l'opérateur quant au placement de cette ligne fictive (Gill, 1985).

5.3. Le choix du volume échantillon

La taille du volume sanguin échantillonné, les courbes et distributions des vitesses dépendent tous de la taille et de la position de la fenêtre. Celle-ci doit être centrée et pas trop large afin de ne pas prendre trop de réflecteurs de vitesses différentes (vaisseaux voisins...) et ne pas être gêné par le mouvement des parois. Or, il a été démontré que pour un angle d'approche donné (entre 30 et 65°), si le volume d'échantillonnage était 20% plus large que le diamètre du vaisseau cela entraînait une surestimation de la vitesse de plus de 5% (Gill, 1985; Reef, et al., 1998).

6. En pratique

Lors d'examen Doppler transrectal, des sondes linéaires ou convexes peuvent être utilisées, la sonde linéaire sera avantageuse pour analyser un champ rectangulaire large et proche de la sonde en une seule vue. La sonde convexe présente un champ en « part de tarte », sa profondeur est réglable et plus facilement orientable dans le rectum confiné (Ginther et Matthew, 2004).

Comme il a été vu, l'effet Doppler est dépendant de l'angle d'incidence entre le faisceau d'ultrasons et la direction du flux sanguin. Par conséquent, l'orientation de la sonde est primordiale pour obtenir des images de qualité. Il est préférable de repérer la direction du flux sanguin grâce à des vaisseaux connus tels que l'aorte. Si l'angle d'incidence obtenu

n'est pas satisfaisant, il faut alors déplacer la sonde ou effectuer une correction avec l'appareil (Bollwein et al., 1998 ; Ginther et Matthew, 2004).

L'angle Doppler peut être obtenu dans les gros vaisseaux (artère ovarienne, utérine) en plaçant un curseur dans la fenêtre choisie avec une section longitudinale, la mesure de l'angle sera ainsi affichée à l'écran. Cela permet à l'opérateur de choisir un angle idéal de positionnement du faisceau ultrasonore et d'obtenir ainsi une vitesse précise du flux (Image 41). Néanmoins, au niveau des ligaments larges ou lorsque les vaisseaux deviennent plus petits et tortueux, ces sections longitudinales s'avèrent difficiles et la vitesse ne pourra être approchée de façon précise : il faudra alors avoir recours au mode Doppler couleur (Ginther et Matthew, 2004).

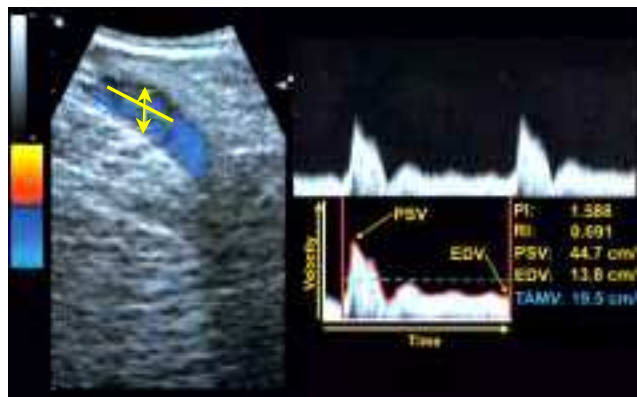


Image 41 - Sélection du volume échantillon au niveau d'une artère et obtention de l'analyse spectrale (Ginther et Matthew, 2004)

En conclusion, il a été vu que l'échographie Doppler était susceptible de nous apporter de nombreuses informations sur le flux sanguin utérin qui sont : la vitesse du flux sanguin, les index de résistance et de pulsatilité renseignant sur les résistances des territoires perfusés en aval, l'étendue de la perfusion grâce aux aires colorées ainsi que le volume sanguin circulant. Le mode Doppler peut donc avoir un impact important dans le diagnostic des capacités reproductives d'une jument en relation avec la vascularisation de l'appareil génital. En effet, nous avons eu l'occasion de souligner l'importance d'une vascularisation optimale de la sphère génitale et l'impact des altérations vasculaires sur la fertilité. Or, comme cette technique permet d'évaluer l'étendue de la perfusion vasculaire d'un organe et notamment de l'utérus. Celle-ci pourrait être utilisée afin de constater si le flux sanguin génital est normal ou perturbé mais aussi d'évaluer la viabilité de l'utérus à recevoir un embryon et de diagnostiquer des probabilités de perte embryonnaire.

B. Apport de l'échographie Doppler dans l'étude du flux sanguin utérin

1. Modalités pratiques

Concernant la méthode, une sonde échographique de 7MHz et un mode Doppler couleur et pulsé sont fréquemment utilisés, avec un filtre haute fréquence de 100 MHz. Comme il a été vu, l'artère utérine naît de l'artère iliaque externe distalement à son origine. Cette dernière peut être identifiée lors de l'examen échographique transrectal en repérant tout d'abord l'aorte, puis en suivant le corps de l'ilium. Ensuite après avoir repéré son origine, un vaisseau de 2 à 6 mm débute distalement et correspond à l'artère utérine (Bollwein, et al., 1998).

Le mode Doppler couleur est alors activé pour aider au repérage. L'analyse spectrale sera obtenue après avoir placé la porte Doppler d'un diamètre de 2 mm dans l'aire colorée et l'activation du mode pulsé (Bollwein, et al., 1998).

En général, deux à trois analyses consécutives des vagues de pulses sont réalisées au niveau des artères utérines ainsi que les mesures des index de résistivité, de pulsatilité mais aussi des mesures de vitesse du flux sanguin. L'augmentation de la valeur de ces index correspond à une constriction du lit vasculaire distal au site de mesure si les conditions vasculaires proximales restent constantes (Bollwein, et al., 1998).

L'artère utérine ipsilatérale au follicule dominant ou au corps jaune voire au conceptus est souvent qualifiée d'artère dominante, alors que la seconde est qualifiée de non dominante (Bollwein, et al., 1998; Bollwein, et al., 2003 a).

Lorsqu'aucune différence significative n'est constatée entre les valeurs mesurées au niveau des artères utérines gauche et droite, une moyenne de leurs valeurs est effectuée et utilisée pour établir d'éventuelles corrélations avec d'autres paramètres (Bollwein, et al., 1998).

Les juments sont observées par échographie Doppler transrectale, le jour 0 correspond à l'ovulation présumée, c'est-à-dire lorsque le follicule dominant n'est plus visualisable par échographie bidimensionnelle (Bollwein, et al., 1998).

2. Variations physiologiques

2.1. Au cours du cycle œstral

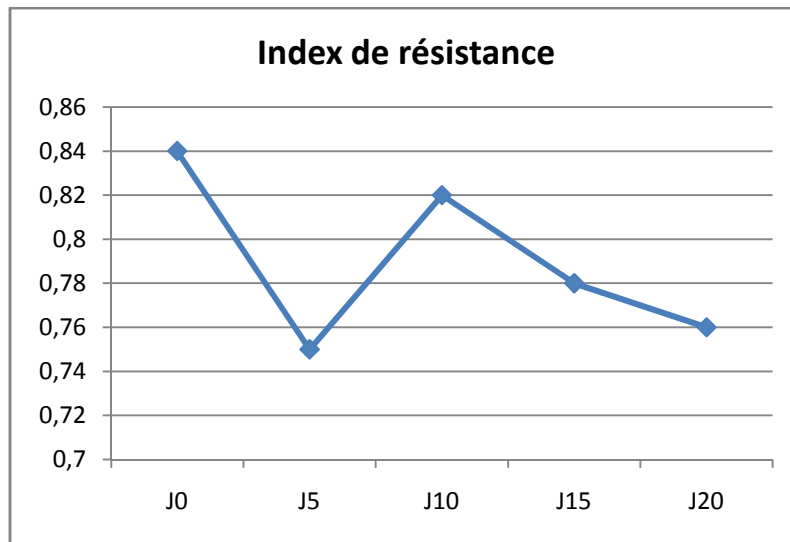
2.1.1. Variations cycliques normales du flux sanguin utérin

2.1.1.1. Mesure de l'index de résistivité (IR)

Bollwein et al. (1998) ont réalisé les premiers travaux sur l'investigation du flux sanguin utérin grâce à l'échographie Doppler chez la jument. Pour cela, une étude a été menée sur un groupe de six juments, composé de deux multipares et quatre maiden, durant 4 cycles œstraux à des moments définis (jours 0, 5, 10, 15 et 20) de février à juin. Cette technique permet à la fois d'obtenir une image échographique classique des vaisseaux sanguins ainsi que des mesures des changements physiologiques et pathologiques du flux sanguin utérin.

Leur premier but était de développer une technique de mesure du flux sanguin de l'artère utérine chez la jument, le second était d'évaluer si le flux sanguin utérin était différent selon les juments, les différents jours du cycle œstral et les différents cycles au cours de la saison sexuelle.

Ils ont pu montrer qu'il n'existait pas de différence significative et une bonne corrélation entre les valeurs des index de résistance IR des artères utérines droite et gauche ($r > 0.94$ et $p < 0.05$). Pour chaque jument, les valeurs de IR les plus importantes étaient observées au jour 0 (ovulation) et 10, et la valeur la plus basse au jour 5. Lors de chaque examen, la valeur IR était donc maximale au jour 0, décroissait jusqu'au jour 5 pour atteindre de nouveau une valeur élevée le jour 10 pour décroître de nouveau jusqu'au 21^e jour du cycle (Graphique 1). Aucune différence n'a été établie entre les valeurs IR d'un cycle à l'autre, montrant ainsi que les mêmes changements interviennent au cours de chaque cycle.



Graphique 1 - Variations de l'index de résistance de l'artère utérine chez la jument
(Bollwein, et al., 1998)

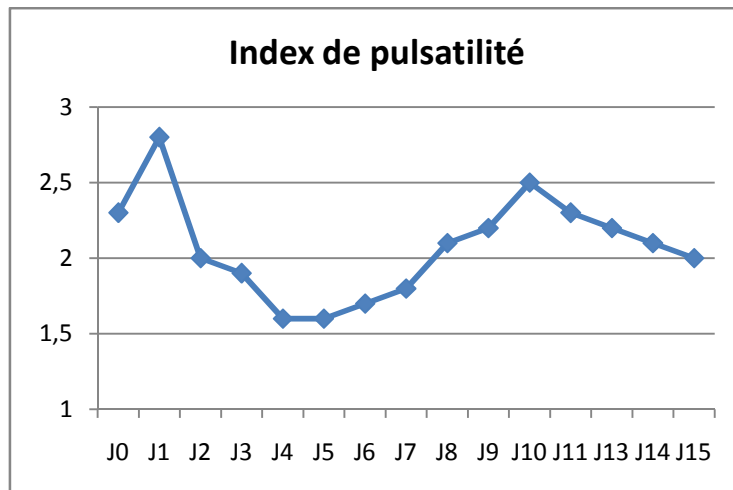
Le facteur jument et jour du cycle ont un effet hautement significatif ($p < 0.0001$) sur les valeurs IR, et interviennent respectivement pour 57% et 26% dans ces variations. Il a été démontré qu'il n'existait pas de différence mesurable dans l'apport sanguin entre chaque corne utérine et qu'aucune influence du côté de l'ovulation n'est présente sur cet apport.

En résumé, entre chaque cycle, un modèle du flux sanguin se répète comme il a été décrit dans d'autres espèces (Ford, et al., 1979) et la chute des IR des artères utérines au cours de la phase lutéale précoce indique une augmentation de la perfusion utérine (Bollwein, et al., 1998).

2.1.1.2. Mesure de l'index de pulsatilité (IP)

Bollwein et al. (2002) ont analysé le flux sanguin utérin et ovarien durant le cycle œstral chez 4 juments. L'examen Doppler pulsé et couleur a été réalisé quotidiennement au cours de deux cycles consécutifs. Le flux sanguin des artères utérines gauche et droite a été examiné grâce à la même méthode qu'énoncée précédemment et les index IP de ces artères ont été mesurés (Bollwein, et al., 2002 b).

Cette étude a confirmé les résultats obtenus précédemment (Bollwein, et al., 1998), où des variations du même ordre (valeurs des index maximales et minimales) sont retrouvées pour chaque cycle. De même, il a été montré que la résistance à la circulation utérine via la mesure de l'index IP était la plus importante un jour après l'ovulation, puis déclinait entre les jours 2 et 5 pour remonter graduellement jusqu'au 11^e jour et ensuite décroître progressivement jusqu'à l'œstrus suivant (Bollwein et al., 2002 b ; Graphique 2).



Graphique 2 - Variations de l'index de pulsativité au cours du dioestrus chez la jument (Bollwein, et al., 2002 b)

La résistance à la circulation utérine est donc maximale juste après l'ovulation puis décroît en début de période dioestrale pour atteindre à nouveau une valeur importante avant l'entrée dans un nouveau cycle œstral. L'apport vasculaire est donc favorisé dans les jours suivants l'ovulation (Bollwein, et al., 2002 b).

2.1.1.3. Mesure des vitesses de flux sanguin

Bollwein et al. (2002) ont démontré que le flux sanguin utérin présentait des variations caractéristiques quant à sa vitesse lors du cycle œstral. Ils ont retrouvé des valeurs de TAMV (moyenne des vitesses maximales) basses les jours 0, 1 et 11 puis des valeurs de TAMV élevées les jours 5, 15 et 21.

Il est donc bien retrouvé des vitesses de flux sanguin élevées quand la résistance à la circulation utérine est minimale, ceci reflétant une meilleure perfusion utérine (Bollwein, et al., 2002 a).

2.1.1.4. Relation avec le flux sanguin des artères ovariennes

Concernant les mesures effectuées au niveau de l'artère ovarienne, aucune corrélation significative entre les valeurs des index IP des artères utérines et de l'artère ovarienne dominante n'a pu être mise en évidence (Bollwein, et al., 2004 c). Aucun effet du côté de l'ovulation ne semble donc jouer un rôle dans l'apport sanguin utérin (Bollwein, et al., 1998).

2.1.2. Variations des vaisseaux utérins

Des études menées chez la brebis ont permis de constater également un modèle de variation du flux sanguin au niveau du lit vasculaire utérin. Etant donné la stabilité de la pression artérielle systémique au cours du cycle œstral, l'augmentation du flux sanguin utérin serait donc permise par une chute de la résistance vasculaire utérine probablement suite à une vasodilatation, ceci d'après la formule (Sprague, et al., 2009) :

$$\text{Résistance vasculaire utérine (RVU)} = \frac{\text{Pression artérielle systémique moyenne}}{\text{flux sanguin utérin moyen}}$$

Les mesures de résistance évaluent l'opposition à un flux sanguin stable et constant au niveau d'un réseau vasculaire alors que les mesures d'impédance vasculaire évaluent l'opposition à un flux sanguin pulsatile et reflètent plus le travail réel requis pour perfuser un territoire. Grâce à la mesure de l'impédance caractéristique (Z_c) (mesurée au niveau de l'artère iliaque interne via un cathéter fémoral) qui est directement proportionnelle à l'épaisseur du conduit artériel proximal au point de mesure et inversement proportionnelle à son diamètre interne, Sprague et al. (2009) ont pu mettre en évidence, lors de la phase folliculaire chez la brebis, une légère augmentation de diamètre au niveau des artères utérines sans changement dans leur élasticité. Cependant la durée de la phase folliculaire étant relativement courte chez cette espèce, il est donc possible que ce type de modifications puisse être augmenté avec une phase folliculaire plus longue. En réalité, ils ont démontré que le ratio œstradiol/progestérone chez la brebis pendant le cycle œstral permettait de vasodilater les artères de petit diamètre mais n'avait pas d'effets sur la taille ou la dureté des conduits artériels de taille plus importante (Sprague, et al., 2009).

Les changements au niveau des artères de diamètre important n'ont pas été réellement investigués mais des variations dans l'hémodynamique pulsatile au cours du cycle pourraient être la conséquence de variations au niveau de la structure et de la fonction des conduits artériels (Sprague, et al., 2009).

Chez la jument, Hendriks et al. (2006) ont démontré que le diamètre et l'aire de la section étudiée des artères utérines ne changeaient pas de façon significative depuis le milieu jusqu'à la fin du diœstrus (Hendriks, et al., 2006).

En conclusion sur l'étude du flux sanguin utérin lors du cycle œstral chez la jument, il sera retenu qu'un modèle du flux sanguin utérin (résistance à la circulation utérine faible et donc perfusion importante quelques jours après l'ovulation puis remontée de cette résistance au cours du diœstrus avant l'entrée dans un nouveau cycle) se répète au cours de la période sexuelle tant qu'il n'y a pas de fécondation. La chute des valeurs IR et IP dans les

artères utérines au cours de la phase lutéale précoce indique une augmentation de la perfusion utérine au moment où l'ovocyte fécondé, s'il est présent, devrait passer dans l'utérus (Bollwein, et al., 1998). Il semble que l'environnement utérin se prépare à cette éventuelle gestation via une augmentation de perfusion utérine, susceptible d'être évaluée par l'échographie Doppler.

2.2. Au cours du cycle fécondant

2.2.1. Variations retrouvées en début de gestation

Bollwein et al. (2003) ont comparé les flux sanguins utérins entre le cycle œstral et le début de la gestation chez la jument et ont déterminé s'il existait des variations individuelles dans la perfusion utérine entre les juments gestantes.

Cinq juments, dont deux multipares et deux nullipares ont été examinées par échographie Doppler au cours de deux cycles œstraux consécutifs. Au cycle suivant, toutes les juments ont été inséminées avec de la semence d'étalon fertile jusqu'à l'ovulation. Au 29^e jour de gestation, la lyse embryonnaire était provoquée par une injection d'analogue de prostaglandine F2 α .

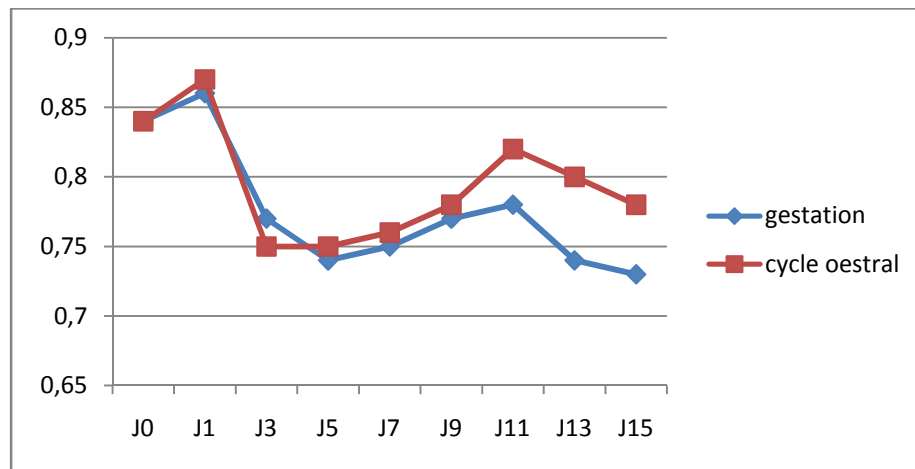
Le cycle œstral suivant était ignoré puis le suivant exploité en utilisant toujours le même schéma de suivi échographique jusqu'au 29^e jour de gestation. Les deux artères utérines étaient examinées par échographie avec un mode Doppler pulsé, les jours 0 et 1 du premier cycle œstral puis tous les deux jours jusqu'au jour -1 du cycle suivant et ensuite tous les deux jours jusqu'au 29^e jour de gestation.

Les paramètres mesurés étaient les moyennes des vitesses (TAMV) et l'index de résistance (IR). Etant donné que le conceptus n'est pas visualisable par échographie avant le 11^e jour post-ovulation, les moyennes des paramètres des artères utérines ont été calculées et comparées aux moyennes correspondantes des juments cyclées non gestantes jusqu'au 9^e jour.

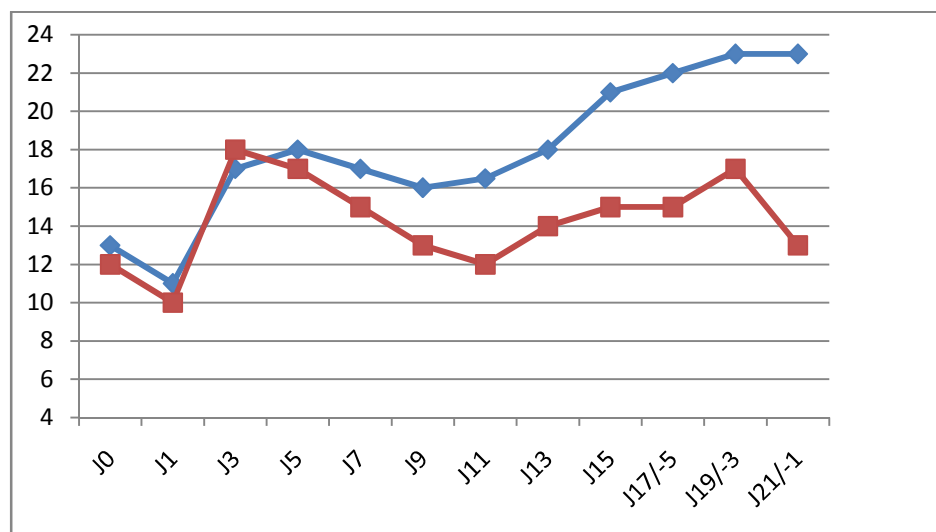
A partir du 11^e jour de gestation, les deux artères utérines ont été différenciées en ipsilatérale et controlatérale vis-à-vis de la localisation du conceptus pendant l'examen échographique. Les paramètres du flux sanguin de chaque artère utérine ont été calculés et comparés séparément avec les moyennes correspondantes retrouvées chez les juments cyclées. Le but était de comparer l'influence de la jument, de la gestation et du jour de gestation sur les valeurs de TAMV et de IR.

La comparaison entre les moyennes des valeurs de TAMV et de IR au cours du cycle œstral et lors du début de gestation n'a pas montré de différences jusqu'au 11^e jour post-ovulation. A partir de ce 11^e jour, les valeurs de TAMV étaient plus hautes et les valeurs de IR plus basses au niveau des deux artères utérines chez les juments gestantes en comparaison

à la moyenne des valeurs des deux artères utérines chez des juments cyclées non gestantes (Graphiques 3 et 4).



Graphique 3 - Comparaison des variations de l'index de résistance mesuré au niveau des artères utérines en début de gestation et au cours d'un cycle œstral chez la jument (Bollwein, et al., 2003 a)



Graphique 4 - Comparaison des variations de TAMV (cm/s) des artères utérines en début de gestation et au cours du cycle œstral chez la jument (Bollwein, et al., 2003 a)

Du jour 15 au jour 29 de gestation, des différences ($p < 0,05$) dans le flux sanguin entre les artères ont été observées, avec des valeurs de TAMV plus hautes (augmentant de façon bien distincte) et des valeurs de IR plus basses (diminuant avec un déclin franc) dans l'artère ipsilatérale au conceptus, dite artère dominante.

Les facteurs « jument » et « jour de gestation » ont montré un effet hautement significatif ($p < 0.0001$) sur les valeurs de IR et de TAMV. L'effet « jument » est évalué respectivement à 60 et 53 % sur les valeurs de IR et de TAMV, l'effet « jour de gestation » est évalué respectivement à 29 et 34% sur ces mêmes valeurs. Mais il n'a pas été trouvé de différences entre les deux gestations pour une même jument ($p > 0.05$) : des différences dans l'amplitude de la vitesse du flux sanguin et dans la résistance ont été observées entre les juments mais pas entre deux gestations pour une même jument (Bollwein, et al., 2003 a).

2.2.2. Variations du flux utérin et ombilical lors de la gestation

Bollwein et al. (2004) ont étudié le flux sanguin utérin et ombilical pendant la gestation (durée 46-48 semaines) chez la jument. Durant la gestation, le besoin croissant en nutriments du fœtus en croissance est en effet assuré au départ par une augmentation du flux sanguin utérin (Ford, et al., 1979).

2.2.2.1. Flux utérin

Quatre juments, deux âgées multipares et deux jeunes maiden, ont été inséminées par la semence d'un étalon fertile. Le flux sanguin utérin a été étudié dans les deux artères utérines toutes les quatre semaines depuis la deuxième semaine de gestation jusqu'à la parturition. Les variables mesurées étaient l'index de résistance, ainsi que le volume sanguin reflétant la perfusion utérine et calculé de la façon suivante (Bollwein, et al., 2004 b):

$$VOL = TAMV \times \pi \times (DI \times 0.1/2)^2 \times 60$$

où VOL représente le volume sanguin en mL/min, TAMV la moyenne des vitesses maximales en cm/s et DI le diamètre de l'artère utérine en mm

Aucune différence significative n'a été constatée entre les index IR et les valeurs de VOL entre les artères utérines ipsilatérale et controlatérale au conceptus. Les index IR ont diminué de plus de la moitié pendant la gestation, et une relation entre la valeur de IR et la semaine de gestation (x) a pu être modélisée :

$$IR = 0.938 - 0.150 \ln(x)$$

Les valeurs de VOL ont augmenté au cours de la gestation donnant la relation suivante :

$$VOL = 7.621 (x)^{2.157}$$

Le flux sanguin utérin a aussi été évalué de façon qualitative par le nombre de « notchs » observés sur le spectre Doppler en début de diastole. Il s'agit d'un phénomène qui se produit lorsqu'il y a une diminution dans la vitesse du flux sanguin juste après la

systeme. Ce « notch » est le résultat de la réflexion du spectre attribuable à la disproportion de résistance au flux sanguin entre les artères utérines examinées et le lit capillaire distal (Bollwein et al., 2004 b ; Image 42). Il est présent quand le lit vasculaire placentaire n'est pas encore suffisamment développé et que les changements au niveau des artères utérines (distension, augmentation de vitesse) ne sont pas encore achevés. Puis la vascularisation placentaire se met en place, la résistance au flux sanguin utérin diminue, ce qui contribue à diminuer la taille du « notch ». La disparition de celui-ci coïncide avec la formation achevée et fonctionnelle du placenta (Panarace, et al., 2006).

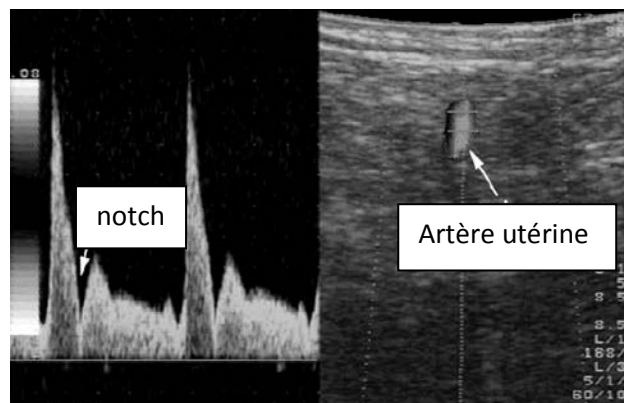


Image 42 - Flux sanguin de l'artère utérine ipsilatérale au conceptus lors de la deuxième semaine de gestation visualisé grâce à l'échographie et analysé avec le mode Doppler (Bollwein, et al., 2004 b)

Un notch diastolique précoce peut être observé dans le spectre Doppler des artères utérines chez la jument dès la 14^e semaine puis disparaît progressivement entre les semaines 18 et 26 de gestation (Bollwein, et al., 2004 b).

Suite à ces différentes observations, une des raisons possibles avancée pour expliquer les variations du flux sanguin au cours de la gestation pourrait être l'altération du système de vascularisation suite à la placentation. En effet, la diminution marquée des index IR lors des premières semaines de gestation est probablement due aux changements dans la microvascularisation qui s'opèrent entre la 6^e et la 10^e semaine de la gestation (Allen, 1988).

En médecine humaine, la disparition du « notch » précoce diastolique sur le spectre Doppler des artères utérines est considérée comme un signe de diminution de la résistance périphérique au flux sanguin utérin et est concomitant à l'invasion du trophoblaste. Cette même disparition chez la jument (entre les 18^e et 26^e semaines) pourrait être liée aux changements de la vascularisation au niveau des microcotylédons (qui se produit jusqu'à la 22^e semaine) (Silva, et al., 2005). Une autre raison avancée pourrait être l'augmentation du besoin nutritionnel du fœtus en croissance : le débit sanguin utérin augmente en effet progressivement au cours de la gestation en adéquation avec les besoins du conceptus (Bollwein, et al., 2004 b).

2.2.2.2. Flux ombilical

Lors de cette même étude (Bollwein, et al., 2004 b), les examens du flux sanguin ombilical ont été menés toutes les deux semaines, depuis la 20^e semaine de gestation jusqu'à la parturition. Le flux sanguin ombilical était visualisé en position proximale 2 à 5 cm à la jonction de l'ombilic avec le placenta.

Seules les valeurs de IR ont été calculées étant données les circonvolutions de ce type d'artères et l'impossibilité de mesurer l'angle θ ainsi que d'« approcher » correctement la sonde.

Il a été observé que la résistance au flux sanguin dans l'artère ombilicale diminuait jusqu'à la moitié de la gestation pour atteindre un niveau bas et enfin augmentait dans les dernières semaines précédant le poulinage.

Une relation significative ($p < 0.0001$) existe entre la semaine de gestation et l'index IR des artères ombilicales. Aucune relation n'a pu être établie entre les changements des valeurs IR des artères ombilicales et les valeurs de VOL mesurées au niveau des artères utérines. Les variations de ces valeurs IR sembleraient être expliquées par un changement dans la circulation sanguine du fœtus notamment au niveau de sa pression sanguine (Bollwein, et al., 2004 b).

En conclusion sur le flux sanguin utérin chez la jument lors de la gestation et notamment en début de gestation dans le cadre de notre sujet, l'échographie Doppler a montré que de véritables différences étaient constatées par rapport au cycle non gestant à partir du 11^e jour post-ovulation. En effet, à partir de cette période le flux sanguin est beaucoup plus important au niveau des deux artères utérines. Ce n'est qu'une fois que la vésicule sera fixée, vers le 15^e jour, qu'il sera observée une circulation sanguine plus importante au niveau de la corne gravide. Lors de la poursuite de la gestation, l'apport sanguin utérin est réalisé par les deux artères de façon identique avec un débit très important. A nouveau, l'importance d'une vascularisation optimale de la sphère génitale est constatée. L'échographie Doppler peut donc trouver sa place dans l'étude des variations normales voire anormales du flux sanguin utérin car des profils de vascularisation semblent avoir été déterminés lors du cycle œstral et de la gestation.

2.3. Variations individuelles

2.3.1. Facteur jument

Bollwein et al. (1998) ont montré que le facteur jument possédait un effet hautement significatif sur les valeurs des index de résistance des artères utérines ($p < 0.0001$) et intervenait à hauteur de 57% (Bollwein, et al., 1998).

2.3.2. Facteur âge

Ferreira et al. (2008) ont déterminé les effets de l'âge sur le spectre des vitesses du flux sanguin des vaisseaux mésométriaux à savoir ceux qui se trouvent dans les ligaments larges au niveau de leur attache à la base des cornes utérines. Les valeurs EDV (Vmin) et TAMV étaient plus hautes chez les juments âgées que chez les jeunes juments. Une corrélation positive a été établie entre ces deux valeurs et l'âge ($r = 0.44$ avec les valeurs de TAMV et $r = 0.38$ avec les valeurs de EDV).

L'âge induit des modifications structurales et architecturales qui se traduisent par une augmentation de la dureté et une diminution de la distension des parois artérielles d'où une augmentation de la vitesse du flux sanguin mésométrial (EDV et TAMV augmentés) sans modification de perfusion utérine et de résistance au flux sanguin utérin (Ferreira, et al., 2008).

Grüniger et al. (1998) ont montré que la sévérité des angiopathies artérielles chez la jument est associée au nombre de gestations mais aussi à l'âge. Une résistance à la circulation utérine plus importante est en effet rapportée chez les juments multipares nécessairement plus âgées contrairement aux nullipares (Bollwein, et al., 1998). La perte d'élasticité des parois artérielles constituent une altération fréquente chez ces juments âgées multipares (Grüniger, et al., 1998). Néanmoins, les lésions vasculaires sévères et destructrices sont rares et observées chez les juments multipares ayant eu au moins cinq poulains (Newcombe et Wilson, 2005).

2.3.3. Facteur parité

Les juments âgées multipares présentent une plus haute résistance vis-à-vis du flux sanguin utérin. Les valeurs des index IR y sont beaucoup plus élevées que chez les nullipares au cours du cycle œstral. L'hypothèse d'une dégénérescence vasculaire retrouvée classiquement chez les juments âgées a alors été avancée (Bollwein, et al., 1998). En effet, des études histomorphologiques ont confirmé le fait que les variations morphologiques des vaisseaux lors de la gestation (croissance artérielle, remodelage de la paroi des vaisseaux) et de l'involution post-partum résultent en des changements vasculaires progressifs. Au fur et à

mesure des gestations, l'architecture de la paroi des vaisseaux ne se rétablit plus à son état d'origine, laissant place progressivement à de la sclérose (Grüninger, et al., 1998).

Concernant les variations architecturales des vaisseaux, il a été montré chez la brebis, que le ratio œstradiol/progestérone pendant le cycle œstral faisait varier la résistance des artères utérines et non pas le conduit en lui-même. Cependant, pendant la gestation, à la fois la résistance et la morphologie des conduits artériels se trouvent modifiées. La gestation engendre en effet des dilatations et des remodelages des petites et grandes artères, alors que le cycle œstral n'engendre que la dilatation de petites artères. Donc le ratio œstradiol/progestérone permet la vasodilatation des artères lors d'état non gestant mais n'a pas d'effet sur la taille ou la dureté des conduits artériels. La gestation quant à elle cause des vasodilatations et des remodelages importants incluant des diminutions de raideur des conduits artériels et l'augmentation de leur taille, ceci affectant l'hémodynamique pulsatile utérine (Sprague, et al., 2009).

2.4. Après divers traitements

2.4.1. Traitement à base de PGF2 α ou de hCG

Hendriks et al. (2006) ont examiné les effets de l'administration de prostaglandine F2 α (PGF2 α) et de human chorionic gonadotrophin (hCG) 7 jours après l'ovulation sur le flux sanguin ovarien et utérin. Le flux sanguin des artères utérines et ovariennes de 10 juments a été monitoré par échographie Doppler couleur et pulsé, permettant ainsi la mesure de l'index de résistance, de la vitesse du flux sanguin ainsi que du diamètre et l'aire de la section choisie.

Au 7^e jour post-ovulation, les juments ont reçu de façon randomisée un traitement à base de 375 μ g d'analogue de prostaglandine (Estrumate[®]) ou à base de 3000 UI d'hCG (Chorulon[®]) connu pour son effet LH-like. Suite à ces administrations, des mesures du flux sanguin ont été réalisées à +0.5, +2, +12, +24, +48, +72, +96, +144, +192, et +240 heures.

Les index de résistance n'ont pas varié d'une artère à l'autre ainsi que dans le temps jusqu'à ce qu'ils commencent à décliner 13 jours après ovulation.

Le flux sanguin des artères ovarienne et utérine ipsilatérales au corps jaune a montré un début de diminution 30 minutes après l'administration de PGF2 α , suivi par une augmentation de +2 heures à +12 heures pour finir par une diminution à +24 jusqu'à +72 heures. L'administration d'hCG n'a pas eu d'effet sur la circulation sanguine utérine. Cette molécule peut cependant provoquer chez la jument, lors d'une administration en fin de dioestrus ou en début de gestation, une lutéolyse en stimulant la sécrétion endométriale de PGF2 α (Allen, 1988). Les effets obtenus avec la PGF2 α n'ont donc pas été reproduits avec l'hCG, ce qui laisse à penser que son administration était trop précoce dans la phase dioestrale (Hendriks, et al., 2006).

En conclusion, l'administration d'un analogue de PGF2 α après l'ovulation est accompagnée par des changements dans la vascularisation utérine et surtout ovarienne pour initier la lutéolyse. Une vasoconstriction de l'artère ovarienne ipsilatérale au corps jaune et des changements dans le flux sanguin du tractus génital, pour aider probablement à l'élimination de produits « déchets », ont été observés.

2.4.2. Traitement à base d'acide acétylsalicylique (asa) et ou de captopril

Bollwein et al. (2004) ont déterminé les effets d'un anticoagulant, l'acide acétylsalicylique (asa) et d'un vasodilatateur, le captopril, sur la perfusion utérine et ovarienne chez des juments cyclées.

Du jour 1 au jour 11 (le jour 0 correspondant au jour où l'ovulation est visualisée par échographie), cinq juments ont reçu de façon bi quotidienne par voie orale 2500mg d'un placebo à base de lactose, ou 2500mg d'asa ou 50mg de captopril (quantités correspondantes aux doses anti-inflammatoires ou aux traitements des insuffisants cardiaques chez le cheval). L'échographie Doppler couleur et pulsé a été utilisée pour examiner chaque jour les artères utérines ainsi que l'artère ovarienne ipsilatérale au corps jaune. La résistance au flux sanguin a été évaluée quotidiennement de façon semi quantitative à l'aide de la mesure de l'index IP.

L'administration d'asa ou de captopril a entraîné une diminution de la moyenne des valeurs des index IP des deux artères utérines chez toutes les juments traitées contrairement à celles ayant reçu le placebo avec des valeurs respectivement de 25% et de 13% ($p < 0.05$).

En conclusion, l'asa et le captopril améliorent la perfusion utérine et ovarienne chez les juments cyclées avec des effets plus prononcés et durables de l'asa. D'autres études complémentaires pourraient être entreprises afin d'établir si la fertilité des juments subfertiles pourrait être améliorée par l'asa (Bollwein, et al., 2004 a).

2.4.3. Traitement de super-ovulation dans l'espèce bovine

Honnens et al. (2008) ont évalué le flux sanguin utérin chez des vaches ayant reçu un traitement à base de gonadotrophines et ont corrélé ce flux à la réponse ovarienne et aux niveaux plasmatiques d'hormones stéroïdiennes. L'échographie Doppler couleur a été testée afin de savoir si elle pourrait être un outil prédictif du rendement embryonnaire.

Dans l'espèce bovine, la variation du nombre d'embryons récoltés lors de programme de super-ovulation est attribuée à un environnement utérin de faible qualité et une faible réceptivité endométriale (Panarace et al., 2006). En médecine humaine, les femmes qui suivent un traitement à base de gonadostimulines avant un transfert embryonnaire ont moins de chances de concevoir si elles présentent un environnement utérin peu réceptif.

C'est pour ces raisons que l'échographie Doppler a été utilisée afin d'évaluer la réceptivité endométriale en s'intéressant à la résistance au flux sanguin utérin. En effet, les femmes ayant des index IR et IP bas lors de tels programmes, ont un meilleur taux de réussite à l'insémination artificielle que celles présentant des valeurs d'index élevées (Jokubkiene, et al., 2006).

Le cycle œstral de 42 vaches a été synchronisé en administrant de la prostaglandine F2 α au cours du diœstrus suivi d'une injection de GnRH 48 heures plus tard (jour de l'injection = jour 0). Le 10^e jour, une injection d'équine chorionic gonadotrophin (eCG) (2750 UI) a été donnée afin de stimuler la croissance folliculaire. Le 13^e jour, la lutéolyse a été induite par une injection de PGF2 α et les vaches ont été inséminées artificiellement à 48, 60 et 72 heures après cette injection. Le 23^e jour une récolte d'embryon a été pratiquée. Des examens Doppler des artères utérines ont été réalisés avant chacune de ces interventions. Les paramètres d'étude du flux sanguin mesurés étaient l'index IP et le volume sanguin.

Les résultats de l'étude montrent une augmentation distincte du volume sanguin utérin et une diminution marquée des index IP chez les vaches ayant subi un traitement à base de gonadostimulines dans le but d'induire une super ovulation. Cette augmentation de perfusion utérine est souvent retrouvée chez les femmes suivant un programme d'insémination artificielle sous stimulation hormonale (Engmann, et al., 1999). Elle serait attribuée aux effets de la stimulation ovarienne et donc au développement des follicules et à leur production d'œstrogènes qui agirait comme vasodilatateur majeur au niveau des vaisseaux utérins (Honnens, et al., 2008).

Après avoir étudié l'évolution de la vascularisation utérine au cours de divers traitements, il a été vu que celle-ci était sujette à des modifications. Ces traitements qui pourraient par la suite être éventuellement utilisés afin de modifier la perfusion utérine. Intéressons nous à présent à la façon dont cette perfusion est modifiée de façon physiologique et quels sont les conséquences d'un mauvais fonctionnement de ces mécanismes régulateurs.

3. Facteurs impliqués dans la régulation du flux sanguin utérin

3.1. Hormones stéroïdiennes

Chez la jument et d'autres espèces, le stade du cycle œstral affecte les circulations sanguine utérine et ovarienne (Ford et al., 1979 ; Ford et al., 1981 ; Bollwein et al., 2002). Une administration exogène d'hormones stéroïdiennes résulte ainsi en une augmentation de la perfusion utérine (Dickey, 1997).

Bollwein et al. (2002) ont examiné la circulation utérine au cours des cycles œstraux grâce à la technologie Doppler et ont relié les changements d'apport vasculaire avec les concentrations d'hormones stéroïdiennes circulantes (Bollwein, et al., 2002 b).

Une corrélation négative entre la résistance à la circulation utérine et les taux plasmatiques d'œstrogènes pendant l'œstrus a été mise en évidence ($r=-0.21$; $p<0.05$). Les œstrogènes augmentent particulièrement au cours de l'œstrus pendant que les index IP diminuent. Perrot-Applanat et al. (1988) ont démontré la présence de récepteurs aux œstrogènes dans la paroi des artères utérines et la relation directe entre les œstrogènes et leur effet hémodynamique vasodilatateur. Cependant, pendant le dioestrus, aucune corrélation entre la résistance au flux sanguin utérin et la concentration en œstrogènes n'a pu être mise en évidence. Alors que des changements notables sont constatés au niveau de la résistance vasculaire utérine (chute des index IR en fin de dioestrus), la concentration de cette hormone se trouve à des valeurs basses. Ceci montre que d'autres composants agissant sur la régulation de la vascularisation doivent probablement intervenir (Bollwein, et al., 1998; Bollwein, et al., 2002 b).

Par ailleurs, aucune corrélation n'a été prouvée entre le niveau plasmatique de progestérone et l'apport sanguin utérin, contrairement à la corrélation négative existante entre ces deux paramètres découverte chez d'autres espèces, telles que les espèces bovine, ovine et porcine (Ford, et al., 1979). En effet, à la différence de l'espèce équine, où sont constatés des changements cycliques du flux sanguin utérin au cours du dioestrus, chez ces espèces, ce flux reste à un niveau bas durant toute cette période d'imprégnation progestéronique. Chez la jument, la progestérone ne semble donc pas interférer de façon notable avec l'effet vasodilatateur des œstrogènes (Bollwein, et al., 2002 b).

3.1.1. Administration exogène d'hormones stéroïdiennes

En médecine humaine, il existe une association négative entre la résistance au flux sanguin et la fertilité. Les femmes en attente d'un transfert d'embryon sont donc le plus souvent placées sous traitement à base d'œstrogènes et de progestagènes afin d'améliorer la perfusion utérine et ovarienne ainsi que la réussite de l'implantation (Ardaens, et al., 2002).

Bollwein et al. (2004) ont déterminé l'effet d'un tel traitement hormonal sur la perfusion génitale chez des juments cyclées dans le but de « relancer » une vascularisation correcte de la sphère génitale (Bollwein, et al., 2004 c).

L'étude a porté sur cinq juments, dont 2 multipares et 3 maiden examinées quotidiennement au cours de trois cycles œstraux. Lors du premier cycle, aucun traitement n'a été prescrit. Lors du deuxième cycle, elles ont reçu par voie intramusculaire du benzoate d'œstradiol (5 mg) les jours 0 (ovulation), 5 et 10. Au cours du troisième cycle, elles ont reçu

un traitement à base d'altrenogest (Regumate® 0.044mg/kg) par voie orale du jour 0 au jour 14.

La durée du cycle des juments traitées à l'altrenogest s'est révélée plus longue que les deux autres cycles.

Les différences constatées avec un traitement à base de benzoate d'œstradiol sont :

- une chute des valeurs IP au jour 1, c'est-à-dire un jour après traitement, contrairement à l'augmentation un jour après ovulation chez les juments non traitées
- les jours suivant les valeurs IP restent constantes
- aucun effet du traitement aux jours 5 et 10
- le reste du cycle suit les mêmes variations mais la moyenne des valeurs IP reste tout de même plus haute au cours de l'œstrus et du diœstrus que celle des juments non traitées

Les différences constatées avec un traitement à base d'altrenogest sont les suivantes :

- les valeurs IP des juments traitées sont plus hautes que les non traitées
- les différences sont plus prononcées des jours 4 à 10 ainsi que pendant l'œstrus (jour -6 à 0)

En conclusion, les juments ayant reçu une dose de benzoate d'œstradiol ont présenté des valeurs IP plus basses un jour après la première administration. Néanmoins l'administration de benzoate d'œstradiol aux jours 5 et 10 n'a pas semblé avoir d'effets, ce qui est surprenant sachant que la quantité des récepteurs endométriaux aux œstrogènes est importante à ce stade du cycle (Bollwein, et al., 2004 c). Une explication possible peut se trouver dans le fait que la molécule utilisée possède une demi-vie plus longue que la molécule physiologique, à savoir le 17- β œstradiol, et aurait donc un effet plus durable. Perrot-Applanat et al. (1988) ont démontré chez la lapine que des doses d'œstrogènes élevées résulte en une diminution dose-dépendante de la stimulation des récepteurs présents dans les vaisseaux utérins. Ceci pourrait expliquer l'absence de réponse au traitement aux jours 5 et 10 chez les juments étudiées.

Le traitement à base de progestagènes augmente significativement les valeurs des index IP au cours du traitement mais aussi lors de l'œstrus suivant. Cette administration de progestérone entrainerait la diminution de l'expression des récepteurs aux œstrogènes, ce qui pourrait confirmer la diminution de la perfusion utérine même après l'arrêt de ce type de thérapie (Bollwein, et al., 2004 c).

3.1.2. Mécanisme d'action des hormones stéroïdiennes

3.1.2.1. Récepteurs hormonaux

Afin d'évaluer la régulation de la réponse aux œstrogènes, une étude a été menée par Bollwein et al. (2002) sur l'expression de leurs récepteurs.

Cinq juments ont été examinées au cours d'un cycle œstral, les jours 0 (ovulation), 1, 5, 11, 15 lors de la phase diœstrale et le jour 21 pendant l'œstrus, ces jours correspondant aux jours « clefs » de variations (Bollwein, et al., 2002 b). Chaque artère utérine a été examinée au Doppler couleur et pulsé. L'analyse du flux sanguin a été permise par la mesure de la moyenne des vitesses maximales (TAMV). Des échantillons sanguins et des biopsies utérines ont été prélevés après chaque examen échographique. La concentration plasmatique en œstrogènes a aussi été évaluée. L'ADN total a été extrait à partir des biopsies, puis une amplification par RT-PCR suivi d'une quantification a permis d'isoler les récepteurs aux œstrogènes α et β .

Les valeurs de TAMV ont été basses les jours 0, 1 et 11 puis élevées les jours 5, 15 et 21. Des variations dans la concentration en œstrogènes ont été observées lors du cycle mais aucune corrélation n'a été établie entre ces variations et les changements de valeur de TAMV ($p > 0.05$), alors qu'une relation positive a été trouvée entre la quantité en ARNm des récepteurs α aux œstrogènes et les valeurs de TAMV ($r = 0.46$; $p < 0.05$). Aucune relation significative entre la quantité d'ARNm des récepteurs β et les changements cycliques dans la perfusion sanguine utérine ne fut extrapolée (Bollwein, et al., 2002 a).

Bien qu'il soit reconnu que ces deux types de récepteurs s'expriment dans des tissus variés, il n'y a pas de données quant à leur mécanisme d'action. Il a donc été conclu que seuls les récepteurs α semblent posséder un effet vasodilatateur sur les vaisseaux sanguins utérins chez la jument (Bollwein, et al., 2002 a). En réalité, les œstrogènes possèdent certes cette propriété mais leur mécanisme d'action intra cellulaire (action au niveau de la média des artères utérines) pour déclencher cet effet reste encore mal connu (Bollwein, et al., 2000).

L'effet des œstrogènes sur l'impédance de l'artère utérine est probablement concentration dépendant et relié à un seuil particulier qui doit être atteint avant que ne se manifeste l'effet sur le flux sanguin utérin. C'est pourquoi les durées des traitements à base d'agoniste de la GnRH peuvent avoir une importance considérable en vue de l'atteinte de ce seuil (Engmann, et al., 1999).

3.1.2.2. Régulation nerveuse

Une interaction semblerait exister entre les hormones stéroïdiennes avec les récepteurs adrénérgiques périartériels responsables du tonus vasoconstricteur (Waite, et al., 1990).

Cette constriction obtenue pendant le cycle œstral chez la vache serait attribuée à une concentration locale importante en progestérone au niveau de la lymphé drainant l'ovaire portant le corps jaune (Ford, et al., 1979). La progestérone est en effet corrélée positivement à la vasoconstriction provoquée par la stimulation nerveuse ($r=0.72$). Celle-ci est capable de promouvoir la constriction des muscles lisses des vaisseaux en réduisant la dégradation de neurotransmetteurs au niveau des neurones sympathiques périartériels. A l'inverse, l'œstradiol réduit la quantité de neurotransmetteurs au niveau des terminaisons nerveuses adrénérgiques périartérielles afin de promouvoir une vasodilatation et donc une augmentation du flux sanguin (Ford et Chenault, 1981).

Lors du cycle œstral, l'œstradiol semblerait donc permettre la dilatation vasculaire utérine, puis la progestérone induirait sa constriction diminuant ainsi le flux sanguin en dioestrus. Cependant d'après la corrélation positive entre le flux sanguin et le ratio œstradiol/progestérone démontrée, la variation du flux sanguin semble dépendre de la présence de ces deux hormones et de leur ratio au cours de l'œstrus (Ford et al., 1979 ; Ford et Chenault, 1981).

3.1.3. Hormones stéroïdiennes pendant la gestation

Des échantillons sanguins ont été prélevés après chaque examen échographique Doppler lors de l'étude de Bollwein et al. (2004) sur le flux sanguin utérin lors de la gestation chez la jument. Les œstrogènes totaux ont été quantifiés : la quantité totale en œstrogènes a augmenté entre la 2^e et la 22^e semaine de gestation puis a régressé jusqu'à la parturition. La relation établie entre le logarithme de la quantité plasmatique totale en œstrogènes et la semaine de gestation (x) est la suivante :

$$\log TE = -0.761 + 0.285(x) - 0.005(x)^2$$

Où TE représente la quantité totale en oestrogènes en pmol/mL.

Le logarithme de TE est significativement ($p < 0.05$) relié à l'index IR de façon négative ($r = -0.879$) et à la valeur VOL de façon positive ($r = 0.88$) (Bollwein, et al., 2004 b).

Ford et al. (1979) ont postulé que cette augmentation du flux utérin était à relier avec l'augmentation du taux plasmatique en œstrogènes. En effet, des études ont montré que les œstrogènes amélioreraient la perfusion utérine chez de nombreuses espèces (Ford, et al., 1979). La concentration en œstrogènes augmente beaucoup lors de la première moitié de la gestation. Cependant, la relation entre le flux sanguin et le logarithme de la concentration

totale en œstrogènes est hautement significative en fin de gestation lorsque les œstrogènes commencent à régresser. Cela indique qu'un déclin dans la stimulation de leurs récepteurs au niveau des vaisseaux utérins se produit au fur et à mesure que la gestation progresse, réduisant l'effet vasodilatateur de ces hormones (Bollwein, et al., 2004 b).

Concernant la progestérone nous nous appuyerons sur une étude réalisée dans l'espèce bovine. Une corrélation positive a été établie entre le flux sanguin de la corne grvide chez la vache avec la concentration systémique en progestérone ($r=0.44$; $p<0.01$). Cette hormone est restée à des concentrations élevées et relativement constantes après 20 jours d'observation, contrairement aux concentrations décroissantes rencontrées chez la vache non gestante. La progestérone permet la survie de l'embryon et aurait aussi un rôle dans la redistribution du flux sanguin utérin en faveur des caroncules et au site d'implantation de la vésicule embryonnaire (Ford, et al., 1979).

3.2. Facteur de croissance endothéliale

Le VEGF (vascular endothelial growth factor) est reconnu pour augmenter la perfusion de l'utérus via l'augmentation du flux sanguin utérin (Sladkevicius, et al., 1993). Une corrélation positive a été mise en évidence entre les niveaux sériques de VEGF et les concentrations plasmatiques en œstradiol et progestérone. Ces hormones, par l'intermédiaire du VEGF, amélioreraient la vascularisation endométriale et subendométriale (Jokubkiene, et al., 2006).

Agrawal et al. (1999) ont étudié la relation entre les concentrations sériques en VEGF et les variations du flux sanguin utérin chez la femme. Le VEGF a été récemment identifié comme un facteur angiogénique diffusible et important dans la néo vascularisation du tractus reproducteur. Des corrélations positives ont été établies entre les taux de progestérone et de VEGF en milieu de phase lutéale et entre les taux d'œstradiol et de VEGF durant tout le cycle menstruel. Les concentrations de VEGF augmentent en phase lutéale en parallèle avec les changements des vitesses du flux sanguin utérin. Bien qu'il existe une relation proche entre ces deux mesures, une relation de causalité entre ces facteurs reste encore une spéculation (Agrawal, et al., 1999).

Ce facteur est produit par l'endomètre au cours du cycle menstruel, l'expression de son ARNm est temporellement et spatialement reliée à la prolifération des vaisseaux sanguins. En effet, il est aussi exprimé aussi bien au niveau de l'endomètre et du myomètre, et ceci de façon beaucoup plus importante lors des phases sécrétoires du cycle. Ceci conforte le fait que l'œstradiol joue un rôle dans la stimulation de l'expression du gène VEGF (Agrawal, et al., 1999).

En résumé, le VEGF semble être le principal facteur qui promeut la croissance vasculaire, le maintien et l'hyperméabilité requises pour une réceptivité adéquate de l'endomètre (Agrawal, et al., 1999).

3.3. Monoxyde d'azote

Bollwein et al. (2002) ont étudié le rôle du monoxyde d'azote sur le flux sanguin utérin (Bollwein, et al., 2002 a).

Cinq juments ont été examinées au cours d'un cycle œstral, les jours 0 (ovulation), 1, 5, 11, 15 lors de la phase diœstrale et le jour 21 pendant l'œstrus. Des échantillons sanguins et des biopsies utérines ont été prélevés après chaque examen échographique. La concentration en monoxyde d'azote a été évaluée (calculée à partir des niveaux plasmatiques en nitrites et nitrates). L'ADN total a été extrait, puis les enzymes endothéliales responsables de la synthèse du monoxyde d'azote (eNOS) ainsi que les enzymes inductibles (iNOS) ont été isolées par PCR.

Les concentrations plasmatiques de nitrites et nitrates et les taux d'ARNm des enzymes inductibles sont apparues indépendantes du stade du cycle contrairement aux taux d'ARNm des enzymes endothéliales où une corrélation positive a été démontrée avec les changements de TAMV ($r=0.46$; $p<0.05$). Comme les valeurs de TAMV, ces taux étaient bas les jours 0, 1 et 11 et élevés les jours 5 et 21. La vitesse du flux sanguin utérin semble être reliée à l'expression de ces enzymes. Ceci confère au monoxyde d'azote un rôle dans la régulation de la perfusion utérine. Cependant, étant donné la présence de ces métabolites dans de nombreux organes, cela peut expliquer le fait qu'aucun changement cyclique n'a pu être observé dans leur concentration (Bollwein, et al., 2002 a).

3.4. Rôle de la vésicule embryonnaire

Il a été vu que des différences dans le flux sanguin utérin apparaissaient à partir du 11^e jour de gestation, puis que celles-ci devenaient plus prononcées avec le temps (Bollwein, et al., 2003 a; Silva, et al., 2005).

Silva et al. (2005) ont supposé que les mesures des index de résistance ou de TAMV au niveau des artères utérines n'étaient pas assez sensibles pour détecter des différences locales de perfusion lors de la phase de mobilité de la vésicule (jusqu'au 15^e- 17^e jour). Ils ont donc analysé la vascularisation endométriale ainsi que ses relations avec les phases de mobilité (j8 à j15) et de fixation (j15 à j17). Cette vascularisation a été évaluée de façon subjective à l'aide de scores allant de 1 à 4, correspondant à l'étendue des zones colorées observées au niveau des coupes de cornes utérines (Image 42); puis de façon objective à l'aide de logiciels informatiques évaluant le nombre de pixels. Des mesures ont tout de même été effectuées au niveau des artères utérines au niveau mésométrial afin d'évaluer le flux sanguin utérin.

Pour compléter leur étude, ils se sont aussi intéressés à la relation entre la vascularisation endométriale et la contractilité utérine. En effet, les mouvements de la vésicule sont permis grâce aux contractions de l'utérus. Pour cela, ils ont utilisé un système

de score allant d'activité minimale à maximale. De plus, les temps de réponse entre l'effet de la vésicule sur la perfusion et sur la contractilité utérine lors de ses déplacements ont été comparés. Le but étant d'établir une relation entre variation de perfusion utérine et mouvement de la vésicule embryonnaire, mais aussi d'évaluer si le signal généré par cette dernière était similaire pour provoquer ces deux types de réponse par l'utérus.

Les scores de vascularisation endométriale ont été plus importants chez les juments gestantes que chez les non gestantes au niveau des deux cornes utérines à partir du 9^e jour post ovulation. Il est constaté que l'augmentation de la vascularisation se produit 7 minutes après l'entrée de la vésicule dans une corne utérine et ne dure pas plus de 20 minutes. Il serait intéressant de déterminer si la néoangiogenèse utérine se prépare avant ou après l'exposition de l'utérus à la vésicule afin de répondre par une augmentation de perfusion.

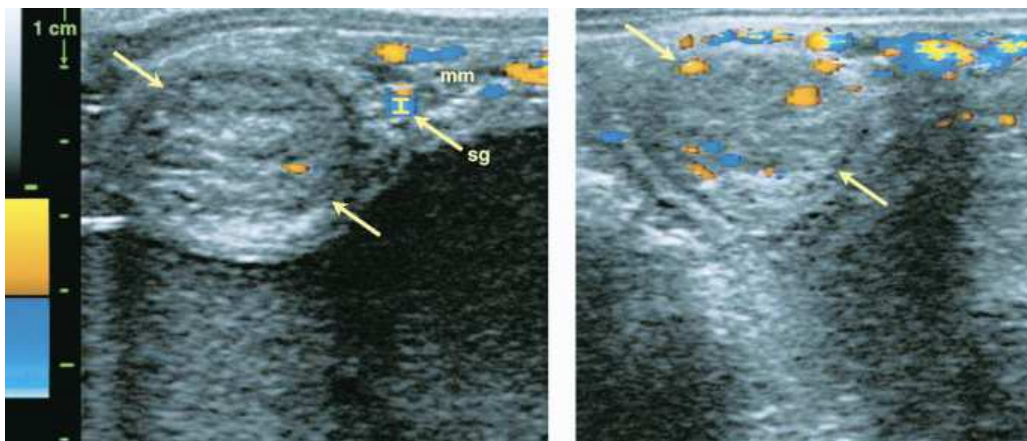


Image 43 - Deux sections de coupe de cornes utérines montrant une évolution de la perfusion utérine par l'augmentation des aires colorées correspondant aux signaux Doppler (Silva, et al., 2005)

Dès l'implantation de la vésicule, la vascularisation endométriale s'avère plus importante autour de la vésicule fixée qu'au niveau de la coupe moyenne de la corne utérine où se trouve cette dernière. Néanmoins aucune différence n'a été observée avant la diminution de mobilité de la vésicule entre la future corne gravide et la non gravide, indiquant qu'il ne se développe pas à l'avance de zone de perfusion pouvant influencer sur le lieu de fixation de la vésicule. En effet, c'est lorsque la vésicule cesse de bouger que la vascularisation de la corne gravide devient nettement plus importante dans son ensemble que celle de la non gravide. A nouveau, cela confirme l'hypothèse que les changements transitoires dans la perfusion endométriale accompagnent la vésicule de façon locale avant sa fixation.

D'autre part, il a été montré que la contractilité augmentait au niveau des deux cornes à partir du 8^e jour, jour présumé d'arrivée du conceptus dans l'utérus. Cependant,

une augmentation de contractilité concomittante à l'augmentation de la perfusion endométriale n'est pas réellement confirmée. En effet, aucune différence de contractilité n'est constatée entre la corne contenant le conceptus et celle ne la contenant pas contrairement aux différences de perfusion. Cela suggère que ces deux phénomènes sont soit contrôlés par des facteurs différents, soit que la perfusion utérine est modifiée de façon plus rapide, et diminue plus rapidement que les contractions utérines une fois que la vésicule a quitté cette corne (Silva, et al., 2005).

3.4.1. Régulation par des substances vasoactives sécrétées par l'embryon

Dans l'espèce bovine, le conceptus reste dans la corne utérine correspondante à l'oviducte où a eu lieu la fécondation (Panarace, et al., 2006), et le flux utérin augmente entre les jours 15 et 17 seulement dans l'artère utérine ipsilatérale au côté de l'implantation (Ford, et al., 1979; Silva, et al., 2005). Ford et al. (1979) attribuent le changement de perfusion à un signal venant de l'embryon. De plus des études *in vitro* ont montré que les embryons bovins libèrent des œstrogènes le 16^e jour de la gestation. Néanmoins l'augmentation localisée du flux uniquement au niveau de la corne gravide peut refléter soit un signal unilatéral initialisé par la vésicule embryonnaire et/ou une sensibilité différente des deux artères utérines vis-à-vis de ce signal (Ford, et al., 1979).

Une stimulation du flux utérin a été démontrée durant le début de la gestation chez les vaches et a été attribuée à l'effet local de l'embryon. Des substances vasoactives sécrétées par l'embryon et/ou par l'endomètre pourraient donc être responsables de la stimulation de la perfusion utérine chez la vache (Ford et Chenault, 1981) et chez la jument (Bollwein, et al., 2003 a). Dans l'étude des régimes de super ovulation chez la vache, Honnens et al. (2008) ont constaté que l'augmentation du flux sanguin utérin débutait plus tôt et ont émis l'hypothèse que le nombre important d'embryons se retrouvant dans la cavité utérine engendre une production de substances vasoactives en quantité plus importante que lors de gestation unique et donc une réponse plus précoce (Honnens, et al., 2008).

Dans l'espèce équine, cette sécrétion d'œstrogènes ainsi que d'autres substances vasodilatatrices, dont des prostaglandines F2 α et E2, sont libérées par l'embryon à partir du 12^e jour (Silva, et al., 2005). Or dans cette espèce, la vésicule embryonnaire n'est pas fixe mais mobile dans l'utérus durant les 16 premiers jours (Allen, 1988). Donc toute substance produite par cet embryon se retrouve diffusée dans tout l'utérus. Ceci permettrait d'expliquer que chez les juments gestantes, une augmentation du flux sanguin soit constatée en début de gestation au niveau des deux artères utérines (Bollwein, et al., 2003 a).

Chez la jument, seulement à partir du 15^e jour, le flux sanguin dans l'artère utérine ipsilatérale au conceptus sera donc significativement plus élevé, à savoir quand la mobilité de la vésicule embryonnaire se trouve fortement réduite (Silva, et al., 2005). Par conséquent,

les substances vasoactives sécrétées par ce dernier ne seront plus distribuées uniformément dans l'utérus (Bollwein, et al., 2003 a).

3.4.2. Effet mécanique de la vésicule embryonnaire

Des effets mécaniques de l'embryon pourraient rentrer en jeu : la perfusion utérine augmente considérablement entre le 11^e et le 17^e jour de gestation (période correspondant à une division rapide du conceptus) alors qu'elle augmente plus faiblement entre le 17^e et le 29^e jour (période où est remarqué un plateau dans sa croissance) (Bollwein, et al., 2003 a; Silva, et al., 2005).

3.5. Autres

3.5.1. Hypoxie

La période post-ovulatoire est la période pendant laquelle l'endomètre se prépare à une éventuelle implantation du blastocyste : la réceptivité endométriale est considérée à ce moment comme étant maximale. La diminution de perfusion évoquée précédemment à ce moment du cycle semblerait induire une certaine hypoxie endométriale. Or, il a été montré que des concentrations en oxygène proche des concentrations atmosphériques compromettent le développement embryonnaire. C'est pourquoi la quantité en oxygène de l'utérus à cette période serait au plus bas. De plus, l'hypoxie endométriale stimulerait la production de VEGF par les cellules endométriales, ce facteur de croissance régulant à son tour l'angiogenèse de l'endomètre (Agrawal, et al., 1999; Jokubkiene, et al., 2006).

3.5.2. Tonus utérin

Jokubkiene et al. (2006) ont mis en évidence que la vascularisation endométriale de l'utérus de la femme est à son niveau le plus bas entre le 1^{er} et le 5^e jour post-ovulation. Cette réduction du flux sanguin associée à une augmentation de résistance de la vascularisation utérine pourrait être expliquée par l'augmentation de la contractilité utérine et/ou du tonus basal du myomètre (Sladkevicius, et al., 1993). Les contractions du myomètre comprimant les vaisseaux traversant la paroi utérine augmenteraient alors la résistance au flux sanguin.

Ces contractions du myomètre sembleraient être reliées aux concentrations en œstrogènes et progestérone. L'administration exogène de ces dernières a en effet entraîné une augmentation de la perfusion utérine (Dickey, 1997). Ces contractions se déroulent sur un mode haute fréquence et basse intensité. Cependant le rôle de ces interactions dans la

réduction de la vascularisation endométriale reste encore incertain (Jokubkiene, et al., 2006).

Chez la jument, malgré les mêmes changements cycliques du flux sanguin utérin, il a été montré l'existence d'un pic dans le tonus utérin parallèlement à une mesure d'index IP basse. De ce fait, ces variations de contractilité ne semblent pas intervenir dans la régulation de l'apport sanguin chez les juments cyclées (Bollwein, et al., 2002 b; Silva, et al., 2005).

3.5.3. Rôle des spermatozoïdes

Lors d'une étude évaluant le flux sanguin utérin lors de diverses inséminations artificielles (Bollwein, et al., 2003 b), il a été montré que celui-ci augmente de façon transitoire après l'introduction de semence. Le plasma séminal contient en effet des prostaglandines et des œstrogènes. Or, la perfusion utérine est corrélée de façon positive à la concentration plasmatique en œstrogènes durant l'œstrus chez la jument (Bollwein, et al., 2002 b), ceci pourrait donc être un argument de plus en faveur du contrôle de l'augmentation de débit sanguin (Bollwein, et al., 2003 b).

Par ailleurs, seul le débit sanguin ovarien ipsilatéral au follicule pré-ovulatoire augmente et seulement après l'infusion de semence brute (Bollwein, et al., 2003 b). Or, la trompe utérine est alimentée par l'artère ovarienne (Barone, 1996; Barone, 2001) et celle-ci a pour rôle de recueillir les spermatozoïdes et de les stocker au niveau de l'ampoule. Cette modification du débit sanguin ovarien pourrait alors être due à l'action de la semence en elle-même, via les œstrogènes et les prostaglandines présents dans le plasma séminal, à l'inflammation qu'elle provoque au niveau de la trompe, ou aux spermatozoïdes dont la tête renferme des enzymes NO-synthétase susceptibles de produire du monoxyde d'azote potentiellement vasodilatateur (Bollwein, et al., 2004 c).

En conclusion, nous avons montré que l'échographie Doppler permettait de repérer les variations physiologiques de la perfusion utérine au cours du cycle œstral et de la gestation chez la jument. Celle-ci est influencée par des facteurs tels que l'individu, la parité et l'âge. Cette nouvelle technique a aussi permis de mettre en évidence l'action des facteurs régulant l'hémodynamique utérine, tels que les hormones stéroïdiennes et le monoxyde d'azote, mais aussi d'évaluer les changements se produisant au niveau de la vascularisation endométriale lors de l'arrivée du conceptus. L'échographie Doppler nous permet donc de juger de l'apport sanguin au niveau de l'utérus. Or, comme de nombreux événements (distribution hormonale, contractions utérines, phases précoces de la gestation) sont dépendants de la vascularisation, toute altération de la perfusion utérine entrainera des problèmes de fertilité. C'est pourquoi, nous allons voir comment l'échographie Doppler peut nous permettre de repérer ces altérations d'apport sanguin, quels sont les avantages que cet

examen apporte par rapport aux techniques actuelles et s'il est utilisable en pratique afin d'établir un pronostic pour la fertilité future de la jument.

C. Apport de l'échographie Doppler dans l'étude de variations pathologiques de l'utérus susceptibles d'être à l'origine de subfertilité

1. Altérations vasculaires

Au cours des multiples biopsies endométriales qui sont pratiquées en médecine équine, des altérations dégénératives des vaisseaux sanguins peuvent être observées avec une fréquence de 80%. Or, un apport sanguin adéquat est indispensable à une cyclicité normale et au maintien d'une gestation. Cependant, les effets possibles de ces altérations sur la fertilité ne peuvent être confirmées que par des études cliniques de la circulation et de la microcirculation utérine (Grüniger, et al., 1998).

Esteller-Vico et al. (2007) se sont intéressés à mesurer la perfusion sanguine utérine sur des juments subfertiles à l'aide d'injection de microsphères fluorescentes dans le ventricule gauche. La perfusion vasculaire utérine est évaluée grâce au pourcentage de microsphères fixées dans l'organe qui a été récupéré après l'euthanasie des juments. Ils ont constaté que les juments dont les biopsies avaient été classées en grade III avec des signes modérés à sévères d'angiopathies endométriales présentaient une diminution de 40% de la perfusion sanguine utérine par rapport aux juments dont les biopsies ne présentaient pas d'altérations vasculaires et avaient été classées en grade I. La perfusion sanguine utérine est donc fortement diminuée en présence de lésions vasculaires. Il est fort probable que cette altération nuise à la fertilité de la jument (Esteller-Vico, et al., 2007).

Néanmoins cette investigation de la diminution de perfusion est plus qu'invasive car elle nécessite l'euthanasie de l'animal afin de récupérer l'organe cible. De même, des études de mesure de flux sanguin utérin ont été menées chez la vache grâce à la pose de sondes électromagnétiques de façon chirurgicale après dissection de l'artère utérine (Ford et Chenault, 1981). Il serait donc intéressant de trouver une méthode non invasive afin d'évaluer la perfusion sanguine utérine et pouvoir établir un lien éventuel avec la baisse de fertilité de la jument. C'est ainsi que l'échographie Doppler trouve sa place dans l'analyse et la découverte des anomalies du flux sanguin utérin de la jument.

De premières investigations menées par Stolla et al. (1997), Blaich et al. (1999), ont révélé que les juments souffrant d'altérations vasculaires endométriales modérées à sévères présentaient une résistance vasculaire utérine plus importante en comparaison à celles présentant des altérations légères voire absentes.

Ludwig et al. (2002) ont caractérisé de façon histomorphologique les altérations vasculaires de l'endomètre, du myomètre ainsi que des vaisseaux extra-utérins (les artères et veines utérines, rameau crânial, artères et veines ovariennes) afin d'établir une éventuelle

corrélation entre leurs altérations et de comparer leurs caractéristiques morphologiques avec les observations fournies par l'échographie Doppler (Ludwig, et al., 2002).

Les mesures Doppler ont été réalisées de façon quotidienne au niveau des artères utérines sur un groupe de 10 juments durant un cycle œstral. En parallèle, des biopsies utérines ont été prélevées pour objectiver d'éventuelles angiopathies endométriales et classées en deux groupes, à savoir celles présentant des angiopathies évidentes et celles n'en présentant pas. Les juments avec des lésions endométriales ont présenté des valeurs des index de résistance significativement plus élevées au niveau des artères utérines que les juments indemnes, et donc une perfusion utérine amoindrie.

Des échantillons des deux cornes, du corps utérin et des vaisseaux extra-utérins ont été prélevés lors d'examen nécropsiques sur 53 juments adultes. Les résultats ont montré que les altérations étaient plus importantes au niveau des vaisseaux myométriaux et extra-utérins qu'au niveau des vaisseaux endométriaux. Ceci résultant probablement d'un stress hémodynamique plus important à ce niveau (Ludwig, et al., 2002). Cette constatation avait aussi été notée par Grüninger et al. (1998) grâce à des études de microscopie électronique : les vaisseaux myométriaux présentaient des lésions plus sévères en comparaison aux lésions vasculaires endométriales (Grüninger, et al., 1998).

Les changements vasculaires dégénératifs au niveau des vaisseaux avaient été attribués aux multiples variations dans l'architecture et l'hémodynamique de ces derniers au cours des gestations et des involutions se succédant au cours de la vie d'une jument. Avec l'âge et la parité, ces altérations ne seraient progressivement plus réparées. Ceci résulte en des variations dans leur capacité d'élasticité, de résistance et donc en des variations de perfusion (Grüninger, et al., 1998).

Il serait donc possible de postuler sur l'existence d'une relation entre la fonction cliniquement évaluable par Doppler d'un vaisseau avec son altération pathologique. Les angiopathies endométriales mais aussi myométriales pourraient alors être détectées grâce à leur répercussion sur les artères utérines, dont les variations hémodynamiques sont plus facilement évaluables (Ludwig, et al., 2002). En effet, la biopsie endométriale conventionnelle, méthode actuellement reconnue pour le diagnostic des altérations vasculaires de l'endomètre, n'est pas représentative des lésions vasculaires de l'utérus en entier mais seulement des lésions vasculaires de l'endomètre (Grüninger, et al., 1998). C'est pourquoi, l'évaluation de la circulation sanguine utérine par échographie Doppler permettrait de juger de l'importance de l'ensemble des altérations vasculaires et de juger de leur impact sur la fertilité de la jument grâce à l'établissement de valeurs de référence chez des juments saines suivi d'une comparaison.

2. Fibrose périglandulaire

L'augmentation des valeurs des index de résistance démontrée chez les femelles multipares résulterait probablement de la fibrose de l'utérus (Bollwein, et al., 1998). La fibrose périglandulaire est reconnue comme cause majeure de la perte embryonnaire et fœtale chez les juments âgées (Kenney, 1978). De même chez les femmes, l'âge influence la perfusion utérine et l'augmentation des index IR est considérée comme cause d'infertilité (Ardaens, et al., 2002).

Bollwein et al. (2004) ont aussi pu démontrer lors d'une étude utilisant le captopril, inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, que cette molécule empêchait la contraction de la musculature lisse de l'utérus et agissait comme vasodilatateur au niveau des vaisseaux de l'endomètre (Bollwein, et al., 2004 a). En effet, l'enzyme de conversion de l'angiotensine est retrouvée au niveau des vaisseaux endométriaux et jouerait un rôle dans l'apparition d'une fibrose de l'endomètre de par son augmentation locale au niveau de ce tissu. En effet, il a été montré que l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine était beaucoup plus élevée sur des échantillons de biopsies utérines de juments présentant de la fibrose périglandulaire. Cette enzyme serait responsable des altérations de l'ultrastructure des myofibroblastes (Evans, et al., 2000).

Le mode Doppler, grâce à la mesure des index de résistance combiné aux commémoratifs de la jument, pourrait donc orienter le clinicien sur l'existence d'une éventuelle fibrose périglandulaire.

3. Kystes

Chez la jument, les kystes utérins correspondent à des structures liquidiennes retrouvées communément dans les trois couches de l'utérus ou rattachées à l'extérieur de sa surface. Ils sont dénommés internes ou externes selon leur localisation. Ils sont retrouvés aussi bien dans un utérus normal que dans un utérus chroniquement inflammé. Bien que l'origine de la formation des kystes utérins reste encore incertaine, un flux sanguin utérin anormal pourrait contribuer à leur formation de par un drainage inadéquat suite à un mauvais retour veineux ainsi qu'à des angiopathies (Ferreira, et al., 2008).

Les kystes sont préférentiellement situés au niveau de la base des cornes, leur incidence est de 13 à 55 % et ces derniers semblent avoir une importance clinique (Stanton, et al., 2004). Une fréquence plus importante est constatée avec l'âge, mais le vieillissement s'accompagne aussi d'une augmentation de la sévérité de la fibrose endométriale, de dysfonctionnements dans la vascularisation utérine et donc d'une réduction de la fertilité (Grüninger, et al., 1998).

En considérant l'incidence importante des kystes et les changements dégénératifs dans les parois des artères des juments âgées, il existe peut être une relation entre la présence de

kystes, la diminution de la perfusion vasculaire et la perte embryonnaire voire l'infertilité (Ferreira, et al., 2008).

Ferreira et al. (2008) se proposent de tester l'hypothèse selon laquelle les régions utérines comportant des kystes présentent une perfusion vasculaire diminuée. Ceci en évaluant les effets des kystes sur le spectre des vitesses du flux sanguin des vaisseaux mésométriaux irriguant les zones où sont retrouvés préférentiellement ces derniers, à savoir la base des cornes utérines mais aussi au niveau des vaisseaux présents dans la paroi utérine.

L'étude utilise un mode Doppler puissance qui présente une plus grande sensibilité et permet l'évaluation de vaisseaux de plus petit diamètre et avec une vitesse de flux sanguin plus faible. Ce qui pourrait ne pas être détecté avec un mode Doppler couleur conventionnel.

La présence de kystes internes n'a pas affecté la perfusion vasculaire (nombre et intensité des spots colorés identiques aux juments saines), le diamètre, la circonférence et l'aire des vaisseaux présents dans les ligaments larges au niveau de leur attache à la base de chaque corne utérine.

Le pourcentage de signaux Doppler dans les régions kystiques (au niveau des vaisseaux des trois couches utérines) a été moins important que dans les mêmes régions chez des juments saines. De plus, le pourcentage de signaux Doppler dans ces régions kystiques a été plus faible que dans les régions adjacentes indemnes de kystes. L'effet de la diminution de perfusion a donc été très localisé (Ferreira et al., 2008 ; Images 44, 45 et 46).

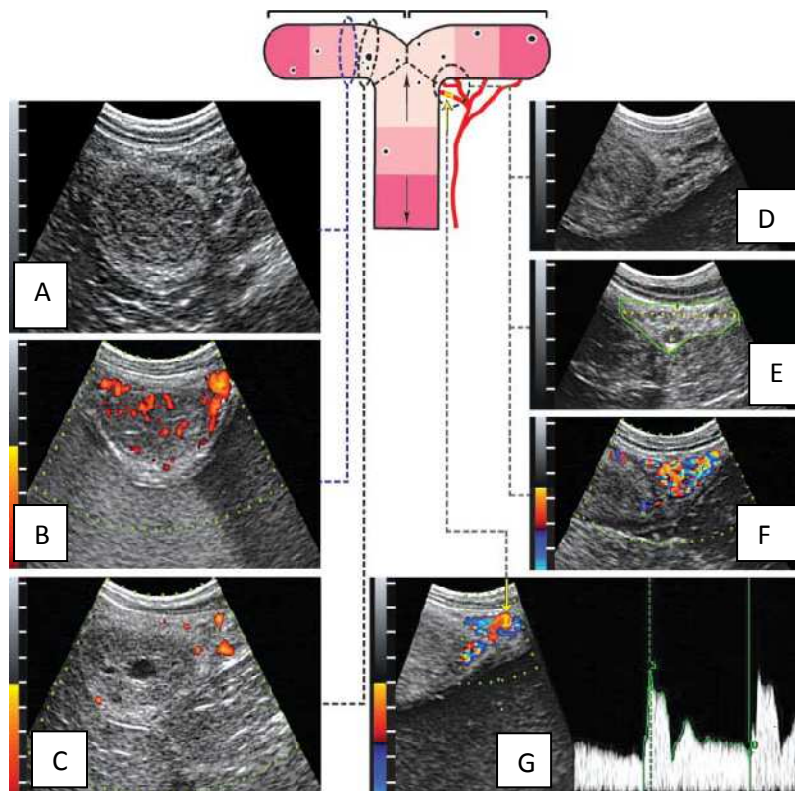


Image 44 - Diagramme d'un utérus de jument avec présence de kystes (représentés par les points noirs). L'utérus est divisé en trois portions, les extrémités en rose foncé, les segments centraux en rose intermédiaire et les jonctions corne-corps en rose pâle. Les zones ovales en pointillés bleus représentent les zones adjacentes indemnes de kystes (Ferreira, et al., 2008)

- (A) Section de corne visualisée grâce à l'échographie en mode B
- (B) Echographie Doppler puissance d'une zone indemne de kystes
- (C) Echographie Doppler puissance d'une zone kystique
- (D) Identification des zones d'attachement du ligament large par échographie en mode B
- (E) Sélection d'une zone de mesure au niveau mésométrial, mesure du diamètre, de l'aire et de la circonférence
- (F) Evaluation de la perfusion vasculaire de cette zone
- (G) Spectre Doppler d'un vaisseau mésométrial

Ferreira et al. (2008) ont ensuite testé l'hypothèse selon laquelle les régions kystiques de grande taille sont associées à des changements de perfusion et d'hémodynamique plus importants que celles de petite taille.

Trois groupes de juments ont été créés : un groupe où les kystes internes étaient regroupés en une petite zone de moins de 275 mm², un groupe où la zone kystique était de plus de 410 mm² et un groupe témoin composé de juments saines. Il n'a pas été montré de différences entre les juments atteintes d'une petite zone kystique et les juments saines au niveau de la perfusion vasculaire et de l'aire des vaisseaux mésométriaux. Cependant la perfusion vasculaire utérine (évaluée grâce au pourcentage de spots colorés observés au niveau des vaisseaux sanguins de l'endomètre et du myomètre) était moins importante dans

cette zone kystique, que dans la zone adjacente, qui elle-même était moins importante que dans la même région indemne de kystes chez une jument saine (Image 45).

Chez les juments avec une large zone kystique, l'index IP était plus bas et les valeurs de PSV, EDV et TAMV étaient plus hautes au niveau des analyses du spectre Doppler des vaisseaux mésométriaux que chez les juments saines. Ce phénomène se produit au niveau de ces vaisseaux quand il existe un problème de distension du lit vasculaire distal voire de dureté des vaisseaux. De plus, une diminution de la perfusion utérine des différentes régions (kystique et zone adjacente) a été trouvée chez les juments à large zone kystique avec une diminution plus importante de perfusion (Image 46).

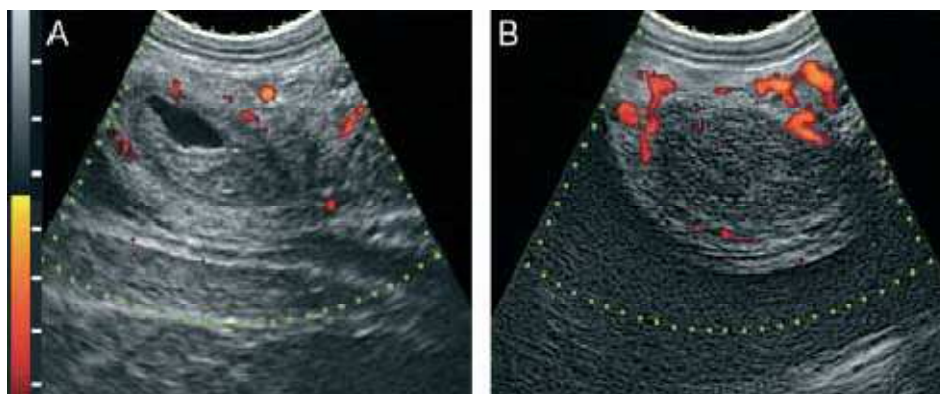


Image 45 - Sections de cornes utérines avec présence (A) ou absence (B) de kystes chez une même jument. Mesures effectuées au Doppler puissance montrant que la perfusion vasculaire est plus faible dans les régions atteintes que dans les régions voisines indemnes (Ferreira, et al., 2008)

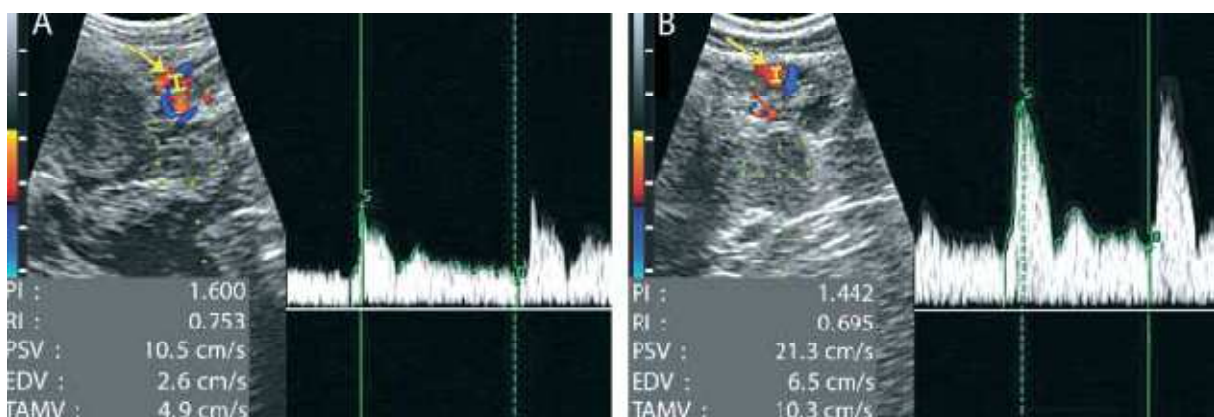


Image 46 - Analyses spectrales obtenues grâce au Doppler couleur réalisées au niveau d'un vaisseau mésométrial chez une jument indemne (A) et une jument présentant des kystes (B) (Ferreira, et al., 2008)

Le mode Doppler puissance a permis de constater une association entre les kystes et la réduction de la perfusion vasculaire de ces zones mais uniquement de façon localisée car cette réduction de perfusion ne s'étend pas aux régions voisines et est peu répercutée au niveau des vaisseaux mésométriaux. D'autre part, plus la zone kystique est large plus la diminution de perfusion est importante.

En conclusion, il a été établi pour la première fois qu'il existait une réduction de la perfusion vasculaire utérine chez les juments présentant des kystes utérins et une relation positive entre la taille des kystes et les perturbations hémodynamiques utérines (Ferreira, et al., 2008). Les kystes pourraient être le symptôme d'une mauvaise perfusion utérine suite à des désordres vasculaires.

4. Endométrite

De nombreuses études ont été menées sur les effets locaux des infusions intra-utérine sur l'utérus avec un intérêt particulier sur la contractilité utérine (Cadario, et al., 1999), sur l'accumulation intra-utérine de fluides (Leblanc, et al., 1994) et sur les défenses humorales et cellulaires. La réponse de l'utérus à l'insémination se traduit par une inflammation transitoire qui permet d'éliminer le sperme, le plasma séminal ainsi que les bactéries de l'utérus (Katila, 1996). L'altération des mécanismes de défenses après l'insémination serait considérée comme une cause de subfertilité chez la jument (Katila, 1996; Troedsson, 2006). D'autre part, les changements inflammatoires utérins ainsi que les lésions des trompes utérines semblent aussi jouer un rôle important dans la fertilité (Betsch, 1992).

Comme l'inflammation est caractérisée par une hyperhémie des organes, l'échographie Doppler pourrait avoir un intérêt quant au diagnostic des processus inflammatoires de l'utérus, des ovaires ainsi que des oviductes. De plus, le mode Doppler est une méthode efficace pour analyser le débit sanguin utérin et ovarien (Bollwein, et al., 2002 b). Chez la jument, l'artère ovarienne alimente l'oviducte via une branche utérine, donc il serait possible que les changements dans la perfusion de l'oviducte consécutifs à des phénomènes inflammatoires puissent résulter de variations du débit sanguin de l'artère ovarienne, variations potentiellement objectivables par échographie Doppler (Bollwein, et al., 2003 b).

Bollwein et al. (2003) ont analysé l'effet de différentes doses d'insémination sur le flux sanguin de l'artère utérine via l'échographie Doppler ainsi que les relations entre la perfusion et l'inflammation utérine mais aussi entre la circulation sanguine au niveau de l'artère ovarienne et les réactions inflammatoires de l'oviducte. Différentes infusions intra-utérines ont été utilisées : une dose de semence filtrée préparée avec du lait écrémé, une dose de plasma séminal et de la semence brute. Six juments ont reçu 20mL d'une de ces préparations pendant la phase œstrale au cours de trois cycles, en changeant d'infusions à

chaque cycle. Les mesures du débit sanguin dans les artères utérines et ovariennes ainsi que la quantité intra-utérine de fluides ont été évaluées préalablement à l'infusion puis 1, 3, 6, 12 et 24 heures après l'infusion. Puis 48 heures plus tard, une seconde infusion suivies de mesures répétées aux mêmes intervalles ont été entreprises.

L'échographie bidimensionnelle a été utilisée pour déterminer la quantité intra-utérine de fluides en mesurant les maximums atteints en hauteur et en largeur par ces fluides au niveau du cavum utérin. Un système de grades allant de 0 à 4 associé à une mesure d'aire (cm²) a permis d'évaluer rapidement cette quantité de liquide (0 : aucun fluide ; 1 < 5 cm² ; 2 : 6-10 cm² ; 3 : 11-20 cm² ; et 4 : >20 cm²).

La quantité de fluides a augmenté une heure après l'infusion intra-utérine quelle que soit l'infusion utilisée. Il n'a été constaté aucune différence de quantité entre la première et la deuxième infusion ($p > 0.05$). L'infusion de semence diluée n'a pas eu d'effet sur les valeurs utérines de TAMV, alors que les infusions de plasma séminal et de semence brute ont induit des changements dans la vitesse du flux sanguin. En effet, une heure après avoir administré ces infusions, les valeurs de TAMV des artères utérines ont augmenté. Suite à l'introduction de plasma séminal, ces valeurs sont restées à des niveaux élevés jusqu'à la fin des observations. Concernant l'infusion de semence brute, les valeurs ont augmenté fortement mais ont diminué ensuite au bout de trois heures et ceci jusqu'à la fin des investigations.

En résumé, l'augmentation simultanée de fluides intra-utérins et de la réaction cytologique utérine constatée après l'infusion de plasma séminal ou de semence brute suggère que l'augmentation de la perfusion utérine serait principalement due à la réponse inflammatoire de l'endomètre. Néanmoins, la réaction inflammatoire constatée après l'infusion de plasma séminal déclenche une réaction inflammatoire moindre en comparaison à celle déclenchée par la semence brute, alors que l'augmentation de la perfusion utérine est toute aussi importante après l'une ou l'autre infusion. Cette constatation suggère que l'augmentation de la perfusion est probablement due à l'inflammation utérine mais aussi à d'autres facteurs responsables d'une augmentation du débit sanguin (Bollwein, et al., 2003 b).

D'autre part, étant donné que l'échographie Doppler peut permettre d'évaluer les diminutions d'apport sanguin au niveau de l'utérus, toute diminution d'irrigation constatée chez une jument confirmera son incapacité à développer une réponse inflammatoire correcte vis à vis de toute substance étrangère et sa susceptibilité à présenter une endométrite (Bollwein, et al., 2003 b). Cette diminution d'apport, favorable à la création d'un environnement utérin inflammatoire et infectieux non compatible avec la survie de l'embryon, serait en lien avec la fertilité de la jument.

5. Diminution de la clairance utérine

De nombreuses juments subfertiles semblent présenter une altération dans le mécanisme de clairance utérine des fluides, sperme, bactéries et produits de l'inflammation (Troedsson et Liu, 1991 ; Troedsson, 1999). Cette diminution de clairance pourrait s'expliquer du fait de la non augmentation de la perfusion utérine entraînant une mauvaise perfusion du myomètre. Celui-ci serait alors incapable de mettre en place des contractions utérines normales nécessaires à cette clairance. D'autres études seraient nécessaires pour voir si les changements de perfusion utérine associés à une mauvaise clairance après insémination sont reliés à la fertilité des juments (Bollwein, et al., 2003 b).

6. Mort embryonnaire précoce et avortement

6.1. Relation entre une mauvaise perfusion et un défaut d'implantation

L'échographie Doppler chez les femmes enceintes a montré que la croissance de l'embryon dépendait d'un apport sanguin adéquat au niveau de l'utérus. Des études récentes chez la jument ont révélé que des angiopathies utérines pouvaient être une cause d'infertilité (Grüniger, et al., 1998). D'autre part, il a été montré que la distribution sanguine au sein de l'utérus était influencée par le stade du cycle et que le degré de perfusion était sujet à des variations individuelles (Bollwein, et al., 2002 b). Etant donné que la mort embryonnaire précoce est fréquente chez les juments subfertiles durant les 4 premières semaines de gestation, l'échographie Doppler pourrait permettre de détecter des différences de flux sanguin utérin chez ces juments par rapport aux modèles cycliques préalablement établis afin de prédire un éventuel échec de gestation (Bollwein, et al., 2003 a).

Goswamy (1988) a été le premier à corréler la baisse de résistance des artères utérines comme marqueur de la réceptivité endométriale chez la femme. En effet, il a démontré que les chances d'implantation étaient diminuées lorsque les courbes Doppler montraient des flux utérins à haute résistance avec diastole nulle (Goswamy, et al., 1988). En effet, des valeurs d'index de résistance utérine plus élevés en phase lutéale pourraient être en relation avec une diminution de la fertilité. Un certain nombre d'infertilités inexplicables pourraient être en rapport avec des échecs nidatoires par hypoperfusion utérine (Ferreira, et al., 2007). Il serait alors possible de les qualifier de « stérilités vasculaires » (Ardaens, et al., 2002).

Bollwein et al. (1998) ont montré que les juments âgées multipares présentaient une plus haute résistance vis-à-vis du flux sanguin utérin que les jeunes juments unipares. Or, en médecine humaine, les femmes présentant une résistance élevée au moment d'un transfert d'embryon ont moins de chances de réussite au niveau de l'implantation (Engmann, et al., 1999). Par conséquent, des évaluations du flux sanguin utérin chez des juments subfertiles

ou présentant des morts embryonnaires précoces pourraient être utiles afin de déterminer si la résistance au flux sanguin utérin est plus élevée que chez une jument saine et pourrait en être la cause (Bollwein, et al., 2003 a).

6.2. Interférence des kystes avec le développement embryonnaire

Ferreira et al. (2008) ont établi des relations entre les kystes utérins et les modifications hémodynamiques utérines. Etant donné que les kystes sont situés préférentiellement dans la partie caudale des cornes utérines, cette localisation serait susceptible d'interférer avec la phase de mobilité de l'embryon (11-15 jours après ovulation), avec l'exposition de l'utérus au signal de reconnaissance maternelle de la gestation émis par ce dernier (Allen, 1988; Silva, et al., 2005) ou avec le développement de la vésicule fixée (Ferreira, et al., 2008). En effet, la réceptivité de l'endomètre, l'implantation et le développement embryonnaire sont dépendants d'une circulation utérine adéquate (Ardaens, et al., 2002). La découverte de zones kystiques dans cette région « clef » par le clinicien, devrait conduire à un examen Doppler de celle-ci afin de prédire de l'efficacité de la perfusion de cette dernière en relation avec un développement embryonnaire normal.

6.3. Relation entre un mauvais apport ombilical et le développement fœtal

Durant la gestation, le besoin croissant en nutriments du fœtus est assuré au départ par une augmentation du flux sanguin utérin (Ford, et al., 1979). En médecine humaine, le mode Doppler est utilisé pour démontrer une relation entre le taux croissant d'avortement et l'insuffisance d'apport sanguin utérin et ombilical. Cette méthode est devenue un moyen de routine pour diagnostiquer les grossesses à haut risque (Ferreira, et al., 2007). Les objectifs de l'échographie Doppler en médecine équine seraient d'évaluer le flux sanguin utérin et ombilical au travers de la gestation puis de comparer les valeurs obtenues aux valeurs de références préalablement établies. Ceci permettrait de diagnostiquer/surveiller les gestations anormales. D'autres investigations supplémentaires au niveau des artères ombilicales seraient nécessaires pour savoir si cette méthode serait susceptible de diagnostiquer des anomalies fœtales ou de prédire un avortement (Bollwein, et al., 2004 b).

7. Période post-partum et mauvaise involution utérine

L'infertilité post-partum peut constituer un problème économique important dans l'élevage, or la période post-partum constitue une étape clef. Les facteurs en jeu pour une bonne fertilité sont l'involution utérine rapide ainsi que l'élimination de toute contamination bactérienne. En médecine humaine, l'échographie Doppler au niveau des artères utérines en période puerpérale est devenue un outil pour investiguer les éventuelles altérations de la perfusion utérine. En effet, les femmes présentant lors de cette période une endométrite,

une subinvolution utérine, une rétention placentaire ou ayant subi une césarienne ne montrent pas de changements des index de résistance lors de l'examen Doppler contrairement aux femmes ayant eu une période puerpérale tout à fait normale (Nakai, et al., 1997). Par conséquent, le but serait de démontrer que l'examen du flux sanguin utérin par échographie Doppler pourrait être une méthode valable pour évaluer l'involution utérine en période post-partum (Krueger, et al., 2008).

Krueger et al. (2008) ont observé des vaches multipares après leur parturition (jour 0) et pendant les douze semaines suivantes. La taille de l'utérus a été évaluée au départ par palpation transrectale puis par échographie bidimensionnelle, en utilisant des scores décrits par Grunert (1979). La quantité de fluides accumulée à l'intérieur de l'utérus a été quantifiée par échographie en mesurant le diamètre le plus important de la zone où les fluides étaient accumulés. À l'aide de l'échographie Doppler, le flux sanguin utérin a été évalué au niveau des artères utérines en s'intéressant au volume sanguin et à l'index de pulsatilité IP.

Le déclin le plus prononcé dans le volume sanguin a été observé la première semaine après le vêlage. Une explication très probable de cette diminution est la grande chute de poids de l'utérus à cette période, passant de 9 kg à la parturition à 3.6 kg huit jours plus tard. L'index IP a augmenté de façon quasi-linéaire au cours des quatre semaines suivant le vêlage, cet index reflétant la résistance du lit vasculaire distal au site de mesure. Par conséquent, cette augmentation peut être justifiée par la vasoconstriction des vaisseaux des caroncules utérines qui est concomitante à une nécrose ischémique de ces dernières. Après avoir augmenté jusqu'au 28^e jour, l'index IP a régressé progressivement jusqu'à la fin des observations, à savoir le 86^e jour (Krueger, et al., 2008).

L'involution utérine était terminée globalement après 47 jours d'observation, alors que l'index IP évoluait encore au bout de 86 jours d'examens. Cette observation suggère que les changements au niveau du flux sanguin utérin continuent après une involution utérine cliniquement achevée. Le retour des index IP à des valeurs normales serait probablement dû à une action hormonale. Cependant aucune différence au niveau des paramètres du flux sanguin utérin n'a été objectivée entre les vaches ayant retrouvée une activité ovarienne cyclique et celles non-cyclées (Krueger, et al., 2008).

D'autre part, les vaches devenues gestantes avant la fin des observations n'ont pas montré de différences dans les valeurs des index IP après 14 jours, contrairement aux non gestantes qui ont présenté une augmentation de cet index jusqu'au 28^e jour. De façon similaire, les index IP des artères utérines des femmes infertiles et non enceintes sont plus élevés en comparaison aux femmes fertiles ou enceintes (Tinkanen, et al., 1994). Donc, les variations du volume sanguin utérin et de l'index de pulsatilité au cours du post-partum semblent avoir un impact sur la fertilité (Krueger, et al., 2008).

Des investigations similaires pourraient être entreprises chez la jument. Agricola et al. (2006) se sont intéressés au sujet d'un point de vue histologique et ont montré que l'endomètre d'une jument en période post-partum ne montre pas de variations quant au

nombre de vaisseaux sanguins ainsi qu'au niveau de sa microvascularisation (Agricola, et al., 2006).

8. Phase lutéale perturbée

Le flux sanguin lutéal peut être évalué par échographie Doppler (Bollwein, et al., 2005). En médecine humaine, une vascularisation lutéale faible réduit les perspectives de procréation (Borini, et al., 2004). Des investigations supplémentaires pourraient être menées chez la jument en vue de déterminer si une perfusion lutéale inadéquate pourrait être une cause d'infertilité (Bollwein, et al., 2005).

9. Etablissement d'un pronostic

Nous nous baserons dans cette partie essentiellement sur des modèles établis en médecine humaine.

Il a été suggéré que des différences dans la circulation utérine entre les femmes fertiles et infertiles pouvaient exister (Jokubkiene, et al., 2006).

Les études basées sur l'échographie Doppler ont été réalisées en médecine humaine afin d'établir un pronostic de fertilité, essentiellement lors des programmes d'assistance médicale à la procréation. La néo vascularisation joue un rôle important au moment de la nidation et en cas de grossesse lors de l'implantation de l'œuf jusqu'à la formation du placenta. L'échographie couplée au Doppler couleur permet une appréciation de la réceptivité endométriale. Il est admis que les chances de grossesse sont quasi-nulles pour une épaisseur totale de l'endomètre < 8mm et pour un index de pulsativité (IP) utérin >3.

Une analyse vélocimétrique par Doppler semble être un excellent marqueur de la réceptivité endométriale et a ainsi un intérêt certain dans le cadre de l'assistance médicale à la procréation. Elle se réalise chez la femme, au niveau de la crosse de l'artère utérine. Les chances de nidation au cours d'un cycle fécondant sont plus élevées si le profil vélocimétrique utérin s'apparente à celui d'une femme enceinte et plus faibles s'il s'apparente à celui d'une femme ménopausée. L'appréciation de la vascularisation utérine sur la courbe Doppler se base sur des critères quantitatifs (valeur des index) ou qualitatifs (forme de la courbe) (Ardaens, et al., 2002).

9.1. Etude Doppler quantitative : index de pulsativité et taux de grossesse

Il a été montré que la valeur de l'index de pulsativité est une bonne valeur prédictive car les chances de grossesse sont quasiment nulles pour des valeurs supérieures à 3 (Ardaens, et al., 2002).

9.2. Etude Doppler qualitative : forme de la courbe (notch protodiastolique)

L'aspect du notch protodiastolique est un excellent paramètre pour caractériser la résistance d'une artère. Cette petite incisure est liée à l'élasticité des fibres musculaires de la média artérielle. Ainsi une absence de notch témoigne soit d'une destruction de la média (néo vascularisation tumorale, envahissement trophoblastique des artères spiralées pendant la grossesse) soit d'une vasodilatation importante (Ardaens, et al., 2002).

Ardaens et al. (2002) ont donc décrit trois formes de courbe (Image 46) :

- Type 1 excellent : notch absent ou très peu marqué (aspect plat ou angle obtu). La vasodilatation artérielle y est maximale et les résistances d'aval basses. Cela correspond à un flux de type grossesse.
- Type 2 moyen : notch de profondeur moyenne mais d'aspect pointu. La vasodilatation artérielle et les résistances d'aval sont modérées. Cela correspond à un flux de type menstruel
- Type 3 médiocre : notch profond atteignant la ligne de base. La vasodilatation artérielle est faible ou nulle et les résistances d'aval élevées. Cela correspond à un flux de type ménopause

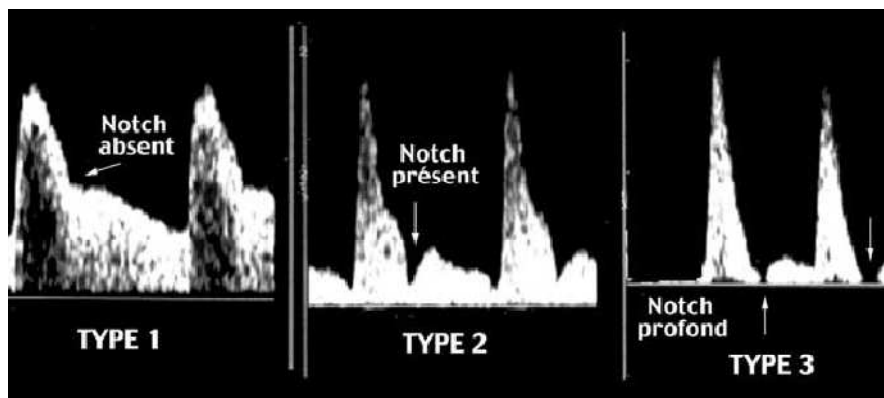


Image 47 - Différentes formes de courbe vélocimétrique étudiées au niveau de l'artère utérine chez la femme (Ardaens, et al., 2002)

La constatation d'une courbe de type 2 n'a aucune valeur prédictive, par contre une courbe de type 3 a une valeur péjorative (Ardaens, et al., 2002).

Il serait intéressant d'ajouter à la mesure des index la quantification de la micro-vascularisation endométriale grâce au Doppler couleur-pulsé tridimensionnel. Toutefois cette évaluation morphologique est plus subjective et moins reproductible que la mesure des index au niveau des artères utérines (Valentin, et al., 2001).

Ferreira et al. (2007) ont comparé les index de pulsatilité ainsi que les modèles de flux sanguin des artères utérines chez des patientes n'ayant pas présenté d'antécédents d'avortement et des femmes avortant de façon récurrente. Un avortement est considéré comme récurrent s'il se produit spontanément et consécutivement au moins trois fois. L'étiologie peut être maternelle ou foétale, cependant l'origine reste souvent inexpliquée.

Une étude de Goswamy et al. (1988) suggère que la perfusion par l'artère utérine pourrait réguler la réceptivité endométriale et par conséquent une perfusion utérine pauvre pourrait être une des causes des avortements d'origine indéterminée. Afin d'investiguer cette hypothèse, ils ont créé une classification déterminant le type du spectre Doppler, pour pouvoir le relier au taux de fertilité de leurs patientes. Différents types ont été définis :

- le type A : la composante diastolique est présente mais non continue avec la systole et se termine avant le prochain cycle cardiaque
- le type B : la composante diastolique est présente, continue avec la systole et se termine avant le prochain cycle cardiaque
- Le type C : la composante diastolique est présente et se continue avec la systole ainsi qu'au cours du cycle cardiaque suivant

Ferreira et al. (2007) se sont inspirés de cette classification et ont pu trouver des différences significatives entre les deux groupes de femmes à savoir celles ayant présenté ou non des avortements récurrents.

Le type a été établi pour chaque artère utérine, droite et gauche chez ces patientes, et se présentait de la façon suivante : A/A, A/C, B/B, B/C, C/A, C/C. Le type C/C était beaucoup plus fréquent chez le groupe contrôle (femmes n'ayant pas avorté) que chez les femmes présentant des avortements récurrents (93% vs 60.5%). Donc le type C serait plutôt en corrélation avec une meilleure perfusion utérine ainsi qu'un meilleur taux d'implantation embryonnaire.

Les mesures des index IP montrent des différences significatives également entre les groupes : les valeurs IP des femmes présentant des avortements récurrents sont plus élevés que celles du groupe de contrôle (2.71 ± 0.54 vs 2.3 ± 0.44 ($p < 0.001$)). En milieu de phase lutéale, une augmentation plus importante de la résistance au flux sanguin utérin est constatée chez ces patientes, ce qui ne permet pas un développement correct en début de gestation.

En combinant toutes ces données sur les spectres Doppler et les valeurs IP, ils ont établi que le risque d'avortement spontané était plus faible si les mesures Doppler effectuées en milieu de phase lutéale indiquaient des valeurs IP inférieures à 1.75 et un spectre de type C en comparaison à des valeurs supérieures à 3 et des modèles de type A ou B. Le mode Doppler en seconde phase de cycle menstruel peut permettre d'obtenir un pronostic de réussite de grossesse. Cette méthode est donc susceptible d'identifier les femmes avec une plus haute probabilité de réceptivité endométriale et de développement embryonnaire

normal. Celle-ci pourrait être mise en place avant toute réalisation de transfert embryonnaire lors de programme de fertilisation in vitro, car une relation entre une perfusion utérine inadéquate observée au Doppler et l'avortement spontané a pu être mise en évidence (Ferreira, et al., 2007).

9.3. Utilisation du Doppler couleur puissance

Cette technique relativement nouvelle permet l'étude de la microvascularisation endométriale, et peut être utilisée lors des programmes de fertilisation in vitro afin de trouver le milieu endométrial le plus favorable à l'implantation embryonnaire. Les études précédentes utilisant le mode Doppler couleur pulsé ont largement décrit le modèle du flux sanguin utérin chez la femme, mais de nombreuses critiques ont été soulevées concernant la focalisation de ces études sur l'artère utérine et non sur ces branches terminales (Borini, et al., 2004).

Le mode Doppler puissance utilise des indices différents :

- index de vascularisation (VI) : pourcentage de signaux Doppler puissance dans le volume examiné
- index de flux (FI) : intensité des signaux Doppler puissance
- index du flux vasculaire (VFI) : combinaison des deux facteurs précédents

Ce mode permet d'apporter plus de détails sur le flux endométrial et subendométrial des patientes suivant un programme de fertilisation in vitro. Les femmes enceintes à la suite d'un tel programme présentaient des index IR plus bas et des index VI, FI et VFI plus élevés au niveau des vaisseaux subendométrieux. Les indices du Doppler puissance peuvent donc être utilisés comme valeurs prédictives. La valeur VFI apparaît comme étant la plus prédictive (valeur prédictive positive de 93.8% avec $VFI > 0.24$) avec une sensibilité de 83.3% et une spécificité de 88.9% (Borini, et al., 2004).

En conclusion, de nombreuses études ont impliqué une mauvaise perfusion utérine comme étant un important facteur prédictif du défaut d'implantation. C'est pourquoi il semble important d'établir un modèle du flux sanguin utérin pour obtenir une base de données afin de distinguer d'éventuelles anomalies et de pouvoir donner un pronostic. En effet, il serait intéressant de pouvoir distinguer ces anomalies de vascularisation avant d'entreprendre un éventuel traitement (Engmann, et al., 1999; Borini, et al., 2004). De même, il serait intéressant d'appliquer ces techniques ainsi que l'établissement de valeurs de référence dans l'espèce équine afin de prédire du devenir de toute subfertilité d'origine utérine rapportée.

Discussion

Une meilleure efficacité dans la reproduction de la jument n'est possible que par une meilleure connaissance et compréhension des événements conduisant à la gestation. Nous avons pu constater que la vascularisation utérine tenait une place majeure dans l'établissement d'un environnement utérin favorable au développement embryonnaire puis fœtal. Cependant, à l'heure actuelle, il existe beaucoup de méthodes de diagnostic de fertilité (palpation transrectale, échographie, endoscopie, examens bactériologique, cytologique et histologique...) mais celles-ci ne permettent pas une étude précise de la vascularisation utérine.

L'échographie Doppler a récemment été introduite dans le milieu de la reproduction équine afin d'étudier la vascularisation de l'appareil génital, à la fois pour la prédiction de l'ovulation mais aussi pour l'étude du flux sanguin utérin lors du cycle œstral, de la gestation et lors de changements pathologiques. Néanmoins cette technique présente de nombreuses limites.

Comme nous avons pu le voir, cette technique est l'objet de plusieurs artéfacts, l'« aliasing » par exemple peut influencer la justesse de la mesure de la vitesse du flux sanguin. Elle est aussi l'objet de biais de sélection de zone, l'opérateur choisit arbitrairement un volume échantillon ; de plus, si la taille de cet échantillon est sur ou sous estimée par rapport à la taille du vaisseau, cela peut engendrer des erreurs de mesure de vitesse et de volume sanguin circulant. De même, la mesure de l'angle θ entraîne de grandes variabilités des résultats, et cet angle n'est pas toujours évident à déterminer et va varier selon l'opérateur d'un examen à un autre. De plus, l'arbre vasculaire utérin se présente à certains endroits sous forme de petits vaisseaux tortueux parfois profonds par rapport à la sonde et éventuellement de section inconstante, ce qui entraîne de nouveau des difficultés et erreurs de mesure. Il faut alors faire appel à la technique du Doppler couleur qui permet l'évaluation de la vascularisation par l'appréciation de zones colorées mais celle-ci reste très subjective par rapport à la mesure semi-quantitative obtenue grâce aux index de résistance et surtout moins reproductible.

Il serait intéressant de soulever le problème de la répétabilité et de la reproductibilité de l'échographie Doppler. En effet, étant donné que les mesures sont opérateur-dépendantes et que lors des observations, les vaisseaux sanguins présentent des variations physiologiques notamment à cause des contractions utérines, les résultats sont l'objet d'une grande variabilité. C'est pourquoi il est conseillé d'effectuer plusieurs mesures puis d'en calculer la moyenne, ce qui permet d'améliorer la reproductibilité de l'examen (Valentin, et al., 2001).

Ceci nous amène à discuter des avantages de l'utilisation de l'échographie Doppler en gynécologie équine puisqu'il existe un lien entre la vascularisation utérine et la fertilité de la

jument. Des diminutions d'apport sanguin prédisposent à une diminution de la clairance utérine par diminution d'irrigation du myomètre et à une diminution de la réponse inflammatoire de l'utérus : ceci induit une prédisposition à l'apparition d'endométrite puis d'affections chroniques telles que la lymphangiectasie, l'endométrite chronique. La diminution de vascularisation engendre donc une mauvaise réceptivité utérine qui peut empêcher une gestation d'être menée jusqu'à son terme. Cependant, l'évaluation de l'irrigation utérine semble difficile à mettre en pratique sur le terrain : tout d'abord pour une raison matérielle car un échographe muni d'un système Doppler présente un coût supérieur à un échographe classique, ensuite parce qu'il s'agit d'une technique chronophage qui nécessite de nombreuses mesures suivies de leur interprétation, et enfin parce qu'elle nécessite une formation poussée de l'opérateur. Néanmoins, comme en médecine humaine, cette technique pourrait se justifier pour prédire de la meilleure zone de réceptivité endométriale lors de transfert embryonnaire chez la jument.

CONCLUSION

La subfertilité de la jument constitue un enjeu économique majeur dans le monde équin. Un utérus sain et vascularisé est notamment indispensable pour mener une gestation à son terme. Or cet organe peut être l'objet d'anomalies acquises ou de nombreuses affections en lien avec l'âge, la parité, l'environnement inflammatoire et infectieux.

Parmi les nombreuses causes de subfertilité d'origine utérine, nous avons voulu mettre l'accent sur les perturbations de l'irrigation de l'utérus car des données récentes suggèrent un lien entre les altérations vasculaires utérines et certains changements pathologiques tels que, par exemple, l'endométrite chronique, la lymphangiectasie et la mortalité embryonnaire précoce. Cela nous a conduit à rechercher les méthodes actuellement utilisables pour diagnostiquer les troubles de la fertilité en lien avec la vascularisation utérine. Nous avons pu constater que seules des analyses morphologiques des vaisseaux sanguins de l'endomètre étaient actuellement entreprises lors des examens de routine grâce à l'analyse histologique, et qu'aucune technique n'est encore développée en pratique courante pour évaluer l'efficacité de la perfusion utérine.

Récemment, l'échographie Doppler, méthode non invasive qui permet de visualiser et d'analyser le flux sanguin, a fait son apparition dans le milieu de la gynécologie équine. Cette technique émergente a permis d'établir des modèles sur le flux artériel utérin lors d'étapes « clefs » de l'activité sexuelle de la jument, ainsi que d'observer des changements de vascularisation utérine potentiellement responsables de subfertilité. Cette technique reste encore très peu développée car elle est difficile à mettre en œuvre et les résultats sont soumis à de nombreuses variations liées à la fois aux principes de la technique (artéfacts), aux opérateurs (biais de sélection du volume échantillon, de l'angle θ), à l'anatomie des vaisseaux (technique peu applicable aux petits vaisseaux tortueux) et aux juments (facteur jument). Cependant, cet examen est utilisé depuis quelques années en médecine humaine, notamment lors d'assistance médicale à la procréation afin de s'assurer de la réceptivité de l'endomètre par l'analyse de sa perfusion. Grâce aux valeurs de référence obtenues chez des patientes saines, un pronostic sur les chances d'implantation embryonnaire et du maintien de la grossesse peut être établi. Il serait alors intéressant d'étudier la possibilité d'appliquer un tel protocole lors de transfert embryonnaire chez la jument.

Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon


Dr Etienne GUERIN

Vu : Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Pour le Directeur et par délégation,
LA DIRECTRICE DE L'ENSEIGNEMENT


Professeur Françoise GRAIS

Le Président de la thèse


Professeur M. BERLAND

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 22 DEC. 2009

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F.N GILLY



Bibliographie

- Agrawal, R., et al. 1999.** Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in the normal menstrual cycle : association with changes in ovarian and uterine Doppler blood flow. *Clinical Endocrinology*. Vol. 50, pp. 101-106.
- Agricola, R., et al. 2006.** Microvascularization and proliferation cell nuclear antigen expression in the post-partum endometrium in the mare. *Animal Reproduction Science*. Vol. 94, pp. 417-419.
- Aguilar, J., et al. 2006.** Importance of using guarded techniques for the preparation of endometrial cytology smears in mares. *Theriogenology*. Vol. 66, pp. 423-430.
- Allen, W.E. 1988.** *Fertility and Obstetrics in the Horse*. Oxford : Blackwell Scientific Publications. 173 p.
- Ardaens, Y., et al. 2002.** Apport du Doppler couleur ovarien et utérin dans l'assistance médicale à la procréation. *Gynécol. Obstét. Fertil.* Vol. 30, pp. 663-672.
- Asbury, A.C. et Lyle, S.K. 1993.** Infectious causes of infertility. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 381-391.
- Barone, R. et Poirier, J. 1955.** La muqueuse utérine de la jument. *Rev. Méd. Vét.* pp. 441-451.
- Barone, 2001.** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 . Splanchnologie II . Appareil uro-génital. Foetus et annexes. Péritoine et Topographie abdominale. 3e Edition. Paris : Vigot, 2001. 896 p.
- Barone, 1996.** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 5. Angiologie. Paris : Vigot. 904 p.
- Betsch, J.M. 1992.** Diagnostic de l'infertilité d'origine cervico-utérine chez la jument. *Rec. Méd. Vét. Spécial Reproduction des Equidés*. Vol. 168, 11/12, pp. 1011-1027.
- Betsch, J.M. 2003 a.** Fiche technique : cytologie utérine par lavage. *Prat. Vét. Equine*. 2003, Vol. 35, 138, pp. 51-52.
- Betsch, J.M. 2003 b.** Comment faire une biopsie utérine ? *Prat. Vét. Equine*. Vol. 35, 140, pp. 59-60.
- Betsch, J.M. 2004.** Comment interpréter une cytologie utérine. *Prat. Vét. Equine*. Vol. 36, 142, pp. 59-62.
- Bollwein, H., et al. 1998.** Transrectal color Doppler sonography of the a.uterina in cyclic mares. *Theriogenology*. Vol. 49, pp. 1483-1488.
- Bollwein, H., et al. 2000.** Transrectal doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology*. Vol. 53, pp. 1541-1552.
- Bollwein, H., et al. 2002 a.** Relationships between uterine blood flow, estrogens and nitric oxide in cycling mares. *Theriogenology*. Vol. 58, pp. 575-578.

- Bollwein, H., et al. 2002 b.** Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*. Vol. 65, pp. 2129-2138.
- Bollwein, H., Mayer, R. et Stolla, R. 2003 a.** Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. *Theriogenology*. Vol. 60, pp. 597-605.
- Bollwein, H., Sowade, C. et Stolla, R. 2003 b.** The effect of semen extender, seminal plasma and raw semen on uterine and ovarian blood flow in mares. *Theriogenology*. Vol. 60, pp. 607-616.
- Bollwein, H., et al. 2004 a.** The effect of acetylsalicylic acid and captopril on uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*. Vol. 61, pp. 301-309.
- Bollwein, H., et al. 2004 b.** Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. *Theriogenology*. Vol. 61, pp. 499-509.
- Bollwein, H., Kolberg, B. et Stolla, R. 2004 c.** The effect of exogenous estradiol benzoate and altrenogest on uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*. Vol. 61, pp. 1137-1146.
- Bollwein, H., et al. 2005.** Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*. Vol. 65, pp. 2043-2051.
- Boon, J. A. 1998.** *Manual of Veterinary Echocardiography*. Baltimore : Williams & Wilkins. 478 p.
- Borini, A., et al. 2004.** Colour power Doppler in infertility and ART. *Reviews in Gynaecological Practice*. 4, pp. 230-234.
- Bowling, A.T. et Hughes, J.P. 1993.** Cytogenetic abnormalities. In : A.O. McKinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger. pp. 258-265.
- Bracher, V. et Allen, W.R. 1992.** Videoendoscopic evaluation of the mare's uterus : I. Findings in normal fertile mares. *Equine vet. J.*, Vol. 24, 4, pp. 274-278.
- Bracher, V., Mathias, S. et Allen, W.R. 1992.** Videoendoscopic evaluation of the mare's uterus: II. Findings in subfertile mares. *Equine.vet.J.*, Vol. 24, 4, pp. 279-284.
- Brook, D. 1993.** Uterine Cytology. In : A.O. McKinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 246-254.
- Bruyas, J.F. 2005.** Endométrites post-saillie ou post-insémination : approches thérapeutiques et préventives. *Prat. Vét. équine*. Vol. 37, 147, pp. 5-18.
- Buisson, S. 2008.** Imagerie : Atlas d'images échographiques normales et anormales chez la jument. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire Equine* . Vol. 5, 18, pp. 29-34.
- Cadario, M.E., et al. 1999.** Changes in intrauterine pressure after oxytocin administration in reproductively normal mares and in those with a delay in uterine clearance. *Theriogenology*. Vol. 51, pp. 1017-1025.
- Card, C. 2005.** Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology*. Vol. 64, pp. 580-588.

- Chetboul, V., Pouchelon, J.-L. et Tessier-Vetzel, D., Bureau-Amaglio, S. 1999.** Principes physiques de l'échocardiographie et de l'écho-Doppler. In : V. Chetboul, et al. *Echocardiographie et écho- Doppler du chien et du chat. Atlas en couleur*. Paris : Masson, pp. 3-21.
- Collin, B. 2005.** Appareil génital femelle. *Anatomie du cheval*. Liège : Editions Derouaux Ordina, III, pp. 358-372.
- Daels, P.F. et Hughes, J.P. 1993.**The normal estrus cycle. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 121-132.
- Daels, P.F. et Hughes, J.P. 1993.** The abnormal estrous cycle. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 144-160.
- Dascanio, J.J. 2007.** Treatment of fungal endometritis. In : J.C. Samper; J.F. Pycock et A.O. McKinnon. *Current Therapy in Equine Reproduction*. St Louis : Saunders Elsevier, pp. 116-120.
- Davies Morel, M.C.G. 2008.** Infertility. *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*. Wallingford : CAB International, pp. 237-255.
- Dickey, R.P. 1997.** Doppler ultrasound investigation of uterine and ovarian blood flow in infertility and early pregnancy. *Hum. Reprod. Update.*, Vol. 3, pp. 467-503.
- Doig, P.A. et Waelchli, R.O. 1993.** Endometrial biopsy. In : A.O. McKinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 225-233.
- Engmann, L., et al. 1999.** The pattern of changes in ovarian stromal and uterine artery blood flow velocities during in vitro fertilization treatment and its relationship with outcome of the cycle. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, Vol. 13, pp. 26-33.
- Esteller-Vico, A., et al. 2007.** Effect of vascular degeneration on utero-ovarian blood flow and perfusion in the cyclic mare. *Theriogenology*. Vol. 68, pp. 492-518.
- Evans, M.J. et Irvine, C.H.G. 1975.** Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrous cycle and early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fert., Suppl 23.*, pp. 193-200.
- Evans, T.J., et al. 1998.** Morphometric analysis of endometrial periglandular fibrosis in mares. *American Journal of Veterinary Research.*, Vol. 59, 7, pp. 1209-1214.
- Evans, T.J., et al. 2000.** Relationship between the degree of endometrial periglandular fibrosis and the presence of angiotensin-converting enzyme in the equine endometrium. *J. Reprod. Fertil. suppl 56.*, pp. 393-398.
- Ferreira-Dias, G., Nequin, L.G. et King, S.S. 1994.** Morphologic characteristics of equine endometrium classified as Kenney categories I, II and III, using light and scanning electron microscopy. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 55, 7, pp. 1060-1065.
- Ferreira, A.M., et al. 2007.** Doppler assessment of uterine blood flow in recurrent pregnancy loss. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. Vol. 98, pp. 115-119.
- Ferreira, J.C., Gastal, E.L. et Ginther, O.J. 2008.** Uterine blood flow and perfusion in mares with uterine cysts : effect of the size of the cystic area and age. *Reproduction*. Vol. 135, pp. 541-550.

- Flood, P.F. 1993.** Fertilization, early development, and the establishment of the placenta. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 473-485.
- Ford, S.P., Chenault, J.R. et Echternkamp, S.E. 1979.** Uterine blood flow of cows during the oestrous cycle and early pregnancy : effect of the conceptus on the uterine blood supply. *J. Reprod. Fert.*, Vol. 56, pp. 53-62.
- Ford, S.P. et Chenault, J.R. 1981.** Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, Vol. 62, pp. 555-562.
- Ganjam, V.K., Kenney, R.M. et Flickinger, G. 1975.** Plasma progestagens in cyclic, pregnant and post-partum mares. *J. Reprod. Fert., Suppl. 23.*, pp. 441-447.
- Gill, R.W. 1985.** Measurement of blood flow by ultrasound : Accuracy and sources of errors. *Ultrasound in Med. & Biol.*, Vol. 11, 4, pp. 625-641.
- Ginther, O.J. 1993.** *Reproductive biology of the mare. Basics and applied aspects. 2nd Edition.* Cross Plains : Equi Services. 642 p.
- Ginther, O.J. 1995.** Uterus. *Ultrasonic imaging and animal reproduction : horses. Book 2.* Cross Plains : Equiservices , pp. 89-119.
- Ginther, O.J. et Matthew, D. 2004.** Doppler ultrasound in equine reproduction : Principles, Techniques, and Potential. *Journal of Equine Veterinary Science.* Vol. 24, 12, pp. 516-526.
- Goswamy, R.K., Williams, G. et Steppoes, P.C. 1988.** Decreased uterine perfusion. A cause of infertility. *Hum. Reprod.* Vol. 8, pp. 955-958.
- Grüniger, B., et al. 1998.** Incidence and morphology of endometrial angiopathies in mares in relationship to age and parity. *J.Comp.Path.*, Vol. 119, pp. 293-309.
- Guérin, B. 1992.** Diagnostic bactériologique de la Métrite contagieuse équine : prélèvements, culture et caractérisation de *Taylorella equigenitalis*. *Rec. Méd. Vét.*, Vol. 168, 6/7, pp. 1029-1043.
- Hendriks, W.K., Colenbrander, B. et Stout, T.A.E. 2006.** Effect of administering PGF₂ α or hCG on day 7 after ovulation on ovarian, uterine and luteal blood flow in the mare. *Animal Reproduction Science.* Vol. 94, pp. 223-225.
- Hoffmann, C., et al. 2009.** The equine endometrosis : New insights into the pathogenesis. *Animal Reproduction Science.* Vol. 111, pp. 261-278.
- Holyoak, G.R. et Ley, W.B. 2007.** Management regimens for uterine cysts. In : J.C. Samper; J.F. Pycock et A.O. McKinnon. *Current Therapy in Equine Reproduction* . St Louis : Saunders Elsevier, pp. 121-125.
- Honnens, A., et al. 2008.** Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle. Uterine blood flow in superovulated cattle. *Theriogenology.* Vol. 70, pp. 859-867.
- Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H. et Evans, J.W. 1975.** The oestrous cycle of the mare. *J.Reprod.Fert., Suppl.23.*, pp. 161-166.

- Immegart, H. 2007.** Infertility due to noninflammatory abnormalities of the tubular reproductive tract. In : R.S. Youngquist et W.R. Threlfall. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2nd Edition.* St Louis : Saunders Elsevier, pp. 153-157.
- Jokubkiene, L., et al. 2006.** Assessment of changes in endometrial and subendometrial volume and vascularity during the normal menstrual cycle using three-dimensional power Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, Vol. 27, pp. 672-679.
- Kähn, W. 1994.** Diagnostic échographique chez la jument. *Atlas de diagnostics échographiques.* Paris : Maloine, pp. 11-82.
- Kainer, R.A. 1993.** Reproductive organs of the mare. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction.* Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 3-19.
- Katila, T. 1996.** Uterine defence mechanisms in the mare. *Animal Reproduction Science.* Vol. 42, pp. 197-204.
- Katila, T. 2007.** Uterine contractility. In : J.C. Samper, J.F. Pycocock et A. O. McKinnon. *Current Therapy in Equine Reproduction.* St Louis : Saunders Elsevier, pp. 44-52.
- Kenney, R.M. 1978.** Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *JAVMA.* Vol. 172, 3, pp. 241-262.
- Kenney, R.M. et Doig, P.A. 1986.** Equine endometrial biopsy. In : D.A. Morrow. *Current Therapy in Theriogenology.* Philadelphia : WB Saunders, pp. 723-729.
- Krueger, L., et al. 2008.** Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first 12 weeks after parturition in healthy dairy cows. *Animal Reproduction Science.* pp. 1-9.
- LeBlanc, M.M. 1993 a.** Vaginal examination. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction.* Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 221-224.
- Leblanc, M.M. 1993 b.** Endoscopy. In : A.O. McKinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction.* Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 255-257.
- Leblanc, M.M., et al. 1994.** Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. *Equine vet. J.*, Vol. 26, 2, pp. 109-113.
- LeBlanc, M.M., Magsig, J. et Stromberg, A.J. 2007.** Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology.* Vol. 68, pp. 403-412.
- LeBlanc, M.M. 2008.** When to refer an infertile mare to a theriogenologist. *Theriogenology.* Vol. 70, pp. 421-429.
- Leishman, D., Miller, R.B. et Doig, P.A. 1982.** A quantitative study of the histological morphology of the endometrium of normal and barren mares. *Can. J. Comp. Med.*, Vol. 46, pp. 17-20.
- Liu, I.K.M. et Troedsson, M.H.T. 2008.** The diagnosis and treatment of endometritis in the mare : Yesterday and today. *Theriogenology.* Vol. 70, pp. 415-420.
- Lu, K.G. et Morresey, P.R. 2006.** Reproductive tract infections in horses. *Vet. Clinic. Equine.* Vol. 22, pp. 519-522.

- Ludwig, S., et al. 2002.** Functional pathology of the uterine blood flow in the mare - pathohistologic and Doppler sonographic investigations. *Theriogenology*. Vol. 58, pp. 511-513.
- Mair, T., et al. 1998.** *Equine Medicine, Surgery and Reproduction*. London : WB Saunders Company, 1998. 498 p.
- McCue, P.M. 2008.** The problem mare : Management Philosophy, Diagnostic Procedures, and Therapeutic Options. *Journal of Equine Veterinary Science*. Vol. 28, 11, pp. 619-626.
- McKinnon, A.O., et al. 1993.** Diagnostic ultrasonography. In : A.O. McKinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 266-302.
- Nakai, Y., et al. 1997.** Uterine blood flow velocity waveforms during early postpartum course following caesarean section. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 74, pp. 121-124.
- Newcombe, J.R. 1998.** Understanding the causes, significance and treatment of intra-luminal uterine fluid. *Journal of Equine Veterinary Science*. Vol. 18, 2, pp. 74-78.
- Newcombe, J.R. et Wilson, M.C. 2005.** Age, body weight and pregnancy loss. *Journal of Equine Veterinary Science*. Vol. 25, 5, pp. 188-194.
- Nielsen, J.M. 2005.** Endometritis in the mare : A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*. Vol. 64, pp. 510-518.
- Noden, P.A., Oxender, W.D. et Hafs, H.D. 1975.** The cycle of oestrus, ovulation and plasma levels of hormones in the mare. *J. Reprod. Fertil., Suppl 23.*, pp. 189-192.
- Panarace, M., et al. 2006.** Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. *Theriogenology*. Vol. 66, pp. 2113-2119.
- Perrot-Appianat, M., et al. 1988.** Immuno-cytochemical demonstration of estrogen and progesterone receptors in muscle cells of uterine arteries in rabbits and humans. *Endocrinology*. Vol.123, pp. 1511-1519.
- Plante, C. et Jimenez Escobar, C. 1999.** Reproduction équine : La jument infertile. *La médecine vétérinaire du Québec*. Vol. 29, 3, pp. 149-153.
- Pycock, J.F. 2007.** Therapy for mares with uterine fluid. In : J.C. Samper; J.F. Pycock et A.O. McKinnon. *Current Therapy in Equine Reproduction*. St Louis : Saunders Elsevier, 2007, pp. 93-104.
- Reef, V.B., Sertich, P.L. et Turne, R.M.R. 1998.** *Equine Diagnostic Ultrasound*. Philadelphia : W.B.Saunders Company. 560 p.
- Reiswig, J.D., Threlfall, W.R. et Rosol, T.J. 1993.** A comparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horse. *Equine vet. J.*, Vol. 25, 3, pp. 240-241.
- Ricketts, S. W. 1975.** The technique and clinical application of endometrial biopsy in the mare. *Equine Veterinary Journal*. Vol. 7, 2, pp. 102-107.
- Ricketts, S. 1989.** The barren mare : Diagnosis, prognosis, prophylaxis and treatment for genital abnormality. Part 2. *In Practice*. Vol. 11, 4, pp. 156-165.

- Ricketts, S.W. et Alonso, S. 1991.** Assessment of the breeding prognosis of mares using paired endometrial biopsy techniques. *Equine vet. J.*, Vol. 23, 3, pp. 185-188.
- Ricketts, S.W. 1991.** The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. *Equine vet. J.*, Vol. 23, 3, pp. 189-192.
- Ricketts, S.W., Young, A. et Medici, E.B. 1993.** Uterine and clitoral cultures. In : A.O. McKinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 234-245.
- Ricketts, S. et Troedsson, M.H.T. 2007.** Fertility expectations and management for optimal fertility. In : J.C. Samper; J.F. Pycock et A.O. McKinnon. *Current Therapy in Equine Reproduction*. St Louis : Saunders Elsevier, pp. 53-69.
- Riddle, W.T., LeBlanc, M.M. et Stromberg, A.J. 2007.** Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*. Vol. 68, pp. 395-402.
- Rooney, J.R. et Robertson, J.L. 1996.** *Equine Pathology*. Ames : Iowa State University Press. 482 p.
- Samper, J. C. et Pycock, J.F. 2007.** The normal uterus in estrus. In : J. C. Samper, J.F. Pycock et A. O. McKinnon. *Current Therapy in Equine Reproduction*. St Louis : Saunders Elsevier, pp. 32-35.
- Samuelson, D.A. 2007.** *Textbook of Veterinary Histology*. St Louis : Saunders, 546 p.
- Schalfer, D.H. 2007.** Equine endometrial biopsy : Enhancement of clinical value by more extensive histopathology and application of new diagnostic techniques ? *Theriogenology*. Vol. 68, pp. 413-422.
- Schoon, H.-A, et al. 2000.** Functionnal disturbances in the endometrium of barren mares : a histological and immunohistological study. *J. Reprod. Fertil. suppl 56.*, pp. 381-391.
- Sharp, D.C. et Davis, S.D. 1993.** Vernal transition. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 133-143.
- Shideler, R.K. 1993 a.** History. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 196-198.
- Shideler, R.K. 1993 b.** External examination. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 199-203.
- Shideler, R.K. 1993 c.** Rectal palpation. In : A.O. Mc Kinnon et J.L. Voss. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 204-210.
- Silva, L.A., et al. 2005.** Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biology of Reproduction*. 72, pp. 755-761.
- Sladkevicius, P., Valentin, L. et Marsal, K. 1993.** Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the normal menstrual cycle. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, Vol. 3, pp. 199-208.
- Sprague, B.J., Phernetton, T.M. et Magness, R.R., Chesler, N.C. 2009.** The effects of the ovarian cycle and pregnancy on uterine vascular impedance and uterine artery mechanics. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. Vol. 144, pp. 170-178.

- Squires, E.L. 1993.** Progesterone. In : A.O. Mc Kinnon, Voss et J.L. *Equine Reproduction*. Philadelphia : Lea & Febiger, pp. 57-64.
- Stanton, M.B., Steiner, J.V. et Pugh, D.G. 2004.** Endometrial cysts in the mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. Vol. 24, 1, pp. 14-19.
- Swerczek, T.W. et Caudle, A.B. 2007.** Bacterial causes of subfertility and abortion in the mare. In : R.S. Youngquist et W.R. Threlfall. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 2nd Edition. St Louis : Saunders Elsevier, pp. 168-175.
- Threlfall, W.R. et Carleton, C.L. 1997.** Mare's genital tract. In : J.L. Traub- Dargatz et C.M. Brown. *Equine endoscopy*. 2nd Edition. St Louis : C. V. Mosby Company, pp. 204-216.
- Tinkanen, H., Kujansuu, E. et Laippala, P. 1994.** Vascular resistance in uterine and ovarian arteries : its association with infertility and the prognosis of infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. pp.111-115.
- Troedsson, M.H. et Liu, I.K. 1991.** Uterine clearance of non-antigenic markers (⁵¹C) in response to a bacterial challenge in mares potentially susceptible and resistant to chronic uterine infections. *J. Reprod. Fertil.*, 44, pp. 283-288.
- Troedsson, M.H.T. 1991.** Uterine clearance of non-antigenic markers (⁵¹C) in response to a bacterial challenge in mares potentially susceptible and resistant to chronic uterine infections. *J. Reprod. Fertil.*, 44, pp. 283-288.
- Troedsson, M.H.T. 1999.** Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*. Vol. 52, pp. 461-471.
- Troedsson, M.H.T. 2006.** Breeding-induced endometritis in mares. *Vet. Clinic. Equine*. Vol. 22, pp. 705-712.
- Valentin, L., Sladkevicius, P. et Bland, M. 2001.** Intraobserver reproductibility of Doppler measurements of uterine artery blood flow velocity in premenopausal women. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, Vol. 17, pp. 431-433.
- Waite, L.R., et al. 1990.** Use of ultrasonic Doppler waveforms to estimate changes in uterine artery blood flow and vessel compliance. *J. Anim. Sci.*, Vol. 68, pp. 2450-2458.
- Watson, E.D. 2000.** Post-breeding endometritis in the mare. *Animal Reproduction Science*. Vol. 60-61, pp. 221-232.
- Wolfsdorf, K. et Caudle, A.B. 2007.** Inflammation of the tubular reproductive tract of the mare. In : R.S. Youngquist et W.R. Threlfall. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 2nd Edition. St Louis : Saunders Elsevier, pp. 158-167.

Pauline LOUGUET

Subfertilité d'origine utérine chez la jument : méthodes actuelles de diagnostic et application à l'échographie Doppler

Thèse Vétérinaire : Lyon, le 22 Janvier 2010

RESUME :

Les troubles de la fertilité constituent un enjeu économique majeur dans le monde équin. Parmi les nombreuses causes, les affections de l'utérus tiennent une place importante et les données récentes suggèrent un lien entre les altérations vasculaires utérines et certains changements pathologiques. Lors de la démarche diagnostique, le praticien devra donc mettre en œuvre une série d'exams de façon méthodique afin de préciser l'étiologie de la subfertilité.

La technique émergente d'échographie en mode Doppler permet d'évaluer l'efficacité de la perfusion de l'utérus et de juger de la gravité et de l'étendue des lésions vasculaires. Elle confirme ainsi l'importance d'une vascularisation utérine adéquate dans les résultats et le pronostic de fertilité de la jument. Une application de cette nouvelle technique pourrait être envisagée lors de transfert embryonnaire.

MOTS CLES :

- jument
- subfertilité
- utérus
- vascularisation
- Doppler

JURY :

- | | |
|------------------|--|
| Président : | Monsieur le Professeur BERLAND Michel |
| 1er Assesseur : | Madame le Docteur LEFRANC Anne-Cécile
Remplacée par le Professeur GUERIN Pierre |
| 2ème Assesseur : | Monsieur le Professeur CADORE Jean-Luc |

DATE DE SOUTENANCE :

22 Janvier 2010

ADRESSE DE L'AUTEUR :

1, allée du petit matin
59910 BONDUES