

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n°112

***RELATION ENTRE HYPOTHYROÏDIE ET INSUFFISANCE  
LUTEALE CHEZ LA CHIENNE GESTANTE : ETUDE  
RETROSPECTIVE SUR 27 CAS PRESENTES AU CERREC  
ENTRE 2009 ET 2018***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 11 décembre 2018  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*ROCHE Marie-Clémence*



VetAgro Sup





**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n°112

***RELATION ENTRE HYPOTHYROÏDIE ET INSUFFISANCE  
LUTEALE CHEZ LA CHIENNE GESTANTE : ETUDE  
RETROSPECTIVE SUR 27 CAS PRESENTES AU CERREC  
ENTRE 2009 ET 2018***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 11 décembre 2018  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*ROCHE Marie-Clémence*





## Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (1er mars 2018)

Nom	Prénom	Département	Grade
ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DEMONT	Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
JAUSSAUD	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
JEANNIN	Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Contractuel
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDoux	Dorothee	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Stagiaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MATEOS	Stevana	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
RIVES	Germain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur



## *Remerciements*

**A Monsieur le Professeur Pierre Cochat,**  
De la Faculté de Médecine Claude Bernard à Lyon,  
Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.  
Respectueux hommages.

**A Monsieur le Professeur Thierry Buronfosse,**  
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,  
Pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail.  
Merci pour son soutien, sa disponibilité, sa gentillesse.  
Qu'il trouve ici l'expression de ma plus sincère gratitude.

**A Monsieur le Professeur Samuel Buff,**  
De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,  
Pour avoir rendu ce travail possible et collaboré à sa réalisation,  
Toute notre gratitude et remerciements respectueux.

**Au Docteur Emilie Rosset,**  
De VetAgroSup, Campus Vétérinaire de Lyon,  
Pour nous avoir proposé ce sujet et pour m'avoir épaulée pendant toutes ces années.  
Merci du fond du cœur pour ce soutien sans failles.









## ***Table des matières***

Table des figures .....	15
Table des tableaux .....	19
Tables des annexes .....	21
Liste des abréviations .....	23
<b>Introduction</b> .....	<b>25</b>
<b>PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>27</b>
<b>I. DEROULEMENT ET SUIVI DE LA REPRODUCTION ET DE LA GESTATION CHEZ LA CHIENNE</b> .....	<b>29</b>
A. REPRODUCTION DANS L'ESPECE CANINE : DONNEES GENERALES.....	29
1 Cycles sexuels chez la chienne .....	29
2 Endocrinologie des cycles œstraux .....	30
2.1 Pendant l'anœstrus .....	30
a. Définition .....	30
b. Endocrinologie de l'anœstrus .....	30
2.2 Le pro-œstrus.....	31
a. Définition .....	31
b. Le pré-prœstrus .....	31
c. Le pic de LH.....	32
2.3 L'œstrus.....	34
a. Définition .....	34
b. Contrôle hormonal de l'ovulation .....	34
c. Maturation de l'oocyte et période fertile.....	34
2.4 Le diœstrus ou metœstrus.....	35
B. PROGESTERONE ET CORPS JAUNE CHEZ LA CHIENNE GESTANTE.....	36
1 <i>La progestérone : une hormone sécrétée par le corps jaune et nécessaire au maintien de la gestation</i> .....	36
a. Biosynthèse de la progestérone .....	36
i) Formule chimique .....	36
ii) Lieu de synthèse de la progestérone.....	36
iii) Contrôle de la synthèse de progestérone .....	37
iv) Formation de la progestérone .....	37
b. Transport et stockage.....	39
c. Mode d'action cellulaire de la progestérone .....	39
d. Action sur les organes cibles .....	39
i) Action sur l'hypothalamus et le cerveau en général .....	39
ii) Action sur l'utérus .....	40
iii) Action sur l'oviducte .....	40
iv) Action sur la glande mammaire.....	40
e. Catabolisme de la progestérone.....	41

a.	Rôle de la progestérone .....	42
b.	Taux de progestérone pendant la gestation .....	42
c.	Facteurs influençant les mesures de progestérone .....	43
i)	Variations physiologiques de la progestérone.....	43
ii)	Facteurs pouvant influencer les dosages .....	43
3	<i>Le corps jaune : une glande sécrétoire endocrine</i> .....	43
3.1	Formation et évolution du corps jaune gestatif .....	43
3.2	Evolution histologique du corps jaune .....	44
3.3	Maintien du corps jaune : les hormones lutéotrophique.....	45
a.	La prolactine.....	45
b.	Rôle de la LH .....	46
c.	La relaxine.....	47
d.	Rôle autocrine et paracrine de la progestérone et de l'œstradiol-17β.....	47
e.	Les prostaglandines PGE2α .....	47
4	<i>Régression du corps jaune et hormones responsables de la lutéolyse</i> .....	48
C.	DEROULEMENT ET SUIVI DE LA GESTATION.....	49
1	<i>Stades de la gestation d'après (Holst and Phemister, 1971; Pretzer, 2008a; Versteegen-Onclin and Versteegen, 2008b)</i> .....	49
a.	La phase embryonnaire libre .....	49
b.	Fixation à l'endomètre et développement embryonnaire .....	50
i)	Implantation de l'embryon .....	50
ii)	Développement des annexes fœtales ou embryonnaires .....	51
iii)	Développement de l'embryon .....	52
a.	Développement du fœtus.....	52
b.	Différenciation sexuelle .....	52
2	<i>Suivi de gestation : intérêt et mise en pratique</i> .....	53
2.1	Déterminer la date d'ovulation.....	53
a.	Dosages hormonaux .....	53
c.	Cytologies vaginales .....	54
2.2	Le diagnostic de gestation .....	55
a.	Palpation abdominale .....	55
b.	Radiographie abdominale.....	55
d.	Echographie.....	55
2.3	Surveillance du bon déroulement de la gestation.....	56
a.	Facteurs de risques et anamnèse.....	56
b.	Gestion en clinique de la chienne gestante.....	57
c.	Viabilité des fœtus : détection des problèmes .....	57
i)	Signes cliniques de perte fœtale .....	57
ii)	Signes échographiques à surveiller .....	57
iii)	Dosages hormonaux .....	58
iv)	Importance de l'estimation de la date de mise bas et critères de maturité fœtale.....	58

<b>II. L'INSUFFISANCE LUTEALE : UNE CAUSE D'AVORTEMENTS PRECOCES CHEZ LA CHIENNE.....</b>	<b>60</b>
A. DONNEES GENERALES SUR L'INFERTILITE ET LES AVORTEMENTS CHEZ LA CHIENNE.....	60
1 Définitions.....	60
2 Conduite à tenir lors d'une résorption fœtale ou d'un avortement.....	60
2.1 Détecter un arrêt de la gestation.....	60
2.2 Identifier la cause.....	61
a. Etiopathogénie des avortements chez le chien.....	61
b. Anamnèse.....	61
i) Historique général de la chienne.....	61
ii) Historique reproducteur de la chienne.....	61
a. Examen clinique.....	61
b. Examens complémentaires.....	62
i) Cytologie vaginale et cultures bactériennes.....	62
2.3 Etiologies des avortements chez la chienne.....	62
a. Les causes infectieuses.....	62
i) Les bactéries.....	62
ii) Les protozoaires.....	65
iii) Les virus.....	66
b. Les causes non infectieuses.....	67
D. INSUFFISANCE LUTEALE : DEFINITION ET GESTION MEDICALE.....	68
1 Définition et importance de l'insuffisance lutéale.....	68
2 L'insuffisance lutéale chez la femme.....	69
3 Diagnostic de l'insuffisance lutéale : un diagnostic d'exclusion.....	69
4 Traitement de l'insuffisance lutéale.....	70
4.1 Différentes molécules disponibles et pharmacologie.....	70
4.2 Recommandations concernant le traitement.....	70
4.3 Effets secondaires.....	71
<b>III. L'HYPOTHYROÏDIE : UNE CAUSE SUSPECTEE D'INFERTILITE D'ORIGINE ENDOCRINIENNE. ....</b>	<b>72</b>
A. DONNEES GENERALES SUR L'HYPOTHYROÏDIE.....	72
1 Anatomie et physiologie de la thyroïde.....	72
a. Description anatomique.....	72
b. Description histologique.....	72
a. Synthèse et sécrétion.....	72
i) Importance de l'iode.....	72
ii) Synthèse des hormones thyroïdiennes.....	72
iii) Libération des hormones thyroïdiennes.....	73
iv) Transport des hormones thyroïdiennes.....	74
v) Mécanisme d'action.....	74
vi) Organes cibles et rôles des hormones thyroïdiennes.....	75
vii) Catabolisme.....	75
2 L'hypothyroïdie chez le chien.....	77
2.1 Physiopathologie de l'hypothyroïdie chez le chien.....	77
a. L'hypothyroïdie primaire.....	77
i) Thyroïdite lymphoplasmocytaire.....	77

ii) Atrophie idiopathique.....	77
b. L'hypothyroïdie secondaire.....	78
c. L'hypothyroïdie tertiaire .....	78
d. L'hypothyroïdie d'origine congénitale.....	78
e. L'hypothyroïdie fonctionnelle et « euthyroïd sick syndrom ».....	79
i) Dysendocrinies et hypothyroïdie fonctionnelle.....	79
ii) Euthyroïd sick syndrom .....	79
2.2 Epidémiologie .....	79
2.3 Les signes cliniques associés.....	80
a. Symptômes généraux .....	80
b. Anomalies de la peau .....	80
c. Signes neurologiques et atteintes neuromusculaires .....	80
d. Anomalies de la fonction reproductrice .....	81
e. Anomalies cardiovasculaires.....	81
f. Anomalies oculaires .....	81
g. Anomalies gastrointestinales .....	81
h. Anomalies de la formule sanguine et de la biochimie.....	81
<b>B. BIOCHIMIE DE LA THYROÏDE ET APPLICATION AU DIAGNOSTIC ET AU TRAITEMENT DE L'HYPOTHYROÏDIE.....</b>	<b>82</b>
1 <i>Exploration biochimique de la fonction thyroïdienne dans le cadre d'une recherche d'hypothyroïdie .....</i>	<i>82</i>
a. Dosage de la T4 totale basale .....	82
i) Définition et méthodes de dosage.....	82
ii) Méthodes de dosages.....	82
iii) Interprétation des résultats.....	83
b. Dosage de la TSH basale.....	83
i) Définitions et méthodes de dosage.....	83
ii) Interprétation des résultats.....	83
a. Test de stimulation à la TSH .....	84
b. Dosage de la T4 libre.....	84
i) Principes .....	84
ii) Applications .....	84
iii) Méthodes de dosages.....	84
c. Dosage de la T3.....	85
d. Intêret de la détection des auto-anticorps dirigés contre la thyroglobuline (AAcTg). .....	85
c. Apport de l'imagerie .....	86
2 <i>Facteurs de variations des hormones thyroïdiennes circulantes .....</i>	<i>86</i>
2.1 En fonction du sexe .....	86
2.2 En fonction de l'âge .....	87
2.3 En fonction de la race, de la taille ou de la condition physique.....	87
2.4 En fonction de l'administration de médicaments .....	87

2.5	En fonction d'une maladie concomitante .....	88
2.6	Effets de la conservation, de l'hémolyse, de la congélation des échantillons .....	89
3	<i>Les traitements de l'hypothyroïdie</i> .....	89
C.	INFLUENCE DE LA THYROÏDE SUR LA FONCTION REPRODUCTRICE.....	92
1	<i>Fonction thyroïdienne et reproductrice : des relations étroites</i> .....	92
a.	Pendant le développement embryonnaire.....	92
d.	Pendant la puberté et à l'âge adulte.....	92
a.	Hormones thyroïdiennes et fonctionnement ovarien .....	93
b.	Rôle de la thyroïde pendant la grossesse, chez la femme .....	93
2	<i>Les troubles de la reproduction associés à l'hypothyroïdie chez la femme et chez la chienne.</i> .....	95
2.1	Etude chez la femme .....	95
a.	Quelques définitions.....	95
b.	En dehors de la grossesse .....	95
c.	Hypothyroïdie chez la femme enceinte .....	95
2.2	Etude chez la chienne .....	96
a.	En dehors de la gestation.....	96
b.	Chez la chienne gestante .....	97

**DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE DE CAS D'INSUFFISANCE LUTEALE ENTRE 2009 ET 2018 .....** 105

**I. OBJECTIFS DE L'ETUDE .....** 105

**II. MATERIEL ET METHODES.....** 105

1	<i>Recueil des cas au CERREC et sélection des dossiers</i> .....	105
a.	Suivi de chaleur, détermination du moment de l'ovulation, inséminations artificielles au CERREC.....	106
b.	Diagnostic et suivi de la gestation .....	106
c.	Données disponibles pour l'étude .....	106
d.	Complémentation en progestérone micronisée (UTROGESTRAN ND).....	107
2	<i>Difficultés rencontrées pendant l'étude</i> .....	108
2.1	Lors de la sélection des dossiers.....	108
2.2	Lors de l'utilisation des prélèvements stockés au CRB .....	108
3	<i>Présentation des effectifs sélectionnés</i> .....	109
3.1	Nombre de cas disponibles.....	109
3.2	Age des animaux .....	109
3.3	Répartition des races en fonction du gabarit .....	110
4	<i>Saisie des dossiers</i> .....	112
5	<i>Collecte des échantillons au CRB- CryAnim</i> .....	113
5.1	Présentation du crb .....	113
5.2	Utilisation des échantillons dans le cadre de notre étude.....	113
6	<i>Dosages des hormones thyroïdiennes au laboratoire de Biochimie de VetAgro Sup</i> .....	114

<b>III. PRESENTATION DES RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>114</b>
1 <i>Résultats et discussion.....</i>	114
2 <i>Effet de la prise d'antibiotiques .....</i>	119
3 <i>Etude de deux cas particuliers .....</i>	121
3.1 Cas n°1 .....	121
3.2 Cas n°2 .....	124
<b>IV. SYNTHÈSE DE L'ÉTUDE RETROSPECTIVE .....</b>	<b>127</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>129</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>131</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>147</b>



## *Table des figures*

Figure 1 : Diminution des pulses de LH et FSH juste avant le pic de LH (Concannon, 2009).....	32
Figure 2 : Augmentation de la progestérone conjointe au pic de LH (Concannon, 2009).....	33
Figure 3: Diminution de l'oestradiol et augmentation de la progestérone autour du pic de LH(Concannon, 2009).....	33
Figure 4 : Formule chimique de la Progestérone .....	36
Figure 5 : Enzymes clefs et biosynthèses des stéroïdes dans les ovaires (d'après Hsuech 1989).....	37
Figure 6 : La stéroïdogénèse: du cholestérol aux stéroïdes sexuelles (Thibault and Levasseur, 2001).....	38
Figure 7 : Catabolisme de la progestérone d'après Henricks et Mayer (1977) .....	41
Figure 8: Moyenne de la progestérone plasmatique définie d'après 10 études portant sur 109 chiennes (Sontas et al., 2012).....	42
Figure 9 : Follicule primordial .....	44
Figure 10 : Follicule tertiaire.....	44
Figure 11 : Ovulation .....	44
Figure 12 Corps hémorragique.....	45
Figure 13 : Structure histologique .....	45
Figure 14 : Le stade Morula .....	49
Figure 15 Le développement du blastocyte,.....	50
Figure 16 : Ecllosion du blastocyte et envahissement du placenta, d'après <a href="http://www.embryology.ch/francais/iperiodembry/carnegie02.html">http://www.embryology.ch/francais/iperiodembry/carnegie02.html</a> .....	50
Figure 17 : Annexes fœtales chez le chien .....	51
Figure 18 : Fœtus de chien et leurs annexes à terme (Al= allantoïde, Am=amnios, P=placenta) (Aralla et al., 2013). .....	51
Figure 19 : Structure des hormones thyroïdiennes et de leurs précurseurs (Feldman and Nelson, 2004). .....	73
Figure 20 : Implication de l'axe hypothalamo-hypophysaire dans la régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes par la glande thyroïde, et voies d'éliminations de ces hormones, d'après (Choksi et al., 2003).....	76

Figure 21 : Valeurs médianes de la T4 totale, T4 libre et de la TSH chez les chiens hypothyroïdiens et atteints d'une maladie concomitante, d'après (Diaz Espineira et al., 2007).....	88
Figure 22 : Physiologie de l'adaptation de la fonction thyroïdienne lors de la grossesse, d'après (Glincoer, 1999).....	94
Figure 23 : Concentrations en progestérone sérique pendant les 9 semaines qui suivent l'ovulation chez les 3 groupes d'intérêt, d'après (Thuróczy et al., 2016). .....	98
Figure 24: Corrélation entre la progestérone et la T4 chez le groupe avortement pendant la première semaine de gestation, d'après (Thuróczy et al., 2016).....	99
Figure 25: Corrélation entre la progestérone et la T4 chez le groupe gestant pendant la première semaine de gestation, d'après (Thuróczy et al., 2016).....	99
Figure 26 : Progestéronémie plasmatique pendant la gestation en fonction du statut insuffisant lutéal (il=oui) ou non (il=non).....	114
Figure 27 Concentrations en progestérone pendant la quatrième semaine de gestation, selon le statut insuffisant lutéal ou non. ....	115
Figure 28 : Répartition des concentrations en T4 totale dans les deux dernières semaines de gestation, selon le statut insuffisant lutéal (à gauche) ou non (à droite). ....	116
Figure 29 Diagramme des moyennes de la T4 totale dans les deux dernières semaines de gestation, selon le statut insuffisant lutéal (il = oui) ou non (il=non).....	117
Figure 30 Répartition des concentrations en TSH basale, selon le statut insuffisant lutéal (à droite), ou non (à gauche). ....	118
Figure 31 : Variation de la fT4 en fonction du statut insuffisant lutéal (il=oui) ou non (il=non).....	119
Figure 32: Variation de la T4 totale en fonction de la prise d'antibiotiques (atb=oui) ou non (atb=non) .....	120
Figure 33: Variation de la T4 libre en fonction de la prise d'antibiotiques (atb=oui) ou non (atb=non) .....	120
Figure 34: Variation de la concentration en progestérone pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans, (Rang de suivi au CERREC= 3).....	121
Figure 35: Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans, (Rang de suivi au CERREC= 3).....	121
Figure 36: Variation de la T4 libre pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans, (Rang de suivi au CERREC= 3).....	122

Figure 37: Variation de la TSH basale pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans (Rang de suivi au CERREC= 3).....	122
Figure 38: Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 4 ans, non complétementée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1).....	123
Figure 39 Variation de la T4 libre pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 4 ans, non complétementée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1) .	123
Figure 40: Variation de la progestérone pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 4 ans, non complétementée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1) .....	124
Figure 41 Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complétementée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1).....	124
Figure 42: Figure 41 Variation de la TSH pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complétementée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1).....	125
Figure 43 : Variation de la T4 libre pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complétementée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1).....	126
Figure 44: Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complétementée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1).....	126



## ***Table des tableaux***

Tableau I : Cytologies vaginales, dosage de progestérone et cycle œstral, d'après (Groppeti et al, 2015).....	54
Tableau II : Age de première apparition de certaines observations par échographie transabdominale dans la première moitié de la gestation chez la chienne, d'après (England et al., 1990).....	57
Tableau III : Les différentes bactéries mises en cause dans les avortements chez la chienne : Importance, source de contamination, pathogénie, signes cliniques associés et méthode diagnostiques recommandées, d'après (Antunes et al., 2016; Bulgin et al., 1984; Burnens et al., 1992; Daniel Givens and Marley, 2008; Doig et al., 1981; Linde, 1983; Odendaal et al., 1994; Pretzer, 2008b; Wanke, 2004).....	63
Tableau IV : Protozoaires pouvant être impliqués dans les avortements chez la chienne : Importance, source de contamination, pathogénie, signes cliniques associés et méthode diagnostiques recommandées, d'après (Chamberlain et al., 1953; Dubey et al., 2007, 1990; Pretzer, 2008b). .....	65
Tableau V : Virus impliqués dans les avortements chez la chienne: Importance, source de contamination, pathogénie, signes cliniques associés et méthode diagnostiques recommandées d'après (Krakowka, 1977; Ronsse et al., 2004; Verstegen et al., 2008). .....	66
Tableau VI : Effectifs de l'étude en fonction du gabarit .....	109
Tableau VII : Répartition des races considérées dans l'étude .....	110
Tableau VIII: Répartition des races sélectionnées lors de la lecture des dossiers .....	111



## *Tables des Annexes*

Annexe 1.....	147
---------------	-----





## *Liste des abréviations*

GnRH : Gonadotrophin Releasing Hormone  
LH : Luteinizing Hormone  
FSH : Follicule Stimulating Hormone  
IA : Insémination Artificielle  
ARNm : Acide ribonucléique messenger  
PGF : Prostaglandine F  
PGE2alpha : Prostaglandine 2 alpha  
STAR : Steroidogenic Acute Regulatory  
SRY : Sex Determining Gene  
TDF : Testis Determining Factof  
MGG : May Grünwald Giemsa  
PNN : Polynucléaire Neutrophile  
TSH : Thyroid Stimulating Hormone  
MIT : Monoiodotyrosine  
DIT : Diiodotyrosine  
T4 : thyroxine  
T3 : triiodo-L-thyronine  
rT3 : reverse T3  
fT4 : free T4, thyroxine libre  
TBG : Thyroid Hormone Binding Globulin  
TRE: Thyroid Response Elements  
TRH : Thyrotropin Releasing Hormon  
hCG : Human Chorionic Gonadotropin  
PAL: Phosphatases alcalines  
ALAT : Alanine aminotransférase  
CK : Créatinine Kinase  
AAcTG : Auto-anticorps contre la thyroglobuline  
AAcTPO: Auto-anticorps contre la thyroperoxydase  
AITD: Auto-immune Thyroid Disease  
Bpm : Battements par minutes  
PO : per os  
IM : intra-musculaire  
SID : une fois par jour  
BID : deux fois par jour  
TID : trois fois par jour  
QID : quatre fois par jour  
ATB : Antibiotiques  
IL : Insuffisance lutéale  
CERREC : Centre d'Etude et Recherche en Reproduction et Elevage Canin  
CRB Cry-Anim : Centre de Ressources Biologiques CryAnim



## INTRODUCTION

L'insuffisance lutéale se définit comme une incapacité du corps jaune à produire une quantité suffisante de progestérone nécessaire au maintien de la gestation, secondaire à un défaut de son développement ou à un arrêt de son fonctionnement.

Cette affection, d'abord décrite chez la femme comme une cause d'avortements précoces, est une cause hormonale d'arrêt de la gestation chez la chienne.

Son diagnostic se fonde sur des critères de suspicion clinique et les stratégies thérapeutiques reposent sur l'administration d'une complémentation hormonale en progestérone, avec un suivi régulier de l'animal.

Récemment, des études suggèrent qu'il existerait un lien entre cette chute observée de la progestéronémie sérique et une chute de la thyroxine totale, hormone produite par la thyroïde et fixée aux protéines responsables de leur transport plasmatique (Thuróczy et al., 2017).

La thyroïde, dont le rôle est majeur dans le déroulement normal de la gestation, a aussi une implication majeure dans la fertilité chez l'être humain. En effet, les femmes hypothyroïdiennes ont moins de chance de tomber enceinte.

Chez la femme, la grossesse peut être révélatrice d'une hypothyroïdie gestationnelle qui se manifeste par un avortement ou une prématurité.

A la lumière des connaissances apportées par la médecine humaine, les recherches actuelles en médecine vétérinaire tendent à définir le rôle que pourrait avoir un dysfonctionnement de la thyroïde dans l'infertilité, et plus précisément dans les avortements chez la chienne.

Afin d'étudier l'existence supposée entre l'insuffisance lutéale et une hypothyroïdie dite gestationnelle, nous décomposerons notre travail en deux axes de recherche.

La première partie est une étude bibliographique de la fonction reproductrice chez la chienne, puis de cette entité qu'est l'insuffisance lutéale.

Ainsi, nous aborderons dans un premier temps la physiologie de la reproduction et de la gestation chez la chienne. Puis nous ferons le bilan des connaissances actuelles concernant l'insuffisance lutéale chez la chienne.

Enfin, nous expliquerons le rôle de la thyroïde dans les conditions physiologiques, les différents types hypothyroïdies et leurs causes chez le chien et enfin son implication dans la fonction reproductrice et son lien suspecté avec l'insuffisance lutéale.

Les données issues de la médecine humaine viendront compléter notre travail.

La seconde partie de notre travail consiste en l'étude rétrospective de 27 cas de chiennes insuffisantes lutéales présentées au CERREC entre 2009 et 2018. L'objectif de cette étude est le dosage de la T4 totale, de la T4 libre et de la TSH durant la gestation chez ces chiennes afin d'évaluer la fonction thyroïdienne pendant la gestation chez ces animaux ayant présenté une chute de la progestérone sérique et ayant fait l'objet d'une complémentation.



**Première partie :**  
**Etude bibliographique**



## Première Partie : Etude Bibliographique

### **I. DEROULEMENT ET SUIVI DE LA REPRODUCTION ET DE LA GESTATION CHEZ LA CHIENNE**

#### **A. REPRODUCTION DANS L'ESPECE CANINE : DONNEES GENERALES**

##### ***1 Cycles sexuels chez la chienne***

###### **1.1 LA PUBERTE**

Les mécanismes endocriniens mis en jeux sont d'abord l'activation de l'axe gonadotrope qui était quiescent jusqu'alors.

La sécrétion pulsatile de GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone) par l'hypothalamus et les gonadotrophines LH (Luteinizing Hormone) et FSH (Follicule Stimulating Hormone) par l'hypophyse, restent peu étudiés chez le chien. De nombreux facteurs environnementaux (rythme circadien, alimentation) et l'activité de neuropeptides stimulateurs des neurones à GnRH (glutamate, kisspeptines, neurokinine D), entraînent l'augmentation de la sécrétion de GnRH et ainsi une réactivation de l'axe gonadotrope (Saint-Dizier 2014).

La chienne est qualifiée de pubère lorsque celle-ci devient sexuellement mature et apte à reproduire, c'est-à-dire qu'elle présente son premier pro-œstrus. L'âge de la puberté varie autour de 6 à 20 mois et est étroitement lié à la race de l'animal. En effet, les petites races peuvent présenter leurs premières chaleurs à l'âge de 4 mois, tandis qu'il faut parfois attendre l'âge de 2 ans pour les races géantes. La principale modification physique visible est l'augmentation de la taille des organes génitaux (Concannon, 2010; Root Kustritz, 2012).

###### **1.2 LES CYCLES SEXUELS**

Les chiennes sont des espèces non-saisonnnières (excepté le Basenji dont l'œstrus a lieu en automne) monocycliques, et ovulant spontanément.

Le cycle œstral de la chienne est classiquement divisé en 4 phases :

- Le **pro-œstrus** est défini comme le premier signe de fertilité visible chez la chienne. Souvent remarqué par le propriétaire, celui-ci se manifeste par une augmentation de la taille de la vulve et des pertes séro-hémorragiques (Jeffcoate and Lindsay, 1989).
- L'**œstrus** est défini par le comportement d'acceptation du mâle. Cette période est aussi qualifiée de « chaleurs ».
- Le **metœstrus ou diœstrus** démarre à l'arrêt de l'acceptation du mâle avec la fin des chaleurs.
- L'**anœstrus** correspond à la période pendant laquelle aucun signe de fertilité n'est détectable chez la chienne.

L'**intervalle inter-œstrus**, est l'intervalle entre le début du premier pro-œstrus et celui du pro-œstrus suivant. Cet intervalle varie selon les chiennes (en particulier selon la race), et chez les individus eux-mêmes. La moyenne se situe autour de 6 à 7 mois, avec une période pouvant aller de 5 à 12 mois. Les bergers allemands par exemples ont un intervalle inter-œstrus court durant environ 150 jours.

L'inter-œstrus peut aussi dépendre de facteurs environnementaux : en effet, des chiennes en anœstrus placées avec des chiennes en œstrus peuvent déclencher un pro-œstrus en quelques semaines. De plus, des chiennes résidant au même endroit ont souvent des cycles synchronisés.

L'intervalle inter-œstrus ne varie pas significativement, que la chienne soit gestante ou non (Linde Forsberg and Wallén, 2008; Root Kustritz, 2012; Sokolowski et al., 1977)

### 1.3 LA GESTATION

La gestation chez la chienne dure 65 +/- 1 jours et sa phase lutéale dure 64 jours.

En l'absence de gestation, la phase lutéale sera égale voir légèrement plus longue d'environ 5 jours que la phase lutéale de la gestation (55 à 75 jours) (Concannon, 2009).

Les tailles normales de portées varie entre 2 et 16 petits, avec une moyenne variant selon la race autour de 5 à 8, plus ou moins corrélé à la taille de la race (Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008a).

## 2 *Endocrinologie des cycles œstraux*

La différence entre le cycle d'une chienne gestante et le cycle d'une chienne non gestante semble mince. En effet, dans les deux cas, la phase lutéale, période pendant laquelle le corps jaune persiste, dure environ deux mois.

Nous allons dans cette partie étudier l'endocrinologie des différentes phases du cycle sexuel de la chienne, puis nous aborderons ensuite les spécificités de la chienne gestante (Concannon et al., 1989; Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008a).

### 2.1 PENDANT L'ANŒSTRUS

#### a. Définition

L'anœstrus chez la chienne implique l'absence de quelconque activité ovarienne. La durée moyenne de l'anœstrus est de 18 à 20 semaines après que la progestérone soit passée en dessous d'un seuil de 3 nmol/L. Ceci est particulièrement important pour l'involution de l'endomètre qui sera complète après 120 à 130 jours (Okkens and Kooistra, 2006).

#### b. Endocrinologie de l'anœstrus

Les mécanismes impliqués dans la détermination de la durée de l'anœstrus chez la chienne et le retour en chaleur sont encore mal connus.

Il existe une forte suspicion de l'implication de substances dopaminergiques dans l'initiation de la folliculogénèse (Concannon, 2010; Okkens and Kooistra, 2006).

Pendant l'anœstrus, la fonction ovarienne est quiescente et les différentes hormones impliquées sont situées dans des valeurs basses.

- Ainsi, la progestérone reste en dessous de 1ng/mL (soit 4 nmol/mL) avec un nadir autour de 400 pg/ml (soit 1500 pmol/L) à 30-40 jours avant le pro-œstrus.

- L'œstradiol présente des valeurs variables mais généralement en dessous de 5 à 10 pg/ml (soit 15 à 35 pmol/ml) (Concannon, 2010; Olson et al., 1982).

- Concernant l'implication de l'axe hypothalamo-hypophysaire, la LH basale est basse (<1-2 ng/ml) et présente des pics sporadiques, de taille variable (entre 3 et 30 ng/ml) à des intervalles de 7 à 18h ou plus.

- La FSH est haute (50-400ng/ml, avec une moyenne à 140 ng/mL), avec des pulses sporadiques faiblement au-dessus de la valeur de base, et qui coïncident avec les pics de LH lorsqu'ils sont détectables (Kooistra et al., 1999).

Ces deux hormones sont sécrétées par les même cellules hypophysaires et jouent donc un rôle majeur dans l'induction de la folliculogénèse et de l'ovulation. Ces hormones sont majoritairement régulées par la Gonadotropine-relasing hormone (GnRH). Si pendant toutes les phases de l'anœstrus, la LH ne semble pas varier significativement, la FSH semble présenter des pics et une aire sous la courbe qui augmentent de façon progressive et mettant en évidence son rôle majeur dans la sortie de l'anœstrus (Kooistra et al., 1999; Onclin et al., 2001).

La sensibilité de l'hypophyse à la GnRH et indirectement l'ovulation des chiennes pendant l'anœstrus précoce et en fin d'anœstrus a été investiguée en injectant des doses graduelles de



GnRH (0, 0.01, 0.1, 1, 10 and 100 µg/kg). En réponse, les concentrations de LH et d'œstradiol circulantes étaient significativement dose-dépendantes à la GnRH et plus importantes à la fin de l'anœstrus.

De plus, les profils d'induction à la GnRH étaient corrélés aux profils de LH et d'œstradiol, ce qui indique une augmentation de la sensibilité de l'hypophyse à la GnRH et une réponse des ovaires aux gonadotrophines pendant la fin de l'anœstrus (van Haften et al., 1994).

Ces études ont aussi permis d'émettre l'hypothèse que l'augmentation de la concentration de FSH circulante dépassait la valeur seuil de la plupart des follicules antraux sensibles à la FSH de l'ovaire, ceci amenant au déclenchement du développement de ces follicules pendant l'anœstrus. Le principal effet de la FSH serait alors l'acquisition de récepteurs à la LH par les cellules de la granulosa (ce mécanisme n'est pas encore connu). Après cette étape, la LH remplacerait progressivement la FSH pour la maturation des follicules (Monniaux et al., 1997).

Enfin, une autre piste intéressante expliquant la fin de l'anœstrus peut être citée. En effet, quelques études ont permis de montrer que lorsque des chiennes sont traitées avec des agonistes de la dopamine (cabergoline / bromocriptine), la durée de l'anœstrus est réduite, probablement du fait de l'inhibition de la sécrétion de prolactine.

Les substances dopaminergiques auraient un effet direct sur la régulation de GnRH et donc de la stimulation de la sécrétion basale de FSH, permettant d'initier la folliculogénèse.

Les agonistes de la dopamine seraient responsables de l'induction de l'œstrus chez la chienne, tandis que chez d'autres espèces, les agonistes de la dopamine seraient responsables de l'inhibition des gonadotrophines pendant l'anœstrus et les antagonistes de la dopamine pourraient induire l'activité reproductive (Okkens and Kooistra, 2006; Onclin and Verstegen, 1997a).

## 2.2 LE PRO-ŒSTRUS

### a. Définition

Comme évoqué plus tôt, le pro-œstrus chez la chienne se caractérise par des modifications externes visibles (turgescence de la vulve, pertes sanguines, léchage) en réponse à l'imprégnation par les œstrogènes. Le pro-œstrus dure entre 5 à 20 jours et 9 jours en moyenne et correspond à la phase de croissance des follicules ovariens.

Les modifications sont également comportementales : les femelles deviennent de moins en moins agressives envers le mâle. Le pro-œstrus se termine lorsque la femelle montre des signes d'acceptation du mâle (environ une demi-journée à 3 jours après le pic de LH).

### b. Le pré-prœstrus

L'anœstrus se termine avec une phase de « pré-pro-œstrus » qui se caractérise par une augmentation de la fréquence des pulses de LH, causée par une augmentation des pulses de GnRH.

L'anœstrus se termine avec une phase de « pré-pro-œstrus » qui se caractérise par une augmentation de la fréquence des pulses de LH, causée par une augmentation des pulses de GnRH.

La fréquence des pulses de LH augmente. Pendant l'anœstrus, ils avaient lieu toutes les 6 à 8h et passent à un pulse toutes les 60 à 120 min pendant une période de 6 à 10 jours avec des valeurs de LH supérieures à 3 ng/mL, et ce dans les 1 à 3 semaines qui précèdent l'observation effective du pro-œstrus (Concannon, 2010, 1989; Concannon et al., 1997; Tani et al., 1996).

Comme expliqué dans la partie concernant l'anœstrus, chez le chien, l'augmentation conjointe à la LH des pics de FSH de façon continue et lente semble être le support de vagues folliculaires pendant lesquelles de petits follicules antraux grandissent et parmi lesquels

certain follicules plus dominants peuvent devenir des follicules pro-œstraux en réponse à l'augmentation des pulses de LH (Verstegen et al., 1997).

Durant le pro-œstrus le niveau de base de LH devient progressivement plus bas et les pulses de LH peu ou pas détectables, du fait du rétrocontrôle négatif des œstrogènes. L'œstradiol, sécrété par les follicules, augmente progressivement durant le pro-œstrus, passant de 5 à 10 pg/ml pour atteindre la valeur pic de 40-120 pg/ml qui a lieu généralement 1 à 3 jours avant le pic de LH.

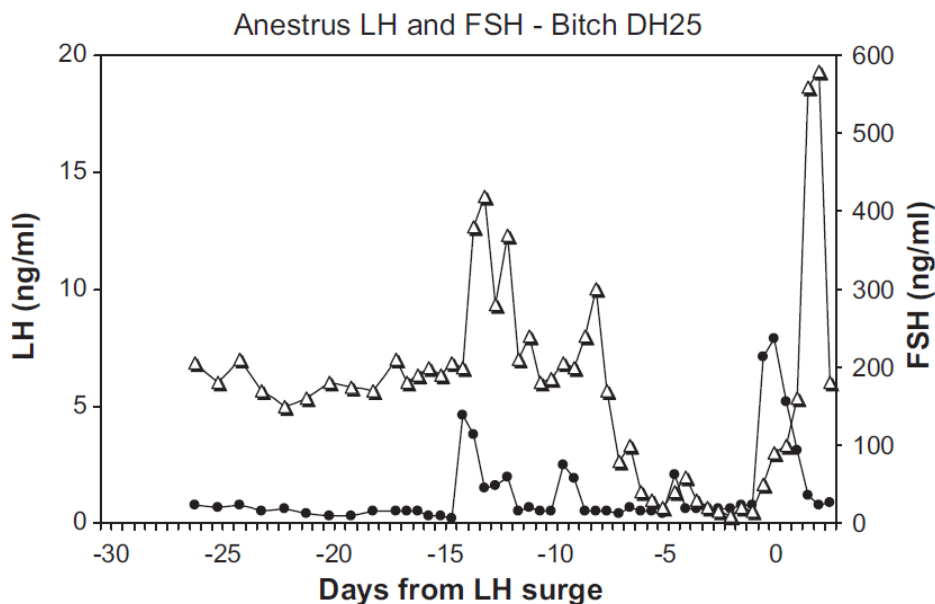


Figure 1 : Diminution des pulses de LH et FSH juste avant le pic de LH (Concannon, 2009)

Durant le milieu et la fin du pro-œstrus, les valeurs de LH et de FSH atteignent un niveau proche du nadir (LH > 1ng/mL et FSH < 50 ng.mL), et les follicules deviennent potentiellement autonomes ou semi-autonomes (action autocrine de l'œstradiol sur les follicules eux-mêmes), et ne peuvent plus que s'atrophier ou ovuler (diminution légère de l'œstradiol à ce moment).

La progestérone, qui reflète quelques foyers de lutéinisation pré-ovulatoire chez la chienne augmente de façon légère pendant toute la durée du proœstrus, et progresse de environ 1,5 nmol/L pour atteindre 3 à 4 nmol/L avant le pic de LH (Concannon, 2010; Tani et al., 1999).

D'un point de vue endocrinologique, le pro-œstrus se termine au moment du pic de LH, étape clef du cycle.

### c. Le pic de LH

Contrairement aux autres espèces, le pic pré-ovulatoire de LH est relativement long (1 à 5 jours) et chez le chien, l'ovulation n'a lieu que 2 à 3 jours approximativement après le pic de LH pré-ovulatoire.

Le pic de LH peut être défini comme la première augmentation détectable supérieure à 200% aux valeurs moyennes préalablement mesurées et supérieures à 50% aux valeurs des précédents pics observés.

Le pic de LH dure environ 24 à 72h et peut atteindre 3 à 40 ng/mL et 13 ng/mL en moyenne avec une grande variabilité selon les cycles (de Gier et al., 2006; Onclin et al., 2001; Wildt et al., 1979).

La fin du pro-œstrus est marquée par le pic d'œstradiol, environ 12 à 24h avant le pic de LH qui permet l'ovulation. Après ce pic, l'œstradiol décline rapidement tandis que le taux de progestérone augmente.

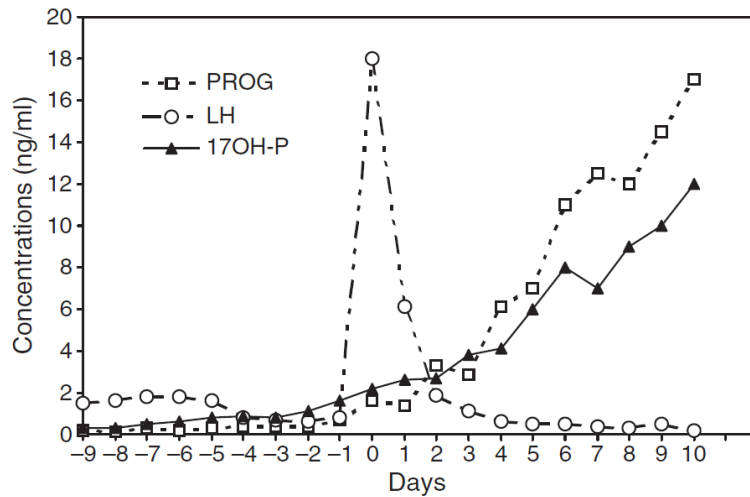


Figure 2 : Augmentation de la progestérone conjointe au pic de LH (Concannon, 2009)

Chez la chienne, le pic de LH pré-ovulatoire est associé à une augmentation de la concentration plasmatique en progestérone, aurait ainsi un rôle important dans le déclenchement du pic de LH (Concannon et al., 1997). Après le pic plasmatique de progestérone autour du début du pic de LH, la progestérone plasmatique resterait au même niveau pendant 3 à 4 jours. Après cette période de plateau, la progestérone augmente à nouveau de façon importante, probablement du fait de la lutéinisation des cellules du corps jaune (de Gier et al., 2006).

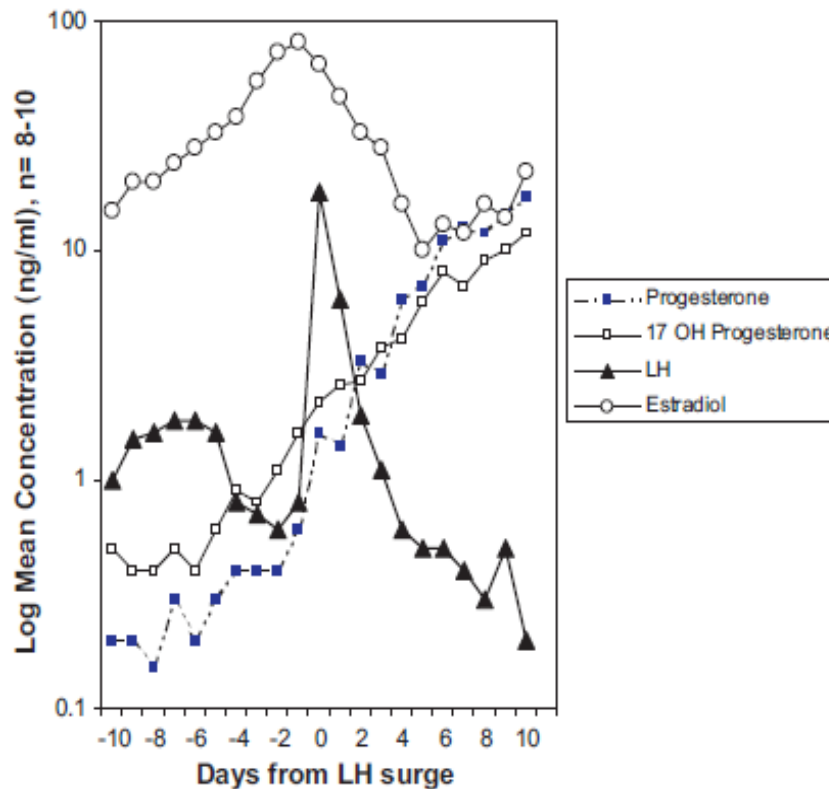


Figure 3: Diminution de l'œstradiol et augmentation de la progestérone autour du pic de LH, d'après (Concannon, 2009)

Concannon considère que le pic de LH serait provoqué par la diminution du ratio œstradiol/progestérone (Concannon, 2009), tandis que pour d'autres auteurs, (Wildt et al., 1979) (de Gier et al., 2006) la diminution de l'œstradiol pré-ovulatoire serait le facteur déclenchant du pic de LH, agissant comme feedback positif sur la sécrétion de GnRH.

## 2.3 L'ŒSTRUS

### a. Définition

La durée de l'œstrus est de 5 à 15 jours. Cette phase correspond à la lutéinisation des follicules.

Anatomiquement, l'œstrus se manifeste par un plissement de la muqueuse vaginale dès le jour suivant le pic de LH et qui atteint son maximum 4 à 5 jours après le pic de LH, en réponse à la diminution brutale du ration œstrogène / progestérone. Sur ces cycles, l'utilisation d'une insémination artificielle (IA) au moment approprié mène à une gestation (Concannon, 2010; Jeffcoate and Lindsay, 1989).

### b. Contrôle hormonal de l'ovulation

L'ovulation a lieu 24 à 96 heures après le pic de LH.

Les cellules lutéales sécrètent de la progestérone qui dépasse un taux de 15 nmol/L lorsque la chienne a ovulé. (Concannon, 2009; Jeffcoate and Lindsay, 1989).

### c. Maturation de l'oocyte et période fertile

Les oocytes primaires bloqués en prophase I de méiose sont libérés 48 à 60 heures après le pic de LH, et subissent une maturation qui dure entre 96 à 108 heures dans l'oviducte pour atteindre la métaphase II et être fécondables.

Les oocytes secondaires sont viables pour 24 à 48 heures soit pendant les jours 5 à 6 post pic de LH chez la plupart des chiennes (ou 72 à 96 heures (J7-8) / 120-144 (J9-10)).

La période fertile pour une insémination unique est maximale entre le jour 0 (pic de LH), jusqu'au jour 5 et diminue rapidement après les 3 prochains jours en partie du fait de la fermeture du col après sept à huit jours.

Le sperme du chien survit 7 jours dans l'utérus. Ainsi une saillie ayant lieu 5 jours avant l'ovulation peut être fertile (en comptant les 48h de maturation).

Les super-fécondations ne sont pas rares, en effet, 6 à 12 ovocytes sont libérés à chaque cycle et les ovulations ne sont pas synchronisées. Elles ont lieu sur 24 à 36 heures, et la fécondation a lieu entre 48 à 83 heures après l'ovulation, ce qui implique que plusieurs mâles peuvent féconder une même chienne (Chastant-Maillard et al., 2007; Reynaud et al., 2006; Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008a).

## 2.4 LE DIŒSTRUS OU METŒSTRUS

Le métœstrus est normalement défini comme la fin de l'acceptation du mâle.

Certaines publications utilisent le terme de diœstrus comme synonyme de métœstrus chez la chienne, en lien avec l'utilisation de ce terme pour désigner la phase d'état du corps jaune. En effet, le terme métœstrus est utilisé chez d'autres espèces (comme les vaches ou rongeurs par exemple) pour désigner une courte période de développement du corps jaune après l'ovulation. Mais chez le chien, la croissance du corps jaune a lieu surtout pendant l'œstrus et non pendant le diœstrus, et la période de d'œstrus n'est pas directement précédée par le diœstrus mais par une période d'anœstrus (Concannon, 2010).

La progestérone décline progressivement 60 à 70 jours après le pic de LH chez les animaux gestants et non gestants.

Cependant, chez les chiennes gestantes, le corps jaune produit plus de progestérone, mais celle-ci est plus rapidement métabolisée et utilisée par le placenta, ce qui implique que les concentrations plasmatiques en progestérone sont similaires chez les chiennes gestantes ou non. La différence entre les deux statuts peut être fait en étudiant les métabolites fécaux (Gudermuth et al., 1998; Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008a). La progestérone est à son maximum pendant les 20 premiers jours de diœstrus et décline progressivement jusqu'à atteindre des valeurs correspondant à l'anœstrus.

### *Synthèse*

Dans cette partie ont été abordés les grands principes qui décrivent les cycles chez la chienne et leur contrôle endocrinien. Lorsque l'anœstrus, qui correspond au repos de l'appareil reproducteur se termine, l'axe hypothalamo-hypophysaire exerce une activité stimulatrice de la folliculogénèse. La sécrétion pulsatile de GnRH stimule celle de FSH et de LH. La FSH semble permettre l'acquisition de récepteurs à la LH par les cellules de la granulosa. Ainsi, le pro-œstrus correspond à la phase de croissance des follicules ovariens, où certains petits follicules antraux grandissent sous l'effet des gonadotrophines et deviennent dominant. Ils sécrètent alors de l'œstradiol qui exerce un fort rétrocontrôle négatif sur la synthèse de LH et de FSH. Lorsque ces follicules deviennent autonomes, on observe une légère diminution de l'œstradiol et une augmentation de la progestérone qui correspond à la pré-lutéinisation des follicules, spécificité propre à la chienne. Le pic de LH, étape clef du cycle marque alors la fin pro-œstrus et l'ovulation a lieu 24 à 96h après celui-ci. L'œstrus, qui correspond à la formation du corps jaune dure 5 à 15 jours et se traduit par l'acceptation du mâle.

La fertilité est généralement excellente dans cette espèce puisque le sperme peut survivre 7 jours et la durée de maturation nécessaire des ovocytes est de 96 à 108 heures. Ainsi, un accouplement ayant eu lieu 5 jours avant l'ovulation peut donner lieu à une fécondation.

Le métœstrus correspond à la phase d'état du corps jaune, sécrétant de la progestérone pendant 60 à 70 jours après le pic de LH, que la chienne soit gestante ou non.

**Ainsi, la progestérone, produite par les cellules lutéales du corps jaune pendant toute la gestation a un rôle majeur dans le déroulement normal de celle-ci et nous allons aborder dans la partie suivante les différents points qui prouvent son importance.**

## B. PROGESTERONE ET CORPS JAUNE CHEZ LA CHIENNE GESTANTE

### 1 *La progestérone : une hormone sécrétée par le corps jaune et nécessaire au maintien de la gestation*

#### 1.1 PHYSIOLOGIE DE LA PROGESTERONE

##### a. Biosynthèse de la progestérone

##### i) Formule chimique

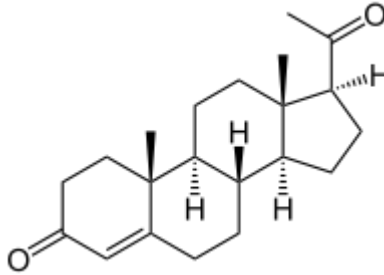


Figure 4 : Formule chimique de la Progestérone

La formule brute de la progestérone est  $C_{27}H_{46}O$ .

Les molécules de cholestérol sont composées de 3 cycles de carbones (A, B, C) à 6 carbones et d'un cycle à 5 carbones (D), prolongé par une chaîne de 8 carbones.

Les progestines dérivent du cholestérol et comporte 21 carbones, dont les 4 cycles du noyau prégthane. La progestérone possède une double liaison en C4-C5. Le groupement -OH en C3 et le groupement méthyl -CH3 en C20 du cholestérol sont remplacés par des fonctions cétone =O. Ainsi, la progestérone est notée 4-pregnène-3-20-dione (Figure 4).

##### ii) Lieu de synthèse de la progestérone

La progestérone, ainsi que l'œstradiol et la testostérone sont étroitement liés et sont synthétisés par les cellules de l'ovaire, des testicules, du fœtus et la glande surrénale par les voies de la stéroïdogénèse sexuelle (Figure 6).

Les sources de cholestérol sont le cholestérol issu de la synthèse réalisée par la plupart des cellules somatique de l'organisme, les stocks intracellulaires de cholestérol, et les lipoprotéines sanguines.

Les gonades peuvent convertir l'acétyl-CoA en cholestérol via la lipogénèse, mais de nombreuses études ont permis de montrer que **pour les ovaires**, la source de cholestérol principale était les **lipoprotéines circulantes**.

Les cellules de la thèque interne du follicule et le corps jaune possèdent de nombreux capillaires, permettant l'accès aux lipoprotéines, tandis que les cellules de la granulosa sont isolées par une membrane. C'est seulement **après une lutéinisation de la granulosa** que les cellules peuvent avoir accès au cholestérol via les lipoprotéines.

Les cellules de la thèque peuvent assurer la conversion du cholestérol en progestérone et en testostérone, et les cellules de la granulosa importent les androgènes thécaux pour synthétiser les œstrogènes.

### iii) Contrôle de la synthèse de progestérone

Les cellules de la thèque possèdent un récepteur à la LH qui stimule la conversion du cholestérol en prégnénolone. Les cellules de la granulosa possèdent un récepteur de la FSH qui joue un rôle essentiel dans l'activité aromatasase. La FSH induit le récepteur de la LH dans la granulosa dans le follicule pré-ovulatoire. La LH stimule la sécrétion de progestérone qui devient importante après la transformation des cellules de la granulosa en cellules lutéales (Cupps, 1991; Thibault and Levasseur, 2001).

### iv) Formation de la progestérone

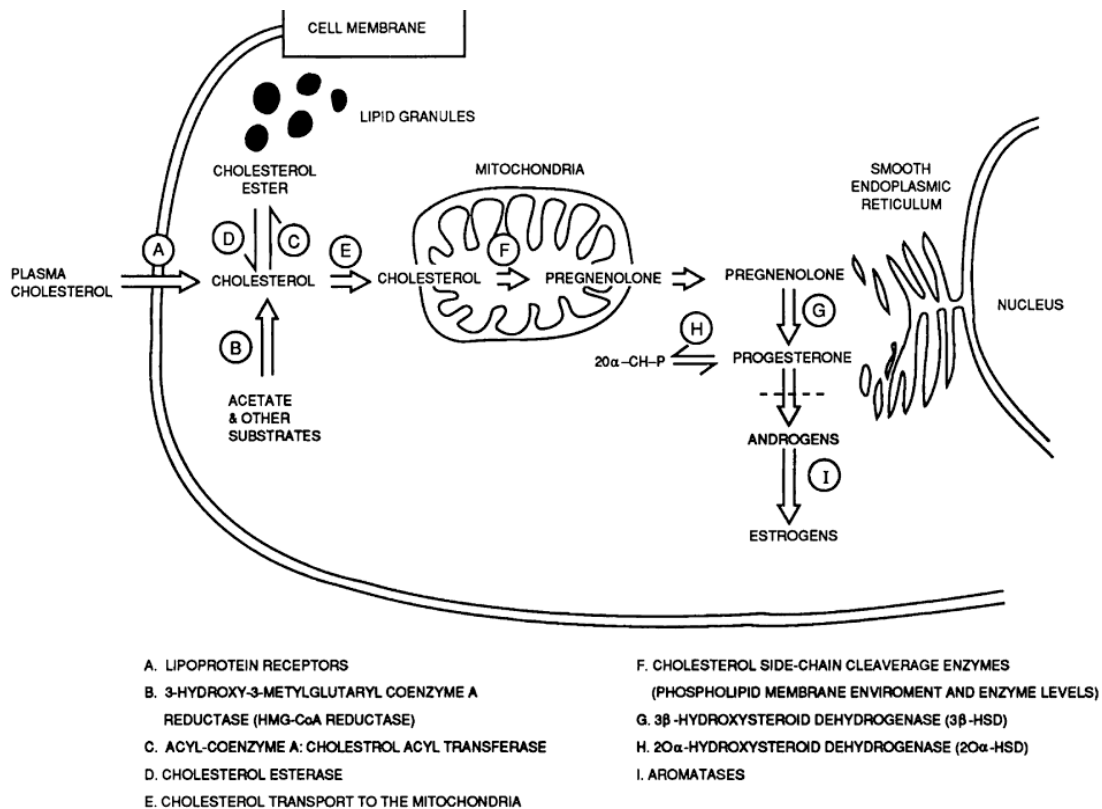


Figure 5 : Enzymes clés et biosynthèses des stéroïdes dans les ovaires (d'après Hsuech 1989)

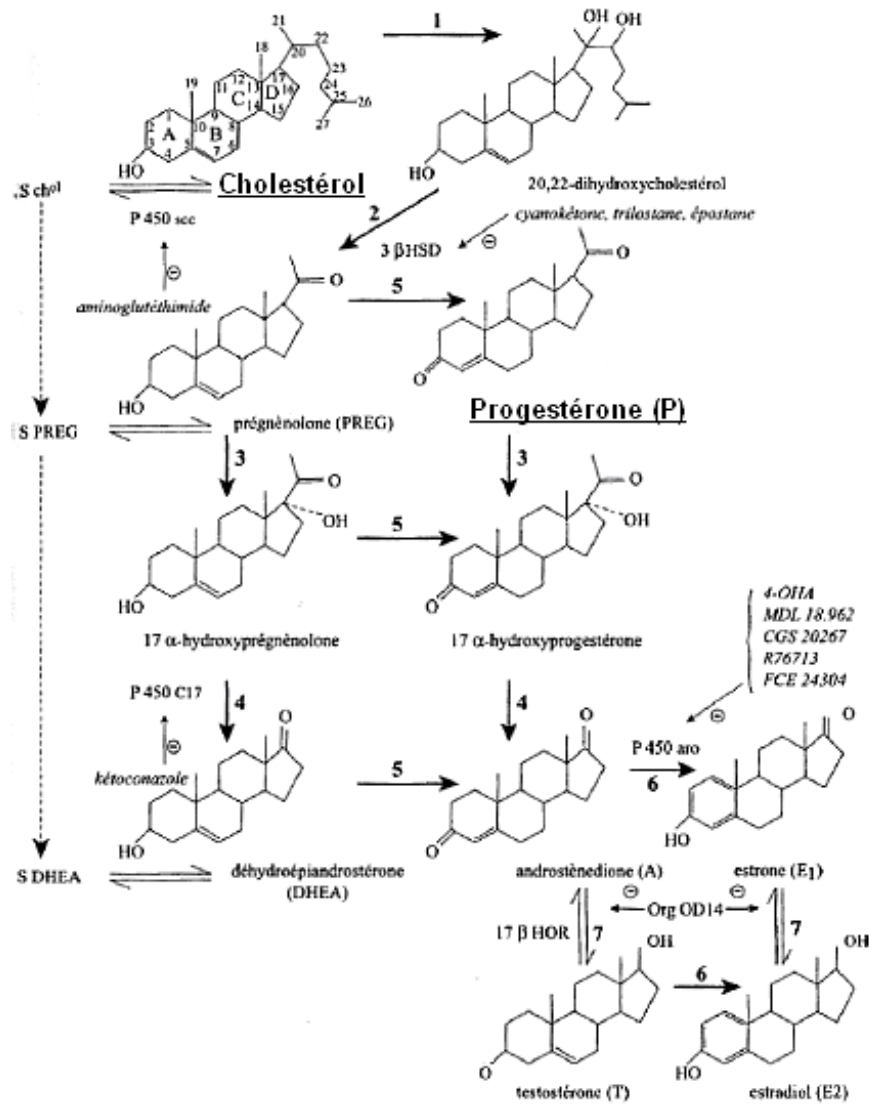
Le cholestérol et ses intermédiaires restent fixés à la membrane phospholipidique (complexe cholestérol- P450) de la mitochondrie (Figure 5) et subit des modifications enzymatiques, jusqu'à ce que la prégnénolone soit formée (Cupps, 1991).

En premier lieu, le cytochrome P450 SCC (side-chain cleavage), en coupant la chaîne latérale, convertit le cholestérol en prégnénolone (Figure 6). Le cholestérol accède au P-450scc à la face interne de la membrane mitochondriale.

La prégnénolone est ensuite transportée depuis la mitochondrie par vésicules cytoplasmiques, vers le réticulum endoplasmique où elle sera transformée en progestérone par un complexe enzymatique microsomal. La réaction est irréversible et nécessite un NAD<sup>+</sup> comme accepteur d'électron.

La progestérone est alors sécrétée par les cellules lutéales ou utilisée pour former des œstrogènes.

Dans le corps jaune, la progestérone peut être catabolisée en 20 α ou 20 β-OH progestérone par la HSD 20 α/20 β OH steroid deshydrogenase.



Les termes en italique suivis d'une flèche affectée du signe (-) désignent les inhibiteurs de l'enzyme considérée.

Figure 6 : La stéroïdogénèse, du cholestérol aux stéroïdes sexuelles, d'après (Thibault and Levasseur, 2001)



#### b. Transport et stockage

La progestérone est majoritairement liée aux protéines telles que l'albumine et à une protéine de transport spécifique, la Cortisol Binding Globuline (CBG).

Cependant la forme active est la forme libre (Thibault and Levasseur, 2001).

#### c. Mode d'action cellulaire de la progestérone

La progestérone, lipophile, atteint ses récepteurs intra-cellulaires en diffusant simplement. L'affinité de la progestérone pour son récepteur est très élevée (1 à 10nM), la capacité de fixation est limitée ( $10^3$  à  $10^5$  sites par cellules), et le ligand est très spécifique.

Le récepteur à la progestérone appartient à la famille des facteurs de transcription, comme ceux responsables de la transduction du signal des hormones thyroïdiennes par exemple.

La fixation de l'hormone sur le site de reconnaissance permet un changement de conformation du récepteur, résultant en l'activation d'un effecteur qui induit une réponse hormonale.

Ce changement de conformation du récepteur permet une dimérisation et une interaction avec le récepteur dimérique spécifique situé sur l'ADN, à l'intérieur du génome de la cellule. Dans la cellule, la liaison de l'hormone au récepteur entraîne une cascade d'activation-transformation permettant l'accès à l'accepteur nucléaire et la synthèse d'un ARNm (Acide ribonucléique messager) spécifique (Thibault and Levasseur, 2001).

#### d. Action sur les organes cibles

Afin de pouvoir agir sur les tissus cibles, ceux-ci doivent d'abord être exposés aux œstrogènes pour permettre l'expression des récepteurs de la progestérone.

La principale action de la progestérone est de préparer le tractus génital à la gestation et de permettre un apport nutritif adéquat au fœtus.

##### i) Action sur l'hypothalamus et le cerveau en général

De nombreuses études ont permis de montrer que l'hypothalamus était un site majeur d'action de la progestérone pour induire des comportements d'acceptation et de recherche du mâle chez les souris.

La région la plus sensible à la progestérone chez les rats, le hamster et le cochon guinéen semble être le noyau ventro-médial.

Chez le rat, l'application de progestérone directement sur le noyau ventro-médial de femelles ayant déjà été exposées à des œstrogènes permet l'expression de comportements comme la lordose et la recherche du mâle.

Le cerveau moyen semble aussi être une zone particulièrement importante de la modulation de la lordose chez le hamster.

#### ii) Action sur l'utérus

Dans l'utérus, la progestérone induit la différenciation de l'endomètre : l'activité mitotique de l'endomètre est diminuée et les glandes utérines se développent et stockent du glycogène dans ses vacuoles.

L'endomètre devient un « endomètre sécrétoire » sous influence de la progestérone avec une augmentation de l'enroulement des glandes utérines et de la vascularisation du stroma par les artères spiralées utérines.

Plus tard dans la phase sécrétoire, les cellules du stroma adjacentes aux artères spiralées deviennent des cellules déciduales qui s'élargissent et accumulent des lipides et du glycogène. En cas de gestation, l'exposition continue des cellules du stroma à la progestérone induit une transformation complète du stroma en un ensemble de cellules déciduales qui stockent du glycogène et des lipides et qui disparaîtront rapidement en cas de non maintien du corps jaune.

La progestérone agit sur le myomètre en diminuant sa contractilité et sa sensibilité à l'ocytocine, dont l'action pourrait mener à l'expulsion du fœtus.

Ainsi, avant la parturition, la diminution de progestérone permet une augmentation de la contractilité de l'utérus.

#### iii) Action sur l'oviducte

La progestérone agit sur l'oviducte en régulant les contractions et permet le respect du délai nécessaire au transport de l'embryon dans l'utérus, indispensable à sa préparation à la nidation.

#### iv) Action sur la glande mammaire

La progestérone agit avec les œstrogènes pour stimuler le développement alvéolaire et la capacité des glandes mammaires à produire du lait (Skinner, 2018).

### e. Catabolisme de la progestérone

En général, les stéroïdes sont transformés en catabolites plus hydrophiles, ce qui les rend inactives. Le catabolisme de ces molécules est réalisé par le foie (mais aussi d'autres tissus, comme les reins, les poumons et les intestins), et c'est un moyen rapide de contrôle de l'activité hormonale.

Les réactions du catabolisme sont la plupart du temps des réductions, suivies par une conjugaison avec un sulfate ou un acide glucidique, qui transformera la molécule en molécule hydrophile.

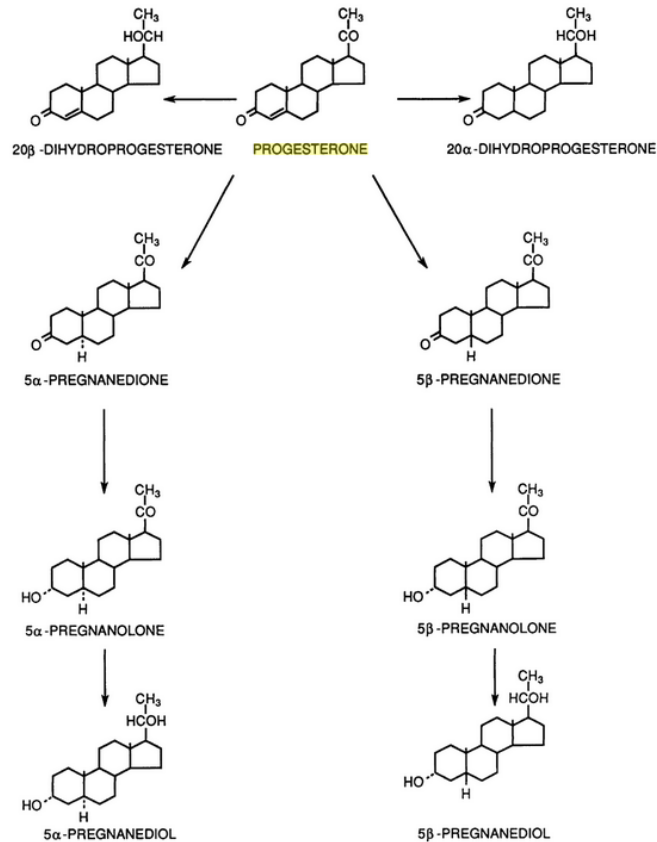


Figure 7 : Catabolisme de la progestérone d'après Henricks et Mayer (1977)

La réduction du groupement cétone en C20 permet d'obtenir 6 isomères de pregnanediol, forme excrétée, dont la plus importante est la 5β-pregnane-3α,20α-diol (Figure 7). Chez les vaches, et la jument, la voie d'excrétion majeure de la progestérone sont les fécès, chez l'homme, ce sont les urines.

Chez le chien, la mesure des métabolites fécaux de la progestérone a été utilisé afin de mettre en évidence une différence de la quantité de progestérone synthétisée par le corps jaune entre les chiennes gestantes et non gestantes (Gudermuth et al., 1998).

### Synthèse

La progestérone est une hormone stéroïde issue de la transformation du cholestérol qui est capturé par les cellules de la thèque interne et du corps jaune via les lipoprotéines circulantes. La conversion du cholestérol en progestérone dans les ovaires est stimulée par la LH dont les récepteurs apparaissent en plus grand nombre dans les follicules pré-ovulatoires sous le contrôle de la FSH. La progestérone est ensuite sécrétée et son action sur son récepteur nucléaire induit une préparation de l'utérus à la nidation, inhibe les contractions utérines, stimule le développement des glandes mammaires et participe aux comportements d'acceptation du mâle.

## 1.2 LA PROGESTERONE PENDANT LA GESTATION

### a. Rôle de la progestérone

La progestérone permet la différenciation de l'endomètre, et des glandes endométriales, l'attachement du placenta. La progestérone supprime les contractions de l'utérus en empêchant l'activité des œstrogènes, qui diminuent pendant la phase d'œstrus mais ré-augmentent 10 à 15 jours après le pic de LH (ceci pourrait avoir un rôle dans la stimulation de la synthèse de progestérone par le corps jaune.)

Chez le chien, les ovaires sont indispensables au maintien de la gestation et à la synthèse de progestérone. Une ovariectomie entraîne un avortement, quel que soit le stade de la gestation (Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008a).

### b. Taux de progestérone pendant la gestation

Le taux nécessaire au maintien de la gestation est de 2ng/mL (soit 6,4 nmol/mL). Il n'y a pas de valeur maximum, et souvent la progestérone atteint un plateau autour de 15 à 90 ng/mL (soit 47 à 290 nmol/L) entre le jour 20 et 30 après le pic de LH et décline ensuite de façon progressive (en marche d'escalier) jusqu'à la fin de la gestation.

De faible taux de progestérone peuvent être objectivés entre le jour 30 et 35 car le métabolisme est fortement augmenté et que les besoins de l'utérus sont importants. La progestérone décline ensuite lentement, et la mise bas a lieu suite à une chute rapide de la progestérone qui passe de 4 à 10 ng/mL à moins de 2 ng/mL en 12 à 24 heures du fait de la lyse du corps jaune (Concannon and Hansel, 1977).

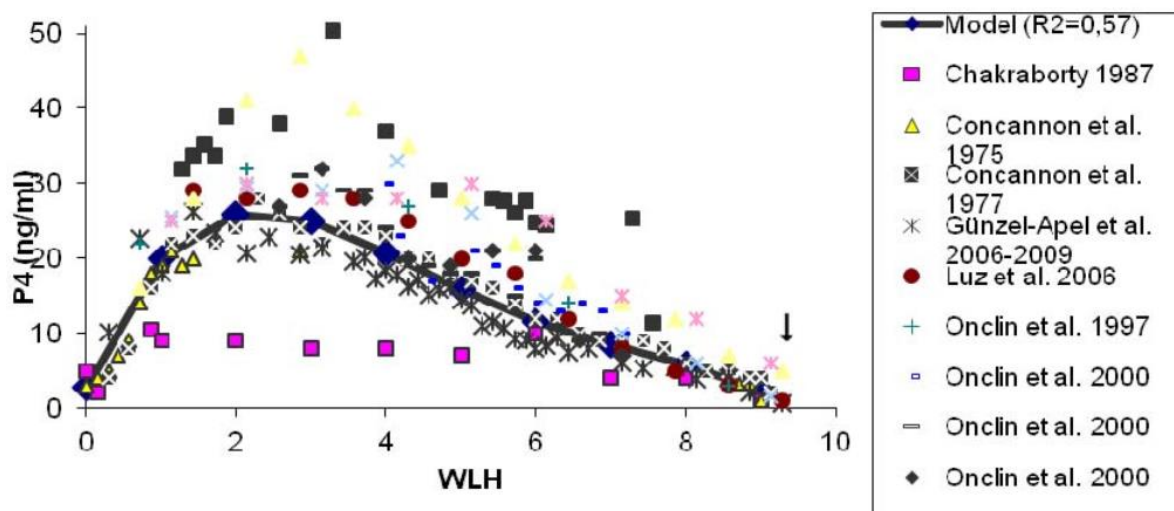


Figure 8: Moyenne de la progestérone plasmatique définie d'après 10 études portant sur 109 chiennes (Sontas et al., 2012)

Une méta-analyse réalisée en 2012 (Sontas et al., 2012), s'appuyant sur les travaux réalisés par de nombreux auteurs (Chakraborty, 1987; Concannon et al., 1975; Günzel-Apel et al., 2006; Luz et al., 2006; Onclin and Verstegen, 1997b; Steinetz et al., 1989) a permis de constater une grande variabilité des progestéronémies mesurées lors des semaines 7, 8, 9 suivant le pic de LH (Figure 8). Cette variabilité ne serait pas uniquement liée aux différents protocoles expérimentaux mais aussi à la grande hétérogénéité de la population canine.

Les prochaines études devront se concentrer à établir des données significatives pour chaque semaine de gestation et travailler sur la possibilité de variations individuelles causées par la race ou par un âge supérieur à 6,5 ans. La population canine étant composée de centaines de races différentes, il est peu probable qu'une courbe unique de progestéronémie convienne à tous les animaux.

### c. Facteurs influençant les mesures de progestérone

#### i) Variations physiologiques de la progestérone

La progestérone plasmatique varie grandement entre les chiennes mais également d'un cycle à l'autre pour une même chienne.

Une étude a montré que la progestérone mesurée est plus élevée le matin que l'après-midi chez les chiennes, et ce d'environ 30%. (Steinetz et al., 1990).

#### ii) Facteurs pouvant influencer les dosages

La mesure de progestérone peut être réalisée sur des échantillons plasmatiques ou sériques.

Elle diffère si elle est réalisée par Radio Immuno Assay, méthode très utilisée par les auteurs pour sa répétabilité et son coût intéressant mais donne des résultats plus élevés que les méthodes par chimioluminescence (Immulite).

Les tests ELISA quantitatifs existent mais leur utilisation n'est pas recommandée car ils sont peu précis et les erreurs sont fréquentes (Chapwanya et al., 2008).

La progestérone, fixée à sa protéine plasmatique est une hormone plutôt stable.

Il est recommandé de centrifuger le sang total avec de l'héparine et de transférer le plasma sur un tube sec. Ensuite, il est important de réaliser le dosage dans les cinq premières heures qui suivent le prélèvement. Le tube peut être congelé à -20°C ou réfrigéré.

### **3 Le corps jaune : une glande sécrétoire endocrine**

La longue phase lutéale qui dure 55 à 75 jours chez les chiennes non gestantes et 64 +/- 1 jours chez les chiennes gestantes correspond à une durée de vie des cellules lutéales génétiquement programmé qui correspond approximativement à la durée de la gestation.

#### 3.1 FORMATION ET EVOLUTION DU CORPS JAUNE GESTATIF

On parle de lutéinisation pour qualifier la transformation morphologique et fonctionnelle subie par les cellules de la thèque interne et de la granulosa du follicule ovulatoire.

Une particularité de la chienne est la pré-lutéinisation des cellules de la granulosa, quelques jours avant l'ovulation (Groppetti et al., 2015).

Dans le corps jaune, des cellules de taille différentes ont été décrites chez les autres espèces. Les grandes cellules lutéales possèdent des caractéristiques propres aux cellules stéroïdogènes et proviennent de la granulosa, tandis que les petites cellules, dépourvues de granules de sécrétion et possédant de nombreuses gouttelettes lipidiques dans leur cytoplasme proviennent de la thèque interne. Ceci n'a jamais été montré chez la chienne mais l'étude décrite ci-dessous semble en faire état.

Les cellules issues de la granulosa ne peuvent pas se multiplier, alors que les cellules de la thèque interne conservent cette capacité (Thibault and Levasseur, 2001).

Chez la chienne, les cellules de la granulosa subissent une pré-lutéinisation quelques jours avant l'ovulation.

La lente régression durant 30 à 40 jours et commençant après le jour 20 à 30 implique une période de mort cellulaire, de diminution de la taille des cellules, avec peu de phénomènes d'apoptose, et une implication modérée des PGF (Prostaglandines F) (Concannon, 2009).

### 3.2 EVOLUTION HISTOLOGIQUE DU CORPS JAUNE

Une étude réalisée en 2015 (Groppetti et al., 2015) a permis d'observer conjointement l'évolution histologique de la mise en place du corps jaune en parallèle d'un suivi clinique s'appuyant sur des dosages de progestérone plasmatique et des observations de cytologies vaginales.

Juste avant l'ovulation, les follicules tertiaires de très grande taille (plus que 4 mm), représentent plus de la moitié des follicules. On observe des signes de pré lutéinisation de ces follicules.

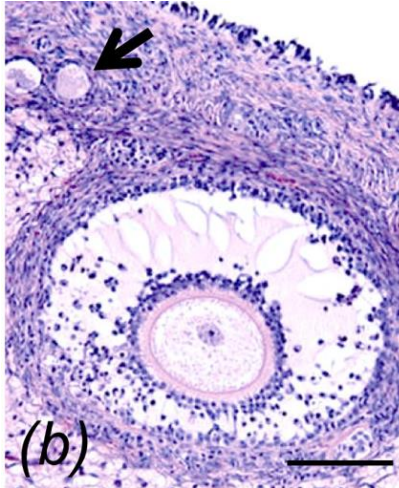


Figure 9 : Follicule primordial

La figure 9 représente un petit follicule présentant un antrum entouré de plusieurs couches de granulosa et une thèque développée (quelques folliculaires primordiaux sont aussi présents : flèches)

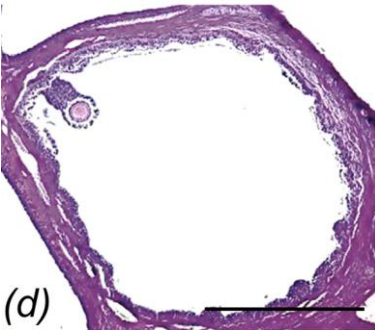


Figure 10 : Follicule tertiaire

La figure 10 représente un follicule de grande taille, caractérisé par un grand antrum rempli de liquide folliculaire

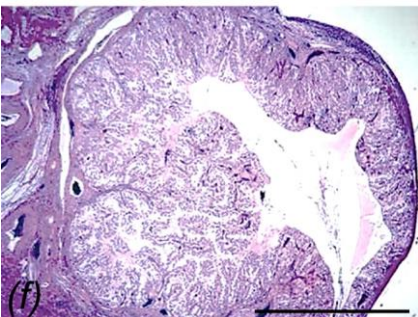
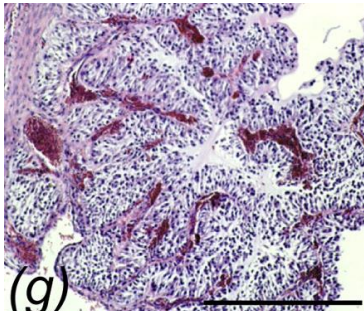


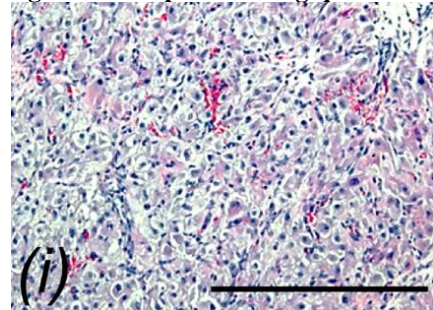
Figure 11 : Ovulation

La figure 11 représente l'ovulation d'un follicule pré-lutéinisé mature.

L'ovulation peut être confirmée par l'observation de corps hémorragiques dans les ovaires (environ 2 à 5 par chiennes), qui apparaissent lorsque la progestérone dépasse 4 ng/mL (12,72 nmol/mL). Le corps hémorragique est formé pendant œstrus périovulatoire et après l'ovulation, lorsque les capillaires de la thèque envahissent les couches des cellules lutéinisées de la granulosa et remplissent l'antrum folliculaire.



(g)  
Figure 12 Corps hémorragique



(i)  
Figure 13 : Structure histologique du corps jaune

La figure 12 représente le détail de la transformation d'un follicule pré-lutéinisé en corps hémorragique, caractérisé par l'envahissement de l'antrum par des capillaires du stroma, qui devient ensuite un corps jaune (Figure 13).

Le diœstrus précoce, commence lorsque les corps jaunes sont identifiables. La réplication cellulaire et la lutéinisation du corps hémorragique évoluant en corps jaune a lieu, comblant progressivement la lumière. Ils mesurent environ 6 mm et sont au nombre de 4 à 8 par chiennes. Ils coexistent toujours avec des follicules de taille variable.

Le corps jaune mature acquiert une structure histologique typique d'une glande endocrine sécrétant des stéroïdes, caractérisée par une hypertrophie des cellules et une accumulation de lipides dans la thèque interne et la granulosa. Il est richement vascularisé par les vaisseaux sanguins provenant de la thèque interne.

Les cellules se multiplient de façon intense et se distinguent en grandes cellules lutéales ( $26,5 \pm 3,8 \mu\text{m}$  de diamètre) et petites cellules lutéales ( $10,6$  à  $19,9 \mu\text{m}$ ).

Pendant la phase lutéale, les cellules présentent des vacuoles de grande taille et se chargent progressivement en lipides.

La régression du corps jaune est histologiquement décrite par un rétrécissement et une vacuolisation des cellules lutéales remplies de lipides. Les corps jaunes régressés provenant des cycles précédents sont encore visibles lors de l'anœstrus (Groppetti et al., 2015).

### 3.3 MAINTIEN DU CORPS JAUNE : LES HORMONES LUTEOTROPHIQUES

Les seuls facteurs régulant la stéroïdogénèse par le corps jaune lors de la gestation sont des hormones d'origine pituitaire. Il n'y a pas de sécrétions hormonales par le fœtus ou le placenta (Olson et al., 1982).

Il est admis que les hormones lutéotrophiques sont la LH et la prolactine.

Le corps jaune canin dépend de la LH et de la prolactine, qui le stimulent jusqu'au jour 15, puis le maintiennent dans la seconde partie de la gestation (Concannon, 2009).

#### a. La prolactine

La prolactine est une hormone hypophysaire sécrétée sous le contrôle de la dopamine et permet le maintien de la stéroïdogénèse dans les cellules lutéales (Leong et al., 1983).

Les concentrations sanguines en prolactine augmentent pendant la moitié de la gestation et restent élevés pendant la gestation et la lactation. Elle n'est cependant pas utilisable pour son diagnostic car sa variation journalière et individuelle est trop importante.

L'utilisation de bromocriptine (inhibiteur de la prolactine) à 0,1 mg/kg IM SID pendant 6 jours à partir du jour 42 provoque une chute permanente de la progestérone qui atteint des valeurs inférieures à 2ng/mL et provoque un avortement (Okkens et al., 1986; Onclin and Verstegen, 1997a; Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008a).

La diminution de progestérone provoquée par la bromocriptine suggère que la fonction lutéale normale des chiens dépend d'un niveau de prolactine normal pendant la phase lutéale.

Pour Concannon and al, la bromocriptine aurait pu impliquer des changements dans la sécrétion d'hormones autres que la prolactine, comme la sécrétion de LH par exemple.

Une autre étude, utilisant de la cabergoline, inhibiteur de la dopamine, a permis de supprimer la sécrétion de prolactine, puis la sécrétion de progestérone, ce qui conforte l'hypothèse que la sécrétion progestérone était affectée par l'inhibition de la prolactine.

Pour montrer que les effets de la cabergoline étaient causés par la suppression de la prolactine et non par les effets directs de l'agoniste de la dopamine sur le corps jaune ou les effets indirect de la LH sur celui-ci, une injection conjointe de LH et de prolactine a été réalisé, en plus de la cabergoline. Seule la prolactine était capable de prévenir l'arrêt de fonctionnement induit du corps jaune.

La prolactine serait donc le facteur lutéotrophique majeur (Okkens et al., 1990; Onclin and Verstegen, 1997a).

Récemment, une augmentation significative du nombre de récepteurs à la prolactine a pu être mis en évidence au début de la mise en place du corps jaune, ainsi qu'une décroissance de ce nombre à la fin de la vie du corps jaune ou lors de la lutéolyse (Kowalewski et al., 2011).

Enfin, la diminution brutale de la progestérone avant la mise-bas peut être consécutive à une demande importante en prolactine.

#### b. Rôle de la LH

L'utilisation de LH exogène après hypophysectomie chez des chiennes non gestantes permet une augmentation de la progestérone après sa chute brutale induite par l'hypophysectomie, lorsque celle-ci était pratiquée entre le jour 35 et 55 (Concannon, 1980).

En effet, d'après une seconde étude, jusqu'au jour 20 à 30 après formation du corps jaune, le maintien de celui-ci semble indépendant d'un support gonadotrophique tandis qu'une hypophysectomie pratiquée pendant la seconde partie du diœstrus implique une lutéolyse (Okkens et al., 1986).

Une unique injection de sérum anti-LH au jour 42 de gestation implique une diminution de la progestérone pendant un ou 2 jours avant un retour aux valeurs normales dans les 4 à 8 jours suivant (Concannon et al., 1987).

Tout comme la prolactine, la LH semble augmentée pendant la gestation et la phase lutéale (Hoffmann and Schneider, 1993).

L'expression des récepteurs à LH dans le corps jaune a pu être étudié chez les femelles gestantes et non gestantes. Leur expression était stimulée aux jours 15 à 25 après l'ovulation et diminuait ensuite à partir du jour 35 (Kowalewski, 2014).

Le rôle de la LH dans le maintien du corps jaune est moins évident et plus controversé (Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008b).



### c. La relaxine

La relaxine est une hormone peptidique sécrétée par le placenta (par le syncytiotrophoblaste, dérivant du contact de l'endomètre au trophoblaste embryonnaire) chez la chienne, après la nidation. Son nom provient du fait qu'elle facilite l'assouplissement du myomètre, des ligaments pelviens et de la symphyse pubienne en préparation de la mise-bas.

Les valeurs de relaxine circulante sont élevées à partir du jour 21-24 après le pic de LH, jusqu'à la fin de la gestation. La relaxine n'est détectable à aucun moment chez les chiennes non gestantes, ce qui en fait la seule hormone spécifique à la gestation chez la chienne.

Chez les femelles gestantes, le pic est à 5 ng/mL et est atteint à la fin de la gestation (40 -50 jour), puis diminue après la parturition mais reste détectable encore 30 jours pendant la lactation. La relaxine est la seule hormone spécifique à la gestation identifiée chez le chien.

L'augmentation de la relaxine est observée de façon concomitante ou juste avant l'augmentation de prolactine. Le rôle de la relaxine n'est pas encore clair, mais pourrait jouer un rôle majeur de la sécrétion de progestérone par les cellules lutéales chez les chiennes gestantes en agissant directement sur le corps jaune ou indirectement en augmentant la sécrétion de prolactine (Steinetz et al., 1990, 1989; Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008b).

### d. Rôle autocrine et paracrine de la progestérone et de l'œstradiol-17β

Un traitement ayant pour objectif de bloquer les récepteurs nucléaires à la progestérone à des dosages abortifs entraîne une régression du corps jaune.

L'observation de récepteurs à la progestérone et à l'œstradiol dans les cellules du corps jaune par immunohistochimie et RT-PCR chez la chienne permet de confirmer l'hypothèse d'une action autocrine et paracrine de ces deux hormones (Hoffmann et al., 2004).

### e. Les prostaglandines PGE2α

L'expression des COX II, normalement absente des cellules mais induite lors d'une réponse inflammatoire semble être étroitement liée au cycle œstral dans les cellules lutéales.

En effet, la détection par immunohistochimie de cet enzyme a été démontrée pendant le diœstrus et son expression semble coïncider avec la formation du corps jaune (et non lors de la lutéolyse) (Hoffmann et al., 2004).

Des études récentes ont permis de montrer que la protéine STAR (Steroidogenic Acute Regulatory), était particulièrement exprimée lorsque l'on traitait avec des prostaglandines E2 des cellules lutéales. Cette protéine est responsable du transport actif du cholestérol dans mitochondrie et contrôle la dernière étape de formation de la progestérone (formation de prégnénolone en progestérone). Au milieu de la phase lutéale, l'expression de cette protéine diminue. Les PGE2 auraient un effet autocrine lutéotrophique (Kowalewski, 2014).

Ainsi, la phase de mise en place du corps jaune se caractérise par une prolifération cellulaire intense et une vascularisation importante de la structure, associée à une activation de l'expression des protéines STAR et 3β-hydroxysteroid-dehydrogenase (3βHSD). Pendant cette période, le corps jaune n'aurait pas besoin de facteurs gonadotrophiques.

Des prostaglandines sont produites dans le corps jaune et la prostaglandine PGE2 agit comme facteur lutéotrophique.

#### ***4 Régression du corps jaune et hormones responsables de la lutéolyse***

Chez la chienne non gestante, la régression du corps jaune est longue et progressive, tandis que chez la chienne gestante, la progestérone chute brutalement en dessous de 2 à 3 ng/mL.

A la fin de la gestation, le cortisol endogène augmente et atteint un plateau quelques jours avant la mise-bas, puis diminue en postpartum. L'administration de corticostéroïdes peut induire un avortement.

La mise-bas a lieu lorsque la progestérone descend en dessous de 2 ng/mL, qui fait suite à une augmentation des prostaglandines PGF2 $\alpha$ , sécrétées par l'utérus et qui apparaît en réponse à une élévation des glucocorticoïdes sécrétés par le fœtus dont l'hypophyse et les corticales deviennent matures (Concannon et al., 1988; Olsson et al., 2003; Veronesi et al., 2002; Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008b).

L'expression des récepteurs aux prostaglandines augmente entre le jour 5 et 25. La sensibilité aux PGF2 $\alpha$  augmente tandis que la progestérone diminue, en particulier après les jours 45-40.

Une récente étude a également montré la présence de récepteurs A à l'endothéline, une molécule vasoactive dans l'endothélium des capillaires du corps jaune chez les chiennes gestantes et son absence chez les chiennes non gestantes. Leur implication dans la lutéolyse chez la chienne gestante nécessite encore d'être étudiée (Kowalewski, 2014).

#### ***Synthèse***

Le corps jaune est responsable de la synthèse de progestérone durant toute la durée de la gestation chez la chienne, et il n'existe pas de relai placentaire.

S'il existe une grande variabilité des valeurs de progestérone sérique du fait de l'hétérogénéité de la population canine, il est important de retenir que la gestation ne peut pas être maintenue en dessous d'un seuil de **2 ng/mL (soit 6,4 nmol / mL)**.

Le corps jaune est histologiquement organisé comme une glande endocrine réalisant la stéroïdogenèse, et présente des cellules hypertrophiées et remplies de lipides dérivant des cellules de la thèque interne et de la granulosa. Une spécificité remarquable de la chienne est la capacité des follicules à subir une pré-lutéinisation, avant l'ovulation effective.

Le développement de cette glande est stimulé par la LH et la prolactine. Puis celui-ci est maintenu grâce à ces deux facteurs lutéotrophiques.

La prolactine est le facteur prédominant, en particulier pendant la seconde partie de la gestation, lorsque le corps jaune devient obligatoirement dépendant des gonadotrophines.

Dans la seconde partie du diœstrus, le corps jaune commence à régresser et bien que la LH et la prolactine circulantes soient présentes en plus grande quantité, le nombre de leurs récepteurs diminue, probablement du fait de l'apoptose.

La progestérone décline alors jusqu'à passer en dessous du seuil de **2 ng/mL** en réponse à une augmentation des prostaglandines PGF2 $\alpha$  induite par la sécrétion de corticostéroïdes par le fœtus mature.

## C. DEROULEMENT ET SUIVI DE LA GESTATION

### *1 Stades de la gestation d'après (Holst and Phemister, 1971; Pretzer, 2008a; Versteegen-Onclin and Versteegen, 2008b)*

Le développement embryonnaire est divisé en deux étapes. La période embryonnaire, qui correspond à la multiplication cellulaire de l'œuf fécondé et à la différenciation des organes, et la période fœtale, qui définit comme une période de développement des organes différenciés pendant la période embryonnaire et deviennent progressivement matures et fonctionnels.

#### 1.1 LA PERIODE EMBRYONNAIRE

##### a. La phase embryonnaire libre

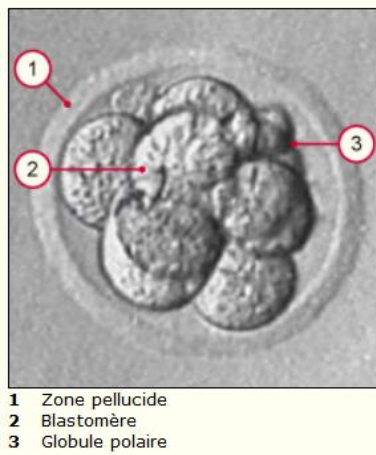
Les ovocytes sont expulsés des follicules vers la bourse et commencent leur maturation extra-folliculaire.

Tout d'abord, la méiose doit être achevée. Ensuite, l'oocyte devient viable pour une longue période (quelques jours), contrairement aux autres espèces dont la survie serait de quelques heures.

Quelques heures après l'ovulation, les oocytes se trouvent en grappe dans les trompes utérines.

A partir de 24 à 48h, les oocytes dans la moitié de la trompe restent à un stade immature pendant 17 à 44h après ovulation. Ensuite, les oocytes subissent la phase I de méiose à 48h puis la phase II à 48-54h (Reynaud et al., 2006).

Les embryons au stade 2 pronoyaux sont présents pendant 2 à 5 jours, et le stade deux cellules s'observe 4 à 7 jours plus tard.



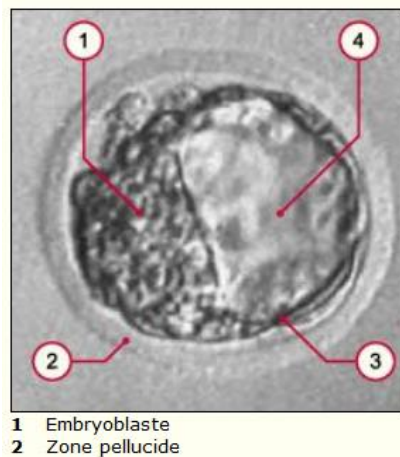
**Figure 14 : Le stade Morula**

(D'après <http://www.embryology.ch/francais/iperiodeembry/carnegie02.html>)

Vers le jour 8 à 10 après l'ovulation, les cellules des embryons se multiplient et atteignent le stade morula, dont le nom fait référence à sa forme de petite mûre (Figure 14).

Ensuite, la morula se développe dans la partie distale de l'oviducte et commence à atteindre l'utérus. La morula se compacte et se polarise.

Les embryons continuent leur division en blastocystes (à ne pas confondre avec les blastocyte ou blastomère, qui dérivent des premières divisions embryonnaires) qui arrivent dans l'utérus dans le jour 10 à 12 après le pic de LH (Chastant-Maillard et al., 2007).



1 Embryoblaste  
2 Zone pellucide

**Figure 15 Le développement du blastocyste,**

(D'après <http://www.embryology.ch/francais/iperiodembry/carnegie02.html>)

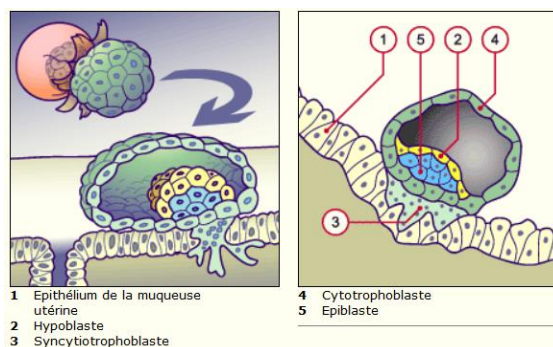
Les blastocystes sont constitués de l'extérieur de celui-ci vers l'intérieur (Figure 15) : de la zone pellucide, du trophoblaste (masse cellulaire externe qui entoure le blastocyste), de l'embryoblaste (masse cellulaire interne situé au pôle embryonnaire), et du blastocèle (cavité liquidienne centrale issue de la segmentation).

Après éclosion du blastocyste, l'embryon est libre et se développe dans le liquide utérin. Ainsi, toute modification de ce milieu peut entraîner une infertilité.

Pendant cette vie libre, l'embryon absorbe les nutriments à travers sa couche superficielle, le trophoblaste, qui proviennent des sécrétions des glandes utérines, ou « lait utérin » (Widdowson, 1969).

## b. Fixation à l'endomètre et développement embryonnaire

### i) Implantation de l'embryon



**Figure 16 : Éclosion du blastocyste et envahissement du placenta,** d'après <http://www.embryology.ch/francais/iperiodembry/carnegie02.html>

Autour du jour 18 à 20 après le pic de LH, le blastocyste s'attache à l'endomètre, puis le trophoblaste l'envahit au jour 20 à 22 après le pic de LH. Le trophoblaste forme alors le syncytiotrophoblaste qui permet l'implantation dans la muqueuse utérine de l'embryon.

Chez la chienne, la placentation est dite endothéliochoriale, c'est-à-dire que seul un endothélium vasculaire est présent du côté maternel. Le sang utérin est en contact avec le chorion fœtal (enveloppe la plus externe des annexes embryonnaires) à travers l'endothélium vasculaire maternel. La forme définitive du placenta endothéliochorial est constitué de l'endothélium maternel, du trophoblaste, et de l'endothélium fœtal (Aralla et al., 2013).

Des hématomes sont observés le long de la zone qui entoure le fœtus, formés de lacs sanguins maternels où l'hémoglobine est transformée en utéroverdine. Ce pigment verdâtre est caractéristique des carnivores (Barrau et al., 1975).

La placentation est également qualifiée de zonaire puisque le placenta constitue une large bande lamellaire de 2,5 à 7,5 cm entourant les annexes fœtales.

Simultanément au développement de l'embryon a lieu le développement des annexes fœtales.

## ii) Développement des annexes fœtales ou embryonnaires

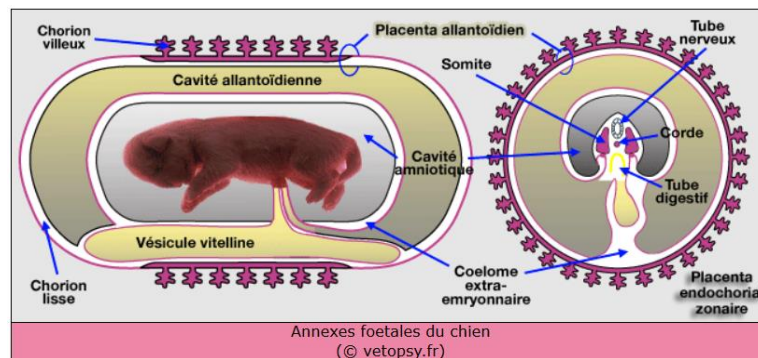


Figure 17 : Annexes fœtales chez le chien (d'après vetopsy.fr)

Les annexes fœtales sont au nombre de 4 : l'amnios, le placenta, le sac vitellin et l'allantoïde. Elles proviennent de tissus d'origine embryonnaire (amnios, sac vitellin et allantoïde) mais aussi de tissus d'origine fœto-maternels, dérivant du syncytiotrophoblaste (chorion).

Le fœtus est immergé dans le liquide amniotique, contenu par le sac amniotique transparent. Il est en contact avec le sac vitellin qui possède un rôle nutritif en début de gestation puis régresse rapidement.

L'amnios est entièrement recouvert par l'allantoïde, grande cavité remplie de fluide (cavité allantoïdienne), qui est elle-même délimitée par le chorion, enveloppe la plus externe et qui forme un grand sac (Figures 17 et 18).

Le liquide amniotique contient les nutriments nécessaires au développement du fœtus, ainsi que les déchets émis par celui-ci. Les échanges se font via la circulation sanguine maternelle (Aralla et al., 2013).

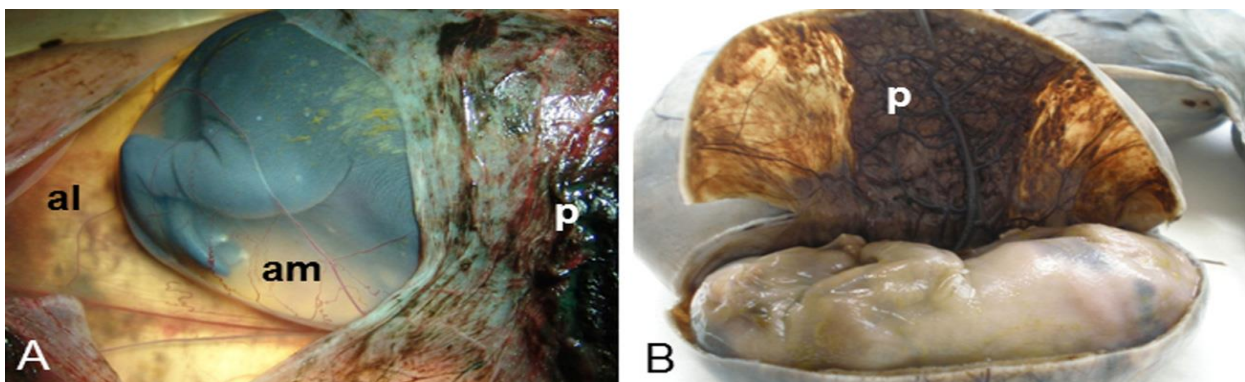


Figure 18 : Fœtus de chien et leurs annexes à terme (Al= allantoïde, Am=amnios, P=placenta) (Aralla et al., 2013).

### iii) Développement de l'embryon

La gastrulation correspond à l'étape pendant laquelle les cellules du blastocyste formant une couche cellulaire simple, prolifèrent pour former les trois feuillets primitifs qui sont l'ectoderme, le mésoderme et l'endoderme.

L'ectoderme, le feuillet superficiel, se différenciera en épiderme, en tissus neural, l'appareil reproducteur dont les glandes mammaires.

Du mésoderme, le feuillet moyen, proviennent l'appareil urogénital et le système cardiovasculaire ainsi que les structures musculosquelettiques.

Le tube digestif et le tractus respiratoire dérivent de l'endoderme, feuillet le plus profond.

L'embryon se développe dans le sens crânio-caudal, avec la fermeture du tube neural, puis la formation des deux paires d'arcs branchiaux, de l'oreille externe et des membres.

Le cœur commence à battre autour du jour 23 à 24. A ce stade, l'embryon mesure 10 mm de longueur. Il y'a peu de différenciation avant le jour 30.

Après le jour 25, l'embryon, qui mesure 14 mm, présente un sillon inter-mammaire, une structure vertébrale, et une lamina dentaire.

Au jour 28, il fait 17 mm et l'ossification commence par la mandibule et l'os maxillaire, ainsi que l'os frontal.

C'est autour du jour 30 à 32 qu'apparaît les paupières et l'oreille externe, les vibrisses, le globe oculaire et les muscles. C'est aussi à ce moment que l'intestin se développe sous forme d'une hernie dans le cordon ombilical (hernie ombilicale physiologique). Enfin, vers le 35<sup>ème</sup> jour, se différencient les doigts et le tubercule génital.

Ainsi, dans l'espèce canine, on peut parler de fœtus à partir du jour 35 de gestation, après que l'organogenèse soit complète (Pretzer, 2008a).

## 1.2 LE FŒTUS ET SON DEVELOPPEMENT

### a. Développement du fœtus

Les paupières du fœtus fusionnent autour du jour 40 de gestation. La hernie ombilicale est résorbée. Les griffes apparaissent sur les doigts.

Les poils poussent autour du jour 45 de gestation. Autour du jour 55, les dents commencent à se calcifier et l'ossification des derniers os a lieu autour du jour 57 de gestation (os hyoïde, talus, sacrum) (Pretzer, 2008a).

### b. Différenciation sexuelle

Un évènement majeur du développement foetal est la différenciation du sexe phénotypique.

En effet, les gonades sont indifférenciées jusqu'au jour 30 de gestation et bien que le sexe génétique soit déjà déterminé, le sexe phénotypique ne l'est pas encore.

Les gonades se différencient en testicules grâce au chromosome Y, via le gène SRY (Sex-Determining Gene) qui permet la production de la protéine TDF (Testis Determining Factor) vers le jour 36 de gestation, qui synthétiseront l'hormone anti-Müllérienne responsable de la régression des canaux paramésonephrotiques.

Les canaux de Müller et de Wolff, et l'endoblaste du sinus uro-génital donneront les organes génitaux internes. Pour le mâle, les canaux de Wolff se différencieront en épididyme, canal déférent, vésicule séminale et conduit éjaculateur.

Pour la femelle, ce sont les Canaux de Müller qui se deviendront les trompes utérines, l'utérus, et la partie supérieure du vagin.

L'endoblaste du sinus uro-génital est responsable de la formation de l'urètre mais aussi de la prostate et des glandes bulbo-urétrales pour l'un et des de la partie inférieure du vagin ainsi que des glandes vestibulaires pour l'autre. Tout comme les voies internes, les structures externes se développent à partir de structures indifférenciées qui sont le tubercule génital, les plis uro-génitaux, et les tubercules labio-scrotaux (Pretzer, 2008a).

## *Synthèse*

Une particularité majeure de la chienne est le temps plus long passé par les embryons dans l'oviducte, du fait que les ovocytes nécessitent une période de maturation avant d'être fécondé.

Sans suivi précis de la chienne durant les chaleurs, il est très difficile de connaître précisément la date de gestation. Or, chez cette espèce, les chiots prématurés survivent rarement du fait du développement tardif des poumons et de l'absence de surfactant, ainsi que les risques d'hypothermie.

Ainsi, le suivi de gestation, qui commence par la détermination précise de la date d'ovulation et un suivi échographique rigoureux permet de s'assurer du bon développement embryonnaire et fœtal et d'améliorer le pronostic de survie de la portée, comme il est développé dans les parties suivantes.

## *2 Suivi de gestation : intérêt et mise en pratique*

### 2.1 DETERMINER LA DATE D'OVULATION

A cause de la survie longue des spermatozoïdes dans les voies génitales et du fait de la durée de la période fertile, il est difficile de dater précisément la mise-bas à partir de la saillie, sans connaître le moment de l'ovulation.

Une étude prospective récente, réalisée sur un nombre conséquent de chiennes a permis de montrer que la gestation durait en moyenne 65 jours +/- 1,9 jours après le pic de LH. Cependant de nombreux facteurs peuvent faire varier la durée de gestation :

- L'**âge** de la mère (+0,11 jour à chaque année prise par chienne),
- La **race** (cette durée était plus longue d'environ 2 jours chez les Greyhounds),
- Le **nombre de chiots** (plus il y a de fœtus, plus la gestation est courte : pour chaque chiot supplémentaire, la gestation est réduite de 0,08 jours).

Lorsque le moment de l'ovulation est considéré comme référence, la **durée moyenne de la gestation est de 63 +/- 2 jours** (Hollinshead and Hanlon, 2017).

#### a. Dosages hormonaux

Un dosage rapproché de la progestérone plasmatique, en s'appuyant sur les cytologies vaginales afin de s'approcher de façon précise de la fin du pro-œstrus et de l'œstrus, permet de situer de façon précise l'ovulation, qui se produit 24 à 96 h après le pic de LH.

On considère que **l'ovulation s'est produite** lorsque la progestérone dépasse **15 à 30 nmol/L** (soit 5 à 10 ng/mL) (Verstegen-Onclin and Verstegen, 2008b).

Les dosages de la progestéronémie sont débutés lorsque la chienne présente des signes de chaleur (pertes vulvaires séro-hémorragiques) et associées aux cytologies vaginales dont nous développerons les caractéristiques dans le paragraphe qui suit.

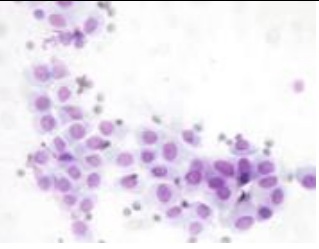
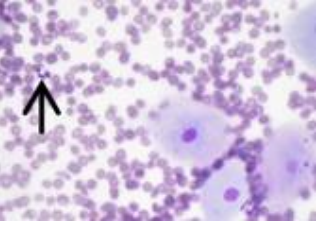
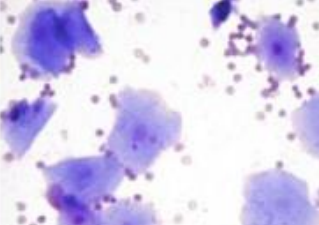
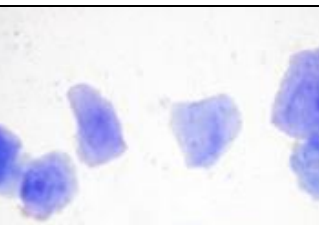
### c. Cytologies vaginales

Le frottis vaginal est aisément réalisable en pratique et on peut utiliser la coloration rapide de May Grünwald Giemsa (MGG) qui permet une bonne visualisation des polynucléaires neutrophiles (PNN), ou la coloration, Harris Shorr, plus longue mais qui a l'intérêt de faciliter la différenciation des types cellulaires car colorées selon leur type (les kératinocytes ou cellules superficielles apparaissent en rouge et cellules parabasales en bleu).

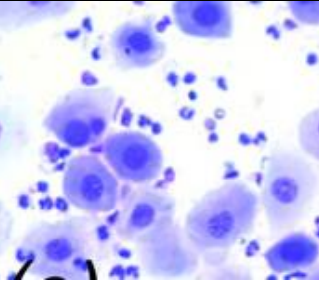
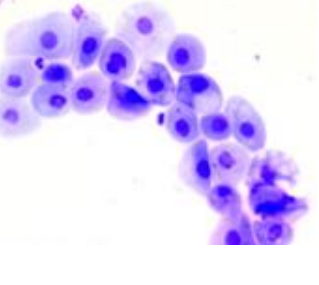

Dans le tableau suivant sont présentées les différentes observations que l'on peut mettre en évidence en réalisant un frottis vaginal coloré au MGG aux stades du cycle œstral. Ces observations peuvent être corrélées aux dosages de la progestérone (Groppetti et al., 2015).

Ces cytologies permettent de savoir si la chienne est en période d'œstrus ou si la période fertile est terminée, et que l'insémination est inutile malgré des dosages de progestéronémie indiquant que l'ovulation a eu lieu (apparition de cellules intermédiaires et parabasales).

**Tableau I : Cytologies vaginales, dosage de progestérone et cycle œstral, d'après (Groppetti et al, 2015).**

<i>Etape du cycle</i>	<i>Observations microscopiques</i>	<i>Définition</i>	<i>Progestérone (P4)</i>	<i>Description des cytologies</i>
<b>Pro-œstrus</b>		Du 1 <sup>er</sup> jour des pertes sanguines vaginales à juste avant le pic de LH	P4 < 2ng/mL	Erythrocytes, cellules parabasales, intermédiaires, kératinocytes. Présence possible de PNN et bactéries.
<b>Œstrus 1</b>		<u>Œstrus préovulatoire</u> L'œstrus commence au pic de LH.	2 < P4 < 4 ng/mL	Kératinocytes (cellules majoritaires pendant l'œstrus). Absence de PNN Diminution du nombre d'érythrocytes.
<b>Œstrus 2</b>		<u>Œstrus périovulatoire</u>	4 < P4 < 10 ng/mL	<b>Kératinocytes uniquement</b> et rares érythrocytes
<b>Œstrus 3</b>		<u>Œstrus post-ovulatoire</u>	P4 > 10 ng/mL	Cellules épithéliales avec ou sans noyaux



<b>Diœstrus précoce</b>		Entre le premier jour d'une cytologie de diœstrus jusqu'au 9 <sup>ème</sup> jour.	P4 > 10 ng/mL	Cellules épithéliales et intermédiaires avec de nombreux PNN. = changement brutal du nombre de cellules épithéliales apparition de petites cellules intermédiaires et cellules parabasales.
<b>Diœstrus moyen à tardif</b>		Jusqu'au 50 <sup>ème</sup> jour après le début du diœstrus	P4 > 10 ng/mL	Population hétérogène de cellules épithéliales avec PNN
<b>Anœstrus</b>		Après la lyse du corps jaune.	P4 < 2ng/mL	Cellules parabasales et petites cellules intermédiaires

La plupart des chiennes mettent bas 54 à 63 jours après le premier jour d'observation d'un frottis de diœstrus (C.A. Johnson, 2008).

Dans le cas de l'observation d'un frottis d'œstrus, mais pour lequel le dosage de progestéronémie est encore sous les valeurs seuil d'ovulation, il est conseillé de réitérer les dosages au maximum deux jours après.

## 2.2 LE DIAGNOSTIC DE GESTATION

### a. Palpation abdominale

La palpation abdominale est la méthode traditionnelle utilisée. La sensibilité est de 87-88% pour la seconde moitié de la gestation. Les vétérinaires sont plus sujets à réaliser de mauvais diagnostics avec de faux négatifs (Root Kustritz, 2005).

### b. Radiographie abdominale

La radiographie permet d'estimer avec précision le nombre de fœtus, dès lors que ceux-ci sont ossifiés, autour du jour 41 à 44.

Elle permet aussi la recherche d'anomalies de présentation ou de mortalité fœtale.

### d. Echographie

Les structures vésicales d'environ 2 mm peuvent être détectées dès le jour 19. Les battements cardiaques sont détectables autour du jour 23-24. L'estomac et la vessie sont les premiers organes visibles autour du jour 29 à 33 et 31 à 35 respectivement.

Le squelette peut être visualisé autour du jour 29 à 33 (Kim and Son, 2007; Pretzer, 2008a).

La fréquence cardiaque du fœtus est de 200 à 250 bpm et les mouvements de dorso-flexion de la tête et d'extension des membres sont visibles dès le jour 33 à 39.

## 2.3 SURVEILLANCE DU BON DEROULEMENT DE LA GESTATION

### a. Facteurs de risques et anamnèse

Certaines gestations sont plus risquées que d'autres en termes de prévalence plus élevée de morbidité ou de mortalité maternelle, fœtale, ou néonatale que la population gestante générale.

Chez l'espèce canine comme chez les humains, certaines caractéristiques pouvant augmenter ces risques sont identifiables :

- Un **âge très jeune ou avancé de la mère** (qui augmente la durée de la gestation et diminue la taille de la portée (Hollinshead and Hanlon, 2017), probablement en lien avec la dégénérescence de l'endomètre qui n'est plus apte à supporter de nombreux embryons, l'obésité, des antécédents de mise bas précoce ou de mortalité embryonnaire ;
- La **race** est également un facteur à prendre en compte, puisque les brachycéphales auraient 11 fois plus de risques de subir une césarienne, et que les races de petites tailles sont également plus concernées (Hollinshead and Hanlon, 2017).
- **Certaines maladies préexistantes** chez la mère, comme une infection asymptomatique du tractus urinaire, une mauvaise condition sanitaire avec une malnutrition, ou des protocoles de vaccination et de vermifugation mal conduits peuvent constituer des facteurs de risque.
- Et enfin, en ce qui concerne la gestation elle-même, 83% des chiennes ayant une portée de petite taille (1 à 2 chiot) ont eu une césarienne contre 43% des chiennes avec 3 chiots ou plus (Eilts et al., 2005; Hollinshead and Hanlon, 2017) ;
- Sans omettre des anomalies utérines placentaires, une infection, des anomalies embryonnaires etc... et certains médicaments aux effets tératogènes ou fœtotoxiques qui peuvent aussi avoir un rôle.
- Dans le cas d'un diabète sucré ou d'une infection de l'utérus, le risque de mortalité pour la mère est si élevé qu'un arrêt de la gestation doit être considérée.

Il est important de connaître précisément les antécédents des chiennes faisant l'objet d'un suivi de gestation. En effet, savoir qu'une chienne a été inséminée artificiellement une seule fois, à la limite de la période fertile, permet d'anticiper le risque de dystocie à laquelle la portée de petite taille prédispose l'animal (Linde Forsberg and Wallén, 2008; Thomassen et al., 2006).

Il faut également se renseigner sur son alimentation, son historique vaccinal et de vermifugation, ainsi que son milieu de vie.

En effet, si la chienne vit en communauté, il est indispensable d'avoir connaissance de l'état de santé de ses congénères.

### b. Gestion en clinique de la chienne gestante

Un examen clinique de la femelle gestante et une confirmation de la gestation par échographie est toujours recommandée. En cas d'absence d'anomalies chez la mère et les fœtus, aucun autre examen n'est systématisé, mais le propriétaire doit rester attentif à l'appétit de la chienne, son activité, sa prise de poids et toute modification de son état général.

Chez les chiennes présentant de nombreux facteurs de risques, comme chez les chiennes âgées par exemple, un bilan sanguin peut être conseillé, ainsi qu'une analyse urinaire.

Chez la chienne gestante, la numération formule peut montrer la présence de quelques PNN matures mais une augmentation importante du nombre de PNN segmentés, une monocytose, une cytotoxicité de la lignée blanche ne sont pas normales (C.A. Johnson, 2008). Il faut alors rechercher la cause de l'inflammation.

Un écoulement vulvaire doit faire l'objet d'une cytologie et d'une culture bactérienne.

Les concentrations en progestérones doivent être surveillées (C.A. Johnson, 2008).

### c. Viabilité des fœtus : détection des problèmes

#### i) Signes cliniques de perte fœtale

Autour de J30-35 ; en général les ampoules fœtales sont résorbées et il n'y a pas de signes cliniques, mis à part parfois des pertes vaginales.

Après J35, il est courant d'observer des pertes vaginales, et à la fin de la gestation, des fœtus peuvent être visibles dans les pertes.

#### ii) Signes échographiques à surveiller

**Tableau II : Age de première apparition de certaines observations par échographie transabdominale dans la première moitié de la gestation chez la chienne, d'après (England et al., 1990).**

<b>Observations</b>	<b>Jour de la gestation (à partir du pic de LH)</b>
<b>Visualisation des vésicules embryonnaires</b>	17
<b>Présence d'une masse embryonnaire</b>	22
<b>Battements cardiaques</b>	23
<b>Formation du placenta</b>	23
<b>Identification du sac vitellin et de la membrane allantoïde</b>	24
<b>Développement zonaire du placenta</b>	26
<b>Indentification de la membrane amniotique</b>	26
<b>Différenciation du thorax et de l'abdomen</b>	28
<b>La taille de l'allantoïde dépasse celle du sac vitellin</b>	28
<b>Elongation et disparition du sac vitellin</b>	32
<b>Formation du bourgeon des membres</b>	32
<b>Formation du squelette</b>	33

A partir du 22<sup>ème</sup> jour après le pic de LH, les conceptus mesurent environ 7 mm de diamètre et 15 mm de long et peuvent être échographiés (England, 1998).

Un embryon normal est une structure hyperéchogène homogène, allongée, et devient de plus en plus indépendant de la paroi utérine en faisant protrusion dans le sac vitellin hypoéchogène.

Au jour 24 après le pic de LH, on peut détecter une autre enveloppe contenant des fluides, c'est l'allantoïde qui s'intercale entre le chorion et le sac vitellin.

Le diamètre des conceptus augmente de façon à peu près linéaire à une vitesse de 1 mm par jours du jour 17 au jour 30 (après, la croissance est exponentielle). Ainsi, il est possible de savoir entre deux mesures si le développement du conceptus est normal ou non.

Si la mort fœtale a lieu avant le jour 25, on parle de résorption fœtale.

L'incidence des résorptions fœtale est de 11 à 28,6% selon les études (Concannon et al., 1975; England, 1992; England and Russo, 2006).

Il est suspecté que des résorptions précoces sur des portées de grande taille soient un phénomène physiologique (England and Russo, 2006).

Lors de résorption précoce, un suivi échographique régulier permet de mettre en évidence un retard de développement des conceptus, avec un retard de détection des battements cardiaques, une longueur de l'embryon réduite, une apparition tardive des bourgeons des membres. Ces observations mènent toutes à une résorption qui se traduit par une augmentation de l'échogénicité du sac vitellin, arrêt des battements cardiaques, des marges embryonnaires floues, décollement du placenta par rapport à l'utérus et perte de toutes les structures embryonnaires (y compris les fluides).

Si la mort des fœtus apparaît après le jour 35, un avortement des fœtus et de ses annexes se produit.

Le jour de l'avortement, le fœtus apparaîtrait plus hyperéchogène et le volume du liquide amniotique pourrait diminuer. Les battements cardiaques sont diminués puis cessent.

Lorsque le terme approche, la surveillance de l'absence de détresse fœtale est indispensable, en s'appuyant sur la mesure de la fréquence cardiaque et l'observation des mouvements des chiots.

Une **fréquence cardiaque inférieure à 150-160 bpm** indique un stress fœtal en réponse à une hypoxie. Une fréquence cardiaque inférieure à 130 bpm est de mauvais pronostic pour la survie des chiots dans les deux heures qui suivent.

Les chiots sont normalement actifs à l'approche du terme. Les mouvements détectables sont les mouvements respiratoires, des mouvements des extrémités...

Une reconnaissance précoce d'une dystocie permet de donner toutes les chances aux chiots nouveau-nés (Barr, 1988; England, 1998; C.A. Johnson, 2008).

### iii) Dosages hormonaux

Le dosage de la relaxine, qui est détectable à partir du jour 21 après fécondation, peut être intéressant car cette hormone diminue rapidement après la mort de tous les fœtus d'une portée.

Le dosage de la progestérone, en cas d'insuffisance lutéale, peut être pratiqué dès le diagnostic de gestation avec des dosages hebdomadaires (Görlinger et al., 2005; Günzel-Apel et al., 2012).

### iv) Importance de l'estimation de la date de mise bas et critères de maturité fœtale

Une gestation prolongée et une parturition trop précoce sont deux problèmes contribuant majoritairement à une augmentation de la mortalité et de la morbidité fœtale, maternelle et périnatale.

Une gestation prolongée peut apparaître chez les chiennes n'attendant qu'un seul petit ou dont tous les chiots sont morts, car les signaux qui induisent la lutéolyse et la parturition sont trop faibles. Mais souvent, il est difficile de savoir si cette gestation est vraiment prolongée, car la moyenne de durée de gestation est de 63 +/- 7 jours si l'on se fie uniquement aux dates d'accouplement.

Plusieurs mesures échographiques sont décrites, dont le diamètre bipariétal, le diamètre corporel, le diamètre de la cavité chorionique interne, mais peu utilisées en pratique car difficiles à mettre en œuvre. (England et al., 1990)

Des radiographies permettant d'estimer la date de minéralisation des différentes structures du squelette fœtal peuvent être une indication pour prédire la date de parturition. (Michel et al., 2011)

Avant de pratiquer une césarienne, la vérification des signes de maturité chez les fœtus est indispensable. Les reins doivent être facilement visibles. Le péristaltisme est observable 60 à 61 jours après l'ovulation (Artusi et al., 2016).

## *Synthèse*

La durée de la période fertile, la longue survie des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles et l'hétérogénéité de la race canine induit de fortes variations en termes de durée de gestation apparente chez la chienne. En pratique, la référence utilisée est la date de l'ovulation. La mise-bas est alors à prévoir environ 63 jours +/-2 plus tard.

La survie des chiots prématures sont rares et les dystocies fréquentes chez cette espèce.

Ainsi, un **protocole standardisé** pour la détermination de la date d'ovulation est à mettre en place lorsque l'on souhaite exploiter un cycle œstral, afin d'optimiser les chances de survie de la portée.

Ce protocole nécessite la réalisation de frottis vaginaux dès le début des chaleurs (caractérisé par les pertes sanguines souvent observables par le propriétaire lui-même), couplé à des dosages rapprochés de la progestéronémie sérique ou plasmatique. L'ovulation a eu lieu lorsque la progestérone dépasse **15 à 30 nmol/L (5-10 ng/mL)** et que le frottis est caractéristique d'un **frottis d'œstrus** (100% de cellules kératinisées sur un fond propre).

Le **diagnostic de gestation** est ensuite à pratiquer :

- La méthode la plus sensible reste l'échographie qui permet la visualisation des ampoules fœtales dès le jour 19 post-ovulation. Les radiographies sont également intéressantes car elles permettent d'observer l'ossification des fœtus autour du jour 41 à 44.
- un dosage de la relaxine peut également être réalisé à partir du jour 21. Cette hormone, spécifique de la gestation chez la chienne, déclinera rapidement après un avortement mais reste peu utilisée en pratique.

Le bon déroulement de la gestation chez la chienne implique une **sensibilisation du propriétaire** qui doit surveiller les signes d'avortement ou de dystocies mais aussi un **monitoring clinique et échographique** précis par le praticien, et la prise en compte des **facteurs de risques individuels** (âge, race, taille de la portée, antécédents médicaux).

Avant le jour 35, les signes cliniques ne sont pas toujours présents en cas de résorption fœtale, mais dans tous les cas, des **pertes vulvaires** doivent être considérées comme un **signe d'appel**.

L'échographie des fœtus permet d'objectiver l'existence d'une **souffrance fœtale** (une fréquence cardiaque **inférieure à 130 bpm** indique un risque de mort fœtal dans les deux heures), mais aussi de surveiller leur bon développement en mesurant leur taille, et en vérifiant la maturité des fœtus si une césarienne est indiquée ou planifiée (apparition du péristaltisme entre J60 et J61, reins bien visibles ...).

Les **dosages de progestérone hebdomadaires** sont indiqués en particulier chez les chiennes ayant présenté des antécédents d'avortement ou de morts nés, car une **chute brutale de la progestérone** (en particulier en dessous de 2ng/mL soit 6,5 nmol/) ne permet pas de maintenir une gestation et peut révéler une insuffisance lutéale.

## II. L'INSUFFISANCE LUTEALE : UNE CAUSE D'AVORTEMENTS PRECOCES CHEZ LA CHIENNE

### A. DONNEES GENERALES SUR L'INFERTILITE ET LES AVORTEMENTS CHEZ LA CHIENNE

#### 1 *Définitions*

L'infertilité se définit comme l'incapacité d'un individu à concevoir une progéniture viable. Les pertes lors de la gestation peuvent inclure toutes les causes d'arrêt de la gestation dont la mort embryonnaire, la résorption fœtale, et en général un avortement quel que soit le stade de la gestation (Grundy et al., 2002; Wilborn and Maxwell, 2012).

Les résorptions fœtales apparaissent avant le jour 35 lorsque les embryons ne sont encore visibles que sous la forme de vésicules embryonnaires par échographie. Elles ne sont en général accompagnées d'aucuns signes cliniques détectables. Une étude a estimé que le nombre de vésicules fœtales observées ne correspondait qu'à 32% du nombre de produits nés et pourraient être physiologique lorsque la portée est trop grande (England, 1992).

Les avortements comptent seulement pour une petite partie de ces pertes durant la gestation, et se définit comme l'expulsion d'un ou plusieurs fœtus ne pouvant survivre en dehors de l'utérus (qu'ils soient vivants ou morts avant l'expulsion).

Ici, on s'intéressera donc plus précisément aux résorptions fœtales et aux avortements chez la chienne (Verstegen et al., 2008).

#### 2 *Conduite à tenir lors d'une résorption fœtale ou d'un avortement*

La plupart des chiennes présentées pour infertilité en consultation, sont normalement en bonne santé et la cause de l'infertilité est en fait un problème dans la gestion d'élevage. Le plus souvent, les chiennes sont présentées pour un échec répété des accouplements ou une absence de cycles. Avant de se lancer dans des examens onéreux, il est indispensable de se concentrer sur l'historique de l'animal et les attentes du propriétaire. Les propriétaires consciencieux ont souvent une idée précise du problème, ce qui apporte une grande aide au vétérinaire pour l'interprétation (Wilborn and Maxwell, 2012).

Ici, nous verrons quelle est la démarche diagnostique à entreprendre face à un problème d'avortements.

##### 2.1 DETECTER UN ARRET DE LA GESTATION

Comme évoqué dans la partie précédente, les résorptions fœtales interviennent précocement, et sans expulsion du fœtus.

On parle en général d'avortement lorsque celui-ci a lieu après le jour 35, soit après le début de l'ossification, et que l'animal expulse des fœtus non viables accompagnés de leurs enveloppes (England, 1998, 1992; Verstegen et al., 2008).

Si les résorptions s'accompagnent rarement de signes cliniques, les avortements peuvent provoquer une diminution du diamètre abdominal, des vomissements ou de la diarrhée, une perte d'appétit, un abattement, de la déshydratation, des efforts expulsifs abdominaux, de l'inconfort. Cependant, dans la plupart des cas, les signes peuvent être absents ou non discernables, et la perte des fœtus n'est observée que lors d'un rendez-vous de suivi de gestation (Verstegen et al., 2008). Ceci souligne l'importance d'un suivi échographique comme développé en première partie.

## 2.2 IDENTIFIER LA CAUSE

### a. Etiopathogénie des avortements chez le chien

Comme expliqué précédemment, chez le chien, 12 jours environ après la fécondation, les embryons sont libres dans l'oviducte (3 à 5 jours) puis dans l'utérus (4 à 6 jours), et leur développement dépend de leur environnement. Ainsi, en cas d'inflammation, de déséquilibres hormonaux, d'infection ... ceux-ci ne pourront pas survivre. Souvent, la perte des embryons à ce stade n'est pas visible.

Après leur implantation dans l'utérus, lors de la phase embryonnaire, la placentation se met en place. Ainsi, après la nidation, l'embryon dépend uniquement des échanges nutritionnels avec le placenta. Un mauvais ajustement des besoins du corps au statut gestationnel peut compromettre leur développement. Les facteurs qui diminuent les chances de survie sont les anomalies congénitales (dont les anomalies chromosomiques), une sous nutrition de la mère ou un âge avancé, des problèmes endocriniens, un stress. La cause la plus courante d'avortement dans l'espèce canine reste les causes infectieuses (Concannon et al., 2001; Wilmut et al., 1986) (Verstegen et al., 2008).

### b. Anamnèse

#### i) Historique général de la chienne

Le recueil de l'anamnèse doit prendre l'état de santé de la chienne et de l'élevage, en compte le milieu de vie, la présence de congénères.

Le statut vaccinal et les protocoles de vermifugation doivent être connus.

Les propriétaires doivent informer le vétérinaire sur les traitements que la chienne reçoit (corticoïdes, hormones sexuelles, traitement de l'hypothyroïdie...), ses antécédents médicaux, l'existence de maladies concomitantes, ainsi que les résultats des examens de laboratoires précédents.

Enfin, tout changement dans l'alimentation doit être rapporté.

#### ii) Historique reproducteur de la chienne

L'une des premières informations à connaître, sont les informations sur les dates de chaleurs afin de calculer les intervalles interœstrus.

L'existence de problèmes d'infertilité chez d'autres animaux de l'élevage doit être connu.

Il est ensuite important de recueillir les informations concernant les antécédents en matière de reproduction de la chienne : nombre de gestations déjà menées à terme, nombre d'avortements et à quel stade de la gestation ils ont eu lieu, taille des portées, existence de comportements de pseudo-gestation.

Si un suivi de chaleur a eu lieu pour la gestation présente, il est intéressant de connaître la date d'ovulation lors du cycle précédent afin de calculer l'intervalle entre 2 œstrus, questionner le propriétaire sur le comportement de la chienne pendant les chaleurs et les manifestations physiques associées, prendre connaissance des résultats des frottis vaginaux et du dosage progestérone sérique, et enfin la date et type d'insémination.

La méthode et la date du diagnostic de gestation (palpation abdominale, imagerie, dosage de la relaxine) doivent aussi être connus.

### a. Examen clinique

Un examen clinique général doit toujours être réalisé avant l'examen de l'appareil reproducteur. L'examen de l'appareil reproducteur inclut une palpation abdominale de l'utérus, un toucher vaginal, avec une attention particulière pour la conformation de la vulve et l'absence de bride vaginale, une palpation transrectale du vagin et du pelvis.

## b. Examens complémentaires

### i) Cytologie vaginale et cultures bactériennes

Lors du suivi de chaleur, le frottis vaginal permet de connaître le stade du cycle œstral mais permet aussi d'objectiver la présence d'anomalies. Bien que les vaginites soient rarement l'unique cause d'un avortement, la présence d'une vaginite associée à d'autres signes cliniques peut nous aider à identifier le problème.

Des cultures bactériennes peuvent être demandées, mais le diagnostic définitif d'une infection de l'utérus ne peut se baser uniquement sur les cultures réalisées à partir de prélèvements vaginaux.

En effet, on obtiendra la plupart du temps de multiples agents pathogènes. Cependant, la croissance importante d'un seul micro-organisme peut suggérer la présence d'un agent étiologique (Bjurström, 1993; Bjurström and Linde-Forsberg, 1992).

Les résultats de bactériologie vaginales seront à mettre en lien avec les prélèvements réalisés sur les avortons.

Idéalement, une chienne présentée pour infertilité doit être suivie dès le pro-œstrus. Le suivi de chaleur permet d'évaluer le fonctionnement des ovaires et d'être certain que l'insémination ou la saillie a eu lieu au bon moment.

Un bilan biochimique complet est intéressant à réaliser afin d'exclure la possibilité d'une maladie rénale, hépatique ou tout autre problème métabolique qui pourrait expliquer un avortement.

Des sérologies pour *Brucella canis*, *Leptospirosis sp*, et pour l'Herpès virus canin peuvent être demandées.

L'échographie reste la technique la plus facile à mettre en œuvre pour afin d'évaluer les ovaires (recherche de kystes folliculaires) et l'utérus, les résorptions fœtales, et ce à tous les stades de la gestation.

## 2.3 ETIOLOGIES DES AVORTEMENTS CHEZ LA CHIENNE

### a. Les causes infectieuses

#### i) Les bactéries

Les différentes bactéries pouvant causer des avortements chez la chienne sont synthétisées dans le tableau III figurant ci-après. Il fait mention de l'importance de l'agent pathogène, des sources de contamination, résume sa pathogénie et les signes cliniques associés ainsi que les méthodes diagnostiques à mettre en œuvre.

Nous ferons de même pour les virus et les protozoaires dans les parties qui suivent.



**Tableau III : Les différentes bactéries mises en cause dans les avortements chez la chienne : Importance, source de contamination, pathogénie, signes cliniques associés et méthode diagnostiques recommandées, d'après (Antunes et al., 2016; Bulgin et al., 1984; Burnens et al., 1992; Daniel Givens and Marley, 2008; Doig et al., 1981; Linde, 1983; Odendaal et al., 1994; Pretzer, 2008b; Wanke, 2004).**

Agent infectieux	Importance (+ à +++)	Source de contamination	Pathogénie AP = Agent Pathogène	Signes cliniques	Diagnostic
<i>Brucella canis</i>  Risque zoonotique pour les personnes immunodéprimées.	+++	Sécrétions vaginales et séminales. (urines, fécès, lait, salive, sécrétions nasales et oculaires).	Exposition initiale à l'AP Dissémination dans la circulation sanguine Atteinte des organes cibles (tractus urogénital, yeux, disques intervertébraux)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Infertilité</li> <li>✓ Pertes embryonnaires précoces (J10-J20) résorptions fœtales.</li> <li>✓ Avortements tardifs chez la chienne en bonne santé (J30 à J57)</li> <li>✓ Naissances de chiots faibles /apparemment normaux qui déclarerons la maladie plus tardivement.</li> <li>✓ <u>Concernant la mère :</u> Peut-être asymptomatique avant l'avortement. Pertes vaginales hémorragiques possibles 1 à 6 semaines après avortement.</li> </ul>	<p>- Gold standard : <b>Culture et isolation</b> de la bactérie.</p> <p><b>Sérologie</b> (peut être négative dans les 3 à 8 semaines suivant l'infection)</p> <p><b>PCR</b></p>
<i>Escherichia coli</i>	++	Matières fécales, environnement.	Productions d'endotoxines provoquant les avortements	Bactérie la plus fréquemment isolée lors de métrites ou de pyomètres. Un avortement rapporté dans la littérature à J41.	<b>Bactériologie</b>
<i>Streptococcus B hémolytiques</i>	+	Bactéries commensales de la peau et des muqueuses	Charge bactérienne dans le vagin, persistant pendant la gestation, contaminant l'utérus et le fœtus.	Métrites, pyomètres, placentites, avortement. Les <i>Streptococcus β hémolytiques</i> sont la cause principale de mort néonatale.	<b>Bactériologie</b>

<i>Salmonelles</i> <b>Zoonose grave</b>	++	Eau ou nourriture contaminée, autres malades.		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ En général asymptomatique</li> <li>✓ Sous sa forme sévère : diarrhées, fièvre, abattement, avortements, mort.</li> <li>✓ Morts nés, chiots faibles.</li> </ul>	<b>Cultures bactériennes</b> des enveloppes embryonnaires et fœtus
<i>Campylobacter jejuni</i> <b>Zoonose</b>	+	Matières fécales de chiens sains ou en diarrhée		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Pas de symptômes généraux</li> <li>✓ Avortements tardifs avec pertes vaginales profuses hémorragiques sans odeur</li> </ul>	<b>Cultures bactériennes</b> à partir des sécrétions vaginales ou placentaires sur milieu particulier
<i>Mycoplasmes et uréaplasmes</i>	++	Retrouvé dans les écouvillons vulvo-vaginaux et prépuce de chiens sains ou avec des problèmes reproducteurs		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Reconnu comme un facteur d'infertilité et de maladies génitales chez l'Homme et les bovins.</li> <li>✓ <b>Chez la chienne,</b> infertilité, Pertes embryonnaires précoces, septicémies après la parturition, chiots faibles</li> </ul>	<b>Bactériologie</b>

ii) Les protozoaires

**Tableau IV : Protozoaires pouvant être impliqués dans les avortements chez la chienne : Importance, source de contamination, pathogénie, signes cliniques associés et méthode diagnostiques recommandées, d'après (Chamberlain et al., 1953; Dubey et al., 2007, 1990; Pretzer, 2008b).**

Agent infectieux	Importance (+ à +++)	Source de contamination HD= Hôte définitif	Pathogénie	Signes cliniques	Diagnostic
<i>Toxoplasma gondii</i>  <b>Zoonose. Prévention importante !</b>	+++	Infection in utero Lait contaminé Ingestion de tissus infectés / nourritures contaminées par les oocytes. (Chat = HD, chien = rôle de vecteur mécanique)	Nécrose du placenta.	✓ Après inoculation de tachyzoïtes chez la mère : anorexie, anémie, abattement, diarrhée. ✓ Résorptions fœtales / momifications si infection en début de gestation. ✓ Avortements en cas d'infection tardive ou naissance de chiots apparemment normaux qui mourront plus tard.	<b>Recherche histologique</b> de kystes dans les tissus fœtaux  ou <b>2 sérologies</b> à deux semaines d'intervalle.
<i>Neospora caninum</i>	+++	Viande crue contaminée par des kystes. Chien = HD, émet les oocytes dans ses fécès. Transmission transplacentaire		Avortements  <u>Chiots vivants</u> : déficits proprioceptifs, spasticité des membres pelviens.	<b>Histologie</b>  <b>Immunohistochimie</b>  <b>Sérologie</b>

iii) Les virus

**Tableau V : Virus impliqués dans les avortements chez la chienne: Importance, source de contamination, pathogénie, signes cliniques associés et méthode diagnostiques recommandées d'après (Krakowka, 1977; Ronsse et al., 2004; Versteegen et al., 2008).**

Agent infectieux	Importance (+ à +++)	Source de contamination	Pathogénie	Signes cliniques	Diagnostic
<i>Herpèsvirus canin 1a</i>	Rôle controversé	Sécrétions nasales ou génitales pendant la gestation. Réactivation d'un virus latent.	Latence et réactivation à la faveur d'un stress ou lors des chaleurs. Apparition de vésicules caractéristiques sur le tractus génital.	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Asymptomatique chez les adultes.</li> <li>✓ Infertilité</li> <li>✓ Pertes embryonnaires précoces</li> <li>✓ Avortements tardifs</li> <li>✓ Morts nés</li> <li>✓ Nouveaux nés faibles ou mal formés, décédant rapidement d'un sepsis.</li> </ul> <p>Les chiots survivants peuvent apparaître normaux et déclarer les symptômes à partir de la puberté.</p>	<b>2 sérologies</b> à deux semaines d'intervalle
<i>Maladie de Carré</i>	+++	Toutes sécrétions provenant d'un animal malade	Virémie transitoire puis tropisme pour le système nerveux. Transmission transplacentaire.	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Avortements spontanés avec ou sans infection des fœtus.</li> <li>✓ Naissance de chiots vivants pouvant présenter des signes neurologiques après une infection transplacentaire</li> </ul>	<p><b>Recherche par immunofluorescence</b></p> <p><b>Sérologie sur LCR</b></p> <p><b>RT-PCR</b></p>
<i>Parvovirus de type 1 (CPV1)</i>	+	Transmission transplacentaire possible (contrairement à CPV2)		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Résorptions précoces</li> <li>✓ Avortements chez la chienne infectée entre J25 et J35.</li> </ul>	<b>Recherche d'anticorps chez la chienne et sur les avortons PCR</b>

#### b. Les causes non infectieuses

En plus des causes infectieuses précédemment citées, différents autres facteurs peuvent être impliqués dans les avortements chez la chienne.

Les causes utérines comme une hyperplasie glandulo-kystique provoquant une impossibilité pour les embryons de s'implanter, sont souvent associée à une infertilité, en particulier chez les vieilles chiennes. Les endométrites peuvent être une cause d'avortement, mais leur implication dans un problème d'infertilité reste controversée (à part pour le pyomètre), car chez certaines espèces, une endométrite post insémination est physiologique et participe au processus de nettoyage de l'utérus.

Il est plutôt admis que les maladies concomitantes telles que le diabète, ou un syndrome de cushing par exemple sont responsables d'une incapacité à obtenir une gestation qu'à la maintenir. L'hypothyroïdie a également été associée à des chaleurs silencieuses.

L'environnement de la mère et la gestion de ses apports nutritionnels est un facteur important à prendre en compte lorsqu'on recherche la cause d'un avortement. En effet un stress induit, des déficits énergétiques ou encore une exposition iatrogène à des médicaments (œstrogènes, corticoïdes, certains antibiotiques par exemples) ou toxiques peuvent compromettre la survie des fœtus.

Enfin, des anomalies chromosomiques, génétiques ou du développement fœtal peuvent mener à des morts fœtales ou des avortements (Verstegen et al., 2008).

#### **Synthèse**

La prise en charge de l'infertilité chez la chienne est un sujet large qui implique la recherche de causes variées.

Dans cette partie, nous nous sommes particulièrement intéressés aux pertes fœtales qui comprennent les **résorptions** (sans signes cliniques avant le jour 35) et les **avortements** à proprement parler.

La compréhension de ces avortements implique de se pencher sur la gestion de l'élevage, et l'anamnèse afin de détecter une mauvaise condition physique de la mère (sous-nutrition, mauvaise vermifugation, mais aussi problèmes endocriniens, âge trop avancé etc...).

Cependant la principale cause des avortements sont les **agents infectieux** qui sont nombreux : bactéries (celles non spécifiques de la flore génitale, *Brucella canis*), virus (*Herpèsvirus canin*, *Parvovirus canin de type 1*), protozoaires (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*).

Alors, on comprend aisément que l'insuffisance lutéale est une affection dont le diagnostic doit être posé selon une **démarche d'exclusion**.

Cette cause d'infertilité et plus particulièrement d'avortement chez la chienne est encore mal connue et nous allons en décrire les différents enjeux dans la partie suivante, en incluant l'exemple de la femme.

## D. INSUFFISANCE LUTEALE : DEFINITION ET GESTION MEDICALE

### 1 *Définition et importance de l'insuffisance lutéale*

#### 1.1 DEFINITION

L'insuffisance lutéale est une cause de mort fœtale et embryonnaire qui est mal décrite chez la chienne, et qui a d'abord été présentée chez la femme comme une cause possible d'infertilité et d'avortement.

Elle se définit comme un taux de progestérone circulant dans le plasma insuffisant par rapport aux besoins en progestérone qu'impliquent la gestation, ou encore une diminution trop précoce du taux de progestérone conduisant à un avortement. Les études expérimentales ont permis de déterminer un seuil critique de progestéronémie entre 6 et 9 mmol (2-3 ng/ml) en dessous duquel, s'il est maintenu plus de 24 à 48h un avortement se produit quasi systématiquement (Kowalewski et al., 2009; Onclin et al., 2002; Onclin and Verstegen, 1997a).

Plus récemment, dans une étude que nous développerons dans la dernière partie, il a été établi que des chiennes gestantes ayant subi un avortement entre la quatrième et la sixième semaine de gestation présentaient une diminution de la progestérone en dessous de 10 ng/ml depuis la troisième semaine de gestation (Thuróczy et al., 2016).

Au CERREC, une étude rétrospective réalisée dans le cadre d'une thèse vétérinaire a permis d'estimer une incidence de 30,5% de l'affection chez les chiennes suivies. Celle-ci a été estimée en s'appuyant sur un effectif de 692 cas présentés entre 2003 et 2008, mais il faut considérer un fort biais de sélection. De plus, cette étude a permis de mettre en évidence que les chiennes de plus de 45 kg représentaient la population pour laquelle l'incidence était la plus élevée.

#### 1.2 ETIOLOGIE

Durant toute la gestation, le corps jaune agit comme seul producteur de progestérone, dont les rôles sont variés (développement de l'endomètre, inhibition des contractions utérines ...).

Le plus souvent, l'insuffisance lutéale apparaît dans la seconde partie de la gestation, autour du jour 25 à 35, ce qui correspond au moment où la progestérone commence sa remontée (Verstegen et al., 2008) et serait associé à une durée d'inter-œstrus plus court.

De plus, selon Günzel-Appel et al (Günzel-Apel et al., 2012), ces chiennes, lorsqu'elles sont non gestantes présentent des taux de progestérone plus bas durant la phase lutéale que les chiennes du groupe contrôle.

Ainsi, un intervalle inter-œstrus court (3 à 5 mois) peut suggérer un problème au moment de l'ovulation mais aussi une régression précoce du corps jaune ou une absence de phase lutéale.

Pendant la seconde moitié de la gestation, le corps jaune dépend des facteurs lutéotrophiques produits par l'hypophyse, tel que la prolactine et la LH.

En fin de gestation, une insuffisante sécrétion de prolactine pourrait être la cause primaire de l'insuffisance lutéale (Günzel-Apel et al., 2006; Krachudel et al., 2013).

Dans l'étude de Günzel-Appel et al, (Günzel-Apel et al., 2006), s'intéresse à des cas de Bergers Allemands pour lesquels un inter-œstrus court est rapporté.

Ces chiennes, suspectées de déclencher une insuffisance lutéale pendant la gestation, sont alors complémentées en progestérone.

Les concentrations sériques en relaxine de celles-ci apparaissent significativement plus basses que celles des chiennes avec un inter-œstrus normal.

Or, comme vu précédemment, la relaxine pourrait jouer un rôle majeur dans la sécrétion de prolactine et donc de progestérone.

Une autre hypothèse pour expliquer les faibles concentrations en progestérone mesurées serait la présence d'une infection ou inflammation de l'endomètre, qui provoquerait la synthèse de PGF2 alpha, provoquant une lutéolyse.

En effet, l'utérus n'est pas impliqué dans la régulation du corps jaune pendant la phase lutéale du cycle œstral ou pendant la gestation, excepté durant les dernières 48h avant la parturition. Pendant ces 2 jours, une augmentation des PGFM (13,14-dihydro-15-keto-PGF(2alpha)), dont le métabolite principal des PGF(2alpha) a été démontrée (C. A. Johnson, 2008).

En conclusion, l'insuffisance lutéale survient pendant la seconde moitié de la gestation, lorsque la progestérone commence sa remontée (autour du jour 25 et 35 post ovulation). C'est une cause complexe et hétérogène, peu documentée d'avortements et d'intervalles inter-œstrus courts chez la chienne.

## ***2 L'insuffisance lutéale chez la femme***

Les symptômes classiques d'une insuffisance lutéale chez la femme sont des avortements consécutifs lors du premier trimestre de gestation, ainsi qu'une infertilité.

En effet, le placenta prend le relais sur le corps jaune à 6 – 8 semaines après la gestation.

Cependant, les symptômes associés à l'insuffisance lutéale sont encore plus complexes car contrairement à la chienne, la sécrétion de progestérone chez la femme s'accompagne d'une sécrétion d'œstrogènes.

Lorsque les œstrogènes deviennent prédominants, les difficultés à concevoir découlent de leur effet sur l'utérus.

L'incidence de l'insuffisance lutéale est estimée entre 23 et 60% lorsque l'on considère uniquement les femmes présentant des avortements répétés, et entre 3,5 et 20% en ajoutant celles qui présentent une infertilité.

Contrairement à la chienne, une hyperprolactinémie a été relié chez certaines patiente à une insuffisance lutéale et un traitement avec de la bromocriptine aurait permis de restaurer une progestéronémie normale et un développement endométrial adéquat (Balasch and Vanrell, 1987; Vanrell and Balasch, 1986).

## ***3 Diagnostic de l'insuffisance lutéale : un diagnostic d'exclusion***

Lorsque toutes les autres causes d'infertilité ou d'avortements sont exclues, une suspicion d'insuffisance lutéale peut être évoquée.

Ceci impliquera un dosage régulier (une à deux fois par semaines) de la progestérone à l'aide d'un appareil réalisant des mesures quantitatives précises pour vérifier cette hypothèse.

Il est aussi utile, si possible de réaliser un dosage de la relaxine et de la prolactine.

Chez la chienne présentant des concentrations en progestérone diminuées, avec des fœtus non viables, la complémentation en progestérone n'est pas recommandée car elle inhibe les contractions utérines et empêche l'expulsion de fœtus anormaux.

Ainsi, la complémentation en progestérone ne devrait être instituée que dans le cas où les fœtus sont viables, ceci est donc à vérifier régulièrement par échographie. (Günzel-Apel et al., 2006; C.A. Johnson, 2008)

Au CERREC, les différents critères de suspicion de l'insuffisance lutéale pris en compte sont les suivants :

Une **progestéronémie inférieure à 45 nmol/L dans le premier tiers de gestation ou inférieure à 30 nmol/L dans le troisième tiers de gestation.**

Ou encore, une **chute** de la progestéronémie de **20 à 30% entre 2 dosages à 7 jours d'intervalle.**

Aussi, si la valeur de progestérone plasmatique semble faible dès le début de la gestation, sans être au-dessous de la valeur seuil (<6-9 nmol/L), mais avec des antécédents d'infertilité rapportés, on peut réaliser un suivi durant la gestation.

En cas d'insuffisance lutéale déjà manifestée sur une gestation précédente, l'animal aurait pu avorter à cause de cela, il faudra aussi suivre attentivement la chienne gestante.

Chez la femme, le fonctionnement adéquat du corps jaune peut être évalué en réalisant des biopsies endométriales, qui font l'objet d'analyse histologique. Le développement normal de l'endomètre est évalué selon différents critères (Balasch and Vanrell, 1987).

#### **4 Traitement de l'insuffisance lutéale**

##### 4.1 DIFFERENTES MOLECULES DISPONIBLES ET PHARMACOLOGIE

De nombreux progestatifs peuvent être utilisés pour traiter l'insuffisance lutéale, particulièrement chez la femme. Les voies d'administration sont variées : voie orale, intramusculaire, vaginale ou encore intranasale, sublinguale, rectale.

Du fait de ses effets secondaires marqués tel que l'augmentation du risque de malformations congénitales, ou sur les lipides circulants, l'emploi de progestérone synthétique est moins recommandé que celui de la progestérone d'origine naturelle qui n'a ni d'effet sur les HDL, ni d'effet tératogène.

La progestérone naturelle est rapidement métabolisée lors de l'administration orale. Ses propriétés pharmacocinétiques sont influencées par la prise de nourriture ou ses particularités dans la préparation choisie. En effet, lorsque celle-ci est micronisée, sa biodisponibilité est améliorée.

Chez la femme, après l'absorption, la progestérone est rapidement métabolisée dans les intestins et transite par le foie. La concentration maximale en progestérone dans le plasma est atteinte en 2 à 4h et reste élevée pendant 6 à 7h pour la progestérone micronisée.

L'administration de progestérone IM permet d'obtenir de bons résultats (hautes concentrations sériques en progestérone, bon taux de gestation), mais son utilisation quotidienne est peu confortable (Tavaniotou et al., 2000).

##### 4.2 RECOMMANDATIONS CONCERNANT LE TRAITEMENT

Lorsque les dosages de progestéronémie se révèlent être bas et que cela présente un risque pour la gestation, il est préférable de traiter, bien que les doses recommandées restent empiriques.

L'insuffisance lutéale peut être traitée par voie injectable avec de la progestérone naturelle (suspension huileuse) à administrer à la posologie de 2mg/kg q72h IM.

L'altrénogest (Regumate) est un progestatif synthétique possédant une AMM pour l'espèce équine. Il peut être donné tous les jours, par voie orale à une dose de 0,088 mg/kg PO SID.

L'acétate de médroxyprogestérone à la dose de 0,1 mg/kg PO SID peut également être administrée. Cependant, ces progestérones ne peuvent pas être mesurées par laboratoire pour déterminer l'efficacité de la complémentation.

Ainsi, l'utilisation d'une **progestérone micronisée naturelle** par voie orale est recommandée (UTROGESTRAN ND).

L'objectif du traitement est d'obtenir des valeurs dans les intervalles physiologiques. Le traitement est généralement initié à **10 mg/kg PO** quatre fois par jours et les concentrations doivent être réévaluées dans les 2 à 3 jours qui suivent le début de la prise médicamenteuse. Cependant, il faut garder à l'esprit que les réponses sont très variables en fonction des animaux (Verstegen et al., 2008).



Au CERREC, la posologie utilisée est de 10 mg/kg PO toutes les 8h (TID) à toutes les 6h (QID) et réadaptée en fonction des dosages de progestéronémie hebdomadaires (augmentation de la fréquence ou de la dose).

Il est indispensable que le traitement soit arrêté 2 à 3 jours avant la mise-bas. En effet, le maintien artificiel de la concentration sérique de progestérone à des niveaux élevés au-delà de la date de parturition attendue, la chienne ne pourra pas mettre bas de façon spontanée, et les chiots risquent de naître morts.

La date de la mise-bas doit être estimée, via des mesures de suivi de l'ovulation et de la gestation (M. V. Root Kustritz, 2001).

#### 4.3 EFFETS SECONDAIRES

La supplémentation en progestérone n'est indiquée que dans les cas où l'insuffisance lutéale est suspectée et qu'il existe un risque de perte des fœtus car son utilisation à mauvais escient peut engendrer des effets secondaires tels que la masculinisation des femelles (Curtis and Grant, 1964) et des cryptorchidies chez les mâles, ainsi qu'une prolongation de la gestation, très délétère chez la chienne pour les fœtus.

#### *Synthèse*

Dans cette seconde partie, nous avons pu décrire l'insuffisance lutéale, à la lumière des informations apportées dans la première partie pour comprendre le cycle œstral si particulier chez la chienne, une cause d'infertilité au sens large chez la chienne et plus précisément d'avortements lors de la seconde moitié de la gestation (autour du jour 25 à 35 post-ovulation).

Cette affection est reconnue chez la femme et provoque des avortements dans le **premier trimestre**, lorsque le placenta n'a pas encore fait le relai avec le corps jaune pour la production de progestérone, **indispensable au maintien de la grossesse**.

Chez la chienne, on ne peut parler d'insuffisance lutéale qu'après avoir éliminé toutes les autres causes d'avortements, en particulier infectieuses.

En pratique, cette démarche est **difficile à mettre en place**, et au CERREC, des prélèvements vaginaux associés à des mises en culture, des examens complémentaires afin de diagnostiquer des problèmes métaboliques ou endocriniens sont réalisés **au début de la mise à la reproduction** pour les chiennes ayant présenté des **antécédents d'infertilité**. Ensuite, un **suivi hebdomadaire** de la progestéronémie plasmatique est effectué, et si les critères de suspicion évoqués dans la Partie II. D.3. sont reconnus, une **complémentation** adéquate en progestérone micronisée par voie orale (UTROGESTRAN ND) est initiée afin d'éviter tout risque pour la portée.

De nombreuses pistes pour expliquer cette incapacité du corps jaune à fournir une quantité de progestérone adéquate au maintien de la gestation chez la chienne ont été évoquées, dont un **déficit en prolactine**, facteur lutéotrophique majeur dans la seconde moitié de la gestation, ou encore une **inflammation de l'endomètre** induisant une lyse précoce du corps jaune par les PGF2 alpha.

Nous avons mentionné dans cette partie que les **troubles endocriniens** pouvaient être liés à des troubles de la reproduction et notamment l'**hypothyroïdie**, qui peut en outre se manifester par une absence de chaleur chez la chienne.

L'objet de ce travail est la recherche d'un lien entre un **mauvais ajustement de la thyroïde aux besoins de la gestation** et l'insuffisance lutéale constatée chez certaines chiennes infertiles. La dernière partie de cette revue bibliographique s'appliquera à apporter des arguments en faveur de cette hypothèse.

### III. L'HYPOTHYROÏDIE : UNE CAUSE SUSPECTEE D'INFERTILITE D'ORIGINE ENDOCRINIENNE.

#### A. DONNEES GENERALES SUR L'HYPOTHYROÏDIE

##### *1 Anatomie et physiologie de la thyroïde*

###### 1.1 ANATOMIE ET HISTOLOGIE DE LA GLANDE THYROÏDIENNE

###### a. Description anatomique

La glande thyroïdienne des chiens est une structure constituée de deux lobes totalement séparés chez le chien, et qui se superposent à la trachée, juste en dessous du larynx. Des tissus thyroïdiens accessoires sont souvent présents et se trouvent tout le long de l'œsophage et en particulier à l'entrée de la cage thoracique (Jerry Kaneko et al., 2008).

La thyroïde est de couleur brune, et apparaît lisse chez les carnivores domestiques.

Elle est irriguée principalement dans sa région crâniale par l'artère thyroïdienne crâniale, provenant de l'artère carotide commune. L'artère thyroïde caudale est plus rudimentaire, voir absente et provient du tronc brachio-céphalique.

Le drainage veineux est plus remarquable du fait du rôle de sécrétoire de la glande. Il est assuré par trois veines, la veine thyroïde crâniale, moyenne et caudale.

###### b. Description histologique

L'**unité structurale** de la thyroïde est le **lobule**, qui sont délimités par des travées, formées d'un tissu conjonctif lâche qui entoure également la thyroïde en formant une capsule. L'**unité fonctionnelle** de la thyroïde est le **follicule**, sphère cavitaire composé d'un épithélium stratifié formé par les **thyrocytes**, reposant sur une lame basale et qui entourent la **colloïde**, substance éosinophile homogène.

Les thyrocytes ont une forme cuboïde lorsqu'ils sont quiescents, et en colonne lorsqu'ils sont actifs. Un autre type cellulaire, plus minoritaire, est représenté. Ce sont les cellules parafolliculaires, qui sous forme d'amas, entre les follicules, stockent la calcitonine.

###### 1.2 LES HORMONES THYROÏDIENNES

###### a. Synthèse et sécrétion

###### i) Importance de l'iode

L'iode, indispensable au fonctionnement thyroïdien n'est présente qu'en quantité limitée dans l'environnement. Les besoins en iode sont faibles et sont compensés par une **absorption efficace dans les intestins** ainsi qu'un **recyclage des hormones thyroïdiennes**, associé à un stockage important d'hormones thyroïdiennes.

Ainsi, la thyroïde est capable de stocker 20% de l'iode totale du corps.

Les ions iodures résultant de l'iode ingérée sont activement transportés depuis les liquides extra cellulaires vers les cellules folliculaires de la thyroïde. Cette capture est stimulée par la TSH et inhibée par des agents goitrogéniques comme le thiocyanate ou le perchlorate, ou encore par un important apport de I<sup>-</sup> (Jerry Kaneko et al., 2008).

###### ii) Synthèse des hormones thyroïdiennes

Après avoir été capturés, les ions I<sup>-</sup> sont oxydés en intermédiaires réactifs (réaction catalysée par la thyroïde peroxydase) puis incorporés quasi immédiatement dans les **résidus tyrosines** des protéines de la **thyroglobuline**, à la position 3 ou 5 du groupe phényle pour former une monoiodotyrosine (MIT) ou une diiodotyrosine (DIT).

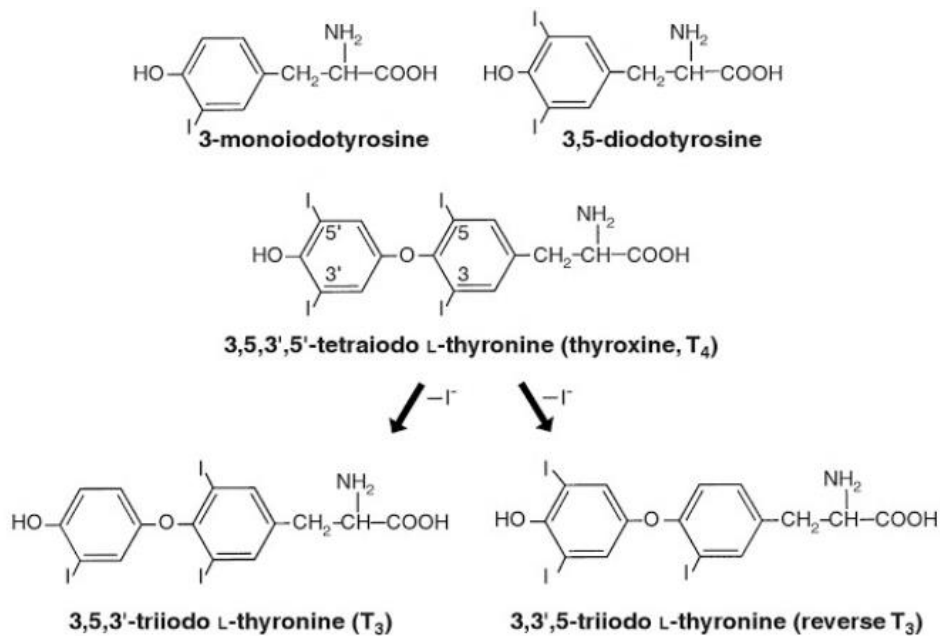


Figure 19 : Structure des hormones thyroïdiennes et de leurs précurseurs (Feldman and Nelson, 2004).

Une fois que les groupes phényl des tyrosines sont combiné à un atome iode, une DIT se couple à une autre DIT pour former la T4 (3,5,3',5'-tetraïodo L-thyronine ou thyroxine) ou une MIT se couple à une DIT pour former la T3 (3,5,3'-triïodo L-thyronine) (Figure 19).

La **thyroglobuline** est une glycoprotéine avec un haut poids moléculaire, exclusivement synthétisée par les cellules folliculaires de la thyroïde. Après sa synthèse, elle se place dans la membrane cellulaire où les réactions décrites précédemment ont lieu.

La **thyroglobuline iodée**, qui correspond à ce qu'on appelle la **colloïde** est sécrétée dans la lumière des follicules où elle est stockée.

### iii) Libération des hormones thyroïdiennes

Une stimulation par la **TSH (Thyroid Stimulating hormone)**, entraîne une **recapture par endocytose** de petite quantité de colloïde par les cellules folliculaires.

La colloïde endocytée est transportée par les lysosomes et la protéine lysosomale dégrade la colloïde en MIT, DIT, T3 et T4.

Les iodotyrosines (MIT et DIT) sont dégradées et les ions iodures sont recyclés pour la formation de thyroglobuline iodée ou diffusent dans la circulation sanguine. Une petite quantité de thyroglobuline peut se retrouver dans la circulation. Cette fuite de protéines est augmentée dans le cas d'une thyroïdite.

Les hormones T3 et T4 **diffusent simplement**. La reverse T3 est formée par perte d'un atome iode par T4, qui a lieu surtout dans les tissus périphériques mais aussi parfois dans la glande, elle correspond à la forme inactive de T4.

Toute la T4 circulante provient de la glande thyroïdienne, contrairement à la **T3 qui provient seulement à 20% de la glande** et 5% de reverse T3.

La majorité de la T3 et de reverse T3 (rT3, la forme inactive) provient de l'activité enzymatique extra thyroïdienne consistant en la 5'-désiodation de la T4 (Jerry Kaneko et al., 2008; Scott-Moncrieff, 2007).

#### iv) Transport des hormones thyroïdiennes

Dans le sérum, plus de 99% de la T4 et de la T3 circulante est liée aux protéines plasmatiques, dont la principale est la **TBG (Thyroid hormone Binding Globulin)**, mais l'on retrouve aussi des transthyréline, albumine, et apolipoprotéines. L'affinité de la TBG plus grande pour la T4 que pour la T3.

Les TBG permettent de solubiliser ces hormones lipidiques pour leur transport plasmatique mais aussi limite leur excrétion rénale car leur poids moléculaire est trop important pour être filtré par le glomérule rénal.

Cette forme de transport sert aussi de réserve importante en cas de nécessité de mobiliser ces hormones (Jerry Kaneko et al., 2008; Larsson et al., 1985; Scott-Moncrieff, 2007).

#### v) Mécanisme d'action

La **molécule active est majoritairement la T3 libre**, elle est issue de la T4 et convertie par désiodation dans les cellules cibles. On peut considérer que les hormones thyroïdiennes ont deux types d'action :

- Une action sur le **génome**, soit directement en agissant dans le **noyau**, soit indirectement en agissant sur les **mitochondries**, ce qui aura au plus long terme une conséquence sur la transcription de gènes cible.
- Une action sur les **structures membranaires, cytoplasmiques ou mitochondriales** dont le temps de latence sera alors plus court (quelques secondes à quelques minutes).

Au **niveau nucléaire**, c'est la T3 qui se fixe sur son **récepteur nucléaire** aux hormones thyroïdiennes, change sa conformation et interagit ensuite avec certaines séquences de l'ADN (*Thyroid Response Elements* ou TRE), en **amont des gènes cible** et assure une action activatrice ou inhibitrice de ceux-ci.

Les récepteurs agissent comme des **facteurs de transcription activés** par la fixation de l'hormone et modulent l'expression du gène.

En l'absence de l'hormone, les sites de fixation agissent comme répresseur de la transcription du gène. Lorsque l'hormone se fixe, le changement de conformation du récepteur implique une activation de la transcription du gène. Chez les mammifères, deux gènes codent respectivement pour les TR alpha et les TR beta (Choksi et al., 2003).

La T3 entre plus rapidement dans la cellule que T4 et son effet est **3 à 5 fois** plus puissant que la T4 (Scott-Moncrieff, 2007).

Sur les **membranes cellulaires**, des récepteurs faisant intervenir la T3 et la T4 sont présents. La T3 peut agir sur les canaux calciques (dans la cellule myocardique) ou en activant les  pompes NaK ATPase, ce qui augmente la **consommation d'oxygène**. De plus, celles-ci peuvent activer des phospholipases et phosphokinases et agir sur la **thermogenèse**, la **lipolyse**.

Enfin, au **niveau mitochondrial**, la T4 possède un effet immédiat sur le système oxydatif et le cytochrome dans des conditions non physiologiques.

Dans des conditions normales, 3 ATP sont libérées par atome d'oxygène consommé. En présence de T4, il a été montré *in vitro* que le système était « découplé » c'est-à-dire qu'une quantité d'atomes d'oxygène plus importante est nécessaire pour produire cette même quantité d'ATP. Ainsi, la T4 induit une augmentation des besoins en oxygène par la cellule, et l'important excès d'énergie oxydative non incorporée dans l'ATP élèverait la température du corps et se dissiperait en chaleur. D'autres effets impliquent la fixation de la T3 sur le génome de la mitochondrie (Jerry Kaneko et al., 2008; Vinzio et al., 2008).

#### vi) Organes cibles et rôles des hormones thyroïdiennes

Les effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme sont multiples et impliquent de nombreuses activités enzymatiques. Elles stimulent la synthèse, l'utilisation, la dégradation des protéines et des enzymes diverses, mais aussi interviennent dans la **thermorégulation** et le **métabolisme des lipides**.

Globalement, leur rôle est majeur dans le **maintien de l'homéostasie**. Elles sont **hyperglycémiantes**, car elles favorisent la néoglucogenèse et l'assimilation de glucose par les intestins.

Leur effet sur le cœur est **inotrope** et **chronotrope**, ce qui explique la tachycardie décrite dans l'hyperthyroïdie.

Leur importance est majeure en termes de **développement fœtal**, en particulier pour le développement du squelette et du système nerveux. Des déficits de ces différentes hormones induit des malformations telles que le nanisme ou un déficit neurologique couramment appelé « crétinisme » (Feldman and Nelson, 2004; Vinzio et al., 2008).

#### vii) Catabolisme

Les hormones thyroïdiennes subissent des désiodations, des conjugaisons et des réactions oxydatives.

Les désiodations sont catalysées par des désiodases dans les tissus périphériques et l'iode relarguée est recyclée. T4 peut être transformé en sa forme inactive (rT3) ou active (T3) dans chaque cellule. Certaines hormones thyroïdiennes sont conjuguées dans le **foie** et excrétées dans la bile.

Le **rein** excrète aussi les formes libres et des formes désaminées et décarboxylées des hormones thyroïdiennes (Jerry Kaneko et al., 2008).

### 1.3 HOMEOSTASIE THYROIDIENNE

La régulation de la fonction thyroïdienne est assurée par **l'axe hypothalamo-hypophysaire** (Figure 20).

La **TSH (Thyroid Stimulating hormone)** est l'agent principal de la régulation de la thyroïde. Celle-ci est sécrétée par l'hypophyse antérieure. Sa sécrétion est pulsatile.

Elle est stimulée par la **Thyrotropin-Releasing hormone (TRH)**, et inhibée par une action centrale de la dopamine et de la somatostatine ainsi que **l'action inhibitrice des hormones thyroïdiennes** sur l'hypothalamus et l'hypophyse (Kooistra et al., 2000).

La TRH est synthétisée par l'hypothalamus et transportée par les axones à l'hypophyse où elle stimule les cellules thyrothrophiques.

La cellule cible de la TSH, produit de la thyroxine (T4) qui est responsable d'un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de TSH, avec une participation de la T3.

Une faible diminution de thyroxine libre (fT4) circulante est associée à une augmentation de la concentration en TSH dans le sérum. Ces fT4 implique une réponse rapide de l'hypothalamus qui augmente sa sécrétion de TRH, favorisant une stimulation par la TSH, tandis que des concentrations hautes en fT4 produit l'inverse (Kaptein et al., 1994).

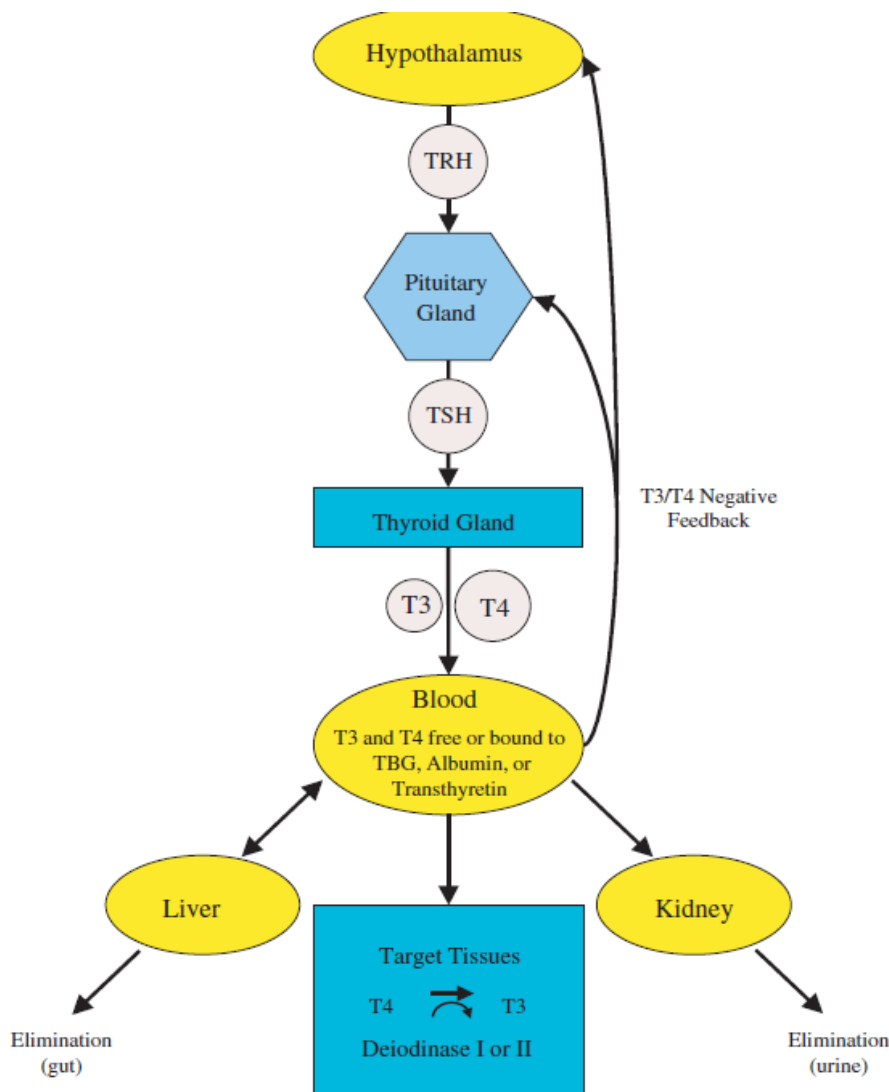


Figure 20 : Implication de l'axe hypothalamo-hypophysaire dans la régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes par la glande thyroïde, et voies d'éliminations de ces hormones, d'après (Choksi et al., 2003)

### Synthèse

La thyroïde, dont l'unité fonctionnelle est le **lobule**, synthétise en majorité la **thyroxine (T4)**, et dans une moindre mesure la **T3**, forme active cellulaire.

La T4, et la T3 qui en dérivent sont synthétisées à l'issue de l'incorporation des ions iodures dans les résidus thyrosines, fixés sur la thyroglobuline et constituent la colloïde, lieu de stockage de ces hormones.

La T4 est majoritairement excrétée par la glande thyroïde et transportée dans le sang par la TBG vers les tissus cibles qui réalisent la désiodation en T3.

Les actions de ces hormones sont nombreuses et variées, et la puissante action de la T3 sur les récepteurs nucléaires est responsable de l'augmentation du **métabolisme basal** et de la consommation d'oxygène.

Elles ont également un rôle majeur dans le développement **normal**, en particulier neurologique et squelettique du **fœtus**.

La synthèse et la sécrétion de ces hormones est régulée par l'**axe hypothalamo-hypophysaire** via deux hormones à sécrétion pulsatile : La TRH, hormone hypothalamique stimule la synthèse de TSH par la glande pituitaire qui agit directement sur la thyroïde. La fT4 et la T3 agissent directement sur l'axe par un **feedback négatif**.

## 2 L'hypothyroïdie chez le chien

### 2.1 PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HYPOTHYROÏDIE CHEZ LE CHIEN

La production d'hormones thyroïdiennes est permise par le fonctionnement de la glande thyroïdienne elle-même, de l'hypophyse, et de l'hypothalamus.

Chez le chien, ces trois structures peuvent présenter une anomalie entraînant un défaut de production de ces hormones.

Ainsi, la cause la plus fréquente d'hypothyroïdie chez le chien est une **hypothyroïdie primaire**, c'est-à-dire que l'anomalie concerne la glande thyroïdienne.

Plus rarement, on peut rencontrer une **hypothyroïdie secondaire**. La production de TSH par l'hypophyse est alors insuffisante.

L'**hypothyroïdie tertiaire** concerne une anomalie de la sécrétion de la TRH par l'hypothalamus. Elle est connue chez l'homme mais n'a pas encore été prouvée chez le chien.

Enfin, nous développerons dans cette partie un autre type d'insuffisance en hormones thyroïdiennes qui se rencontre lors d'affection systémique ou endocrinopathie.

#### a. L'hypothyroïdie primaire

##### i) Thyroïdite lymphoplasmocytaire

La plus fréquente affection de la thyroïde chez le chien est une hypothyroïdie primaire (95% des cas), c'est-à-dire résultant d'une **destruction de la glande thyroïde** même par un mécanisme à médiation immune, caractérisé par une augmentation d'auto-anticorps dirigés contre les antigènes thyroïdiens (contre la thyroglobuline, T3, T4).

Histologiquement, on constate une infiltration diffuse par des **lymphocytes** en majorité, des plasmocytes et des macrophages de la glande, provoquant une destruction progressive des cellules folliculaires et une fibrose secondaire de la glande.

Ceci entraîne une diminution de la quantité d'hormones thyroïdiennes circulantes.

Les **signes cliniques** apparaissent lors que **75%** de la glande est détruite. On parle de thyroïdite lymphoplasmocytaire.

L'évolution de l'hypothyroïdie est longue, a été décrite en plusieurs stades : une **phase subclinique**, caractérisée par des tests positifs pour les **auto-anticorps anti-thyroglobuline**, une faible inflammation de la glande qui s'accroît progressivement et avec l'apparition éventuelle d'une augmentation de la TSH avec diminution de la T4.

##### ii) Atrophie idiopathique

Les autres causes d'hypothyroïdie primaire sont plus rarement une **dégénérescence thyroïdienne idiopathique**, se caractérisant histologiquement par une perte du parenchyme de la glande avec une dégénérescence précoce des cellules folliculaires, remplacé par du tissu adipeux.

L'atrophie idiopathique pourrait être le **stade final** de la thyroïdite lymphoplasmocytaire. Plusieurs arguments semblent affirmer ceci :

Une étude récente a montré que le diagnostic d'atrophie idiopathique était fait sur des chiens **plus vieux** que pour le diagnostic de thyroïdite lymphoplasmocytaire (Graham and al 2001 a).

De plus, le test de détection des auto-anticorps anti thyroglobuline deviennent négatif avec le temps chez les chiens, ce qui laisse penser que les antigènes provoquant la thyroïdite lymphoplasmocytaire disparaissent avec le temps.

Cependant, histologiquement, il est impossible de mettre en évidence une infiltration inflammatoire dans la glande. Ceci suggère qu'il existe plus qu'une étiologie concernant l'atrophie idiopathique.

Ainsi, l'**atrophie idiopathique** résultant d'une dégénérescence de la glande et la **thyroïdite lymphoplasmocytaire** (mécanisme à médiation immune), sont les deux affections **les plus courantes** chez le chien et provoquent une perte progressive de la fonction thyroïdienne et une diminution de la synthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes.

D'autres causes, comme une hyperplasie des cellules folliculaires, un néoplasie détruisant la glande (carcinome de la thyroïde ou carcinome épidermoïde le plus souvent), non sécrétantes, ou des causes iatrogènes (administration d'antithyroïdiens, excrèse de la glande thyroïdienne, utilisation d'iode radioactif).

#### b. L'hypothyroïdie secondaire

Moins fréquemment, l'hypothyroïdie est d'origine secondaire, c'est-à-dire d'origine hypophysaire avec une diminution de la sécrétion de TSH, entraînant secondairement une déficience de la synthèse et de la sécrétion d'hormones thyroïdiennes.

Les différentes causes peuvent être **malformation de l'hypophyse** (les Bergers Allemands y sont prédisposés), des **tumeurs de l'hypophyse** impliquant potentiellement d'autres affections (diabète insipide, problèmes de reproduction), ou encore une suppression de la fonction hypophysaire par une **maladie concomitante** (hyperadrénocorticisme), une administration de médicaments (glucocorticoïdes), de la malnutrition.

Chez le chien, une hypothyroïdie secondaire causée par une destruction de la glande pituitaire ou un dysfonctionnement de celle-ci est plutôt rare.

En revanche, une suppression de la fonction hypophysaire via l'administration de glucocorticoïdes ou un hyperadrénocorticisme est plutôt fréquent.

#### c. L'hypothyroïdie tertiaire

Un seul cas convaincant a pour le moment été publié concernant une hypothyroïdie d'origine tertiaire et dont l'origine était une **adénome infiltrant de l'hypothalamus** chez un labrador mâle entier de 9 ans (Shiel et al., 2007).

#### d. L'hypothyroïdie d'origine congénitale

L'hypothyroïdie congénitale peut résulter d'une exposition du fœtus à un excès ou une carence en iode, ou encore une hérédité.

Des malformations héréditaires de l'axe thyroïde-hypophyse-hypothalamus causent des symptômes d'une sévérité variable. Sans diagnostic précoce, ce type d'affection peut mener à un **nanisme disharmonieux** par exemple, comme il a été décrit un boxer mâle de 5 mois présentant une ossification incomplète des condyles huméraux sur les deux membres antérieurs, secondaire à un dysfonctionnement hypothalamo-hypophysaire (Vedrine et al., 2008).

Les hypothyroïdies congénitales peuvent être classées en **goitrigènes ou non**. Les goitres se développent lorsque la TSH est synthétisée en grande quantité, du fait de la déficience en hormones thyroïdiennes circulantes. Le goitre peut être présent à la naissance ou se développer ensuite.

Chez le fox terrier nain, une mutation autosomale récessive du gène codant par la thyroïde peroxydase, a été mise en évidence, et se manifestant par la présence d'un goitre congénital, un poil anormal, une léthargie et une sténose des conduits auditifs chez les nouveaux nés atteints (Fyfe et al., 2003).



## e. L'hypothyroïdie fonctionnelle et « euthyroid sick syndrom »

### i) Dysendocrinies et hypothyroïdie fonctionnelle

L'**hypercorticisme** reste une cause majeure d'hypothyroïdie fonctionnelle.

En effet, on observe chez ces animaux, on retrouve des valeurs de tT4, tT3 et rT3 diminuées. De plus, la fT4 est souvent augmentée. C'est un indicateur de diminution de la fixation de la T4 aux TBG.

La glande thyroïdienne est tout de même capable de répondre à des administrations exogènes de TSH (Ferguson and Peterson, 1992; Peterson et al., 1984).

On peut également citer le diabète, en particulier le diabète sucré de type 2, pour lequel un lien avec l'hypothyroïdie a été observé (Ford et al., 1993).

### ii) Euthyroid sick syndrom

L'« **euthyroid sick syndrom** » ou « **non-thyroidal illness** » (NTI) fait référence en médecine humaine à une diminution de la T3 plasmatique lors **maladie concomitante**, en l'absence de maladie thyroïdienne ou de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Dans les cas peu sévères, la T3 totale et la fT3 diminuent du fait d'une baisse de conversion de la thyroxine en T3 dans les tissus périphériques (en particulier le foie). Normalement, la TSH et la T4 restent dans les valeurs usuelles. Dans les cas très critiques, on peut rencontrer une suppression totale de la T4 et T3 totale (Golombek, 2008).

Cependant, chez le chien, la suppression de la T3 totale seule est peu fréquente, et souvent on retrouve plutôt une **suppression de la T4 totale seule** ou de la T4 totale et de la T3 totale.

Une étude chez des chiens atteints de maladie orthopédiques, gastrointestinales ou des néoplasies et présentant un NTI, les dosages hormonaux de tT4 et tT3 pouvaient présenter un intérêt pronostique (Mooney et al., 2008).

## 2.2 EPIDEMIOLOGIE

La **prévalence** de l'hypothyroïdie a été estimée entre **0,2 et 0,8%** dans l'espèce canine, selon deux études réalisées aux États-Unis et en Angleterre (Dixon et al., 1999; DI, 1994), mais il faut émettre des réserves du fait de la difficulté d'établir le diagnostic.

Une étude réalisée sur 3206 cas provenant de 15 universités canadiennes et américaines ont permis de mettre en évidence des dispositions raciales qui concernent les Airedale Terrier, Teckel, Doberman, Golden Retriever, Schnauzer nain, Setter Irlandais, Cocker Spaniel, Loulou de Poméranie.

Cette étude désignait également comme prédisposées les chiennes stérilisées (Milne and Hayes, 1981), ce qui est contredit par Dixon et al (Dixon et al., 1999), qui **ne met pas en évidence de différence significative entre les sexes**.

Dans l'étude de Dixon et al, les retrievers, les cockers spaniels et terriers représentaient les races les plus fréquemment retrouvées. Cependant, l'étude statistique ne permettait pas d'affirmer que ces races étaient significativement plus exposées à l'hypothyroïdie (en comparant ces races à la population de l'hôpital). La prédisposition de ces races est expliquée par l'auteur comme étant un biais dû à la popularité des races citées précédemment.

Plus récemment, en 2002, une étude (Nachreiner et al., 2002) s'intéressant à la détection d'auto-anticorps dirigés contre les hormones thyroïdiennes désignait les races prédisposées telles que le Pointer, le Skye terrier, le bichon maltais, le griffon vendéen. La prévalence était significativement corrélée au poids des chiens.

L'hypothyroïdie est donc classiquement à considérer comme une **maladie de moyennes à grandes races**.

Les âges représentés sont majoritairement situés entre **2 et 9 ans**.

### 2.3 LES SIGNES CLINIQUES ASSOCIES

Une review compilant les signes cliniques observés chez 162 cas provenant de 4 études différentes a permis de faire le point sur les différents signes cliniques associés à l'hypothyroïdie.

Il faut cependant garder à l'esprit que la prévalence des signes indiqués peut ne pas exactement correspondre à la prévalence dans la position réelle du fait du grand nombre d'animaux référés aux structures ayant mené les études.

Par ordre d'importance, on retrouve chez les chiens atteints d'hypothyroïdie les signes cliniques suivants.

#### a. Symptômes généraux

Dans un premier temps, l'hypothyroïdie affecte le **métabolisme basal** des patients atteints. Ainsi, 49% des chiens présentés étaient **obèses**, et 48% d'entre eux présentaient une **léthargie** et probablement une intolérance à l'effort ;

Une étude réalisée par Greco et al (Greco et al., 1998), de mesures de calorimétries réalisées sur des sujets hypothyroïdiens via la détermination des VCO<sub>2</sub> (mL/min/kg, reflétant la production de dioxyde de carbone) et le VO<sub>2</sub> (mL/min/kg, reflétant la consommation de dioxygène) ont permis de démontrer que l'énergie dépensée par les chiens hypothyroïdiens (exprimée en kcal/kg/jours) était de 15% inférieure à celle des chiens cliniquement normaux, et que les mesures redevenaient égales après une supplémentation adaptée en lévothyroxine.

#### b. Anomalies de la peau

85% des chiens atteints d'hypothyroïdies présentent des **troubles dermatologiques**.

L'initiation de la phase anagène du poil nécessite l'intervention des hormones thyroïdiennes. Ainsi, une **alopécie**, causée par la chute des poils en phase télogène est généralement le premier signe rapporté par les propriétaires. Elle est **bilatérale et symétrique**, et souvent accompagnée d'une hyperpigmentation, de squames ou d'une séborrhée.

Parfois, les biopsies peuvent conduire à l'identification d'un myxœdème. Cette accumulation de mucine provoque l'évocatrice « **expression de chien triste** ».

Une pyodermite associée a été constatée chez 14% des chiens étudiés. Des otites externes bilatérales sont également fréquemment rencontrées.

#### c. Signes neurologiques et atteintes neuromusculaires

Une hypothyroïdie peut être la cause **d'atteintes centrales** : épilepsie, lésions d'ischémie, infarctus, coma myxœdémateux, syndrome vestibulaire central ou périphérique : polyneuropathies généralisées, paralysies du nerf facial, syndrome vestibulaire périphérique, paralysie laryngée, mégacœsophage, myopathies... (Bertalan et al., 2013; Vitale and Olby, 2007).

Les atteintes périphériques sont les plus couramment rapportées, et en particulier les **neuropathies périphériques** qui toucheraient préférentiellement les grands chiens ou races géantes et provoque une intolérance à l'exercice, une faiblesse généralisée, une anorexie, une ataxie voire une quadriparésie pouvant aller jusqu'à la paralysie.

La pathogénie des polyneuropathies périphériques est inconnue, mais pourrait résulter d'une anomalie de la conduction du signal et d'un mauvais fonctionnement des pompes NaK et une secondaire à un manque d'ATP et provoquant ainsi un ralentissement de la conduction du signal dans les axones.

Les anomalies du système nerveux central seraient à relier en particulier à l'athérosclérose secondaire à la maladie ainsi que des anomalies de l'excitabilité des neurones attribuable à une mauvaise libération des neurotransmetteurs (Scott-Moncrieff, 2007).

#### d. Anomalies de la fonction reproductrice

Longtemps considéré comme l'un des symptômes principaux de l'hypothyroïdie chez la femme et chez l'homme, son implication dans les problèmes reproductifs chez le chien n'est pas encore clairement établie. Nous développerons dans la troisième partie de l'exposé ce point particulier.

#### e. Anomalies cardiovasculaires.

L'hypothyroïdie est classiquement associée à des symptômes cardiovasculaires, très bien étudiés chez l'Homme (Vinzio et al., 2008). On retrouve parmi eux des anomalies de la **conduction**, de la **contractilité**, de la **fréquence cardiaque**. En effet, la **bradycardie** est fréquemment retrouvée, ainsi que des **blocs atrio-ventriculaires de type 1** moins fréquemment.

Même si ces anomalies sont très documentées chez le chien, elles semblent avoir peu d'importance clinique. Chez l'homme un arrêt cardiaque est rarement la conséquence d'une hypothyroïdie et n'a pas encore été rapporté chez le chien.

Cependant, chez les chiens déjà atteint d'une maladie cardiaque, l'hypothyroïdie peut jouer un rôle délétère et exacerber les signes cliniques associés à la cardiopathie.

L'hypothyroïdie est considérée comme un facteur de risque d'apparition de l'athérosclérose, qui serait une complication rare de l'hypercholestérolémie observée chez les chiens hypothyroïdiens (Scott-Moncrieff, 2007).

#### f. Anomalies oculaires

Les anomalies rencontrées sont généralement des œdèmes des paupières, une **lipidose de la cornée**, un **ulcère** de la cornée, une uvéite chronique, un œdème de la rétine, une kératoconjonctivite sèche ... Ces trouvailles seraient plutôt le résultat de **l'état hyperlipémique** des chiens atteints plutôt qu'un effet direct du faible taux d'hormones thyroïdiennes disponibles.

#### g. Anomalies gastrointestinales

L'hypothyroïdie est un facteur de risque de la **pancréatite aigüe** chez le chien, et l'hypertriglycéridémie pourrait jouer un rôle dans la physiopathogénie de la maladie.

Les études faisant état d'autres troubles gastro-intestinaux tels que la constipation, la diarrhée, des vomissements sont peu nombreuses et ces symptômes étant très fréquents chez le chien sont difficilement reliables à l'hypothyroïdie (David, 2001).

#### h. Anomalies de la formule sanguine et de la biochimie

Une **anémie arégénérative**, normocytaire est normochrome, résultant principalement de la diminution de la production des érythrocytes apparaît dans 30 à 40% des cas.

Un traitement réalisé avec de la lévothyroxine permet de rétablir une numération formule normale (Hollander et al., 1967).

L'hypothyroïdie est également associée à une **hyperlipémie** (hypercholestérolémie dans 75% des cas et hypertriglycéridémie dans 88% des cas), ce qui prédispose les animaux malades à l'athérosclérose, augmente la viscosité sanguine et favorise les thrombo-embolies.(Vitale and Olby, 2007).

Une plus rare anomalie de la biochimie sont une augmentation des PAL, des ALAT et des CK.

Enfin, une diminution de la quantité plasmatique en facteur de Von Willebrand est suspectée chez les chiens hypothyroïdiens mais il manque encore des études permettant de relier l'activité de ce facteur aux hormones thyroïdiennes (Scott-Moncrieff, 2007).

## *Synthèse*

L'hypothyroïdie chez le chien est une maladie relativement fréquente dont la prévalence a été estimée entre 0,2 et 0,8%, et d'origine principalement primaire. La principale cause est la thyroïdite lymphoplasmocytaire qui est associée à une destruction auto-immune de la glande. Les signes cliniques apparaissent lorsque plus de 75% de la glande est détruite.

C'est une maladie qui concerne principalement les animaux entre 2 et 9 ans sans prédisposition de sexe établi et appartenant aux moyennes à grandes races

Du fait de l'implication des hormones thyroïdiennes dans de multiples grandes fonctions, les symptômes cliniques sont très variés. Les signes cliniques évocateurs sont la léthargie, l'obésité, une alopecie, et une expression de chien triste, des troubles de la reproduction et un état hyperlipémique pouvant engendrer des signes oculaires, digestifs et neurologiques.

## B. BIOCHIMIE DE LA THYROÏDE ET APPLICATION AU DIAGNOSTIC ET AU TRAITEMENT DE L'HYPOTHYROÏDIE

### *1 Exploration biochimique de la fonction thyroïdienne dans le cadre d'une recherche d'hypothyroïdie*

#### 1.1 EXAMENS CLASSIQUES DE LABORATOIRE : DOSAGE DE LA T4 TOTALE ET DE LA TSH BASALE.

##### a. Dosage de la T4 totale basale

###### i) Définition et méthodes de dosage.

Les concentrations sériques en T4 totale correspondent aux hormones liées aux protéines, dont la TBG, les transthyrélines, l'albumine et les apolipoprotéines.

La TBG est la protéine dont l'affinité pour T4 est la plus grande mais dont les capacités de fixation sont les plus basses. La transthyréline et l'albumine ont une moins bonne affinité mais des capacités de fixation plus grande que TBG.

###### ii) Méthodes de dosages

L'une des méthodes de dosage est le dosage radio-immunologique.

Celle-ci s'appuie sur l'utilisation d'une réaction de compétition entre la TBG du patient et une  $^{131}\text{I}$ -T4 du laboratoire. Cette  $^{131}\text{I}$ -T4 et la T4 du patient se fixent proportionnellement à leur concentration respective à la TBG. Aujourd'hui la  $^{131}\text{I}$ -T4 a été remplacée par des anticorps spécifiques qui ont une meilleure spécificité pour les hormones. Des anticorps polyclonaux sont en général utilisés. Le dosage est réalisé sur le sérum et nécessite donc un prélèvement sur tube sec.

La méthode de dosage utilisée dans le laboratoire de biochimie de l'école vétérinaire est celle de l'analyseur IMMULITE 2000, par chimioluminescence.

### iii) Interprétation des résultats

Pour les chiens, les valeurs de références sont **2,3 +/- 0,8 µg/dL soit 29,6 +/- 10,3 nmol/L**. Dans le laboratoire de biochimie de VetAgroSup, nous considérons un intervalle des valeurs usuelles entre **15 et 65 nmol/L**.

Il existe très peu de faux négatifs, ainsi un dosage de T4 qui s'avère être dans les normes est très peu en faveur d'une hypothyroïdie. Une réaction croisée avec des anticorps anti-thyroglobulines présents chez certains chiens hypothyroïdiens peut interférer dans la mesure et créer de faux négatifs.

Cependant, comme il sera développé ensuite, la concentration sérique peut être modifiée par de nombreux facteurs tels que la prise de médicaments ou une pathologie concomitante. Ainsi, un dosage seul de la T4 ne permet pas d'affirmer que le chien est hypothyroïdien. Une évaluation de la TSH et ainsi du fonctionnement de l'hypophyse est indispensable.

## b. Dosage de la TSH basale

### i) Définitions et méthodes de dosage

Chez l'homme, la TSH est quasiment toujours augmentée lors d'hypothyroïdie et le dosage de la T4 totale a été remplacé par un dosage de la TSH et de la fT4.

Il est attendu qu'un animal hypothyroïdien présente des concentrations en TSH au-dessus de la normale, considérant le rétrocontrôle négatif exercé par la T4 et la T3 sur l'hypophyse.

Au laboratoire de biochimie de VetAgro Sup, on réalise un dosage par chimioluminescence, qui a montré la meilleure précision et la meilleure sensibilité. La précision du test est meilleure lorsque les valeurs sont compatibles avec une **hypothyroïdie (>0,6 ng/mL)**.

La limite de détection est située pour des valeurs comprises entre 0,01 et 0,03 ng/mL (Marca et al., 2001).

### ii) Interprétation des résultats

Chez le chien sain, les concentrations en TSH sont comprises entre 0 et 0,6 ng/mL.

Ainsi, 2/3 des chiens hypothyroïdiens présentent des valeurs de TSH supérieures à 0,6 ng/mL. Cependant, le dosage seul de la TSH est peu sensible et peu spécifique pour le diagnostic de l'hypothyroïdie d'origine primaire et des confusions sont possibles avec des euthyroid sick syndrom.

Bien que la combinaison de ce test avec le dosage de la T4 totale augmente la spécificité de celui-ci, la sensibilité reste basse et des valeurs dans les intervalles de référence ne permettent pas d'exclure une hypothèse d'hypothyroïdie car la sécrétion de TSH est pulsatile (R. M. Dixon and Mooney, 1999; Peterson et al., 1997; Ramsey et al., 1997; Scott-Moncrieff et al., 1998).

Une étude plus récente a permis de montrer que les chiens atteints d'hypothyroïdie primaire présentaient des patterns de sécrétion pulsatiles de TSH, avec une fréquence de 2 pulses toutes les 6h, de faible amplitude par rapport à la TSH basale, tandis que les chiens euthyroïdiens présentaient des fluctuations beaucoup moins nettes.

Du fait de la longue demi-vie des hormones thyroïdiennes, le feed-back négatif exercé par celles-ci sur la TSH serait moins rapide que la stimulation permise par la TRH (Kooistra et al., 2000).

## 1.2 INTERETS DES AUTRES METHODES DIAGNOSTIQUES

### a. Test de stimulation à la TSH

Le gold standard est le test de stimulation à la TSH (le test de stimulation à la TRH ayant été reconnue comme inutile au diagnostic de l'hypothyroïdie) (Frank, 1996).

Une faible concentration en T4 totale ne répondant pas à stimulation par la TSH bovine est considérée comme diagnostic de l'hypothyroïdie. Cependant, la TSH bovine n'est plus commercialisée pour la médecine vétérinaire (Diaz Espineira et al., 2007).

### b. Dosage de la T4 libre

#### i) Principes

La concentration en T4 est influencée par de nombreux paramètres et peut masquer une hypothyroïdie (Scott-Moncrieff et al., 1998).

La mesure de la T4 libre n'est pas influencée par les facteurs qui diminuent la fixation des hormones thyroïdiennes à leurs protéines. Le dosage de la T4 libre par dialyse à l'équilibre permettrait d'obtenir une sensibilité de 80 à 98% et une spécificité de 93% à 93,5% selon les études (R. M. Dixon and Mooney, 1999; Peterson et al., 1997).

**Ainsi, théoriquement, le dosage T4 libre serait donc un meilleur test que la T4 totale.**

#### ii) Applications

La mesure de la T4 libre est utilisée pour les animaux dont l'hypothyroïdisme est suspecté mais chez lesquels le dosage de la T4 totale n'est pas concluant, ou bien lorsqu'ils sont atteints d'une maladie concomitante sévère.

#### iii) Méthodes de dosages

##### - **Dialyse à l'équilibre : séparation de l'hormone libre**

Les techniques de dosage de la T4 libre qui semble être la plus sensible est la dialyse à l'équilibre car les réactions croisées avec les anticorps anti hormones thyroïdiennes et les protéines de fixation sont éliminées par dialyse.

Ce type de dosage, considéré comme le gold standard chez le chien est techniquement peu adapté aux contraintes d'un laboratoire, du fait de son coût, du temps nécessaire à sa mise en œuvre.

Un marqueur radioactif de la T4 est ajouté à l'échantillon, et le mélange est dialysé afin de séparer la T4 libre et les molécules de marqueur non fixés, du reste des protéines sanguines et de la T4 liée aux protéines. La fraction en fT4 est calculée en se basant sur la radioactivité pré et post dialyse, sa concentration est déterminée en multipliant la fraction de fT4 déterminée avec la concentration en T4 totale présente dans l'échantillon.

##### - **Dosage radio-immunologique et chimioluminescent : une réaction directe du sérum avec un anticorps monoclonal ou polyclonal anti-hormone.**

Une étude, comparant les concentrations de fT4 mesurées par dialyse à l'équilibre et radio immunologique (radioimmunoassay, RIA), a permis de montrer que les concentrations évaluées par RIA étaient significativement plus basses que celles évaluées par la première méthode. En particulier, la méthode RIA était celle qui impliquait le plus de fT4 basse pour les chiens euthyroïdiens avec une maladie concomitante, et que les valeurs de fT4 des chiens hypothyroïdiens étaient significativement plus basses que celles des chiens ayant une maladie chronique. Ainsi, bien que la technique de dialyse à l'équilibre ait longtemps été considérée

comme un gold standard, ces résultats tendent à montrer que cette technique semble plus intéressante car plus fiable et moins coûteuse (Schachter et al., 2004).

Une étude rétrospective réalisée sur 13 sérums conservés à partir de prélèvements provenant de chiens positifs pour les anti-thyroglobuline et diagnostiqué comme hypothyroïdien a permis de montrer que 25 à 38% de ces chiens avaient une fT4 mesurée par chimioluminescence (CLIA) non compatible avec une hypothyroïdie. Ainsi, chez les chiens dont la présentation clinique est en faveur d'une hypothyroïdie, des valeurs obtenues normales de fT4 par CLIA ne permettent pas d'exclure une hypothyroïdie (Randolph et al., 2015).

Le dosage réalisé par la **machine Immulite 2000** est un **test de dosage direct de la fT4** par immuno-dosage par chimioluminescence (chemiluminescent immunoassays CLIA).

La phase solide est couverte d'anticorps monoclonaux anti-T4 d'origine murine et le réactif contient une phosphatase alcaline conjuguée à la T4. L'échantillon et le réactif sont incubés 30 min avec la phase solide, délai durant lequel une réaction compétitive entre la fT4 et la T4 liée à l'alkaline phosphatase du réactif a lieu pour se fixer au nombre limité d'anticorps anti-T4. La centrifugation permet d'éliminer les fT4 et les complexes T4-enzymes. Enfin, un substrat chimioluminescent est ajouté au test, et le signal émit est proportionnel à la quantité d'enzymes liées.

Ainsi, les résultats ne sont pas calculés en fonction de la T4 totale mais à partir d'une courbe standard calibrée pour la concentration en T4 totale (Wosilait, 1977). Cette méthode est différente de la méthode classique par dialyses à l'équilibre, et ne requière pas de pré-incubation ou de dialyse de la fT4 sur une colonne de chromatographie.

Les valeurs de référence pour un animal considéré comme euthyroïdien sont comprises entre **11,5 et 22,7 pmol/L**.

#### c. Dosage de la T3

Bien que la forme active majoritaire soit la triiodothyronine, chez le chien, **40 à 50% de cette hormone n'est pas produite par la thyroïde**. La sensibilité et la précision d'une mesure de la tT3 est faible pour le diagnostic de l'hypothyroïdie. Cependant chez certaines races de chiens, chez qui la tT4 et la fT4 est plus basse que les autres (Greyhounds, Afghan Hounds, Salukis, Whippets), une valeur de tT3 basse peut aider au diagnostic (Ferguson, 2007; Hill et al., 2001; Peterson et al., 1997).

#### d. Intérêt de la détection des auto-anticorps dirigés contre la thyroglobuline (AAcTg).

Comme vu précédemment, l'hypothyroïdie chez le chien est le plus souvent d'origine primaire et causée par une destruction à médiation immune de la glande ou une atrophie idiopathique de celle-ci.

Contrairement à l'homme pour qui la thyroïdite d'origine auto-immune est associée à l'augmentation d'anticorps anti thyroperoxidase, chez le chien, les anticorps sont dirigés **contre la thyroglobuline**.

Bien que les AAcTg soient classiquement retrouvés chez les chiens souffrant d'hypothyroïdie primaire, certaines études tendent à montrer qu'ils seraient également présents chez des chiens sains ou ayant un « euthyroid sick syndrom » (R. M Dixon and Mooney, 1999; Lee et al., 2004; Nachreiner et al., 2002, 1998).

La prévalence de ces autoanticorps a été estimée par ces études entre **36 et 53% chez les chiens hypothyroïdiens**, entre 3 et 6% chiens en bonne santé.

En ce qui concerne les chiens ayant un « euthyroid sick syndrom », les résultats sont pour 5 à 6% d'entre eux douteux.

Chez le chien, la thyroïdite lymphocytaire est confirmée par des **biopsies**, ce qui n'est pas un examen de routine en médecine vétérinaire.

La présence de ces auto-anticorps est tout de même assez sensible et spécifique pour l'identification des thyroïdites lymphocytaires auto-immunes et permettrait le diagnostic précoce des thyroïdites chez des chiens présentant des signes cliniques d'hypothyroïdie, associé à des dosages de la tT4 et de la TSH (Lee et al., 2004; Nachreiner et al., 2002, 1998).

### c. Apport de l'imagerie

L'échographie de la thyroïde est un examen complémentaire utilisé couramment en médecine humaine en plus des tests diagnostiques classiques de laboratoires, afin de détecter une malformation congénitale ou d'identifier des nodules thyroïdiens, d'apprécier sa taille et son échogénicité en cas de thyroïdite subaiguë ou chronique.

Récemment appliquée à la médecine vétérinaire, cette technique permet d'apporter des informations intéressantes sur le statut thyroïdien de l'animal. En effet, un chien atteint d'un « euthyroïd sick syndrom » présente une thyroïde dont l'échostructure est quasi similaire à celle des chiens sains.

Pour les chiens hypothyroïdiens, les résultats sont plus variables mais on retrouve une prévalence significativement plus grande d'une forme ovalaire des lobes thyroïdiens en coupe transversale (qui sont triangulaires chez les chiens sains), une hypoéchogénicité du parenchyme ou des différences d'échogénicité entre le lobe droit et le lobe gauche.

En coupe longitudinale, la thyroïde des chiens hypothyroïdiens semble avoir une forme fusiforme beaucoup plus fine que celle des chiens sains. On peut également citer le récent intérêt pour la scintigraphie pour l'évaluation du fonctionnement thyroïdien (Brömel et al., 2005; Pinilla et al., 2009).

## *2 Facteurs de variations des hormones thyroïdiennes circulantes*

Différents facteurs peuvent engendrer des variations des valeurs dosées en hormones thyroïdiennes, selon différents mécanismes tel que la limitation de la fixation de la T4 à ses protéines de transport, une augmentation de la clairance des métabolites des hormones thyroïdiennes, une diminution de la conversion de la T4 et T3 et augmentation de la conversion de T4 en reverse T3, une inhibition de la sécrétion de TSH, des hormones thyroïdiennes ou les deux.

Nous allons développer dans cette partie les différents facteurs influençant nos dosages.

### 2.1 EN FONCTION DU SEXE

Chez le rat, la plupart des études tendent à montrer que la concentration en TSH sera plus élevée chez le mâle que chez la femelle.

Une administration d'œstradiol à des rats femelles diminue la concentration sérique en TSH et en T4 qui serait la conséquence d'une désiodation de T4 en T3. Une administration d'œstradiol chez le mâle n'aura pas d'effet, tandis que celle de Déhydroépiandrostérone provoque une augmentation des concentrations en TSH.

Ainsi, chez le rat il a été montré que pour le mâle, la **concentration basale en TSH et sa capacité réponse à une stimulation par la TRH était supérieure à celle de la femelle.**

De plus, une administration de testostérone aux rats mâles stérilisés suffisait à restaurer la même capacité de réponse à une stimulation par la TRH que les rats mâles entiers (Christianson et al., 1981).

En ce qui concerne la T4, la différence est moins claire et les études n'ont pour le moment pas mis en évidence une différence significative.

Chez le chien, une étude réalisée sur 1074 chiens sains a mis en évidence des **valeurs moyennes de T4 plus élevées chez les femelles** (2,11 +/- 0,04 µg/dL) que chez les mâles (2,08 +/- 0,04 µg/dl) (Reimers et al., 1990).



## 2.2 EN FONCTION DE L'ÂGE

Les différentes études tendent à montrer que l'âge influe sur les valeurs de T4 dosée, du fait du vieillissement du fonctionnement du système de régulation de l'axe thyroïde-hypophyse. Les chiens âgés de plus de 6 ans semblent avoir des valeurs de T4 moyennes plus basses que les autres.

De plus, une administration intra-veineuse de TSH entraîne une réponse en T4 significativement plus faible pour les chiens **d'âge moyen (supérieurs à 6 ans)**, d'autant plus marquée si le chien a plus de 12 ans.

Les concentrations en TSH ne semblent pas différer entre les chiens adultes, prépubères ou âgés (Gonzalez and Quadri, 1988; Reimers et al., 1990).

## 2.3 EN FONCTION DE LA RACE, DE LA TAILLE OU DE LA CONDITION PHYSIQUE

Des différences majeures dans les valeurs de T4 totale chez différents types de lévriers ont été mises en évidence. Si environ **76% des lévriers présentaient une T4 totale basse**, seule 16,3 % d'entre eux avaient une valeur de TSH compatible avec une hypothyroïdie.

Il est également intéressant de noter que les valeurs de T4 totale augmentent fortement après une course chez ces chiens (Gaughan and Bruyette, 2001; Hill et al., 2001; Shiel et al., 2010).

Dans une étude étudiant la fonction thyroïdienne sur des **chiens normaux et obèses**, on a pu mettre en évidence une **augmentation de la tT3 et tT4 chez les chiens obèses, sans augmentation de la fT4**. La perte de poids impliquait une diminution en TT3 et TSH (Daminet et al., 2003).

De plus, sur l'effectif testé de 1074 chiens, les **petits gabarits** présentaient des valeurs de T4 totale plus importantes que les chiens de taille moyenne ou grande (Reimers et al., 1990).

Ces quelques études nous suggèrent que du fait de la grande diversité des caractéristiques morphologiques de la population canine, **les valeurs de références utilisées ne sont peut-être pas toujours adaptées au patient testé**, et compliquent encore le diagnostic de l'hypothyroïdie dans l'espèce canine.

## 2.4 EN FONCTION DE L'ADMINISTRATION DE MÉDICAMENTS

Une administration de l'association **sulfamide-triméthoprime** chez le chien à la posologie de 15 mg/kg q12h pendant 4 jours chez des chiens sains n'a aucun effet sur tT4, tT3, fT4 ou sur les tests de stimulation à la TSH.

Aucun effet n'est détecté sur les portées de chiots dont la mère a été traitée pendant la deuxième moitié de la gestation.

Cependant, des chiens traités pour une pyodermite pendant 6 semaines avec une dose de 30 mg/kg q12h ont présenté une diminution de tT3, tT4 et fT4. La même dose a été administrée à des chiens sains pendant 6 semaines et 7 jours après le début du traitement, la TSH endogène était augmentée (Hall et al., 1993; Panciera and Post, 1992; Post et al., 1993).

La normalisation des paramètres après l'arrêt du traitement peut prendre 8 à 12 semaines.

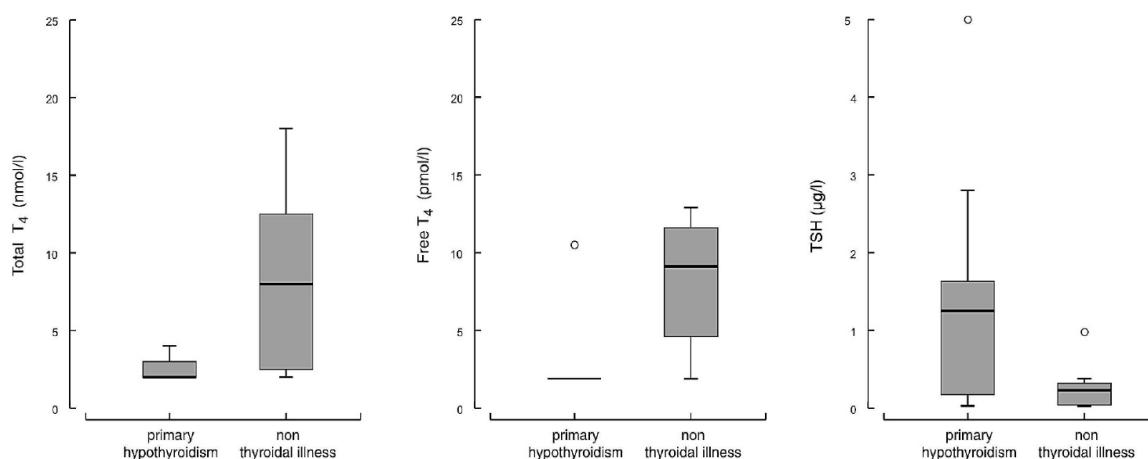
**Le phénobarbital** augmenterait la clairance biliaire et diminuerait les valeurs obtenues de TSH et fT4 (Gaskill et al., 1999).

Des études ont montré que la prednisolone avait un effet dose dépendant sur la tT4, la fT4 et T3. **La prednisone** supprime la TT4 à un dosage de 2 mg/kg toutes les 12h.

Cependant, les concentrations en TSH ne seraient pas influencées (Moore et al., 1993; Torres et al., 1991).

Les **anti-inflammatoires non stéroïdiens** comme le Meloxicam ou le carprofène auraient peu voire pas d'effet sur les valeurs de T4 et TSH (Sauvé et al., 2003).

## 2.5 EN FONCTION D'UNE MALADIE CONCOMITANTE



**Figure 21 : Valeurs médianes de la T4 totale, T4 libre et de la TSH chez les chiens hypothyroïdiens et atteints d'une maladie concomitante, d'après (Diaz Espineira et al., 2007).**

En 2007, afin d'étudier les différents paramètres testés en laboratoire, des dosages de la T4 totale, de la fT4, la TSH, la T4 après stimulation à la TSH ont été pratiqués sur des chiens hypothyroïdiens (avec des lésions histologiques de la thyroïde compatible avec une hypothyroïdie primaire) et des chiens considérés comme euthyroïdiens mais victimes d'une maladie systémique (dermatologique, cardiomyopathie, maladie rénale chronique, hyperadrénocorticisme d'origine hypophysaire).

Pour les chiens atteints d'hypothyroïdie primaire, la concentration en **tT4** variait entre 2 et 4 nmol/L (médiane= 2 nmol/l), et 2 à 18 nmol/L pour les animaux avec une maladie associée (médiane 8 nmol/L), ce qui était significativement plus bas pour les chiens hypothyroïdiens.

Pour les chiens du groupe hypothyroïdien, les valeurs de **fT4** étaient comprises entre 1,9 pmol/L et 10,7 pmol/L avec une valeur moyenne de 1,9 pmol/L. Pour les chiens avec une maladie associée, la fT4 était estimée à 1,9-13,1 pmol/L avec une valeur moyenne de 9,3 pmol/L et les chiens primairement hypothyroïdiens avaient des valeurs significativement plus basses.

Pour la **TSH**, les valeurs des 14 chiens hypothyroïdiens étaient comprises entre 0,03 et 5 µg/L avec une médiane à 1,3 µg/L. 8 de ces chiens avaient une TSH supérieure à 0,6 µg/L et 6 étaient dans les valeurs usuelles. Concernant les chiens avec une maladie concomitante, la TSH était comprise entre 0,03 et 0,98 µg/L avec une médiane autour de 0,2 µg/L.

La TSH était significativement plus haute dans le cas des hypothyroïdiens (Figure 21).

En conclusion, tous les chiens effectivement hypothyroïdiens (lésions histologiques), présentaient des **tT4 très basses, ce qui fait de son dosage un test quand même sensible**, mais **peu spécifique** puisque certains chiens avec une maladie concomitante présentait une tT4 très basse aussi. La fT4 semblait être **plus spécifique**.

Bien que le **test de stimulation à la TSH** soit considéré comme le **gold standard** depuis plus de 20 ans (R. M. Dixon and Mooney, 1999; Peterson et al., 1997), certains chiens avec une maladie concomitante montraient une réponse, bien que minime, à la stimulation (Diaz Espineira et al., 2007).

## 2.6 EFFETS DE LA CONSERVATION, DE L'HEMOLYSE, DE LA CONGELATION DES ECHANTILLONS

**La thyroxine** est l'une des hormones **les plus stables**. Ni la durée, ni le mode de conservation n'affectent sa valeur. Elle se conserve très bien même lorsque l'échantillon n'est pas centrifugé.

Pour les autres hormones comme la **TSH** ou la **progestérone** il est indispensable que la mesure soit faite sur du plasma ou du sérum centrifugé rapidement après la prise de sang. L'héparine est recommandée pour la conservation du prélèvement.

Lorsque l'échantillon est congelé à  $-20^{\circ}\text{C}$ , la plupart des dosages endocriniens sont possibles.

La principale source d'erreur pour les dosages est l'**hémolyse**. Elle peut être la conséquence d'une conservation du sang sans centrifugation, une aspiration difficile, forcée à l'aiguille par exemple (Médaille et al., 2005; Reimers et al., 1992).

Pour conclure, la situation la plus fréquente est un animal **présentant des signes cliniques suggérant une potentielle hypothyroïdie**, associé à des **résultats de laboratoires dans les valeurs limites de la normale**, ou des chiens dont les résultats de laboratoire sont **compatibles avec une hypothyroïdie mais qui sont malades** ou reçoivent des médicaments pouvant interférer avec les résultats.

Il faut alors réévaluer le chien après arrêt du traitement ou guérison de la maladie.

Ceci n'étant pas toujours possible, les auteurs préconisent un **essai thérapeutique** avec de la T4 synthétique.

### 3 Les traitements de l'hypothyroïdie

Le seul traitement existant consiste en une complémentation hormonale avec de la lévothyroxine (Forthyron ND, comprimés de 200 et 400  $\mu\text{g}$  et Leventa ND en solution buvable).

Dans une étude récente réalisée sur un effectif de 31 chiens hypothyroïdiens référés à l'Université de Glasgow, les animaux étaient traités avec de la L-thyroxine synthétique à la dose initiale de **0,02 mg/kg administré une fois par jour chaque matin**, à jeun (ce qui augmente la biodisponibilité de la molécule).

Le suivi est réalisé **2, 6 et 12 semaines** après le début de la thérapie. Ce suivi implique une évaluation clinique, une pesée et une prise de sang pour doser la TSH et la T4 totale, 6 heures après l'administration de T4 exogène.

Les concentrations en tT4 et TSH circulante étaient significativement augmentées et diminuées respectivement après le début du traitement.

La moyenne de tT4 atteinte chez les chiens traités est comprise entre **50 nmol/L et 55 nmol/L**.

Cette étude suggérait également que **l'hypophyse était très sensible au feedback négatif** exercé par la T4 exogène, dont l'administration pouvait impliquer des résultats pour le dosage de la TSH bien en dessous des valeurs de référence sans pour autant obtenir une guérison clinique satisfaisante. Ainsi la réponse à la TSH n'est pas un bon moyen de connaître l'efficacité du traitement mais peut être utile lorsque les chiens ont des anticorps anti-thyroglobuline qui interfèrent avec le dosage de la tT4.

Pour les cas où le traitement était efficace, les valeurs de T4 et TSH atteignaient à environ 2 semaines des valeurs normales. Ainsi, le suivi peut être fait précocement.

La majorité des ajustements étaient faits entre la visite 2 ou 3 et un seul dosage était requis. Pour les chiens ayant eu besoin d'un ajustement, la dose était augmentée d'environ 50% et permettait d'obtenir un pic de tT4 50 à 80% supérieur au précédent.

Une **réduction de la dose est rarement nécessaire** car les chiens semblent être très tolérant à une augmentation marquée de la tT4. Quelques propriétaires peuvent rapporter néanmoins une hyperexcitabilité de leur animal.

L'activité biologique au sein des cellules étant longue, un traitement administré une fois par jour suffit à obtenir une bonne réponse clinique. Il convient de commencer à une dose physiologique, c'est-à-dire entre **10 à 20 µg/kg**, ce qui permet un bon fonctionnement hypophysaire et hypothalamique.

Les effets cliniques observés sont une **résolution de la faiblesse et de la léthargie** en quelques jours, **une perte de poids (environ 10%)**, une diminution de la cholestérolémie et de la triglycéridémie ainsi qu'une résolution de l'anémie. Pour les autres troubles comme les troubles neurologiques et dermatologiques, la réponse est plus longue.

Enfin, il peut être intéressant de traiter les chiens souffrant d'un euthyroïd sick syndrom car aucun effet secondaire n'a pu être démontré (Dixon et al., 2002).

### **Synthèse**

Une suspicion clinique d'hypothyroïdie implique la mise en place d'examen complémentaires de laboratoires. Les dosages classiques réalisés chez le chien sont la mesure de la T4 totale, et de la TSH basale.

La **T4 totale** correspond à la thyroxine liée aux protéines de transport plasmatiques dont on considèrera que des valeurs compatibles avec une hypothyroïdie sont **inférieures à 15 nmol/L**. Cependant, les valeurs dosées peuvent être minorées par de nombreux facteurs, dont la présence d'une maladie concomitante sévère, une prise de médicaments par exemple.

C'est pourquoi l'exploration de la fonction thyroïdienne doit être associée au dosage de la **TSH basale**, qui permet de connaître le fonctionnement de l'hypophyse. En effet, la majorité des chiens hypothyroïdiens ont une valeur de TSH **supérieure à 0,6 ng/mL**. Mais sa sécrétion pulsatile par l'hypophyse en fait un paramètre peu sensible et peu spécifique pour le diagnostic s'il est utilisé seul.

Ainsi, l'utilisation du dosage de **T4 libre**, qui n'est pas affectée par les facteurs qui peuvent modifier la liaison de la T4 aux protéines peut être utile pour différencier une hypothyroïdie d'un euthyroid sick syndrom ou dosages tT4 et TSH non concluant et forte suspicion clinique, mais n'est pas un paramètre pas plus précoce. Les valeurs de références sont comprises entre **11,5 à 22,7 pmol/L**.

Ainsi la **détection des AAcTG** peut être intéressant pour la détection précoce de la thyroïdite lymphoplasmocytaire en plus des dosages classiques de laboratoires.

L'imagerie médicale est encore peu utilisée en pratique mais intéressante, en particulier la scintigraphie qui permettrait d'évaluer le fonctionnement thyroïdien.

Au laboratoire de biochimie où seront réalisés nos expériences, les mesures sont faites par **chimioluminescence** avec l'analyseur IMMULITE 2000 par Siemens Healthcare.

La très bonne conservation de la tT4 autorise des dosages différés, cependant la TSH est fragile et sensible à l'hémolyse.

En médecine humaine, le **dosage de la T3 totale** est très utilisé, mais chez le chien 40 à 50% de cette hormone n'est pas produite par la thyroïde, et ce paramètre présente donc une mauvaise sensibilité.

Le **traitement** de l'hypothyroïdie repose sur l'administration de lévothyroxine à la dose initiale de 0,02 mg/kg une fois par jour chaque matin à jeun, avec un suivi biochimique et clinique à 2, 6, 12 semaines. La TSH est très sensible au feedback exercé par la T4 exogène. En cas d'ajustement, une augmentation de 50% de la dose administrée est généralement nécessaire. Il peut être intéressant de traiter les chiens présentant un euthyroid sick syndrom, puisqu'aucun effet secondaire n'a été démontré.

## C. INFLUENCE DE LA THYROÏDE SUR LA FONCTION REPRODUCTRICE

Comme développé précédemment, la glande thyroïdienne et ses hormones jouent un rôle majeur dans le développement et le fonctionnement des systèmes cardiovasculaire, nerveux, immunitaire mais aussi sur celui des organes reproducteurs.

Ces liens ont été largement étudiés chez l'homme et chez le rat, mais sont moins connus chez la chienne.

Nous allons voir dans cette partie en quoi la thyroïde pourrait être impliquée dans les troubles de la fertilité chez la chienne, en s'appuyant sur des études réalisées chez l'homme, chez le rat et chez notre espèce d'intérêt.

### *1 Fonction thyroïdienne et reproductrice : des relations étroites.*

#### 1.1 INFLUENCE CHEZ LE MALE

##### a. Pendant le développement embryonnaire.

De plus la T3 est responsable de la diminution de l'activité des récepteurs aux androgènes et de l'inhibition de l'expression de l'hormone anti-Müllerienne, responsable de **la régression des canaux de Müller**, structures embryonnaires qui se différencient en utérus et trompes de Fallope chez la femme (Jannini et al., 1995).

##### d. Pendant la puberté et à l'âge adulte

Chez l'Homme, un statut thyroïdien normal est nécessaire à la **maturation des testicules** pendant les phases prénatales, postnatales précoces et lors de la puberté.

Différentes études ont montré que des récepteurs à la T3 sont situés dans **les cellules de Sertoli** qui sont impliqués dans la maturation du sperme dans les tubes séminifères.

La T3 et ses récepteurs nucléaires augmentent la capture du glucose, de l'insulin-like growth factor 1 et de la synthèse **l'inhibine**, hormone des gonades produite lorsque les cellules de Sertoli et les cellules de la granulosa chez la femme se divisent à la puberté.

Au début de la puberté, la FSH stimule la prolifération des cellules de Sertoli immatures et la sécrétion d'inhibine. L'inhibine est responsable d'un **feedback négatif** sur la sécrétion de FSH par l'hypophyse (De Jong, 1988) à la fin de la puberté.

Chez la souris, le moment où la prolifération des cellules de Sertoli a atteint son maximum coïncide avec celui où la T3 est fixée sur tous ses récepteurs nucléaires. Elle jouerait également un rôle très important dans la différenciation de ces cellules mais aussi dans celle des cellules de Leydig (Jannini et al., 1995).

Les données disponibles pour d'autres espèces comme les moutons, les cerfs ou le vison suggèrent également que la T3 joue un rôle majeur dans la régulation des cycles saisonniers de la reproduction (Choksi et al., 2003; Jannini et al., 1995).

#### 1.2 INFLUENCE CHEZ LA FEMELLE

La T3 est impliquée dans de nombreux mécanismes moléculaires dont dépend le fonctionnement de l'appareil reproducteur de la femme, comme le métabolisme des androgènes et des œstrogènes, la maturation des organes génitaux, les menstruations, l'ovulation, la fertilité, la capacité de mener une gestation à son terme).

Chez la femme, la T3 stimule par exemple la production de la globuline liant les hormones sexuelles qui permet le transport des hormones telles que la testostérone, dihydrotestostérone et de l'œstradiol circulantes (Krassas, 2000).

#### a. Hormones thyroïdiennes et fonctionnement ovarien

Chez les femmes en bonne santé, les **récepteurs nucléaires aux hormones thyroïdiennes** sont présents dans les **cellules lutéinisées de la granulosa** et dans les **oocytes** à tous les stades de la folliculogénèse. Des études récentes ont également montré que ces récepteurs étaient présentes dans l'épithélium de surface des ovaires humains ainsi que la présence d'une enzyme capable de convertir la T4 en T3 et la T3 en rT3.

De plus, des **récepteurs à la TSH** sont exprimés en grande quantité dans les oocytes des follicules primordiaux, dans l'épithélium de surface des ovaires, dans les cellules stromales et dans les cellules de la granulosa (Aghajanova et al., 2009).

#### b. Rôle de la thyroïde pendant la grossesse, chez la femme

Si les études ont montré que le développement fœtal et pubertaire du tractus génital ne dépendait que très peu de la fonction thyroïdienne, les changements de son fonctionnement lors de la gestation sont en revanche beaucoup plus importants.

La grossesse implique une augmentation de 50% de la production T4.

La taille de la thyroïde maternelle augmente chez une femme sur 5 et sa capacité à capturer de l'iode également.

De la 1<sup>ère</sup> moitié de la grossesse jusqu'au terme, la **synthèse de la TBG est stimulée** en réponse aux œstrogènes (qui atteignent un pic autour de 500 à 1000 pg/mL) et ses concentrations sériques doublées pendant le premier trimestre et atteint son maximum entre les semaines 20 et 24. La **tT3 et la tT4 est augmentée** tandis que les hormones thyroïdiennes libres restent pour la plupart des femmes dans les valeurs usuelles.

Chez la femme, l'**hCG (Human Chorionic Gonadotropin)**, produite par le placenta a un effet stimulant direct mais transitoire sur les thyrocytes (Figure 22).

Tout au long de la grossesse, mais plus particulièrement dans la seconde moitié, on constate des **modifications du métabolisme périphérique des hormones thyroïdiennes** maternelles (Figure 22).

Les 3 enzymes qui catalysent la désiodation dans les tissus humains sont les suivantes :

- La **désiodase de type I** non affectée par la gestation
- Le **type II** qui est exprimée dans le placenta et dont l'activité peut représenter un mécanisme homéostatique pour maintenir la production de T3 localement tandis que les concentrations en T4 maternelle sont diminuées.
- Le **type III**, très présente dans le placenta, et qui convertie la T4 en T3, T2 ou reverse T3. Son activité importante, peut expliquer la faible concentration en T3 et la forte concentration en reverse T3 observée chez les fœtus.

De plus, chez la femme, les concentrations en iode circulante sont réduites du fait de clairance rénale plus importante mais surtout de son transfert au fœtus dans le placenta pour la synthèse des hormones thyroïdiennes fœtales (Choksi et al., 2003; Smallridge et al., 2005).

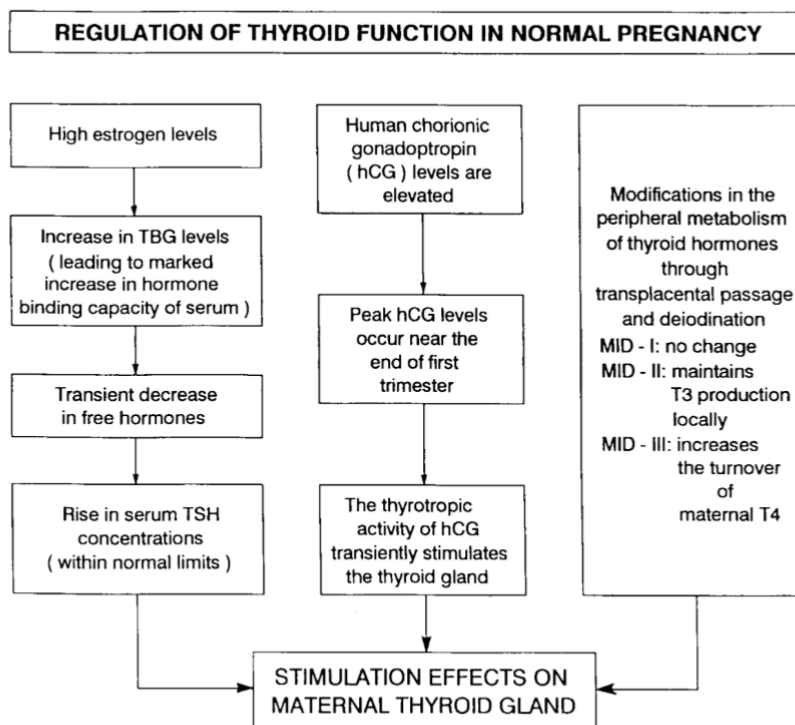


FIG. 1. The physiological pathways of the regulation of thyroid function in normal pregnancy, illustrating the three sets of events that concur to stimulate maternal thyroid function during pregnancy (Adapted with modifications from Glinöer [6]).

Figure 22 : Physiologie de l'adaptation de la fonction thyroïdienne lors de la grossesse, d'après (Glinöer, 1999).

Une fois le nouvel équilibre hormonal atteint, il est conservé jusqu'au terme.

L'adaptation de la thyroïde est facilement réalisée dans les conditions physiologiques mais pas lorsque son fonctionnement est anormal.

Cependant, chez la chienne, les études récentes réalisées n'ont pas permis de montrer que la T4 totale augmentait significativement pendant la gestation (Cardinali et al., 2017, Thuróczy et al., 2016).

Après avoir présenté les différents rôles que peut tenir la thyroïde dans les cas physiologiques, nous allons nous intéresser aux troubles de la reproduction que l'on peut relier à un dysfonctionnement thyroïdien.

Ces troubles ont été surtout démontrés chez la femme, mais restent encore imparfaitement connus, et nous verrons dans cette dernière partie en quoi leur étude peut nous aider à comprendre son implication dans l'insuffisance lutéale.

Dans cette partie, nous nous concentrerons essentiellement sur les **troubles reliés à une hypothyroïdie**, bien que chez la femme, certains troubles de la reproduction ont pu être reliés à une hyperthyroïdie.



## 2 *Les troubles de la reproduction associés à l'hypothyroïdie chez la femme et chez la chienne.*

### 2.1 ETUDE CHEZ LA FEMME

#### a. Quelques définitions

Chez l'homme, on parle d'hypothyroïdie subclinique ou d'hypothyroïdie avérée. L'**hypothyroïdie subclinique** est associée à une élévation de la TSH tandis que les hormones libres circulantes T3 et T4 sont normales. Les symptômes sont frustrés. La prévalence de ce type de maladie augmente avec l'âge pour les deux sexes. Souvent, les patients sont positifs pour les auto anticorps anti-thyroperoxydase.

La présence de ces auto anticorps mène à une hypothyroïdie vraie qui est une maladie auto-immune appelée thyroïdite d'Hashimoto. Elle est la cause la plus fréquente d'hypothyroïdie chez l'homme (la prévalence varie entre 5 et 15%). La femme est plus exposée que l'Homme (Choksi et al., 2003), et la grossesse peut révéler une hypothyroïdie subclinique.

#### b. En dehors de la grossesse

L'hypothyroïdie chez la femme adulte est associée à une **diminution du métabolisme des stéroïdes** et une augmentation de l'aromatase périphérique des stéroïdes, ainsi qu'une **diminution de l'activité de la globuline liant les hormones sexuelles** ce qui implique qu'une **plus grande fraction libre et active en testostérone et œstradiol** se trouve dans le sang. Cette affection a été associée à une **perturbation des cycles menstruels**.

Dans les cas sévères, des **échecs de l'ovulation** et une **absence de libido** peut être observée. En effet, dans les cas d'hypothyroïdie grave, l'hypophyse peut sécréter plus de prolactine, et cette hyperprolactinémie peut altérer la sécrétion pulsatile de GnRH et empêcher l'ovulation (Genot, 2010).

Une étude réalisée des femmes considérées comme infertiles (c'est-à-dire dans l'incapacité de concevoir après un an sans méthode contraceptive), a révélé que **11% d'entre étaient hypothyroïdiennes subcliniques** après une réponse exagérée en TSH après stimulation à la TRH.

Les femmes présentant une réponse anormale à la stimulation en TRH ont moins de chance de tomber enceinte.

La **complémentation hormonale en T4** a permis pour plus de la moitié d'entre elles de **normaliser leur sécrétion en progestérone** et deux sont tombées enceinte (Bohnet et al., 1981)

Cependant les études faisant le lien entre hypothyroïdie subclinique et infertilité sont peu convaincantes, du fait de nombreux biais et de l'absence d'études prospectives étudiant l'incidence de l'infertilité dans une population hypothyroïdienne.

En revanche, en ce qui concerne l'hypothyroïdie vraie auto-immune, la plupart des études montrent une prévalence élevée de cette maladie parmi les femmes infertiles.

Il a été montré que l'hypothyroïdie chez la femme pouvait être associée à la formation des kystes ovariens (Choksi et al., 2003; Krassas, 2000).

#### c. Hypothyroïdie chez la femme enceinte

Lorsque le statut nutritionnel en iode est normal, la cause principale d'hypothyroïdie maternelle est la maladie thyroïdienne auto-immune (AITD) (Krassas et al., 2010).

L'hypothyroïdie chez la femme est associée à des **avortements**, une **prématurité** et un **poids à la naissance plus faible**.

Les grands bouleversements qu'impliquent la grossesse peuvent agir comme révélateurs des **affections thyroïdiennes frustrées**.

La prévalence de l'hypothyroïdie est évaluée à **2% chez les femmes enceintes**.

Plus précisément, l'hypothyroïdie clinique représente 0,3 à 0,7% des cas, et l'hypothyroïdie subclinique 2,2 à 2,5 %.

Le dépistage est permis par un **dosage de la TSH** et il est à envisager en cas d'infertilité ou d'antécédents familiaux.

Lors de fausses couches à répétition, il est indiqué de réaliser un dosage des anticorps anti-TPO entre le 15<sup>e</sup> et la 18<sup>ème</sup> semaine de grossesse qui seront présents dans 99% des cas, et des anticorps anti-thyroglobuline (85% des cas).

La **lévothyroxine n'a pas d'effets sur le fœtus** et son administration peut être utilisée classiquement, pour maintenir des valeurs physiologiques de TSH.

L'hypothyroïdie peut également être la cause d'une **hypertension gravidique ou d'une pré-éclampsie**.

Lorsque seule la glande maternelle est non fonctionnelle (dans le cas d'une AITD par exemple), le moment d'apparition des troubles et leur sévérité seront responsable de l'intensité des troubles du développement neurologique observés chez le fœtus.

Ainsi, lors d'hypothyroïdie frustre et que la supplémentation en lévothyroxine n'a pas été faite, le quotient intellectuel des enfants entre 7 et 10 ans était affecté.

Elle est également impliquée dans la prématurité et la détresse respiratoire néonatale (Genot, 2010).

## 2.2 ETUDE CHEZ LA CHIENNE

### a. En dehors de la gestation

Si l'hypothyroïdie est considérée comme une cause fréquente d'échec de la reproduction chez le chien, la documentation est peu fournie et les rapports sont souvent conflictuels.

Classiquement, on considère que les troubles tels que l'**infertilité**, un **inter-œstrus prolongé**, des **avortements** et des **morts nés** sont associés à la thyroïdite lymphocytaire.

Une étude comparant la fonction thyroïdienne de 36 chiennes Greyhound n'a pas permis de montrer un lien entre l'hypothyroïdie et l'infertilité (K.m et al., 1992).

Un rapport concernant une chienne entière atteinte d'hypothyroïdie primaire a fait état d'une **hyperprolactinémie, et d'une galactorrhée**. La galactorrhée s'est résolue cliniquement et la prolactine a retrouvé des valeurs normales après l'administration de lévothyroxine (Cortese et al., 1997; Scott-Moncrieff, 2007).

En 2007, une étude réalisée sur 9 chiennes rendues hypothyroïdiennes via l'administration d'iode radioactif n'a pas permis de démontrer que l'hypothyroïdie pouvait être une cause directe de l'infertilité chez la chienne. L'inter-œstrus n'était pas plus long chez les chiennes hypothyroïdiennes, leur libido était normale pour 7 des 9 chiennes, et les taux de gestation ainsi que la taille des portées étaient les mêmes.

Cependant, les chercheurs ont pu observer que les **contractions étaient moins performantes et que le taux de mortalité post natale chez les chiots issues de mères hypothyroïdiennes était plus grand** (Panciera et al., 2007).

A la suite de cette étude, Panciera et al ont augmenté le temps pendant lequel les chiennes étaient rendues hypothyroïdiennes.

Si les **intervalles interœstrus et la libido n'était de nouveau pas affectés**, seul 4 des 8 chiennes rendues hypothyroïdiennes ont été contrôlées gestantes tandis que les 6 du groupe contrôle l'étaient.

**Après supplémentation en lévothyroxine, toutes les chiennes hypothyroïdiennes sont devenues gestantes**. La mortalité postnatale était plus grande et le poids de chiot plus léger.

Cette étude suggère que **les effets de l'hypothyroïdie ne sont visibles que si la maladie dure depuis plus de 5 mois**.

Aucune différence significative entre la progestéronémie pendant la gestation des différents groupes (contrôle, hypothyroïdiennes et traitée, hypothyroïdiennes et non traitées) n'a été mise en évidence.

L'absence de différence entre les durées d'interoestrus et les concentrations sériques en progestérones entre les chiennes dans cette étude sont compatibles avec un développement du follicule, une ovulation et une formation du corps jaune sans anomalies. L'auteur émet donc l'hypothèse que l'infertilité lors d'hypothyroïdie serait plutôt liée à un échec de fécondation de l'oocyte ou à des résorptions embryonnaires précoces.

Des récepteurs aux hormones thyroïdiennes sont présents dans les oocytes, ainsi il serait possible que la fécondation n'ait pas lieu du fait du statut hypothyroïdien, mais cela reste peu clair. Également, l'absence de fœtus observé entre le jour 21 et le jour 28 après l'accouplement par échographie pourrait indiquer que l'implantation n'a pas eu lieu (Panciera et al., 2012).

Les différents échecs des études à apporter une preuve que l'hypothyroïdie chez la chienne peut être une cause avérée d'infertilité sont probablement à relier au fait que le diagnostic de l'hypothyroïdie chez le chien est difficile et que la prévalence de la maladie reste faible.

#### b. Chez la chienne gestante

En 1984, Reimers et al (Reimers et al., 1984) ont réalisé des dosages de T3 et T4 sur 13 chiennes beagle à des stades reproducteurs différents.

Afin de déterminer les effets du statut reproducteur (vérifié via la concentration de progestérones) sur les concentrations basales et après stimulation en tT4, tT3 et cortisol, un lot de Beagles constitués de 5 mâles, 5 femelles en œstrus, 5 en proœstrus, 5 en diœstrus, 5 pleines et 5 en lactation étaient mises à jeun pendant 18h après une administration de 5UI de TSH IV et 2,2 UI/kg d'ACTH IM.

**Les concentrations en T4 étaient significativement plus importantes chez les chiennes en diœstrus et les chiennes gestantes**, que chez tous les autres groupes d'animaux, avant et après administration de TSH. Une différence entre les chiennes en lactation et les chiennes en proœstrus apparaissant seulement entre 3 et 12h post stimulation avec TSH, avec des taux globalement supérieurs pour les chiennes en lactation.

Les chiennes en diœstrus présentaient un taux globalement plus élevé en T3 que tous les autres groupes, y compris les chiennes gestantes.

Les conclusions de cette expérimentation étaient les suivantes :

Les concentrations en T3 et T4 totales avant et après stimulation de la glande thyroïdienne variaient significativement selon le stade de reproduction.

**La T4 basale et après stimulation était supérieure dans les deux stades cliniques dominés par la sécrétion de progestérones (diœstrus et gestation)** alors que la T3 avant et après stimulation était supérieure uniquement pendant le diœstrus.

L'étude suggérait aussi que le statut reproducteur affectait aussi les proportions de T3 et de T4 sécrétées par la thyroïde, la conversion de T4 en T3 dans les tissus périphériques et/ou la clairance. En effet le ratio T4 sur T3 était plus significativement plus important chez les femelles gestantes que chez les femelles en diœstrus, et plus largement que chez tous les autres animaux de l'étude.

Nous allons à présent nous pencher sur un autre article, plus récent. Le but de celui-ci est d'examiner la possibilité d'une corrélation entre la fonction ovarienne et la fonction thyroïdienne chez la chienne.

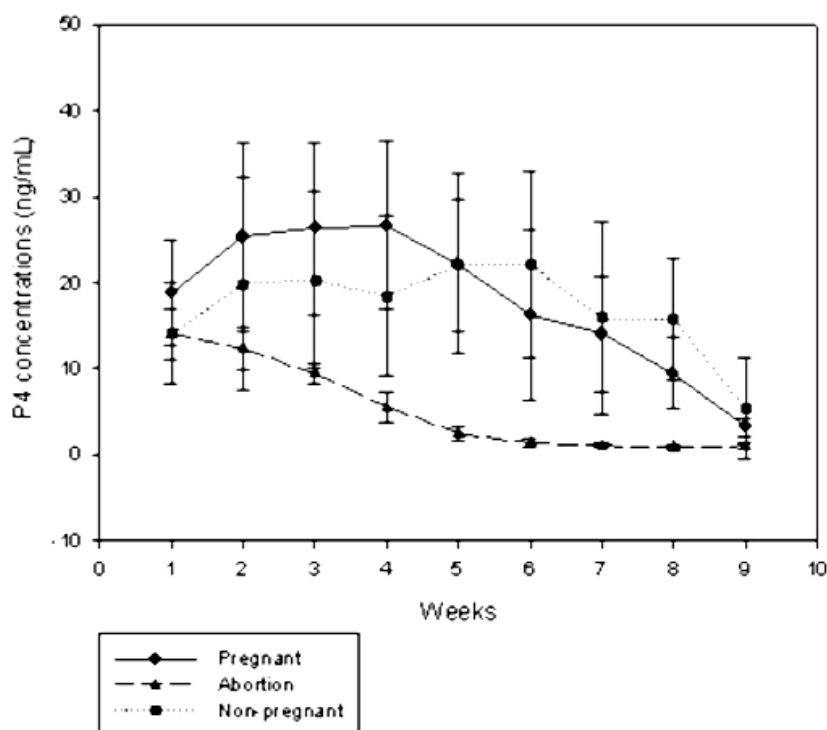
Trois groupes différents étaient examinés : un groupe de 14 **chiennes gestantes ayant présenté une gestation et une mise bas normale**, un groupe de 10 **chiennes ayant avorté**, et un groupe de 9 **chiennes en diœstrus**.

Les échantillons de sangs sont collectés toutes les semaines jusqu'à J61 – J62 post-ovulation, et font l'objet d'un dosage de progestérone et thyroxine totale.

Les 10 chiennes ayant avorté ont montré des signes cliniques de pertes vaginales, une léthargie et perte d'appétit, puis une perte du bouchon muqueux.

Les avortements sont apparus au milieu de la gestation et sont associés à des dosages de progestérone en dessous de **10 ng/mL**.

La cause des avortements suspectée est une **insuffisance lutéale** et les propriétaires ont exprimé un refus de complémentation en progestérone.

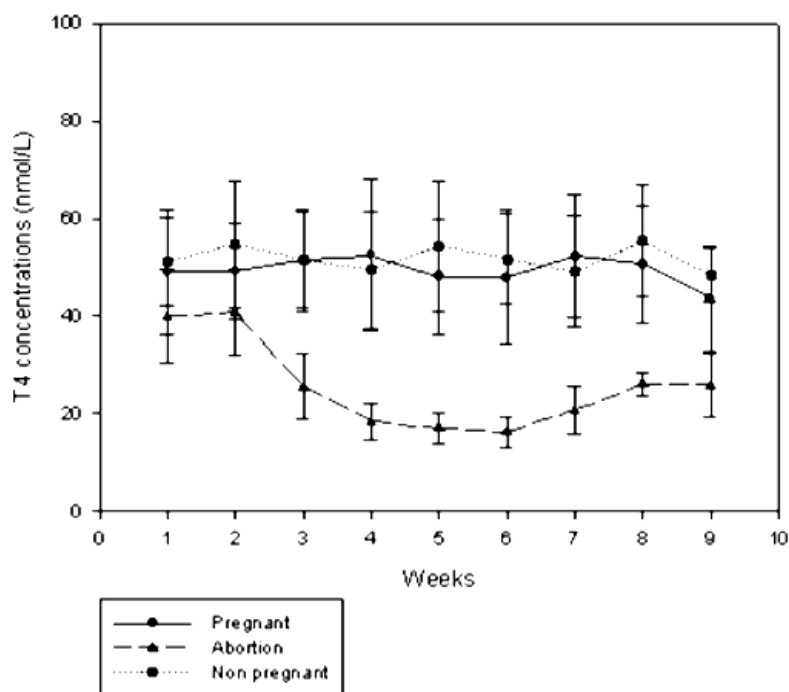


**Figure 23 : Concentrations en progestérone sérique pendant les 9 semaines qui suivent l'ovulation chez les 3 groupes d'intérêt, d'après (Thuróczy et al., 2016).** La progestérone des chiennes ayant avorté commence à décroître dès la troisième semaine et les premiers signes cliniques d'avortements apparaissent dès la semaine 4.

Concernant les résultats, on pouvait pour la progestérone constater les différences suivantes (Figure 23) :

- Pour le **groupe des chiennes gestantes** : La progestérone augmente rapidement puis diminue progressivement après la 5<sup>ème</sup> semaine. Juste après la mise bas (de la 8<sup>ème</sup> à la 9<sup>ème</sup> semaine), la concentration en P4 diminue significativement.
- Pour le groupe des **chiennes non gestantes** : les concentrations en progestérone sont légèrement plus basses dans les 5 premières semaines que le groupe des gestantes
- Pour le groupe **des chiennes ayant avorté** : la concentration en progestérone **est significativement différente dès la 3<sup>ème</sup> semaine puis ne change plus dans les 5 dernières semaines.**

A partir de la quatrième semaine, la progestérone était significativement différente entre les groupes gestant/ non-gestant et avortement. Les valeurs de fin à la 9<sup>ème</sup> semaine sont les mêmes pour les 3 groupes.

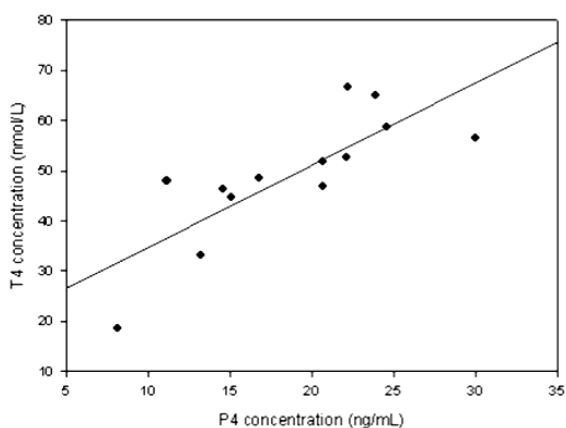


**Figure 23 : Concentrations en thyroxine totale chez les 3 groupes d'intérêt pendant les 9 semaines suivant l'ovulation, d'après (Thuróczy et al., 2016).** A partir de la troisième semaine de gestation, le groupe des chiennes avant avorté présente de faibles valeurs de T4 totale et jusqu'à la fin de l'avortement.

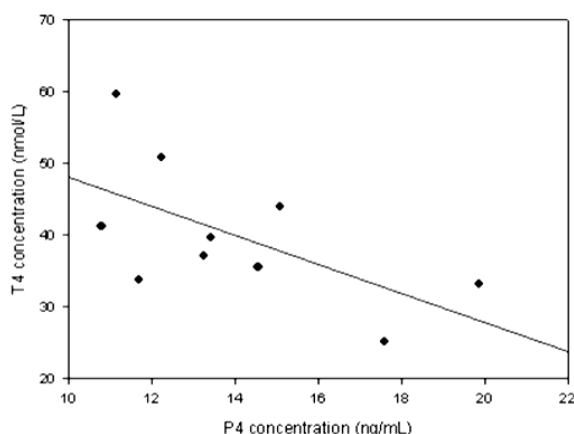
Pour la T4, les valeurs de références T4 considérées sont **20-45 nmol/L**.

Bien que chez l'Homme il soit rapporté que les concentrations en T4 totale augmentent avec la grossesse, ici nous constatons encore une fois que cela n'est pas le cas chez la chienne. Ceci peut s'expliquer par le fait que la concentration en TBG augmente pendant la gestation, et que le volume plasmatique est plus grand.

Et nous pouvons constater que **les valeurs obtenues du groupe avec avortement sont significativement différentes des deux groupes à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine de la phase lutéale (Figure 23).**



**Figure 24: Corrélation entre la progestérone et la T4 chez le groupe gestant pendant la première semaine de gestation, d'après (Thuróczy et al., 2016).**



**Figure 25: Corrélation entre la progestérone et la T4 chez le groupe avortement pendant la première semaine de gestation, d'après (Thuróczy et al., 2016).**

Une forte corrélation positive est observée entre les paramètres progestérone et T4 totale pendant la première semaine chez le groupe gestant, tandis qu'une corrélation négative est décrite entre les deux paramètres pour le groupe avortement (Figure 24 et 25).

La corrélation est donc opposée et ceci **suggère qu'une altération modérée de la fonction thyroïdienne pourrait être détectée bien avant les signes cliniques d'avortement.**

La diminution en T4 du groupe « avortement » commence **une semaine avant le début des signes cliniques annonçant l'avortement et au milieu de la gestation**, puis après l'avortement la concentration en T4 totale réaugmentait sans aucun traitement.

Dans la seconde moitié de la gestation, la glande thyroïdienne n'était pas capable de fournir une réponse adéquate à la nécessité d'augmenter les hormones thyroïdiennes alors que lors les chiennes ayant eu une gestation normale, la T4 augmentait avec la progestérone. Ceci a mené à l'avortement des chiennes affectées (Thuróczy et al., 2016).

### *Synthèse*

Le rôle majeur de la thyroïde sur la fonction reproductrice a été étudié chez de nombreuses espèces et les connaissances en médecine humaine nous permettent de mieux comprendre son action chez la chienne.

Lors du **développement embryonnaire**, les hormones thyroïdiennes sont impliquées dans la **différenciation sexuelle**, et pendant la **puberté** elles sont associées à la prolifération des cellules de Sertoli chez le mâle. Chez la femelle, des récepteurs nucléaires à la T3 sont présents dans les cellules lutéinisées de la granulosa et les oocytes à tous les stades et sont indispensables au **fonctionnement normal de l'ovaire**.

Ainsi, l'hypothyroïdie est associée chez la femme à une **perturbation des cycles ovariens**, une diminution de la libido, et des **échecs de l'ovulation** dans les cas les plus grave.

Une complémentation en lévothyroxine semble améliorer les chances de tomber enceinte. Le métabolisme des stéroïdes étant diminué lors d'hypothyroïdie, cette complémentation normalise progestéronémie de ces patientes.

**Lorsqu'une femme est enceinte, le fonctionnement thyroïdien est bouleversé.**

La synthèse de la TBG, protéine plasmatique responsable du transport de la T4, est stimulée en réponse aux oestrogènes, l'hCG stimule la production des hormones thyroïdiennes, et la désiodase III, présente dans le placenta assure la conversion de la T4 en T3.

On observe également une augmentation des concentrations en T4 et T3 totales.

**Ainsi la grossesse peut être révélatrice d'une hypothyroïdie.** Chez l'être humain, elle est fréquemment associée à une thyroïdite d'origine auto-immune (Maladie d'Hashimoto).

Lorsque la femme souffre **d'hypothyroïdie subclinique ou vraie**, la glande thyroïde peut être dans l'incapacité de produire assez de thyroxine et alors, en l'absence de complémentation, un avortement ou une prématurité de l'enfant peuvent être observés.

L'hypothyroïdie subclinique étant plus fréquemment rencontrée, il est conseillé chez les patientes ayant des antécédents de fausses couches de réaliser un dépistage. Celui-ci consiste à doser la TSH basale, qui sera augmentée (sans diminution des fractions libres en T3 et T4), et une détection d'auto-anticorps anti-thyroperoxydase.

**Chez la chienne**, les études cherchant à prouver l'existence d'un lien entre l'infertilité et l'hypothyroïdie sont contradictoires. Classiquement, on peut retenir que l'hypothyroïdie est associée à un **inter-œstrus prolongé et des avortements**. Une hypothyroïdie sévère et prolongée est tout de même associée à un **taux de gestation plus faible**, à la naissance des petits plus légers, et à une augmentation du nombre de morts nés.

*Synthèse (suite)*

Si la **thyroxine totale ne semble pas varier que la chienne soit en dioestrus ou gestante**, elle est cependant plus haute lors de ces deux stades physiologiques que lors de l'œstrus. Ceci est intéressant dans la mesure où cela concerne les deux stades où **la progestérone** est l'hormone dominante. Cela souligne à nouveau cette singularité de la chienne, dont le statut endocrinien est très similaire pendant la phase lutéale, qu'elle soit gestante ou non.

Plus récemment, on a pu constater que des **avortements** ayant eu lieu au milieu de la gestation, et dont la cause suspectée était une **insuffisance lutéale**, pouvaient être associés dès la troisième semaine de gestation à une chute significative de la thyroxine totale mesurée, en dessous des valeurs physiologiques.

Ces nouvelles avancées nous ont encouragé à étudier au CERREC les variations de la T4, de la TSH et de la T4 libre afin de mieux comprendre le fonctionnement thyroïdien pendant la gestation, et éventuellement confirmer un lien entre l'insuffisance lutéale et le fonctionnement de la thyroïde.





**Deuxième partie :**  
**Etude rétrospective**



## DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE DE CAS D'INSUFFISANCE LUTEALE ENTRE 2009 ET 2018

### **I. OBJECTIFS DE L'ETUDE**

Nous avons souhaité dans cette étude, étudier la fonction thyroïdienne de chiennes diagnostiquées comme insuffisantes lutéales. Pour cela nous avons sélectionné des cas dans la banque de données du CERREC et réalisé des dosages de la TSH, de la T4 totale et de la T4 libre sur les échantillons mis à disposition par le CRB CryAnim.

Nous avons comparé ces résultats avec ceux d'un groupe témoin afin d'étudier un lien suspecté entre insuffisance lutéale et hypothyroïdie gestationnelle.

L'objectif de la première partie de cette étude est de répertorier les cas d'insuffisance lutéale suspectés ou diagnostiqués au CERREC entre 2009 et 2018, et les cas ayant eu une gestation normale, afin d'obtenir un groupe de cas « malades » et un groupe témoin.

La seconde partie de l'étude se concentre sur la description et l'analyse des différents paramètres pris en compte.

Tout d'abord, des courbes de la progestéronémie au cours de la gestation grâce aux données déjà fournies par les dossiers du CERREC seront élaborées, suivant l'état insuffisant lutéal ou non. Puis, nous étudierons la fonction thyroïdienne des différents groupes au travers des dosages de la tT4, fT4 et TSH.

Enfin, la dernière partie de cette présentation portera sur les quelques cas qui ont marqué notre étude et dont la description est une bonne illustration de nos observations statistiques.

### **II. MATERIEL ET METHODES**

#### *1 Recueil des cas au CERREC et sélection des dossiers*

##### 1.1 PRESENTATION DU CERREC

Le CERREC, ou Centre d'Etude et de Recherche en Reproduction et Elevage des Carnivores a été fondée en 1995 et est implantée à VetAgro Sup sur le campus vétérinaire de Lyon.

Le CERREC propose aux éleveurs de chiens et chats diverses prestations telles que la prise en charge des pathologies de la reproduction, le suivi de chaleur et de gestation, les inséminations artificielles intra-vaginale ou intra-utérine par endoscopie ou sonde norvégienne avec tous les types de semence (fraîche, réfrigérée, congelée), ainsi que la collecte de semence chez le mâle.

Le centre est l'un des rares sites proposant une conservation de la semence par congélation, en partenariat avec le CRB (Centre des Ressources Biologiques), pour son utilisation ultérieure.

Fort de sa reconnaissance dans le milieu de l'élevage des carnivores domestique, le CERREC constitue également un centre de recherche dynamique qui centralise de multiples données concernant les élevages canins.

Son rôle est essentiel dans la formation des étudiants vétérinaires de l'école, des résidents de l'ECAR (European College of Animals Reproduction), mais aussi des vétérinaires praticiens.

Le CERREC est un centre de référence pour les éleveurs et les vétérinaires qui trouveront une réponse à leurs questionnements concernant la gestion de la reproduction des carnivores.

Le CERREC reçoit les prélèvements sanguins des cliniques et réalise les dosages hormonaux puis conseille les praticiens sur la prise en charge et la thérapeutique qu'ils peuvent mettre en place.

## 1.2 SUIVI DE CHALEUR ET DE GESTATION AU CERREC

### a. Suivi de chaleur, détermination du moment de l'ovulation, inséminations artificielles au CERREC

Au CERREC, le suivi de chaleur implique nécessairement un ou plusieurs dosages de la progestérone plasmatique et des frottis vaginaux.

Les frottis vaginaux sont observés après coloration May Grünwald Giemsa ou Harris Shorr. La chienne est considérée comme prête lors que l'on observe 100% de cellules kératinisées regroupées en amas, sur un fond propre.

Les prélèvements sanguins sont conservés sur tube hépariné. Un délai de deux ou trois jours après l'ovulation, considérée au moment où la progestérone dépasse 25 à 30 nmol/L, est conseillé avant la mise à la reproduction.

En pratique, l'insémination est souvent réalisée avec de la semence fraîche ou réfrigérée, le lendemain et le surlendemain d'un dosage dépassant 25 nmol/L.

### b. Diagnostic et suivi de la gestation

Au CERREC, une échographie abdominale est pratiquée 25 jours après l'ovulation.

Les dosages de progestérone sont hebdomadaires et les prélèvements sont réalisés par le vétérinaire traitant ou au CERREC directement.

Souvent, des césariennes ont dû être programmées, en particulier pour les races à fort risque de dystocie (Bouledogue Français par exemple), les chiennes ayant présenté des antécédents de dystocies, les chiennes avec un seul chiot, les primipares de plus de 6 ans et de moins de 1 an. Généralement, les césariennes sont planifiées 61 à 62 jours après l'ovulation. Une injection d'aglépristone à 15 mg/kg est administrée en sous cutanée à J61-62 après ovulation et la mise bas a lieu 18h plus tard.

### c. Données disponibles pour l'étude

Pour chaque chienne, l'âge, la race, le rang de gestation et le nombre de suivi au CERREC est rapporté.

Ainsi, la plupart des dossiers disponibles permettent de connaître pour un cycle suivi donné :

- La **date du début des chaleurs** estimées par le propriétaire ;
- La **date précise de l'ovulation** évaluée grâce aux dosages hormonaux et aux frottis vaginaux ;
- Les résultats des **dosages de progestéronémie** et des **frottis vaginaux** ;
- Les résultats des **examens complémentaires** le cas échéant ;
- Le **type d'insémination** et la **date** de l'insémination ;
- Les différentes **thérapeutiques** utilisées si nécessaires et leur date de mise en place (antibiothérapie, complémentation hormonale) ;
- La **date du diagnostic de gestation** le cas échéant ;
- Les dates et **résultats de dosages de progestérone** pendant le suivi de gestation s'il a été réalisé ;
- L'**état clinique** des chiennes à chaque stade, et leur poids régulièrement ;
- La date de la **mise bas** ;
- Le **type de mise bas**, le **nombre de chiots**, leurs **sexes**, la **présence de morts nés**.

Quelques informations manquantes ont pu être retrouvées via le logiciel CLOVIS de l'école, qui recense les dossiers médicaux de chaque patient présenté en clinique.

#### d. Complémentation en progestérone micronisée (UTROGESTRAN ND)

La complémentation en progestérone utilisée au CERREC est en globalité la suivante :

- Pour les chiennes pesant 45 kg : 200 mg PO toutes les 8h
- Pour les chiennes pesant moins de 45 kg : 100 mg PO toutes les 8h

Les posologies sont réajustées tous les 2 à 3 jours en fonction des résultats de mesures de progestéronémie suivantes (augmentation de la fréquence d'administration).

La supplémentation est **arrêtée à J58 à J60** post ovulation, et la mise-bas à prévoir dans les 3 à 4 jours post-ovulation.

#### 1.3 CONSTITUTION DES GROUPES D'INTERET

Chaque animal présenté au CERREC est enregistré sous forme d'un dossier papier dans lequel les informations relatives à l'identité du propriétaire et de l'animal sont consignées. L'historique reproducteur de chaque chienne est précisément rapporté.

Les dossiers, classés par sexe et selon les propriétaires en ordre alphabétique ont été repris de façon exhaustive.

Les chiennes sélectionnées ont été réparties en 3 groupes principaux :

- **Groupe 1** : Groupe témoin ;

Des chiennes gestantes, non supplémentées en progestérone micronisée (Utrogestan ND), pour lesquelles une insuffisance lutéale n'est pas suspectée.

- **Groupe 2** : Des chiennes dont l'insuffisance lutéale est pressentie ou avérée, et supplémentées en progestérone micronisée (Utrogestan ND).

Les critères de suspicion de l'insuffisance lutéale pris en compte sont les suivants :

- Une progestéronémie inférieure 45 nmol/L dans la premier tiers la gestation ou une progestéronémie inférieure à 30 nmol/L dans le troisième tiers de gestation.
- Une chute de la progestéronémie de 20 à 30% entre 2 dosages à 3 jours d'intervalle
- Une progestéronémie qui semble faible dès le début de la gestation, sans être au-dessous de la valeur seuil (< 9 nmol/L), avec des antécédents d'infertilité rapportés
- Une insuffisance lutéale déjà manifestée sur une gestation précédente, ou bien l'animal a pu avorter à cause de cela.

*Rappel :*

- Le taux minimal de progestérone pour maintenir la gestation est compris entre 6 et 9 nmol/mL.
- La progestéronémie atteint en moyenne entre 47 nmol/L et 286 nmol/L entre J20 et J30 post-ovulation

L'objectif de réaliser un troisième groupe comprenant des chiennes dont la gestation s'est soldée par un avortement et dont la cause suspectée est l'insuffisance lutéale, n'a pas pu être atteint du fait du trop faible nombre de cas et de l'absence d'échantillons disponibles.

Ces chiennes ont été ensuite réparties en sous-groupes selon leur gabarit.

Nous considérerons les chiennes de petit format pesant moins de 10 kg, celles de moyen format pensant entre 10 et 25 kg, celles de grand format pesant entre 25 et 45 kg, et les formats géants dont le poids dépasse 45 kg.

## *2 Difficultés rencontrées pendant l'étude*

### 2.1 LORS DE LA SELECTION DES DOSSIERS

Afin de concevoir une étude correcte, il était indispensable de connaître précisément la date d'ovulation et d'avoir à disposition plus de 3 dosages de progestéronémie après le diagnostic de gestation pour pouvoir établir une cinétique, ce qui réduit considérablement l'effectif étudié.

Le biais le plus important dans cette étude et qu'il faudra considérer lorsque nous présenterons les résultats est que les chiennes suspectées d'insuffisance lutéale sont complémentées sur des critères de suspicion clinique et que le diagnostic est un diagnostic d'exclusion.

Ainsi, il est impossible de savoir si la chienne aurait avorté ou non sans complémentation, et si on peut toutes les considérer comme des insuffisantes lutéales vraies.

De plus, nous retrouvons des contraintes inhérentes aux études rétrospectives.

L'étude n'a pas été conçue de manière à obtenir des prélèvements à des dates précises post-ovulation et l'on rencontre une grande disparité entre les dates des dosages (selon les contraintes de disponibilité des propriétaires, de réception des prélèvements par la poste pour ceux réalisés chez le vétérinaire traitant, etc...).

Aussi, certaines chiennes suivies pour une infertilité ont fait l'objet de prélèvements vaginaux au début du suivi de chaleur pour la réalisation d'une bactériologie et la détection de mycoplasmes. Ces chiennes ont été traitées avec des antibiotiques et nous verrons en quoi ces traitements peuvent interférer avec nos résultats dans les paragraphes suivants.

Enfin, les chiennes présentées au CERREC sont souvent des cas référés pour infertilité ou présentées uniquement pour le suivi de chaleur afin de réaliser l'insémination au bon moment. Ainsi, les animaux ne présentant aucune affection et suivis sur toute la durée de leur gestation sont rares et cette particularité a nettement affecté la constitution d'un groupe témoin fiable.

### 2.2 LORS DE L'UTILISATION DES PRELEVEMENTS STOCKES AU CRB

Les prélèvements sanguins sont identifiés par des numéros permettant de les retrouver dans la banque du CRB.

De nombreux échantillons inutilisables car coagulés ou hémolysés, ou dont la quantité restante était trop faible pour réaliser un dosage n'ont pas pu être inclus dans le protocole, ce qui implique qu'un grand nombre de valeurs ne sont pas renseignées pour beaucoup de chiennes incluses dans l'expérience.

### 3 Présentation des effectifs sélectionnés

#### 3.1 NOMBRE DE CAS DISPONIBLES

Une gestation est considérée comme un cas à part entière même s'il s'agit d'une seule et même chienne à un moment différent de sa vie.

Considérant le nombre de cas disponibles et les contraintes liées à certaines données ou échantillons manquants, les effectifs constitués sont présentés ici.

**Tableau VI : Effectifs de l'étude en fonction du gabarit**

	<b>Petit format</b>	<b>Moyen format</b>	<b>Grand format</b>	<b>Format géant</b>	<b>Total</b>
Groupe des témoins	1	2	2	6	10
Groupe des malades	2	4 dont 1 traité avec des antibiotiques	8 dont 4 traités avec des antibiotiques	13 dont 9 traités avec des antibiotiques	27

Ce tableau nous montre que le plan d'expérience est très déséquilibré du fait du petit nombre de cas témoins fiables recueillis lors de la sélection des dossiers.

#### 3.2 AGE DES ANIMAUX

En moyenne, les chiennes suspectées d'insuffisance lutéales sont âgées de 4,5 ans. L'âge maximal de l'effectif est 7 ans et l'âge minimal est de deux ans.

Les chiennes témoins ont un âge moyen de 3,7 ans. La chienne la plus vieille a 5 ans et la plus jeune 17 mois.

Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence pour la répartition des âges entre le groupe témoin et le groupe insuffisant lutéal (Annexe 1).

### 3.3 REPARTITION DES RACES EN FONCTION DU GABARIT

Le tableau ci-dessous récapitule les races étudiées selon les gabarits et leurs effectifs respectifs.

**Tableau VII : Répartition des races considérées dans l'étude**

	<b>Groupe des témoins</b>	<b>Groupe des malades</b>
<b>Petit format</b>	Fox Terrier (1)	Lhasa apso (1) Epagneul papillon (1)
<b>Total</b>	1	2
<b>Moyen format</b>	Bouledogue anglais (1)	Colley (2) Bouledogue Anglais (1) Bull terrier (1)
<b>Total</b>	1	4
<b>Grand format</b>	Berger Allemand (1) Golden Retriever (1)	Berger Allemand (3) Berger blanc suisse (1) Boxer (2) Golden retriever (1) Braque Allemand (1)
<b>Total</b>	2	8
<b>Format géant</b>	Dogue Allemand (1) Terre neuve (4) Saint Bernard (1)	Terre Neuve (7) Saint Bernard (3) Leonberg (1) Dogue Allemand (2)
<b>Total</b>	6	13

Ainsi, nous pouvons constater que le plan d'expérience est fortement déséquilibré et que la différence d'effectif entre les gabarits est grande.

Le tableau VIII qui suit récapitule l'ensemble des races et des gabarits qui ont été pré-sélectionnés pendant notre étude. Tous n'ont pas fait l'objet de dosages car les tubes n'étaient pas toujours disponibles au CRB.

On peut constater qu'un plus grand nombre de chiennes complémentées et appartenant aux races géantes (42) ont été sélectionnées par rapport à celles non complémentées (19).

De plus, toutes les chiennes de ce groupe représentent un effectif bien supérieur à celui des autres groupes.

Ceci est probablement lié à un biais de sélection des cas du fait de l'activité du CERREC.

En effet, les chiennes de gabarit géant sont considérées comme plus à risque de présenter une insuffisance lutéale. Elles sont donc plus aisément présentées par leur propriétaire pour un suivi de gestation, et sont plus souvent complémentées que les autres du fait des prédispositions raciales suspectées à l'insuffisance lutéale.

Ceci est observable également chez les chiennes de grand format, mais de façon moins importante.



Tableau VIII: Répartition des races sélectionnées lors de la lecture des dossiers

Gabarit	Race	Nombre de gestations normales	Nombre de gestations avec IL
Géant	Terre Neuve	7	20
	Saint Bernard	5	6
	Dogue Allemand	5	4
	Cane Corso	1	1
	Leonberg	0	5
	Bouvier Bernois	0	5
	Malamute	0	1
	Mastiff	1	0
	<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>42</b>
Grand	Boxer	3	5
	Berger Australien	2	0
	Berger Allemand	2	11
	Doberman	1	0
	Beauceron	1	0
	Basset Hound	1	0
	Golden retriever	1	1
	Husky	1	0
	Rottweiler	0	1
	Berger blanc suisse	0	1
	Braque Allemand	0	1
	Colley	0	5
	American Bully	0	1
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>26</b>	
Moyen	Suédois de laponie	0	1
	Whippet	0	1
	Bulldogue anglais	7	1
	Eurasier	0	3
	Bull Terrier	3	1
	Staffie	1	0
	<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>7</b>
Petit	Spitz nain	0	1
	Lhasa Apso	0	1
	Cavalier King Charles	0	1
	Bulldogue français	13	1
	Epagneul papillon	0	2
	Fox Terrier	2	0
	Bull Terrier miniature	7	0
	<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>6</b>

#### 4 Saisie des dossiers

Chaque dossier pouvant présenter un intérêt pour l'étude (témoins et animaux complémentés avec de la progestérone micronisée) a été saisi dans un tableau Excel regroupant l'intégralité des informations disponibles.

La première partie du tableau regroupe les informations générales concernant la gestation suivie.

Elles comprennent :

- Le nom du propriétaire afin de faciliter la recherche du dossier ;
- Le nom de l'animal et le rang de gestation étudié s'il y'en a plusieurs ;
- La race et le poids ;
- La date de naissance et l'âge de l'animal ;
- Le rang de suivi au CERREC ;
- La date de début de l'œstrus rapportée par les propriétaires ;
- La date de l'insémination et le type ;
- La date présumée de l'ovulation ;
- La date du diagnostic de gestation et le nombre de jours entre le DG et l'ovulation ;
- La date de la dernière ovulation connue afin d'estimer la durée de l'interoestrus présumée lorsque cela est possible ;
- Le nombre de portées que l'animal a eu dans sa vie, le nombre de gestation ayant fait l'objet d'une suspicion d'insuffisance lutéale, le nombre d'avortements, si un avortement a eu lieu à la gestation précédente, le nombre de dystocies s'il y a lieu ;
- Les prélèvements vaginaux réalisés et leurs résultats pour la recherche bactériologique et mycologique le cas échéant ;
- Les traitements antibiotiques administrés le cas échéant ;
- Les autres traitements en cours ;
- Les antécédents médicaux ;
- Les informations concernant la mise-bas lorsqu'elles sont disponibles :
  - La date de la mise-bas, et la durée estimée de la gestation ;
  - Le poids à la mise bas de la chienne;
  - Le nombre de chiots au total, le nombre de chiots vivants, le nombre de morts nés, le nombre de femelles et de mâles ;
  - Le type de mise bas (césarienne, naturelle), s'il y a eu une dystocie, et si des traitements pour la mise-bas ont été administrés ;
- Des commentaires et précisions pour chaque cas étudié ;

Pour les cas complémentés :

- La date de début de complémentation ;
- Le nombre de jours entre la complémentation et l'ovulation.

La seconde partie compile pour chaque gestation les différents dosages de progestérone. Les dosages sont répertoriés très précisément selon la date à laquelle ils ont été réalisés, en considérant comme J0 la date de l'ovulation, déterminée via les dosages de progestérone et les frottis vaginaux.

Pour les cas traités avec de l'UTROGESTRAN (ND), la date de début de complémentation, les ajustements de posologie, le moment d'arrêt de la complémentation sont également déterminés par rapport à la date d'ovulation à J0.

## 5 Collecte des échantillons au CRB- CryAnim

### 5.1 PRESENTATION DU CRB

Le CRB-CryAnim ou Centres de Ressources Biologiques pour les Animaux Domestiques est un réseau créé en 1999 à l'issue des travaux menés mondialement par l'OCDE, et qui associe des organismes de recherches du domaine public (INRA et CNRS), deux structures privées (GIE Labogena et entreprise Antagène) et des établissements d'enseignement supérieurs dont les écoles vétérinaires et notamment VetAgro Sup. C'est en tout 530 000 échantillons biologiques (matériel reproductif et génomique d'animaux élevés en France : mammifères, oiseaux, poissons, coquillages) qui sont conservés dans les 6 centres.

Les objectifs sont la conservation de lignées mais aussi pour des projets de recherche scientifiques.

A VetAgro Sup, l'objectif est de constituer grâce à l'activité clinique du CERREC, une cryobanque de ressources de matériel reproducteur. Les cliniciens identifient les cas et stockent de multiples ressources biologiques (sang total, sérum, plasma, cellules, biopsies, acides nucléiques, sperme, embryons) qui sont conservés selon des procédures de conservations adaptées et les moins délétères possibles.

Ainsi la structure permet la préparation et le traitement des ressources, sa cryoconservation longue durée (-20°C, -80°C, azote liquide) et son hébergement, la surveillance continue des températures, la gestion des collections et protocoles de recherche et la mise à disposition des ressources biologiques.

Le CRB *CryAnim* devient dès lors un pilier pour la valorisation de l'activité du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire, en favorisant l'accès aux ressources. Les échantillons sont ciblés, c'est-à-dire que les collections de matériel concernant les carnivores sont privilégiées, ainsi que ceux provenant d'équidés et animaux de rente. Dans le cadre de notre étude, nous nous intéressons plus particulièrement aux plasmas conservés, issus de l'activité clinique et qui ne sont pas nécessairement attachés à un projet scientifique.

### 5.2 UTILISATION DES ECHANTILLONS DANS LE CADRE DE NOTRE ETUDE

Dans le cadre de notre étude, une demande d'autorisation de mise à disposition des prélèvements a été réalisée auprès du docteur Samuel Buff, directeur opérationnel du CRB. Après l'établissement d'un contrat élaboré entre le demandeur, le CRB *CryAnim* et sous la responsabilité de la Direction Scientifique de VetAgro Sup, les échantillons demandés sont alors mis à disposition et récupérés en respectant le conditionnement et transférés dans les congélateurs du laboratoire de biochimie à une température de -30°C.



**Figure 26** Lieu de stockage des échantillons au CRB CryAnim (source photo: vetagro-sup.fr)

Le CRB-Anim possède une capacité de stockage de 240 000 tubes de 2mL à -80°C et de 144 700 tubes de 2 mL à -30°C.

## 6 Dosages des hormones thyroïdiennes au laboratoire de Biochimie de VetAgro Sup

Après décongélation à température ambiante et centrifugation des plasmas, 150 uL sont prélevés et transférés dans des tubes de dosage pour l'appareil IMMULITE.

Les dosages de T4, fT4 et TSH sont alors réalisés sur l'ensemble des échantillons au laboratoire de biochimie de VetAgro Sup, sous la direction du Professeur Thierry Buronfosse.

### III. PRESENTATION DES RESULTATS ET DISCUSSION

Afin de présenter de façon plus claire et pertinente les résultats issus des test statistiques que nous avons mis en œuvre sur le jeu de données obtenues, ceux-ci seront présentés et discutés dans le même temps.

#### 1 Résultats et discussion

Les analyses statistiques ont été faites avec le logiciel R et les graphiques élaborés avec le package ggplot2.

Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les groupes, ainsi nous avons choisi de réaliser notre étude statistique sur l'ensemble de l'effectif sans considération de la taille de l'animal étudié.

De plus, la différence d'âge n'a pas influencé de manière significative les résultats, ainsi, nous n'avons pas considéré l'âge dans la suite de l'étude.

#### 1.1 ETUDE DE LA PROGESTERONE PLASMATIQUE

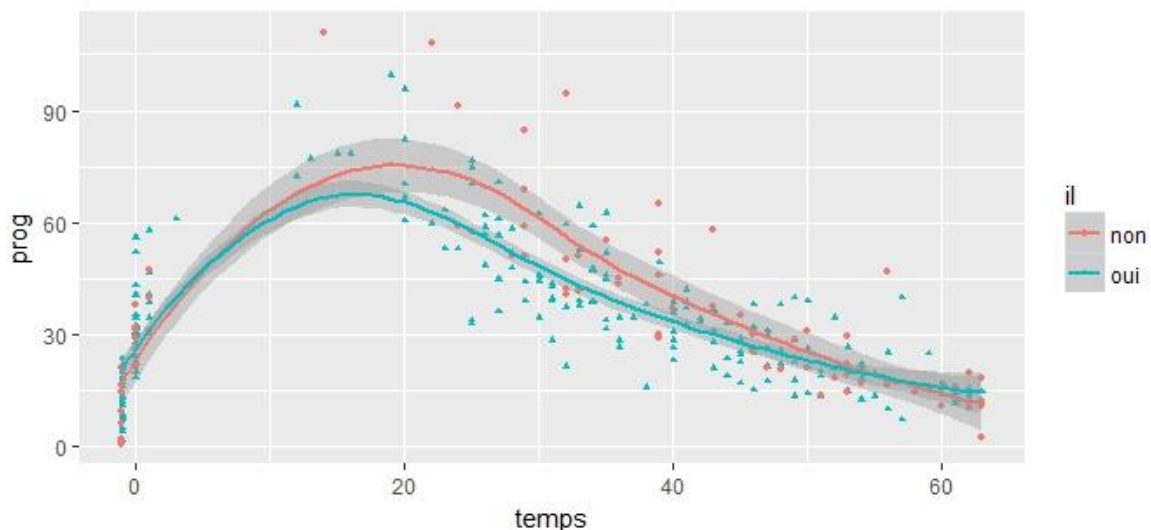


Figure 26 : Progesteronémie plasmatique pendant la gestation en fonction du statut insuffisant lutéal (il=oui) ou non (il=non)

Les courbes présentées ci-dessus ont été réalisées avec ggplot2, en intégrant une courbe de lissage et un intervalle de confiance.

Celles-ci ont distribution similaire présentée à celles que nous avons collecté dans la littérature.

On peut aussi constater une disparité entre les dates de mesures. Il manque des points entre le jour 5 et le jour 15. Ceci est à relier au plan d'expérience. En effet, les dosages concernent des chiennes ayant été présentées à des dates proches mais non standardisées. En revanche, les prélèvements sont hebdomadaires.

Ainsi, si l'on s'intéresse à une semaine donnée de la gestation, cette disparité n'est pas un problème pour l'étude statistique. Nous préférons donc garder les jours précis des dosages plutôt que de les réunir dans des intervalles de temps afin d'améliorer la puissance des tests.

L'observation graphique des données semble mettre en évidence une différence entre les deux groupes pour la période entre le jour 20 et 40.

Cependant, les analyses statistiques réalisées n'ont pas permis de montrer une différence significative au cours du temps entre le jour 0 et le jour 28 et entre le jour 32 et le jour 63 post-ovulation entre la progestérone des chiennes complémentées et non complémentées en UTROGESTRAN (ND).

La moyenne calculée sur les effectifs de notre étude pour la mise en place du traitement est le jour 36. Ainsi, en ce qui concerne la seconde moitié de la gestation, on peut supposer à une bonne efficacité du traitement administré.

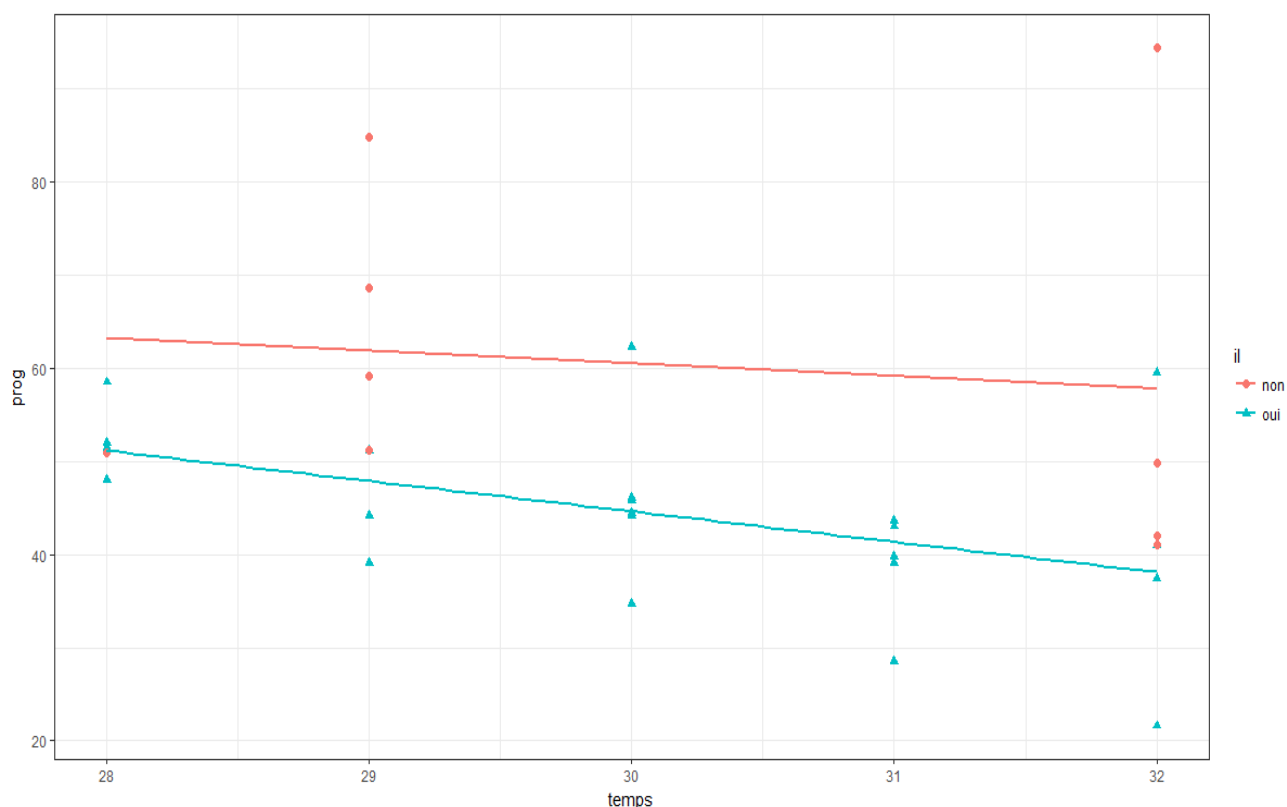


Figure 27 Concentrations en progestérone pendant la quatrième semaine de gestation, selon le statut insuffisant lutéal ou non.

En revanche, l'observation des données de la progestéronémie en fonction du temps entre les chiennes ayant été traitées pour une insuffisance lutéale et les chiennes témoins nous permet d'identifier une période d'intérêt entre le **jour 28 et le jour 32, soit pendant la quatrième semaine de gestation.**

La distribution de ces données se rapprochent d'une distribution linéaire.

A l'aide du package lmer4 fourni par le logiciel R, nous avons élaboré un modèle mixte linéaire, prenant en compte le facteur aléatoire « animal », et les effets fixes « insuffisance lutéale » et « progestérone » en considérant le temps comme quantitatif.

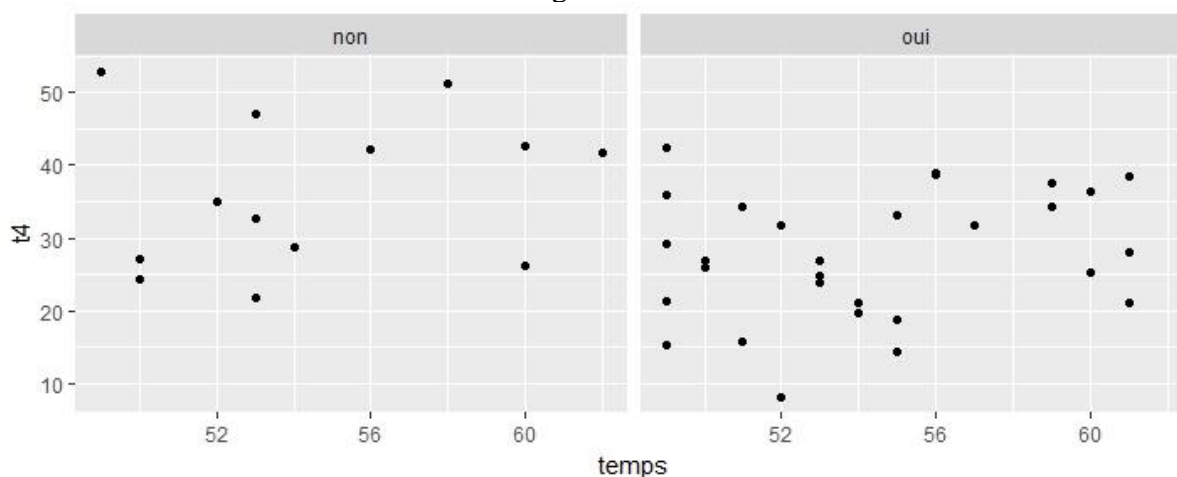
Après vérification de la normalité des résidus de ce modèle, nous avons mis en évidence un effet significatif de l'insuffisance lutéale sur les valeurs de progestérone au cours du temps pour cette période d'intérêt.

Ce moment de la gestation correspond à celui où débute la remontée de la progestérone et au moment où l'insuffisance lutéale peut apparaître, comme expliqué dans la partie bibliographique.

**Cette observation nous conforte également dans le fait que bien que le diagnostic de l'insuffisance lutéale repose sur un diagnostic d'exclusion, les données que l'on présentera dans la suite peuvent être interprétées dans le cadre de chiennes présentant une insuffisance lutéale avérée.**

## 1.2 ETUDE DE LA T4

Grâce à l'observation de l'ensemble des données, nous avons pu mettre en évidence une période d'intérêt **entre le jour 49 et le jour 63 après l'ovulation**, c'est-à-dire durant les 2 dernières semaines de gestation. Or, on sait que l'insuffisance lutéale provoque des avortements durant la seconde moitié de la gestation.

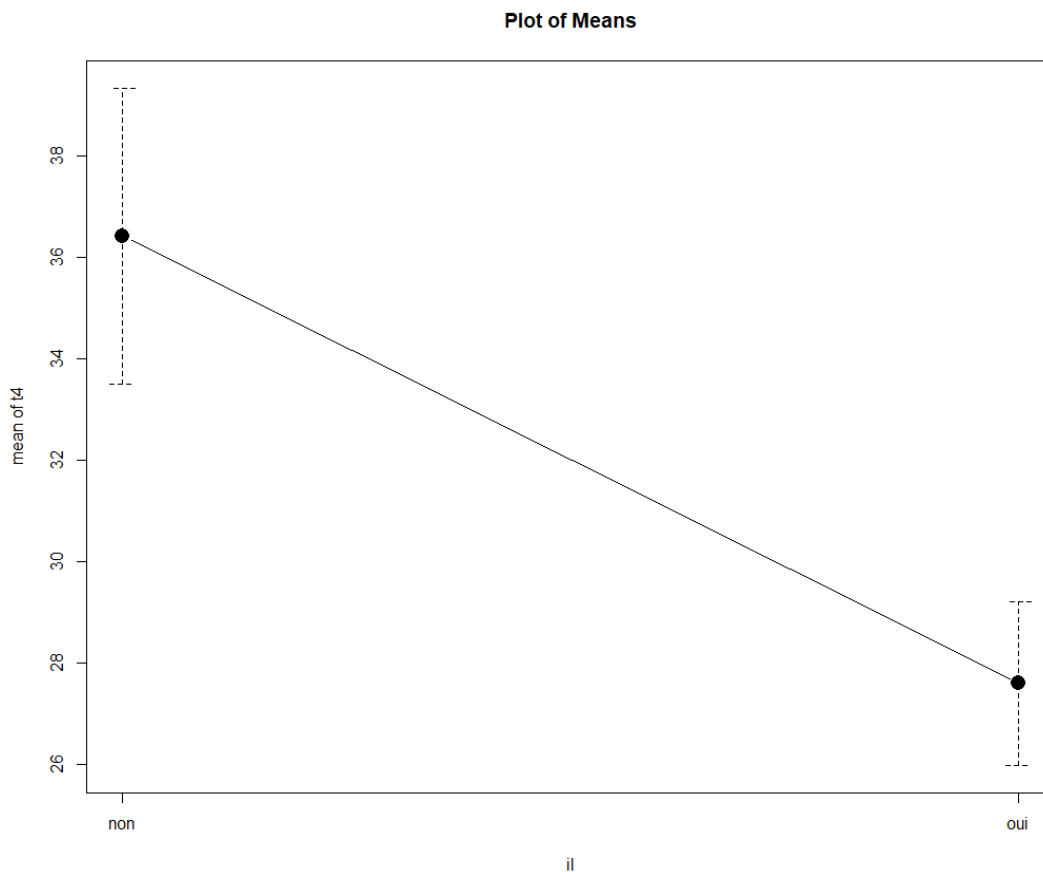


**Figure 28 : Répartition des concentrations en T4 totale dans les deux dernières semaines de gestation, selon le statut insuffisant lutéal (à gauche) ou non (à droite).**

La normalité de la distribution des données sur cette période est mise en évidence grâce à un test de Shapiro-Wilk. Ce qui nous permet d'appliquer un T Test non apparié permettant de comparer les moyennes entre la T4 des chiennes complémentées et la T4 des chiennes non complémentées sur cette période.

La p-value obtenue est de 0,0155 ce qui nous autorise à conclure que pendant cette période, les moyennes mesurées de T4 sont significativement plus faibles pour les chiennes complémentées après le jour 49.

Le diagramme 29 ci-après présente ces résultats sous forme d'un diagramme des moyennes.



**Figure 29** Diagramme des moyennes de la T4 totale dans les deux dernières semaines de gestation, selon le statut insuffisant lutéal (il = oui) ou non (il=non)

**La moyenne des valeurs de T4 pour les chiennes ayant présenté une insuffisance lutéale est de 27,6 nmol/L contre 36,4 nmol/L pour les chiennes témoins.**

La puissance de ce test est très bonne (la t-value est supérieure à 2).

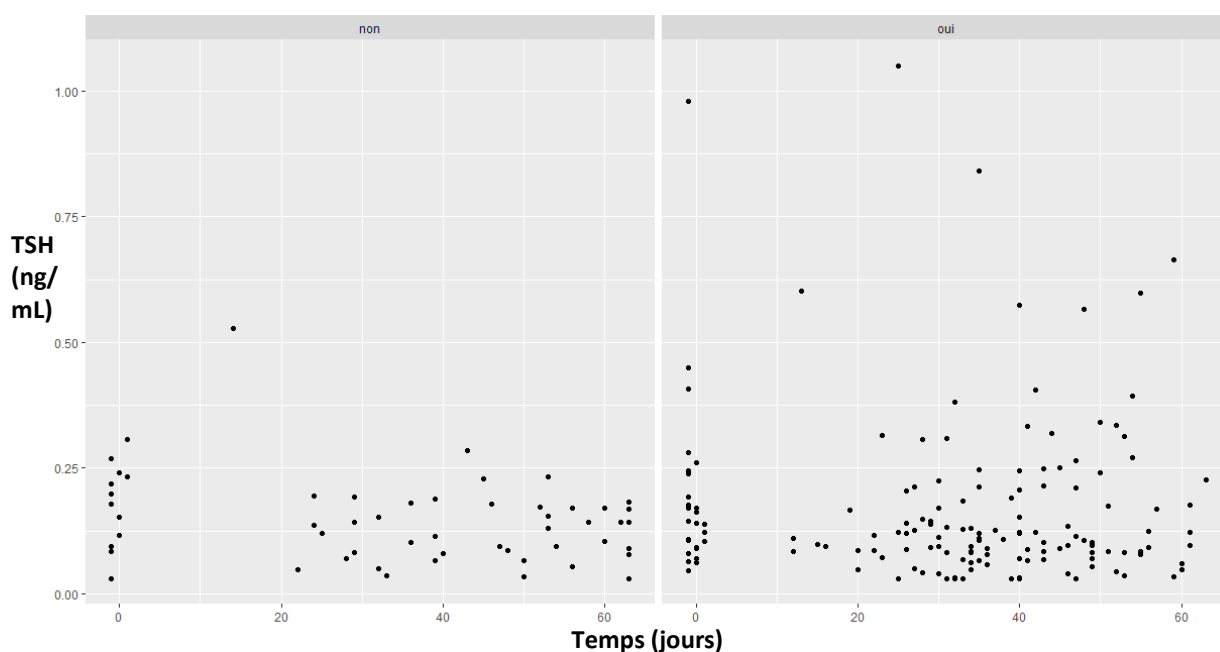
On utilise la moyenne de T4 totale ici car nous avons de grandes variations individuelles selon les chiens.

**Chez les chiennes insuffisantes lutéales, la valeur moyenne reste au dessus de 15 nmol/L, soit au dessus des valeurs de références de notre laboratoire, et ne permettent pas de conclure à une hypothyroïdie vraie, mais on peut suspecter l'existence une hypothyroïdie subclinique.**

On rappelle que chez l'Homme, l'hypothyroïdie subclinique est considérée comme une élévation de la TSH au dessus des valeurs usuelles avec des valeurs d'hormones thyroïdiennes circulantes dans les valeurs usuelles.

Or, nous avons que l'insuffisance lutéale apparaissait au milieu de la gestation, ainsi dans le cas d'une hypothyroïdie subclinique, il serait raisonnable de dire que l'effet de celle-ci se constate en fin de gestation (à partir du jour 49) avec des valeurs de T4 circulantes plus faibles. Mais il faut pour cela s'appuyer sur l'étude de la TSH.

### 1.3 ETUDE DE LA TSH



**Figure 30 Répartition des concentrations en TSH basale, selon le statut insuffisant lutéal (à droite), ou non (à gauche).**

Ce graphique représente toutes les valeurs de TSH mesurées pendant la gestation pour les chiennes témoins à gauche et les chiennes insuffisantes lutéales à droite.

On constate l'apparition de quelques valeurs extrêmes de TSH (supérieures à 0,6 ng/ml) pour les chiennes insuffisantes lutéales.

Les études statistiques réalisées sur la TSH ont donné des résultats très contradictoires.

Ceci est vraisemblablement probablement lié au fait que la TSH est un paramètre labile et sensible. Chez beaucoup de chiennes insuffisantes lutéales, les données de TSH mesurées étaient en dessous des seuils de détection de la machine, ce qui conforte l'idée que ces données ne sont pas exploitables en l'état.

Mais nous nous intéresserons dans la partie qui suit à quelques animaux dont les valeurs de TSH ont un intérêt pour le diagnostic d'une hypothyroïdie subclinique.



## 1.4 ETUDE DE LA FT4

En ce qui concerne la FT4, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence. La FT4 est la fraction libre circulante. Or, on sait que chez la femme, la synthèse de TBG est augmentée lors de la grossesse.

Ainsi, on peut penser que l'hypothyroïdie subclinique observée chez la chienne insuffisante lutéale aurait un lien avec un défaut de synthèse de la TBG, ou du moins avec des capacités de fixation diminuées, ou encore à l'existence d'anticorps anti-thyroglobuline, détectables dès les stades subcliniques, qui pourraient interférer avec le dosage de la T4 totale.

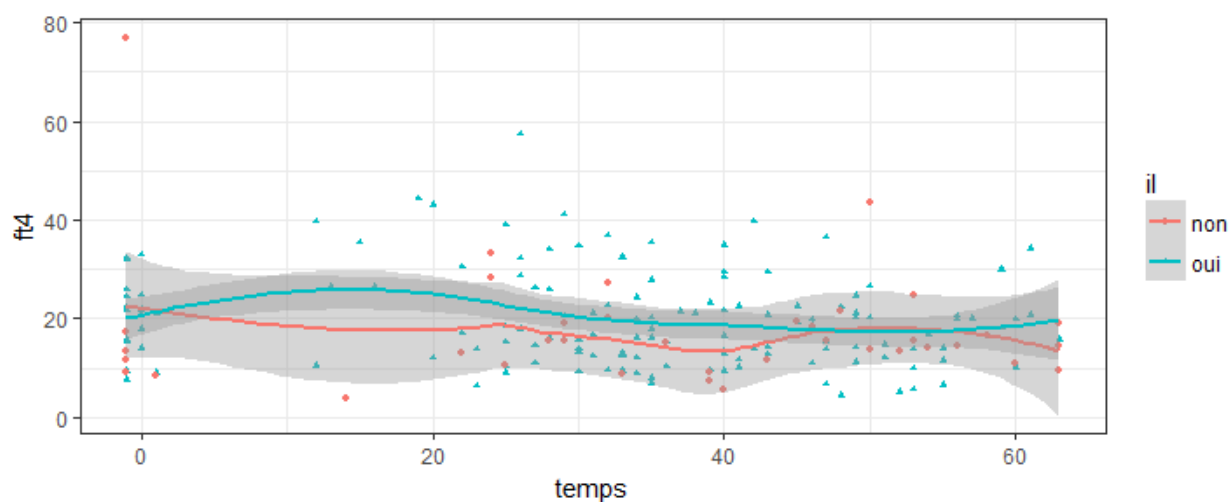


Figure 31 : Variation de la FT4 en fonction du statut insuffisant lutéal (il=ooui) ou non (il=non)

### 2 Effet de la prise d'antibiotiques

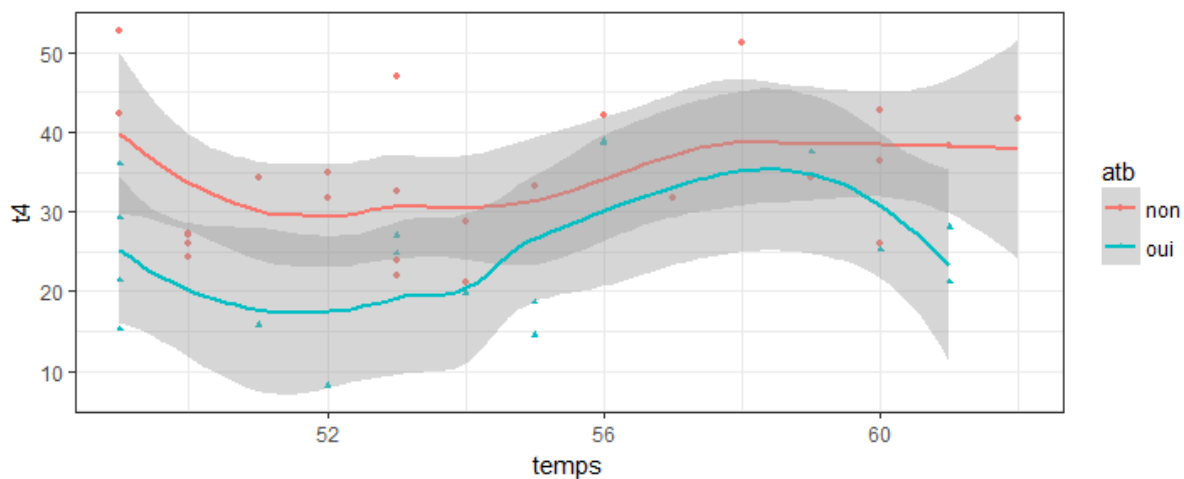
Certaines chiennes ont reçu un traitement antibiotique à la suite de la découverte de présence de mycoplasmes ou d'autres bactéries de la flore commensale vaginale (pasteurelles par exemple) après analyse des écouvillons vaginaux.

Lorsque des mycoplasmes sont détectés, l'antibiotique choisi est la josamycine, macrolide à spectre large de la pharmacopée humaine, à la posologie de 40 mg/kg per os deux fois par jours pendant 3 semaines.

Si la bactériologie révèle la présence pasteurelles, de streptocoques ou de staphylocoques, l'association amoxicilline-acide clavulanique est prescrit à la même posologie que la josamycine.

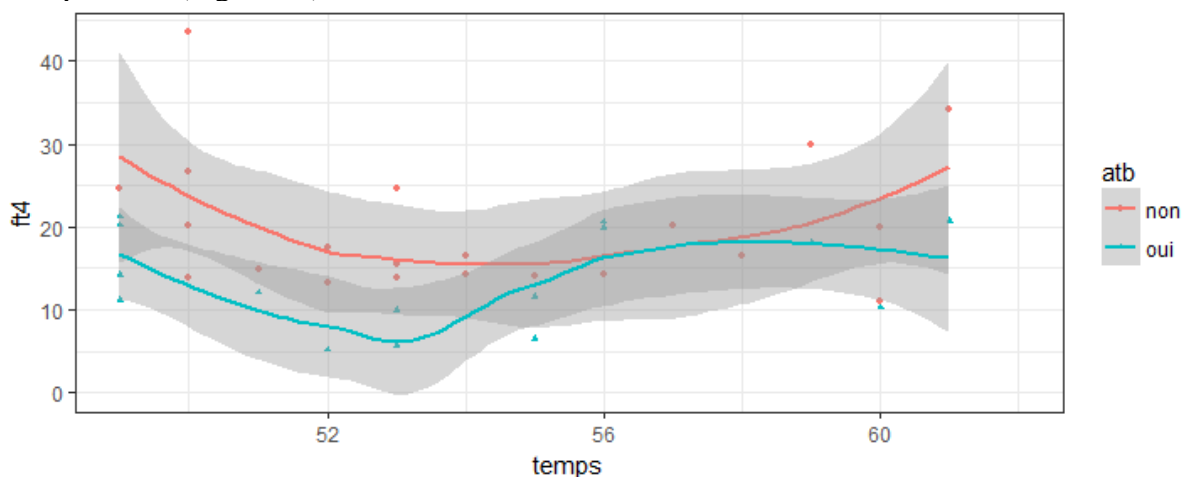
Dans la littérature, nous avons vu que les antibiotiques de la famille des sulfamides pouvaient entraîner une diminution significative des valeurs de T4 totale et de T4 libre, et que la normalisation de ces valeurs pouvait nécessiter un délai de 8 à 12 semaines.

Or, lorsqu'on réalise un t-test sur notre jeu de données, les moyennes de la T4 totale des chiennes ayant été traitées avec des antibiotiques au reste des chiennes (les témoins et celles suspectées d'avoir une insuffisance lutéale), **entre le jour 49 et 63 on constate que celles-ci sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) : les chiennes ayant reçu des antibiotiques ont une valeur moyenne de T4 inférieure à celle qui n'en ont pas reçu (Figure 32).**



**Figure 32: Variation de la T4 totale en fonction de la prise d'antibiotiques (atb=oui) ou non (atb=non)**

En ce qui concerne les moyennes de la T4 libre mesurée, on retrouve les mêmes observations avec  $p < 0,05$ , (Figure 33).



**Figure 33: Variation de la T4 libre en fonction de la prise d'antibiotiques (atb=oui) ou non (atb=non)**

Les chiennes traitées avec des antibiotiques par voie générale sont celles dont les prélèvements bactériens ou la détection de mycoplasme ont été rendus positifs par le laboratoire. Or, les chiennes ayant fait l'objet de ces prélèvements avaient des antécédents d'infertilité.

On peut ainsi se questionner sur l'origine de cette infertilité qui pourrait alors être considérée comme plurifactorielle.

On peut aussi faire l'hypothèse que la prolifération d'éléments pathogènes dans les voies génitales serait liée au statut hypothyroïdien subclinique de la chienne.

### 3 Etude de deux cas particuliers

Quelques cas particuliers ont retenu notre attention au cours de l'étude que nous allons présenter dans cette partie, sous forme d'analyse statistique descriptive.

Bien que ces résultats ne soient pas exploitables en tant que tel, nous avons choisi de les présenter afin d'appuyer les hypothèses que nous avons précédemment énoncé, et étudier de façon plus précise la fonction thyroïdienne et qui illustrent de façon intéressante nos conclusions.

#### 3.1 CAS N°1

Le premier cas que nous étudierons dans cette partie est celui d'une chienne de race Terre Neuve.

La gestation étudiée a eu lieu en 2014 et la chienne était alors âgée de 6 ans. Il s'agissait de sa troisième gestation suivie au CERREC.

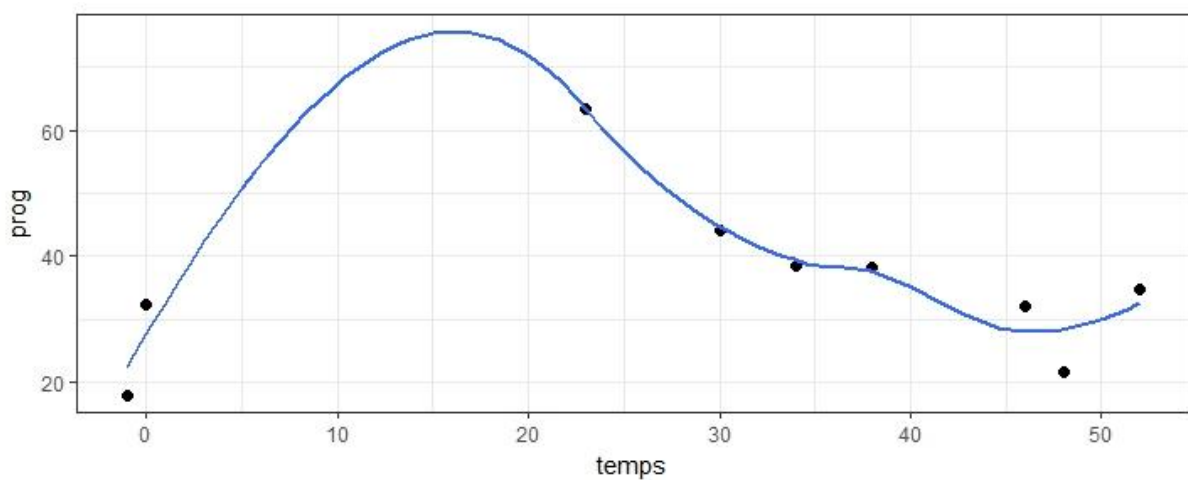


Figure 34: Variation de la concentration en progestérone pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans, (Rang de suivi au CERREC= 3)

La complémentation en UTROGESTRAN (ND) a été débutée pour cet animal au jour 34 post-ovulation, pour une progestéronémie équivalente à 38,5 nmol/L. Le dosage précédent révélait une progestérone plasmatique à 44,2 nmol/L à J40. Ainsi une chute de 27% de la valeur précédente a pu être constaté et justifie la mise en place du traitement selon les protocoles expliqués précédemment.

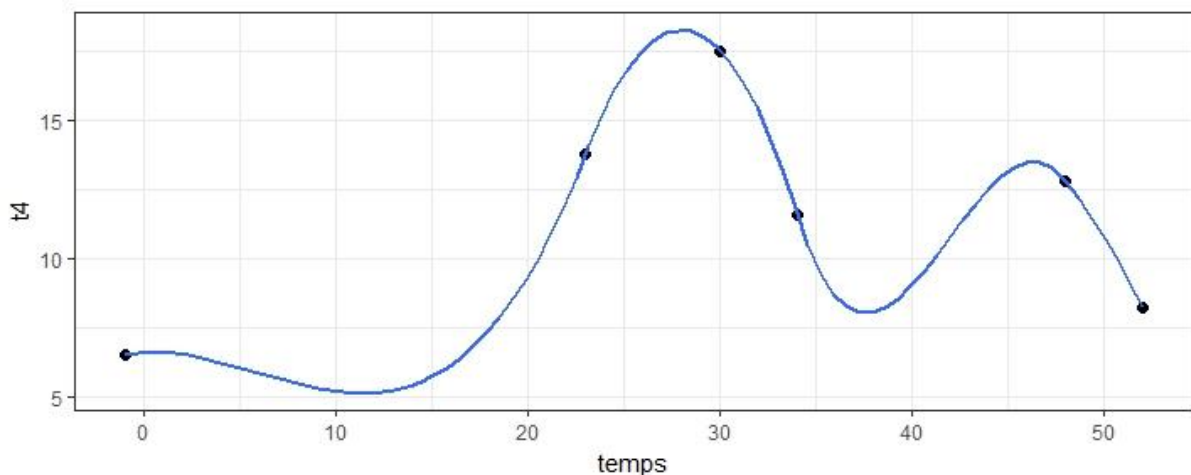
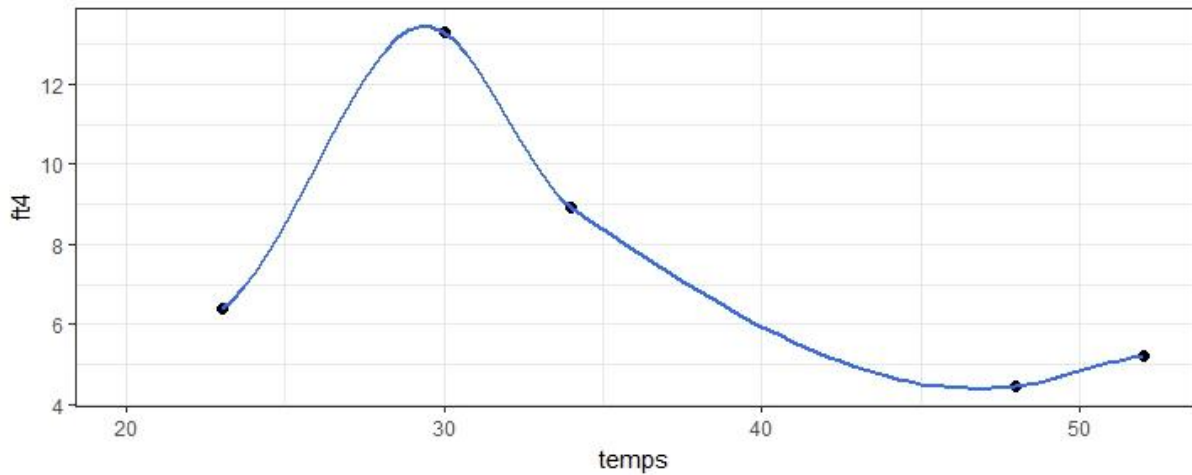


Figure 35: Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans, (Rang de suivi au CERREC= 3)

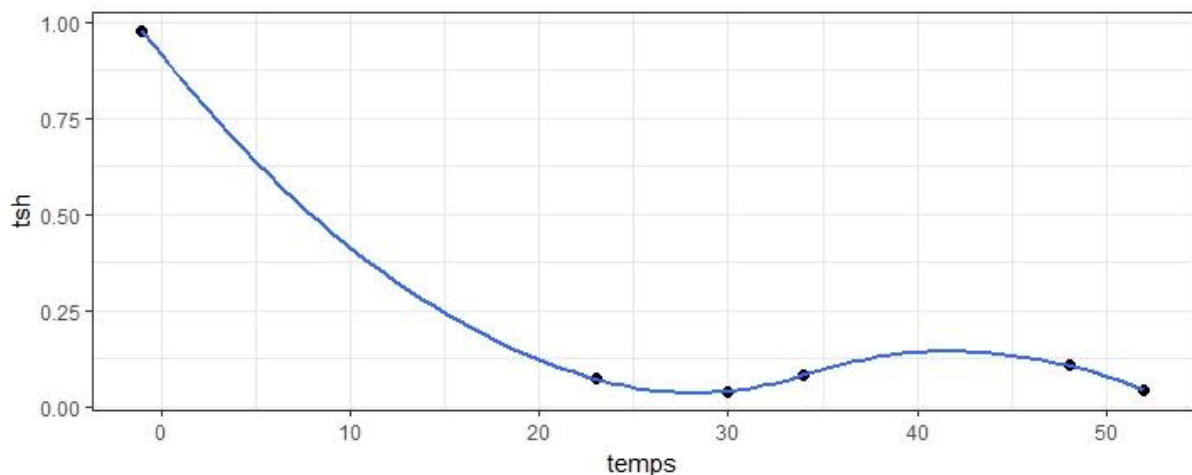
Cette chienne a présenté des valeurs de thyroxinémie très basse dès le début du suivi de chaleur avec une T4 totale de 6,49 nmol/L en pré-ovulation. La valeur maximale de thyroxinémie atteinte est de 17,5 nmol/L au jour 30, mais ensuite, les valeurs mesurées restent en dessous du seuil de 15 nmol/L.



**Figure 36: Variation de la T4 libre pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans, (Rang de suivi au CERREC= 3)**

Chez cet animal, on peut relier de façon très intéressante les valeurs de T4 libre dosées. En effet, le pic de T4 libre maximal correspond à celui de T4 totale, qui atteint 13,3 pmol/L au jour 30. De plus, tout comme pour la tT4, la T4 libre chez cet animal reste au début et pendant toute la fin de la gestation en dessous des valeurs de références de notre laboratoire.

Il est tout de même important de signaler que cette chienne a été traitée avec de la josamycine 10 jours avant l'ovulation, et ce pendant 3 semaines.

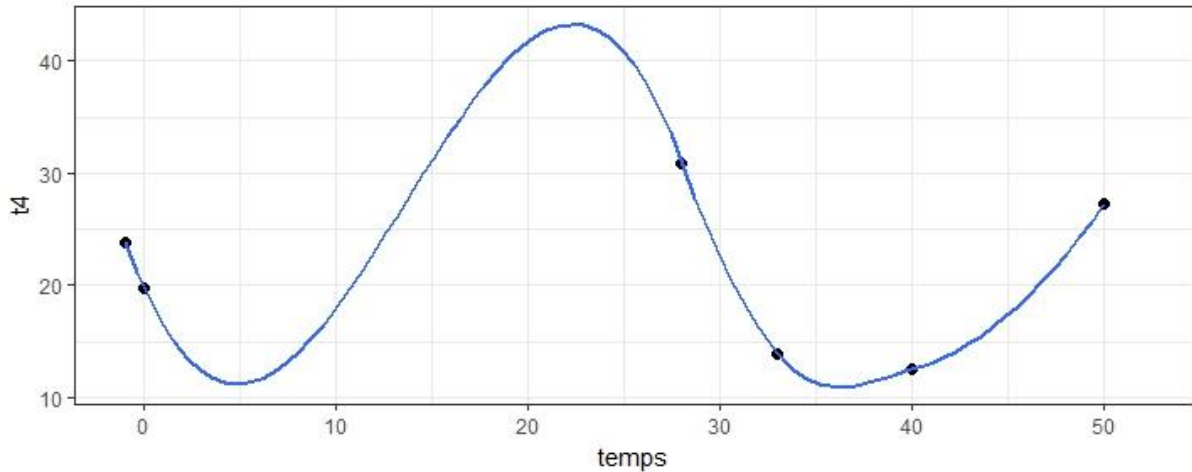


**Figure 37: Variation de la TSH basale pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 6 ans (Rang de suivi au CERREC= 3)**

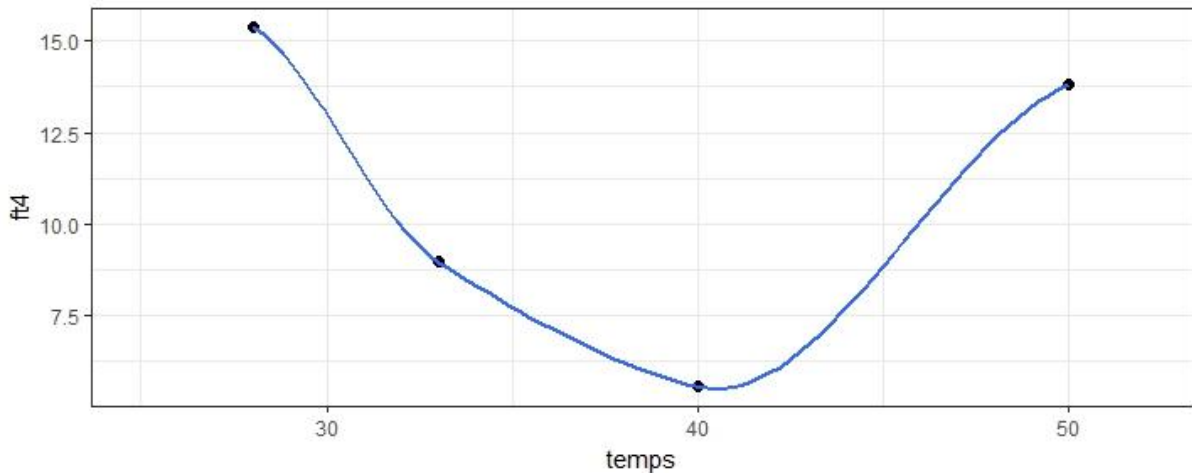
Enfin, on constate que lors du dosage réalisé juste avant l'ovulation, la TSH mesurée était de 0,98 ng/mL, ce qui, conjointement aux résultats de T4 totale et ft4 renforce l'hypothèse que cette chienne était hypothyroïdienne avant le début de la gestation, et ce malgré l'administration d'antibiotiques.

La TSH diminue et retourne aux valeurs usuelles pendant la gestation, mais compte tenu des résultats de tT4 et ft4, ceci peut être dû à la labilité de ce paramètre (et de fait, le plasma de ces derniers échantillons était hémolysé, ce qui, on l'a vu affecte particulièrement la mesure de la TSH).

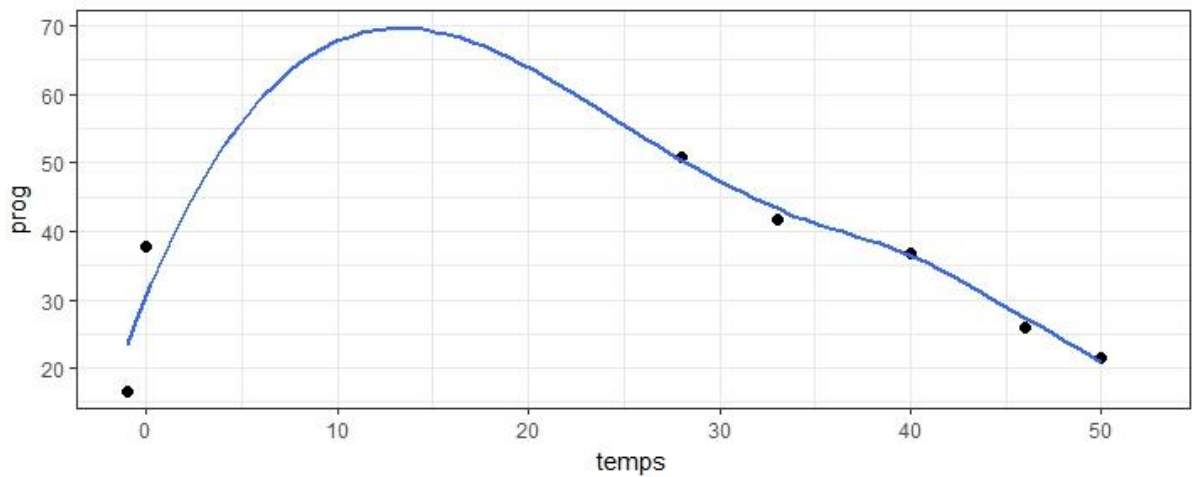
Nous avons inclus dans notre étude et dans le groupe témoin une gestation antérieure de ce même animal, qui s'est déroulée en 2012 et pour laquelle la chienne n'avait pas été complétée. Cette gestation était la première suivie au CERREC et la chienne avait 4 ans. Elle a été suivie en 2013 d'une seconde gestation a également été menée à terme sans aucune anomalie, mais pour laquelle les tubes n'étaient pas disponibles au CRB. Voici les courbes qui concernent cette gestation :



**Figure 38: Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 4 ans, non complétée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1)**



**Figure 39 Variation de la T4 libre pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 4 ans, non complétée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1)**



**Figure 40: Variation de la progestérone pendant la gestation chez une chienne Terre Neuve de 4 ans, non complétement en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1)**

Il est intéressant de noter que les valeurs de thyroïdémie totale et libre pendant la gestation sont restées dans la norme, sauf pour les dosages réalisés au jour 33 et au jour 40, pour lesquels les résultats étaient compatibles avec une hypothyroïdie.

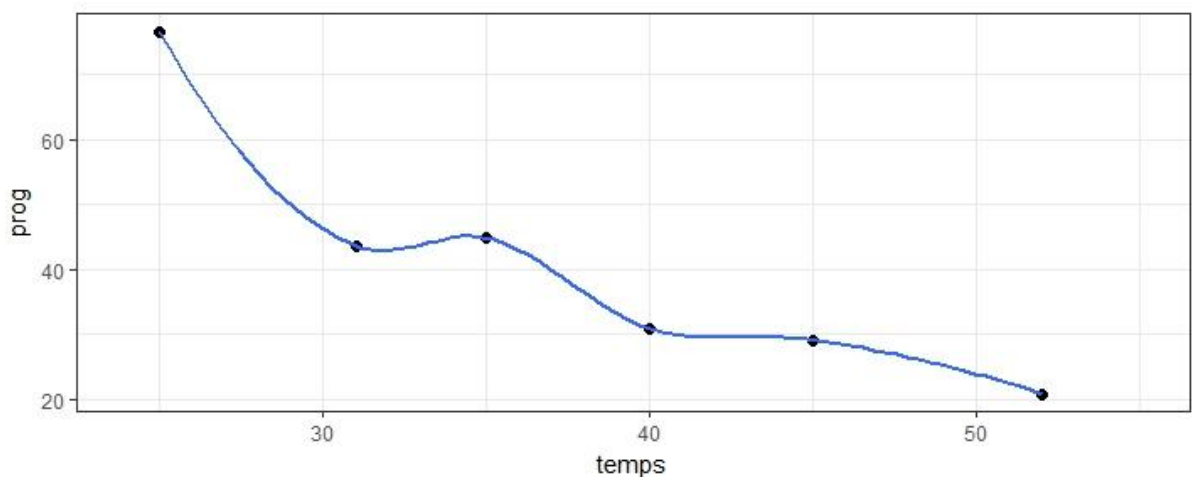
Pendant cette période, la progestérone avait chuté mais de moins de 20% et la complémentation n'était pas nécessaire.

Puis, après avoir passé cette période à risque où l'insuffisance lutéale pouvait se révéler, les valeurs dosées en hormones thyroïdiennes étaient redevenues normales.

Pour conclure sur ce cas, nous avons pu étudier deux gestations successives pour une même chienne et dont le comportement de la glande thyroïdienne est très différent. Lors de la troisième gestation, ayant nécessité la mise en place d'une complémentation hormonale en progestérone, l'animal présentait des valeurs d'hormones thyroïdiennes circulantes très basses et une valeur de TSH avant l'ovulation au-dessus des valeurs usuelles, tandis qu'aucun signe d'hypothyroïdie n'a pu être mis en évidence pendant la première gestation, deux ans plus tôt.

### 3.2 CAS N°2

Notre second cas est celui d'une chienne de race Colley, présentée pour la première fois en 2015 à l'âge de 6 ans, n'ayant reçu aucun traitement antibiotique.



**Figure 41 Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complétement en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1)**

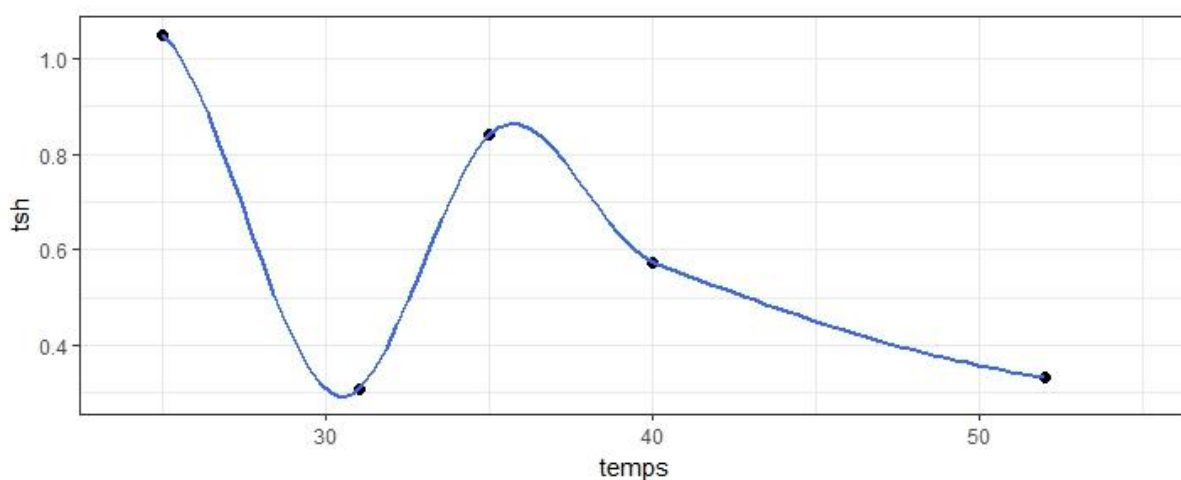
Entre le jour 25 et le jour 31, la progestéronémie chute de 30%, de plus la progestéronémie est inférieure à 30 nmol/mL dans le dernier tiers de gestation, ce qui constitue deux critères fiables pour l'initiation du traitement UTROGESTRAN (ND).

Cependant, cette chienne, selon les souhaits des propriétaires n'a pas été complémentée pendant sa gestation et l'a menée à terme.

En revanche, elle a été présentée un an plus tard pour une seconde portée et a été placée sous complémentation hormonale, tardivement, autour du jour 47 car elle présentait une progestéronémie plasmatique basse pendant toute la gestation.

C'est pour cela que l'on a choisi d'intégrer la gestation de 2015 au groupe des chiennes considérées comme insuffisantes lutéales, bien que la gestation ait été menée à terme sans complémentation.

Malheureusement, les échantillons concernant la seconde gestation n'étaient pas disponibles .



**Figure 42: Figure 41 Variation de la TSH pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complémentée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1)**

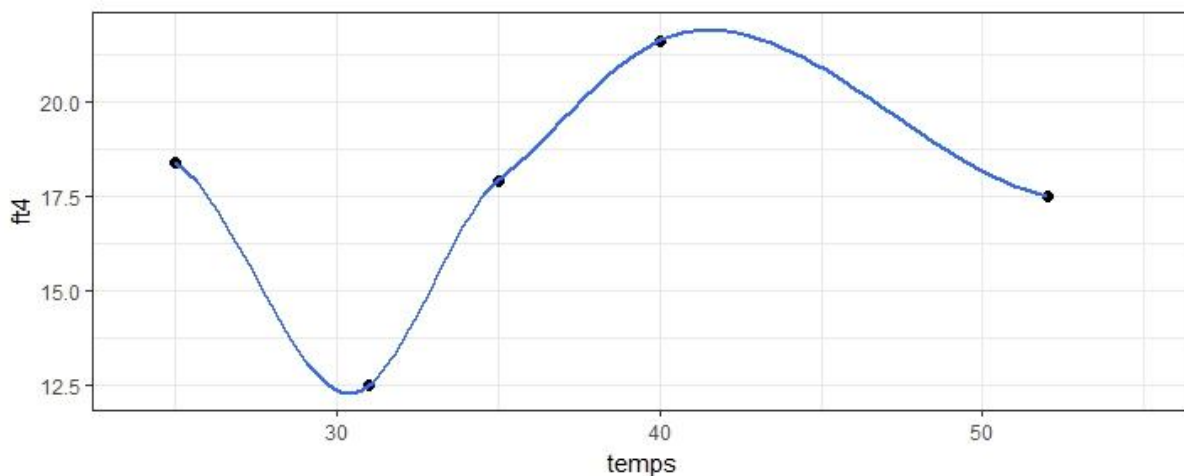
Chez cette chienne, les variations de la TSH sont intéressantes.

En effet, autour du jour 25, la TSH est très haute (1,05 ng/mL), ce qui signe une activité hypophysaire intense. Cependant, nous n'avons pas eu accès aux valeurs précédentes et nous ne pouvons donc que décrire la suite des événements.

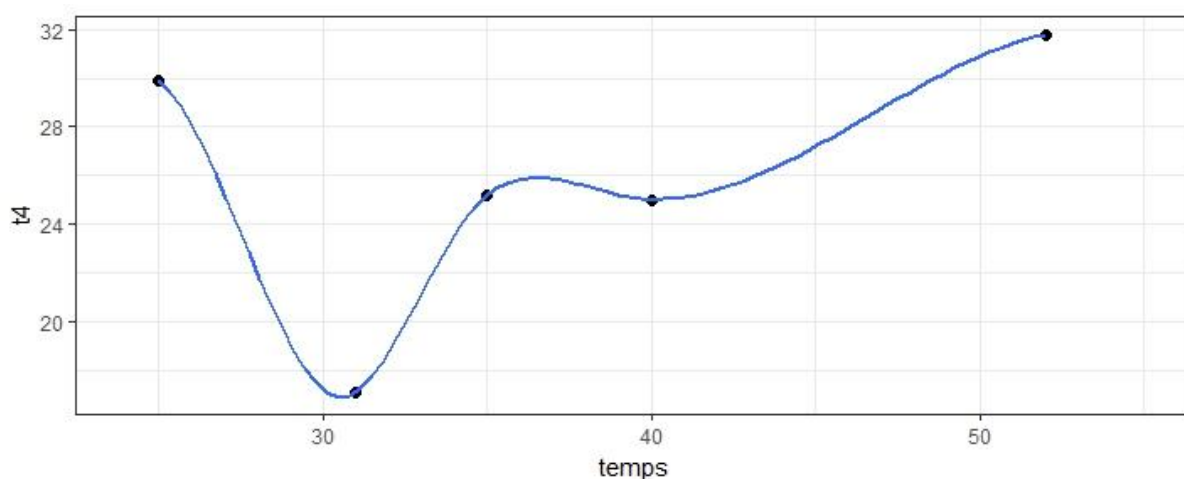
Un nouveau pic à 0,841 ng/ml autour du jour 35 apparaît, ce qui correspond aux quelques jours où la progestérone a entamé sa chute brutale de 30%.

Entre ces pics, il ne serait pas raisonnable d'interpréter les valeurs de TSH car ce paramètre est trop instable.

Ce que l'on peut également noter est que, à J25, avant la chute brutale de progestérone, les valeurs de tT4 et de fT4 étaient nettement au-dessus des valeurs usuelles (29,9 nmol/L et 18,4 pmol/L respectivement), tandis qu'around du jour 31, juste avant le second pic de TSH au jour 35, elles atteignent leurs valeurs minimums, très proches des valeurs limites de référence (17,5 nmol/L et 12,5 pmol/L).



**Figure 43 : Variation de la T4 libre pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complétée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1)**



**Figure 44: Variation de la T4 totale pendant la gestation chez une chienne Colley de 6 ans, non complétée en progestérone micronisée (Rang de suivi au CERREC= 1)**

Ainsi, la chute brutale de la progestérone observée coïncide temporellement avec une diminution nette des hormones thyroïdiennes circulantes, qui précède de quelques jours une augmentation de l'activité hypophysaire avec une TSH supérieure à 0,6 ng/mL. Ensuite les paramètres qui reflètent le fonctionnement de la glande thyroïdienne se normalisent jusqu'à la fin de la gestation.

Ces observations ont lieu autour du jour 30, soit comme rappelé plusieurs fois, la période la plus à risque où la chienne peut devenir insuffisante lutéale.

De plus, la haute valeur mesurée en TSH au jour 25 et au jour 40 peuvent nous indiquer que la chienne avait probablement un statut d'hypothyroïdie subclinique.



#### IV. SYNTHÈSE DE L'ÉTUDE RETROSPECTIVE

Dans cette partie, nous allons dresser le bilan de nos observations.

Les chiennes utilisées dans l'expérience dans le groupe des insuffisantes lutéales sont complémentées selon des critères de suspicion clinique, justifiés par les différentes informations apportées par la littérature.

Cette complémentation implique qu'il est impossible de savoir si ces chiennes auraient mené à terme leur gestation sans la complémentation hormonale en progestérone initiée.

D'ailleurs, l'étude particulière de notre second cas est une bonne illustration : cet animal présentait tous les indices d'une insuffisance lutéale, mais a pu mener à terme sa gestation sans complémentation.

Cependant, la comparaison des **courbes de progestéronémie entre les deux groupes nous a montré d'une différence significative était effectivement présente entre le jour 28 et le jour 32**, ce qui nous conforte le fait que les cas sélectionnés avaient bien une production de progestérone par le corps jaune plus basse que les témoins.

Les témoins sont un autre sujet de notre discussion, puisque le plan d'expérience est déséquilibré et que l'on en compte que 10.

**Mais, malgré cela, les résultats sont significatifs. Ainsi, avec un nombre de cas plus important, il pourrait être envisageable d'étendre notre période d'intérêt.**

En effet, pour la thyroxine totale, nous pouvons dire que la moyenne des thyroïdémies des chiennes insuffisantes lutéales entre le jour 49 et la fin de la gestation est plus basse que celle des chiennes témoins, mais reste au-dessus des valeurs considérées comme basses par notre laboratoire.

Cette observation est en accord avec la diminution de la T4 totale observée par (Thuróczy et al., 2016) chez les chiennes ayant avorté du fait de leur insuffisance lutéale, et **nous permet raisonnablement de suspecter l'existence d'une hypothyroïdie subclinique révélée par la gestation, comme il a été décrit chez la femme.**

L'hypothyroïdie subclinique est définie comme une élévation de la TSH tandis que les hormones circulantes thyroïdiennes restent normales à subnormales, et c'est principalement ce type d'hypothyroïdie qui a été rapportée chez la femme enceinte.

Or, malgré quelques valeurs extrêmes de TSH dans le groupe des chiennes insuffisantes lutéales, la fragilité de ce paramètre et le petit effectif disponible n'a pas permis de mettre en évidence une différence entre les groupes.

Les mesures de la T4 libre ne présentent pas de différences, même si pour nos deux cas étudiés, elles confortent l'idée que les deux chiennes étaient hypothyroïdiennes.

Enfin, nous avons également mis en lumière **une influence de la prise d'antibiotiques sur les valeurs de thyroïdémie totale et libre pendant notre période d'intérêt** (après le jour 49 post-ovulation). Les chiennes traitées avec des antibiotiques pour des vaginites au début de la gestation avaient des valeurs plus faibles de tT4 et de fT4 que les autres.

Ceci est concordant avec des observations faites dans la littérature, mais les effets des antibiotiques utilisés au CERREC n'ont pas été étudiés.

**Ainsi, on peut évoquer l'hypothèse que les chiennes ayant une hypothyroïdie subclinique sont prédisposées à des surinfections bactériennes qui favoriserait l'apparition de vaginites. L'infertilité imputée à l'insuffisance lutéale chez nos cas malades pourrait alors avoir des origines multiples.**

De toutes ces informations nous pouvons conclure que pour l'exploration de cette affection encore mal connue qu'est l'insuffisance lutéale, et de son lien suspecté avec un déficit en hormones thyroïdiennes circulantes, la réalisation d'une étude prospective serait intéressante. L'étude se fonderait sur l'utilisation de chiennes suspectées d'insuffisance lutéale mais qui ne seraient pas complémentées pendant la gestation, en comparaison avec des chiennes ayant déroulé une gestation normale.

Des dosages hebdomadaires de la TSH sont à mettre en œuvre, afin de caractériser l'hypothyroïdie dont on suppose le lien avec cette affection. Afin d'améliorer la sensibilité des tests, le dosage des anticorps anti-thyroglobuline chez ces chiennes pour la détection d'une thyroïdite auto-immune est indiqué, comme cela est déjà réalisé chez la femme pour le dépistage de ce type d'affection.

De plus, il serait pertinent d'étudier le lien entre les vaginites détectées chez les chiennes avec des antécédents d'infertilité et une hypothyroïdie subclinique.

## CONCLUSION

L'insuffisance lutéale, trouble reconnu chez différentes espèces dont le chien et la femme, est définie comme une incapacité du corps jaune à fournir une quantité de progestérone adéquate au maintien de la gestation. Le corps jaune est pendant la gestation de la chienne la seule glande capable de produire de la progestérone et son maintien dépend de facteurs lutéotrophiques hypophysaires tels que la prolactine et la LH.

Ainsi, l'insuffisance lutéale provoque un arrêt prématuré de la gestation qui se manifeste par des avortements et des résorptions embryonnaires.

Du fait des diverses causes d'avortements rapportées chez la chienne, le diagnostic de l'insuffisance lutéale repose sur une logique d'exclusion qui s'appuie sur des critères de suspicion rapportés par la littérature. Lorsqu'une chienne présente des critères cliniques pouvant indiquer cette affection, une complémentation hormonale en progestérone est initiée, afin d'éviter tout risque de perte de la portée.

Des études récentes ont permis d'identifier que cette chute de progestérone était associée à une diminution des hormones thyroïdiennes circulantes chez la chienne.

Or l'hypothyroïdie est une maladie endocrinologique à l'origine de troubles de la reproduction tels que des avortements ou une infertilité. La gestation constitue un grand bouleversement pour la fonction thyroïdienne, avec une augmentation de 50% de la thyroxine totale lors de la grossesse chez la femme. L'adaptation physiologique est possible, mais la grossesse et la gestation peuvent être révélatrices d'affections thyroïdiennes frustrées. L'hypothyroïdie chez le chien est une affection dont la principale étiologie est une thyroïdite lymphoplasmocytaire, qui résulte de la destruction progressive de la glande par un mécanisme auto-immun.

Chez l'Homme, elle est aussi d'origine auto-immune principalement, en l'absence de carence en iode.

Toutefois, le diagnostic de l'hypothyroïdie reste un défi pour le praticien vétérinaire. Les examens classiques de laboratoire lors d'une suspicion clinique sont le dosage de la T4 totale associé à celui de la TSH basale.

Mais le dosage de la T4 libre est un meilleur test diagnostique car cette fraction libre active est moins influencée par les facteurs exogènes ou une maladie concomitante. Ainsi, une concentration basse de fT4 associée à une concentration haute de TSH sera très fortement évocatrice d'une hypothyroïdie.

Cependant, le premier stade de la maladie est souvent subclinique et se manifeste par une augmentation l'activité hypophysaire, avec des concentrations en TSH anormalement élevées, sans que les concentrations des hormones thyroïdiennes ne soient affectées.

C'est pourquoi, dans notre étude, nous avons choisi de doser pour chacun des échantillons disponibles la T4 totale, la T4 libre et la TSH.

Nous avons ainsi pu montrer que les chiennes insuffisantes lutéales présentaient des valeurs de T4 totale en moyenne plus basses que les chiennes ayant eût une gestation normale, et ce pendant la dernière semaine de la gestation. Nous avons également constaté que les animaux présentant une vaginite et ayant reçu des antibiotiques au début de leur suivi de chaleur avaient des valeurs significativement plus basses de thyroxine totale et libre dans cette dernière semaine.

Ces observations peuvent être compatibles avec une hypothyroïdie subclinique, mais pour vérifier cela, des dosages plus précis de la TSH sont indispensables. Or cette hormone supporte mal la conservation, et sa sécrétion par l'hypophyse est pulsatile. De ce fait, l'étude de ce paramètre nécessite un suivi précis qui n'est pas adapté à une étude rétrospective.

Ainsi, pour caractériser le fonctionnement de la thyroïde pendant la gestation de façon plus complète, un protocole équilibré sera à envisager. Les animaux sélectionnés devront répondre à tous les critères d'insuffisance lutéale, sans autres anomalies cliniques, et idéalement, ne feront pas l'objet d'une complémentation hormonale. Les prélèvements hebdomadaires seront réalisés sur les animaux malades et les témoins, à des dates homogènes. Ce type d'étude prospective pourrait apporter des informations précieuses sur les variations de la progestérone plasmatique, de la T4 totale et libre et de la TSH. L'étude du fonctionnement thyroïdien pendant la gestation est une perspective d'avenir qui pourrait apporter une nouvelle approche à la prise en charge des insuffisances lutéales.

## **Bibliographie**

- Aghajanova, L., Lindeberg, M., Carlsson, I.B., Stavreus-Evers, A., Zhang, P., Scott, J.E., Hovatta, O., Skjöldebrand-Sparre, L., 2009. Receptors for thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in human ovarian tissue. *Reprod. Biomed. Online* 18, 337–347.
- Antunes, J.M.A. de P., CarvalhoFreire, D.A. de, Oliveira, I.V.P. de M., Moura, G.H.F., Ferreira, L. de C.D. and H.I.P., 2016. Infectious Causes of Abortion, Stillbirth and Neonatal Death in Bitches. *Canine Med. - Recent Top. Adv. Res.* <https://doi.org/10.5772/65330>
- Aralla, M., Groppetti, D., Caldarini, L., Cremonesi, F., Arrighi, S., 2013. Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes during canine pregnancy from early implantation to term. *Res. Vet. Sci.* 95, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.02.003>
- Artusi, E., Milani, C., Banzato, T., Stelletta, C., Cecchetto, M., Mateus, L., Romagnoli, S, 2016. Clinical use of fetal gastrointestinal motility to predict parturition in the bitch. *ISCFR VIII Int. Symp. Canine Feline Reprod.*
- Balasz, J., Vanrell, J.A., 1987. Corpus luteum insufficiency and fertility: a matter of controversy. *Hum. Reprod.* 2, 557–567. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a136589>
- Barr, F.J., 1988. Pregnancy diagnosis and assessment of fetal viability in the dog: A review. *J. Small Anim. Pract.* 29, 647–656. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1988.tb02164.x>
- Barrau, M.D., Abel, J.H., Torbit, C.A., Tietz, W.J., 1975. Development of the implantation chamber in the pregnant bitch. *Am. J. Anat.* 143, 115–130. <https://doi.org/10.1002/aja.1001430106>
- Bertalan, A., Kent, M., Glass, E., 2013. Neurologic manifestations of hypothyroidism in dogs. *Compend. Contin. Educ. Vet.* 35, E2.
- Bjurström, L., 1993. Aerobic bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders. *Acta Vet. Scand.* 34, 29–34.
- Bjurström, L., Linde-Forsberg, C., 1992. Long-term study of aerobic bacteria of the genital tract in breeding bitches. *Am. J. Vet. Res.* 53, 665–669.
- Bohnet, H.G., Fiedler, K., Leidenberger, F.A., 1981. Subclinical hypothyroidism and infertility. *The Lancet* 318, 1278. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(81\)91506-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(81)91506-3)
- Brömel, C., Pollard, R.E., Kass, P.H., Samii, V.F., Davidson, A.P., Nelson, R.W., 2005. Ultrasonographic Evaluation of the Thyroid Gland in Healthy, Hypothyroid, and

- Euthyroid Golden Retrievers with Nonthyroidal Illness. *J. Vet. Intern. Med.* 19, 499–506. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02718.x>
- Bulgin, M.S., Ward, A.C., Sriranganathan, N., Saras, P., 1984. Abortion in the dog due to *Campylobacter* species. *Am. J. Vet. Res.* 45, 555–556.
- Burnens, A.P., Angéloz-Wick, B., Nicolet, J., 1992. Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. *Zentralblatt Vet. Reihe B J. Vet. Med. Ser. B* 39, 175–180.
- Chakraborty, P.K., 1987. Reproductive hormone concentrations during estrus, pregnancy, and pseudopregnancy in the Labrador bitch. *Theriogenology* 27, 827–840. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(87\)90205-6](https://doi.org/10.1016/0093-691X(87)90205-6)
- Chamberlain, D.M., Docton, F.L., Cole, C.R., 1953. Toxoplasmosis. II. Intra-Uterine Infection in Dogs, Premature Birth and Presence of Organisms in Milk. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 82, 198–200. <https://doi.org/10.3181/00379727-82-20065>
- Chapwanya, A., Clegg, T., Stanley, P., Vaughan, L., 2008. Comparison of the Immulite and RIA assay methods for measuring peripheral blood progesterone levels in Greyhound bitches. *Theriogenology* 70, 795–799. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.047>
- Chastant-Maillard, S., Saint-Dizier, M., Viaris de Lesegno, C., Chebrou, M., Thoumire, S., Reynaud, K., Fontbonne, A., 2007. Embryo biotechnologies in dogs. <https://doi.org/10.4267/2042/47879>
- Choksi, N.Y., Jahnke, G.D., Hilaire, C.S., Shelby, M., 2003. Role of thyroid hormones in human and laboratory animal reproductive health. *Birth Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol.* 68, 479–491. <https://doi.org/10.1002/bdrb.10045>
- Christianson, D., Roti, E., Vagenakis, A.G., Braverman, L.E., 1981. The sex-related difference in serum thyrotropin concentration is androgen mediated. *Endocrinology* 108, 529–535. <https://doi.org/10.1210/endo-108-2-529>
- Concannon, P., 2010. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim. Reprod. Sci.* 124, 200–10. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.028>
- Concannon, P., 1980. Effects of hypophysectomy and of LH administration on luteal phase plasma progesterone levels in the beagle bitch. *J. Reprod. Fertil.* 58, 407–410. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0580407>
- Concannon, P., Lasley, B., Vanderlip, S., 1997. LH release, induction of oestrus and fertile ovulations in response to pulsatile administration of GnRH to anoestrous dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 51, 41–54.

- Concannon, P., Tsutsui, T., Shille, V., 2001. Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine pregnancy. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 57, 169–179.
- Concannon, P.W., 2009. Endocrinologic control of normal canine ovarian function. *Reprod. Domest. Anim. Zuchthyg.* 44 Suppl 2, 3–15. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01414.x>
- Concannon, P.W., 1989. Induction of fertile oestrus in anoestrous dogs by constant infusion of GnRH agonist. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 39, 149–160.
- Concannon, P.W., Hansel, W., 1977. Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  induced luteolysis, hypothermia, and abortions in beagle bitches. *Prostaglandins* 13, 533–542. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(77\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0090-6980(77)90030-2)
- Concannon, P.W., Hansel, W., Visek, W.J., 1975. The Ovarian Cycle of the Bitch: Plasma Estrogen, LH and Progesterone. *Biol. Reprod.* 13, 112–121. <https://doi.org/10.1095/biolreprod13.1.112>
- Concannon, P.W., Isaman, L., Frank, D.A., Michel, F.J., Currie, W.B., 1988. Elevated concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F-2 alpha in maternal plasma during parturition luteolysis and parturition in dogs (*Canis familiaris*). *J. Reprod. Fertil.* 84, 71–77.
- Concannon, P.W., McCann, J.P., Temple, M., 1989. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 39, 3–25.
- Concannon, P.W., Weinstein, P., Whaley, S., Frank, D., 1987. Suppression of luteal function in dogs by luteinizing hormone antiserum and by bromocriptine. *J. Reprod. Fertil.* 81, 175–180. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0810175>
- Cortese, L., Oliva, G., Verstegen, J., Ciaramella, P., Persechino, A., 1997. Hyperprolactinaemia and galactorrhoea associated with primary hypothyroidism in a bitch. *J. Small Anim. Pract.* 38, 572–575.
- Cupps, P.T., 1991. *Reproduction in Domestic Animals*. Elsevier.
- Curtis, E.M., Grant, R.P., 1964. Masculinization of female pups by progestogens. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 144, 395–398.
- Damiet, S., Jeusette, I., Duchateau, L., Diez, M., Van de Maele, I., De Rick, A., 2003. Evaluation of thyroid function in obese dogs and in dogs undergoing a weight loss protocol. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 50, 213–218.
- Daniel Givens, M., Marley, M.S.D., 2008. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology, Proceedings of the Annual Conference of the Society for*

Theriogenology The Society for Theriogenology 2008 Annual Conference 70, 270–285. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.018>

- David, L.P., 2001. Conditions Associated with Canine Hypothyroidism. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 31, 935–950. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(01\)50006-6](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(01)50006-6)
- de Gier, J., Kooistra, H.S., Djajadiningrat-Laanen, S.C., Dieleman, S.J., Okkens, A.C., 2006. Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17 $\beta$ , progesterone, prolactin, and  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. *Theriogenology* 65, 1346–1359. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.010>
- De Jong, F.H., 1988. Inhibin. *Physiol. Rev.* 68, 555–607. <https://doi.org/10.1152/physrev.1988.68.2.555>
- Diaz Espineira, M.M., Mol, J.A., Peeters, M.E., Pollak, Y.W.E.A., Iversen, L., van Dijk, J.E., Rijnberk, A., Kooistra, H.S., 2007. Assessment of thyroid function in dogs with low plasma thyroxine concentration. *J. Vet. Intern. Med.* 21, 25–32.
- Dixon, M., Reid, S.W.J., Mooney, C.T., 1999. Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *Vet. Rec.* 145, 481–487. <https://doi.org/10.1136/vr.145.17.481>
- Dixon, R.M., Mooney, C.T., 1999. Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropin concentrations in the diagnosis of canine hypothyroidism. *J. Small Anim. Pract.* 40, 72–78. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1999.tb03040.x>
- Dixon, R.M., Mooney, C.T., 1999. Canine serum thyroglobulin autoantibodies in health, hypothyroidism and non-thyroidal illness. *Res. Vet. Sci.* 66, 243–246. <https://doi.org/10.1053/rvsc.1998.0268>
- Dixon, R.M., Reid, S.W.J., Mooney, C.T., 2002. Treatment and therapeutic monitoring of canine hypothyroidism. *J. Small Anim. Pract.* 43, 334–340. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00082.x>
- Di, P., 1994. Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204, 761–767.
- Doig, P.A., Ruhnke, H.L., Bosu, W.T., 1981. The genital Mycoplasma and Ureaplasma flora of healthy and diseased dogs. *Can. J. Comp. Med.* 45, 233–238.
- Dubey, J.P., Koestner, A., Piper, R.C., 1990. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197, 857–860.



- Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M., 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20, 323–367. <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-06>
- Eilts, B.E., Davidson, A.P., Hosgood, G., Paccamonti, D.L., Baker, D.G., 2005. Factors affecting gestation duration in the bitch. *Theriogenology* 64, 242–251. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.11.007>
- Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine pregnancy, ResearchGate. URL [https://www.researchgate.net/publication/11571585\\_Embryo\\_development\\_hormonal\\_requirements\\_and\\_maternal\\_responses\\_during\\_canine\\_pregnancy](https://www.researchgate.net/publication/11571585_Embryo_development_hormonal_requirements_and_maternal_responses_during_canine_pregnancy) (accessed 8.8.17).
- England, G.C.W., 1998. Ultrasonographic Assessment of Abnormal Pregnancy. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 28, 849–868. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(98\)50081-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(98)50081-2)
- England, G.C.W., 1992. Ultrasound evaluation of pregnancy and spontaneous embryonic resorption in the bitch. *J. Small Anim. Pract.* 33, 430–436. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1992.tb01197.x>
- England, G.C.W., Allen, W.E., Porter, D.J., 1990. Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound: Development of the conceptus and determination of gestational age. *J. Small Anim. Pract.* 31, 324–329. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1990.tb00821.x>
- England, G.C.W., Russo, M., 2006. Ultrasonographic characteristics of early pregnancy failure in bitches. *Theriogenology, Basic and Applied Research on Domestic, Exotic and Endangered Carnivores* Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction, 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction 66, 1694–1698. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.028>
- Feldman, E.C., Nelson, R.W., 2004. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Elsevier Health Sciences.
- Ferguson, D.C., 2007. Testing for Hypothyroidism in Dogs. *Vet. Clin. Small Anim. Pract.* 37, 647–669. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2007.05.015>
- Ferguson, D.C., Peterson, M.E., 1992. Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *Am. J. Vet. Res.* 53, 1636–1640.
- Ford, S.L., Nelson, R.W., Feldman, E.C., Niwa, D., 1993. Insulin resistance in three dogs with hypothyroidism and diabetes mellitus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202, 1478–1480.

- Frank, L., 1996. Comparison of thyrotropin-releasing hormone (TRH) to thyrotropin (TSH) stimulation for evaluating thyroid function in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 32, 481–487. <https://doi.org/10.5326/15473317-32-6-481>
- Fyfe, J.C., Kampschmidt, K., Dang, V., Poteet, B.A., He, Q., Lowrie, C., Graham, P.A., Fetro, V.M., 2003. Congenital Hypothyroidism with Goiter in Toy Fox Terriers. *J. Vet. Intern. Med.* 17, 50–57. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb01323.x>
- Gaskill, C.L., Burton, S.A., Gelens, H.C., Ihle, S.L., Miller, J.B., Shaw, D.H., Brimacombe, M.B., Cribb, A.E., 1999. Effects of phenobarbital treatment on serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentrations in epileptic dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 215, 489–496.
- Gaughan, K.R., Bruyette, D.S., 2001. Thyroid function testing in Greyhounds. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1130–1133. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1130>
- Genot, A., 2010. Thyroïde et grossesse. *Rev. Francoph. Lab.* 2010, 69–75.
- Glinoyer, D., 1999. What Happens to the Normal Thyroid During Pregnancy? *Thyroid* 9, 631–635. <https://doi.org/10.1089/thy.1999.9.631>
- Golombek, S.G., 2008. Nonthyroidal Illness Syndrome and Euthyroid Sick Syndrome in Intensive Care Patients. *Semin. Perinatol., Transient Hypothyroxinemia of Prematurity* 32, 413–418. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2008.09.010>
- Gonzalez, E., Quadri, S.K., 1988. Effects of aging on the pituitary-thyroid axis in the dog. *Exp. Gerontol.* 23, 151–160.
- Görlinger, S., Galac, S., Kooistra, H.S., Okkens, A.C., 2005. Hypoluteoidism in a bitch. *Theriogenology* 64, 213–219. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.12.011>
- Greco, D.S., Rosychuk, R.A.W., Ogilvie, G.K., Harpold, L.M., Liew, C.H.V., 1998. The Effect of Levothyroxine Treatment on Resting Energy Expenditure of Hypothyroid Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 12, 7–10. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1998.tb00490.x>
- Groppetti, D., Aralla, M., Bronzo, V., Bosi, G., Pecile, A., Arrighi, S., 2015. Perioovulatory time in the bitch: What's new to know?: Comparison between ovarian histology and clinical features. *Anim. Reprod. Sci.* 152, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.11.008>
- Grundy, S.A., Feldman, E., Davidson, A., 2002. Evaluation of infertility in the bitch. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 17, 108–115. <https://doi.org/10.1053/svms.2002.36601>
- Gudermuth, D.F., Concannon, P.W., Daels, P.F., Lasley, B.L., 1998. Pregnancy-specific elevations in fecal concentrations of estradiol, testosterone and progesterone in the

- domestic dog (*Canis familiaris*). *Theriogenology* 50, 237–248.  
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00131-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00131-9)
- Günzel-Apel, A., Urhausen, C., Wolf, K., Einspanier, A., Oei, C., Piechotta, M., 2012. Serum Progesterone in Pregnant Bitches Supplemented with Progestin Because of Expected or Suspected Luteal Insufficiency. *Reprod. Domest. Anim.* 47, 55–60.  
<https://doi.org/10.1111/rda.12029>
- Günzel-Apel, A.-R., Zabel, S., Bunck, C.F., Dieleman, S.J., Einspanier, A., Hoppen, H.-O., 2006. Concentrations of progesterone, prolactin and relaxin in the luteal phase and pregnancy in normal and short-cycling German Shepherd dogs. *Theriogenology* 66, 1431–1435. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.030>
- Hall, I.A., Campbell, K.L., Chambers, M.D., Davis, C.N., 1993. Effect of trimethoprim/sulfamethoxazole on thyroid function in dogs with pyoderma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202, 1959–1962.
- Hill, R.C., Fox, L.E., Lewis, D.D., Beale, K.M., Nachreiner, R.F., Scott, K.C., Sundstrom, D.A., Jones, G.L., Butterwick, R.F., 2001. Effects of racing and training on serum thyroid hormone concentrations in racing Greyhounds. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1969–1972.
- Hoffmann, B., Büsges, F., Engel, E., Kowalewski, M., Papa, P., 2004. Regulation of Corpus Luteum-function in the Bitch. *Reprod. Domest. Anim.* 39, 232–240.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00508.x>
- Hollander, C.S., Thompson, R.H., Barrett, P.V.D., Berlin, N.I., 1967. Repair of the Anemia and Hyperlipidemia of the Hypothyroid Dog. *Endocrinology* 81, 1007–1017.  
<https://doi.org/10.1210/endo-81-5-1007>
- Hollinshead, F.K., Hanlon, D.W., 2017. Factors affecting the reproductive performance of bitches: A prospective cohort study involving 1203 inseminations with fresh and frozen semen. *Theriogenology* 101, 62–72.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.06.021>
- Holst, P.A., Phemister, R.D., 1971. The prenatal development of the dog: preimplantation events. *Biol. Reprod.* 5, 194–206.
- Jannini, E.A., Ulisse, S., D’Armiento, M., 1995. Thyroid hormone and male gonadal function. *Endocr. Rev.* 16, 443–459. <https://doi.org/10.1210/edrv-16-4-443>
- Jeffcoate, I.A., Lindsay, F.E., 1989. Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and the endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 39, 277–287.

- Jerry Kaneko, J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Sixth Edition. ed. Academic Press.
- Johnson, C.A., 2008. Pregnancy management in the bitch. *Theriogenology* 70, 1412–1417. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.009>
- Johnson, C.A., 2008. High-risk pregnancy and hypoluteoidism in the bitch. *Theriogenology* 70, 1424–1430. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.010>
- Kaptein, E.M., Hays, M.T., Ferguson, D.C., 1994. Thyroid Hormone Metabolism: A Comparative Evaluation. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 24, 431–466. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(94\)50051-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(94)50051-2)
- Kim, B.S., Son, C.H., 2007. Time of initial detection of fetal and extra-fetal structures by ultrasonographic examination in Miniature Schnauzer bitches. *J. Vet. Sci.* 8, 289–293.
- K.m, B., M.s, B., J, V.G., B.b, W., K, K., 1992. Correlation of racing and reproductive performance in greyhounds with response to thyroid function testing. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*
- Kooistra, H.S., Diaz-Espineira, M., Mol, J.A., van den Brom, W.E., Rijnberk, A., 2000. Secretion pattern of thyroid-stimulating hormone in dogs during euthyroidism and hypothyroidism. *Domest. Anim. Endocrinol.* 18, 19–29.
- Kooistra, H.S., Okkens, A.C., Bevers, M.M., Popp-Snijders, C., van Haafte, B., Dieleman, S.J., Schoemaker, J., 1999. Concurrent pulsatile secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during different phases of the estrous cycle and anestrus in beagle bitches. *Biol. Reprod.* 60, 65–71.
- Kowalewski, M.P., 2014. Luteal regression vs. prepartum luteolysis: Regulatory mechanisms governing canine corpus luteum function. *Reprod. Biol.* 14, 89–102. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2013.11.004>
- Kowalewski, M.P., Beceriklisoy, H.B., Aslan, S., Agaoglu, A.R., Hoffmann, B., 2009. Time related changes in luteal prostaglandin synthesis and steroidogenic capacity during pregnancy, normal and antiprogesterone induced luteolysis in the bitch. *Anim. Reprod. Sci.* 116, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.12.011>
- Kowalewski, M.P., Michel, E., Gram, A., Boos, A., Guscetti, F., Hoffmann, B., Aslan, S., Reichler, I., 2011. Luteal and placental function in the bitch: spatio-temporal changes in prolactin receptor (PRLr) expression at dioestrus, pregnancy and normal and induced parturition. *Reprod. Biol. Endocrinol.* RBE 9, 109. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-109>

- Krachudel, J., Bondzio, A., Einspanier, R., Einspanier, A., Gottschalk, J., Kuechenmeister, U., Muennich, A., 2013. Luteal insufficiency in bitches as a consequence of an autoimmune response against progesterone? *Theriogenology* 79, 1278–1283. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.02.025>
- Krakowka, S., Hoover, E.A., Koestner, A., Ketrung, K., 1977. Experimental and naturally occurring transplacental transmission of canine distemper virus. *Am. J. Vet. Res.* 38, 919–922.
- Krassas, G.E., 2000. Thyroid disease and female reproduction. *Fertil. Steril.* 74, 1063–1070.
- Krassas, G.E., Poppe, K., Glinoe, D., 2010. Thyroid Function and Human Reproductive Health. *Endocr. Rev.* 31, 702–755. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0041>
- Larsson, M., Pettersson, T., Carlström, A., 1985. Thyroid hormone binding in serum of 15 vertebrate species: isolation of thyroxine-binding globulin and prealbumin analogs. *Gen. Comp. Endocrinol.* 58, 360–375.
- Lee, J.-Y., Uzuka, Y., Tanabe, S., Sarashina, T., 2004. Prevalence of thyroglobulin autoantibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay of canine serum in hypothyroid, obese and healthy dogs in Japan. *Res. Vet. Sci.* 76, 129–132. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2003.10.002>
- Leong, D.A., Frawley, L.S., Neill, J.D., 1983. Neuroendocrine control of prolactin secretion. *Annu. Rev. Physiol.* 45, 109–127. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.45.030183.000545>
- Linde, C., 1983. Partial abortion associated with genital *Escherichia coli* infection in a bitch. *Vet. Rec.* 112, 454–455.
- Linde Forsberg, C., Wallén, A., 2008. Effects of whelping and season of the year on the interestrus intervals in dogs.
- Luz, M.R., Bertan, C.M., Binelli, M., Lopes, M.D., 2006. Plasma concentrations of 13,14-dihydro-15-keto prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha (PGFM), progesterone and estradiol in pregnant and nonpregnant diestrus cross-bred bitches. *Theriogenology* 66, 1436–1441. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.036>
- Marca, M.C., Loste, A., Orden, I., González, J.M., Marsellá, J.A., 2001. Evaluation of Canine Serum Thyrotropin (TSH) Concentration: Comparison of Three Analytical Procedures. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13, 106–110. <https://doi.org/10.1177/104063870101300202>
- M. V. Root Kustritz, 2001. Use of Supplemental Progesterone in Management of Canine Pregnancy.

- Médaille, C., Briend-Marchal, A., Braun, J.-P., 2005. Prélèvement sanguin. *EMC - Vét.* 2, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.emcvet.2004.11.001>
- Michel, E., Spörri, M., Ohlerth, S., Reichler, I.M., 2011. Prediction of Parturition Date in the Bitch and Queen. *Reprod. Domest. Anim.* 46, 926–932. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01763.x>
- Milne, K.L., Hayes, H.M., 1981. Epidemiologic features of canine hypothyroidism. *Cornell Vet.* 71, 3–14.
- Monniaux, D., Huet, C., Besnard, N., Clément, F., Bosc, M., Pisselet, C., Monget, P., Mariana, J.C., 1997. Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 51, 3–23.
- Mooney, C.T., Shiel, R.E., Dixon, R.M., 2008. Thyroid hormone abnormalities and outcome in dogs with non-thyroidal illness. *J. Small Anim. Pract.* 49, 11–16. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00418.x>
- Moore, G.E., Ferguson, D.C., Hoenig, M., 1993. Effects of oral administration of anti-inflammatory doses of prednisone on thyroid hormone response to thyrotropin-releasing hormone and thyrotropin in clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.* 54, 130–135.
- Nachreiner, R.F., Refsal, K.R., Graham, P.A., Bowman, M.M., 2002. Prevalence of serum thyroid hormone autoantibodies in dogs with clinical signs of hypothyroidism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220, 466–471. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.220.466>
- Nachreiner, R.F., Refsal, K.R., Graham, P.A., Hauptman, J., Watson, G.L., 1998. Prevalence of autoantibodies to thyroglobulin in dogs with nonthyroidal illness. *Am. J. Vet. Res.* 59, 951–955.
- Odendaal, M.W., de Cramer, K.G., van der Walt, M.L., Botha, A.D., Pieterse, P.M., 1994. First isolation of *Campylobacter jejuni* from the vaginal discharge of three bitches after abortion in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 61, 193–195.
- Okkens, A., Kooistra, H., 2006. Anoestrus in the Dog: a Fascinating Story. *Reprod. Domest. Anim.* 41, 291–296. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00702.x>
- Okkens, A.C., Bevers, M.M., Dieleman, S.J., Willemsse, A.H., 1990. Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog. *Vet. Q.* 12, 193–201. <https://doi.org/10.1080/01652176.1990.9694266>
- Okkens, A.C., Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Lubberink, A.A., Willemsse, A.H., 1986. Influence of hypophysectomy on the lifespan of the corpus luteum in the cyclic dog. *J. Reprod. Fertil.* 77, 187–192.

- Olson, P.N., Bowen, R.A., Behrendt, M.D., Olson, J.D., Nett, T.M., 1982. Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus. *Biol. Reprod.* 27, 1196–1206.
- Olsson, K., Bergström, A., Kindahl, H., Lagerstedt, A.-S., 2003. Increased plasma concentrations of vasopressin, oxytocin, cortisol and the prostaglandin F2 $\alpha$  metabolite during labour in the dog. *Acta Physiol. Scand.* 179, 281–287. <https://doi.org/10.1046/j.0001-6772.2003.01178.x>
- Onclin, K., Lauwers, F., Verstegen, J.P., 2001. FSH secretion patterns during pregnant and nonpregnant luteal periods and 24 h secretion patterns in male and female dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 57, 15–21.
- Onclin, K., Murphy, B., Verstegen, J.P., 2002. Comparisons of estradiol, LH and FSH patterns in pregnant and nonpregnant beagle bitches. *Theriogenology* 57, 1957–1972. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00644-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00644-1)
- Onclin, K., Verstegen, J.P., 1997a. In vivo investigation of luteal function in dogs: Effects of cabergoline, a dopamine agonist, and prolactin on progesterone secretion during mid-pregnancy and -diestrus. *Domest. Anim. Endocrinol.* 14, 25–38. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(96\)00093-8](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(96)00093-8)
- Onclin, K., Verstegen, J.P., 1997b. Secretion patterns of plasma prolactin and progesterone in pregnant compared with nonpregnant dioestrous beagle bitches. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 51, 203–208.
- Pancierera, D.L., Post, K., 1992. Effect of oral administration of sulfadiazine and trimethoprim in combination on thyroid function in dogs. *Can. J. Vet. Res.* 56, 349–352.
- Pancierera, D.L., Purswell, B.J., Kolster, K.A., 2007. Effect of short-term hypothyroidism on reproduction in the bitch. *Theriogenology, Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology* 68, 316–321. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.026>
- Pancierera, D.L., Purswell, B.J., Kolster, K.A., Werre, S.R., Trout, S.W., 2012. Reproductive Effects of Prolonged Experimentally Induced Hypothyroidism in Bitches. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 326–333. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00872.x>
- Peterson, M.E., Ferguson, D.C., Kintzer, P.P., Drucker, W.D., 1984. Effects of spontaneous hyperadrenocorticism on serum thyroid hormone concentrations in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 45, 2034–2038.
- Peterson, M.E., Melián, C., Nichols, R., 1997. Measurement of serum total thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 211, 1396–1402.

- Pinilla, M., Shiel, R.E., Brennan, S.F., McALLISTER, H., Mooney, C.T., 2009. Quantitative Thyroid Scintigraphy in Greyhounds Suspected of Primary Hypothyroidism. *Vet. Radiol. Ultrasound* 50, 224–229. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2009.01521.x>
- Post, K., Panciera, D.L., Clark, E.G., 1993. Lack of effect of trimethoprim and sulfadiazine in combination in mid- to late gestation on thyroid function in neonatal dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 47, 477–482.
- Pretzer, S.D., 2008a. Canine embryonic and fetal development: A review. *Theriogenology, Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology* 70, 300–303. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.029>
- Pretzer, S.D., 2008b. Bacterial and protozoal causes of pregnancy loss in the bitch and queen. *Theriogenology, Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology* 70, 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.035>
- Ramsey, I.K., Evans, H., Herrtage, M.E., 1997. Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs. *J. Small Anim. Pract.* 38, 540–545. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1997.tb03313.x>
- Randolph, J.F., Lamb, S.V., Cheraskin, J.L., Schanbacher, B.J., Salerno, V.J., Mack, K.M., Scarlett, J.M., Place, N.J., 2015. Free Thyroxine Concentrations by Equilibrium Dialysis and Chemiluminescent Immunoassays in 13 Hypothyroid Dogs Positive for Thyroglobulin Antibody. *J. Vet. Intern. Med.* 29, 877–881. <https://doi.org/10.1111/jvim.12573>
- Reimers, T.J., Lawler, D.F., Sutaria, P.M., Correa, M.T., Erb, H.N., 1990. Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 51, 454–457.
- Reimers, T.J., McCann, J., Cowan, R.G., Concannon, P.W., 1992. Effects of Storage, Hemolysis, and Freezing and Thawing on Concentrations of Thyroxine, Cortisol, and Insulin in Blood Samples.
- Reimers, T.J., Mummery, L.K., Mc Cann, J.P., Cowan, R.G., Concannon, P.W., 1984. Effects of Reproductive State on Concentrations of Thyroxine, 3,5,3'-Triiodothyronine and Cortisol in Serum of Dogs. *Biol. Reprod.* 31, 148–154. <https://doi.org/10.1095/biolreprod31.1.148>
- Reynaud, K., Fontbonne, A., Marseloo, N., Viaris de Lesegno, C., Saint-Dizier, M., Chastant-Maillard, S., 2006. In vivo canine oocyte maturation, fertilization and early embryogenesis: A review. *Theriogenology, Basic and Applied Research on Domestic, Exotic and Endangered Carnivores* 66, 1685–1693. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.049>



- Ronsse, V., Verstegen, J., Onclin, K., Farnir, F., Poulet, H., 2004. Risk factors and reproductive disorders associated with canine herpesvirus-1 (CHV-1). *Theriogenology* 61, 619–636. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00249-8)
- Root Kustritz, M.V., 2012. Managing the Reproductive Cycle in the Bitch. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., Small Animal Theriogenology* 42, 423–437. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.01.012>
- Root Kustritz, M.V., 2005. Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. *Theriogenology, Proceedings of the 2005 Annual Conference of the Society for Theriogenology* 64, 755–765. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.024>
- Saint-Dizier, M., Chastant-Maillard, S., 2014. *La reproduction animale et humaine*. Editions Quae.
- Sauvé, F., Paradis, M., Refsal, K.R., Moreau, M., Beauchamp, G., Dupuis, J., 2003. Effects of oral administration of meloxicam, carprofen, and a nutraceutical on thyroid function in dogs with osteoarthritis. *Can. Vet. J.* 44, 474–479.
- Schachter, S., Nelson, R.W., Scott-Moncrieff, C., Ferguson, D.C., Montgomery, T., Feldman, E.C., Neal, L., Kass, P.H., 2004. Comparison of serum-free thyroxine concentrations determined by standard equilibrium dialysis, modified equilibrium dialysis, and 5 radioimmunoassays in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 18, 259–264.
- Scott-Moncrieff, J.C., 2007. Clinical Signs and Concurrent Diseases of Hypothyroidism in Dogs and Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 37, 709–722. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2007.03.003>
- Scott-Moncrieff, J.C.R., Nelson, R.W., Bruner, J.M., Williams, D.A., 1998. Comparison of serum concentrations of thyroid-stimulating hormone in healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc. USA.*
- Shiel, R.E., Acke, E., Puggioni, A., Cassidy, J.P., Mooney, C.T., 2007. Tertiary hypothyroidism in a dog. *Ir. Vet. J.* 60, 88–93. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-60-2-88>
- Shiel, R.E., Sist, M., Nachreiner, R.F., Ehrlich, C.P., Mooney, C.T., 2010. Assessment of criteria used by veterinary practitioners to diagnose hypothyroidism in sighthounds and investigation of serum thyroid hormone concentrations in healthy Salukis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 236, 302–308. <https://doi.org/10.2460/javma.236.3.302>
- Skinner, M., 2018. *Encyclopedia of Reproduction - 2nd Edition*. Academic Press.

- Smallridge, R.C., Glinoe, D., Hollowell, J.G., Brent, G., 2005. Thyroid Function Inside and Outside of Pregnancy: What Do We Know and What Don't We Know? *Thyroid* 15, 54–59. <https://doi.org/10.1089/thy.2005.15.54>
- Sokolowski, J.H., Stover, D.G., VanRavenswaay, F., 1977. Seasonal incidence of estrus and interestrus interval for bitches of seven breeds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171, 271–273.
- Sontas, B., Speroni, M., Stelletta, C., Günzel-Apel, A., Romagnoli, S., 2012. Serum progesterone patterns in the pregnant bitch: A meta-analysis. *Proc. 7th Int. Symp. Canine Feline Reprod.*
- Steinetz, B.G., Goldsmith, L.T., Harvey, H.J., Lust, G., 1989. Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: detection of relaxin as a marker of pregnancy. *Am. J. Vet. Res.* 50, 68–71.
- Steinetz, B.G., Goldsmith, L.T., Hasan, S.H., Lust, G., 1990. Diurnal variation of serum progesterone, but not relaxin, prolactin, or estradiol-17 beta in the pregnant bitch. *Endocrinology* 127, 1057–1063. <https://doi.org/10.1210/endo-127-3-1057>
- Tani, H., Inaba, T., Nonami, M., Matsuyama, S., Takamori, Y., Torii, R., Tamada, H., Kawate, N., Sawada, T., 1999. Increased LH pulse frequency and estrogen secretion associated with termination of anestrus followed by enhancement of uterine estrogen receptor gene expression in the beagle bitch. *Theriogenology* 52, 593–607. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00155-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00155-7)
- Tani, H., Inaba, T., Tamada, H., Sawada, T., Mori, J., Torii, R., 1996. Increasing gonadotropin-releasing hormone release by perfused hypothalamus from early to late anestrus in the beagle bitch. *Neurosci. Lett.* 207, 1–4. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(96\)12471-X](https://doi.org/10.1016/0304-3940(96)12471-X)
- Tavaniotou, A., Smitz, J., Bourgain, C., Devroey, P., 2000. Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Hum. Reprod. Update* 6, 139–148.
- Thibault, C., Levasseur, M.-C., 2001. *La reproduction chez les mammifères et l'homme.* Editions Quae.
- Thomassen, R., Sanson, G., Krogenaes, A., Fougner, J.A., Berg, K.A., Farstad, W., 2006. Artificial insemination with frozen semen in dogs: a retrospective study of 10 years using a non-surgical approach. *Theriogenology* 66, 1645–1650. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.022>

- Thuróczy, J., Müller, L., Kollár, E., Balogh, L., 2016. Thyroxin and progesterone concentrations in pregnant, nonpregnant bitches, and bitches during abortion. *Theriogenology* 85, 1186–1191. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.035>
- Torres, S.M., McKeever, P.J., Johnston, S.D., 1991. Effect of oral administration of prednisolone on thyroid function in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 52, 416–421.
- van Haaften, B., Bevers, M.M., van den Brom, W.E., Okkens, A.C., van Sluijs, F.J., Willemsse, A.H., Dieleman, S.J., 1994. Increasing sensitivity of the pituitary to GnRH from early to late anoestrus in the beagle bitch. *J. Reprod. Fertil.* 101, 221–225.
- Vanrell, J.A., Balasch, J., 1986. Luteal phase defects in repeated abortion. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 24, 111–115. [https://doi.org/10.1016/0020-7292\(86\)90004-4](https://doi.org/10.1016/0020-7292(86)90004-4)
- Vedrine, B., Drouin, B., Guillemot, A., Fontaine, D., 2008. Ossification incomplète des condyles huméraux associée à une hypothyroïdie congénitale chez un chiot Boxer. *Prat. Médicale Chir. Anim. Cie.* 43, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.anicom.2007.11.001>
- Veronesi, M.C., Battocchio, M., Marinelli, L., Faustini, M., Kindahl, H., Cairoli, F., 2002. Correlations among body temperature, plasma progesterone, cortisol and prostaglandin F2alpha of the periparturient bitch. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 49, 264–268.
- Verstegen, J., Dhaliwal, G., Verstegen-Onclin, K., 2008. Canine and feline pregnancy loss due to viral and non-infectious causes: A review. *Theriogenology* 70, 304–319. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.035>
- Verstegen, J., Onclin, K., Silva, L., Concannon, P., 1997. Termination of obligate anoestrus and induction of fertile ovarian cycles in dogs by administration of purified pig LH. *J. Reprod. Fertil.* 111, 35–40.
- Verstegen-Onclin, K., Verstegen, J., 2008a. Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. *Theriogenology* 70, 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.038>
- Verstegen-Onclin, K., Verstegen, J., 2008b. Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. *Theriogenology* 70, 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.038>
- Vinzio, S., Morel, O., Schlienger, J.-L., Goichot, B., 2008. Cardiologie/Endocrinologie - Mécanismes d'action cellulaire des hormones thyroïdiennes. *Datarevues07554982003416-C11147*.

- Vitale, C.L., Olby, N.J., 2007. Neurologic Dysfunction in Hypothyroid, Hyperlipidemic Labrador Retrievers. *J. Vet. Intern. Med.* 21, 1316–1322. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb01954.x>
- Wanke, M.M., 2004. Canine brucellosis. *Anim. Reprod. Sci., Research and Practice III. 15th International Congress on Animal Reproduction* 82–83, 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.005>
- Wilborn, R.R., Maxwell, H.S., 2012. Clinical Approaches to Infertility in the Bitch. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., Small Animal Theriogenology* 42, 457–468. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.01.016>
- Wildt, D.E., Panko, W.B., Chakraborty, P.K., Seager, S.W.J., 1979. Relationship of Serum Estrone, Estradiol-17 $\beta$  and Progesterone to LH, Sexual Behavior and Time of Ovulation in the Bitch. *Biol. Reprod.* 20, 648–658. <https://doi.org/10.1095/biolreprod20.3.648>
- Wilmut, I., Sales, D.I., Ashworth, C.J., 1986. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J. Reprod. Fertil.* 76, 851–864. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0760851>
- Wosilait, W.D., 1977. A theoretical analysis of the distribution of thyroxine among sites on thyroid binding globulin, thyroid binding prealbumin, and serum albumin. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 16, 541–548.

## Annexes

### Annexe 1 : Etudes statistiques à l'aide du Logiciel R

Réalisation d'un test de Chi2 d'homogénéité pour étudier la répartition des âges entre les chiennes insuffisantes lutéales et les témoins. L'hypothèse H0 ici n'est pas rejetée car  $p > 0,2$  donc nous n'avons pas détecté de différence significative, prenant l'âge de 6 ans comme référence.

```
> .Table<-xtabs(~age+il,data=ages)
> print(.Table)
      il
age   non oui
  ss6    9  20
  sup6    1   7
> .test<-chisq.test(.Table, correct=FALSE)
> print(.test)
```

Pearson's Chi-squared test

```
data: .Table
X-squared = 1.0922, df = 1, p-value = 0.296
```

Exemple de l'utilisation du package `ggplot2` pour la visualisation des données de progestérone au cours de la gestation, en fonction du statut insuffisant lutéal ou non.

```
ggplot(data = dosagesbis[!is.na(dosagesbis$prog),], aes(x=temps, y=prog,
colour=il,shape=il)) +
+ geom_point(size=2)+geom_smooth()+ theme_bw()
```

Création d'un sous-jeu de données pour l'étude des valeurs de progestérone entre le jour 28 et le jour 32.

Visualisation de ces données à l'aide de la fonction `ggplot`, et ajout d'une droite de régression linéaire.

```
> dosagesSup28ss32 <- subset(dosagesbis, temps>=28 & temps<= 32)
> ggplot(data = dosagesSup28ss32[!is.na(dosagesSup28ss32$prog),],
aes(x=temps, y=prog, colour=il, shape=il)) +
+ geom_point(size=2)+geom_smooth(method=lm, se=FALSE)+ theme_bw()
```

Utilisation du package `lme4` pour la création d'un Modèle mixte linéaire prenant en compte l'effet aléatoire animal et les effets fixes insuffisance lutéale et progestérone en considérant le temps comme quantitatif.

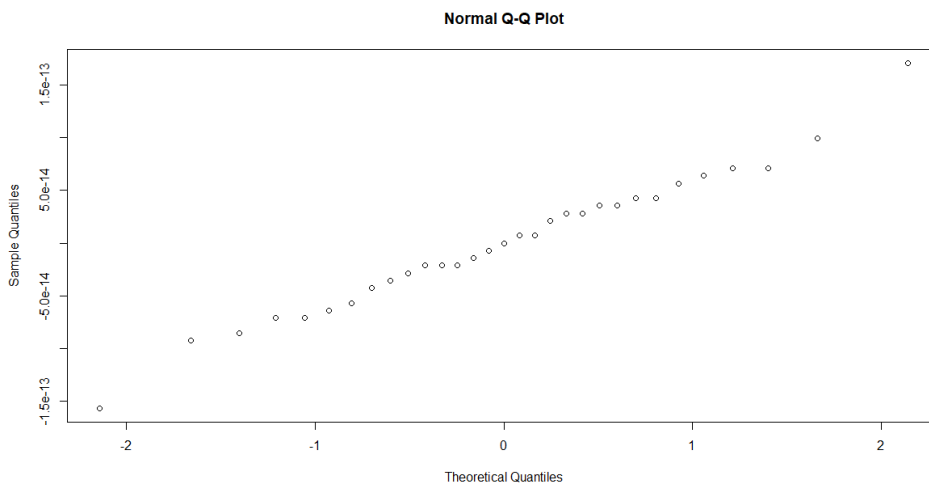
La t-value est très supérieure à 2 pour le temps, ce qui confirme que la progestérone diminue avec le temps.

On constate que l'interaction entre la progestérone et l'insuffisance lutéale est positive.

```
progesterone<-lmer(prog~temps + prog:il + (1|animal), data=dosagesSup28ss3)
summary(progesterone)$coefficients
Estimate Std. Error t value
(Intercept) -2.924916e-12 6.135823e-13 -4.766949e+00
temps 9.111403e-14 1.809544e-14 5.035192e+00
prog:ilnon 1.000000e+00 2.096741e-15 4.769307e+14
prog:iloui 1.000000e+00 2.855987e-15 3.501416e+14
```

**Vérification de la normalité de la distribution des résidus pour le modèle mixte linéaire commandé à l'aide d'un diagramme Quantile-Quantile et d'un test de Shapiro Wilk**

```
> qqnorm(residuals(progesterone))
```



```
> shapiro.test(residuals(progesterone))
```

Shapiro-wilk normality test

```
data: residuals(progesterone)
W = 0.98681, p-value = 0.96
```

**Création d'un sous-jeu de données entre le jour 49 et le jour 62, puis commande pour réaliser un test de Student paramétrique sur les moyennes entre le jour 49 et le jour 62**

```
> dosagesSup49ss63 <- subset(dosagesbis, temps>=49 & temps <63)
> t.test(t4~il, alternative='two.sided', conf.level=.95, var.equal=FALSE,
data=dosagesSup49ss63)
```

welch Two Sample t-test

```
data: t4 by il
t = 2.6496, df = 19.709, p-value = 0.0155
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 1.871265 15.782688
sample estimates:
mean in group non mean in group oui
 36.43077          27.60379
```

**Vérification que la distribution des valeurs dosées de T4 suit bien une Loi Normale à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk ( $p > 0,05$ ) pour l'utilisation d'un test paramétrique.**

```
> shapiro.test(dosagesSup49ss63$t4)
```

Shapiro-wilk normality test

```
data: dosagesSup49ss63$t4
W = 0.99008, p-value = 0.9711
```

**Comparaison des moyennes de T4 sur l'ensemble des données disponibles pour les animaux ayant reçu des antibiotiques en début de gestation par un test de Student.**

```
t.test(t4~atb, alternative='two.sided', conf.level=.95, var.equal=FALSE,
data=dosagesbis)
```

welch Two Sample t-test

```
data: t4 by atb
t = 2.2192, df = 175.64, p-value = 0.02775
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.3471636 5.9252454
sample estimates:
mean in group non mean in group oui
      31.45882      28.32262
```

**Création d'un sou-jeu de données comprenant uniquement les animaux ayant reçu des antibiotiques : pas de différence significative pour la t4 entre les animaux ayant été insuffisants lutéales et les animaux témoins pendant toute la gestation**

```
> antibiotios <- subset(dosagesbis, subset=dosagesbis$atb=="oui")
> t.test(t4~il, alternative='two.sided', conf.level=.95, var.equal=FALSE,
data=antibiotios)
```

welch Two Sample t-test

```
data: t4 by il
t = -1.4744, df = 43.936, p-value = 0.1475
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -7.635084  1.183834
sample estimates:
mean in group non mean in group oui
      25.86500      29.09062
```

**Création d'un sou-jeu de données comprenant uniquement les chiennes ayant reçu des antibiotiques, pour la période d'intérêt entre le jour 49 et le jour 62. Comparaison des moyennes de T4 entre les animaux insuffisants lutéaux et témoins pendant cette période : pas de différence significative.**

```
> antibiotiosSup49ss63 <- subset(antibiotios, temps>=49 & temps <63)
> t.test(t4~il, alternative='two.sided', conf.level=.95, var.equal=FALSE,
data=antibiotiosSup49ss63)
```

welch Two Sample t-test

```
data: t4 by il
t = 1.1194, df = 16.641, p-value = 0.2789
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -3.006715  9.780049
sample estimates:
mean in group non mean in group oui
      28.11667      24.73000
```







**ROCHE Marie-Clémence**

**RELATION ENTRE HYPOTHYROIDIE ET INSUFFISANCE LUTEALE  
CHEZ LA CHIENNE GESTANTE : ETUDE RETROSPECTIVE SUR 27  
CAS PRESENTES AU CERREC ENTRE 2009 ET 2018**

**Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, Le 11 décembre 2018**

**RESUME:**

Chez la chienne, le corps jaune persiste pendant toute la gestation et produit de la progestérone. Lorsqu'il n'en sécrète pas assez, on parle d'insuffisance lutéale.

Au CERREC, les animaux à risque font l'objet de prélèvements hebdomadaires pour le dosage de la progestérone. Celles qui sont diagnostiquées ou suspectées d'insuffisance lutéale font l'objet d'une complémentation hormonale pour éviter tout risque de perte de la portée.

De récentes publications ont mis en avant une implication de la thyroïde dans cette affection.

Nous avons donc cherché à comprendre l'implication de la fonction thyroïdienne lors d'insuffisance lutéale chez la chienne.

Cette étude rétrospective compte 27 cas de femelles insuffisantes lutéales et 10 témoins suivies au CERREC entre 2009 et 2018. Les échantillons de plasma, stockés au CRB CryAnim, ont fait l'objet de dosages de la tT4, de la T4 libre (fT4) et de la TSH au laboratoire de biochimie. Nous avons montré que la moyenne de tT4 des chiennes reconnues comme insuffisantes lutéales était significativement plus basse que celle du groupe témoin dans les 10 derniers jours de la gestation.

Nous avons aussi constaté que les chiennes ayant reçu des antibiotiques début de gestation pour le traitement d'une vaginite présentaient également des moyennes de tT4 et de la fT4 plus basses que les autres, mais sans distinction entre le statut insuffisant lutéale ou non.

**MOTS CLES :**

- Chienne  
- Gestation

- Insuffisance lutéale  
- Hypothyroïdie

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur Pierre COCHAT
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur Thierry BURONFOSSE
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Samuel BUFF
Membre invité :	Madame le Docteur vétérinaire Emilie ROSSET

**DATE DE SOUTENANCE : Le Mardi 11 décembre 2018**