RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 011

PERTINENCE DU DOSAGE DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE EN AMH CHEZ L'ETALON DANS L'EVALUATION DE SA FERTILITE

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 2 juillet 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

SUDREAU Laurie

UNIVERSITÉ DE LYON

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 011

PERTINENCE DU DOSAGE DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE EN AMH CHEZ L'ETALON DANS L'EVALUATION DE SA FERTILITE

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 2 juillet 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

SUDREAU Laurie

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
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 émérite
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
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
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
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
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
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	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOSCA	Marion	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
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
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	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
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

Remerciements du jury

A Monsieur le Professeur Pierre COCHAT,

De l'université de médecine Claude Bernard Lyon I,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse,
Pour votre disponibilité et votre amabilité,
Je vous présente mes sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Thierry BURONFOSSE,

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon,

Pour votre encadrement et votre soutien sans faille tout le long de ces années de travail sur cette étude,
Pour votre implication, votre disponibilité et votre gentillesse,
Un immense merci.

A Madame le Docteur Anne JOSSON-SCHRAMME,

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon,

Pour m'avoir permis de trouver et de mettre en œuvre ce sujet,
Pour avoir partagé avec moi votre passion pour la reproduction.
Sincères remerciements.

Table des matières

Table des figures 11
Table des tableaux 13
Liste des abréviations 15
INTRODUCTION 17
PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 19
I. Pré-requis sur l'étalon et sa physiologie sexuelle 19
1. Anatomie en lien avec la fabrication du sperme 19
2. Contrôle de la fonction sexuelle : rôle des hormones 25
3. Evaluation de la fertilité et causes d'infertilité chez l'étalon 34
II. L'AMH : état des lieux des connaissances 43
1. Historique et méthodes d'étude 43
2. Structure et mode d'action 44
3. Rôle dans la différenciation sexuelle 45
4. Facteurs influençant la sécrétion d'AMH 46
III. L'AMH chez les femelles mammifères 49
1. Généralités 49
2. Usages diagnostiques du dosage de l'AMH chez différentes espèces mammifères 51
3. Applications cliniques du dosage de l'AMH chez la jument 57
IV. L'AMH chez les mâles mammifères 63
1. Généralités 63
2. Usages diagnostiques du dosage de l'AMH chez différentes espèces mammifères 67
3. Applications cliniques du dosage de l'AMH chez l'étalon 72
PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE 77
I. Objectifs 77
II. Matériels et méthodes 78
1. Animaux étudiés 78
2. Prélèvement des échantillons de sang 79
3. Prélèvement des échantillons de sperme 79
4. Analyse de la semence 79
5. Dosage de l'AMH 80
6. Etude de la fertilité des étalons 81
7. Analyse statistique 81

III. Validation de la méthode de dosage 82
1. Influence de la dilution sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH 82
2. Influence de la méthode de conservation sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH 83
3. Influence des cycles de congélation/décongélation sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH 84
IV. Résultats 85
1. Evolution de la concentration en AMH avec l'âge de l'étalon 85
2. Evolution de la concentration en AMH au cours de la saison de reproduction 86
3. Lien entre la concentration en AMH et la fertilité chez l'étalon 88
V. Discussion 91
1. Lien entre âge et AMH 92
2. Variations interindividuelles de la concentration en AMH 93
3. Saisonnalité de la sécrétion d'AMH 93
4. Lien entre fertilité et AMH 95
CONCLUSION 99
BIBLIOGRAPHIE 101

Table des figures

Figure 1 : Vue sagittale de l'appareil reproducteur de l'étalon 19

Figure 2 : Schéma d'une section de tube séminifère d'étalon (McKinnon et al., 2011) 20

Figure 3 : Schéma d'une coupe longitudinale de testicule d'après Davis Morel, 2015..... 21

Figure 4 : Evolution de la concentration en FSH, LH et testostérone en fonction de l'âge (en semaines) chez l'étalon lors de la puberté (Naden et al., 1990) 26

Figure 5 : Contrôle et rôle de la testostérone dans l'appareil génital mâle 28

Figure 6 : Principe de la régulation de l'axe gonadotrope mâle 30

Figure 7 : Evolution des concentrations sanguines de LH (a), de FSH (b), de testostérone (c) et d'inhibine (d) chez l'étalon en fonction des mois de l'année (Dhakal, 2011) 31

Figure 8 : Morphologies normale et anormales de spermatozoïdes (Love, 2016)..... 38

Figure 9 : Représentation en 3 dimensions de la conformation de l'AMH humaine 44

Figure 10 : Rôle de l'AMH et de la testostérone dans la différentiation sexuelle (Senger, 2003) 45

Figure 11 : Evolution inverse des concentrations en AMH et en testostérone, chez un individu mâle, à partir de la puberté (Rey et al., 2003) 46

Figure 12 : Effet des gonadotrophines (PMSG) sur la sécrétion testiculaire d'AMH chez des souris normales ou insensibles aux androgènes (Tfm) (Al-Attar et al., 1997) 48

Figure 13 : Evolution de la concentration sanguine en AMH et en progestérone pendant le cycle sexuel chez la jument (Almeida, et al., 2011)..... 49

Figure 14 : Production d'AMH et rôle de l'AMH sur la maturation folliculaire chez les femelles mammifères (Durlinger et al., 2002) 50

Figure 15 : Evolution de la concentration en AMH chez des patients ayant subi une chirurgie de retrait de tumeurs de la granulosa (Surg.) et une chimiothérapie (CT), dans le cas de tumeurs de la granulosa récurrentes (Rey et al., 1996)..... 52

Figure 16 : Corrélation entre la concentration en AMH au troisième jour de traitement d'induction de l'ovulation et le nombre d'oocytes matures prélevés en milieu de cycle chez 107 femmes (Seifer et al., 2002) 54

Figure 17 : Corrélation entre la concentration sanguine en AMH mesurée avant traitement et le résultat total de trois sessions de production embryonnaire suite à un traitement super-ovulatoire chez la chèvre (Monniaux, et al., 2011) 55

Figure 18 : Evolution de la concentration en AMH en fonction de l'âge chez 1058 juments (Uliani et al., 2019) 57

Figure 19 : Photomicrographie d'une tumeur des cellules de la granulosa contenant des cellules de la granulosa productrices d'AMH immunoréactives et immunomarquées..... 58

Figure 20 : Evolution de la concentration sanguine en AMH en fonction du stade de la vie chez l'Homme (di Clemente, Belville, 2006) 63

Figure 21 : Redirection de la sécrétion d'AMH du sang vers la lumière des tubes séminifères à la puberté (Rey et al., 2003) 64

Figure 22 : Détection immunohistochimique de l'hormone anti-Müllerienne dans un testicule sain d'étalon (Murase et al., 2015)..... 64

Figure 23 : Nombre de cellules mésenchymateuses précurseurs des cellules de Leydig, de cellules de Leydig immatures et de cellules de Leydig matures par testicule chez des souris transgéniques présentant un taux élevé d'AMH (MT-hAMH mice) et chez des souris normales (Josso et al., 1998)..... 65

Figure 24 : Différence de production d'AMH (MIS) chez des enfants garçons (en gris) et filles (en noir) de l'âge de 1 à 18 ans (Lee et al., 2003) 67

Figure 25 : Distribution de la concentration séminale en AMH chez des patients présentant une azoospermie non obstructive en fonction de la présence (with spermatozoa) ou de l'absence de spermatozoïdes (without spermatozoa) à la biopsie testiculaire (Fénichel et al., 1999) 70

Figure 26 : Variation saisonnière de la concentration en AMH (ligne continue) et de la concentration en testostérone (ligne pointillée) chez des étalons sains (Claes et al., 2013).. 72

Figure 27 : Evolution de la concentration en AMH chez des femelles saines, chez des étalons sains et chez des étalons présentant des anomalies de développement testiculaire (cryptorchidie et volume testiculaire anormalement élevé) (Scarlet et al., 2018)..... 74

Figure 28 : Absence d'AMH immunoréactive dans un séminome (a) et détection d'une AMH immunoréactive dans des cellules de sertolinome (b) (Ball et al., 2008)..... 75

Figure 29 : Concentration moyenne en AMH chez des étalons en fonction de leur âge 85

Figure 30 : Déviation à la moyenne de la concentration en AMH (pg/mL) en fonction de la semaine de prélèvement..... 86

Figure 31 : Déviation à la moyenne de la concentration en AMH (pg/mL) en fonction du mois de réalisation du prélèvement 87

Table des tableaux

Tableau I : Liste des étalons de l'étude 78

Tableau II : Influence du facteur dilution sur la valeur obtenue en AMH (en pg/mL) après dosage sur un même échantillon 82

Tableau III : Evolution de la concentration en AMH en fonction de la durée de conservation de l'échantillon à température ambiante 83

Tableau IV : Influence du nombre de cycles de congélation/décongélation sur la valeur d'AMH mesurée 84

Tableau V : Résultats des tests de corrélation statistique entre les indicateurs de fertilité et la concentration moyenne en AMH 88

Tableau VI : Résultats des tests de corrélation statistique entre les indicateurs de la qualité de la semence et la concentration moyenne en AMH 89

Tableau VII : Résultats des tests de corrélations entre les indicateurs de la qualité de la semence et la concentration en AMH dans le sang ou dans la semence 89

Liste des abréviations

ABP : Androgen Binding Protein, ou protéine liant les androgènes

AMH : Anti Müllerian Hormone ou hormone anti-Müllerienne

DHT : Dihydrotestostérone

ERα : Estrogen receptors α

ERβ : Estrogen receptors β

FSH : Hormone folliculo-stimulante

GnRH : Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires (gonadolibérine)

GPER1 : G protein-coupled estrogen receptor 1

hCG : Hormone gonadotrophine chorionique

LH : Hormone lutéinisante

MIS : Mullerian Inhibiting Substance (=AMH, hormone anti-Müllerienne)

NEC : Note d'état corporel

PCOS : Syndrome des ovaires polykystiques

TDF : Testis Determining Factor ou facteur déterminant des testicules

TGFβ : Transforming Growth Factor β

INTRODUCTION

Dans une grande majorité d'élevages équins, les étalons constituent un réel investissement financier et une source de revenus considérable. Leur valeur économique, calculée sur la base de leurs performances ou de leur ascendance est rentabilisée par leur mise à la reproduction. Pour optimiser cette rentabilité, il est important de définir le meilleur moment pour arrêter la carrière de l'étalon qui améliore sa cotation et le destiner à la reproduction. Peu d'éléments biologiques sont actuellement disponibles pour aider le vétérinaire à évaluer la fertilité et les performances de reproduction de l'étalon. Actuellement ce suivi est assuré par la mesure régulière de différents paramètres tout au long de la saison de reproduction et par l'évaluation d'indicateurs générés au cours de la saison précédente. Il n'y a pas d'éléments prédictifs ni de la fertilité de l'étalon ni de l'évolution vers le déclin de cette dernière avec le vieillissement de l'animal.

Une telle préoccupation se retrouve également pour la jument ainsi que pour d'autres espèces animales incluant l'homme. L'hormone anti-müllérienne (AMH), un membre de la famille du facteur de croissance TGFβ, a été utilisée chez la femme comme marqueur de la réserve ovarienne ainsi que dans les programmes d'hyperstimulation ovarienne (Bertone-Johnson et al., 2018) et une transposition chez les animaux, vache et jument notamment, a également été évaluée (Ireland *et al*., 2008 ; Traversari *et al.*, 2019). Chez le mâle, l'AMH est produite en quantité importante par les cellules de Sertoli. Chez l'étalon sexuellement mature, la concentration plasmatique en AMH apparaît dépendante du nombre de cellules de Sertoli. De ce nombre dépend également la quantité de spermatozoïdes produits et donc la qualité de la semence (Johnson *et al*., 1997). Sur cette base, il est possible d'envisager que la concentration plasmatique en AMH puisse être un indicateur prédictif de la qualité de la semence et donc de la fertilité de l'étalon.

L'objectif de cette étude est donc de déterminer si le dosage de l'AMH peut être un élément fiable indicateur de fertilité chez l'étalon. Cette étude est réalisée entre 2017 et 2019 et repose sur le suivi, sur une à trois années consécutives selon les individus, de la concentration plasmatique en AMH chez 15 étalons et du lien éventuel de cette concentration avec les critères d'évaluation des performances reproductives de ces étalons.

Le premier temps de cette thèse est consacré à une étude bibliographique de la physiologie sexuelle de l'étalon ayant pour but de mieux comprendre les facteurs influençant la reproduction et les différents paramètres indicateurs de fertilité à considérer chez l'étalon. Dans un deuxième temps, une présentation de l'AMH et de son importance biologique ainsi que son intérêt diagnostique chez de nombreuses espèces mammifères mâles ou femelles permet de cerner l'importance majeure dont relève cette hormone en reproduction équine. Enfin, dans un troisième temps, l'étude du profil de sécrétion de l'AMH au cours de la saison de reproduction et selon l'âge des individus ainsi que l'influence de la concentration en AMH sur la fertilité ont été évalués afin d'envisager ou non son utilisation comme indicateur de la fertilité chez l'étalon.

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Pré-requis sur l'étalon et sa physiologie sexuelle

1. Anatomie en lien avec la fabrication du sperme

On distingue les organes permettant la production et la maturation des spermatozoïdes de ceux permettant la fabrication du sperme et enfin ceux permettant le transport de la semence jusqu'aux voies génitales femelles (Davies Morel, 2015 ; Sendel, 2011) (**Figure 1**).

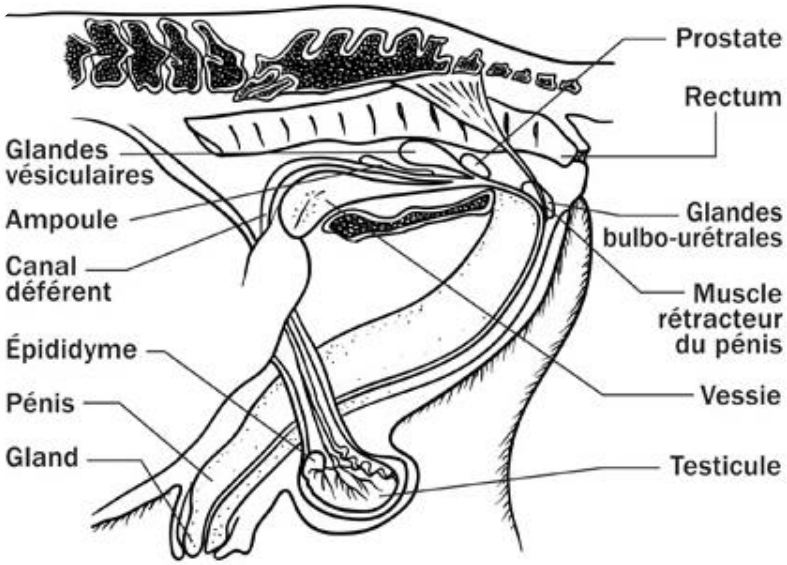

***Figure 1** : Vue sagittale de l'appareil reproducteur de l'étalon*

Organes de l'appareil reproducteur de l'étalon et structures adjacentes (rectum et vessie)
© Imprimeur de la Reine pour l'Ontario, 2011

a. Production et maturation des spermatozoïdes

Structures anatomiques impliquées dans la fabrication des spermatozoïdes

Les testicules sont les gonades mâles produisant les spermatozoïdes et des hormones sexuelles comme la testostérone. Ils sont contenus dans le scrotum. Cette position extracorporelle permet le maintien de leur température à quelques degrés en dessous de la température corporelle correspondant à la température optimale pour la production des spermatozoïdes. Une augmentation de la température des testicules chez l'étalon est ainsi un des facteurs à l'origine d'une baisse de fertilité par diminution de la production de spermatozoïdes (Freidman *et al.*, 1991).

Les testicules sont de forme ovoïde. Leur hauteur varie entre 4 et 7 cm pour une largeur de 4 à 6 cm et une longueur de 9 à 12 cm. Leur poids peut aller de 150 à 400 g et varie selon la race, l'âge et la saison (*cf §I.2.c*) (Barrier-Battut *et al.,* 2017). En termes d'organisation, ils sont enveloppés par un tissu conjonctif appelé la tunique albuginée. Cette membrane sépare le parenchyme testiculaire en plusieurs lobules composés des tubes séminifères séparés par le tissu interstitiel. Le tissu interstitiel contient principalement des vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi que les cellules de Leydig responsables de la stéroïdogenèse. Concernant les tubes séminifères, ils sont constitués d'une partie circonvoluée, les *tubulus contortus* et d'une partie droite, les tubes droits. Ils contiennent un épithélium germinal, où débute la spermatogenèse, et les cellules de Sertoli, tissu nourricier qui assure notamment un apport en nutriments et en protéines indispensables à la spermatogenèse (**Figure 2**). Les cellules de Sertoli permettent également la phagocytose des gamètes dégénérés et forment la barrière hémato-testiculaire protégeant les spermatozoïdes d'un rejet immunologique. Enfin, cet ensemble s'organise autour d'un réseau de canaux issus des tubes droits : le *rete testis* permettant notamment l'évacuation des spermatozoïdes hors du testicule (McKinnon *et al*., 2011).

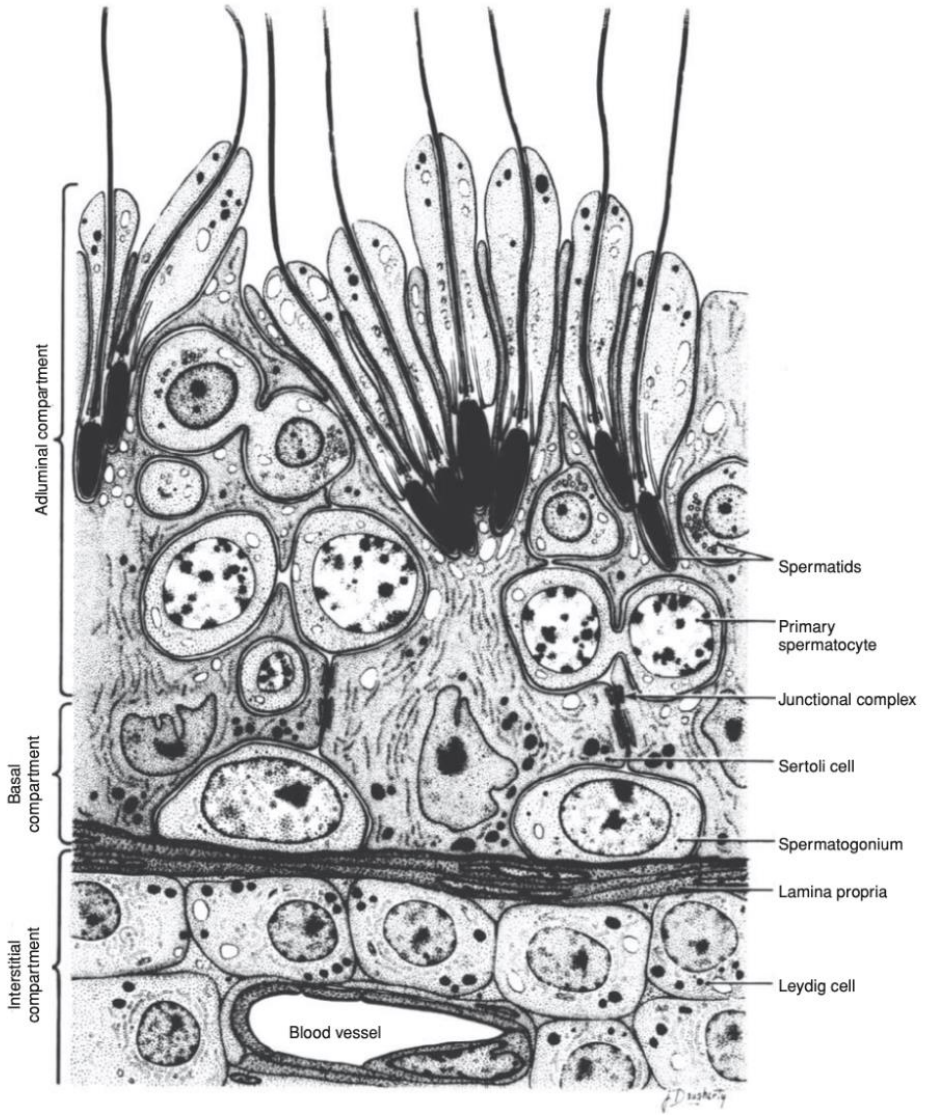

Figure 2 *: Schéma d'une section de tube séminifère d'étalon (McKinnon et al., 2011)*

La maturation des spermatozoïdes a ensuite lieu dans l'épididyme. Composé de trois parties : la tête, le corps et la queue, l'épididyme est en lien direct avec le *rete testis* du testicule permettant la jonction avec les tubes séminifères. Sa queue se prolonge par les canaux déférents permettant le transport des spermatozoïdes vers les glandes annexes. Il a notamment pour rôle la conservation et la maturation des spermatozoïdes, qui acquièrent alors leur mobilité, puis leur stockage jusqu'à l'éjaculation ou l'élimination au cours de la miction (Thompson, 1992 ; Davies Morel, 2015) (**Figure 3**).

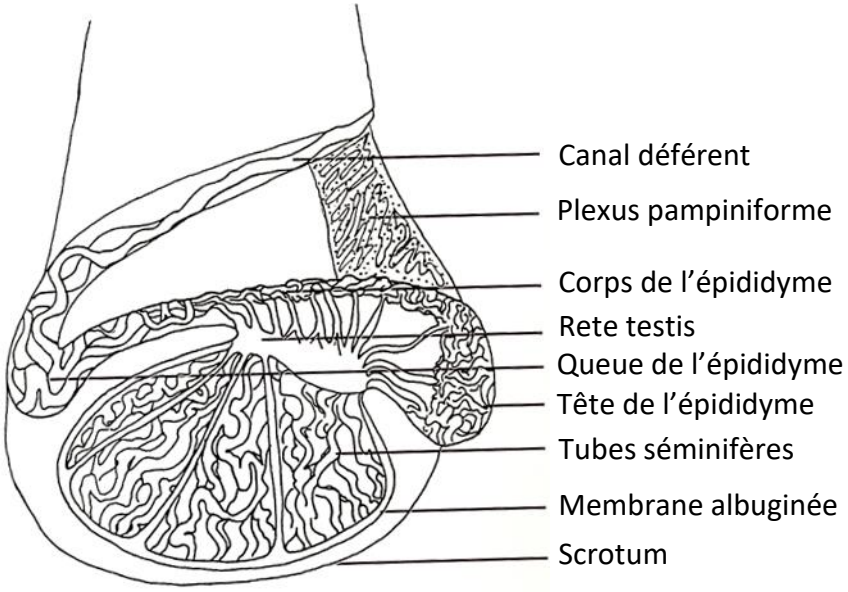

Figure 3 *: Schéma d'une coupe longitudinale de testicule d'après Davis Morel, 2015*

La spermatogenèse, production et maturation des spermatozoïdes

La spermatogenèse est le processus de fabrication des spermatozoïdes à partir des cellules germinales contenues dans l'épithélium des tubes séminifères. Elle comprend des étapes de division cellulaire ou mitose, de réduction chromatique ou méiose et de maturation. Lors de ces différentes étapes, les cellules souches ou spermatogonies évoluent en spermatocytes 1 par mitose, en spermatocytes 2 par méiose puis en spermatides par méiose et enfin en spermatozoïdes immatures après une étape de transformation et de modifications. Les spermatocytes et les spermatides sont fixés aux replis des cellules de Sertoli qui assurent leur apport en nutriments tout au long du processus de méiose et de différentiation. Puis, les spermatozoïdes sont libérés dans la lumière du tube séminifère lors de la spermiation. Ils rejoignent ensuite l'épididyme où ils acquièrent leur mobilité propre suite à l'action des sécrétions épididymaires.

La spermatogenèse et le transit épididymaire ont une durée totale moyenne de 66 à 71 jours permettant l'obtention de spermatozoïdes fonctionnels composés d'une tête, d'un col et d'un flagelle subdivisé en trois parties : la pièce intermédiaire, la pièce principale et la pièce terminale. La tête est le support de l'information génétique puisqu'elle contient le noyau. Le col permet l'insertion du flagelle à l'origine des déplacements des spermatozoïdes (Jussiaux, Trillaud, 1977 ; Brito, 2007).

La production moyenne journalière de spermatozoïdes pour un étalon mature est d'environ 7 à 8 x 10^9 spermatozoïdes. Elle est sous le contrôle de facteurs hormonaux et peut être estimée en fonction de la taille et du volume testiculaire par les formules de Love et de Plongère (Johnson *et al.*, 1997 ; Barrier-Battut, 2017).

Formule de Love : Nombre de spermatozoïdes (en millions de spermatozoïdes/jour) =
$$0{,}024 \times (\text{Volume}_{\text{testicule gauche}} + \text{Volume}_{\text{testicule droit}}) - 1{,}26$$
(avec le volume exprimé en cm)^3.

Formule de Plongère : Nombre de spermatozoïdes (en millions de spermatozoïdes/jour) =
$$2{,}21 \times \text{Largeur}_{\text{moyenne testicule}} - 6{,}4$$
(avec la largeur exprimée en cm).

b. Production et composition de l'éjaculat

L'éjaculat est composé du plasma séminal et des spermatozoïdes. Le plasma séminal est le fluide composant la majorité de l'éjaculat et chargé de nourrir et véhiculer les spermatozoïdes jusqu'aux voies génitales femelles. Il a également un rôle de protection et de maturation des spermatozoïdes puisqu'il est source de glucose, d'acide citrique et de sorbitol protégeant les spermatozoïdes des changements de pression osmotique, de pH et de l'oxydation. Sa production est dépendante de la concentration circulante en testostérone et diminue fortement hors de la saison de reproduction (Jussiaux, Trillaud, 1977).

Les glandes sexuelles annexes sont des glandes accessoires. Elles comprennent l'épididyme, les glandes bulbo-urétrales, les glandes vésiculaires et la prostate et sont situées majoritairement près de l'abouchement des canaux déférents dans l'urètre. Elles jouent un rôle dans la production du plasma séminal et interviennent dans la constitution des différentes fractions du sperme (Weber, Woods, 1993 ; Kareskoski, Katila, 2008).

La fraction pré-spermatique

La fraction pré-spermatique est produite par les glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cowper situées près de la base du pénis, de part et d'autre de l'urètre. Majoritairement aqueuse, elle ne contient pas de spermatozoïdes. Elle est émise pendant la phase de préparation de l'étalon et a pour rôle le nettoyage de l'urine et des bactéries contenues dans l'urètre ainsi que sa lubrification avant l'éjaculation.

La prostate intervient aussi dans la production de la fraction pré-spermatique. Cette structure bilobée débouchant dans l'urètre sécrète une substance alcaline et riche en protéines, en acide citrique et en zinc ajoutant ainsi un liquide lubrifiant au sperme.

Enfin, l'ampoule déférentielle située à l'extrémité des canaux déférents sécrète un mucus blanchâtre intervenant dans la composition de la fraction pré-spermatique mais aussi de la fraction spermatique. Ses sécrétions riches en agents anti-oxydants participent à la protection des spermatozoïdes.

Les fractions spermatique et post-spermatique

Après la phase de préparation de l'étalon, l'éjaculation a lieu et 6 à 9 jets sont émis. La fraction spermatique est d'abord émise et les 3 premiers jets de l'éjaculation contiennent 70 à 80% des spermatozoïdes. L'origine de la fraction spermatique est la queue de l'épididyme, le canal déférent et l'ampoule déférentielle.

Les quelques derniers jets sont la fraction post-spermatique ou gel qui provient des glandes vésiculaires, aussi appelées glandes séminales. Ce sont des structures paires situées de part et d'autre de la vessie. En fonction de l'utilisation de l'étalon et de la saison, la quantité de cette fraction varie de 0 à 80 mL.

Les fractions spermatiques et post-spermatiques se distinguent donc par leur concentration en spermatozoïdes. En effet, la fraction spermatique contient la majorité des spermatozoïdes et des composants biochimiques du sperme. Au contraire, la fraction post spermatique possède une très faible concentration en spermatozoïdes et constitue une sorte de gel au rôle antimicrobien.

c. Transport du sperme jusqu'aux voies sexuelles femelles

Le pénis et ses structures adjacentes permettent le transport de la semence jusqu'aux voies sexuelles femelles.

Tout d'abord, les canaux déférents sont le prolongement de l'épididyme jusqu'à l'urètre pénien, canal d'évacuation du sperme et de l'urine parcourant longitudinalement le pénis. L'urètre est entouré dans des formations érectiles : les corps caverneux et spongieux recouverts par des structures épithéliales et conjonctivo-musculaires : l'albuginée et le muscle rétracteur du pénis. Contrairement aux ruminants, le pénis de l'étalon est de type vasculaire du fait de sa richesse en fibres musculaires et en tissu érectile.

Le pénis peut être divisé en trois parties : le gland, au sommet duquel se situe le méat urinaire, prolongé par le prépuce ; le corps et enfin la base. Le prépuce de l'étalon est particulier du fait de son organisation en lames avec du bas vers le haut en partant du gland, la lame interne, l'anneau préputial et la lame externe.

Le dépôt du sperme dans les voies sexuelles femelles se déroule en trois temps. Tout d'abord, l'érection est due à l'afflux de sang dans les corps caverneux et spongieux du pénis et du gland. Elle est caractérisée par le relâchement du muscle rétracteur du pénis. Puis a lieu l'émission de la semence avec le passage du sperme de l'épididyme jusqu'au pénis par les canaux déférents et l'urètre. Enfin, l'éjaculation du sperme se fait dans l'utérus après apposition du gland contre le col utérin permis par la longue taille du pénis chez l'étalon (Davies Morel, 2015).

L'appareil reproducteur mâle est donc parfaitement adapté à la production et l'acheminement d'une semence viable et apte à survivre dans les voies génitales femelles assurant ainsi la reproduction.

POINTS IMPORTANTS

Appareil reproducteur mâle = système intégré permettant la production, la maturation et le dépôt du sperme dans les voies génitales femelles :

Rôle primordial des testicules dans la fonction reproductrice :

- Fabrication des gamètes mâles, spermatozoïdes, grâce aux tubes séminifères et aux cellules de Sertoli
- Stéroïdogenèse et acquisition des caractères sexuels primaires et secondaires grâce au tissu interstitiel contenant les cellules de Leydig

Autres organes clés :

- Epididyme ⇨ maturation des spermatozoïdes
- Glandes sexuelles annexes : glandes bulbo-urétrales, vésicules séminales et prostate ⇨ constitution des différentes fractions du plasma séminal
- Pénis et structures adjacentes ⇨ transport du sperme

2. Contrôle de la fonction sexuelle : rôle des hormones

a. Acquisition de la maturité sexuelle

A la naissance, le testicule ne contient que très peu de cellules sexuelles fonctionnelles. Ainsi, si quelques cellules de Leydig exercent déjà une action, les cellules de Sertoli et les spermatogonies existent uniquement sous forme de précurseurs indifférenciés. Et, durant le stade infantile, seulement quelques changements mineurs interviennent dans le testicule du fait de l'absence de sécrétion des gonadotrophines et de la faible stéroïdogenèse (McKinnon *et al.*, 2011).

Puis, la puberté est le stade de la vie caractérisé par le passage de l'immaturité sexuelle à la compétence reproductive. Chez le mâle, elle a lieu lorsque le testicule devient actif avec, notamment, une augmentation significative de la concentration en testostérone sanguine. L'âge de la puberté est variable selon les races de chevaux et évolue autour de 83 semaines d'âge. Elle a lieu, par exemple, vers 12-15 mois chez les chevaux de race Welsh et vers 14-24 mois chez les Quarter Horse (Scarlet *et al.*, 2018).

L'acquisition de la compétence reproductive met en jeu l'axe hypothalamo-hypophysaire qui contrôle la production de différentes hormones comme la testostérone. En effet, à partir de la période prépubère, vers 32 semaines d'âge, l'hypothalamus sécrète de plus grandes quantités de gonadolibérine ou GnRH qui a un effet direct sur l'hypophyse. L'hypophyse produit alors les hormones hypophysaires soit l'hormone lutéinisante, LH, et l'hormone folliculo-stimulante, FSH. Ces hormones dites gonadotropes induisent la sécrétion des hormones stéroïdiennes, testostérone et œstrogènes, par les testicules.

Sous l'influence de la GnRH, un premier pic de LH est observé aux alentours de 40 semaines. L'hypothèse est que ce pic entraine une stimulation des cellules de Leydig qui commencent alors la production de testostérone. Il est donc suivi par une augmentation de la concentration en testostérone à des concentrations de 0.04-0.06 ng/mL (soit 0.14-0.21 nmol/L) vers 56 semaines d'âge. Puis la concentration en LH décline et augmente à nouveau aux alentours de 80 semaines. La concentration en FSH suit une évolution similaire à la concentration en LH mais avec un décalage dans le temps et une augmentation significative aux alentours de 64 semaines d'âge. On observe alors une augmentation rapide de la concentration en testostérone vers 75 à 80 semaines caractéristique de la puberté et entrainant le début de la spermatogénèse (Naden *et al.*, 1990) (**Figure 4**).

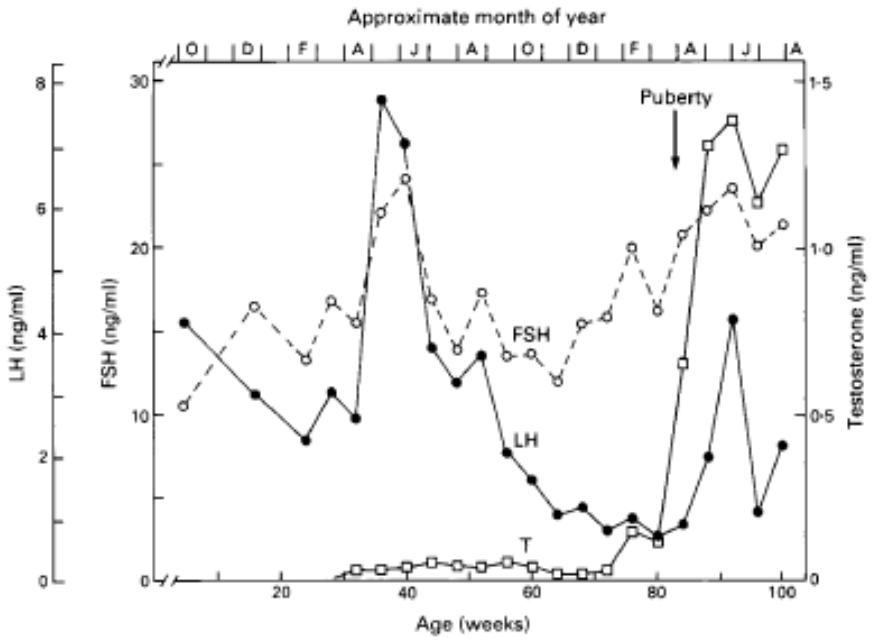

Figure 4 *: Evolution de la concentration en FSH, LH et testostérone en fonction de l'âge (en semaines) chez l'étalon lors de la puberté (Naden et al., 1990)*

FSH : hormone folliculo-stimulante ; LH : hormone lutéinisante
© 1990 Journals of Reproduction & Fertility Llt

Après la puberté, on observe une augmentation de la sécrétion des gonadotrophines tout le long de la vie avec une augmentation forte jusqu'à 4 à 5 ans puis plus modérée jusqu'à l'âge de 13 à 20 ans. Concernant les hormones stéroïdiennes, elles sont produites de manière pulsatile avec une grande variabilité de la sécrétion moyenne entre les étalons. Les niveaux moyens de testostérone sont compris entre 0.5 et 1 ng/mL (soit entre 1.7 et 3.5 nmol/L) et celui des œstrogènes est compris entre 50 et 200 ng/mL (soit entre 1.5×10^5 et 7.3×10^5 pmol/L) (Vidament, 1999 ; Claes *et al.*, 2013).

Les changements hormonaux détaillés précédemment ont une influence sur la taille et l'intégrité du tissu testiculaire et donc sur la production de sperme. Ainsi, l'étalon commence à produire des spermatozoïdes entre un et deux ans, mais la largeur de son scrotum et sa capacité de production et de stockage du sperme augmentera jusqu'à sa maturité sexuelle aux alentours de 6 ans. L'étalon à maturité produira en moyenne deux fois plus de spermatozoïdes par jour qu'un étalon de 2 ou 3 ans (McKinnon *et al.*, 2011).

Avec l'âge, la capacité de production des spermatozoïdes et du sperme diminue du fait de la dégénérescence testiculaire. Cette dégénérescence est plus fréquente à partir de 15 ans. Cependant, son effet sur la qualité de la semence et la fertilité de l'étalon est difficile à estimer et il est généralement ardu de prévoir l'âge à partir duquel un étalon ne sera plus apte à se reproduire (Johnson *et al.*, 1997).

b. Rôle des principales hormones sexuelles

Les principales hormones sexuelles sont donc la GnRH, la LH et la FSH, la testostérone et les œstrogènes. Deux familles d'hormones moins bien connues jouent également un rôle dans la fonction reproductrice : les inhibines et les activines.

Ces hormones interagissent par des mécanismes de stimulation et d'inhibition ainsi que des rétrocontrôles spécifiques que nous allons détailler ci-dessous.

Hormone produite par l'hypothalamus

L'hypothalamus produit l'hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires aussi appelée GnRH. Cette production est pulsatile à la fréquence d'un pulse par heure environ chez l'étalon au repos sexuel (Vidament, 1999).

La GnRH a un effet direct sur l'adénohypophyse et stimule la production de FSH et de LH. Par ce biais, elle a une influence sur la production de sperme et sa qualité mais aussi sur l'activité sexuelle et notamment le maintien de la libido de l'étalon. Cet effet a été démontré par des expériences d'immunisation à la GnRH et l'utilisation des vaccins anti-GnRH. Les animaux ayant reçu de tels traitements anti-GnRH présentent une diminution de la production de testostérone, une diminution de la largeur du scrotum, une perte de qualité du sperme ainsi qu'une faible libido, montrant bien l'importance de la GnRH pour le développement et l'expression des caractères sexuels primaires et pour le maintien des performances sexuelles (Janett *et al.*, 2009).

Hormones hypophysaires

La FSH ou hormone folliculo-stimulante et la LH ou hormone lutéinisante sont toutes deux produites par l'hypophyse sous forme pulsatile à un rythme d'un pulse par heure. Seuls quelques laboratoires dans le monde réalisent leur dosage ce qui limite leur intérêt clinique (Vidament, 1999).

D'un point de vue physiologique, la FSH et la LH stimulent la production du sperme. En effet, il semblerait qu'après liaison aux cellules de Sertoli, la FSH stimule la production d'inhibine B, d'activine et d'ABP (« Androgen Binding Protein ») ainsi que d'autres facteurs nécessaires à la spermatogenèse. La LH permet également la production de sperme par la stimulation de la production de testostérone et d'œstrogènes par les cellules de Leydig (Roser, 2008).

Hormones gonadiques

Testostérone

Les androgènes sont produits par les cellules de Leydig des testicules sous le contrôle de la sécrétion pulsatile de LH. Du fait de ce contrôle, les androgènes sont eux-mêmes sécrétés de manière pulsatile. La testostérone est le principal androgène sécrété par les cellules de Leydig. Par sa fixation sur des glycoprotéines liant les androgènes (ABP), la testostérone a une action directe ou indirecte, après sa bioconversion en dihydrotestostérone (DHT).

Chez le fœtus, la testostérone a un rôle dans la croissance et le développement des organes génitaux mâles. Elle exerce une action positive sur ces organes mais aussi sur les glandes sexuelles annexes permettant l'apparition des caractères sexuels primaires et secondaires (Jussiaux, Trillaud, 1977).

Après la puberté et conjointement à la FSH, la testostérone exerce une action sur les cellules de Sertoli où elle permet la spermatogenèse. Elle intervient dans les dernières étapes de la spermatogenèse et permet la transition des spermatocytes 2 en spermatozoïdes puis leur passage dans l'épididyme (Smith, Walker, 2014).

Enfin, la testostérone joue un rôle de régulation hormonale par l'inhibition de la GnRH au niveau de l'hypothalamus (Roser, 2008) (**Figure 5**).

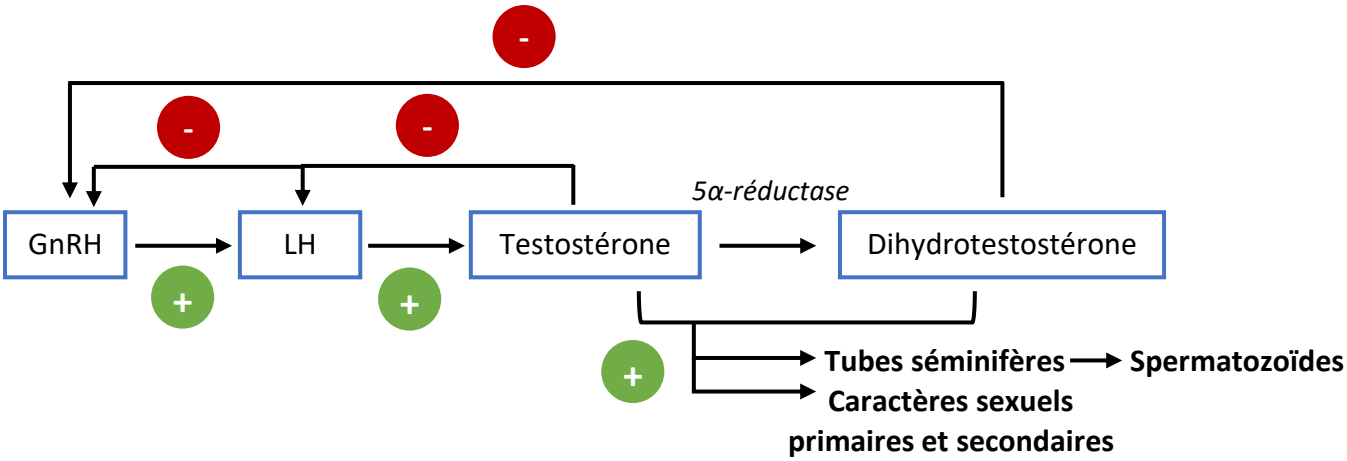

***Figure 5** : Contrôle et rôle de la testostérone dans l'appareil génital mâle*

GnRH : gonadolibérine ; LH : hormone lutéinisante

Concernant son usage diagnostique, en plus de la variation pulsatile de sa concentration, il existe une forte variabilité inter-individuelle de la concentration en testostérone chez les mammifères et plus particulièrement chez l'étalon ce qui limite grandement son utilisation (Vidament, 1999).

Œstrogènes

Les œstrogènes sont produits par aromatisation de la testostérone dans les cellules de Sertoli bien que la participation des cellules de Leydig soit en discussion. Ils sont principalement présents dans le plasma séminal et le plasma périphérique de l'étalon sous forme d'œstrone sulfate et dans une moindre mesure sous forme de 17β-œstradiol et d'œstrone (Raeside, Christie, 1997 ; Roser, 2008).

Comme pour la testostérone, il existe de fortes variations de leur production selon les individus. Cependant, du fait de concentrations circulantes élevées et bien supérieures à celles d'une jument en chaleur, les œstrogènes auraient un rôle majeur dans la fonction reproductrice avec, entre autres, un rôle d'amplification de la réponse aux androgènes (Hejmej *et al.*, 2005).

En effet, les œstrogènes, par l'intermédiaire de leurs récepteurs spécifiques : Erα, ERβ (« estrogen receptors α and β ») ainsi que le récepteur GPER1 (« G protein-coupled estrogen receptor 1 ») présents dans le tractus génital mâle, ont un rôle prépondérant dans la physiologie sexuelle chez l'étalon. Ils seraient impliqués dans la production et la maturation des spermatozoïdes justifiant ainsi d'une présence abondante de ces récepteurs dans les cellules de Sertoli, dans l'épididyme et dans les cellules prostatiques. De plus, les œstrogènes interviendraient dans le mécanisme de la régulation des hormones sexuelles par leur rôle d'inhibition de la production GnRH (Hejmej *et al.*, 2005 ; Arkoun e*t al.*, 2014).

Inhibines et activines

Les inhibines et les activines sont des hormones glycoprotéiques de la famille des TGFβ (Transforming Growth Factor) produites principalement par les cellules de Sertoli. Chez l'étalon, l'inhibine B est la principale hormone de cette famille présente dans les testicules. Son rôle est encore mal connu mais elle interviendrait dans l'initiation et la maintenance de la stéroïdogenèse et de la spermatogenèse. L'inhibine B a également un rôle de régulation hormonale puisqu'elle a une action inhibitrice sur la sécrétion de FSH.

Les activines ont un rôle autocrine et paracrine encore mal connu et joueraient un rôle de rétrocontrôle positif sur la production de FSH (Roser, 1997).

Une autre hormone appartenant à la famille des TGFβ et d'importance majeure dans la fonction reproductrice est l'hormone anti-Müllerienne, AMH *(cf §II)*.

L'ensemble de ces hormones ont un rôle transcriptionnel et de modulation au niveau des tissus sensibles. Elles agissent par des mécanismes de régulation et de rétrocontrôles essentiels au maintien de la fonction reproductrice (**Figure 6**).

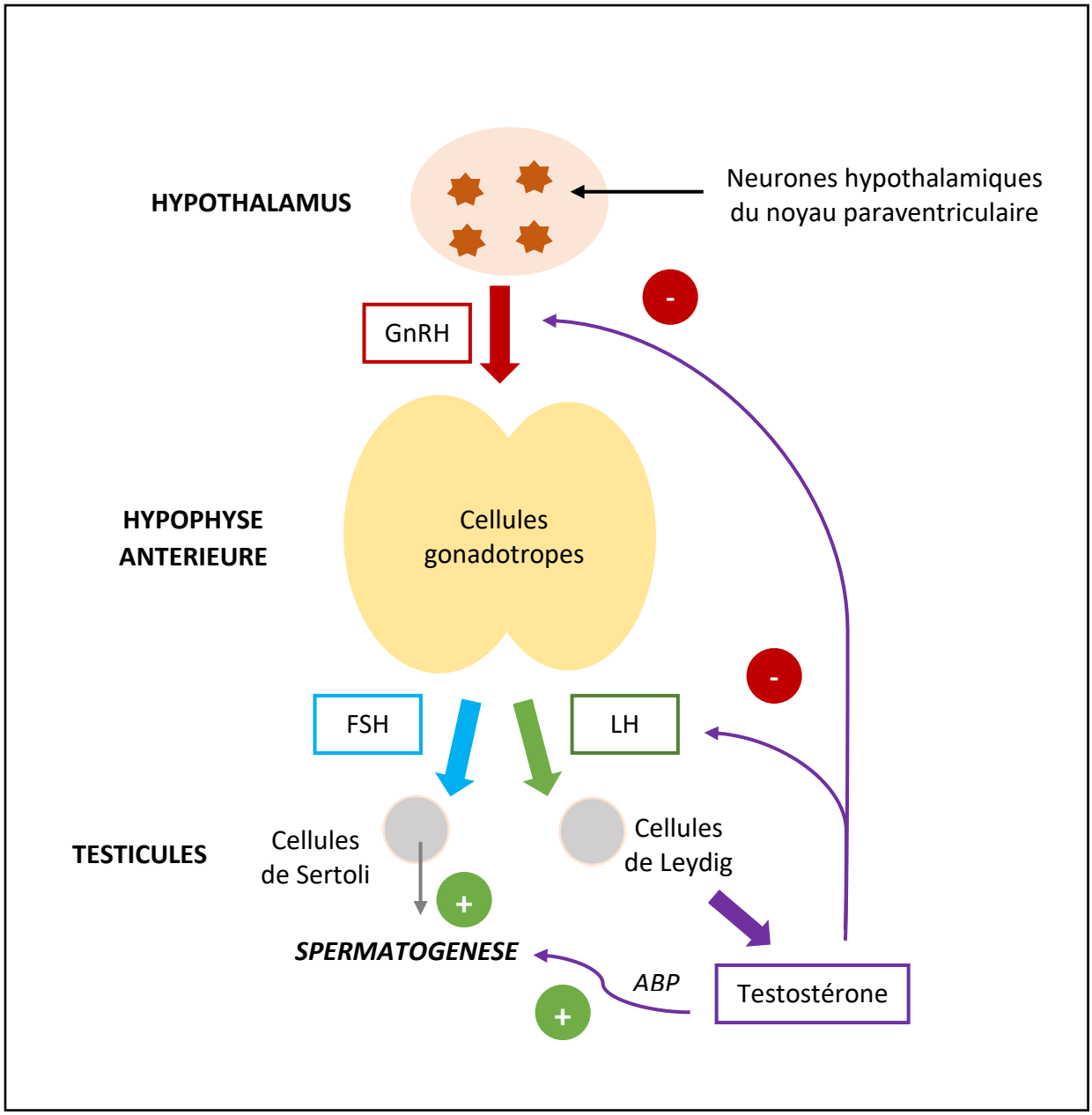

Figure 6 : *Principe de la régulation de l'axe gonadotrope mâle*

GnRH : gonadolibérine ; FSH : hormone folliculo-stimulante ; LH : hormone lutéinisante ; ABP : Androgen Binding Protein

c. La saison : principal facteur influençant la production hormonale

De nombreux facteurs ont une influence sur la sécrétion de ces différentes hormones dont, majoritairement, des facteurs environnementaux comme la durée du jour et la température mais aussi des facteurs comme l'âge et l'activité sexuelle de l'étalon ou encore son alimentation.

Influence de la saison sur les sécrétions hormonales

Les saisons, par la variation de la durée d'ensoleillement encore appelée photopériode, ont une influence directe sur la production des hormones sexuelles. La réponse à la photopériode est assurée par la mélatonine.

En effet, la production de mélatonine par l'épiphyse et plus précisément par la glande pinéale a lieu en absence de lumière. Cette production augmente donc avec la durée de la nuit en automne et en hiver et diminue à la fin de l'hiver lorsque la durée du jour augmente. Or, la mélatonine a un effet inhibiteur sur la production de GnRH. Hors saison de reproduction, entre Octobre et Février, dans l'hémisphère nord, cet effet est dominant avec une sécrétion très faible de GnRH. Puis, entre Mars et Septembre, la sécrétion de mélatonine diminue et la concentration en GnRH augmente. La sécrétion de gonadotrophines, LH et FSH, et de stéroïdes, testostérone et œstrogènes, augmente donc du fait du changement d'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Roser, 2008).

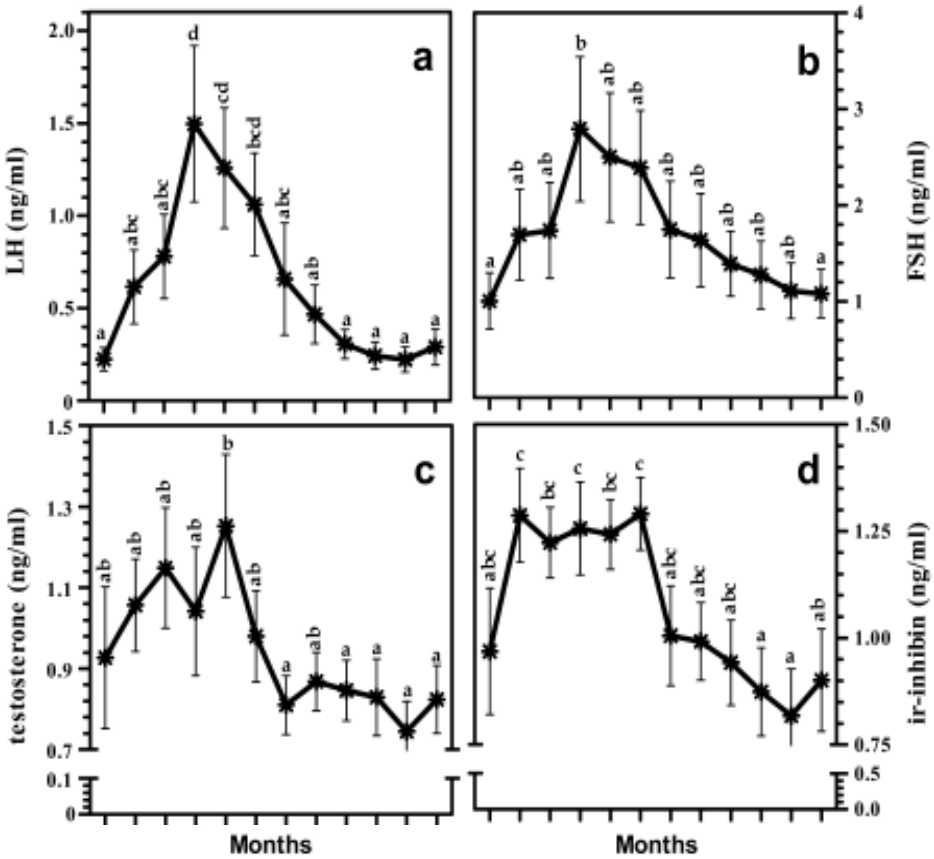

Figure 7 *: Evolution des concentrations sanguines de LH (a), de FSH (b), de testostérone (c) et d'inhibine (d) chez l'étalon en fonction des mois de l'année (Dhakal, 2011)*

LH : hormone lutéinisante ; FSH : hormone folliculo-stimulante

En termes de chronologie, la FSH augmente d'abord puis la LH et enfin la testostérone. Concernant les concentrations en testostérone, elles sont significativement augmentées pendant les mois d'Avril, Mai et Juin comparé aux concentrations rencontrées au mois d'Octobre et plus largement hors saison de reproduction (Claes *et al.*, 2013 ; Dhakal, 2011) (**Figure 7**).

Répercussions physiologiques

Tout d'abord, le nombre de tubes séminifères et de cellules de Sertoli augmente considérablement pendant la saison de reproduction. L'étude de Johnson mentionne ainsi une augmentation de 36% du nombre de ces cellules au printemps en en été par rapport au reste de l'année. Cette augmentation s'accompagne d'une augmentation du poids et du volume testiculaire ainsi qu'un accroissement important du volume séminal avec une production moyenne de 8 milliards de spermatozoïdes par jour, variable selon les étalons en fonction de la taille des testicules (Johnson, Thompson, 1983 ; Johnson, Nguyen, 1986 ; Johnson, Tatum, 1989).

De plus, à l'échelle d'une cohorte d'individus, la saison semble également avoir un effet significatif sur la qualité de la semence avec notamment un nombre de spermatozoïdes, une motilité progressive et un pourcentage moyen de spermatozoïdes sans anomalie augmentés durant la saison de reproduction comparé au reste de l'année. Cependant, d'un point de vue individuel, il existe une forte variabilité inter-individuelle de l'effet de la saison sur ces différents paramètres. Et, si la majorité des étalons présente bien une augmentation de la qualité de la semence en lien avec les changements hormonaux saisonniers au printemps et en été, certains présentent un schéma particulier d'évolution de la qualité du sperme au cours de l'année. L'effet individu est donc également à prendre en compte concernant l'effet de la saison sur la qualité de la semence (Crespo *et al.,* 2020 ; Greiser, *et al.*, 2020).

Répercussions comportementales

En plus des changements physiologiques évoqués, des changements comportementaux ont lieu pendant la saison de reproduction. On observe ainsi un accroissement de l'intérêt sexuel de l'étalon pour la jument. Des études montrent ainsi que le temps de réaction c'est-à-dire d'érection, de saillie et de pénétration est significativement diminué entre Avril et Août comparé au reste de l'année. Il y a également un accroissement de la capacité d'éjaculation pendant la saison de reproduction : le nombre de sauts moyens avant éjaculation diminue significativement pendant la saison de reproduction (Pickett, Voss, 1972).

Ces changements hormonaux, physiologiques et comportementaux ont une influence sur la fertilité des étalons. Ainsi, la fertilité est maximale pendant la saison de reproduction d'Avril à fin Août et plus particulièrement en Mai et en Juin et diminue significativement entre Septembre et Février. Comme de nombreux mammifères domestiques, les chevaux ont donc une reproduction principalement saisonnière à jours longs même s'ils sont capables de se reproduire toute l'année.

POINTS IMPORTANTS

Rôle majeur des hormones sexuelles et de l'axe hypothalamo-hypophysaire dans l'acquisition de la puberté et dans la compétence reproductive.

Principales hormones sexuelles :

- Hormone produite par l'hypothalamus : **GnRH**
  ⇨ stimule la production de **LH** et de **FSH**
- Hormones hypophysaires : **LH et FSH**
  ⇨ stimulent la **stéroïdogenèse** et la **spermatogenèse,** respectivement
- Hormones gonadiques : la **testostérone**, les **œstrogènes**, les **inhibines**, les **activines** et **l'AMH**
  ⇨ rôle dans l'apparition **des caractères sexuels primaires et secondaires**, dans la **spermatogenèse** et dans **le rétrocontrôle hormonal**

Influence majeure de la saison sur les productions hormonales et donc sur la fonction reproductrice :

- Influence de la **photopériode** par le biais de la production de **mélatonine**
  ⇨ action inhibitrice de la mélatonine sur la production de GnRH : régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire et des productions hormonales d'où une saisonnalité de la reproduction
- Changements hormonaux saisonniers à l'origine de **changements physiologiques** et **comportementaux**
  ⇨ Augmentation des capacités de reproduction de l'étalon lors de la saison de reproduction

3. Evaluation de la fertilité et causes d'infertilité chez l'étalon

a. Evaluation initiale de la capacité reproductrice de l'étalon

Anamnèse et commémoratifs

Tout comme la démarche diagnostique mise en place pour la recherche de pathologies, l'évaluation de la fertilité de l'étalon commence toujours par l'anamnèse et les commémoratifs. L'âge de l'étalon et donc son degré de maturité sexuelle est à prendre en compte ainsi que sa race, ses origines et son alimentation. On étudiera également ses antécédents médicaux et les traitements qu'il a reçus dont son protocole vaccinal et sa vermifugation. Des informations plus précises sur ses antécédents sexuels sont utiles comme sa libido, son comportement lors de l'accouplement ou encore le nombre de juments saillies (Sertich, 2014).

Examen préliminaire

Il consiste tout d'abord en un examen de l'état général de l'étalon. Il permet de détecter toute pathologie pouvant influencer la reproduction comme une éventuelle boiterie qui pourrait affecter la capacité de l'étalon à monter la jument (Griffin, 2000).

Un examen comportemental est également nécessaire et a pour but d'évaluer la libido et la docilité de l'étalon, éléments essentiels au bon déroulement de la monte. Il peut être réalisé en présence d'une jument en chaleur ou grâce à un mannequin. Trois indicateurs principaux vont être évalués : le temps de préparation soit le temps qui s'écoule entre l'entrée dans la salle de monte et l'érection, marqueur de la libido de l'étalon, le nombre de montes nécessaires à l'éjaculation et le temps entre l'intromission et l'éjaculation (Thompson, 1994).

Examen du tractus génital

Cet examen est essentiel pour l'évaluation de la capacité reproductrice de l'étalon. En effet, il permet la détection de lésions qui peuvent avoir d'importantes répercussions sur la fertilité du mâle. Il comprend deux temps soit l'inspection puis la palpation de l'ensemble du tractus génital interne et externe. Il est conseillé de le réaliser avant et après la récolte de sperme car certaines lésions sexuelles seront visibles uniquement au moment de l'acte (Sertich, 2014).

L'examen de l'appareil génital externe comprend l'examen du scrotum et des testicules, et du pénis (Thompson, 1994 ; Griffin, 2000).

Concernant l'examen du pénis, il débute par l'inspection et la palpation du fourreau. Puis, il est conseillé d'observer le pénis suite à une extériorisation naturelle, en présence d'une jument en chaleur par exemple, et après un nettoyage précautionneux. L'extériorisation manuelle reste difficile et peut entrainer une résistance de l'étalon. On note alors la couleur de l'organe, sa longueur ainsi que la présence de lésions ou de sécrétions anormales. Une attention particulière doit être apportée à l'observation du gland et du méat urinaire, zone d'accumulation préférentielle de smegma. Le pénis doit notamment être exempt de lésions d'habronémose, de masses ou de vésicules caractéristiques d'exanthème coïtal.

Pour le scrotum, il est important de notifier sa taille, son volume, sa conformation, sa consistance et la mobilité de son contenu. On vérifiera l'absence de cicatrices pouvant être signe d'une éventuelle castration. On mesure le volume du scrotum par le périmètre scrotal ou la circonférence scrotale grâce à un ruban métrique.

Enfin, on réalisera la palpation des testicules à la recherche de modifications de consistance, signe de dégénérescence ou d'inflammation, ou de mobilité. On appréciera les enveloppes testiculaires ainsi que la régularité des surfaces et la sensibilité du testicule. On peut également palper la queue de l'épididyme et mesurer la largeur testiculaire grâce à l'échographie ou au compas d'épaisseur. Cette mesure est importante puisqu'elle est corrélée avec le poids testiculaire et avec la production journalière de spermatozoïdes. Ainsi, un étalon fertile a une largeur testiculaire comprise entre 4.5 et 6 cm pour une longueur de 8.5 à 11 cm. Enfin, les testicules et l'épididyme doivent être relativement symétriques. (Barrier-Battut *et al.*, 2017).

L'examen de l'appareil génital interne se fait par palpation transrectale et échographie. Il permet l'évaluation du volume du cordon spermatique, de l'anneau inguinal, des glandes annexes et de l'urètre. La palpation des anneaux inguinaux se fait ventrolatéralement au bord du bassin. Elle permet la recherche de signes d'hernies ou d'adhérences. Les glandes annexes sont également palpables mais sont rarement le site de lésions.

Recherche des maladies vénériennes

Enfin, un dernier élément essentiel est la recherche de maladies vénériennes. En effet, elles sont souvent subcliniques ou asymptomatiques chez l'étalon et peuvent être transmises à la jument lors de l'insémination ou de la monte. Elles peuvent être à l'origine d'infertilité chez le mâle et la femelle ou d'avortements. Trois prélèvements sont classiquement réalisés : au niveau des replis du fourreau, de la fosse urétrale et du canal urétral. Ils permettent la recherche des principaux agents bactériens et viraux vénériens (*cf §I3c*). Des échantillons de sperme peuvent également être utilisés pour la recherche d'agents viraux, la culture d'agents bactériens ou la réalisation d'examens cytologiques (Samper, Tibary, 2006).

b. Evaluation de la fertilité de l'étalon

Evaluation de la qualité du sperme

Cette évaluation est indispensable en début de chaque saison de reproduction afin d'évaluer le potentiel reproducteur d'un étalon et donc sa potentielle fertilité. En effet, une bonne qualité de semence est un facteur nécessaire à la réussite d'une insémination. On peut également la réaliser à des fins diagnostiques chez des étalons subfertiles ou infertiles.

Elle prend en compte, par la réalisation d'un spermogramme, l'évaluation de plusieurs paramètres tels que le volume du sperme, la concentration en spermatozoïdes ou encore la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes. Elle se fait idéalement suite à une vidange des réserves séminales et nécessite le retrait de la fraction post-spermatique. L'ensemble de ces mesures doit être effectué le plus rapidement possible après la collecte et à une température proche de la température physiologique soit 37°C. Pour l'ensemble des examens microscopiques, une dilution préliminaire, généralement au 1/20ème est nécessaire (Love, 2016 ; Barrier-Battut *et al.*, 2016).

La mesure du volume du sperme s'effectue principalement à l'aide d'un gobelet ou d'une éprouvette graduée ou par la mesure du poids du sperme en considérant qu'un gramme équivaut à un millilitre de sperme. Ce volume varie selon de nombreux paramètres comme le matériel utilisé pour la récolte ou encore l'expérience de l'étalon. Ainsi, un étalon habitué à la récolte et éjaculant rapidement après son entrée en salle de monte aura un volume d'éjaculat de 20 à 40 mL tandis qu'un étalon s'étant excité longuement avant de saillir aura un volume d'éjaculat de 60 à 120 mL. De plus, il existe des variations individuelles et saisonnières importantes quant au volume de sperme éjaculé. Cumulée avec la mesure de la concentration en spermatozoïdes, la mesure du volume permet de déterminer le nombre total de spermatozoïdes présents dans l'éjaculat.

La réalisation de cette mesure est également l'occasion de réaliser un examen macroscopique du sperme. Si sa couleur et plus particulièrement son opacité varient en fonction de la concentration en spermatozoïdes, elle doit tout de même rester blanchâtre. La présence de sang ou de pus, voire d'urine modifie cette couleur vers le rose ou vers le jaune ce qui est alors anormal.

La concentration en spermatozoïdes peut être déterminée grâce à un hématimètre, un cytomètre de flux, ou encore par spectrophotométrie mais cette technique est moins précise puisqu'elle prend en compte des changements d'opacité qui ne sont pas seulement dus à la présence de spermatozoïdes. Une nouvelle technique récemment développée utilise un compteur de cellules de sperme grâce à une technique d'imagerie en fluorescence. Cette méthode semble être plus précise et plus rapide pour la détermination du nombre de spermatozoïdes. Une concentration inférieure à 60 000 spermatozoïdes/mm^3 peut traduire un défaut dans la spermatogenèse mais peut aussi être due à une trop grande fréquence d'éjaculation d'où l'importance de bien connaitre l'utilisation de l'étalon.

L'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes est une mesure facile à effectuer car elle nécessite seulement un microscope à contraste de phase à un grossissement final compris entre x200 et x400. On évalue deux types de mobilité : la mobilité totale des spermatozoïdes et la mobilité progressive qui prend seulement en compte les spermatozoïdes se déplaçant en ligne droite qui seraient plus fertiles. Cette mesure est très subjective puisqu'elle est à l'appréciation de l'observateur et son interprétation doit être nuancée. Des analyseurs de la semence permettent également de réaliser une mesure objective. En termes de valeurs, il semblerait qu'une semence de bonne qualité doit contenir au moins 60 à 70% de spermatozoïdes mobiles.

Enfin, le spermogramme évalue le pourcentage de spermatozoïdes morts/vivants et leur morphologie. Il est généralement réalisé après une coloration éosine-nigrosine et à l'aide d'un microscope à faible grossissement. En effet, la membrane lésée des spermatozoïdes est perméable à l'éosine : on considère alors qu'ils sont morts et ils apparaissent roses alors que les spermatozoïdes dont la membrane est intacte ne sont pas colorés. La nigrosine donne un fond coloré permettant d'observer ces spermatozoïdes intacts et donc non colorés par l'éosine. Concernant la morphologie des spermatozoïdes, les principales anomalies observées sont les suivantes : une tête anormale, une gouttelette proximale ou distale, une partie intermédiaire anormale, une tête seule et une queue pliée (**Figure 8**). Certaines de ces anomalies comme la présence de tête ou de partie intermédiaire anormales sont associées à un dysfonctionnement testiculaire et peuvent donc être un élément diagnostique dans le cas d'étalons subfertiles ou infertiles. Une semence fertile contiendrait un nombre de spermatozoïdes anormaux inférieur à 35% (Love, 2016).

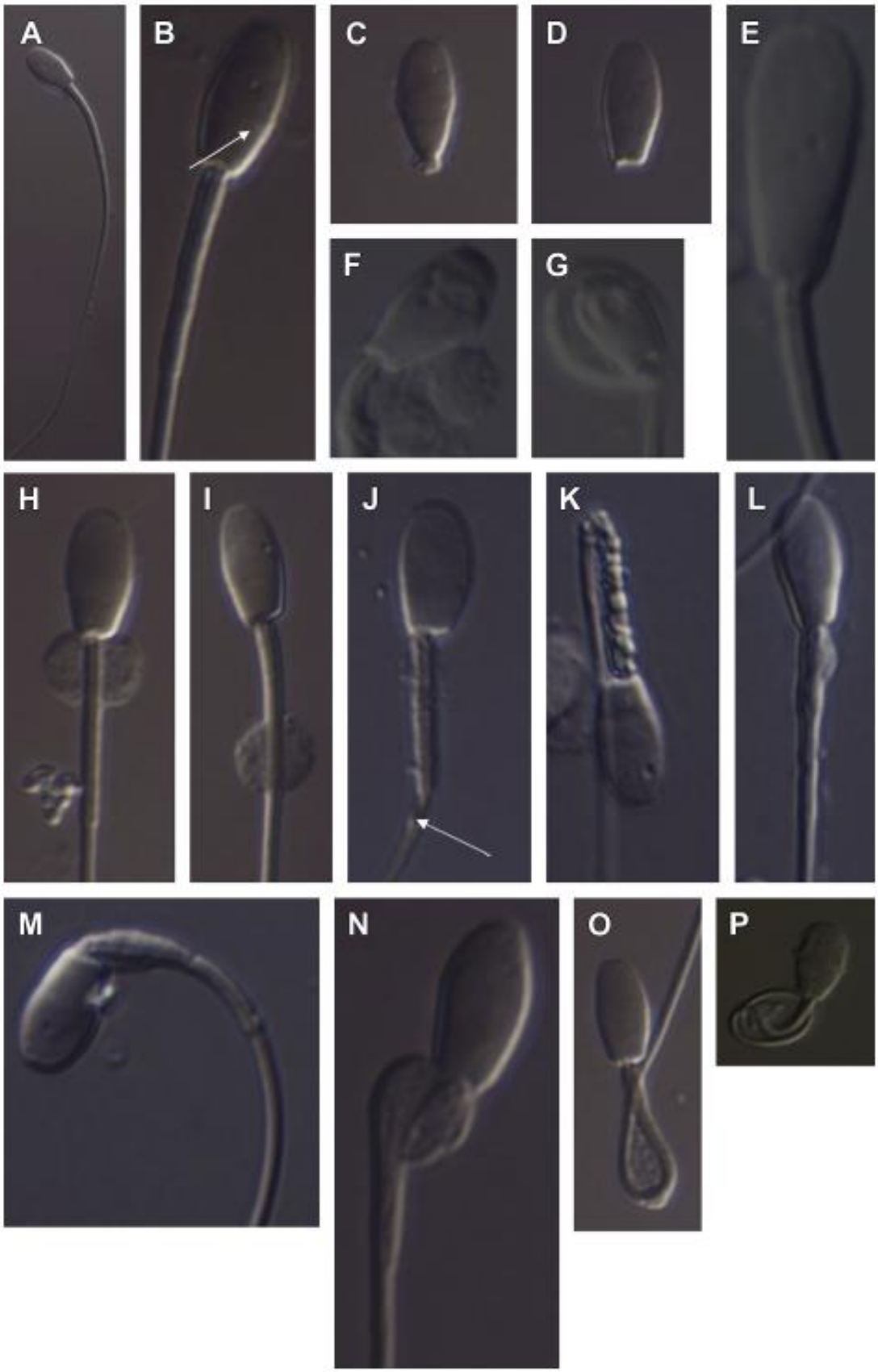

Figure 8 *: Morphologies normale et anormales de spermatozoïdes (Love, 2016)*

(A) Normal, (B) Acrosome surélevé, (C+D) Tête seule, (E-G) Tête anormale, (H) Gouttelette proximale, (I) Gouttelette distale, (J-N)) Pièce intermédiaire anormale, (O-P) Queue pliée.

Evaluation de la fertilité

L'évaluation de la fertilité se fait de manière rétrospective à la fin de la saison de reproduction, une fois l'ensemble des résultats d'insémination et de monte disponibles.

Trois indicateurs principaux sont pris en compte : la fertilité par chaleur, la fertilité fin de saison et la fertilité apparente (Margat, 2017).

La fertilité par chaleur est le meilleur indicateur de fertilité pour un étalon. En effet, elle représente le pourcentage de chance qu'un étalon a de fertiliser une jument à chaque cycle utilisé. Elle se calcule par la formule suivante :

$$\text{Fertilité par chaleur} = \frac{\text{nombre de chaleurs fécondées}}{\text{nombre de chaleurs totales}} \text{ x } 100$$

Le nombre de chaleurs fécondées prend en compte toutes les chaleurs suivies d'un diagnostic de gestation positif même celles suivies d'une perte embryonnaire précoce. Le nombre de chaleurs totales prend en compte l'ensemble des chaleurs exploitées par une insémination ou une saillie d'un même étalon, fécondées ou non fécondées.

Cet indicateur est précis à partir de 150 cycles et nécessite d'avoir au moins 20 cycles dont les résultats sont connus. Il dépend de la méthode d'insémination. Ainsi, la monte en main présentera la meilleure fertilité par chaleur avec des résultats aux alentours de 60% alors que les inséminations artificielles avec de la semence congelée ont une fertilité par chaleur proche de 47%. Pour un même étalon, elle va également dépendre de la qualité de sa semence et est ainsi un indicateur très utile pour le suivi d'un étalon.

La fertilité fin de saison représente le pourcentage de chances que la jument soit gestante à la fin de la saison. Elle se calcule par la formule suivante :

$$\text{Fertilité en fin de saison} = \frac{\text{nombre de juments pleines en fin de saison} + (\text{nombre de juments sans renseignements x fertilité par chaleur})}{\text{nombre total de juments saillies}}$$

Son calcul nécessite au moins 10 juments renseignées et moins de 30% de juments sans renseignement. Ses résultats sont plus élevés que pour la fertilité par chaleur puisqu'ils varient entre 70 et 90% en fonction de différents paramètres comme la technique de monte utilisée, le nombre de juments servies par l'étalon et la qualité du suivi de reproduction.

Enfin, la fertilité apparente représente le pourcentage de chances d'obtenir un poulain et est calculée à partir du nombre de naissances et du nombre d'avortements déclarés. Ce renseignement est fourni par le SIRE et est fiable à partir de 250 juments. Sa moyenne est de 60%.

c. Principales causes de baisse de fertilité ou d'infertilité

Il est essentiel de garder en mémoire la variété des facteurs influençant les résultats d'une mise à la reproduction. Ainsi, si les indicateurs de fertilité précédemment mentionnés sont dans les valeurs basses, le problème ne vient pas forcément de l'étalon mais peut aussi provenir de la jument ou d'une mauvaise gestion de la reproduction en général.

Concernant la baisse de fertilité ou l'infertilité chez l'étalon, elle peut avoir différentes origines dont des causes non infectieuses ou infectieuses. Tout comme le diagnostic d'autres pathologies, la recherche de l'origine d'une baisse de fertilité débute par l'anamnèse, les commémoratifs ainsi qu'un examen général. Cet examen est essentiel pour évaluer différents facteurs pouvant influencer la fertilité comme la note d'état corporel par exemple. L'utilisation de l'étalon doit également être considérée, un étalon étant trop fréquemment utilisé aura une moins bonne qualité de semence avec moins de spermatozoïdes et sera donc moins fertile (Ley, Slusher, 2007 ; Scoggin, 2018).

Causes non infectieuses

Tout d'abord, une cause inéluctable de baisse de fertilité chez l'étalon est la dégénérescence du tissu testiculaire. Cette dégénérescence se définit par une détérioration du tissus testiculaire associée à une perte de la fonction testiculaire se traduisant par une baisse de la production des androgènes et des spermatozoïdes. De nombreux facteurs sont mis en causes pour expliquer cette dégénérescence comme des traumas testiculaires, l'absorption de toxiques, des ischémies, des déficiences nutritionnelles, des infections ou encore des maladies auto-immunes ou des néoplasies. Et, si elle débute principalement chez les animaux d'âge moyen ou plus âgés, elle peut aussi atteindre des individus jeunes entrainant alors une baisse de fertilité précoce aboutissant généralement à la stérilité. A ce jour, aucun indicateur ne permet, pour un individu donné, de prédire l'âge où débutera cette baisse de fertilité liée à la dégénérescence du tissu testiculaire et donc son espérance de vie reproductive. Du fait de l'absence de traitement en cas de dégénérescence testiculaire avancée, il semble donc essentiel de trouver un marqueur fiable indicateur du bon fonctionnement testiculaire (Turner, Zeng, 2012 ; Pozor, 2018).

Concernant les autres affections à l'origine d'une baisse de fertilité, l'individu peut présenter des défauts de conformation comme la cryptorchidie ou des anomalies congénitales comme l'hermaphrodisme, l'intersexualité, le syndrome de féminisation ou encore l'insensibilité aux androgènes. L'étalon peut aussi être sujet à des troubles du comportement sexuel comme un défaut de libido ou une agressivité excessive. Ensuite, les traumatismes physiques liés, par exemple, à la monte naturelle peuvent entrainer des lésions musculosquelettiques ou de l'appareil génital constituant un frein à la reproduction.

A propos des affections spécifiques de l'appareil génital et plus particulièrement du pénis, on retrouve le priapisme et le paraphimosis (Koch *et al*., 2009). Les organes génitaux peuvent également être le site de problèmes dermatologiques, comme des ulcères, ou de problème néoplasique avec plus particulièrement les carcinomes ou les sarcomes affectant l'appareil génital externe. On retrouve aussi les tumeurs de l'appareil génital interne avec le séminome ou le sertolinome.

Enfin, des anomalies endocriniennes peuvent être à l'origine d'une baisse de fertilité (Vidament, 1999).

Causes infectieuses

Tout d'abord, les infections systémiques entrainant une inflammation généralisée et une hausse de la température corporelle sont à l'origine d'un défaut de thermorégulation de l'appareil génital et ont un impact sur la reproduction. Concernant les causes bactériennes, on peut notamment citer *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa, Taylorella equigenitalis* et les Streptocoques bêta-hémolytiques. Pour les causes virales, l'artérite virale équine et l'herpesvirus équin de type 3, aussi appelé l'exanthème coïtal équin, sont également des maladies ayant un impact sur la reproduction. Il existe enfin des parasites de l'appareil génital pouvant entrainer une baisse de fertilité. On peut notamment citer la larve de *Strongylus edentatus* mais aussi la larve d'*Habronema sp.* ou encore des protozoaires comme *Trypanosoma equiperdum*, agent de dourine (Ley, Slusher, 2007 ; Scoggin, 2018).

Du fait de la diversité des causes d'infertilité chez l'étalon, il est important d'avoir une démarche diagnostique standardisée et méthodique prenant en compte les origines de l'animal et son passé mais aussi son environnement de vie et sa gestion. L'examen clinique général puis plus spécifique de l'appareil génital externe et interne sont indispensables ainsi que les prélèvements pour le dépistage des principales maladies vénériennes. Enfin, une cause inéluctable de baisse de fertilité chez l'étalon est la dégénérescence du tissu testiculaire avec l'âge. A ce jour, il est difficile de prévoir, pour un individu donné, l'âge à partir duquel cette baisse de fertilité commencera du fait de l'absence d'indicateur fiable sur lequel s'appuyer.

POINTS IMPORTANTS

Evaluation de la capacité reproductrice de l'étalon :

- Importance de l'anamnèse, des commémoratifs, de l'examen général et de l'examen du tractus génital de l'étalon
- Evaluation de la **qualité de la semence** par un examen macroscopique et microscopique du sperme, par la mesure de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes ainsi que par la réalisation d'un spermogramme
- Evaluation de la **fertilité de l'étalon** par le calcul de la fertilité par chaleur et de la fertilité en fin de saison

Principales causes d'infertilité :

- Causes **non infectieuses** comme des défauts de conformation, des troubles du comportement sexuel, des traumatismes, des néoplasies ou encore des affections endocriniennes
- Causes **infectieuses** : maladies vénériennes virales, bactériennes ou parasitaires
  ⇨ importance du dépistage et du suivi des étalons

Baisse de la fertilité de l'étalon avec l'âge du fait de la dégénérescence testiculaire mais absence **d'indicateurs précoces** permettant de prévoir l'âge où cette baisse de fertilité intervient pour un individu donné

II. L'AMH : état des lieux des connaissances

1. Historique et méthodes d'étude

L'AMH, hormone anti-Müllérienne, a été découverte dans les années 1950 par le professeur Alfred Jost. Par ses expériences sur des femelles de lapins chez lesquelles il a implanté des fragments de testicules d'embryon, il a montré que la différentiation sexuelle est sous l'influence de deux hormones produites par le testicule. Il existe ainsi un facteur autre que la testostérone et également produit par les testicules à l'origine de la régression des canaux de Müller lors du développement embryonnaire. Du fait de son action sur les canaux de Müller, il l'a nommée hormone anti-Mullérienne ou encore « Mullerian Inhibiting Substance » (MIS) en anglais (Josso, 2008).

Il fallut attendre 25 ans avant que Régine Picon mette en place un protocole expérimentale de culture cellulaire permettant l'étude biologique et biochimique de cette hormone. Elle a montré en utilisant des fœtus de rats la sensibilité des canaux de Müller mâle et femelle à l'AMH. Ce mécanisme est partagé par l'ensemble des espèces de mammifère. Les différents stades histologiques de régression des canaux de Müller ont alors été étudiés *in vitro*, notamment par microscopie électronique (Donahoe *et al.*, 2003).

La production de l'AMH par les cellules de Sertoli a ensuite été mise évidence par Nathalie Josso. Sa sensibilité à la chaleur a fourni un indice quant à sa nature protéique. La connaissance de la nature de l'AMH a entrainé différentes tentatives de purification de la fraction active en utilisant notamment la précipitation à l'aide de sulfate d'ammonium et la chromatographie à échange d'ions sur des testicules de veaux nouveau-nés. Puis, l'électrophorèse a permis d'affiner l'étude de sa conformation bicaténaire et le développement d'un réactif immunologique et des dosages radioimmunologiques spécifiques à l'AMH ont permis une avancée décisive pour la connaissance de cette hormone.

Après la purification de la protéine, le gène de l'AMH a été cloné et amplifié ainsi que ses récepteurs. L'étude de ses voies de régulation et de son effet biologique ont montré son intérêt tant dans la compréhension de phénomènes en lien avec la différentiation sexuelle que dans le diagnostic d'affections des organes sexuels.

Cependant, la découverte et l'isolement tardifs de cette protéine expliquent les nombreuses lacunes qu'il reste quant à nos connaissances sur son mode d'action particulièrement chez les mammifères adultes (Josso, 1986 ; Teixeira *et al.*, 2001).

2. Structure et mode d'action

L'AMH est une protéine appartenant à la famille des TGFβ (Transforming Growth Factor) produite par les cellules de Sertoli chez le mâle et les cellules de la granulosa chez la femelle. D'un point de vue structural, c'est un homodimère glycoprotéique de 140 kDa possédant deux ponts disulfures (**Figure 9**). Il est codé par un gène situé sur le chromosome 7 chez les chevaux, long de 275 bp et divisé en 5 exons. C'est la troisième partie du cinquième exon, riche en nucléotides guanine et cytosine, qui code pour la partie biologiquement active de l'AMH (Josso *et al.*, 2001).

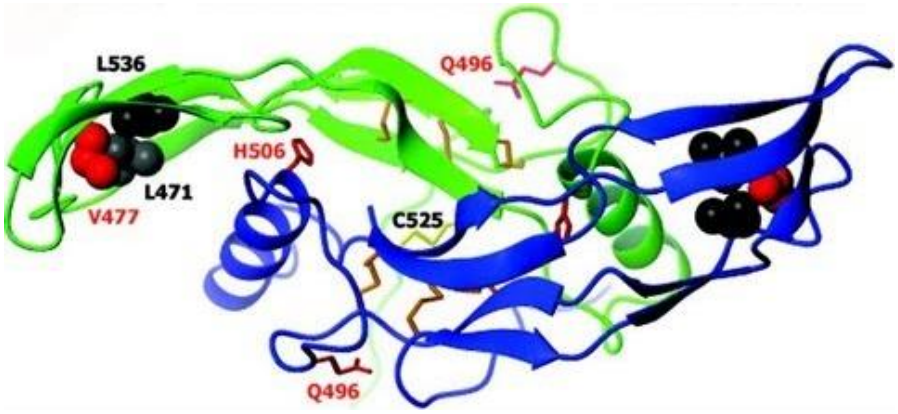

Figure 9 *: Représentation en 3 dimensions de la conformation de l'AMH humaine*

AMH : hormone anti-Müllerienne
© Austin Fertility & Reproductive Medicine

Comme les autres membres de la famille des TGFβ, l'AMH agit grâce à deux récepteurs membranaires à activité sérine/thréonine kinase. Le récepteur de type I, de 55-60 kDa est commun aux différentes protéines de cette famille alors que le récepteur de type II, de 120 kDa est lui spécifique.

Le domaine extracellulaire du récepteur de type II se lie à l'AMH ce qui conduit à la formation d'un complexe comprenant deux molécules de récepteur de type II et deux molécules de récepteur de type I. Le récepteur de type II entraîne alors la phosphorylation des résidus sérine et thréonine du récepteur de type I. L'activation du récepteur de type I conduit à une cascade de phosphorylations impliquant des protéines cytoplasmiques et nucléaires à l'origine de l'action de l'AMH.

Par ce mécanisme, l'AMH intervient notamment sur les cellules des canaux de Müller mais aussi les cellules de Sertoli chez le fœtus et les cellules de la granulosa chez l'embryon et l'adulte femelle (Teixeira *et al.*, 2001 ; Donahoe *et al.*, 2003 ; di Clemente, Belville, 2006).

3. Rôle dans la différenciation sexuelle

La différenciation sexuelle du mâle lors du développement embryonnaire est dirigée par le chromosome Y et plus spécifiquement la région appelée SRY pour « sex-determining region of the Y chromosome ». Une fois le testicule différencié, les cellules de Sertoli produisent l'AMH et les cellules de Leydig produisent la testostérone.

L'AMH est donc la première hormone produite par les cellules de Sertoli lors de leur agrégation pour former les tubes séminifères. Dans un intervalle de temps restreint dit « période critique », elle est responsable de la régression des canaux de Müller ; structures embryonnaires à l'origine de la formation de l'utérus, des trompes de Fallope et de la partie supérieure du vagin chez les femelles.

Sous l'influence de la testostérone, les canaux de Wolff à l'origine des canaux déférents, l'épididyme et les vésicules séminales chez le mâle vont ensuite se développer (**Figure 10**) (Senger, 2003 ; di Clemente, Belville, 2006).

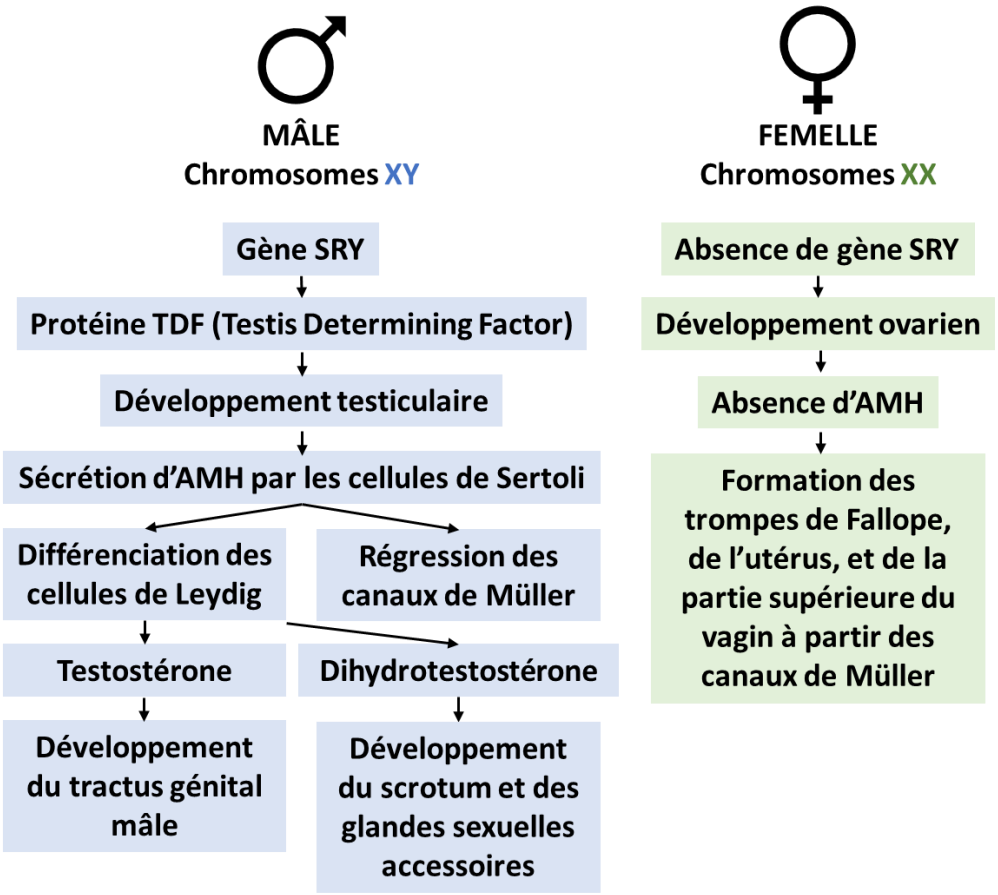

***Figure 10** : Rôle de l'AMH et de la testostérone dans la différentiation sexuelle (Senger, 2003)*

AMH : hormone anti-Müllerienne ; SRY : Sex-determining region; TDF : Testis determining factor

D'un point de vue pathologique, chez l'homme, une mutation dans l'AMH ou dans ses récepteurs chez un mâle entraine la persistance des canaux de Müller et de ses dérivés. Cette pathologie est appelée Syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS). C'est une forme rare de pseudohermaphrodisme transmise de manière récessive et autosomale et due dans 84% des cas à une mutation de l'AMH ou du récepteur II à l'AMH (di Clemente, Belville, 2006).

Après la naissance, l'AMH continue d'être exprimée et est exclusivement produite par les cellules somatiques des organes sexuels du mâle et de la femelle. Il semblerait qu'elle joue alors un rôle dans la régulation de la stéroïdogenèse et la différentiation des cellules sexuelles. Elle régulerait également la prolifération des cellules prostatiques, mammaires, utérines et des motoneurones (Teixeira *et al.*, 2001). Cependant, le rôle de l'AMH après la naissance est encore mal compris.

4. Facteurs influençant la sécrétion d'AMH

Les mécanismes fins de régulation de la sécrétion d'AMH par les cellules de Sertoli chez le mâle et les cellules de la granulosa chez la femelle ne sont pas connus. Cependant un certain nombre d'interactions entre l'AMH et d'autres systèmes hormonaux ont été identifiés. Parmi les plus importants, on reconnait l'influence des androgènes, des gonadotrophines et des cellules germinales. D'autres facteurs ont également une influence comme l'âge et le stade de la vie (*cf §III1a. et IV1a.)* ou encore la saison (*cf §IV3a.)*.

Régulation par les androgènes

Chez le mâle, concernant les androgènes, l'étude des concentrations plasmatiques en AMH et en testostérone révèle une évolution inverse des concentrations de ces deux hormones. L'exemple le plus marquant est la baisse majeure de la concentration en AMH lors de la puberté qui est corrélée avec une forte augmentation de la concentration en testostérone à cette même période (**Figure 11**).

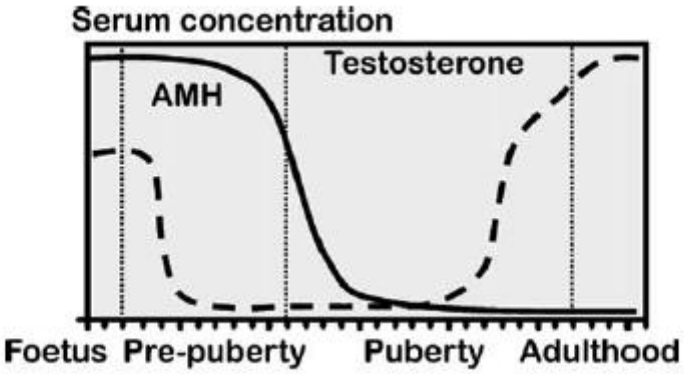

Figure 11 *: Evolution inverse des concentrations en AMH et en testostérone, chez un individu mâle, à partir de la puberté (Rey et al., 2003)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Cette observation se vérifie quelle que soit la concentration en gonadotrophine suggérant une relation directe entre la testostérone et la production d'AMH.

Des expériences ont également montré qu'une déficience en testostérone ou une insensibilité aux androgènes, du fait d'une mutation dans l'un de leurs récepteurs par exemple, est responsable de la stabilisation de la concentration en AMH à un niveau élevé voire une augmentation de sa production après la puberté chez le mâle au lieu de la baisse attendue. Cet effet est expliqué par une activité protéolytique de la testostérone sur l'AMH et, en absence de testostérone avant la puberté notamment, l'AMH n'est donc pas dégradée (Rey *et al.*, 1994 ; Kuroda *et al*., 1991).

La coexistence de taux élevés en AMH et en testostérone avant la puberté, et donc l'absence de régulation par la testostérone avant la puberté, est expliquée par l'absence de récepteurs aux androgènes dans les cellules de Sertoli d'où une insensibilité aux androgènes dans les premiers stades de la vie (Rey *et al.*, 2003).

Régulation par les cellules germinales

Concernant la régulation par les cellules germinales, des expériences ont été menées sur des souris mâles transgéniques présentant un développement testiculaire et un fonctionnement androgénique normaux mais un arrêt du développement des cellules germinales avant l'entrée en méiose. Elles ont montré que la maturation des cellules germinatives joue également un rôle propre sur la régulation de la production d'AMH. Ainsi, l'entrée en méiose de ces cellules entraîne l'arrêt de la production d'AMH par les cellules de Sertoli du même tube séminifère (Al-Attar *et al.*, 1997 ; Josso *et al.*, 2001).

Régulation par les gonadotrophines

Il semblerait que les effets des gonadotrophines sur la production d'AMH soient dépendant de leur interaction avec les autres hormones reproductives.

En effet, en l'absence de toute autre hormone, des concentrations élevées en FSH stimulent la production d'AMH. Ainsi, des expériences sur des souris transgéniques prépubères présentant un déficit en FSH montrent une diminution de la concentration en AMH corrélée à une diminution du nombre de cellules de Sertoli et à un volume testiculaire réduit. De plus, l'injection de FSH et de LH chez des souris insensibles aux androgènes entraine une augmentation significative de la concentration en AMH (**Figure 12**). Cet effet ayant été principalement observé chez des individus insensibles aux androgènes ou avec un déficit de production en androgènes, il n'est visible qu'en l'absence de ces hormones d'où un rôle indirecte des gonadotrophines (Al-Attar *et al.*, 1997 ; Rey *et al*., 2003).

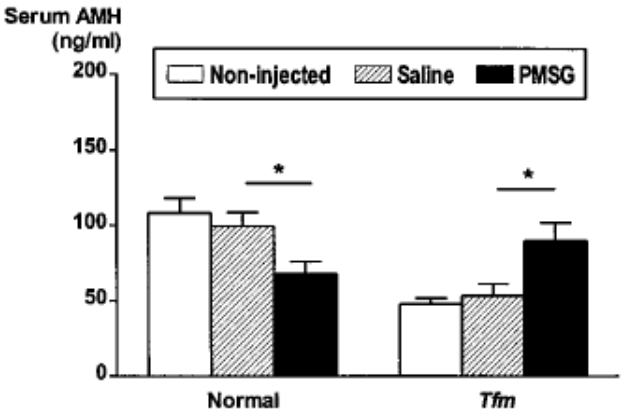

***Figure 12** : Effet des gonadotrophines (PMSG) sur la sécrétion testiculaire d'AMH chez des souris normales ou insensibles aux androgènes (Tfm) (Al-Attar et al., 1997)*

PSMG : Pregnant mare's serum gonadotropin (=eCG) © American Society for Clinical Investigation, 2020

En conclusion, lors d'exposition de cellules de Sertoli aux gonadotrophines et aux androgènes, l'effet prédominant est celui porté par les androgènes. On observe alors une diminution de la production en AMH. Et, en présence d'androgènes, la FSH aurait également un effet propre inhibiteur sur la concentration en AMH. Cependant, en absence d'androgènes, la FSH a cette fois un effet stimulant sur la sécrétion d'AMH (Kuroda *et al.*, 1990).

POINTS IMPORTANTS

Structure de l'AMH :

- Protéine de la famille des TGFβ produite par les **cellules de Sertoli** chez le mâle et les **cellules de la granulosa** chez la femelle
- **Homodimère glycoprotéique** de 140 kDa agissant grâce à deux récepteurs membranaires à activité sérine/thréonine kinase

Rôle dans la différentiation sexuelle

⇨ permet la régression des canaux de Müller chez le mâle

Facteurs influençant la sécrétion d'AMH :

- Rôle important de la **testostérone** dans le processus de protéolyse de l'AMH
  - ⇨ Avant la puberté et chez les individus insensibles aux androgènes : teneur élevée en AMH plasmatique
  - ⇨ Après la puberté : concentrations élevées en testostérone et diminution de la concentration en AMH
  - ⇨ Rôle probable de l'AMH dans l'acquisition de la maturité sexuelle
- Influence des **cellules germinales** : arrêt de la production d'AMH par les cellules de Sertoli proches de cellules germinales entrant en méiose
- Rôle indirecte des **gonadotrophines** qui, en l'absence d'androgènes, stimulent la production d'AMH

III. L'AMH chez les femelles mammifères

1. Généralités

a. Evolution de la concentration en AMH au cours de la vie

Aux premiers stades de l'embryogenèse, l'absence d'expression de l'AMH chez les femelles mammifères permet le maintien des canaux de Müller, structures à l'origine des organes sexuels femelles. Puis, les ovaires commencent à produire de l'AMH peu avant la naissance. Sa concentration est alors faible à la naissance. Elle commence à augmenter quelques semaines après, et cette augmentation se poursuivra jusqu'à la fin de la puberté. La quantité d'AMH produite diminuera ensuite progressivement jusqu'à la fin de la vie reproductive chez la majorité des espèces comme chez la femme et la vache (Kruszynska, Słowińska-Srzednicka, 2017 ; Alward, Bohlen, 2020).

Chez les femelles adultes, l'AMH est uniquement produite à de faibles niveaux. Ainsi, chez les femmes de tout âge, la concentration en AMH périphérique est souvent proche de 3 ng/mL et inférieure à 10 ng/mL. Le seuil de détection de l'AMH est de 0.05 ng/mL et des concentrations inférieures à 0.3 ng/mL chez la femme sont d'ores et déjà considérées comme très faibles (Lee *et al.*, 1996). Chez la jument, la concentration en AMH est généralement inférieure à 3 ng/mL. Les variations de la concentration sanguine en AMH sont majoritairement des variations inter-individuelles. Ces concentrations sont plus élevées chez des femelles cyclées ou gestantes que chez des femelles ovariectomisées et elles ne varient pas au cours du cycle sexuel ou selon le mois de gestation (**Figure 13**) (Almeida *et al.*, 2011).

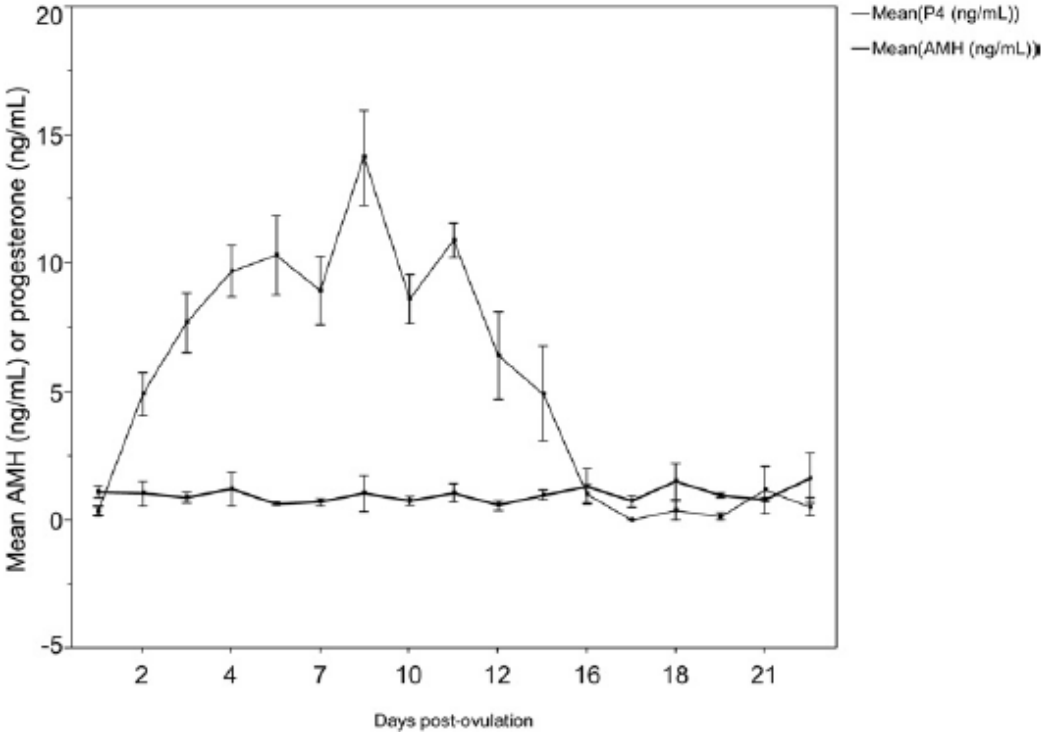

***Figure 13** : Evolution de la concentration sanguine en AMH et en progestérone pendant le cycle sexuel chez la jument (Almeida, et al., 2011)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

b. Localisation et rôle

Chez les femelles mammifères, l'AMH est produite par les cellules de la granulosa des follicules. Elle est principalement exprimée par les follicules immatures (primaires et secondaires) puis sa production diminue dans les follicules matures. Par exemple, chez la femme, elle est majoritairement exprimée dans les follicules primaires, secondaires et les petits follicules pré-antraux. Dans les plus grands follicules, l'AMH est produite en plus faible quantité par les cellules proches de l'ovocyte (COC : Cumulus Oocyte Complex) et celles entourant l'antrum. Dans l'ovaire, les follicules atrétiques et les cellules de la thèque ne produisent pas d'AMH (Hirobe *et al*., 1994 ; Kruszynska, Słowińska-Srzednicka, 2017).

En plus d'être sécrétée par les follicules, l'AMH a un rôle direct sur ceux-ci, le récepteur de type II de l'AMH ayant été détecté dans les cellules de la granulosa des follicules immatures. En effet, une étude sur des souris ayant une délétion dans le gène codant l'AMH montre qu'en l'absence d'AMH, les ovaires présentent une déplétion précoce en follicules primordiaux. Cette déplétion est due à l'augmentation du recrutement des follicules primordiaux chez les femelles délétées en AMH. Ces souris ont également un plus grand nombre de follicules pré-antraux et de petits follicules antraux. Dans l'ovaire, l'hormone anti-Müllerienne joue donc un rôle d'inhibition du recrutement des follicules primordiaux parmi la réserve ovarienne permettant l'épargne de la réserve ovarienne (Durlinger *et al.*, 2002).

Des études plus approfondies ont également montré que l'AMH inhibe le développement des follicules en croissance sensibles à la FSH. Cet effet est majoritaire sur les follicules pré-antraux et est dû à une prolifération moindre des cellules de la granulosa par diminution de leur sensibilité à la FSH. L'AMH a donc un rôle de modulation et plus précisément de diminution de la sensibilité des follicules à la FSH (**Figure 14**) (Durlinger *et al.*, 2001).

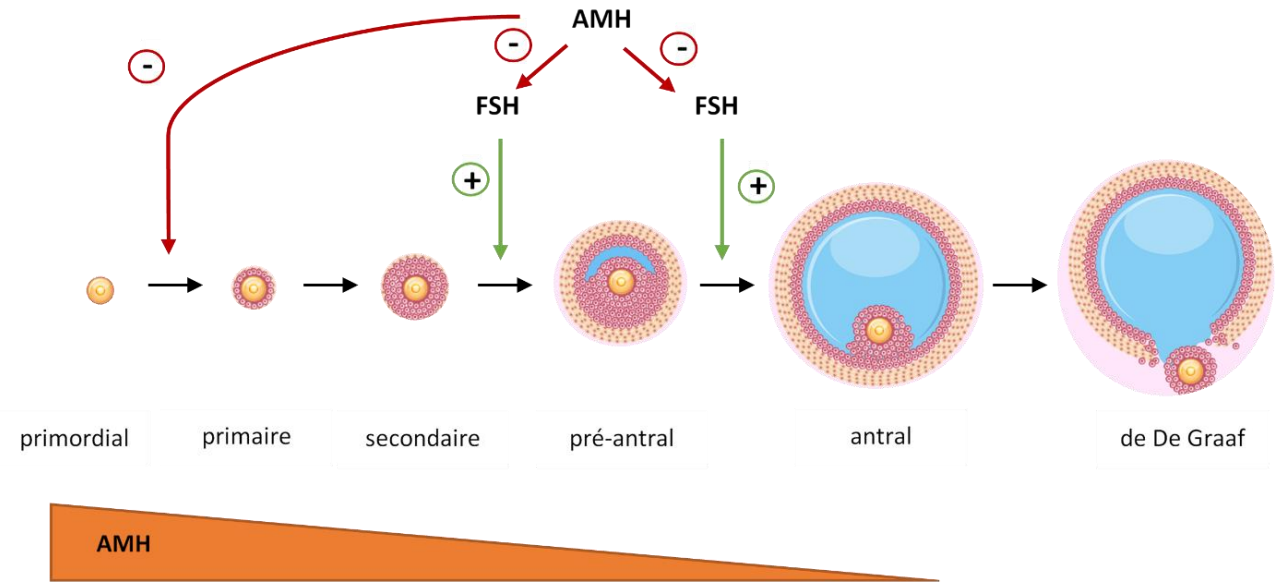

***Figure 14** : Production d'AMH et rôle de l'AMH sur la maturation folliculaire chez les femelles mammifères (Durlinger et al., 2002)*

AMH : hormone anti-Müllerienne ; FSH : hormone folliculo-stimulante

La FSH est essentielle au recrutement folliculaire notamment lors du passage du follicule pré-antral au follicule pré-ovulatoire. Elle permet ainsi le passage du follicule androgénique au follicule oestrogénique. Du fait de son effet inhibiteur sur l'expression du récepteur à la FSH sur les cellules de la granulosa, l'AMH joue un rôle primordial dans la réponse folliculaire à la FSH lors du recrutement folliculaire, dans la dominance folliculaire et dans la compétence méiotique (Durlinger *et al.*, 2002 ; Pellatt *et al.*, 2011).

L'AMH a ainsi un rôle endocrine et paracrine dans les cellules ovariennes en lien avec le recrutement folliculaire et la maturation des follicules.

2. Usages diagnostiques du dosage de l'AMH chez différentes espèces mammifères

Chez de nombreuses espèces, il a été montré que la production en hormone anti-Müllerienne dépend du sexe de l'individu. Son usage clinique va principalement être conditionné par cette variable et sera en lien avec les organes produisant cette hormone.

a. Diagnostic et traitement des pathologies ovariennes

L'utilisation du dosage de l'AMH en gynécologie, plus particulièrement chez la femme, s'est développée notamment pour le diagnostic du syndrome des ovaires polykystiques et des tumeurs des cellules de la granulosa.

Syndrome des ovaires polykystiques

Le syndrome des ovaires polykystiques (PCOS) est l'endocrinopathie la plus fréquente chez la femme. Elle concerne 20% des femmes en âge de se reproduire. Les symptômes comprennent des troubles du cycle sexuel, l'obésité, l'acné, la séborrhée, l'hirsutisme et l'hyperandrogénisme expliqués par la surproduction d'hormones mâles. A plus long terme, elle peut causer un problème de stérilité (Pellatt *et al.*, 2011).

Son importance clinique et ses possibles répercussions générales nécessitent un diagnostic le plus précoce possible. Ce diagnostic s'appuie principalement sur trois critères : l'oligo- ou l'anovulation, un hyperandrogénisme clinique ou biochimique et/ou l'observation d'ovaires polykystiques à l'échographie.

En 1997, Fallat a démontré des concentrations plus élevées en AMH chez des femmes atteintes de PCOS. En effet, des études plus approfondies ont montré des concentrations deux à trois fois plus élevées en AMH chez des femmes atteintes de PCOS comparées à des femmes sans pathologies de l'appareil reproductif. Ces concentrations sont jusqu'à cinq fois supérieures chez des patientes présentant comme symptôme de cette pathologie une anovulation. L'AMH apparait donc être un marqueur pertinent de ce syndrome (Fallat *et al.,* 1997 ; Pellatt *et al.*, 2011).

Tumeurs de la granulosa

La concentration en AMH est également augmentée chez des femmes présentant des tumeurs des cellules de la granulosa. Une étude a ainsi démontré que la concentration sanguine en AMH est significativement plus élevée chez 76 à 93% des femmes présentant une tumeur des cellules de la granulosa. Cette élévation de la concentration en AMH est spécifique aux tumeurs des cellules de la granulosa puisqu'elle ne se retrouve sécrétée dans aucune autre tumeur de l'appareil génital. Après retrait de la tumeur, la concentration en AMH se stabilise progressivement jusqu'à devenir indétectable au bout de quelques mois. En cas de récidive, on observe une nouvelle augmentation de cette concentration (**Figure 15**) (Rey *et al.*, 1996).

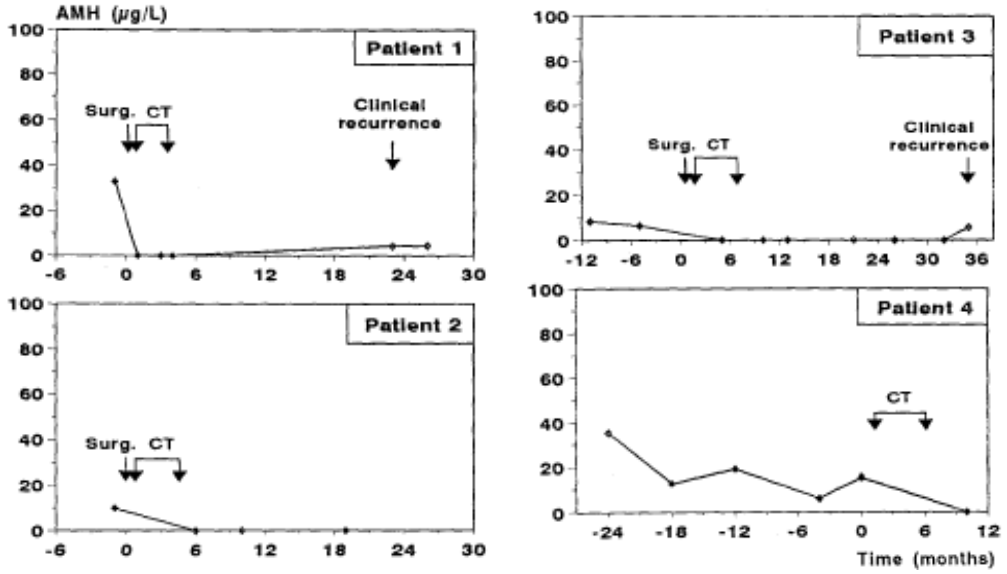

***Figure 15** : Evolution de la concentration en AMH chez des patients ayant subi une chirurgie de retrait de tumeurs de la granulosa (Surg.) et une chimiothérapie (CT), dans le cas de tumeurs de la granulosa récurrentes (Rey et al., 1996)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Le dosage de l'AMH permet donc un diagnostic spécifique des t umeurs des cellules de la granulosa chez la femme ainsi qu'une évaluation précoce de la réponse au traitement influençant le pronostic vital des patientes dans le cas de tumeurs malignes ne répondant pas à la radiothérapie et ayant un fort taux de mortalité (Rey *et al.,* 1996 ; La Marca, Volpe, 2007).

Ce fait se confirme chez d'autres espèces animales. Chez la chienne, le dosage de l'AMH permet notamment le diagnostic différentiel des tumeurs des cellules de la granulosa avec d'autres néoplasies ovariennes comme les tumeurs des cellules épithéliales, les dysgerminomes ou les sarcomes de l'appareil génital (Walter *et al.*, 2018). Chez la vache, on observe des concentrations sanguines en AMH significativement plus élevées chez les individus atteints de tumeurs de la granulosa comparés aux individus ayant des kystes ovariens, un corps jaune fonctionnel ou ayant reçu un traitement de superovulation, groupes difficilement discernables avec une échographie ou un dosage hormonal d'œstradiol, de progestérone ou de testostérone (Kitahara *et al.*, 2012).

Agent de chimiothérapie

En plus d'être d'une utilité diagnostique, l'AMH pourrait être utilisée comme agent de chimiothérapie pour le traitement des cancers épithéliaux de l'ovaire. En effet, l'AMH a un rôle direct sur la régression des canaux de Müller lors du développement embryonnaire et pourrait à ce titre avoir un effet sur ce type de cancer en inhibant la prolifération des cellules épithéliales cancéreuses (Durlinger *et al.*, 2002 ; La Marca, Volpe, 2007).

b. Marqueur de la réserve ovarienne

Chez les femelles, la longévité de la vie reproductive est conditionnée par le fait que les ovaires contiennent un nombre fini d'oocytes appelé réserve ovarienne. Cette réserve contient des follicules primordiaux et des follicules en développement sensibles aux gonadotrophines (Uliani *et al.*, 2019).

Chez la femme, la vache, la chèvre et la brebis, la concentration en AMH dans un échantillon de sang est un indicateur de cette réserve.

En effet, chez la femme, l'AMH est un indicateur plus fiable que l'âge pour évaluer l'aspect quantitatif de la réserve ovarienne. C'est également un marqueur plus précis que ceux utilisés actuellement en pratique clinique soit : la concentration en FSH et en œstradiol au 3ème jour du cycle, la détermination échographique du nombre de follicules antraux et la mesure du volume ovarien. Ainsi, une concentration en AMH diminuée malgré un cycle menstruel régulier et des taux de FSH et d'œstradiol normaux est corrélée avec une réserve ovarienne diminuée et donc un stade plus avancé dans la vie gynécologique. A la ménopause, la chute de la concentration en AMH est le reflet du déclin de la population folliculaire. Dans un contexte de société vieillissante et de grossesses plus tardives, l'utilisation de l'AMH en tant que marqueur de la ménopause révèle toute son importance (Meczekalski *et al.*, 2016 ; Kruszynska, Słowińska-Srzednicka, 2017).

Chez la vache, la concentration sanguine en AMH reflète également le taux de follicules antraux et plus généralement la population folliculaire ovarienne. Une unique mesure de cette concentration permet de placer un individu dans l'une des trois catégories suivantes : vache avec un faible, moyen, ou un nombre élevé de follicules ce qui aura une influence directe sur son espérance de vie reproductive (Ireland, et al., 2008).

De même, chez la chèvre et la brebis, la concentration en AMH est individu-dépendante. Elle est caractéristique du nombre de follicules viables disponibles qui est corrélé avec le nombre d'embryons produits à la fin de la saison de reproduction (Monniaux *et al.*, 2011).

Ainsi, chez les femelles mammifères, la variation inter-individuelle importante de la concentration en AMH est liée à la quantité d'oocytes restants dans l'ovaire. Un ovaire « vieillissant » avec une réserve ovarienne diminuée secrètera moins d'AMH d'où une concentration sanguine en AMH moindre. Cette hormone est donc un bon marqueur quantitatif de la réserve ovarienne et du bon fonctionnement ovarien.

c. Indicateur de fertilité

De nombreuses preuves existent quant à l'existence d'un lien entre diminution de la réserve ovarienne et baisse de la fertilité et ce à tout âge. En effet, de nombreuses pathologies affectent la fertilité du fait de leur influence directe sur la réserve ovarienne. Or, l'AMH étant un marqueur de la réserve ovarienne, l'hypothèse de son utilité comme marqueur prédictif de la fertilité a été émise.

Chez la femme, du fait de la corrélation entre sa concentration et la réserve ovarienne, l'AMH est un marqueur du vieillissement ovarien. Cet indicateur semble être plus précoce et plus fiable que d'autres indicateurs comme la concentration en FSH ou en inhibine B pour prévoir l'âge médian de la ménopause notamment chez des femmes en fin de vie reproductive (Freeman *et al.*, 2012).

Son utilisation chez des patientes a également montré son utilité pour prévoir la réponse ovarienne chez des femmes suivant un traitement de la fertilité en vue d'une procréation assistée. En effet, la concentration sanguine en AMH est fortement prédictive d'une faible réponse ovarienne et de la qualité des oocytes suite à l'induction d'une ovulation multiple et ce, plus particulièrement, chez des femmes proches de la ménopause (**Figure 16**) (Seifer *et al.*, 2002 ; La Marca *et al.*, 2010).

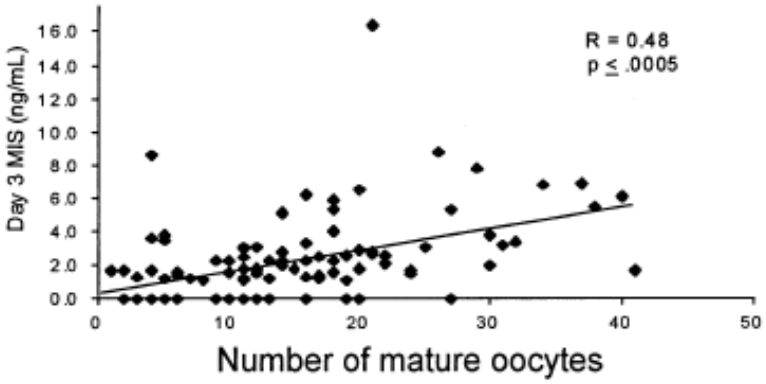

***Figure 16** : Corrélation entre la concentration en AMH au troisième jour de traitement d'induction de l'ovulation et le nombre d'oocytes matures prélevés en milieu de cycle chez 107 femmes (Seifer et al., 2002)*

MIS : Mullerian Inhibiting substance = AMH : hormone anti-Müllerienne

Cette concentration est également prédictive du taux de grossesses menées à terme et avec une naissance vivante lors de fécondation assistée et ce indépendamment de l'âge de la patiente. En effet, chez des patientes ayant une réserve ovarienne très pauvre et une faible fertilité, une valeur en AMH inférieure à 1,05 ng/mL est prédictive de chances nettement diminuées de mener une grossesse à terme et d'obtenir un bébé vivant à la naissance (Gleicher *et al*., 2010).

L'AMH peut donc être considérée comme un indicateur de fertilité notamment chez des femmes plus âgées, plus proche de la ménopause ou présentant des problèmes d'infertilité (Durlinger *et al*., 2002 ; Meczekalski *et al.*, 2016).

Concernant d'autres espèces, chez la vache la mesure d'une valeur de concentration sanguine en AMH est prédictive de la réponse à un protocole d'hyperstimulation ovarienne. Ainsi, chez un individu, plus le taux d'AMH est élevé plus la vache aura un potentiel élevé de production d'un grand nombre de follicules lors de l'ovulation à la suite d'un de ces protocoles. Cet indicateur est plus fiable et moins opérateur dépendant que celui utilisé jusqu'à ce jour soit le comptage échographique du nombre de follicules antraux. Le dosage de l'AMH pourrait donc être utilisé pour sélectionner les animaux les plus adaptés pour suivre un protocole d'hyperstimulation ovarienne (Alward, Bohlen, 2020).

De même, chez la chèvre, la concentration sanguine en AMH est hautement prédictive de la réponse aux traitements super-ovulatoires, mesurée par le nombre d'oocytes ou d'embryons prélevés après traitement (**Figure 17**) (Monniaux *et al.*, 2011).

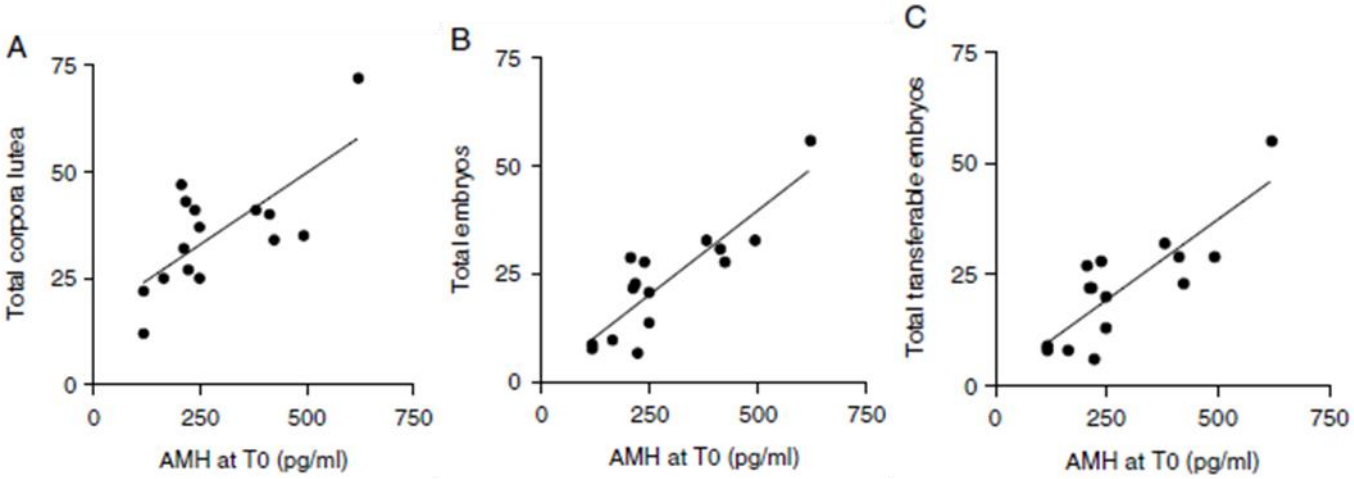

***Figure 17** : Corrélation entre la concentration sanguine en AMH mesurée avant traitement et le résultat total de trois sessions de production embryonnaire suite à un traitement super-ovulatoire chez la chèvre (Monniaux, et al., 2011)*

AMH : hormone anti-Müllerienne © Society for Reproduction and Fertility, 2011

La concentration en AMH serait donc un indicateur pertinent afin d'évaluer la réserve ovarienne et la fertilité chez de nombreuses espèces et ce à tout âge et, plus particulièrement, chez des individus soumis à un traitement hormonal comme l'hyperstimulation ovarienne (Umer, et al., 2019).

Cependant, plusieurs études menées sur différentes espèces au comportement sexuel saisonnier ont montré que l'AMH n'est pas un indicateur parfait de fertilité. Chez la femme, on peut citer comme exemple l'étude de Streuli qui montre une faible corrélation entre la concentration en AMH et le temps nécessaire pour concevoir un enfant chez des femmes ne présentant pas de problème de fertilité (Streuli *et al.*, 2014). Une autre étude menée sur 340 femmes sans antécédent d'infertilité montre la possibilité de grossesses spontanées chez des femmes présentant une concentration en AMH basse et même indétectable (Massé, 2011).

En effet, s'il existe bien un lien entre concentration en AMH et fonctionnement ovarien, la fertilité dépend de ces facteurs ovariens mais aussi de facteurs indépendants des oocytes. L'existence de ces facteurs pourrait être une des explications des variations dans les résultats concernant la fiabilité de l'AMH en tant qu'indicateur de fertilité.

Un autre élément rendant difficile l'utilisation de l'AMH en tant que marqueur prédictif de la fertilité chez les mammifères est la forte variabilité de la concentration en AMH chez des animaux d'une même espèce mais de races différentes. Ainsi, il existe une variabilité de la concentration en AMH chez des vaches de race différente et notamment de race laitière ou allaitante (Mossa, 2017). Par exemple, des génisses Angus ou charolaises présentent des teneurs plasmatiques en AMH plus élevées que des génisses Holstein ou jersiaises (Pfeiffer *et al.,* 2014). Et, au sein d'une même race et d'un même stade reproductif, les variations inter-individuelles de la concentration en AMH sont importantes. Chez la femme, pour des individus appartenant à la même classe d'âge, on observe des concentrations en AMH très différentes en fonction des individus (Massé, 2011). Dans ces conditions, il semble donc difficile d'établir un seuil décisionnel de concentration en AMH prédictif de la fertilité d'un individu.

3. Applications cliniques du dosage de l'AMH chez la jument

a. Evolution de la concentration en AMH avec l'âge

Chez les juments, la concentration sanguine en AMH varie avec l'âge. Cependant, pour un même âge, les valeurs d'AMH sont très variables du fait d'une très forte variabilité inter-individuelle de cette concentration. Pour un même individu, le taux d'AMH sanguin est constant durant les premières années de la vie et la concentration en AMH à la naissance est corrélée à cette même concentration à l'âge de deux ans. Elle augmente légèrement au bout de quinze années de vie. Puis, on observe un déclin significatif et rapide de cette concentration à partir de l'âge de 20 ans (Uliani *et al.*, 2019) (**Figure 18**).

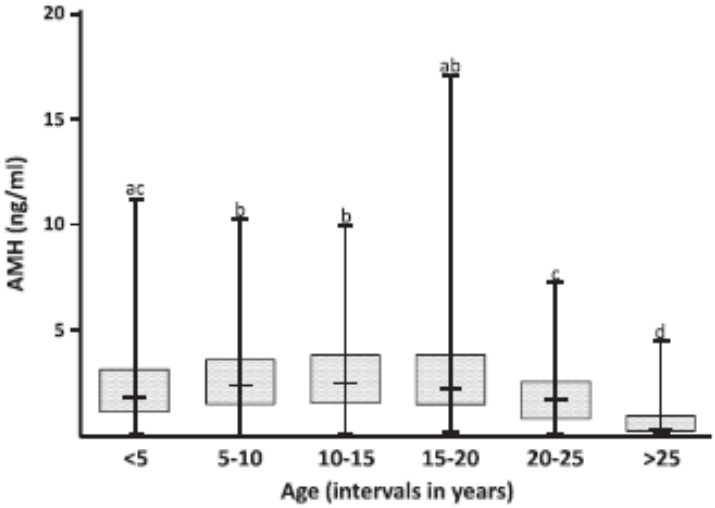

***Figure 18** : Evolution de la concentration en AMH en fonction de l'âge chez 1058 juments (Uliani et al., 2019)*

AMH : hormone anti-Müllerienne © Society for Endocrinology, 2018

b. Diagnostic de rémanence ovarienne

Comme chez les autres mammifères, l'AMH est produite par les cellules de la granulosa des follicules ovariens chez la jument. Ainsi, elle est spécifique du tissu ovarien et sa détection dans le sang indique la présence d'un ovaire producteur de follicules (Ball *et al.*, 2008). Le dosage de cette hormone est donc un élément diagnostic de la rémanence ovarienne chez la jument. Cependant, ce diagnostic présente peu d'utilité chez cette espèce et sera plutôt indiqué chez les carnivores domestiques (Claes, Ball, 2016).

c. Diagnostic des tumeurs des cellules de la granulosa

Parmi les tumeurs ovariennes, les tumeurs des cellules de la granulosa sont les plus répandues chez la jument. Elles représentent 85% des tumeurs de l'appareil reproductif et 2.5% de tous les processus néoplasiques chez le cheval. Ce sont des tumeurs majoritairement bégnines qui peuvent être associées à des troubles de la reproduction (McCue, 1998).

En termes de structure, ces tumeurs sont composées de multiples couches de cellules semblables aux cellules de la granulosa, imbriquées dans la structure folliculaire et supportées par un stroma contenant des cellules semblables aux cellules de la thèque (MacLachlan, 1987). L'AMH étant notamment produite par les cellules de la granulosa, l'hypothèse de son utilité diagnostique a été émise.

Le diagnostic de ces tumeurs se fait actuellement par palpation, examen échographique et dosages de la progestérone, de la testostérone et de l'inhibine B : une diminution de la concentration en progestérone accompagnée d'une concentration augmentée en inhibine ou en testostérone sont indicatrices d'une tumeur des cellules de la granulosa. Cependant ce ne sont pas des marqueurs spécifiques puisque ces changements apparaissent aussi lors de la gestation. Pour confirmer le diagnostic de tumeur, la possibilité d'une gestion devra donc être exclue (McCue, 1998 ; McCue *et al*., 2006).

L'intérêt de l'AMH réside alors dans sa spécificité puisque sa concentration est augmentée de manière significative en cas de tumeur des cellules de la granulosa comparée à une jument n'en présentant pas, gestante ou non. La stabilité de l'AMH chez la jument pendant le cycle sexuel présente un avantage certain pour son usage diagnostique (Ball *et al.*, 2008 ; Almeida *et al.*, 2011).

Enfin, les tumeurs de la granulosa sont toutes positives à l'immuno-marquage pour l'AMH. Ces tumeurs produisent donc une AMH immunoréactive et cette hormone est un biomarqueur utile pour leur diagnostic (**Figure 19**) (Ball *et al.*, 2008).

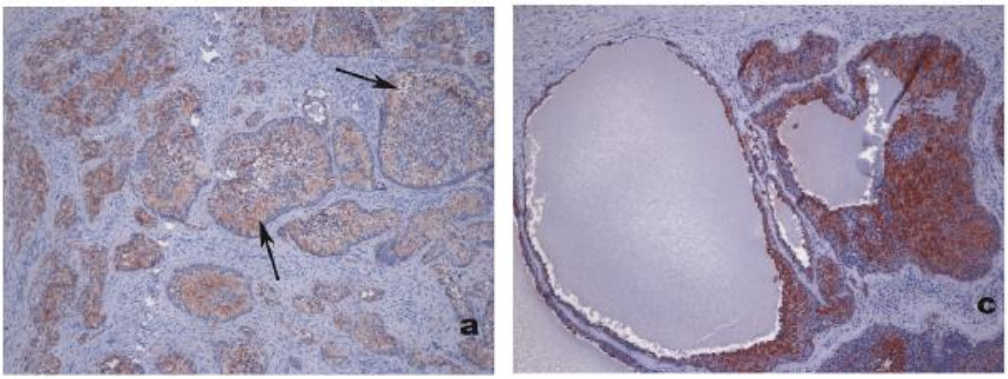

Figure 19 *: Photomicrographie d'une tumeur des cellules de la granulosa contenant des cellules de la granulosa productrices d'AMH immunoréactives et immunomarquées (Ball et al., 2008)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

d. Marqueur de la réserve ovarienne

Comme chez d'autres mammifères mentionnés précédemment et du fait de la forte corrélation entre ces deux paramètres, le nombre de follicules pré-antraux est un indicateur de la réserve ovarienne chez la jument. Et, des études ont montré que la concentration en AMH est corrélée positivement avec le nombre de follicules antraux chez les juments d'âge moyen et âgées (Traversari *et al.*, 2019).

En effet, l'AMH est produite par les follicules ovariens et est donc dépendante du nombre de ces follicules et de leur stade de développement. Elle est fortement exprimée par les follicules primaires, puis son expression diminue au cours de la sélection folliculaire pour devenir faible dans les follicules dominants et pré-ovulatoires (Uliani *et al.*, 2019). La viabilité de ces follicules a également une influence : un follicule viable produira plus d'AMH qu'un follicule atrésique (Claes, Ball, 2016). La concentration en AMH est alors le reflet du nombre de ces follicules et donc de la réserve ovarienne. Et, il semblerait même que la concentration en AMH soit déjà prédictive dès l'âge de 24/28 semaines (Ball *et al*., 2008 ; Scarlet *et al.*, 2018 ; Ball *et al.*, 2019).

Chez la plupart des mammifères étudiés, les femelles naissent avec une population folliculaire variable qui diminue au cours de la vie reproductive jusqu'à la ménopause ou la sénescence reproductive. Du fait du nombre variable de follicules, cette senescence a lieu à un âge différent selon les individus. Certaines espèces possèdent un grand nombre de follicules à la naissance. Par exemple, les vaches présentent un nombre de follicules primordiaux évoluant autour de 120 000 par ovaire à la naissance, variable selon la race et l'individu (Erickson, 1966).

Or, les juments présentent un nombre beaucoup plus restreint de follicules et cette valeur varie autour de 35 000 par ovaire au même âge. La réserve ovarienne de la jument semble donc être plus réduite et plus variable que chez les autres espèces. Du fait de la longévité de la vie reproductive de la jument, cette réserve ovarienne limitée peut constituer un frein à la reproduction chez certains individus. Il est alors d'autant plus important d'avoir un marqueur fiable de cette réserve (Driancourt *et al.,* 1982 ; Ball *et al.*, 2019).

Dans ce contexte, l'AMH apparait être un bon indicateur du potentiel et de l'espérance de vie reproductive chez la jument, et ce dès le plus jeune âge, d'autant plus que sa concentration est relativement stable pendant et entre les différents cycles œstraux au cours de la vie reproductive.

e. Indicateur de fertilité

Afin de postuler sur l'existence d'une corrélation entre les teneurs d'AMH et la fertilité chez les juments, Ball *et al.* ont mené une étude sur 419 individus aux Etats Unis. Trois paramètres principaux ont été étudiés : l'âge des juments, la concentration sanguine en AMH au moment de l'œstrus et les résultats d'insémination soit le taux de gestation (Ball *et al.,* 2019).

Comme attendu, les juments ayant le meilleur taux de gestation sont les plus jeunes juments. Mais, il se trouve qu'une corrélation entre la concentration sanguine en AMH et le taux de gestation a également été trouvée : les juments ayant une concentration sanguine en AMH dans le plus bas quartile ont un taux de gestation et donc un taux de fertilité plus faible que les juments ayant une concentration en AMH dans la moyenne ou dans le quartile supérieur. Comme chez d'autres espèces, l'AMH apparait être un bon indicateur de fertilité chez la jument (Ball *et al.,* 2019).

Cependant, l'utilisation de l'AMH en tant que marqueur de fertilité chez la jument est controversée. En effet, une autre étude menée par Traversari en 2019 sur des juments de sport suisses n'a pas révélé de corrélation entre la concentration sanguine en AMH et le nombre de cycles nécessaires avant gestation ou le taux de gestation en fin de saison. L'un des facteurs pouvant expliquer cette absence de corrélation pourrait être l'influence de perturbations utérines qui masquerait l'influence des perturbations ovariennes (Traversari *et al.,* 2019).

Comme chez les autres espèces mammifères, il faut donc rester prudent quant à l'utilisation de cet indicateur afin d'évaluer la fertilité.

POINTS IMPORTANTS

CHEZ LES FEMELLES MAMMIFERES INCLUANT LA JUMENT

Production d'AMH :

- Production par les **cellules de la granulosa des follicules primaires et secondaires**, à de faibles concentrations (de l'ordre de 3 ng/mL dans le plasma)
- **Faibles variations** de la concentration en AMH **au cours du cycle sexuel et pendant la gestation** mais **fortes variations inter-individuelles**

Rôle :

- Limitation du recrutement des follicules primordiaux ⇨ **épargne de la réserve ovarienne**
- Diminution de la sensibilité des follicules à la FSH ⇨ **rôle dans le recrutement et dans la dominance folliculaire**

Usage diagnostique : pour des pathologies ovariennes comme le **Syndrome des ovaires polykystiques ou les tumeurs de la granulosa**

Lien entre AMH et fertilité :

- AMH = **marqueur de la réserve ovarienne** chez les femelles mammifères
- Rôle en tant qu'**indicateur de la fertilité controversé**
  - ⇨ Permet de **prévoir la réponse ovarienne** à des traitements hormonaux de stimulation ovarienne et de superovulation chez la femme et les bovins
  - ⇨ Semble être un **bon indicateur de fertilité chez des femmes plus âgées ou présentant des troubles de la reproduction**
  - ⇨ **Mais**, indicateur faiblement prédictif de la fertilité chez des femmes ne présentant **pas de troubles de la reproduction**
  - ⇨ **Grande variabilité inter-individuelle** de sa concentration empêchant d'établir un seuil décisionnel pour utiliser l'AMH comme indicateur fiable de fertilité

IV. L'AMH chez les mâles mammifères

1. Généralités

a. Evolution de la concentration en AMH au cours de la vie

Chez le mâle, la production d'AMH commence lors de la différentiation des cellules de Sertoli et des tubes séminifères chez l'embryon. Elle est maximale durant la vie fœtale lors de la régression des canaux de Müller puis diminue jusqu'à devenir stable après la puberté à des concentrations faibles semblables aux niveaux détectables chez la femelle. Elle continue alors d'être produite durant toute la vie adulte (**Figure 20**). Cette sécrétion d'AMH en fonction de l'âge et du stade sexuel se retrouve chez toutes les espèces de mammifères étudiés, que ce soit l'homme, le rat, le singe ou le cheval (Josso, 1986).

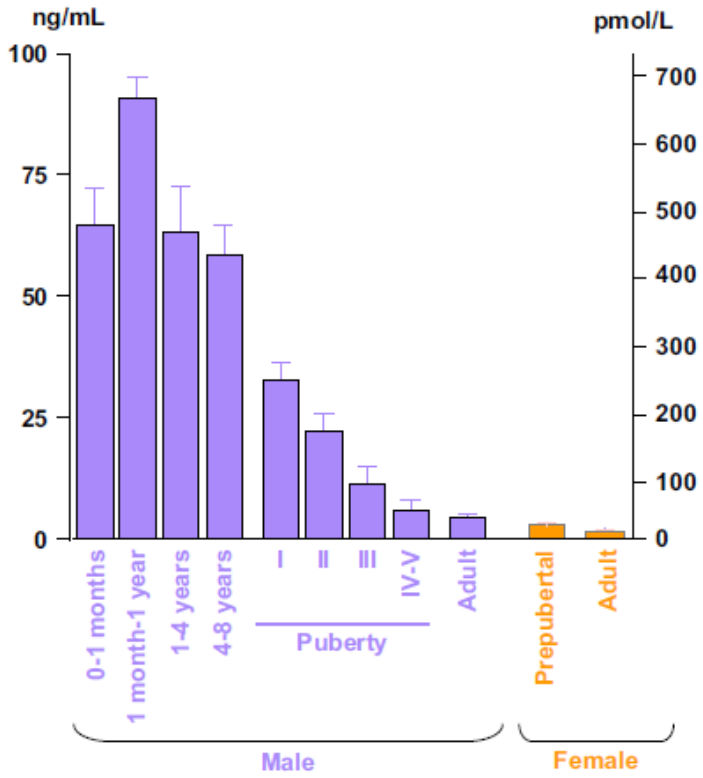

***Figure 20** : Evolution de la concentration sanguine en AMH en fonction du stade de la vie chez l'Homme (di Clemente, Belville, 2006)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Chez l'homme, les concentrations en gonadotrophines et testostérone diminuent au troisième trimestre de gestation puis augmentent légèrement 2-3 mois après la naissance pour enfin diminuer vers 6-7 mois. Et, à la puberté, la concentration en testostérone augmente de façon significative. Ces changements sont anti-corrélés avec les évolutions de la concentration en AMH ce qui est en accord avec l'hypothèse de la régulation de la production d'AMH par ces hormones (Lee *et al.*, 1996). En effet, ces changements dans la production d'AMH durant la puberté sont attribués à l'évolution de la concentration en gonadotrophines et à l'augmentation de la concentration en testostérone à cette même période.

Un autre phénomène pouvant expliquer la diminution de la concentration en AMH dans le sang à la puberté chez le mâle est la mise en place de la barrière testiculaire. En effet, avant la puberté l'AMH produite par les cellules de Sertoli est sécrétée au travers de la membrane basale dans le tissu interstitiel puis la circulation sanguine. Lors de la puberté a lieu le développement de la barrière sang/testicule. La sécrétion d'AMH est alors redirigée vers la lumière des tubes séminifères expliquant ainsi l'augmentation de sa concentration dans le plasma séminal et la diminution de sa concentration dans le sang (**Figure 21**) (Rey *et al*., 2003).

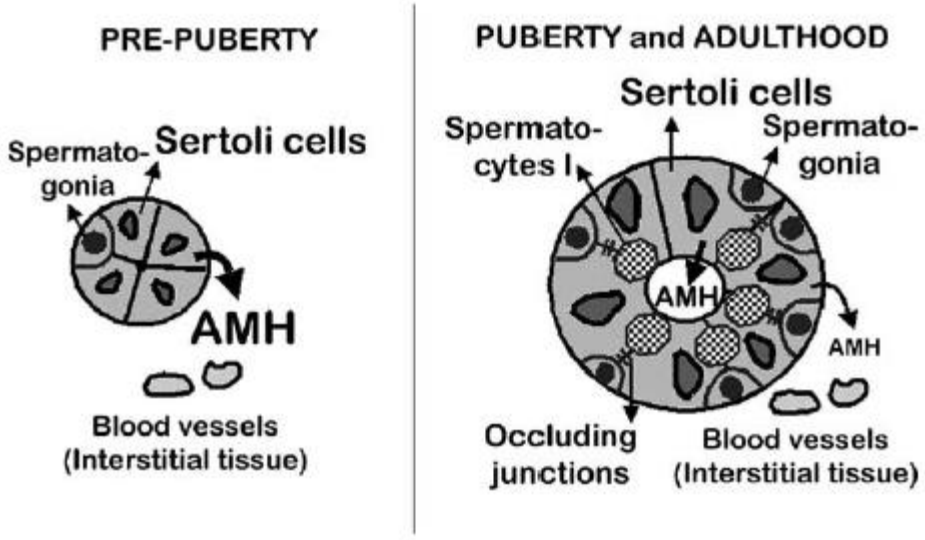

Figure 21 *: Redirection de la sécrétion d'AMH du sang vers la lumière des tubes séminifères à la puberté (Rey et al., 2003)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

b. Localisation et rôle

Concernant sa localisation dans le testicule, l'utilisation de l'immunomarquage a mis en évidence la présence d'AMH uniquement dans les cellules de Sertoli prouvant la spécificité de sa production par ces cellules (**Figure 22**).

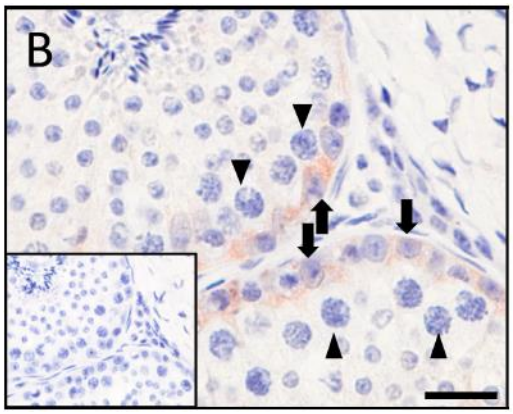

Figure 22 *: Détection immunohistochimique de l'hormone anti-Müllerienne dans un testicule sain d'étalon (Murase et al., 2015).*

L'AMH est détectée dans les cellules de Sertoli (flèches) mais absente dans les spermatocytes (triangles). Echelle de mesure = 20 µm

L'expression du récepteur II de l'AMH dans les cellules de Sertoli suggère un rôle autocrine de l'AMH à l'origine de la différentiation de ces cellules. En effet, il a été montré que l'AMH inhibe la synthèse d'aromatase dans les cellules de Sertoli ce qui entraine une inhibition de la production d'œstrogènes permettant la masculinisation des gonades et le développement testiculaire (Rouiller-Fabre *et al.*, 1998).

L'hypothèse d'un rôle paracrine de cette hormone sur la différenciation et le fonctionnement des cellules de Leydig a également été émise. Des études ont été menées sur des souris afin de montrer cette action. Elles confirment la présence de récepteurs à l'AMH dans les cellules de Leydig et montrent qu'une augmentation de la concentration en AMH chez des souris transgéniques est à l'origine d'un blocage de la différentiation des précurseurs des cellules de Leydig et de leur fonctionnement (Josso *et al.*, 1998).

L'AMH inhibe donc la différentiation des cellules mésenchymateuses précurseurs des cellules de Leydig en cellules matures (**Figure 23**).

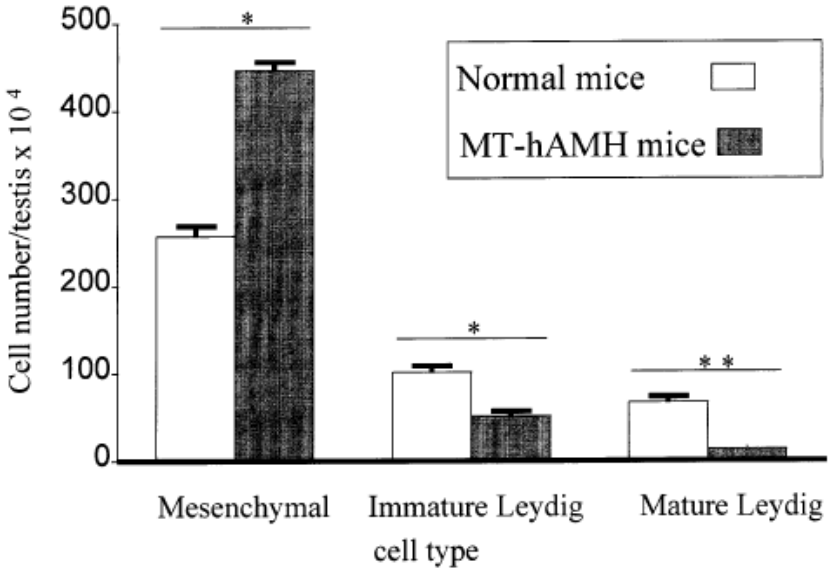

***Figure 23** : Nombre de cellules mésenchymateuses précurseurs des cellules de Leydig, de cellules de Leydig immatures et de cellules de Leydig matures par testicule chez des souris transgéniques présentant un taux élevé d'AMH (MT-hAMH mice) et chez des souris normales (Josso et al., 1998)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

De plus, l'AMH entraine une diminution de l'expression des enzymes stéroïdogènes par les cellules de Leydig. Ces deux effets sont en réalité liés. En effet, les androgènes permettent la différenciation des promoteurs des cellules de Leydig. Une inhibition de leur production par l'AMH entraine donc l'arrêt de la différentiation des promoteurs des cellules de Leydig (Racine *et al.*, 1998 ; Rouiller-Fabre *et al.*, 1998 ; Teixeira *et al.*, 1999).

Ainsi, l'AMH joue un rôle dans la régulation de la production de testostérone par les cellules de Leydig. Cela explique notamment l'augmentation rapide de la concentration en testostérone peu après la puberté lorsque la concentration en AMH chute. Enfin, une fois le développement testiculaire terminé, de fortes concentrations en AMH entrainent l'inhibition de la synthèse des androgènes (Behringer *et al.*, 1990).

En conclusion, l'AMH a un rôle majeur dans la masculinisation des gonades lors de la prépuberté et le contrôle de la stéroïdogenèse par l'inhibition de la synthèse d'œstrogènes par les cellules de Sertoli et la régulation de la production d'androgènes par les cellules de Leydig.

2. Usages diagnostiques du dosage de l'AMH chez différentes espèces mammifères

Chez de nombreuses espèces, il semblerait que la sécrétion d'AMH suive un schéma semblable que ce soit chez le jeune ou l'adulte, chez le mâle ou la femelle.

Tout d'abord, comme mentionné précédemment chez les femelles mammifères, il existe de fortes variations inter-individuelles de la sécrétion en AMH. Mais, au cours d'une même étude, la concentration en AMH varie peu chez un même individu que ce soit un mâle ou une femelle. Ainsi, chez l'homme, la variation intra-individuelle de la concentration en AMH est d'environ 10% (Lee *et al*., 1996).

a. L'AMH, marqueur du tissu testiculaire

La différence de production en AMH entre les ovaires et les testicules en fait un marqueur spécifique du fonctionnement des cellules de Sertoli. Ce marqueur permet la distinction des tissus ovariens et testiculaires plus particulièrement chez le jeune et les individus prépubères. Par exemple, avant l'âge de trois ans, les concentrations en AMH chez l'homme et la femme ne se recoupent pas, les niveaux de production d'AMH chez l'homme étant 10 à 20 fois plus élevés que chez la femme et ce jusqu'à l'âge de 12 ans (**Figure 24**).

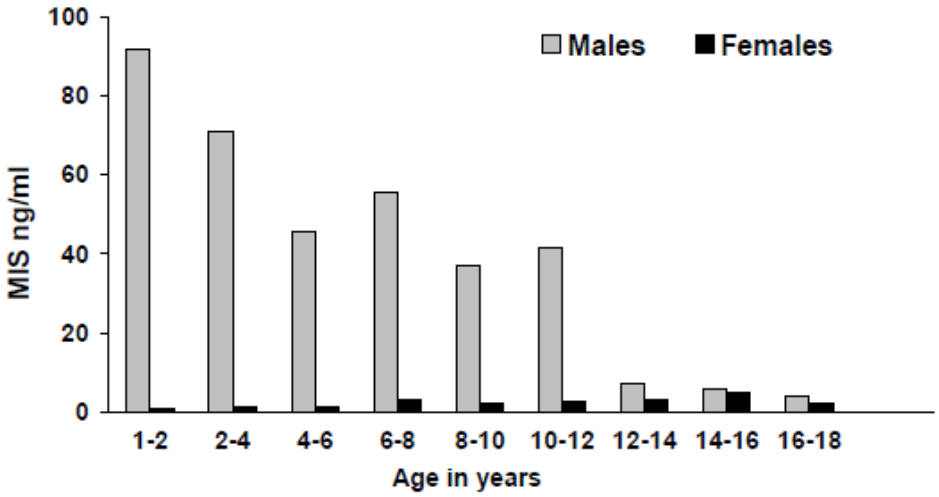

Figure 24 *: Différence de production d'AMH (MIS) chez des enfants garçons (en gris) et filles (en noir) de l'âge de 1 à 18 ans (Lee et al., 2003)*

AMH = MIS : hormone anti-Müllerienne

Les femelles ayant une concentration en AMH proche du seuil de détection ne peuvent donc pas posséder de tissu testiculaire fonctionnel et les mâles ayant de très faibles productions en AMH semblables aux femelles possèdent soit du tissu ovarien soit un tissu testiculaire non fonctionnel. Dans le cas d'une valeur en AMH non mesurable, l'individu aura soit une absence d'organes sexuels soit des organes sexuels non fonctionnels (Lee *et al.*, 1996 ; Lee *et al.,* 2003).

b. Diagnostic des troubles du développement sexuel

Rôle dans les pathologies du développement sexuel

Du fait de son rôle primordial dans la différenciation sexuelle, l'AMH est un élément clef dans la compréhension des pathologies du développement sexuel. Ainsi, chez l'Homme et de nombreuses espèces animales, la condition d'intersexualité s'accompagne de la coexistence de caractéristiques sexuelles mâles et femelles. Elle est généralement associée à des anomalies dans l'expression de l'AMH ou de l'un de ces récepteurs.

Par exemple, chez l'Homme une anomalie dans la production ou de l'action de l'AMH peut être à l'origine d'un défaut de régression des canaux de Müller entrainant un syndrome de persistance des canaux de Müller. Cette forme rare de pseudohermaphrodisme se caractérise par la présence d'un utérus et de trompes chez des individus masculins normalement virilisés. Elle est due dans environ 85% des cas à une mutation du gène de l'AMH ou de son récepteur de type II (Knebelmann *et al*., 1991 ; Josso *et al.*, 2005).

Chez les bovins, une femelle née avec un jumeau mâle aura de fortes chances de présenter une anomalie de développement de ses organes génitaux. Cette pathologie est appelée le freemartinisme et est caractérisée par l'absence des voies génitales dérivant des canaux de Müller chez le jumeau femelle. Les individus atteints sont généralement stériles. En termes de pathogénie, l'AMH est présente chez le fœtus mâle. Or, les jumeaux bovins étant liés par des anastomoses vasculaires chorioniques, le fœtus femelle va également être en contact avec l'AMH ce qui est à l'origine de la régression de ses canaux de Müller (Vigier *et al.*, 1984).

Usage diagnostique

L'AMH ayant un rôle dans l'apparition de pathologies du développement sexuel, l'hypothèse de son utilité pour leur diagnostic a été émise. Etant détectable dans la circulation sanguine, la mesure de sa concentration périphérique a donc été testée comme élément diagnostique de conditions d'intersexualité, de cryptorchidie ou d'anorchidie (Lee *et al.*, 2003).

Chez l'Homme, l'AMH permet ainsi le diagnostic de condition d'intersexualité et de pathologies indiscernables par leur développement de l'appareil génital externe. Par exemple, pour un même aspect phénotypique, l'AMH est non détectable chez des femmes présentant une hyperplasie congénitale des surrénales mais est présente à des niveaux très élevés chez des individus mâles présentant un pseudohermaphrodisme.

Des résultats semblables ont été trouvés chez les bovins. Ainsi, la concentration en cette hormone chez un mâle de la race Japanese Black souffrant de pseudohermaphrodisme est semblable à celle trouvée chez des mâles prépubères et donc nettement supérieure aux taux mesurés chez des mâles et femelles pubères dans l'étude de Kitahara. La concentration en AMH est donc également un marqueur de pseudohermaphrodisme chez les bovins (Kitahara *et al.*, 2018).

L'AMH est un indicateur très utile dans le diagnostic des pathologies du développement testiculaire. En effet, elle est produite par un testicule fonctionnel et sera absente en cas d'anorchidie (condition très rare chez l'étalon) ou de pathologies entrainant une dénaturation totale des cellules de Sertoli.

Par exemple, chez l'Homme, sa concentration chez des enfants souffrant de cryptorchidie est plus élevée que chez des individus souffrant d'anorchidie permettant de faire la distinction entre les deux. Elle est également utilisée chez des hommes présentant une ectopie testiculaire bilatérale et permet de faire la distinction entre une torsion testiculaire bilatérale *in-utero* et des testicules dits « oscillants » ou « rétractables » ce qui influencera le diagnostic et la prise en charge de ces patients. Les différentes études menées sur cet indicateur montrent même qu'il présente une sensibilité de 98% et une spécificité de 91% pour évaluer la présence de testicules dans ces pathologies (Teixeira *et al.*, 2001 ; Lee *et al.*, 2003).

De même, des dosages d'AMH ont été réalisés chez des bovins de la race Japanese Black afin de comparer la production de cette hormone chez des individus sains, castrés et atteints de cryptorchidie. Des résultats semblables à ceux obtenus chez l'Homme ont été observés : les concentrations en AMH chez les individus sains et cryptorchides étaient supérieures à celles mesurées chez les individus castrés et la teneur en AMH semble être un marqueur utile pour évaluer l'existence d'un testicule fonctionnel dans le cas d'animaux cryptorchides (Kitahara *et al.*, 2012).

c. Diagnostic des tumeurs des cellules de Sertoli

Du fait de l'utilité de l'hormone anti-Müllerienne dans le diagnostic des tumeurs des cellules de la granulosa, des études ont été menées afin d'étudier son potentiel dans la détection des tumeurs des cellules sexuelles chez le mâle.

Il apparait ainsi que, chez l'homme, une AMH immunoréactive a été détectée dans des tumeurs des cellules de Sertoli. Cependant, cette production d'AMH est plus faible que dans des cellules de Sertoli saine. Malgré cette faible production et l'aspect hétérogène de sa répartition dans ces tumeurs, c'est le seul type de tumeurs de l'appareil génital où cette détection s'est révélée positive chez les individus mâles. La présence de quelques cellules positives à l'AMH est donc hautement indicative de tumeurs des cellules de Sertoli. L'AMH est donc un indicateur spécifique des tumeurs des cellules de Sertoli et sa détection par immunohistochimie permet de préciser le diagnostic et d'orienter le traitement de ces pathologies chez l'homme (Rey *et al.*, 2000).

Chez l'espèce canine, les tumeurs testiculaires sont fréquentes et peuvent entrainer des symptômes de féminisation, d'hyperpigmentation ou d'alopécie plus particulièrement dans le cas de tumeurs des cellules de Sertoli. Un élément diagnostic biologique de ces tumeurs, actuellement utilisé, est le dosage en œstrogènes (Holst, Dreimanis, 2015).

Cependant, une étude menée chez des chiens présentant des signes cliniques caractéristiques de ces tumeurs montre que les chiens atteints de tumeur des cellules de Sertoli ont une concentration sanguine en AMH significativement plus élevée comparée aux individus sains. L'AMH se révèle donc être un marqueur utile pour le diagnostic des tumeurs des cellules de Sertoli dans l'espèce canine également (Holst, Dreimanis, 2015).

d. L'AMH comme indicateur de fertilité

Tout comme chez les femelles mammifères, des études ont été menées afin d'évaluer le lien entre la fertilité et la concentration en AMH chez le mâle.

Chez l'homme, Fénichel a ainsi étudié les concentrations séminales et sanguines en AMH chez trois groupes d'individus respectivement fertiles, présentant une azoospermie obstructive, soit la présence d'un obstacle empêchant la sécrétion des spermatozoïdes fabriqués, ou une azoospermie non obstructive due un défaut de fabrication des spermatozoïdes (Fénichel *et al.*, 1999).

Chez les individus fertiles, l'AMH était présente à des concentrations variables dans le sang et dans le liquide séminal. Chez les sujets présentant une azoospermie obstructive, les concentrations en AMH séminal étaient toutes nulles. En effet, dans le cas d'azoospermie obstructive (affectant les canaux déférents) le plasma sécrétoire est dépourvu d'AMH illustrant l'origine testiculaire du plasma séminal.

Enfin, chez les individus atteints d'azoospermie non obstructive, la production d'AMH était plus faible que chez les individus fertiles. Et, des concentrations séminales proches de la limite de détection chez ces individus étaient corrélées à une absence de spermatozoïdes alors que des concentrations dans les valeurs supérieures étaient associées à la persistance de la spermatogenèse (**Figure 25**). Ces résultats suggèrent donc que la concentration en AMH séminal pourrait être un marqueur utile de la spermatogenèse chez des individus atteints d'azoospermie non obstructive (Fénichel *et al.*, 1999).

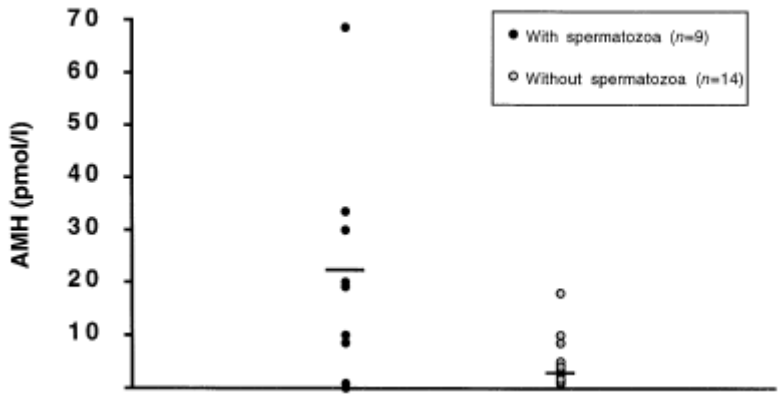

Figure 25 *: Distribution de la concentration séminale en AMH chez des patients présentant une azoospermie non obstructive en fonction de la présence (with spermatozoa) ou de l'absence de spermatozoïdes (without spermatozoa) à la biopsie testiculaire (Fénichel et al., 1999)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Cette hypothèse est confortée par d'autres études qui confirment la présence d'une forte corrélation entre la concentration séminale en AMH et la concentration en spermatozoïdes ainsi que le volume testiculaire moyen chez l'homme. Il n'existerait cependant pas de corrélation entre la concentration en AMH dans le plasma sanguin et ces différents paramètres de fertilité (Kucera *et al.*, 2016).

L'AMH dans le plasma séminal pourrait donc jouer un rôle important dans la spermatogenèse et serait un bon indicateur du fonctionnement des cellules de Sertoli. A ce titre, elle pourrait être utilisée comme marqueur de fertilité chez le mâle (Fujisawa *et al.*, 2002).

Si de nombreuses études ont été menées chez l'homme, l'utilisation de l'AMH comme indicateur de fertilité chez les mâles d'autres espèces n'a que très peu été étudiée. Il serait intéressant de savoir si, comme pour l'homme ou pour les femmes, l'AMH pourrait servir d'indicateur de fertilité et notamment d'une production diminuée de spermatozoïdes en espèce canine ou bovine par exemple.

3. Applications cliniques du dosage de l'AMH chez l'étalon

a. Evolution de la concentration en AMH au cours des saisons

De nombreux changements hormonaux surviennent au cours des saisons. Du fait du rôle de régulation de certaines hormones dont la testostérone sur la production d'AMH, il serait logique que la concentration en AMH évolue également selon les saisons.

L'étude de Claes menée en 2013 montre effectivement un effet du mois de l'année sur la production d'AMH chez l'étalon. Ainsi, la concentration en cette hormone est significativement plus élevée au mois de Mai, où elle est maximale, et au mois de Juin comparée aux mois de Septembre à Février. La concentration minimale est obtenue au mois de Novembre avec un rapport de 1,7 comparé à la concentration maximale (**Figure 26**). Ces résultats se rapprochent de ceux évoqués précédemment pour l'évolution de la concentration en testostérone au cours des saisons (Claes *et al.,* 2013).

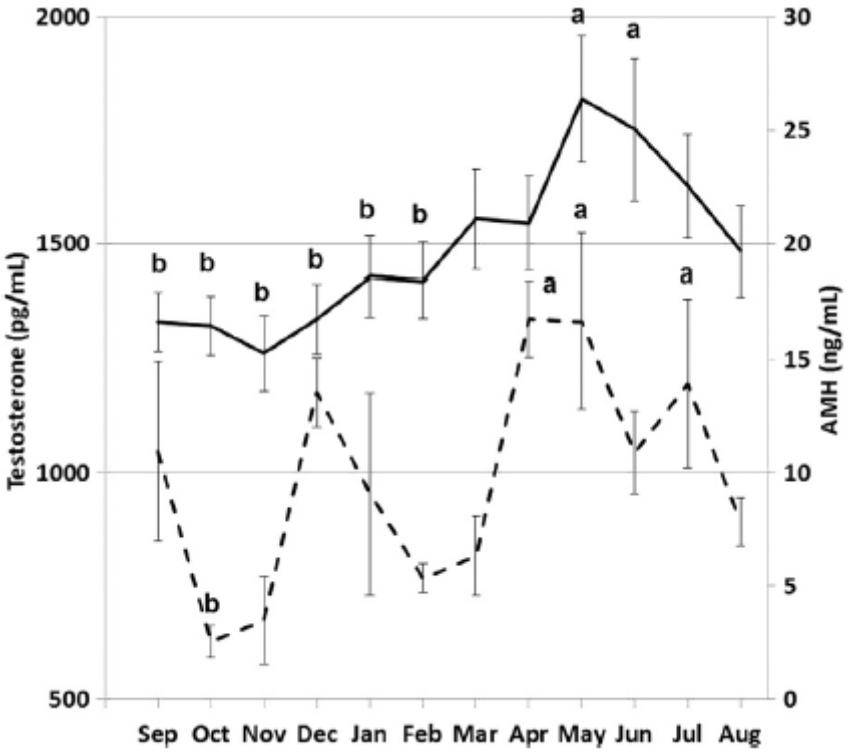

Figure 26 *: Variation saisonnière de la concentration en AMH (ligne continue) et de la concentration en testostérone (ligne pointillée) chez des étalons sains (Claes et al., 2013)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

L'augmentation de la concentration en AMH pendant le printemps et l'été coïncide donc avec l'augmentation de la concentration en gonadotrophines et en hormones stéroïdiennes à cette même période. Ces changements pourraient induire une réponse particulière des cellules de Sertoli et plus particulièrement une augmentation de leur nombre pendant la saison de reproduction qui est plus marquée aux mois de Mai et Juin ce qui serait cohérent avec le pic d'AMH observé (Johnson, Tatum, 1989 ; Claes *et al*., 2013).

b. Détection de tissu testiculaire résiduel

L'AMH est produite spécifiquement par les cellules de Sertoli des testicules chez le mâle. Ainsi, comme chez les autres espèces, une concentration en AMH périphérique non nulle est indicatrice de la présence d'un tissu testiculaire viable producteur de cette hormone.

En pratique équine, il arrive parfois d'être confronté à de jeunes chevaux ne présentant pas de testicules en position scrotale, ne sachant pas alors s'ils ont été castrés ou s'ils présentent une pathologie du développement testiculaire. Dans de tels cas, la testostérone peut éventuellement être un indicateur puisqu'elle est synthétisée par les cellules de Leydig. Cependant, chez l'étalon, elle peut également être synthétisée par le cortex surrénalien en plus des testicules et n'est donc pas spécifique de ce tissu (Cox, 1986). L'AMH apparait donc comme l'indicateur le plus fiable dans ces circonstances et le plus pratique pour établir si le cheval a été castré ou non (Ball *et al.,* 2008).

c. Diagnostic des troubles du développement sexuel

Diagnostic de cryptorchidie

Un étalon est dit cryptorchide lorsqu'au moins un de ses deux testicules ne se situe pas dans son scrotum. Le ou les testicules anormalement localisés peuvent se situer en position abdominal ou inguinale notamment. Ces étalons peuvent présenter des troubles de la reproduction et le testicule mal positionné est plus exposé au risque de tumeur même si le processus est rare (Murase *et al*., 2015).

Le diagnostic des étalons cryptorchides se fait par échographie transrectale ou transcutanée en région inguinale notamment (Jann, Rains, 1990 ; Schambourg *et al*., 2006). Cependant, c'est une méthode nécessitant du temps, une barre de contention voire une tranquillisation. Une autre méthode de diagnostic consiste à doser la concentration en testostérone ou en œstrone sulfate dans le sang qui peut être diminuée en cas de cryptorchidie. Enfin, un test de stimulation à la hCG peut être mis en œuvre mais il nécessite des dosages de la concentration basale en testostérone réalisés entre 1 et 24 heures voire 72 heures post-injection de hCG ce qui est relativement long et fastidieux (Cox *et al.*, 1973 ; McKinnon *et al*., 2011 ; Murase *et al*., 2015).

Des études récentes ont montré que l'AMH peut également être utilisée comme un marqueur de cryptorchidie (Murase *et al.*, 2015). En effet, les concentrations en AMH sont significativement plus élevées chez les étalons et les cryptorchides que chez les mâles castrés. Chez les mâles castrés, la concentration en AMH est quasiment nulle et proche de la limite du seuil de détection du fait de l'absence de cellules de Sertoli pour produire cette hormone.

De plus, les étalons ne présentant aucun testicule en position normale ont tendance à avoir des concentrations plus élevées en AMH dans le sang périphérique. Cela pourrait être dû à des défauts dans la formation de la barrière hémato-testiculaire ainsi qu'à l'arrêt de la spermatogenèse et à l'expression réduite des récepteurs aux androgènes chez ces animaux. Le contrôle négatif de la production d'AMH par la testostérone et l'entrée en méiose des cellules germinales n'ayant plus lieux, la concentration en AMH en serait augmentée (*cf §II4*) (Claes *et al.,* 2013).

Il apparait également que le degré d'expression de l'AMH chez les individus cryptorchides dépend du remaniement de ses testicules et notamment du nombre de cellules de Sertoli viables. Un testicule avec plus de cellules de Sertoli fonctionnelles présentera donc une production d'AMH plus importante et sera plus immunoréactif à l'AMH. Et, des testicules à un stade plus avancé de dégénérescence du fait de l'exposition à des températures plus élevées produisent eux de faibles quantités d'AMH (Ball *et al.*, 2008).

Le dosage de l'AMH semble donc être un indicateur plus fiable car plus spécifique que le dosage de la testostérone et de l'œstrone sulfate, l'AMH étant uniquement produite par les cellules de Sertoli des testicules.

Ce test diagnostique n'est cependant valable que pour les étalons n'ayant pas de testicule en position scrotale et pour les chevaux de plus de deux ans. En effet, aucune différence significative dans la concentration en AMH n'est observable entre les chevaux cryptorchides avec un testicule en position scrotale et les chevaux sains. Et, durant la première année de vie du poulain, la concentration en AMH est similaire pour des chevaux avec des testicules normaux ou anormaux. A l'âge de deux ans, une concentration en AMH supérieure au seuil de 12,1 ng/mL est indicatrice d'une anomalie de développement testiculaire avec une sensibilité de 83% et une spécificité de 90% (**Figure 27**) (Scarlet *et al.*, 2018).

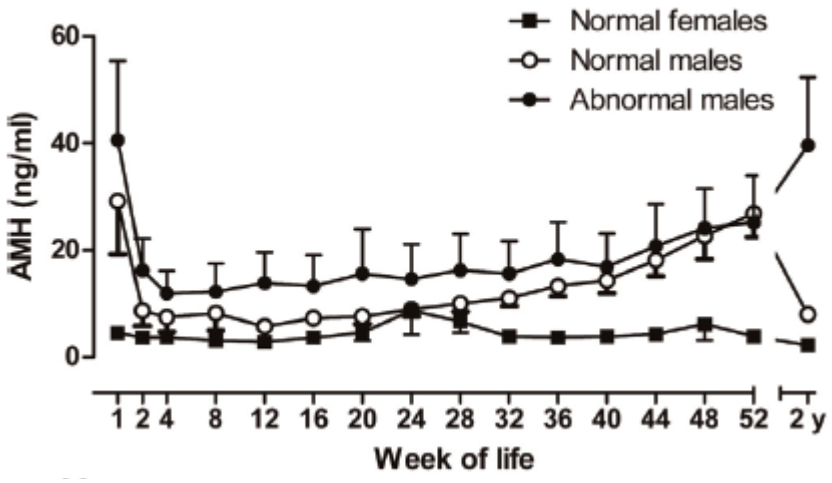

Figure 27 *: Evolution de la concentration en AMH chez des femelles saines, chez des étalons sains et chez des étalons présentant des anomalies de développement testiculaire (cryptorchidie et volume testiculaire anormalement élevé) (Scarlet et al., 2018)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Production d'AMH lors de pseudohermaphrodisme

Les chevaux atteints de pseudohermaphrodisme ont comme organes génitaux externes une vulve, ou un vestige de vulve, un pénis avec un gland de taille élargie en face ventrale et des testicules localisés en position inguinale ou abdominale. Ces testicules présentent généralement une hypoplasie sévère et la spermatogenèse est dans la plupart des cas absente. Cependant, ces testicules produisent tout de même de l'AMH. En effet, l'examen de tissus gonadiques chez trois chevaux présentant un pseudohermaphrodisme a révélé la présence d'AMH immunoréactive dans ses tubules séminifères confirmant la présence de cellules de Sertoli fonctionnelles. L'AMH peut ainsi être utilisée pour caractériser les désordres intersexuels chez les chevaux et notamment la présence de cellules de Sertoli fonctionnelles lors de ces pathologies (Rey *et al.*, 1996 ; Ball *et al.*, 2008).

d. Diagnostic des tumeurs des cellules de Sertoli

Les tumeurs testiculaires sont rares chez l'étalon. Elles se caractérisent, dans la majorité des cas, par l'augmentation de taille d'un ou des deux testicules. Le diagnostic de ces tumeurs est principalement histologique.

Cependant, l'étude de tumeurs testiculaires a révélé la présence de cellules présentant une immunoréactivité aux anticorps anti-AMH. L'AMH étant uniquement produite dans les cellules de Sertoli chez le mâle, l'immunomarquage de l'AMH est caractéristique des tumeurs des cellules de Sertoli ou des tumeurs mixtes contenant des cellules de Sertoli. Cela permet notamment de différencier les sertolinomes des séminomes et des tératomes (**Figure 28**) (Ball *et al.,* 2008).

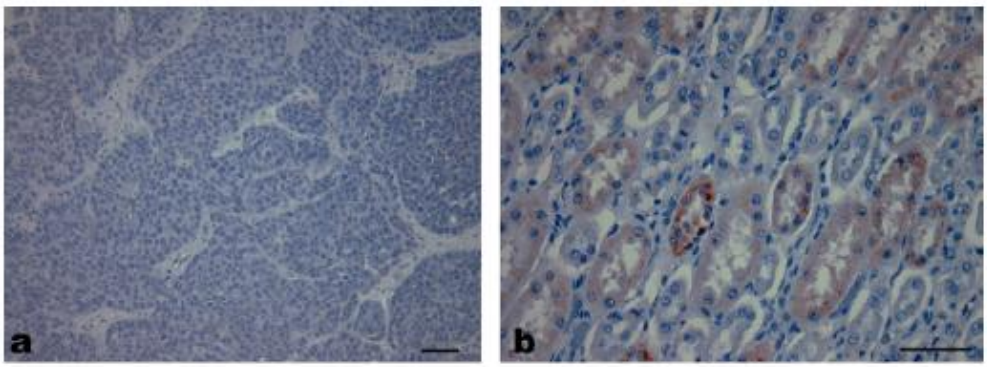

Figure 28 *: Absence d'AMH immunoréactive dans un séminome (a) et détection d'une AMH immunoréactive dans des cellules de sertolinome (b) (Ball et al., 2008)*

AMH : hormone anti-Müllerienne

e. L'AMH comme indicateur de fertilité

A ce jour, aucune étude n'a été réalisée sur l'utilisation de l'AMH en tant qu'indicateur de la fertilité chez l'étalon. Du fait de sa pertinence chez les femelles mammifères et chez l'homme, il serait intéressant d'étudier cette hormone chez les mammifères mâles et plus particulièrement l'étalon.

POINTS IMPORTANTS

CHEZ LES MÂLES MAMMIFERES INCLUANT L'ETALON

Production d'AMH :

- Production **dès la différentiation des tubes séminifères et des cellules de Sertoli** sous un déterminisme SRY
- Hauts niveaux de sécrétion pendant la **vie fœtale et la prépuberté** puis diminution de la production d'AMH à la **puberté** et pendant la **vie adulte** en lien avec l'augmentation de la **sécrétion de testostérone et de gonadotrophines**

Rôle :

- Rôle dans la **masculinisation des gonades et le développement testiculaire** par l'inhibition de la production d'œstrogènes par les cellules de Sertoli au stade embryonnaire
- Influence négative de l'AMH sur les cellules de Leydig ⇨ **régulation de la stéroïdogenèse**

Usage diagnostique :

- **Marqueur du tissu testiculaire** ⇨ diagnostic d'**affections du développement sexuel** comme les conditions d'intersexualité, le pseudohermaphrodisme, ou la cryptorchidie
- Diagnostic des **tumeurs des cellules de Sertoli**

Lien entre AMH et fertilité :

- AMH = **marqueur de la spermatogenèse** chez des hommes atteints d'azoospermie non obstructive ⇨ pourrait donc être un marqueur du bon fonctionnement des cellules de Sertoli et, potentiellement, de la fertilité
- Mais, **forte saisonnalité** de l'expression de l'AMH et **variations inter-individuelles** importantes de sa concentration plasmatique
  - ⇨ Difficultés pour établir un seuil décisionnel pour utiliser l'AMH comme indicateur fiable de fertilité
- **Peu d'études menées** à ce jour et **aucune corrélation démontrée** entre la concentration en AMH et la fertilité chez l'homme ou chez les mammifères domestiques incluant l'étalon

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

I. Objectifs

Chez les différentes espèces de mammifères domestiques, l'AMH est produite par les cellules de Sertoli chez le mâle et les cellules de la granulosa chez la femelle. Elle est synthétisée tout au long de la vie à des concentrations différentes selon le sexe et le stade sexuel, avec des changements majeurs lors de la maturité sexuelle et lors de la sénescence. Elle est décrite comme diminuant au cours de la vie chez les femmes et les femelles mammifères et sa production chez la jument est indépendante du cycle ovarien.

Initialement, elle a un rôle dans la différentiation des organes sexuels et permet la régression des canaux de Müller à l'origine des voies génitales femelles. Puis, chez le mâle, elle intervient dans la masculinisation des gonades et le contrôle de la stéroïdogenèse par l'inhibition de la synthèse d'œstrogènes par les cellules de Sertoli et la régulation de la production d'androgènes par les cellules de Leydig.

Chez le mâle, du fait de sa production spécifique par les cellules de Sertoli, l'AMH possède de nombreux usages diagnostiques dans de nombreuses espèces de mammifères. C'est notamment un marqueur utile dans le cas de pathologies du développement sexuel tels que le pseudohermaphrodisme et la cryptorchidie. Elle peut également être utilisée pour le diagnostic différentiel des tumeurs de l'appareil génital.

L'AMH est donc un indicateur pertinent en reproduction mais la compréhension de son implication reste encore incomplète d'autant plus chez le mâle du fait des études éparses la concernant. En effet, si des recherches ont été menées sur le lien entre la concentration en AMH et la fertilité chez la femme et chez les femelles de différentes espèces de mammifères domestiques, il existe, à ce jour, très peu de données sur ce lien chez les mâles. Ainsi, il n'existe actuellement aucun indicateur permettant de prédire l'évolution de la fertilité et notamment la baisse de fertilité de l'étalon avec l'âge. L'AMH semble donc être un bon candidat.

L'objectif général de cette étude est d'évaluer, à partir d'un kit R&D de dosage d'AMH bovine et d'un échantillon de 15 étalons suédois suivis pendant 1 à 3 ans, l'existence ou non d'une corrélation entre la fertilité d'un étalon et son taux d'AMH sanguin ou séminal.

Les objectifs spécifiques sont de s'intéresser :

- aux concentrations plasmatiques en AMH selon l'âge des étalons.
- à l'évolution de cette concentration pendant la saison de reproduction.
- à l'existence d'un lien entre la fertilité de l'étalon et la concentration plasmatique en AMH séminale ou sanguine en vue d'une éventuelle utilisation comme marqueur de fertilité.

II. Matériels et méthodes

1. Animaux étudiés

Afin d'effectuer des prélèvements réguliers, les échantillons sont prélevés sur les étalons de deux centres de monte : les centres SALSBRO et EKLUNDA, distants de 30 km, en Suède (latitude : 59.27412) entre 2017 et 2019.

Au cours des trois années de suivi, un total de 15 étalons est étudié, majoritairement des trotteurs au centre de SALSBRO et des chevaux de selle (CSO et Dressage) à EKLUNDA. Dans le premier centre de reproduction, à Salsbro, 6 chevaux de selle suédois âgés de 4 à 19 ans au début de l'étude sont suivis pendant 1, 2 ou 3 ans pour respectivement 1, 2 et 3 étalons. Dans le second centre, à Eklunda, 7 trotteurs et 2 Quarter Horse âges entre 4 et 16 ans sont suivis pendant 1 ou 3 ans pour respectivement 7 et 2 étalons (**Tableau I**).

Le Comité d'Ethique Jacques Bonnod de VetAgro Sup a approuvé cette étude (N°2059).

***Tableau I** : Liste des étalons de l'étude*

Dans un soucis d'anonymat, la référence de l'étalon est utilisée à la place de son nom.

Référence de l'étalon	Nombre d'années étudiées	Années d'étude	Ages pendant l'étude (années)
HEM	3	2017, 2018, 2019	5, 6 et 7
FLO	1	2019	4
FID	2	2018, 2019	4 et 5
IKE	3	2017, 2018, 2019	4, 5 et 6
OTA	1	2019	5
ONE	1	2018	6
DUB	1	2018	6
SAU	1	2019	9
XAL	1	2018	9
MEL	3	2017, 2018, 2019	9, 10, 11
PIC	3	2017, 2018, 2019	10, 11 et 12
DUS	1	2017	13
COO	2	2017, 2018	13 et 14
VIK	1	2017	16
SIR	3	2017, 2018, 2019	19, 20 et 21

2. Prélèvement des échantillons de sang

Les prises de sang ont été réalisées une fois par semaine, de la première semaine d'Avril à la troisième semaine d'Août, le matin, idéalement entre 6h et 9h.

L'étalon est généralement prélevé en présence d'une aide et la prise de sang est réalisée à la veine jugulaire droite après nettoyage et aseptisation avec une compresse imbibée d'alcool. Le matériel utilisé consiste en un vacutainer à aiguille jaune (longueur 25 mm, diamètre 0.9 mm, 20 G) ainsi qu'un tube sec (rouge) avec séparateur et activateur.

Le tube de sang collecté a été placé à température ambiante pendant au moins une heure afin d'assurer la coagulation et d'initier la décantation puis, il a été centrifugé à 3000 tours/min (≈ 1200 g) pendant 10 minutes. Le sérum a été recueilli à l'aide d'une seringue de 5 mL montée d'une aiguille rose (longueur 38 mm, diamètre 1.2 mm, 18 G) ou à l'aide d'une pipette pasteur en plastique. L'échantillon de sérum a ensuite été transvasé dans un Eppendorf® de 1,5 mL identifié avec le nom du cheval et la date de prise de sang et immédiatement stocké au congélateur à -18°C jusqu'à analyse.

3. Prélèvement des échantillons de sperme

Les collectes de sperme ont été réalisées au mois d'Avril 2019 après deux purges au minimum à un jour d'intervalle (par exemple : purges le lundi et le mercredi et collecte le vendredi).

À SALSBRO, la verge de l'étalon a été nettoyée avant la collecte avec un coton imbibé d'eau tiède puis séchée avec un papier absorbant. Un vagin artificiel de type Hanover avec une capote en plastique jetable a été utilisé. La semence a été filtrée directement dans le biberon au moment de la collecte. À EKLUNDA, un vagin artificiel de type Colorado avec une capote en plastique jetable a été utilisé. La semence a été filtrée directement dans le biberon au moment de la collecte.

Pour cette étude, il a été considéré qu'aucune différence significative n'a pu être induite par les deux types de collecteurs.

4. Analyse de la semence

L'analyse du volume, de la concentration et de la mobilité des spermatozoïdes de l'échantillon a été directement réalisée suivant le protocole décrit ci-dessous. Une lame a été préparée afin d'analyser la viabilité des spermatozoïdes.

Mesure du volume de semence produite

Le volume de la semence produite est obtenu en pesant l'échantillon en prenant pour équivalence 1 g = 1 mL.

Evaluation de la concentration en spermatozoïdes

Afin de pouvoir compter les spermatozoïdes, une dilution appropriée a été réalisée afin d'obtenir une concentration finale comprise entre 20 et 50 millions de spermatozoïdes/mL. L'échantillon de sperme a donc été dilué avec de l'INRA 96® au 1/5ème ou 1/10ème suivant la concentration estimée de l'éjaculat par son observation au microscope à contraste de phase. L'échantillon a ensuite été analysé grâce au Hamilton Thorne IVOS® pour les étalons de SALSBRO et grâce au Spermacue® (Minitüb) à EKLUNDA.

Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes

La semence diluée jusqu'à une concentration de 20 à 50 x 10^6 spermatozoïdes/mL a été soumise à une observation au microscope à contraste de phase. La mobilité a été évaluée, en pourcentage, par estimation du pourcentage de spermatozoïdes mobiles sur la base de l'expérience du manipulateur.

Analyse de la viabilité des spermatozoïdes

La lame a été préparée avec une coloration d'Eosine et de Nigrosine suivant le protocole suivant : mélanger à volume équivalent une goutte de sperme avec une goutte de solution d'Eosine pendant 30 secondes. Ajouter après agitation 2 gouttes de Nigrosine au mélange précédent. Réaliser un frottis à l'aide de la préparation et laisser sécher à l'air libre.

La lame préparée précédemment a été observée au microscope optique au grossissement x40. Un comptage de 200 spermatozoïdes a été réalisé avec une classification en spermatozoïdes normaux ou anormaux, les spermatozoïdes anormaux comprenant notamment ceux avec une tête anormale, une gouttelette proximale, une partie intermédiaire anormale, une gouttelette distale, une tête seule et une queue pliée.

5. Dosage de l'AMH

La dosage de l'AMH a été réalisé après une dilution au 1/100ème avec un tampon BSA pour les échantillons de sang et de sperme. Cette dilution a été adaptée au cas par cas pour les échantillons en dehors du domaine analytique, soit avec une concentration en AMH inférieure à 50 pg/mL ou supérieure à 3000 pg/mL.

Le dosage a été réalisé grâce à la plateforme de dosage Vidas® (bioMérieux) et des kits de dosage « bovine AMH » dont la réactivité croisée avec l'AMH équine avait été préalablement vérifiée. En effet, de façon constitutive, le dosage AMH bovine a été développé avec des anticorps initialement dirigés contre l'AMH équine.

Il s'agit d'un immunodosage à double anticorps dont un des deux est couplé à la phosphatase alcaline permettant la révélation par fluorescence de l'AMH capturée à l'aide d'un substrat ombelliférone.

Les variations intra-essais sont de 2,3 à 3,2% dans le domaine de mesure 50-3000 pg/mL et les variations inter-essais sont de 4,2 à 10,3% dans le domaine de mesure de 50 à 3000 pg/mL.

6. Etude de la fertilité des étalons

En plus de l'analyse de la semence, a été réalisée pour chaque étalon une étude rétrospective de la fertilité à l'aide des paramètres détaillés ci-dessous.

Fertilité par chaleur : pour chaque étalon, la fertilité par chaleur est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Fertilité par chaleur} = \frac{\text{nombre de chaleurs fécondées}}{\text{nombre de chaleurs fécondées + non fécondées}}$$

Elle représente le pourcentage de chance que l'étalon possède de fertiliser une jument à chaque cycle. La valeur de ce paramètre est considérée comme précise lorsqu'au moins 150 cycles ovariens sont suivis et son calcul nécessite au moins 20 cycles à résultats connus. Dans notre étude, aucun étalon n'a été utilisé à hauteur de 150 inséminations mais les étalons ayant été utilisés pour moins de 20 inséminations n'ont pas été retenus pour le calcul de ce paramètre.

Fertilité en fin de saison : elle est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Fertilité en fin de saison} = \frac{\text{nombre de juments pleines en fin de saison + (nombre de juments sans renseignements x fertilité par chaleur)}}{\text{nombre total de juments saillies}}$$

Cet indicateur est calculé, pour chaque étalon, si la population comprend au moins 10 juments et moins de 30% de juments sans renseignements. Il représente le pourcentage de chances que la jument soit gestante à la fin de la saison

7. Analyse statistique

Afin d'évaluer la variabilité interindividuelle de la concentration en AMH, un test de corrélation a été réalisé entre deux séries de variables indépendantes : l'une quantitative, la concentration en AMH, et l'autre qualitative, l'étalon correspondant. La variable quantitative, la concentration en AMH, ne suivant pas une distribution normale (évaluée grâce à la représentation des quantiles observés en fonction des quantiles de la loi normale) un test non paramétrique, le test de Kruskal-Wallis, a été utilisé.

Pour étudier l'influence de la saisonnalité, une transformation de variable a été réalisée afin de limiter le biais occasionné par la forte variabilité interindividuelle de la concentration en AMH : la déviation à la moyenne de la concentration en AMH pour chaque étalon est utilisée. Une analyse de corrélation entre la déviation à la moyenne et la semaine ou le mois de l'année est utilisé soit un test de Kruskal-Wallis. Les résultats sont affinés grâce à un test de Bonferroni.

Pour les analyses de corrélation engageant deux séries de variables indépendantes et quantitatives ne suivant pas une loi normale, un test de Spearman a été réalisé en considérant une significativité lorsque $p < 0.05$. Lors de significativité, une valeur de Rho a été proposée.

Tous les tests sont effectués à l'aide du logiciel R.

III. Validation de la méthode de dosage

Cette méthode de dosage a déjà été validée chez la jument. Lors de la validation initiale de la méthode de dosage, la stabilité de l'AMH a été évaluée sur une période d'un an. Or, certains de nos échantillons avaient une ancienneté supérieure à 3 ans. Du fait des fortes variabilités intra-individuelles observées pour les échantillons datant de 3 ans et plus, il a été décidé de rejeter l'ensemble des échantillons prélevés lors de cette année.

De plus, compte tenu de l'importante dilution à entreprendre chez l'étalon, une vérification de l'influence de la dilution sur la performance analytique ainsi sur que la performance technique de l'opérateur et donc sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH a été réalisée.

1. Influence de la dilution sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH

Cette validation est effectuée à l'aide d'un prélèvement de sang réalisé fin juillet sur un étalon français KWPN de 17 ans et après centrifugation. Afin de ne tester que le paramètre dilution, les dosages ont été effectués une heure après avoir réalisé la prise de sang et quatre dilutions (au 1/75ème, au 1/100ème, au 1/125ème et au 1/150ème) ont été testées.

A chaque fois, les dilutions se font à l'aide d'une pipette automatique et d'une solution tampon phosphate 50 mmol, de pH =7,4 et contenant 1,5% de BSA. Pour chaque facteur de dilution testé, une analyse en duplicata a été conduite (**Tableau II**).

***Tableau II** : Influence du facteur dilution sur la valeur obtenue en AMH (en pg/mL) après dosage sur un même échantillon*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Dilution testée	**Valeurs d'AMH mesurées (en pg/mL)**		**Concentration en AMH théorique recalculée (en pg/mL)**		**Concentration en AMH théorique moyenne (en pg/mL)**	**% d'écart par rapport à la dilution au 1/100ème**
1/75ème	1226.0	943.4	91950	70755	81353	**16.1**
1/100ème	724.8	676.5	72480	67650	70065	**0**
1/125ème	491.9	451.9	61488	56488	58988	**15.8**
1/150ème	418.3	373.9	62745	56085	59415	**15.2**

Les écarts relatifs sont compris entre 15.2% et 16.1% et sont donc non-significatifs car du même ordre de grandeur que l'imprécision de la mesure de l'appareil de dosage à laquelle s'ajoute l'imprécision de la dilution. Le choix de la dilution au 1/100ème a été retenu et appliqué à tous les échantillons avec re-dilution pour les étalons hors du domaine analytique.

2. Influence de la méthode de conservation sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH

La stabilité de l'AMH à température ambiante a été vérifiée sur 3 jours chez les bovins et aucune modification de la valeur de sa concentration sur cette durée n'a été observée. Or, compte tenu des contraintes de l'étude de terrain avec un délai de temps entre la collecte des échantillons et leur mise au congélateur et du fait des grandes séries de dosage, les échantillons sont restés plusieurs heures à température ambiante. Un test de suivi de la stabilité de l'AMH a donc été réalisé chez l'étalon sur 53h.

Pour cela, un échantillon de sang a été prélevé et placé à température ambiante entre 23°C et 27°C. Six dosages ont été réalisés pour une durée de conservation allant jusqu'à 53h (**Tableau III**).

Tableau III *: Evolution de la concentration en AMH en fonction de la durée de conservation de l'échantillon à température ambiante*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Durée de conservation (en heure)	Valeurs d'AMH mesurées (en pg/mL)		Concentration en AMH théorique recalculée (en pg/mL)		Concentration en AMH théorique moyenne (en pg/mL)	% d'écart par rapport à une durée de T_0 = 2h
2	551.6		55160		55160	**0**
5	466.7		46670		46670	**15.4**
24	568.9	533.7	56890	53370	55130	**0.1**
28	497.7	450.6	49770	45060	47415	**14.0**
48	453.2	462.2	45320	46220	45770	**17.0**
53	507.5	522.5	50750	52250	51500	**6.6**

L'écart relatif maximal est de 17,0% et est donc non-significatif car du même ordre de grandeur que l'imprécision de la mesure de l'appareil de dosage à laquelle s'ajoute l'imprécision de la dilution. Dans nos conditions de collecte et d'analyse, la stabilité de l'échantillon était donc suffisante pour considérer le temps de manipulation et de conservation à température ambiante sans effet sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH.

3. Influence des cycles de congélation/décongélation sur la qualité de la détermination de la concentration en AMH

Les échantillons pouvant être recongelés entre une analyse et un éventuel redosage, l'incidence des cycles de congélation/décongélation sur la stabilité de l'AMH a été évaluée.

Pour cela, un échantillon frais de sérum d'étalon a été soumis à 5 cycles de congélation/décongélation sachant que la durée de congélation pour chaque cycle est supérieure à 20 heures et la durée de décongélation est supérieure ou égale à 30 minutes et a lieu à une température de 4°C. Une analyse en duplicata a été conduite (**Tableau IV**).

***Tableau IV** : Influence du nombre de cycles de congélation/décongélation sur la valeur d'AMH mesurée*

AMH : hormone anti-Müllerienne

Nombre de cycles de congélation/ décongélation	Valeurs d'AMH mesurées (en pg/mL)		Concentration en AMH théorique recalculée (en pg/mL)		Concentration en AMH théorique moyenne (en pg/mL)	% d'écart par rapport à une durée de T_0 = 2h
1	316.4	360.3	31640	36030	33835	**0**
2	378.2	331.6	37820	33160	35490	**4.9**
3	308.0	302.5	30800	30250	30525	**9.8**
4	514.7	573.6	51470	57360	54415	**60.8**
5	588.3	576.3	58830	57630	58230	**72.1**

La variabilité analytique sur les 3 premiers cycles de congélation/décongélation n'excède pas 10% et est donc non-significative car du même ordre de grandeur que l'imprécision de la mesure de l'appareil de dosage à laquelle s'ajoute l'imprécision de la dilution. A partir de 4 cycles, elle dépasse 60%. L'augmentation de la concentration en AMH lors des cycles de congélation/décongélation a déjà été observée lors des études de stabilité chez les bovins et a été attribuée à la formation de complexes multimériques.

Pour la suite des expériences, les échantillons ont donc été conservés au congélateur à -18°C et décongelés à température ambiante une voire deux fois si des incohérences dans les valeurs mesurées sont observées.

IV. Résultats

1. Evolution de la concentration en AMH avec l'âge de l'étalon

La concentration en AMH a été mesurée chez des étalons âgés de 4 à 21 ans au cours de la période d'essai. En fonction de leur date d'entrée dans l'étude, les étalons ont été suivis pendant une, deux ou trois années. Les valeurs plasmatiques en AMH de chaque étalon pendant la période de suivi sont représentées dans la **Figure 29**.

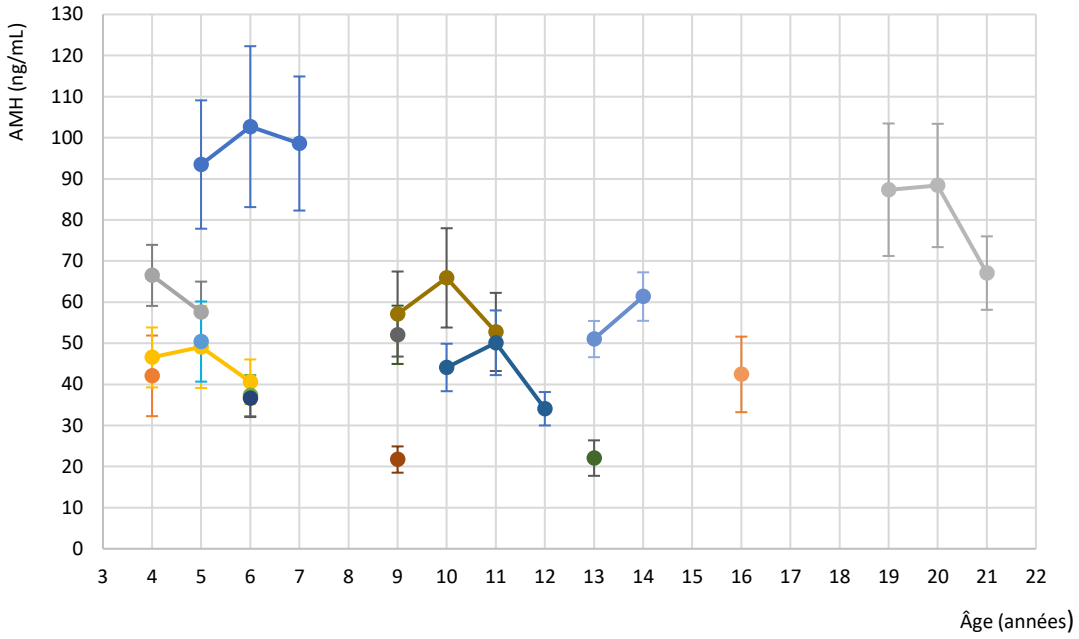

***Figure 29** : Concentration moyenne en AMH chez des étalons en fonction de leur âge*

Les barres d'erreur correspondent à la moyenne +/- un écart type. Chaque couleur représente un étalon, le nombre de points colorés pour chaque étalon représente la durée de suivi (1 point par année de suivi). AMH : hormone anti-Müllerienne

Nous observons que, pour chaque étalon, la concentration plasmatique moyenne en AMH apparaît être raisonnablement stable au cours des années même si une tendance à la diminution peut éventuellement être suggérée pour les étalons suivis sur la plus longue période. Il existe une très grande hétérogénéité de la concentration plasmatique en AMH entre les étalons avec des rapports pouvant aller de 1 à 5 (**Figure 29**). La concentration rapportée en fonction de l'âge de chaque animal ne permet pas de faire ressortir une tendance. En effet, l'analyse de corrélation entre la concentration en AMH et l'âge des animaux n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative entre ces deux paramètres ($p = 0.57$).

Ainsi, il n'y a pas de lien évident de corrélation entre l'âge de l'étalon et sa concentration plasmatique en AMH. Cependant, il apparaît clairement que la variation inter-individuelle prédomine ($p < 0.001$).

2. Evolution de la concentration en AMH au cours de la saison de reproduction

Sur la période d'étude (2017-2019), les prélèvements de sang sur les étalons ont été réalisés une fois par semaine de la première semaine d'avril (semaine 1) à la troisième semaine d'août (semaine 20) afin d'évaluer l'incidence de la saison sur la concentration plasmatique en AMH.

Pour chaque semaine de prélèvement, pour chaque étalon prélevé au cours des différentes années, la déviation à la moyenne de la concentration en AMH, en pg/mL, a été calculée à partir de la moyenne des concentrations individuelles. Cette transformation de variable a été rendue nécessaire du fait de l'importante variabilité inter-individuelle permettant ainsi de minimiser l'impact de cette variation afin d'évaluer une influence potentielle de la saison. Ces résultats sont représentés dans la **Figure 30**.

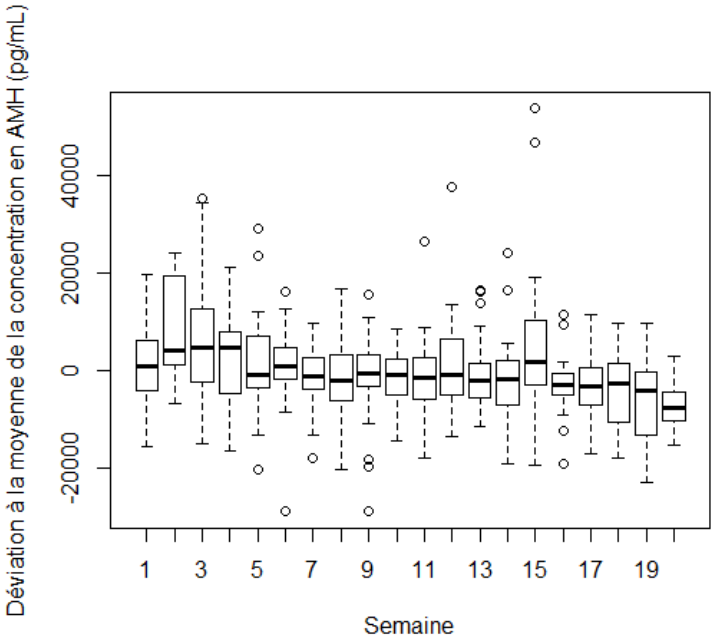

Figure 30 *: Déviation à la moyenne de la concentration en AMH (pg/mL) en fonction de la semaine de prélèvement*

Représentation en box-plot : le trait plein représente la moyenne, le rectangle blanc l'intervalle 25-75%, les traits pointillés l'intervalle de confiance 5-95% et les valeurs extrêmes sont représentées en points creux isolés. AMH : hormone anti-Müllerienne

Sur les 20 semaines de suivi sur, au plus, trois années, il apparaît que la saison de l'année exerce une probable incidence sur la concentration plasmatique en AMH. En effet, l'analyse comparée des variances a montré une différence hautement significative entre la semaine de suivi et la concentration en AMH ($p < 0.001$).

Fort de ce constat et afin de préciser et de visualiser plus facilement les saisons, la même approche a été réalisée en regroupant les points analysés par mois (**Figure 31**).

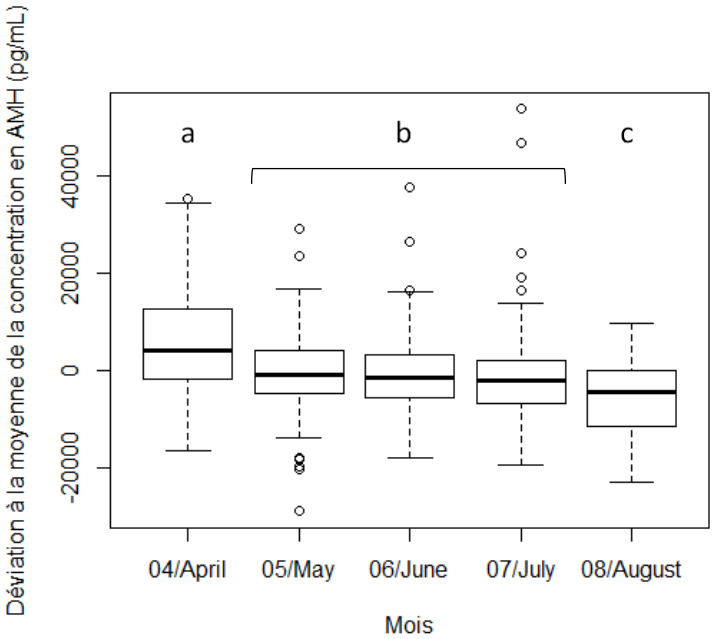

***Figure 31** : Déviation à la moyenne de la concentration en AMH (pg/mL) en fonction du mois de réalisation du prélèvement*

Représentation en box-plot : le trait plein représente la moyenne, le rectangle blanc l'intervalle 25-75%, les traits pointillés l'intervalle de confiance 5-95% et les valeurs extrêmes sont représentées en points creux isolés. (a : début de saison, b : pleine saison et c : période estivale ; différence significative ($p < 0.05$) entre les 3 groupes, test de Bonferroni)
AMH : hormone anti-Müllerienne

En comparant le début de la saison de monte (mois d'avril), la pleine saison (mois de mai à juillet) et la période estivale (mois d'août), on observe une différence significative entre ces trois groupes associée à une diminution progressive de la concentration en AMH plasmatique chez l'étalon.

En conclusion, il apparaît que la saison de monte exerce une influence sur la concentration plasmatique en AMH de l'étalon avec une diminution au cours de la saison de monte (594% de diminution entre le début et la fin de la saison).

3. Lien entre la concentration en AMH et la fertilité chez l'étalon

La fertilité d'un étalon est évaluée à partir de deux paramètres : les performances reproductrices et la qualité de sa semence.

Lien entre la concentration plasmatique en AMH et les performances reproductrices de l'étalon

Pour les 15 étalons suivis au cours de cette étude, la fertilité par chaleur et la fertilité en fin de saison ont été calculées au cours des trois années, au plus, de suivi. Une analyse statistique de recherche de corrélation a été réalisée afin d'évaluer l'existence ou non d'une corrélation entre ces paramètres et la concentration moyenne en AMH pour chaque étalon.

Par ailleurs et compte tenu des techniques d'insémination différentes entre les deux sites de reproduction, les performances reproductrices ont ensuite été évaluées en tenant compte de la méthode de conservation de la semence utilisée pour l'insémination. En effet, nous avons distingué l'insémination artificielle (IA) réalisée avec de la semence fraîche ou avec de la semence réfrigérée et transportée.

Pour chaque indicateur de fertilité, à savoir la fertilité par chaleur et la fertilité en fin de saison, un test de Spearman a été réalisé pour estimer sa corrélation avec la valeur moyenne en AMH de l'étalon correspondant. Lors de l'obtention d'une probabilité (p-value) inférieure à 0.05 témoignant de la corrélation entre les deux paramètres, la rho-value a été calculée afin d'évaluer l'intensité de cette corrélation. Pour une probabilité supérieure à 0.05 témoignant de l'absence de corrélation, la rho-value est non interprétable (NI) (**Tableau V**).

***Tableau V** : Résultats des tests de corrélation statistique entre les indicateurs de fertilité et la concentration moyenne en AMH*

Test de corrélation de Spearman avec indication de la probabilité d'interdépendance (p-value) et de la robustesse de cette dépendance (rho-value).
NI : non interprétable ; AMH : hormone anti-Müllerienne

		p-value	**rho value**
Fertilité par chaleur vs concentration en AMH	Sans distinction de la méthode d'IA	0.87	NI
	Semence fraîche	0.08	NI
	Semence réfrigérée et transportée	0.15	NI
Fertilité en fin de saison vs concentration en AMH	Sans distinction de la méthode d'IA	0.01	-0.48
	Semence fraîche	0.80	NI
	Semence réfrigérée et transportée	0.03	-0.46

L'analyse statistique de Spearman n'a pas permis de mettre en évidence une corrélation entre la fertilité évaluée par les performances de reproduction de l'étalon et sa concentration en AMH. En effet, les deux seules corrélations significatives observées (fertilité en fin de saison sans distinction de la méthode ou après insémination en semence réfrigérée), ne présentaient pas une interdépendance forte (rho-value de -0.48 et -0.46, respectivement) ne permettant ainsi pas de considérer l'existence d'une dépendance entre les performances reproductrices de l'étalon et sa concentration en AMH.

Lien entre la concentration plasmatique en AMH et la qualité de la semence

Sur les trois années de l'étude, deux paramètres évaluant la qualité de la semence ont été mesurés pour chaque étalon à savoir le nombre et la mobilité des spermatozoïdes dans la semence. Les résultats des tests de Spearman sont représentés dans le **Tableau VI**.

***Tableau VI** : Résultats des tests de corrélation statistique entre les indicateurs de la qualité de la semence et la concentration moyenne en AMH*

Test de corrélation de Spearman avec indication de la probabilité d'interdépendance (p-value) et de la robustesse de cette dépendance (rho-value).
NI : non interprétable ; AMH : hormone anti-Müllerienne

Indicateur de la qualité de la semence vs concentration en AMH	**p-value**	**rho value**
Nombre de spermatozoïdes	0.01	0.49
Mobilité des spermatozoïdes	0.57	NI

L'analyse statistique n'a pas permis de mettre en évidence une corrélation entre les paramètres indicateurs de la qualité du sperme et la concentration plasmatique en AMH de l'étalon ($p > 0.05$ ou $p < 0.05$ et rho ≈ 0.50).

Sur la seule année 2019, une analyse plus approfondie des indicateurs de la qualité de la semence a été réalisée en incluant des données sur la mobilité et la présence d'anomalies structurales sur les spermatozoïdes. Un dosage de la concentration en AMH du plasma spermatique a également été conduit et sa valeur a été comparée à celle de la concentration plasmatique sanguine de la même semaine (écart de 3 à 4 jours maximum). Les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau VII**.

***Tableau VII** : Résultats des tests de corrélations entre les indicateurs de la qualité de la semence et la concentration en AMH dans le sang ou dans la semence*

Test de corrélation de Spearman avec indication de la probabilité d'interdépendance (p-value) et de la robustesse de cette dépendance (rho-value).
NI : non interprétable ; AMH : hormone anti-Müllerienne

Corrélation avec la concentration en AMH	*Dans le sang*		*Dans la semence*	
Indicateur de la qualité de la semence	**p-value**	**rho value**	**p-value**	**rho value**
Nombre de spermatozoïdes	0.46	NI	0.50	NI
Mobilité des spermatozoïdes dans la semence pure	0.53	NI	0.43	NI
Mobilité des spermatozoïdes dans la semence diluée	0.86	NI	0.33	NI
Viabilité des spermatozoïdes	0.70	NI	0.96	NI
% de spermatozoïdes normaux	0.76	NI	0.13	NI

L'analyse de corrélation entre ces différents paramètres n'a pas permis de mettre en évidence une corrélation significative entre les critères de qualité du sperme et la concentration en AMH dans le plasma sanguin ou dans le plasma spermatique chez l'étalon. Par ailleurs, les concentrations en AMH dans le sang et dans la semence n'apparaissent pas corrélées ($p = 0.11$).

En conclusion, il n'y a pas d'évidences biologiques statistiques d'interdépendance entre la concentration en AMH dans le plasma sanguin ou dans le plasma spermatique et la fertilité de l'étalon ou les critères de qualité du sperme. Ces résultats rendent difficile d'imaginer pouvoir utiliser ce marqueur comme indicateur des performances reproductives de l'étalon.

V. Discussion

L'AMH, un facteur hormonal apparenté à la famille des TGFβ, est produite par les gonades dès les stades fœtaux. Si son rôle essentiel dans le développement des organes génitaux externes chez le mâle a été identifié dans les années 50 (Jost, 1953), sa sécrétion par les cellules de la granulosa en fin de vie fœtale est de caractérisation plus récente (Vigier *et al*., 1984, Takahashi, 1986).

Parce qu'elle est essentiellement sécrétée par les stades folliculaires primaires et pré-antraux, qu'elle joue un rôle crucial dans la sélection des vagues folliculaires ovariennes et du fait de son rôle d'épargne de la réserve folliculaire (McGee, 2000), son implication dans la fertilité ovarienne a rapidement été explorée. Phénomène partagé par tous les mammifères (dont l'homme, la vache, la jument et les rongeurs notamment) dans le schéma de sélection folliculaire ovarienne, la relation entre le comptage des follicules antraux en croissance et la concentration plasmatique en AMH a ainsi été mise en évidence et plus particulièrement chez les bovins permettant de faire un lien entre la concentration plasmatique en AMH et la fertilité chez la vache (Ireland, 2008). Cette relation entre fertilité et concentration plasmatique en AMH a été renforcée par la corrélation positive qui la lie avec le nombre de corps lutéaux ou le nombre d'embryons collectés dans les programmes de superovulation réalisés chez la vache. Chez la jument, une corrélation positive a également été observée entre l'AMH plasmatique et le nombre de follicules pré-antraux sur des juments d'âge moyen (8-18 ans) et des juments plus âgées (19-27 ans) permettant d'étendre à d'autres espèces ce lien chez la femelle (Traversari *et al.*, 2019).

Chez le mâle, l'AMH est synthétisée par les cellules de Sertoli dès les premiers stades de développement embryonnaire. Chez l'homme, sa sécrétion est initiée dès le 44ème jour de gestation et la concentration testiculaire en AMH est proportionnelle à l'âge du fœtus (Mamsen *et al.*, 2017) alors qu'elle est exprimée dans l'ovaire à partir de la 36ème semaine de gestation (Rajpert-De Meyts *et al.*, 1999). Concernant son action, l'expression du récepteur AMHR2 dans les cellules de Sertoli et de Leydig est en faveur d'un rôle paracrine de cette hormone et de fortes doses d'AMH conduisent à réprimer l'expression d'enzymes impliquées dans la stéroïdogenèse, principalement le P450 17α-hydroxylase/C17–20 lyase (P450c17) d'où une réduction de la sécrétion de testostérone *in vitro* (Racine *et al*., 1998) et *in vivo* (Trbovich *et al*., 2001). De façon concomitante, l'AMH entraîne une diminution de l'expression de la LH expliquant également la diminution de la synthèse de testostérone.

Outre l'intérêt médical qu'offre la possibilité de doser l'AMH plasmatique dans le diagnostic des cryptorchidies ou des anorchidies, on peut s'interroger sur la pertinence de l'utilisation de ce marqueur dans l'évaluation de la fertilité chez le mâle. En effet, physiologiquement, la concentration plasmatique en AMH décroit chez le garçon à partir de la puberté avec l'augmentation de la testostérone et l'initiation de la spermatogenèse (Lee, 1996). Dans le même temps, les cellules de Sertoli produisent de l'AMH à de fortes concentrations, redirigée dans les tubes séminifères, à des concentrations bien plus élevées que celles retrouvées dans le plasma, sans que le rôle de cette hormone soit cerné sur la qualité de la semence et la fertilité. C'est dans cet objectif que cette étude a été conduite.

1. Lien entre âge et AMH

Une des hypothèses testées dans cette étude est celle d'une décroissance de la concentration plasmatique en AMH en lien avec une diminution de l'efficacité de la spermatogenèse avec l'âge. L'ensemble des étalons suivis dans cette étude n'a pas permis de mettre en évidence ce lien hypothétique.

Cette dépendance entre la concentration en AMH et la production des gamètes en lien avec l'âge a toutefois été décrite chez la femme si bien même que la valeur de la concentration plasmatique en AMH est prédictive de la réserve ovarienne (Seifer *et al.*, 2002 ; Themmen, 2005). Une variation de l'AMH plasmatique avec l'âge a également été observée chez les bovins femelles de plusieurs races. Sur la race Maine-Anjou, les veaux femelles montraient une augmentation de la concentration en AMH à partir de 3 mois jusqu'à l'âge de 6 mois. A partir de 7 mois d'âge une décroissance a été observée jusqu'à 12 mois pour atteindre une concentration relativement constante chez l'adulte. Une variation équivalente a été décrite chez la vache Holstein (Alward, Bohlen, 2020). A notre connaissance un déclin de cette concentration accompagnant l'appauvrissement de la réserve ovarienne n'a pas été montré chez la vache. Il faut toutefois reconnaître ici que la vie économique des bovins est sans commune mesure plus courte que leur vie physiologique ne permettant probablement pas de voir sur une courte échelle cette diminution du fait de l'héritabilité très faible du nombre de jours d'activité économique des bovins qui est de l'ordre de 0,03 à 0,07 (Singhapol, Muller, 2011).

Chez la jument, des études ont montré une augmentation de la concentration plasmatique en AMH jusqu'à l'âge de 16-18 ans puis une décroissance progressive avec l'âge de l'animal. Après l'âge de 20 ans, il apparaît un effondrement beaucoup plus rapide de la concentration plasmatique en AMH témoignant d'une probable accélération de la déplétion en oocytes avec la sénescence ovarienne accompagnant vraisemblablement une diminution de la fertilité chez la jument (Ball *et al.*, 2019 ; Uliani *et al.*, 2019).

Chez le mâle, la concentration en AMH reste élevée jusqu'à la puberté, à l'exception de la période périnatale qui s'accompagne d'un déclin de cette concentration. Avec l'acquisition de la maturité sexuelle, les cellules de Sertoli, productrices d'AMH, arrêtent de proliférer et deviennent mâtures. La concentration en AMH diminue alors, concomitamment avec la montée de la synthèse en testostérone, et se stabilise pendant l'âge adulte (Grinspon, Rey, 2010). Ceci se vérifie chez l'étalon puisque la concentration plasmatique en AMH de l'étalon post-pubère a également été observée plus basse que celle du nouveau-né ou de poulains mâles prépubères (Claes *et al.*, 2013).

Par ailleurs, le nombre de cellules de Sertoli est aussi associé au nombre de spermatozoïdes produits dans la semence (Fenichel *et al.*, 1999). On peut d'ailleurs supposer que c'est la disparition de ces cellules qui est objectivée lors de la dégénérescence testiculaire, cause commune de subfertilité ou d'infertilité chez l'étalon (Pozor *et al.*, 2018). En ce sens, l'AMH aurait ainsi pu être un marqueur de la dégénérescence testiculaire avec l'âge, ce qui ne semble pas être confirmé par notre étude.

2. Variations interindividuelles de la concentration en AMH

Chez la femelle, alors que les variations journalières de la concentration plasmatique en AMH restent modestes, de grandes disparités dans ces concentrations entre différentes espèces ou différentes races ont été mises en évidence notamment chez les bovins. Ainsi, des variétés rustiques bovines comme la Tabapua brézilienne ou le Nelore (*Bos taurus indicus*) présentent des concentrations basales en AMH plus élevées que la vache Holstein (Maculan *et al.*, 2018). De plus, une forte disparité interindividuelle avait été observée chez la vache et ce sont sur cette base que les liens avec le comptage folliculaire et les performances économiques avaient été établies (Ireland *et al.*, 2008 ; Jimenez-Krassel *et al.*, 2015).

Les informations sur la disparité des concentrations plasmatiques en AMH chez le mâle ainsi que sur les variations entre les races sont éparses mais apparaissent chez différentes espèces animales. Dans notre étude, la variation des concentrations individuelles est importante avec un facteur de 1 à environ 5. Cette importante variabilité individuelle n'avait à ce jour pas été rapportée chez l'étalon et il est probable qu'elle rende difficile l'utilisation de l'AMH plasmatique comme un marqueur de la fertilité au sein d'une population d'étalons. Cette limitation d'usage est celle d'ailleurs rapportée en humaine (Kelsey *et al.*, 2011). Ces variations individuelles pourraient éventuellement être le fait de la disparité des races engagées dans l'étude mais cela apparaît peu probable puisque, au sein de la population la plus représentée, la variabilité intrinsèque restait forte.

3. Saisonnalité de la sécrétion d'AMH

La concentration plasmatique en AMH de l'étalon fluctue en fonction de la saison, la valeur basale étant plus élevée pendant la saison de monte.

La saisonnalité dans la sécrétion est d'apparence variable en fonction des espèces. Chez le cheval, cette importante variabilité saisonnière est attribuée aux profondes modifications endocriniennes qui accompagnent la mise au repos de l'activité sexuelle en dehors de la période de la reproduction, notamment la sécrétion des gonadotropines et la synthèse des stéroïdes sexuels incluant la testostérone (Taya *et al.*, 2000 ; Claes *et al*., 2013). Ainsi, la principale étude réalisée à ce sujet chez l'étalon montre une légère augmentation à partir du mois de mai pour atteindre un maximum en juin (x 1.7) puis redescendre progressivement à son statut basal à partir de juillet (Claes *et al.*, 2013). Notre étude montre également une légère modification des concentrations plasmatiques en AMH, celles-ci étant plus élevées au mois d'avril.

Cette saisonnalité, bien que compréhensible du fait de la forte dépendance de la reproduction à la saison dans cette espèce, soulève plusieurs interrogations. La première concerne la précocité du pic d'AMH observé dans notre étude, de près de deux mois comparé au pic observé dans l'étude de Claes *et al*. Cette différence pourrait s'expliquer par une photopériode plus courte en hiver et plus longue en été à Örebro en Suède (à une latitude de 59.27412) comparée à celle de l'étude menée par Claes à l'université UC Davis en Californie (à une latitude de 38.544907). En effet, la photopériode a une forte influence sur la reproduction chez les étalons (Clay *et al.*, 1987).

Un autre questionnement réside sur le fait que l'évolution observée soit une augmentation de la concentration en AMH. En effet, comme évoqué précédemment, la concentration en AMH diminue du stade fœtal puis prépubère au stade post-pubère (Claes *et al.*, 2013) expliqué davantage par la stéroïdogenèse et la répression exercée par la testostérone que par la reprise de l'activité gonadotropique et des hormones dédiées comme l'inhibine et l'IGF-1 (Harris *et al.*, 1983 ; McDonnell, 1986 ; Nagata *et al.*, 1998 ; Taya et al., 2000 ; Dhakal, 2011). Cette augmentation pourrait éventuellement s'expliquer par une augmentation du nombre de cellules de Sertoli accompagnant l'augmentation de taille testiculaire avec l'arrivée de la saison de monte (Naden *et al.*, 1990). En effet, le nombre de spermatozoïdes est assujetti au nombre de cellules de Sertoli même si leur maturation pendant la spermatogenèse conduit à diminuer la sécrétion d'AMH (Johnson, Thompson, 1983 ; Johnson, Nguyen, 1986 ; Fenichel *et al.*, 1999 ; Roser, 2008 ; Grinspon, Rey, 2010).

Peu d'études renseignent sur la saisonnalité de la sécrétion en AMH et plus particulièrement chez le mâle. Parmi les espèces chez lesquelles la reproduction est saisonnière, l'étalon et le lamantin mâle ont montré des variations saisonnières de la concentration plasmatique en AMH (Wilson *et al.*, 2011 ; Claes *et al.*, 2013). Le belouga est également une espèce à reproduction saisonnière mais chez laquelle aucune variation n'a été observée dans la sécrétion d'AMH entre la saison de reproduction et la saison sans activité reproductive (Montano *et al.*, 2016). Chez le Pika, les variations d'expression en AMH accompagnent les profondes modifications morphologiques observées dans le testicule lors de l'arrêt de la période de reproduction (Liu *et al.*, 2016). Pour des espèces non saisonnières comme les primates, aucune variation n'a été observée chez les femelles de singe Rhésus ou de Cynomolgus (Long *et al*., 2018).

Chez la femme, les auteurs s'accordent à penser qu'il n'y a pas de variations saisonnières dans la sécrétion en AMH en dehors de l'influence de l'âge. Toutefois, des variations ont été observées chez la femme et chez l'homme avec une diminution hivernale de la concentration plasmatique sur des populations néo-zélandaise (Denis et al., 2012). Ces variations ont été attribuées aux diminutions de concentrations plasmatiques en vitamine D pendant cette saison. Ainsi, l'AMH apparaît rester dépendante de conditions environnementales comme la photopériode, la température et de facteurs nutritionnels (Dennis *et al.*, 2012 ; Claes *et al.*, 2013, Succu *et al*., 2020).

Ces changements hormonaux saisonniers sont en lien avec la régulation de la fonction testiculaire et l'augmentation de la production de cellules de Sertoli pendant la saison de reproduction (Johnson, Thompson, 1983 ; Johnson, Nguyen, 1986 ; Roser, 2008). Ainsi, comme les hormones citées précédemment, l'AMH pourrait avoir un impact ou être un indicateur des performances reproductives chez l'étalon et, par exemple, de sa production de spermatozoïdes comme c'est le cas chez l'homme notamment (Fénichel *et al*., 1999 ; Fujisawa *et al*., 2002).

4. Lien entre fertilité et AMH

Bien que le lien entre les concentrations en AMH et la capacité de la femelle à répondre à une stimulation hormonale exogène a été établi chez la femme et les bovins (Seifer *et al*., 2002 ; Gruijters *et al*., 2003 ; Ireland *et al*., 2008 ; Rico *et al.*, 2009), son utilisation en tant qu'indicateur de la fertilité lors de conception naturelle n'est pas clairement acceptée. Certains éléments montrent une corrélation avec la fertilité de la femme lors de conception naturelle (Baird, Steiner, 2011) mais les succès reproducteurs sur des concentrations en AMH effondrées remettent en cause ce postulat (Kelsey *et al.*, 2011). Des concentrations élevées, comme celles rencontrées lors d'ovaires polykystiques (Tremellen, Zander-Fox, 2015) chez la femme ou de tumeurs de la granulosa chez la jument (Claes, Ball 2016 ; Renaudin *et al.*, 2021) s'accompagnent d'une infertilité. Des concentrations anormalement élevées sans identification d'une tumeur ovarienne ont également été rencontrées chez une femelle belouga infertile (Montano *et al.*, 2016). Chez les vaches, l'AMH est représentative du nombre de follicules et d'oocytes, paramètres représentant une caractérisation phénotypique de l'activité de l'ovaire hautement répétable au sein des individus (Ireland *et al*., 2010). De plus, l'AMH plasmatique a été montrée comme étant positivement associée à la productivité chez les bovins, à savoir le délai entre la naissance et l'âge du premier veau, de même qu'elle est un indicateur de la réponse à la superovulation et donc quelque part de la fertilité (Ireland *et al.*, 2010 ; Jimenez-Krassel *et al.*, 2015 ; Mossa *et al.*, 2017).

Ainsi, un certain nombre d'éléments convergent pour considérer que l'AMH puisse être un marqueur pertinent de la fertilité dans différentes espèces animales (Umer *et al*., 2019). Ces données reposent principalement sur des observations obtenues chez la femelle comme le lien avec le comptage folliculaire chez la vache laitière, la jument ou le mouton par exemple (Ireland *et al.*, 2010, Claes *et al*., 2015, Waheeb *et al.*, 2017). A contrario, très peu d'éléments bibliographiques sont disponibles concernant le lien potentiel entre l'AMH plasmatique et la fertilité chez le mâle alors que cette hormone est utilisée depuis de nombreuses années pour évaluer la fonction testiculaire chez l'homme (Josso *et al.,* 1990 ; Rey, Josso, 1996).

Comme évoqué précédemment, avec la puberté les cellules de Sertoli s'engagent dans un processus de maturation et arrêtent de proliférer conduisant à une diminution de la concentration plasmatique en AMH (Grinspon, Rey, 2010). Or, dans certains processus de dégénérescence testiculaire ou lors de cryptorchidie, les cellules de Sertoli peuvent subir un certain degré de dé-différentiation et se mettent à produire de nouveau de l'AMH contribuant à l'augmentation des valeurs plasmatiques (Sharpe *et al.*, 2003). Ainsi, la concentration plasmatique en AMH apparaît être un marqueur pertinent de la baisse de fertilité lors de dégénérescence testiculaire, cause fréquente d'infertilité chez l'étalon, et notamment lors des épisodes aigus induits de dégénérescence testiculaire (Pozor *et al.*, 2018). En effet, dans l'étude de Pozor *et al.*, l'administration par voie orale d'un cytotoxique conduisit à une augmentation initiale de 40 à 150% de la concentration plasmatique en AMH avant de décliner progressivement, observation accompagnée d'une augmentation de l'immunomarquage en AMH des cellules de Sertoli (Pozor *et al*., 2018).

Ce mécanisme est également observé physiologiquement avec un immunomarquage en AMH est plus faible sur les testicules adultes et actifs pour la spermatogenèse que chez le poulain ou le fœtus (Claes et al., 2013).

Ces éléments tendant à montrer que la concentration plasmatique en AMH suit inversement le degré de maturation des cellules de Sertoli comme observé chez l'homme lors de traitements anticancéreux (Levi *et al.*, 2015). Et, le degré d'immaturité des cellules de Sertoli s'accompagne d'infertilité chez l'homme (Steger *et al.*, 1996 ; Maymon *et al.,* 2002). Pourtant, le lien entre l'AMH et la fertilité chez le mâle reste non établi. Ainsi, par exemple, l'administration d'antagonistes GnRH, entraînant une diminution de la taille testiculaire et du nombre de spermatozoïdes, ne s'accompagne pas d'une modification de la concentration en AMH (Dewailly *et al.*, 2016). Par contre, la résolution d'une cytotoxicité induite s'accompagne d'une reprise de la spermatogenèse avec une diminution de la concentration en AMH plasmatique qui redevient alors équivalente à celle du pré-traitement (Pozor *et al.*, 2018). De même, il y a une forte corrélation négative entre l'AMH plasmatique et la concentration en testostérone dans le parenchyme testiculaire, élément indispensable à l'induction de la spermatogenèse. Lors d'utilisation d'agents anti-cancéreux, les profils hormonaux chez l'homme montrent une augmentation de la concentration en AMH, FSH et testostérone associée à une diminution de celle de l'inhibine B. Et, chez la souris, aucune reprise de la spermatogenèse n'a été observée après l'administration de busulfan et tant que l'AMH continuait d'augmenter (Levi *et al*., 2015).

En dépit de ces liens fonctionnels, notre étude n'a pas permis de mettre en évidence de lien entre l'AMH sanguin et l'ensemble des indicateurs de fertilité de l'étalon. Comme la production de spermatozoïdes est initiée au niveau des cellules de Sertoli, elles-mêmes productrices d'AMH, nous avons émis l'hypothèse que la concentration en AMH du plasma séminal puisse être un meilleur indicateur de la qualité du sperme. Parmi l'ensemble des éléments pris en compte, comme la quantité de spermatozoïdes ou leurs anomalies morphologiques, aucun n'était corrélé à la concentration en AMH dans le sperme.

La relation entre le comptage spermatique et l'AMH du plasma sérique ou séminal chez l'homme n'apparaît pas clairement. Alors que l'étude de Duvilla *et al.* mettait en évidence une corrélation positive entre la concentration séminale en AMH et le comptage spermatique, celle de Goulis *et al*. montrait une diminution de l'AMH lors d'azoospermie non obstructive (Duvilla *et al*., 2008 ; Goulis *et al*., 2008). Chez des patients obèses, une diminution du nombre de spermatozoïdes, une augmentation des altérations structurales ainsi qu'une diminution de leur mobilité ont été observées avec une corrélation positive avec la concentration en AMH (Håkonsen *et al*., 2011). D'autres études n'ont pas permis de mettre en évidence un lien entre l'AMH plasmatique et le comptage spermatiques ou encore entre la concentration sérique en AMH et l'activité enzymatique acrosomale (Kucera *et al.,* 2016).

Ainsi, mêmes si les études apparaissent contradictoires, il est difficile de considérer l'existence d'un lien fort entre la concentration sérique et/ou séminale en AMH et la fertilité du mâle. Même pondéré par la race voire l'individu, il apparaît difficile d'exploiter ce paramètre comme un marqueur de fertilité du mâle. Il semble plus raisonnable de la considérer comme un élément d'information de l'évolution structurale du testicule et de conserver son usage dans le diagnostic des infertilité.

CONCLUSION

Du fait de l'importance économique des étalons dans les élevages, le vétérinaire équin constitue un acteur majeur dans le suivi et le diagnostic des causes de baisse de fertilité ou d'infertilité chez l'étalon. Toutefois, peu d'indicateurs biologiques sont actuellement disponibles pour l'orienter dans ses choix le limitant à l'analyse rétrospective des performances de l'étalon sur une ou plusieurs saisons.

Dans ce contexte, l'AMH plasmatique a été suivie sur un groupe d'étalons pendant une ou plusieurs saisons de monte et a été comparée aux performances reproductrices de l'animal. Par sa variabilité interindividuelle importante, l'AMH plasmatique de l'étalon ne semble pas être un marqueur pertinent pour évaluer la fertilité d'un animal donné et, notre étude n'a pas permis de mettre en évidence un lien entre cette concentration et les performances reproductives de l'animal, pas plus qu'avec les différents indicateurs biologiques de la qualité de sa semence. Elle reste néanmoins un témoin plasmatique de l'activité testiculaire comme en témoigne la variation de sa concentration au cours de la saison de monte, présentant un pic plasmatique en Avril-Mai, période correspondant aux modifications comportementales de l'étalon et à la reprise de sa spermatogenèse. La stabilité de la concentration moyenne en AMH, pour le même animal, observée dans cette étude sur la période maximale évaluée de trois années, laisse toutefois considérer que cette hormone puisse s'avérer utile, à des fins diagnostiques, pour le suivi de la dégénérescence testiculaire survenant avec l'âge de l'animal.

De profondes ignorances restent associées à l'importance biologique de cette hormone chez l'étalon sexuellement mature. Il est difficilement concevable que, aux vues des concentrations produites par le testicule en activité, cette hormone ne joue pas un rôle dans la production et la fertilité de la semence. Présente dans le plasma séminal en fortes concentrations, il est possible que cette dernière soit davantage le reflet de la spermatogenèse alors que la fraction plasmatique ne serait pas un reflet exact de l'activité testiculaire du fait de la barrière hémato-testiculaire. Une étude portée sur les caractéristiques biologiques du sperme pourrait lever cette ambiguïté.

BIBLIOGRAPHIE

Al-Attar, L., *et al.* (1997). Hormonal and cellular regulation of Sertoli cell anti-Müllerian hormone production in the postnatal mouse. *The Journal of Clinical Investigation,* 100(6), pp. 1335-1343.
Disponible sur : https://doi.org/10.1172/JCI119653

Almeida, J., *et al.* (2011). Biological and clinical significance of anti-Müllerian hormone determination in blood serum of the mare. *Theriogenology,* 76(8), pp. 1393-1403.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.008

Alward, K. J., Bohlen, J. F. (2020). Overview of Anti-Müllerian hormone (AMH) and association with fertility in female cattle. *Reproduction in Domestic Animals,* 55(1), pp. 3-10.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/rda.13583

Arkoun, B., *et al*. (2014). Stallion spermatozoa : putative target of estrogens; presence of the estrogen receptors ESR1, ESR2 and identification of the estrogen-membrane receptor GPER. *General and Comparative Endocrinology,* 200, pp. 35-43.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.02.016

Baird, D.D., Steiner, A.Z., (2011). Anti-müllerian hormone (AMH) and repetitive oocyte donation. *Fertil Steril*, 95(1), pp. 5-6.
Disponible sur https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.09.051

Ball, B. A., *et al.* (2008). Expression of anti-Müllerian hormone (AMH) in the equine testis. *Theriogenology,* 69(5), pp. 624-631.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.11.009

Ball, B. A., *et al.* (2008). Expression of anti-Müllerian hormone (AMH) in equine granulosa-cell tumors and in normal equine ovaries. *Theriogenology,* 70(6), pp. 968-977.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.059

Ball, B. A., *et al.* (2019). Relationship between anti-Müllerian hormone and fertility in the mare. *Theriogenology,* 125, pp. 335-341.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.005

Barrier-Battut, I., *et al.* (2016). Development of a new fertility prediction model for stallion semen, including flow cytometry. *Theriogenology,* 86(4), pp. 1111-1131.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.001

Barrier-Battut, I., *et al.* (2017). Testicules : examen, mesure et corrélation avec la production. *Equipédia ifce,* [En ligne]. Consulté le 01 Octobre 2020.
URL : https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/etalon/examen-mesure-des-testicules-et-production

Behringer, R. R., *et al.* (1990). Abnormal sexual development in transgenic mice chronically expressing Müllerian inhibiting substance. *Nature,* 345, pp. 167-170.
Disponible sur : https://doi.org/10.1038/345167a0

Bertone-Johnson, E., *et al*. (2018). Anti-Müllerian hormone levels and incidence of early natural menopause in a prospective study. *Human Reproduction*, 33(6), pp. 1175-1182.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humrep/dey077

Brito, L. F. (2007). Evaluation of Stallion Sperm Morphology. *Clinical Techniques in Equine Practice,* 6(4), pp. 249-264.
Disponible sur : https://doi.org/10.1053/j.ctep.2007.09.004

Claes, A., *et al.* (2013). Serum anti-Müllerian hormone concentrations in stallions: Developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology,* 79(9), pp. 1229-1235.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.03.019

Claes, A., *et al.* (2015). The interrelationship between anti-Müllerian hormone, ovarian follicular populations and age in mares. *Equine veterinary journal,* 47(5), pp. 537-541.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/evj.12328

Claes, A. N., Ball, B. A., (2016). Biological Functions and Clinical Applications of Anti-Müllerian Hormones in Stallions and Mares. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice,* 32(3), pp. 451-464.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.07.004

Clay, C., *et al.* (1987). Influences of season and artificial photoperiod on stallions : testicular size, seminal characteristics and sexual behavior. *Journal of Animal Science,* 64(2), pp. 517-525.
Disponible sur : https://doi.org/10.2527/jas1987.642517x

Coutinho da Silva, M.A., (2016). Advances in Diagnostic and Therapeutic Techniques in Equine Reproduction. *Veterinary clinics of North America : Equine practice,* 32(3), p. 39.

Cox, J.E., (1986). Behaviour of the false rig : causes and treatments. *The Veterinary Record,* 118(13), pp. 353-356.
Disponible sur : http://dx.doi.org/10.1136/vr.118.13.353

Cox, J.E., *et al.* (1973). Testosterone in normal, cryptorchid and castrated male horses. *Equine Veterinary Journal,* 5(2), pp. 85-90.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1973.tb03200.x

Crespo, F., *et al*. (2020). Effect of season on individual stallion semen characteristics. *Animal Reproduction Science*, 223, pp. 1-11.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106641

Davies Morel, M. C., (2015). Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management. 4th Edition : *CABI Publishing*. 434 p.

Dennis, N.A., *et al*. (2012). The Level of Serum Anti-Müllerian Hormone Correlates with Vitamin D Status in Men and Women But Not in Boys. *The journal of clinical endocrinology and metabolism*, 97(7), pp. 2450-2455.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/jc.2012-1213

Dewailly, D., *et al.* (2016). Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. *Human reproduction update*, 22(6), pp. 709-724.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humupd/dmw027

Dhakal, P., *et al.* (2011). Annual Changes in Day-length, Temperature, and Circulating Reproductive Hormones in Thoroughbred Stallions and Geldings. *Journal of Equine Science,* 22(2), pp. 29-36.
Disponible sur : https://doi.org/10.1294/jes.22.29

di Clemente, N., Belville, C., (2006). Anti-Müllerian hormone receptor defect. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism,* 20(4), pp. 599-610.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.beem.2006.09.004

Donahoe, P. K., *et al.* (2003). Enhanced purification and production of Müllerian inhibiting substance for therapeutic applications. *Molecular and Cellular Endocrinology,* 211(1-2), pp. 37-42.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.09.009

Driancourt, M. A., *et al.* (1982). Ovarian follicular populations in pony and saddle-type mares. *Reproduction Nutrition Development,* 22(6), pp. 1035-1047.
Disponible sur : https://doi.org/10.1051/rnd:19820714

Durlinger, A. L., *et al.* (2001). Anti-Müllerian Hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology,* 142(11), pp. 4891-4899.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/endo.142.11.8486

Durlinger, A. L., *et al.* (2002). Regulation of ovarian function : the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction,* 124(5), pp. 601-609.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/rep.0.1240601

Duvilla, E., *et al.* (2008). Significance of inhibin B and anti-Müllerian hormone in seminal plasma: a preliminary study. *Fertility and sterility*, 89(2), pp. 444-448.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.03.032

El-Halawaty, *et al.* (2011). Assessment of male serum anti-Mullerian hormone as a marker of spermatogenesis and ICSI outcome. *Gynecological Endocrinology*, 27(6), pp. 401-405.
Disponible sur : https://doi.org/10.3109/09513590.2010.495433

Erickson, B. H., (1966). Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *Journal of Animal Science*, 25(3), pp. 800-805.
Disponible sur : https://doi.org/10.2527/jas1966.253800x

Fallat, M. E., *et al.* (1997). Müllerian-inhiting substance in follicular fluid and serum : a comparison of patients with tubal factor infertility, polycystic ovary syndrome, and endometriosis. *Fertility and sterility*, 67(5), pp. 962-965.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/s0015-0282(97)81417-3

Fénichel, P., *et al.* (1999). Anti-Müllerian hormone as a seminal marker for spermatogenesis in non-obstructive azoospermia. *Human Reproduction*, 14(8), pp. 2020-2024.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humrep/14.8.2020

Freeman, E. W., *et al.* (2012). Anti-Mullerian hormone as a predictor of time to menopause in late reproductive age women. *The journal of clinical endocrinology and metabolism,* 97(5), pp. 1673-1680.
Disponible sur https://doi.org/10.1210/jc.2011-3032

Freidman, R., *et al.* (1991). The effects of increase testicular temperature on spermatogenesis in the stallion. *Journal of Reproduction and Fertility*, 44, pp. 127-134.

Fujisawa, M., *et al.* (2002). The significance of anti-Müllerian hormone concentration in seminal plasma for spermatogenesis. *Human Reproduction*, 17(4), pp. 968-970.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humrep/17.4.968

Gleicher, N., *et al.* (2010). Anti-Müllerian hormone (AMH) defines, independent of age, low versus good live birth chances in women with severely diminished ovarian reserve. *Fertility and Sterility*, 94(7), pp. 2824-2827.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.04.067

Goulis, D.G., *et al.* (2008). Serum anti-Müllerian hormone levels differentiate control from subfertile men but not men with different causes of subfertility. *Gynecological Endocrinology,* 24(3), pp. 158-160.
Disponible sur : https://doi.org/10.1080/09513590701672314

Greiser, T., *et al.* (2020). Breed and stallion effects on frozen-thawed semen in warmblood, light and quarter horses. *Theriogenology,* 142, pp. 8-14.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.033

Griffin, P., (2000). The breeding soundness examination in the stallion. *Journal of Equine Veterinary Science*, 20(3), pp. 168-171.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0737-0806(00)80129-X

Grinspon, R.P., Rey, R.A., (2010). Anti-müllerian hormone and sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Hormone research in paediatrics*, 73(2), pp. 91-92.
Disponible sur : https://doi.org/10.1159/000277140

Gruijters M.J.G., *et al.* (2003). Anti-Müllerian hormone and its role in ovarian function. *Molecular and cellular endocrinology*, 211(1-2), pp. 85-90.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.09.024

Håkonsen, L.B., *et al.* (2011). Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reproductive health*, (8)24.
Disponible sur : https://doi.org/10.1186/1742-4755-8-24

Harris, *et al.* (1983). Seasonal changes in serum levels of FSH, LH and testosterone and in semen parameters in stallions. *Theriogenology*, 19(3), pp. 311-322.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/0093-691X(83)90087-0

Hejmej, A., *et al.* (2005). Expression of aromatase and oestrogen receptors in reproductive tissues of the stallion and a single cryptorchid visualised by means of immunohistochemistry. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(3), pp. 534-547.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.03.002

Hirobe, S., *et al.* (1994). Müllerian Inhibiting Substance gene expression in the cycling rat ovary correlates with recruited or Graafian follicle selection. *Biology of reproduction*, 50(6), pp. 1238-1243.
Disponible sur : https://doi.org/10.1095/biolreprod50.6.1238

Holst, B. S., Dreimanis, U., (2015). Anti-Müllerian hormone : a potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumours. *BCM Veterinary Research*, 11(166), pp. 1-7.
Disponible sur : https://doi.org/10.1186/s12917-015-0487-5

Ireland, J. L., *et al.* (2008). Antral Follicle Count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of reproduction*, 79(6), pp. 1219-1225.
Disponible sur : https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.071670

Ireland, J.J., *et al.* (2010). Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 23(1), pp. 1-14.
Disponible sur : https://doi.org/10.1071/RD10226

Janett, F., *et al.* (2009). Suppression of testicular function and sexual behavior by vaccination against GnRH in the adult stallion. *Animal Reproduction Science*, 115(1-4), pp. 88-102.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.11.011

Jann, H. W., Rains, J. R., (1990). Diagnostic ultrasonography for evaluation of cryptorchidism in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(2), pp. 297-300.

Jimenez-Krassel, F., *et al*. (2015). Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with productive herd life. *Journal of dairy science,* 98(5), pp. 3036-3045.
Disponible sur : https://doi.org/10.3168/jds.2014-8130

Johnson, L., Thompson, D.L., (1983). Age-Related and Seasonal Variation in the Sertoli Cell Population, Daily Sperm Production and Serum Concentrations of Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone and Testosterone in Stallions. *Biology of reproduction*, 29(3), pp. 777-789.
Disponible sur : https://doi.org/10.1095/biolreprod29.3.777

Johnson, L., Nguyen, H.B., (1986). Annual cycle of the Sertoli cell population in adult stallions. *Journals of Reproduction and Fertility*, 76(1), pp. 311-316.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/jrf.0.0760311

Johnson, L., Tatum, M. E., (1989). Temporal appearance of seasonal changes in numbers of Sertoli cells, Leydig cells, and germ cells in stallions. *Biology of reproduction*, 40(5), pp. 994-999.
Disponible sur : https://doi.org/10.1095/biolreprod40.5.994

Johnson, L., *et al.* (1997). Factors affecting spermatogenesis in the stallion. *Theriogenology*, 48(7), pp. 1199-1216.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00353-1

Josso, N., (1986). Anti-Müllerian Hormone. *Clinical Endocrinology*, 25, pp. 331-345.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1986.tb01699.x

Josso, N., *et al,* (1990). An enzyme linked immunoassay for anti-müllerian hormone: a new tool for the evaluation of testicular function in infants and children. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism,* 70(1), pp. 23-27.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/jcem-70-1-23

Josso, N., *et al.* (1998). The role of anti-Müllerian hormone in gonadal development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 145(1-2), pp. 3-7.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0303-7207(98)00186-5

Josso, N., *et al.* (2001). Anti-Müllerian hormone and its receptors. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 179(1-2), pp. 25-32.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00467-1

Josso, N., *et al.* (2005). AMH and AMH receptor defects in persistant Müllerian duct syndrome. *Human Reproduction Update*, 11(4), pp. 351-356.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humupd/dmi014

Josso, N., (2008). Professor Alfred Jost: the builder of modern sex differentiation. *Sexual Development,* 2(2), pp. 55-63.
Disponible sur : https://doi.org/10.1159/000129690

Jost, A., (1953). Problems of fetal endocrinology : the gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Progress in Hormone Research*, 8, pp. 379-418.

Jussiaux, M., Trillaud, C., (1977). La reproduction chez le cheval. 1. L'étalon. : *André Leson*.

Kareskoski, M., Katila, T., (2008). Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Animal Reproduction Science*, 107(3-4), pp. 249-256.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.04.013

Kelsey, T.W., *et al.* (2011). A validated model of serum anti-müllerian hormone from conception to menopause. *PloS one,* 6(7), pp. 22024.
Disponible sur : https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022024

Kitahara, G., *et al.* (2012). Anti-Müllerian hormone (AMH) profiles as a novel biomarker to evaluate the existence of a functional cryptorchid testis in Japanese Black calves. *Journal of Reproduction and Development*, 58(3), pp. 310-315.
Disponible sur : https://doi.org/10.1262/jrd.11-072T

Kitahara, G., *et al.* (2012). Anti-Müllerian hormone profiles as a novel biomarker to diagnose granulosa-theca cell tumors in cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 58(1), pp. 98-104.
Disponible sur : https://doi.org/10.1262/jrd.11-101T

Kitahara, G., *et al.* (2018). Characterization of anti-Müllerian hormone in a case of bovine male pseudohermaphroditism. *Reproduction in Domestic animals*, 53(3), pp. 809-813.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/rda.13149

Knebelmann, B., *et al.* (1991). Anti-Müllerian hormone Bruxelles: A nonsense mutation associated with the persistent Mullerian duct syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(9), pp. 3767-3771.
Disponible sur : https://doi.org/10.1073/pnas.88.9.3767

Koch, C., *et al.* (2009). How to construct and apply a penile repulsion device (Probang) to manage paraphimosis. *AAEP PROCEEDINGS*, 55, pp. 338-341

Kruszynska, A., Słowińska-Srzednicka, J., (2017). Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause. *Menopause Review*, 16(2), pp. 47-50.
Disponible sur : https://doi.org/10.5114/pm.2017.68591

Kucera, R., *et al.* (2016). Anti-Müllerian hormone in serum and seminal plasma in comparison with other male fertility parameters. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 62(3), pp. 223-226.
Disponible sur : https://doi.org/10.3109/19396368.2016.1161864

Kuroda, T., *et al.* (1990). Mullerian Inhibiting Substance Ontogeny and its modulation by Follicle-Stimulating Hormone in the rat testes. *Endocrinology*, 127(4), pp. 1825-1832.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/endo-127-4-1825

Kuroda, T., *et al.* (1991). Müllerian Inhibiting Substance production and cleavage is modulated by gonadotropins and steroids. *Endocrinology*, 129(6), pp. 2985-2992.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/endo-129-6-2985

La Marca, A., Volpe, A., (2007). The Anti-Müllerian hormone and ovarian cancer. *Human Reproduction Update*, 13(3), pp. 265-273.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humupd/dml060

La Marca, A., *et al.* (2010). Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update*, 16(2), pp. 113-130.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humupd/dmp036

Lee, M.M., *et al.* (1996). Mullerian Inhibiting Substance in Humans : Normal Levels from Infancy to Adulthood. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81(2), pp. 571-576.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/jcem.81.2.8636269

Lee, M. M., *et al.* (2003). MIS/AMH in the assessment of cryptorchidism and intersex conditions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 211 (1-2), pp. 91-98.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.09.014

Levi, M., *et al.* (2015). Anti-Müllerian Hormone Is a Marker for Chemotherapy-Induced Testicular Toxicity. *Endocrinology,* 156(10), pp. 3818-3827.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/en.2015-1310

Ley, W. B., Slusher, S. H., (2007). Infertility and Diseases of the Reproductive Tract of Stallions, Chapter 3 : *Elsevier*.

Liu, M., *et al.* (2016). Changes in the morphology and protein expression of germ cells and Sertoli cells in plateau pikas testes during non-breeding season. *Scientific Reports*, 6, 22697.
Disponible sur : https://doi.org/10.1038/srep22697

Long, H., *et al.* (2018). Age-related nomograms of serum anti-Mullerian hormone levels in female monkeys: Comparison of rhesus (Macaca mulatta) and cynomolgus (Macaca fascicularis) monkeys. *General and comparative endocrinology,* 269, pp. 171-176.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.09.012

Love, C.C., (2016). Modern techniques for semen evaluation. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice*, 32(3), pp. 531-546.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.07.006

MacLachlan, N.J., (1987). Ovarian disorders in domestic animals. *Environmental Health Perspectives*, 73, pp. 27-33.
Disponible sur : https://doi.org/10.1289/ehp.877327

Maculan, R., *et al.* (2018). Anti-Müllerian Hormone (AMH), antral follicle count (AFC), external morphometrics and fertility in Tabapuã cows. *Animal reproduction science,* 189, pp. 84-92.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.011

Mamsen, L.S., *et al.* (2017). Temporal expression pattern of genes during the period of sex differentiation in human embryonic gonads. *Scientific Reports*, 7(1), pp. 15961.
Disponible sur : https://doi.org/10.1038/s41598-017-15931-3

Margat, A., 2017. Calcul de la fertilité. *Equipedia ifce.* [En ligne]. Consulté le 02 Octobre 2020.
URL : https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/etalon/calculs-de-fertilite

Massé, V., *et al.* (2011). Normal serum concentrations of anti-Müllerian hormone in a population of fertile women in their first trimester of pregnancy. *Human Reproduction,* 26(12), pp. 3431-3436.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/humrep/der320

Maymon, B.B.S., *et al.* (2002). Sertoli cell maturation in men with azoospermia of different etiologies. *Fertility and sterility,* 77(5), pp. 904-909.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)03060-1

McGee, E. A., *et al*. (2000). Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Reviews,* 21(2), pp. 200-214.
Disponible sur https://doi.org/10.1210/edrv.21.2.0394

Montano, G.A., *et al.* (2016). Circulating anti-Müllerian hormone concentrations in relation to age and season in male and female beluga (Delphinapterus leucas). *Reproduction, fertility and development,* 29(8), pp. 1642-1652.
Disponible sur : https://doi.org/10.1071/RD15537

Mossa, F., *et al.* (2017). Anti-Müllerian Hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction*, 154(1), pp. 1-11.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/REP-17-0104

McCue, P. M., (1998). Neoplasia of the female reproductive tract. *Veterinary clinics of North America : Equine Practice*, 14(3), pp. 505-515.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30183-9

McCue , P. M., *et al.* (2006). Granulosa Cell Tumors of the Equine Ovary. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice*, 22(3), pp. 799-817.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.cveq.2006.08.008

McDonnell, S., (1986). Reproductive Behavior of the Stallion. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice*, 2(3), pp. 535-555.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30705-8

McKinnon, A. O., *et al.* (2011). Equine Reproduction, 2nd Edition. : *Wiley-Blackwell*.
pp. 867-1109

Meczekalski, B., *et al.* (2016). Fertility in women of late reproductive age: the role of serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels in its assessment. *Journal of Endocrinological Investigation*, 39(11), pp. 1259-1265.
Disponible sur : https://doi.org/10.1007/s40618-016-0497-6

Monniaux, D., *et al.* (2011). Anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat. *Reproduction*, 142(6), pp. 845-854.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/REP-11-0211

Mossa, F., *et al.* (2017). Anti-Müllerian Hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction,* 154(1). pp 1-11.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/rep-17-0104

Murase, H., *et al.* (2015). Anti-Müllerian hormone as an indicator of hemi-castrated unilateral cryptorchid horses. *Journal of Equine Science*, 26(1), pp. 15-20.
Disponible sur : https://doi.org/10.1294/jes.26.15

Naden, J., *et al.* (1990). Testicular growth, hormone concentrations, seminal characteristics and sexual behaviour in stallions. *Journal of reproduction and fertility*, 88(1), pp. 167-176.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/jrf.0.0880167

Nagata, S., *et al.* (1998). Testicular Inhibin in the Stallion, cellular source and seasonal changes in its secretion. *Biology of reproduction*, 59(1), pp. 62-68.
Disponible sur : https://doi.org/10.1095/biolreprod59.1.62

Pellatt, L., *et al.* (2011). Anti-Müllerian hormone reduces follicle sensitivity to follicle-stimulating hormone in human granulosa cells. *Fertility and Sterility*, 96(5), pp. 1246-1251.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.08.015

Pfeiffer, K.E., *et al.* (2014). Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine oestrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology*, 46, pp. 58-64
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2013.05.004

Pickett, B. W., Voss, J., (1972). Reproductive management of the stallion. Actes du 18e congrès annuel, *American Association of Equine Practitionners*, 14(4), p. 501.

Pozor, M., *et al.* (2018). Anti-Müllerian hormone as a biomarker for acute testicular degeneration caused by toxic insults to stallion testes. *Theriogenology*, 116, pp. 95-102.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.009

Racine, C., *et al.* (1998). Receptors for anti-Müllerian hormone on Leydig cells are responsible for its effects on steroidogenesis and cell differentiation. *The National Academy of Sciences*, 95(2), pp. 594-599.
Disponible sur : https://doi.org/10.1073/pnas.95.2.594

Raeside, J., Christie, H., (1997). Estrogen concentrations in semen of the stallion. *Animal Reproduction Science*, 48(2-4), pp. 293-300.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00045-6

Rajpert-De Meyts, E., *et al.* (1999). Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development : association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 84(10), pp. 3836-3844.

Renaudin, C.D., *et al.* (2021). Equine granulosa cell tumours among other ovarian conditions: Diagnostic challenges. *Equine veterinary journal*, 53(1), pp. 60-70.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/evj.13279

Rey, R., *et al.* (1994). Anti-Müllerian hormone in children with androgen insensitivity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 79(4), pp. 960-964.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/jcem.79.4.7962305

Rey, R., *et al.* (1996). Testicular dysgenesis does not affect expression of Anti-Müllerian hormone by Sertoli Cells in premeiotic seminiferous tubules. *American Journal of Pathology*, 148(5), pp. 1689-1698.

Rey, R., *et al.* (1996). Antimüllerian hormone as a serum marker of granulosa cell tumors of the ovary: comparative study with serum alpha-inhibin and estradiol. *American journal of obstretics and endocrinology*, 174(3), pp. 958-965.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0002-9378(96)70333-2

Rey, R., Josso, N., (1996). Regulation of testicular anti-M ullerian hormone secretion. *European journal of endocrinology,* 135(2), pp. 144-152.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/eje.0.1350144

Rey, R., *et al.* (2000). Anti-Müllerian hormone is a specific marker of Sertoli- and Granulosa-cell origin in gonadal tumors. *Human Pathology*, 31(10), pp. 1202-1208.
Disponible sur : https://doi.org/10.1053/hupa.2000.18498

Rey, R., *et al.* (2003). AMH/MIS : what we know already about the gene, the protein and its regulation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 211(1-2), pp. 21-31.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.09.007

Rico, C., *et al.* (2009). Anti-mullerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of reproduction,* 80(1), pp. 50-59.
Disponible sur https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.072157

Roser, J., (1997). Endocrine basis for testicular function in the stallion. *Theriogenology*, 48(5), pp. 883-892.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00309-9

Roser, J., (2008). Regulation of testicular function in the stallion: An intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. *Animal Reproduction Science*, 107(3-4), pp. 179-196.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.05.004

Rouiller-Fabre, V., *et al.* (1998). Effect of Anti-Mullerian Hormone on Sertoli and Leydig Cell functions in fetal and immature rats. *Endocrinology*, 139(3), pp. 1213-1220.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/endo.139.3.5785

Samper, J. C., Tibary, A., (2006). Disease transmission in horses. *Theriogenology*, 66(3), pp. 551-559.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.019

Scarlet, D., *et al.* (2018). Anti-Müllerian hormone profiling in prepubertal horses and its relationship with gonadal function. *Theriogenology*, 117, pp. 72-77.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.012

Schambourg, M. A., *et al.* (2006). Use of transabdominal ultrasonography to determine the location of cryptorchid testes in the horse. *Equine veterinary journal*, 38(3), pp. 242-245.
Disponible sur : https://doi.org/10.2746/042516406776866354

Scoggin, C. F., (2018). Equine Internal Medicine (4th Edition), Chapter 19-Disorders of the reproductive tract, The Stallion. : *Elsevier*.

Seifer, D. B., *et al.* (2002). Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertility and sterility*, 77(3), pp. 468-471.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0015-0282(01)03201-0

Sendel, T., (2011). Atatomie, physiologie et reproduction de l'étalon.: *Ontario* [En ligne]. Consulté le 01 Octobre 2020.
URL : http://www.omafra.gov.on.ca/french/livestock/horses/facts/11-004.htm

Senger, P. L., (2003). Pathways to pregnancy and parturition. 2nd Edition. : *Current Conceptions, Inc.* pp. 44-266.

Sertich, P. L., (2014). Breeding Soundness Examination of the Stallion. : *Merck Manual, Veterinary Manual.* [En ligne]. Consulté le 02 Octobre 2020.
URL : https://www.merckvetmanual.com/management-and-nutrition/management-of-reproduction-horses/breeding-soundness-examination-of-the-stallion

Sharpe, R.M., *et al.* (2003). Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction,* 125(6), pp. 769-784.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/rep.0.1250769

Singhapol, C., Muller, C.J.C., (2011). Factors affecting longevity in dairy cattle : A review. *AgriProbe*, 8(2), pp. 10-13
Disponible sur : https://hdl.handle.net/10520/EJC19056

Smith, L. B., Walker, W. H., (2014). The regulation of spermatogenesis by androgens. *Seminars in cell and developmental biology*, 30, pp. 2-13.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.02.012

Steger, K., *et al.* (1996). Immunohistochemical detection of immature Sertoli cell markers in testicular tissue of infertile adult men: a preliminary study. *International journal of andrology,* 19(2), pp. 122-128.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1996.tb00448.x

Streuli, I., *et al.* (2014). AMH concentration is not related to effective time to pregnancy in women who conceive naturally. *Reproductive Biomedicine Online*, 28(2), pp. 216-224.
Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.10.007

Succu, S., *et al.* (2020). Exposure of dairy cows to high environmental temperatures and their lactation status impairs establishment of the ovarian reserve in their offspring. *Journal of dairy science,* 103(12), pp. 11957-11969.
Disponible sur : https://doi.org/10.3168/jds.2020-18678

Takahashi, M., *et al*. (1986). The ontogeny of Müllerian inhibiting substance in granulosa cells of the bovine ovarian follicle. *Biology of Reproduction*, 35, pp. 447-454.

Taya, K., *et al*. (2000). Testicular secretion of inhibin in stallions. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, (56), pp. 43-50.

Teixeira, J., *et al.* (1999). Müllerian-Inhibiting Substance regulates androgen synthesis at the transcriptional level. *Endocrinology*, 140(10), pp. 4732-4738.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/endo.140.10.7075

Teixeira , J., *et al.* (2001). Müllerian Inhibiting Substance: An Instructive Developmental Hormone with Diagnostic and Possible Therapeutic Applications. *Endocrine Reviews*, 22(5), pp. 657-674.
Disponible sur : https://doi.org/10.1210/edrv.22.5.0445

Themmen, A.P.N., (2005). Anti-Müllerian hormone : its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. *Journal of the National Cancer Institute. Monographs*, 2005(34), pp. 18-21.
Disponible sur : https://doi.org/10.1093/jncimonographs/lgi026

Thompson, D., (1992). Reproductive physiology of stallions and jacks. *Horse Breeding and management*, pp. 237-261.

Thompson, D. L., (1994). Breeding management of stallions : breeding soundness examinations. *Journal of Equine Veterinary Science,* 14(1), pp. 19-20.

Traversari, J., *et al.* (2019). Relationships between antral follicle count, blood serum concentration of anti-Müllerian hormone and fertility in mares. *Schweiz Arch Tierheilkd*, pp. 627-638.
Disponible sur : https://doi.org/10.17236/sat00225

Trbovich, A.M., *et al.* (2001). Müllerian Inhibiting Substance lowers testosterone in luteinizing hormone-stimulated rodents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 98(6), pp. 3393-3397.
Disponible sur : https://doi.org/10.1073/pnas.051632298

Tremellen, K., Zander-Fox, D., (2015). Serum anti-Mullerian hormone assessment of ovarian reserve and polycystic ovary syndrome status over the reproductive lifespan. *The Australian and New Zealand journal of obstetrics and gynaecology,* 55(4), pp. 384-389.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/ajo.12366

Turner, R.M., Zeng, W., (2012). The emerging pathophysiology of age-related testicular degeneration with a focus on the stallion and an update on potential therapies. *Reproduction in Domestic Animals,* 47(4), pp. 178-186.
Disponible sur https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02073.x

Uliani, R. C., *et al.* (2019). Anti-Müllerian hormone and ovarian aging in mares. *Journal of Endocrinology*, 240(2), pp. 147-156.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/JOE-18-0391

Umer, S., *et al.* (2019). AMH : Could it be used as a biomarker for fertility and Superovulation in domestic animals ?. *Genes*, 10(12), p. 1009.
Disponible sur : https://doi.org/10.3390/genes10121009

Vidament, M., (1999). Endocrinologie de l'étalon. *INRA Productions Animales* , 12(5), pp. 345-347.
Disponible sur : https://doi.org/10.20870/productions-animales.1999.12.5.3908

Vigier, B., *et al.* (1984). Origin of anti-Müllerian hormone in bovine freemartin fetuses. *Reproduction*, 70(2), pp. 473-479.
Disponible sur : https://doi.org/10.1530/jrf.0.0700473

Vigier, B., *et al*. (1984). Production of anti-Müllerian hormone : another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology*, 114(4), pp. 1315-1320.
Disponible sur https://doi.org/10.1210/endo-114-4-1315

Waheeb, R.S., (2017). Changes in Serum Levels of Anti-Mullerian Hormone and Ovarian Steroids in Barki Sheep during Follicular and Early Luteal Phase of Estrous Cycle. *Pakistan Veterinary Journal,* 37(4), pp. 421-426.

Walter, B., *et al.* (2018). Anti-Muellerian Hormone concentration in bitches with histopathologically diagnosed ovarian tumours and cysts. *Reproduction in domestic animals*, 53(3), pp. 784-792.
Disponible sur : https://doi.org/10.1111/rda.13171

Weber, J. A., Woods, G. L., (1993). Ultrasonographic Measurement of Stallion Accessory Sex Glands and Excurrent Ducts during Seminal Emission and Ejaculation. *Biology of Reproduction*, 49, pp. 267-273.

Wilson, R.C., *et al.* (2011). Secretion of anti-Müllerian hormone in the Florida manatee *Trichechus manatus latirostris*, with implications for assessing conservation status. *Endangered Species Research*, 14(2), pp. 107-112.
Disponible sur : https://doi.org/10.3354/esr00346

PERTINENCE DU DOSAGE DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE EN AMH CHEZ L'ETALON DANS L'EVALUATION DE SA FERTILITE

Auteur

SUDREAU Laurie

Résumé

Du fait de l'importance économique des étalons dans les élevages, le vétérinaire équin constitue un acteur majeur dans le suivi et le diagnostic des causes de baisse de fertilité ou d'infertilité chez l'étalon. Toutefois, peu d'indicateurs biologiques sont actuellement disponibles pour l'orienter dans ses choix le limitant à l'analyse rétrospective des performances de l'étalon sur une ou plusieurs saisons.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est, dans un premier temps, de mieux comprendre les facteurs influençant la reproduction et les paramètres indicateurs de fertilité à considérer chez l'étalon ainsi que l'importance majeure de l'AMH en reproduction. Puis, dans un second temps, cette étude vise à déterminer si le dosage de l'AMH peut être un élément fiable indicateur de fertilité chez l'étalon par un suivi de cet indicateur et des performances reproductives chez un groupe d'étalons pendant une ou plusieurs saisons de monte.

Il apparait ainsi que par sa variabilité interindividuelle importante, l'AMH plasmatique de l'étalon ne semble pas être un marqueur pertinent pour évaluer la fertilité d'un animal donné et, notre étude n'a pas permis de mettre en évidence un lien entre cette concentration et les performances reproductives de l'animal, pas plus qu'avec les différents indicateurs biologiques de la qualité de sa semence. Cependant, de profondes ignorances restent associées à l'importance biologique de cette hormone chez l'étalon sexuellement mature.

Mots-clés

Hormone antimüllerienne, Cheval -- Reproduction, Etalons, Immunodosage

Jury

Président du jury	:	**Monsieur le Professeur**	**Pierre COCHAT**
Directeur de thèse	:	**Monsieur le Professeur**	**Thierry BURONFOSSE**
Assesseur	:	**Madame le Docteur**	**Anne JOSSON-SCHRAMME**

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup