ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 2011

PRÉVENTION DE L'ŒSTRUS INDUIT PAR LA POSE D'UN IMPLANT DE DESLORÉLINE CHEZ LA CHIENNE : UTILISATION DE L'ACÉTATE D'OSATÉRONE

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le……

par

Émilie ANJOLRAS

Née le 13 novembre 1985 à Aubenas (Ardèche)

JURY

Président : M.
Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres
Directeur : M. FONTBONNE Alain
Maître de conférences à l'ENVA
Assesseur : M. TIRET Laurent
Maître de conférences à l'ENVA

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard

Professeurs honoraires: MM. et Mme : BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand, LE BARS Henri, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département : M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

- UNITE DE CARDIOLOGIE
Mme CHETBOUL Valérie, Professeur
Melle Gkouni Vassiliki, Praticien hospitalier

- UNITE DE CLINIQUE EQUINE
M. AUDIGIE Fabrice, Professeur*
M. DENOIX Jean-Marie, Professeur
Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier
Mme CHRISTMANN Undine, Maître de conférences
Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel
Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences contractuel
Melle DUPAYS Anne-Gaëlle, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel

- UNITE D'IMAGERIE MEDICALE
Mme BEDU-LEPERLIER Anne-Sophie, Maître de conférences contractuel
Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier

- UNITE DE MEDECINE
M. BLOT Stéphane, Professeur*
M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences
Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences
Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel

- UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT
M. GRANDJEAN Dominique, Professeur *
Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel

- DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION
M. PARAGON Bernard, Professeur

- DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE
Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences

- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES
M. CHERMETTE René, Professeur *
M. POLACK Bruno, Maître de conférences
M. GUILLOT Jacques, Professeur
Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences
M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier
M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP)

- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE
M. FAYOLLE Pascal, Professeur *
M. MOISSONNIER Pierre, Professeur
M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences
M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel
Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences
Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP)
M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences

- UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE
M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences*
M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences
M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP)
M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences
Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP)
Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP)
M. MAUFFRE Vincent, Assistance d'enseignement et de recherche contractuel, (rattaché au DPASP)

- DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS
Mme ROUX Françoise, Maître de conférences

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

- DISCIPLINE : BIOSTATISTIQUES
M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences

- UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE
M. BOLNOT François, Maître de conférences *
M. CARLIER Vincent, Professeur
Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences
M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences

- UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES
M. BENET Jean-Jacques, Professeur*
Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur
Mme DUFOUR Barbara, Professeur
Melle PRAUD Anne, Assistant d'enseignement et de recherche contratuel,

- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR
M. ADJOU Karim, Maître de conférences *
M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences
M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel,
M. HESKIA Bernard, Professeur contractuel

- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE
Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur*
M. COURREAU Jean-François, Professeur
M. BOSSE Philippe, Professeur
Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences
M. ARNE Pascal, Maître de conférences
M. PONTER Andrew, Professeur

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

- UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES
M. CHATEAU Henry, Maître de conférences*
Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur
M. DEGUEURCE Christophe, Professeur
Mme ROBERT Céline, Maître de conférences

- DISCIPLINE : ANGLAIS
Mme CONAN Muriel, Professeur certifié

- UNITE DE BIOCHIMIE
M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences*
M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences

- DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE
M. PHILIPS, Professeur certifié

- UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE
Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences*
M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur

-UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE
M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur *
Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel
Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences
M. REYES GOMEZ Edouard, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel

- UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE
Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur*
M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur
M. MAGNE Laurent, Maître de conférences contractuel

- UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE
M. TISSIER Renaud, Maître de conférences*
Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur
M. PERROT Sébastien, Maître de conférences

- UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE
Mme COMBRISSON Hélène, Professeur*
M. TIRET Laurent, Maître de conférences
Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences

- UNITE DE VIROLOGIE
M. ELOIT Marc, Professeur *
Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

- DISCIPLINE : ETHOLOGIE
Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au Professeur
De la Faculté de Médecine de Créteil
De m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse

Au Docteur Alain Fontbonne
De l'École nationale vétérinaire d'Alfort
Pour m'avoir confié cette étude et pour sa disponibilité
Hommage respectueux

Au Docteur Laurent Tiret
De l'École nationale vétérinaire d'Alfort
Pour votre relecture méticuleuse en tant qu'assesseur
Sincères remerciements

À Emmanuel Fontaine
Pour sa grande disponibilité, ses conseils avisés et son implication dans cette étude

À toute l'équipe du Centre d'Étude en Reproduction des Carnivores d'Alfort
Tout particulièrement à Fernando Mir pour son aide précieuse, à Cindy et à Emeline

À mes parents,

Pour leurs encouragements et leurs conseils avisés dans mes études comme dans la vie. Trouvez ici toute ma gratitude et ma reconnaissance.

À Aurélie,

Ma grande sœur pour sa générosité, pour tous ces moments de complicité. Merci d'être toujours là !

À toute ma famille, vous n'aurez plus peur de me demander quand se terminent mes études…

À Florian,

Pour son soutien sans faille, sa patience et son amour. Merci de m'avoir accompagnée et soutenue sans relâche tout au long de ce travail.

À Chantal, Guy et Anne,

Pour leurs bons conseils et leur gentillesse.

À mes amis alforiens,

Tout particulièrement Anaïs, Leïla, Zab, Hélène, Fleur, Mathilde, Céline, Amélie, Mars, Emma, Barbara, Eloïse, Nao, Isa, Laetitia, Anabelle, Anne-So… Pour toutes ces aventures que l'on a partagées ensemble à l'école comme à l'extérieur, pour les vacances entre autres dans le « Sud », pour tout ce que vous m'avez apporté et pour tous les bons moments à venir !

Et à tous les autres…

À mes amis non alforiens,

À ceux qui me connaissent depuis l'école primaire, le collège, le lycée ou la prépa, pour tous les bons moments passés ensemble et ceux à venir !

À mon ancienne Marion,

Pour m'avoir accompagnée depuis mon entrée dans cette école.

À mes poulottes Marie et Peggy,

Tous mes vœux pour les années à venir.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES ABRÉVIATIONS 7
TABLE DES FIGURES 9
TABLE DES TABLEAUX 11
TABLE DES PHOTOGRAPHIES 13
TABLE DES ANNEXES 14
INTRODUCTION 15
Première partie : Étude bibliographique 17
1 Physiologie de la reproduction chez la chienne 19
1.1 Anatomie de l'appareil génital de la chienne 19
1.1.1 La vulve 19
1.1.2 Le clitoris 19
1.1.3 Les voies génitales 20
1.1.3.1 Le vestibule du vagin 20
1.1.3.2 Le vagin 20
1.1.3.3 L'utérus 20
1.1.3.4 Les ovaires 20
1.2 Cycle sexuel de la chienne 21
1.2.1 La puberté 21
1.2.2 Les différentes phases du cycle sexuel 21
1.2.2.1 Le pro-œstrus 22
1.2.2.2 L'œstrus 22
1.2.2.3 Le métœstrus ou diœstrus 23
1.2.2.4 L'anœstrus 23
1.2.2.5 Détermination de la phase du cycle sexuel 23
1.3 Cycle endocrinien de la chienne 25
1.3.1 L'axe hypothalamus-hypophyse-ovaires et sa régulation 25
1.3.1.1 Présentation de l'axe hypothalamo-hypophysaire 25
1.3.1.2 L'hypothalamus et la sécrétion de GnRH 27
1.3.1.3 L'hypophyse et la sécrétion des hormones hypophysaires FSH, LH et prolactine 27
1.3.1.4 Physiologie de l'ovaire 28
1.3.1.4.1 Structure de l'ovaire 28
1.3.1.4.2 Fonction endocrine de l'ovaire 29
1.3.1.5 Régulation de la GnRH et des hormones gonadotropes 30

1.3.1.5.1 Régulation de la GnRH 30
1.3.1.5.2 Régulation de FSH et LH 30
1.3.2 Profils hormonaux durant le cycle ovarien 30
1.3.3 Evènements conduisant à l'ovulation 31
1.3.3.1 L'ovogenèse 31
1.3.3.2 La folliculogenèse 31
1.3.3.2.1 En anœstrus 32
1.3.3.2.2 En pro-œstrus 33
1.3.3.3 L'ovulation lors de l'œstrus 33
1.3.3.3.1 La phase pré-ovulatoire 33
1.3.3.3.2 L'ovulation et ses méthodes de détection 34
1.3.3.3.2.1 Comportement et modifications morphologiques 34
1.3.3.3.2.2 Visualisation des plis vaginaux par endoscopie 35
1.3.3.3.2.3 La mesure de la résistivité du mucus vaginal 35
1.3.3.3.2.4 Pic de LH 35
1.3.3.3.2.5 Frottis vaginaux 36
1.3.3.3.2.6 Dosage de la progestérone plasmatique 36
1.3.3.3.2.7 Le suivi échographique de l'ovulation 36
1.3.4 La période post-ovulatoire 38
1.3.4.1 La phase post-ovulatoire en œstrus 38
1.3.4.2 Le métœstrus 39
1.4 Quelques affections de l'appareil génital de la chienne 39
1.4.1 La lactation de pseudo-gestation 39
1.4.2 L'hyperplasie glandulo-kystique de l'utérus/le pyomètre 40
1.4.3 Les tumeurs mammaires 41
2 Maîtrise de la reproduction chez la chienne 42
2.1 Stérilisation chirurgicale 43
2.1.1 L'ovariectomie 43
2.1.2 L'ovariohystérectomie 44
2.2 Progestagènes 45
2.2.1 Définition 45
2.2.2 Mode d'action 45
2.2.3 Administration 46
2.2.4 Effets indésirables 48
2.2.5 L'acétate d'osatérone 49
2.3 Androgènes 50

2.3.1 Définition et mode d'action 50
2.3.2 Administration et effets secondaires 50
2.4 Immuno-stérilisation 51
2.4.1 Vaccins contre la GnRH 51
2.4.2 Vaccins contre la LH et ses récepteurs 53
2.4.3 Vaccins contre les gamètes 54
2.4.3.1 Vaccins contre la zone pellucide 54
2.4.3.2 Vaccins contre les protéines du sperme 56
2.5 Analogues de la GnRH 57
2.5.1 Antagonistes de la GnRH 57
2.5.1.1 Définition et mode d'action 57
2.5.1.2 Effets 58
2.5.1.3 Propriétés 59
2.5.2 Agonistes de la GnRH 59
3 La GnRH et ses agonistes 60
3.1 La GnRH 60
3.1.1 Nature biochimique et synthèse 60
3.1.2 Mode de sécrétion 61
3.1.3 Action de stimulation du système gonadotrope 61
3.1.3.1 Interaction avec les récepteurs hypophysaires 61
3.1.3.2 Libération de FSH et de LH par les cellules de l'antéhypophyse 62
3.1.3.3 Conséquences sur l'activité des organes sexuels (axe hypothalamo hypophyso-gonadique) 63
3.1.4 Régulation 63
3.1.4.1 Facteurs influençant la synthèse de GnRH 63
3.1.4.2 Rétrocontrôles hormonaux 63
3.2 Les agonistes de la GnRH 64
3.2.1 Mode de synthèse et structure 64
3.2.2 Pharmacologie des différents agonistes 65
3.2.2.1 Voies d'administration 65
3.2.2.2 Puissance des agonistes 65
3.2.2.3 Pharmacocinétique 66
3.2.3 Stimulation initiale de l'activité génitale et utilisation pour l'induction des chaleurs 66
3.2.3.1 Effet de l'administration d'agonistes de la GnRH ou de GnRH 67
3.2.3.2 Variations hormonales suite à l'administration d'agonistes de la GnRH et mécanisme d'action 68

3.2.3.3 Effet du moment du cycle et de l'âge ... 69
3.2.3.3.1 Effet de l'âge ... 69
3.2.3.3.2 Effet du moment du cycle ... 70
3.2.3.4 Utilisation des agonistes de la GnRH pour l'induction des chaleurs chez la chienne ... 71
3.2.3.4.1 Délai entre le début du traitement et l'entrée en chaleurs ... 71
3.2.3.4.2 Délai entre le début du traitement et l'ovulation ... 71
3.2.3.4.3 Protocoles d'induction des chaleurs chez la chienne ... 72
3.2.3.5 Prévention de l'œstrus induit ... 72
3.2.4 Les agonistes de la GnRH et la suppression de l'œstrus chez la chienne ... 76
3.2.4.1 Efficacité chez la chienne adulte cyclée ... 76
3.2.4.2 Mode d'action : la désensibilisation des récepteurs à la GnRH ... 78
3.2.4.3 Durée d'action ... 79
3.2.4.4 Retour à la fertilité/Réversibilité ... 80
3.2.5 Sécurité ... 81
3.3 L'implant de desloréline, une alternative aux méthodes de stérilisation « classiques » ... 83
3.3.1 Caractéristiques du produit ... 83
3.3.1.1 Présentation ... 83
3.3.1.2 Informations cliniques ... 83
3.3.1.3 Conditionnement ... 83
3.3.1.4 La desloréline, un superagoniste de la GnRH ... 84
3.3.2 Un nouveau système de délivrance : l'implant sous-cutané ... 84
3.3.2.1 Principe ... 84
3.3.2.2 Présentation de l'implant Suprelorin® ... 85
3.3.2.3 Etudes et résultats ... 86
3.3.2.3.1 Utilisation de systèmes à libération prolongée pour induire l'œstrus ... 86
3.3.2.3.2 Utilisation des systèmes à libération prolongée dans la suppression de l'œstrus ... 87
3.3.3 Durée d'action ... 87
3.3.4 Réversibilité ... 87
3.3.5 Profil de sécurité ... 88
3.3.5.1 Œstrus induit ... 88
3.3.5.2 Kystes ovariens ... 88
Deuxième partie : Étude expérimentale ... 89
1 Objectifs ... 91
2 Matériel et méthodes ... 92

2.1 Animaux 92
2.2 Traitements 93
2.2.1 Acétate de desloréline (DA) 93
2.2.2 Acétate d'osatérone (OSA) 94
2.3 Suivi 95
2.3.1 Groupe 1 (n=5) 95
2.3.2 Groupe 2 (n=11) 96
2.3.3 Groupe témoin (n=29) 97
2.3.4 Examens réalisés 98
2.3.4.1 Frottis vaginal 98
2.3.4.2 Dosage de la progestérone plasmatique 98
2.3.4.3 Échographie du tractus génital 98
2.4 Durée de l'étude 99
2.5 Traitement statistique des résultats 99
3 Résultats 100
3.1 Groupes 1 et 2 100
3.1.1 Prévention de l'œstrus induit 100
3.1.2 Durée d'efficacité 104
3.2 Groupe témoin 104
3.2.1 Œstrus induit 104
3.2.2 Durée d'efficacité 105
3.3 Comparaison groupes 1 et 2/groupe témoin 105
3.3.1 Entrées en chaleurs 105
3.3.2 Ovulations 107
3.4 Effets secondaires 108
4 Discussion 109
4.1 Conformité aux objectifs de l'étude 109
4.2 Validité des résultats 109
4.2.1 Critères d'inclusion des chiennes dans l'étude 109
4.2.2 Évaluation de l'efficacité 110
4.2.3 Durée de l'étude 110
4.3 Choix du protocole 111
4.3.1 Acétate de desloréline 111
4.3.2 Acétate d'osatérone 111
4.3.2.1 Choix de la molécule 111
4.3.2.2 Posologie et durée de traitement 111

4.3.2.3 Mécanisme d'action de l'acétate d'osatérone 112
4.4 Comparaison avec la littérature 112
4.5 Durée d'efficacité 113
4.6 Effets secondaires 113
CONCLUSION 115
BIBLIOGRAPHIE 117

TABLE DES ABRÉVIATIONS

ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire

AMPc ou cAMP : Adénosine monophosphate cyclique

Arg : Arginine

Ca2+ : Ion calcium

Cp : Comprimé

DA : Acétate de desloréline

DG : Diacylglycérol

FACCO : Chambre Syndicale des Fabricants d'Aliments Préparés pour Chiens, Chats, Oiseaux et Autres animaux Familiers

FSH : Folliculo-stimulating hormone ou folliculostimuline ou follitropine

Go : GTP (Guanosine Triphosphate)-binding protein

GH : Growth Hormone

Glu : Acide glutamique

Gly : Glycine

GnRH : Gonadotrophin releasing hormone ou gonadolibérine

GnRH-R : Récepteur à la GnRH

GPCR : Récepteurs couplés aux protéines G

HBP : Hyperplasie bénigne de la prostate

HGK : Hyperplasie glandulo-kystique

His : Histidine

IM : Intra-musculaire

IP3 : Inositol 1,4,5-triphosphate

IUPAC-IUB : International Union of Pure and Applied Chemists

J : Jour

Kg : Kilogramme

L : Litre

Leu : Leucine

LH : Luteinising hormone ou lutéostimuline ou lutropine

Mg : Milligramme

MGA : Acétate de mégestrol

Ml : Millilitre

Ng : Nanogramme

Nmol : Nanomole

OSA : Acétate d'osatérone

P : Groupement phosphate

PGF2α : Prostaglandine F2α

PI : Phosphoinositide

PIP2 : Phosphatidylinositol 4,5-diphosphate

PLC : Phospholipase C

PO : *Per os*

Pro : Proline

Ser : Serine

SC : Sous-cutané

TNS Sofres : Société française d'enquêtes par sondages

Trp : Tryptophane

Tyr : Tyrosine

USDA : United States Department of Agriculture

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma de l'appareil génital de la chienne d'après FONTBONNE *et al.*, 2005 19

Figure 2 : Répartition des différentes phases du cycle sexuel d'après FONTBONNE et *al.*, 2005 22

Figure 3 : Aspect schématique des cellules vaginales aux différentes phases du cycle sexuel d'après FONTBONNE *et al.*, 2007 24

Figure 4 : Relations temporelles entre les évènements endocriniens, les modifications comportementales et vulvaires et l'aspect des frottis vaginaux au cours du cycle sexuel de la chienne d'après CONCANNON, 1989 25

Figure 5 : Le système porte hypothalamo-hypophysaire d'après Vie, site ressource en Sciences de la Vie [http://www.snv.jussieu.fr/vie/index.html] 26

Figure 6 : Représentation schématique fonctionnelle de l'axe hypothalamo-hypophysaire d'après Vie, site ressource en Sciences de la Vie [http://www.snv.jussieu.fr/vie/index.html] 26

Figure 7 : Représentation schématique d'un ovaire d'après THIBAULT et LEVASSEUR, 2001 29

Figure 8 : Représentation schématique d'un follicule pré-ovulatoire d'après DRIANCOURT *et al.*, 2001 29

Figure 9 : Changements hormonaux et physiologiques durant le cycle ovarien chez la chienne d'après CONCANNON, cité par JOHNSTON *et al*., 2001 31

Figure 10 : Concentrations hormonales autour de l'ovulation – Modèle général d'après GOODMAN, 2002 34

Figure 11 : Fixation et fusion du spermatozoïde sur la zone pellucide de l'ovaire, d'après Intelligo [http://www.intellego.fr/] 55

Figure 12 : Séquence d'acides aminés de la GnRH d'après PADULA, 2005 60

Figure 13 : Structure tertiaire de la GnRH d'après PADULA, 2005 61

Figure 14 : Représentation schématique de la transduction du signal par les récepteurs à la GnRH d'après CLAYTON, 1989 62

Figure 15 : Séquences d'acides aminés d'agonistes de la GnRH utilisés en médecine vétérinaire et humaine d'après SCHNEIDER *et al.,* 2006 65

Figure 16 : Concentrations plasmatiques en LH (cercles vides) et en testostérone (cercles pleins) chez des chiens mâles suivant l'administration d'un implant placebo (a) ou d'un implant contenant 6 mg de desloréline, d'après JUNAIDI *et al.,* 2007 66

Figure 17 : Progestéronémie et fertilité chez trois chiennes recevant 32µg/jour de nafaréline au début du traitement, d'après MC RAE *et al.*, 1985 67

Figure 18 : Concentrations sériques en progestérone (cercles vides) et en LH (cercles pleins) suite à l'administration de 385 µg/kg de GnRH en IV toutes les 90 minutes pendant 10 jours induisant un œstrus fertile chez une chienne en anœstrus, d'après CONCANNON *et al*., 1997 69

Figure 19 : Résultats de l'étude de TRIGG *et al.,* 2006 70

Figure 20 : Concentrations plasmatiques en progestérone et dates d'apparition des écoulements vaginaux sanguins et de la kératinisation pendant et après le traitement des chiennes Beagle avec (a) 2, (b) 8, (c) 32 µg de nafaréline par jour, (d) placebo, d'après MC RAE *et al.*, 1985 77

Figure 21 : Effets de l'administration continue de desloréline sur le récepteur à la GnRH, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007 78

Figure 22 : Le packaging du Suprelorin®, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007..... 84

Figure 23 : Structure de la desloréline, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007 84

Figure 24 : Implanteur et actionneur du Suprelorin ®, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007 85

Figure 25 : Schéma de l'implanteur, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007 85

Figure 26 : Protocole appliqué au groupe 1 96

Figure 27 : Protocole appliqué au groupe 2 97

Figure 28 : Protocole appliqué au groupe témoin 98

Figure 29 : Résultats détaillés des groupes 1 et 2 101

Figure 30 : Résultats (signes de chaleurs/ovulations) des groupes 1 et 2 101

Figure 31 : Résultats détaillés du groupe témoin 104

Figure 32 : Résultats (signes de chaleurs/ovulations) du groupe témoin 105

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Progestéronémie à l'ovulation chez la chienne de race Beagle, d'après FONTBONNE, 2008 36

Tableau 2 : Fréquence des signes échographiques caractérisant l'ovulation chez la chienne d'après FONTBONNE, 2008 37

Tableau 3 : Utilisation des progestagènes dans la prévention ou l'interruption des chaleurs chez la chienne d'après ROMAGNOLI, 2002 ; LÉVY, 2010 et FONTBONNE *et al.*, 2007 47

Tableau 4 : Avantages et inconvénients de l'utilisation des vaccins contre la GnRH pour la maîtrise de la reproduction, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs 53

Tableau 5 : Avantages et inconvénients de l'utilisation des vaccins contre la LH et ses récepteurs pour la maîtrise de la reproduction d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs 54

Tableau 6 : Avantages et inconvénients de l'utilisation de vaccins contre la zone pellucide pour la contraception chez la chienne, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs 56

Tableau 7 : Avantages et inconvénients de l'utilisation de vaccins contre les protéines du sperme pour la contraception chez la chienne, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs 57

Tableau 8 : Avantages et inconvénients de l'utilisation des antagonistes de la GnRH pour la contraception chez la chienne, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs 59

Tableau 9 : Protocoles d'induction des chaleurs utilisés dans différentes études chez la chienne 72

Tableau 10 : Nombre de chiennes manifestant des signes de pro-œstrus/œstrus et une progestéronémie détectable après traitement à la desloréline et au MGA dans l'étude de WRIGHT *et al.*, 2001 73

Tableau 11 : Durée de l'interœstrus suite à la pose d'un implant de desloréline associée ou non à l'administration de MGA, d'après CORRADA *et al.*, 2006 74

Tableau 12 : Durée de l'interœstrus chez 52 chiennes recevant un implant de desloréline, en fonction du moment d'implantation (anœstrus, métœstrus ou gestation) et la dose de desloréline, d'après TRIGG *et al.*, 2001 79

Tableau 13 : Délai de retour en chaleurs après arrêt du traitement ou de l'interœstrus lors de traitement à base d'agonistes de la GnRH 1

Tableau 14 : Protocole utilisé pour chaque groupe 94

Tableau 15 : Résultats dans chaque groupe : nombre d'entrée en chaleurs et nombre d'ovulations 100

Tableau 16 : Détail du nombre d'entrées en chaleurs et/ou ovulations dans les groupes 1 et 2 100

Tableau 17 : Détail du nombre d'entrées en chaleurs et/ou ovulations dans le groupe témoin 104

Tableau 18 : Effectifs observés sur le nombre d'entrée en chaleurs dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin 106

Tableau 19 : Effectifs théoriques sur le nombre d'entrée en chaleurs dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin 106

Tableau 20 : Effectifs observés sur le nombre d'ovulations dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin..... 107

Tableau 21 : Effectifs théoriques sur le nombre d'ovulations dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin..... 107

TABLE DES PHOTOGRAPHIES

Photographie 1 : Positionnement possible d'une échographie des ovaires d'après LEVY et FONTBONNE, 2007 37

Photographie 2 : Positionnement possible d'une échographie des ovaires d'après LEVY et FONTBONNE, 2007 37

Photographie 3 : Aspect de follicules pré-ovulatoires d'après LEVY et FONTBONNE, 2007 38

Photographie 4 : Aspect de follicules au moment de l'ovulation d'après LEVY et FONTBONNE, 2007 38

Photographie 5 : Pose d'un implant d'acétate de desloréline (Suprelorin®) en région ombilicale 94

Photographie 6 : Follicule de 2,99 mm lors de l'échographie ovarienne de la chienne Beagle ayant présenté des signes de chaleurs sans ovulation..... 102

Photographie 7 : Follicule pré-ovulatoire de 7,6 mm lors de l'échographie ovarienne de la chienne Beagle d'expérimentation ayant ovulé (ovaire gauche)..... 103

Photographie 8 : Structure anéchogène post-ovulatoire de 1,8 mm lors de l'échographie ovarienne de la chienne Beagle d'expérimentation ayant ovulé (ovaire gauche) 103

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Présentation des chiennes du groupe 1 (chiennes d'expérimentation de race Beagle ayant reçu le protocole desloréline + osatérone) 129

Annexe 2 : Présentation des chiennes du groupe 2 (chiennes de propriétaires ayant reçu le protocole desloréline + osatérone) 1

Annexe 3 : Présentation des chiennes du groupe témoin (chiennes de propriétaires ayant reçu uniquement l'implant de desloréline) 130

Annexe 4 : Résultats par chienne des groupes 1 et 2 132

Annexe 5 : Résultats par chienne du groupe témoin 133

INTRODUCTION

La maîtrise de la reproduction de la chienne est un chapitre important pour le vétérinaire spécialisé en petits animaux de compagnie. En dehors des solutions chirurgicales définitives comme l'ovariectomie ou l'ovariohystérectomie, qui sont les plus représentées, il est possible de répondre à la demande des propriétaires en proposant une alternative médicale, temporaire et moins invasive. Les progestagènes sont très répandus dans cette indication mais comportent de nombreux effets indésirables.

La recherche d'une méthode de stérilisation non chirurgicale pour les animaux de compagnie s'est accrue au cours des dernières décennies. La recherche s'est notamment orientée vers la GnRH (Gonadotrophin releasing hormone ou gonadolibérine), hormone-clé dans le contrôle de la fonction de reproduction chez les mammifères, quelle que soit l'espèce.

Différentes formes d'agonistes de la GnRH ont été développées et sont commercialisées depuis le début des années 80 à des fins de maîtrise de la reproduction des femelles d'espèces de production (vache, lapine) et de la jument. Cette famille de molécules a également de nombreuses applications chez l'Homme, notamment dans le contrôle des maladies hormonales. Initialement, l'espèce canine était un modèle thérapeutique ; les données concernant l'utilisation des agonistes de la GnRH dans le domaine de la reproduction chez les carnivores sont maintenant abondantes.

L'introduction sur le marché européen en 2008 d'implants sous-cutanés contenant de l'acétate de desloréline, un agoniste de la GnRH (Suprelorin®, Virbac) est une révolution dans le monde de la reproduction des animaux de compagnie. Le Suprelorin®, initialement commercialisé pour l'induction d'une infertilité chimique temporaire chez le chien mâle, est maintenant utilisé dans de nombreuses autres indications, notamment chez la chienne chez laquelle les avantages de son utilisation et son innocuité sont maintenant admis.

L'administration continue d'agonistes de la GnRH a un double effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire : d'abord stimulateur puis inhibiteur. Ainsi, après la pose sous-cutanée d'un implant d'acétate de desloréline (Suprelorin®) chez la chienne, il se produit tout d'abord une courte stimulation de la sécrétion des hormones hypophysaires LH (luteinising hormone) et FSH (folliculo-stimulating hormone). Cela entraine une augmentation des concentrations sériques en hormones sexuelles, ce qui se manifeste par un œstrus. Puis, on observe une suppression complète de l'activité sexuelle pendant plusieurs mois. Ainsi, l'effet stimulateur est exploité pour induire les chaleurs mais il constitue un effet indésirable lorsqu'on souhaite utiliser le Suprelorin® pour la stérilisation chimique. Cet effet dit « flare-up » constitue un frein à l'utilisation de ce produit chez la chienne et jusqu'à présent, aucune solution complètement efficace n'a été trouvée pour empêcher cet effet.

Étant données les perspectives prometteuses d'utilisation de l'implant de desloréline chez la chienne et l'absence de prévention réellement efficace de cet œstrus induit, il a semblé intéressant de travailler sur ce sujet lors d'une étude expérimentale et clinique. Ainsi, l'objectif de notre étude réalisée au CERCA (Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort) a été de prévenir l'œstrus induit par la pose d'un implant de desloréline en administrant l'acétate d'osatérone, un progestagène habituellement utilisé dans le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate chez le chien mâle.

La première partie est bibliographique. Elle est composée de trois sous-parties. La première traite de la physiologie de la reproduction chez la chienne, indispensable à la compréhension du mécanisme d'action des agonistes de la GnRH et des progestagènes. La deuxième expose les méthodes de maîtrise de la reproduction, chirurgicales et médicales, classiquement employées chez la chienne. La troisième met en évidence la place de choix qu'occupe la GnRH dans la reproduction chez la chienne, présente les agonistes de la GnRH comme alternative aux méthodes de contraception classiques, notamment les avantages de l'implant sous-cutané et introduit la notion d'œstrus induit.

La seconde partie présente le travail expérimental et clinique visant à prévenir l'œstrus induit par la pose d'un implant de desloréline par l'administration d'acétate d'osatérone.

Première partie : Étude bibliographique

1 Physiologie de la reproduction chez la chienne

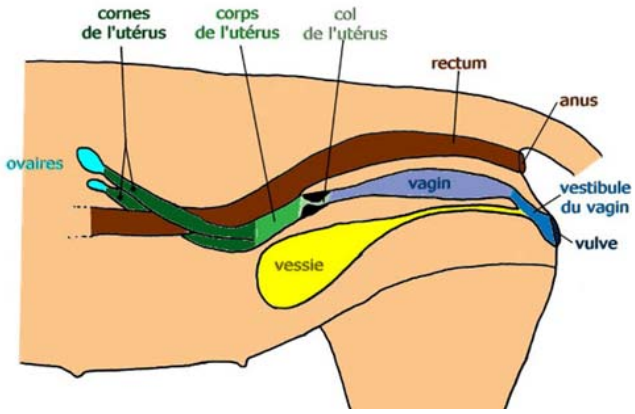
Afin de replacer l'étude dans son contexte, une étude bibliographique préalable a été réalisée. Après quelques rappels sur l'anatomie de l'appareil génital de la chienne, nous développerons les données sur le cycle sexuel et les différentes étapes qui le composent, le cycle endocrinien et les mécanismes conduisant à l'ovulation. Enfin, nous citerons quelques affections de l'appareil génital de la chienne.

1.1 Anatomie de l'appareil génital de la chienne

(FONTBONNE *et al.*, 2007) (DEGUEURCE, 2003)

La connaissance de l'appareil génital de la chienne est indispensable à la réalisation de certains examens courants dans le domaine de la reproduction, comme les frottis vaginaux, l'échographie ovarienne ou encore l'endoscopie vaginale. Nous allons détailler ses différentes parties, légendées sur la figure 1.

Figure 1 : Schéma de l'appareil génital de la chienne d'après FONTBONNE *et al.*, 2005



1.1.1 La vulve

La vulve consiste en deux lèvres qui sont reliées par une commissure dorsale et une commissure ventrale.

1.1.2 Le clitoris

Le clitoris, relativement petit chez la chienne, est situé dans la fosse clitoridienne localisée sur le plancher du vestibule du vagin. Lors de la réalisation d'un frottis vaginal, il faut veiller à ne pas pénétrer par erreur dans cette fosse, ce qui rendrait le frottis ininterprétable car constitué de cellules clitoridiennes au lieu de cellules vaginales que l'on cherche à observer.

1.1.3 Les voies génitales

1.1.3.1 Le vestibule du vagin

Le vestibule du vagin est long de cinq à six centimètres. Comme le montre la figure 1, il est coudé : d'abord orienté crânio-dorsalement, il prend une orientation horizontale à sa jonction avec le vagin.

Ainsi, lors de l'examen au spéculum ou de la réalisation d'un frottis vaginal, l'opérateur doit diriger dorsalement l'ustensile avant de le basculer horizontalement pour pouvoir le diriger dans le vagin.

1.1.3.2 Le vagin

Le vagin est très long chez la chienne ; il mesure 15 à 30 centimètres. Il est beaucoup plus large en partie caudale qu'en partie crâniale du fait de l'existence d'un pli médian dorsal en partie antérieure.

Du fait de la longueur du vagin, il est impossible de visualiser le col de l'utérus par simple examen gynécologique au spéculum.

1.1.3.3 L'utérus

L'utérus est composé d'un corps et de deux cornes étroites et longues dans lesquelles se répartissent les embryons durant la gestation : il est bifide. Chez une chienne de taille moyenne, les cornes mesurent 12 à 15 centimètres de long, le corps trois à quatre centimètres et le col un à deux centimètres de long.

Le col est oblique ventro-caudalement, de sorte que l'ostium externe de l'utérus est tourné vers le plancher du vagin. La portion vaginale du col est bordée par un fornix profond ventralement. Le corps est dorsal à la vessie. Les cornes sont cylindriques, de calibre uniforme. Elles sont habituellement appliquées contre la paroi du flanc. Leur apex est voisin de la région lombaire, en regard des quatrième et cinquième vertèbres lombaires.

1.1.3.4 Les ovaires

Les ovaires sont allongés et aplatis chez la chienne. Ils mesurent 15 à 20 millimètres. Ils sont cachés dans une bourse ovarique presque complètement close et chargée de graisse. L'oviducte, situé également dans la bourse ovarique, est déporté à la face médiale et dorsale de l'ovaire.

Chaque ovaire est situé à petite distance du pôle caudal du rein correspondant, généralement latéralement, en regard des troisième et quatrième vertèbres lombaires, soit à six à huit centimètres de la dernière côte. Ils sont plus ventraux chez une femelle ayant déjà porté.

Après l'ovulation, les ovocytes circulent dans l'oviducte où ils sont fécondés par les spermatozoïdes. Les embryons rejoignent ensuite l'utérus vers la fin de la semaine suivant la fécondation, avant de s'y implanter vers le seizième jour après l'ovulation : c'est la nidification.

1.2 Cycle sexuel de la chienne

Le cycle sexuel de la chienne est qualifié de mono-œstrien, c'est-à-dire que la chienne n'a qu'une seule période de chaleurs par cycle (JOHNSTON *et al*., 2001).

L'intervalle entre deux périodes de chaleurs est variable selon la chienne et selon la race. En moyenne elle a des chaleurs 1 à 2 fois par an, avec un intervalle allant de quatre à douze mois (cinq à sept mois en moyenne) (JOHNSTON *et al*., 2001).

1.2.1 La puberté

(FONTBONNE *et al.,* 2007)

La puberté est définie comme la période au cours de laquelle la capacité de reproduction est atteinte. Chez la chienne, elle est identifiée par la mise en évidence des premières chaleurs. Elle survient lorsque la chienne a atteint 80% de son poids adulte, soit généralement entre quatre et dix-huit mois.

Il existe une très grande variabilité individuelle et interraciale. Ainsi, les chiennes de petites races sont généralement pubères avant neuf mois alors que les chiennes de grandes races peuvent présenter les premiers signes de chaleurs vers quinze mois. La plupart des chiennes n'atteignent pas leurs pleines facultés de reproduction avant les troisième ou quatrième chaleurs.

C'est avant tout la régularité des chaleurs qui optimise la fonction de reproduction. En effet, les chiennes qui ont des chaleurs irrégulières souffrent le plus souvent de troubles de la reproduction.

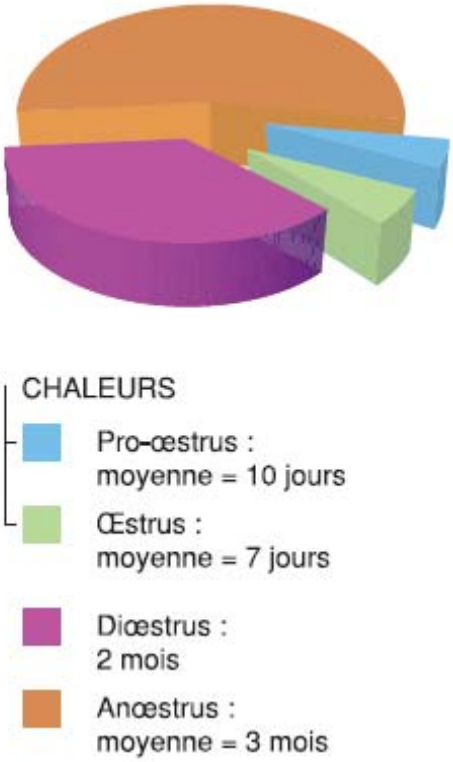
1.2.2 Les différentes phases du cycle sexuel

(FONTBONNE *et al.,* 2007)

Le cycle œstral, c'est-à-dire le cycle sexuel comportemental de la chienne, se divise en quatre phases : le pro-œstrus, l'œstrus, le métœstrus ou diœstrus et l'anœstrus. Chacune est caractérisée par des manifestations anatomiques, cliniques et comportementales, un profil hormonal et une cytologie vaginale particulière.

La répartition de ces différentes phases est présentée sur la figure 2.

Figure 2 : Répartition des différentes phases du cycle sexuel d'après FONTBONNE et *al.*, 2005



Le cycle ovarien de la chienne est composé d'une phase folliculaire et d'une phase lutéale qui sont séparées par l'ovulation.

Le pro-œstrus constitue avec l'œstrus les chaleurs de la chienne. Ces deux phases se distinguent par une modification comportementale. L'œstrus est en effet défini par la période d'acceptation du chevauchement du mâle.

1.2.2.1 Le pro-œstrus

C'est le début des chaleurs. Il dure trois à vingt jours et correspond à la période de croissance folliculaire et d'imprégnation œstrogénique. La chienne attire les mâles mais refuse l'accouplement.

Sous l'effet des œstrogènes, sécrétés à des concentrations sériques de plus en plus élevées par les follicules, des modifications physiques sont observées :

- des pertes séro-sanguinolentes à la commissure de la vulve, dues à un développement de l'utérus accompagné d'une congestion de sa muqueuse. Néanmoins, certaines chiennes présentent des pertes très discrètes (voire inapparentes) ;
- une vulve œdémateuse : gonflée et turgescente (accompagnée d'une dilatation du vagin, nécessaire pour permettre le futur accouplement). Au niveau du vagin, la muqueuse devient épaisse et œdémateuse.

1.2.2.2 L'œstrus

Lorsque la concentration sérique en œstrogènes arrive à son maximum, le comportement de la chienne se modifie. Elle commence à devenir réceptive aux mâles et accepte l'accouplement. En pratique, la chienne n'accepte pas toujours d'être saillie par le partenaire qui lui a été

choisi. Généralement, les pertes vulvaires s'éclaircissent et deviennent rosées à transparentes. La vulve est toujours gonflée mais moins turgescente.

C'est pendant l'œstrus que se déroule l'ovulation.

À l'inverse des autres femelles domestiques, les ovocytes de la chienne libérés lors de l'ovulation ne sont pas immédiatement fécondables. Ils sont en prophase I de méiose et doivent poursuivre leur maturation pendant encore environ deux jours avant de pouvoir être pénétrés par les spermatozoïdes. Ainsi, le moment optimal de fécondation se situe deux jours après l'ovulation (FONTBONNE *et al.*, 2007).

De plus, la survie des ovocytes est courte. En effet, on a estimé que la plupart des chiennes restent fécondables environ 48 heures voire trois jours après les deux jours de maturation, ce qui est peu comparé à la période de chaleurs qui s'étend sur trois semaines environ.

1.2.2.3 Le métœstrus ou diœstrus

Lors du métœstrus ou diœstrus, il n'y a plus de pertes vulvaires et la vulve reprend une taille normale.

Même si elles ne sont pas saillies, les chiennes ont après les chaleurs un fonctionnement quasiment identique à celui qu'elles auraient en cas de gestation. C'est ce qu'on appelle la pseudo-gestation, période pendant laquelle les corps jaunes ovariens sécrètent de la progestérone. Cette phase dure en moyenne 60 jours (FONTBONNE *et al.*, 2007).

1.2.2.4 L'anœstrus

C'est une phase de repos sexuel, d'une durée moyenne de quatre à cinq mois mais pouvant varier de deux à dix mois sans conséquence pathologique (CONCANNON, 1993).

Nous en détaillerons les mécanismes hormonaux dans la partie 1.3.3.2.1.

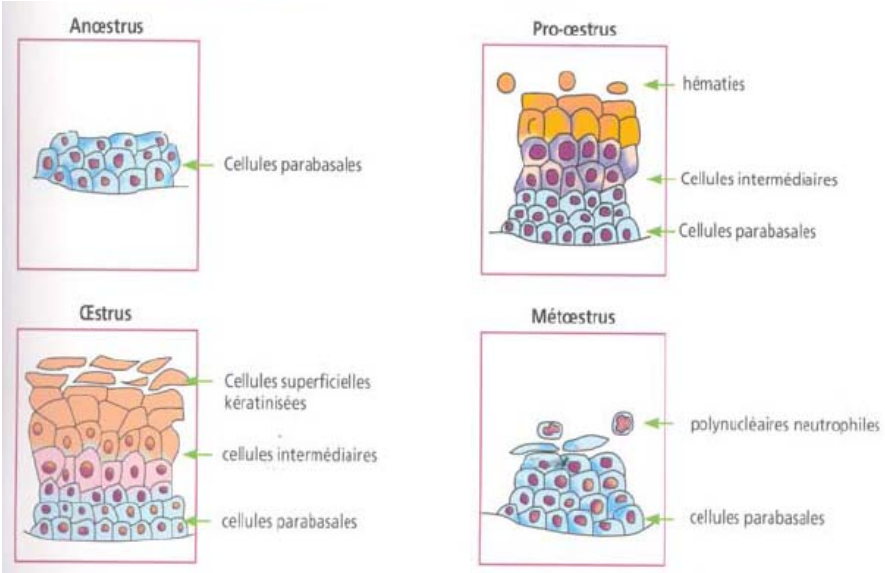
1.2.2.5 Détermination de la phase du cycle sexuel

La distinction entre les différentes phases du cycle sexuel se fait selon les observations anatomiques et comportementales que nous avons développées dans les parties 1.2.2.1 à 1.2.2.4, mais aussi sur la cytologie vaginale propre à chaque phase, ou encore le profil hormonal dont nous parlerons dans la partie 1.3.

Pour réaliser un frottis vaginal, un écouvillon stérile préalablement humidifié avec du sérum physiologique est introduit dans le vagin. Les cellules prélevées sont étalées sur une lame de verre puis colorées. Différentes colorations existent : des colorations unicolores comme la coloration May Gründwald Giemsa, Diff quick : RAL 555® ou des colorations différentielles : coloration dite de « Harris-Schorr » (Diagnoestrus RAL®) (FONTBONNE *et al.*, 2007).

Les frottis vaginaux permettent de visualiser le changement d'aspect des cellules vaginales corrélé aux variations hormonales, notamment celle des œstrogènes. La figure 3 présente l'aspect des cellules vaginales en fonction du cycle sexuel.

Figure 3 : Aspect schématique des cellules vaginales aux différentes phases du cycle sexuel d'après FONTBONNE *et al.*, 2007



En anœstrus, l'épithélium vaginal est constitué de quelques couches de cellules parabasales, qui sont des petites cellules rondes avec un noyau bien visible.

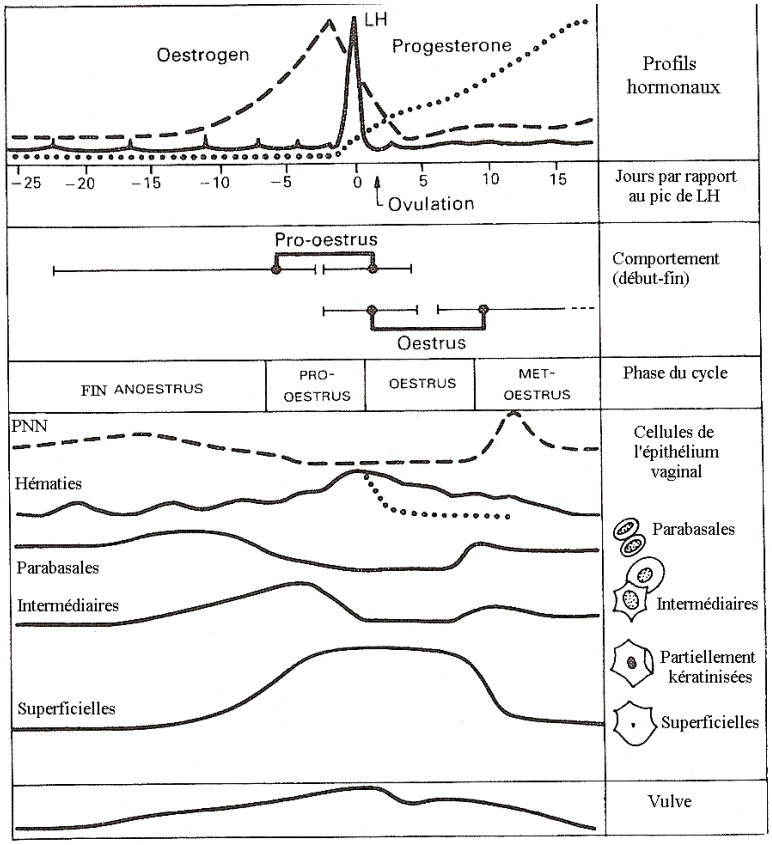
Au début du pro-œstrus, l'épithélium s'épaissit. Les cellules deviennent plus grandes (cellules intermédiaires), plus anguleuses et se chargent d'une substance cornée, la kératine : on parle de cellules superficielles kératinisées. Le noyau se condense au centre de la cellule et devient tout petit.

En œstrus, on observe plus de 60 à 80% de cellules superficielles kératinisées. Les cellules tendent à se regrouper en amas.

En début de dioestrus, le frottis redevient constitué de cellules intermédiaires puis parabasales. Des polynucléaires neutrophiles sont également visibles.

La figure 4 résume les évènements du cycle sexuel de la chienne.

Figure 4 : Relations temporelles entre les évènements endocriniens, les modifications comportementales et vulvaires et l'aspect des frottis vaginaux au cours du cycle sexuel de la chienne d'après CONCANNON, 1989



1.3 Cycle endocrinien de la chienne

La fonction endocrine correspond à la production par les ovaires des hormones sexuelles femelles.

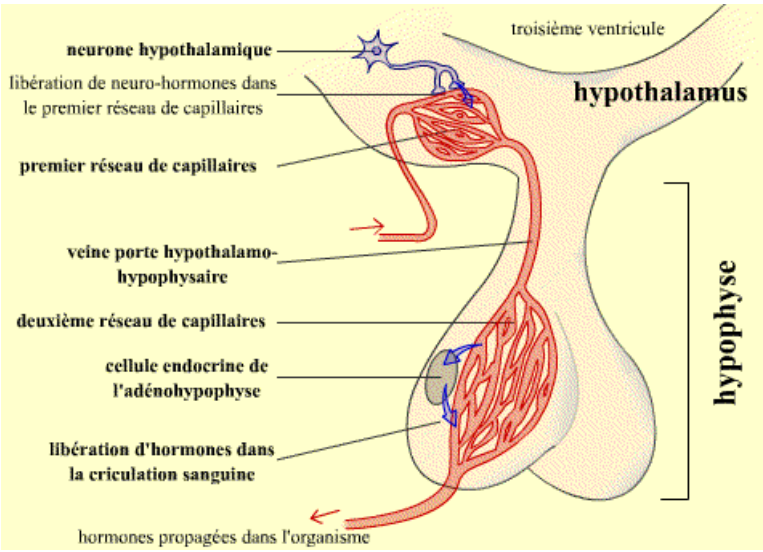
1.3.1 L'axe hypothalamus-hypophyse-ovaires et sa régulation

La régulation des fonctions gonadiques peut être, en première analyse, interprétée comme résultant d'un contrôle exercé par l'hypophyse sur les gonades. En réalité, elle résulte de mécanismes beaucoup plus complexes, faisant intervenir l'hypothalamus d'une part, des rétrocontrôles s'exerçant sur l'hypothalamus et l'hypophyse d'autre part, ainsi que les hormones gonadiques (THIBAULT et LEVASSEUR, 2001).

1.3.1.1 Présentation de l'axe hypothalamo-hypophysaire

Le complexe ou axe hypothalamo-hypophysaire est constitué de l'hypothalamus et de l'hypophyse tous deux en relation par voie nerveuse et sanguine par le système porte hypothalamo-hypophysaire, qui est présenté sur la figure 5 (THIBAULT et LEVASSEUR, 2001).

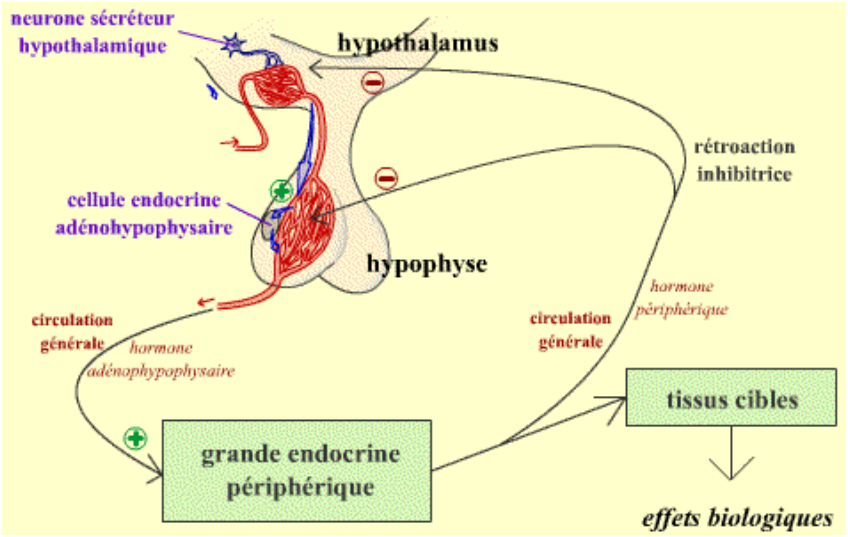
Figure 5 : Le système porte hypothalamo-hypophysaire d'après Vie, site ressource en Sciences de la Vie [http://www.snv.jussieu.fr/vie/index.html]



Le système porte hypothalamo-hypophysaire permet la transmission d'informations de l'hypothalamus à l'hypophyse. Les neurones hypothalamiques sécrètent des neuro-hormones qui sont ensuite captées par les cellules de l'hypophyse antérieure.

Une rétroaction inhibitrice est exercée par les hormones de la glande endocrine périphérique sur les neurones hypothalamique et les cellules de l'hypophyse antérieure, comme le montre la figure 6 (TIRET, 2006-2007).

Figure 6 : Représentation schématique fonctionnelle de l'axe hypothalamo-hypophysaire d'après Vie, site ressource en Sciences de la Vie [http://www.snv.jussieu.fr/vie/index.html]



1.3.1.2 L'hypothalamus et la sécrétion de GnRH

La GnRH (Gonadotrophin releasing hormone ou gonadolibérine) est un décapeptide dont la structure est identique chez tous les mammifères.

Elle est synthétisée par l'hypothalamus et directement libérée dans les capillaires du système porte hypothalamo-hypophysaire. Elle exerce son action stimulatrice sur les cellules gonadotropes de l'hypophyse antérieure suite à une fixation sur les récepteurs à la GnRH (CALDANI *et al.,* 1991).

(COUNIS *et al.,* 2001)

Ces cellules gonadotropes sécrètent la FSH (folliculo-stimulating hormone ou folliculostimuline ou follitropine) et la LH (luteinising hormone ou lutéostimuline ou lutropine).

La GnRH a un rôle de stimulation de la sécrétion de FSH et de LH.

En phase de repos, la GnRH est libérée de façon pulsatile (phénomène complexe qui se traduit par des changements rapides des concentrations plasmatiques à intervalles plus ou moins réguliers). Il en résulte une libération progressive et soutenue de FSH et une libération pulsatile de LH dans l'heure qui suit la décharge de GnRH. Dans la majorité des cas, il y a coïncidence presque parfaite entre le signal hypothalamique (pulse de GnRH) et la réponse de l'hypophyse (pulse de LH).

La fréquence et l'amplitude des pulses de GnRH sont des éléments déterminants dans l'intensité et la qualité de la réponse gonadotrope. Chez la femelle, la fréquence de décharge augmente au cours de la phase folliculaire pour atteindre une valeur maximale en phase ovulatoire.

Le mode de sécrétion pulsatile joue un rôle protecteur vis-à-vis d'une stimulation trop intense susceptible d'aboutir à une mise au repos de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

1.3.1.3 L'hypophyse et la sécrétion des hormones hypophysaires FSH, LH et prolactine

(COUNIS *et al*., 2001) (DRIANCOURT *et al.,* 2001)

La FSH et la LH sont des glycoprotéines synthétisées par les cellules gonadotropes. Celles-ci sont situées dans le lobe antérieur de l'hypophyse et irriguées exclusivement par le sang du système porte hypothalamo-hypophysaire, véhiculant notamment la GnRH. Elles sécrètent la FSH et la LH dans la circulation systémique.

Elles confèrent à l'hypophyse une fonction de relais amplificateur dans le contrôle de la fonction de reproduction :

- par le système nerveux central, principalement sous l'impulsion de la GnRH ;
- par des hormones périphériques, notamment les stéroïdes, via la circulation générale

La FSH et la LH jouent un rôle primordial dans le développement et la régulation de la fonction endocrine des gonades.

La FSH est une hormone qui agit à tous les stades du développement folliculaire. L'augmentation de la FSH circulante est un évènement-clé dans la folliculogenèse (croissance et maturation des follicules entre la réserve constituée par l'ovogenèse et l'ovulation par rupture des follicules) chez la chienne (KOOISTRA *et al*., 1999). Elle déclenche et stimule la croissance folliculaire. En synergie avec la LH, elle induit également la synthèse d'œstrogènes par les cellules folliculaires en stimulant dans les cellules de la Granulosa l'activité de l'aromatase, enzyme qui transforme les androgènes en œstradiol.

La LH est l'hormone de la stéroïdogenèse et de la lutéinisation. Elle stimule la synthèse des stéroïdes sexuels en favorisant la conversion du cholestérol en progestérone (elle-même précurseur des androgènes et des œstrogènes). Sa durée de vie est plus courte que celle de la FSH. Son action complète celle de la FSH : elle active la maturation folliculaire et provoque l'ovulation puis la formation du corps jaune sur les follicules préalablement sensibilisés par la FSH.

La prolactine est élaborée par les cellules lactotropes et mammosomatotropes de l'hypophyse antérieure. Elle joue certes un rôle dans le développement de la mamelle, mais pas seulement. Chez la chienne, elle joue également le rôle de facteur lutéotrope, permettant ainsi le maintien du corps jaune pendant la gestation, en association avec la LH. Elle joue aussi un rôle dans la maturation des follicules, en inhibant la sécrétion d'œstradiol et en régulant l'activité de l'aromatase stimulée par la FSH.

1.3.1.4 Physiologie de l'ovaire

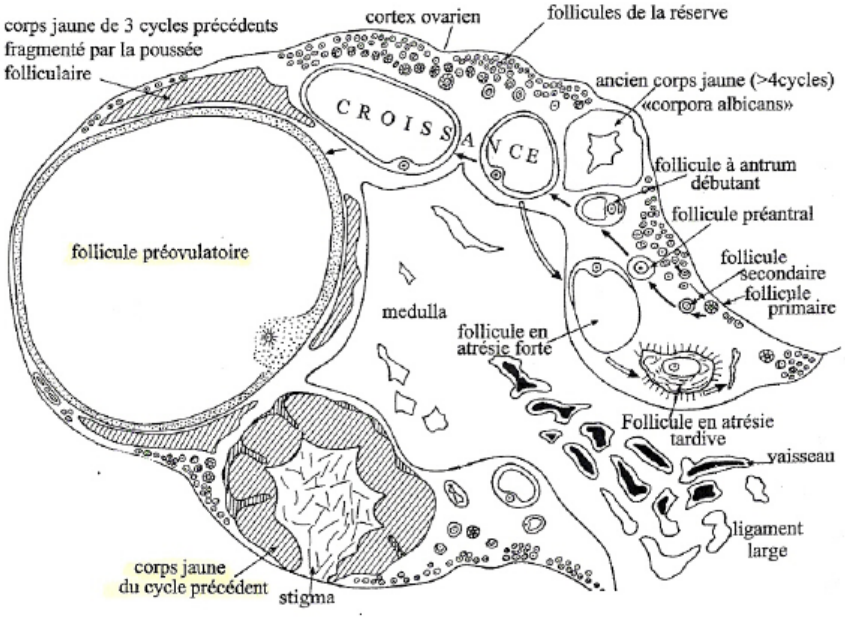
(DRIANCOURT *et al.,* 2001) (FONTBONNE *et al.,* 2007)

1.3.1.4.1 Structure de l'ovaire

L'ovaire est constitué d'une corticale et d'une médullaire. La corticale contient les follicules ovariens, qui sont des édifices cellulaires sphériques de taille variable. Il s'y déroule l'ovogenèse et ils assurent une part importante de la fonction endocrine de l'ovaire.

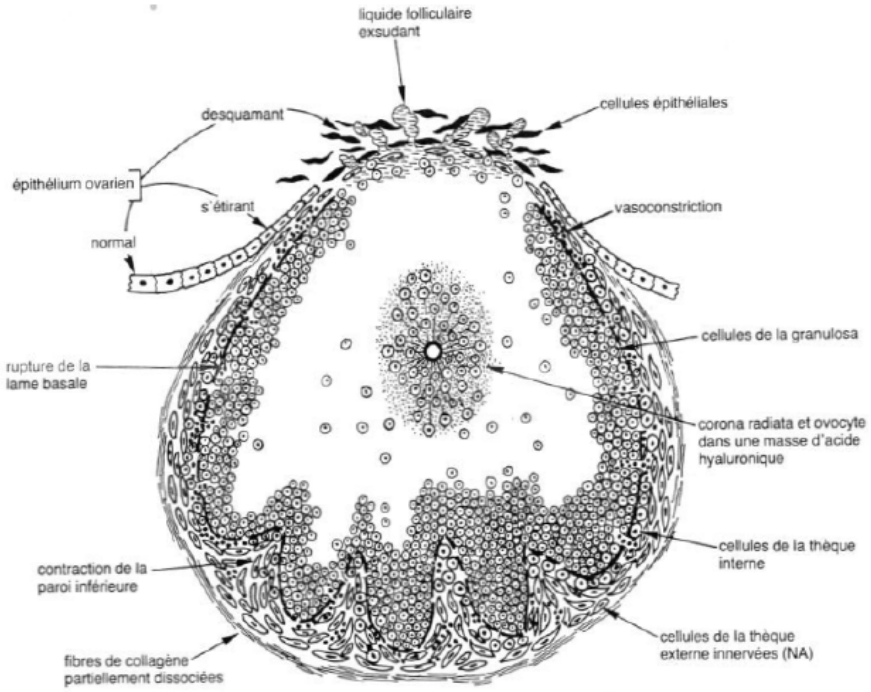
Au cours du cycle sexuel, les follicules passent par différentes formes comme le montre la figure 7 : les follicules primordiaux deviennent primaires puis secondaires puis tertiaires (ou cavitaires) et enfin mûrs ou de De Graaf. Ces derniers sont dits follicules pré-ovulatoires (présentés sur la figure 8) et leur contenu est expulsé lors de l'ovulation dans le pavillon de l'oviducte, appelé infundibulum. Après l'expulsion de l'ovocyte, les follicules se transforment en corps jaunes, constitués d'une couche thécale et d'une couche lutéinique issues respectivement des cellules de la thèque interne et des cellules de la Granulosa de l'ancien follicule.

Figure 7 : Représentation schématique d'un ovaire d'après THIBAULT et LEVASSEUR, 2001



1.3.1.4.2 Fonction endocrine de l'ovaire

Figure 8 : Représentation schématique d'un follicule pré-ovulatoire d'après DRIANCOURT *et al.*, 2001



Le follicule tertiaire a une fonction endocrine : les cellules de la Granulosa synthétisent des androgènes, qui sont ensuite transformés en œstrogènes (action de l'aromatase). Elles ont aussi des récepteurs à la FSH, permettant la stimulation de l'activité de l'aromatase. Les grandes cellules thécales du corps jaune, issues de la Granulosa, synthétisent également des œstrogènes.

Les œstrogènes sont présents essentiellement sous la forme d'œstrone et de 17-β œstradiol. Ils régissent notamment les modifications histologiques et comportementales observées lors du pro-œstrus.

La progestérone est principalement sécrétée par le corps jaune, mais également par la paroi des follicules ovariens matures en faible quantité avant l'ovulation. C'est une des particularités de la chienne : sous l'effet du pic pré-ovulatoire de LH, les cellules de la Granulosa se lutéinisent. Elle est responsable des manifestations comportementales de l'œstrus, après imprégnation œstrogénique de l'organisme.

1.3.1.5 Régulation de la GnRH et des hormones gonadotropes

1.3.1.5.1 Régulation de la GnRH

(SCHNEIDER *et al*., 2006)

Les androgènes et les œstrogènes à faible dose en association avec la progestérone à faible dose (situation retrouvée en début de phase folliculaire) exercent un rétrocontrôle négatif sur la synthèse de GnRH qui est alors délivrée à un niveau basal et continu.

À forte dose d'œstrogènes (situation retrouvée pendant la période pré-ovulatoire), la synthèse est au contraire accrue et la libération de GnRH devient pulsatile et plus fréquente.

1.3.1.5.2 Régulation de FSH et LH

(SCHNEIDER *et al*., 2006)

L'essentiel de la régulation est assurée par le rétrocontrôle des hormones gonadiques.

Les androgènes exercent un rétrocontrôle spécifique sur la LH, tandis que les œstrogènes ont un rétrocontrôle élargi à la FSH et à la LH. Il faut ajouter le rôle majeur de l'inhibine, synthétisée par les cellules de la Granulosa, sur la baisse de synthèse de la FSH.

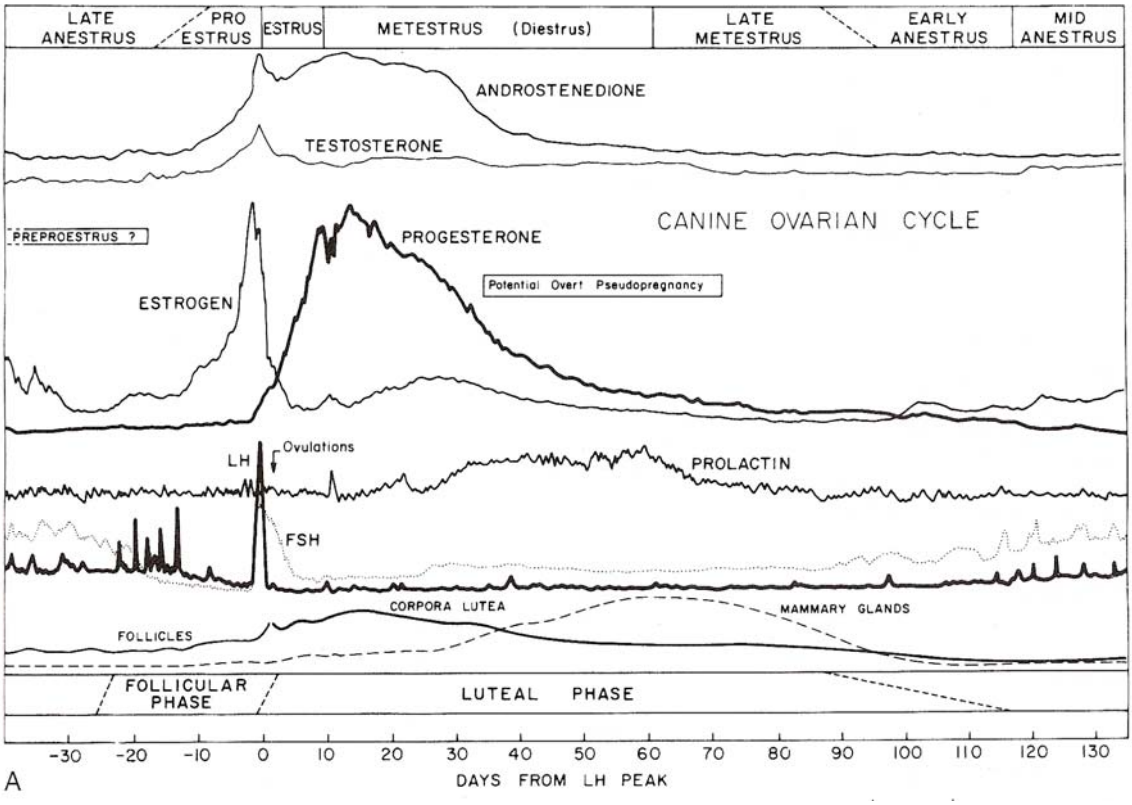
1.3.2 Profils hormonaux durant le cycle ovarien

Le cycle endocrinien s'intéresse aux variations hormonales. Il concerne la GnRH, les hormones gonadotropes FSH, LH, la prolactine, les hormones ovariennes : œstrogènes, progestérone, mais aussi l'inhibine.

Il est globalement caractérisé par une domination des œstrogènes et de l'inhibine dans sa première partie et une domination de la progestérone après l'ovulation.

Ces variations hormonales sont présentées sur la figure 9, à laquelle nous allons nous référer dans les parties suivantes.

Figure 9 : Changements hormonaux et physiologiques durant le cycle ovarien chez la chienne d'après CONCANNON, cité par JOHNSTON *et al*., 2001



Le profil hormonal de l'inhibine suit celui des œstrogènes.

1.3.3 Evènements conduisant à l'ovulation

L'ovulation est un phénomène ponctuel qui résulte de deux processus plus longs : l'ovogenèse et la folliculogenèse.

1.3.3.1 L'ovogenèse

(TIRET, 2006-2007)

L'ovogenèse se déroule pendant la vie embryonnaire. Le stock d'ovocytes est à peu près constitué à la naissance. Les follicules de réserve sont des follicules dits primordiaux ; ils sont constitués d'un ovocyte primaire et d'une couche de cellules aplaties.

1.3.3.2 La folliculogenèse

(TIRET, 2006-2007) (WURTH, 2010)

La folliculogenèse est la croissance et la maturation des follicules entre la réserve constituée par l'ovogenèse et l'ovulation par rupture des follicules.

1.3.3.2.1 En anœstrus

L'anœstrus est loin d'être une phase sans activité hormonale (JOHNSTON *et al*., 2001).

Sous l'effet du rétrocontrôle exercé par les œstrogènes et la progestérone dont les concentrations restent basales (OKKENS et KOOISTRA, 2006), les concentrations sériques de FSH et de LH pendant l'anœstrus sont caractérisées par un niveau de base faible : c'est la sécrétion tonique, soumise à de petites fluctuations rythmiques à peine perceptibles, comme présenté dans la figure 9 (DRIANCOURT *et al.,* 2001).

Lors de l'anœstrus, se produit le début de la folliculogenèse.

La concentration sérique en FSH augmente lentement et continuellement, notamment durant les 60 derniers jours de l'anœstrus (OKKENS et KOOISTRA, 2006) comme le montre la figure 9. Cette augmentation est un évènement-clé dans la folliculogenèse. Elle a plusieurs effets :

- le recrutement des follicules : les follicules primordiaux, qui sont présents dès la naissance, vont sortir de leur réserve et entrer en phase de croissance ;
- la croissance de ces follicules et la prolifération des cellules de la Granulosa ;
- l'acquisition de récepteurs à la LH sur les cellules de la Granulosa en plus de ceux déjà présents sur les cellules de thécales et donc l'augmentation du nombre de follicules capables de répondre à la stimulation de la LH.

(CONCANNON, 2009)

Progressivement, la LH est capable de remplacer la FSH dans la maturation folliculaire. C'est pourquoi, l'administration seule de LH pendant l'anœstrus peut entrainer la croissance folliculaire et induire le pro-œstrus (OKKENS et KOOISTRA, 2006).

Entre le début et la fin de l'anœstrus, on note une augmentation de la libération de GnRH par l'hypothalamus, notamment en fin d'anœstrus, phase durant laquelle la fréquence des pulses augmente significativement, passant d'une pulse toutes les six à huit heures voire moins à une pulse toutes les 60 à 120 minutes pendant plusieurs jours (CONCANNON, 1993). Cela a comme conséquence une augmentation de la fréquence des pulses de LH pendant quelques jours (cinq à dix jours) comme le montre la figure 9.

Les pulses de FSH sont de faible amplitude ; elles augmentent de 20 à 100% par rapport à la valeur basale alors que celles de LH sont de forte amplitude puisqu'elles augmentent de 300 à 1000% par rapport à la valeur basale (DE GIER *et al*., 2008).

La sensibilité de l'hypophyse à la GnRH et la réponse indirecte de l'ovaire à la GnRH de chiennes en début et en fin d'anœstrus ont été étudiées par l'administration intraveineuse de doses croissantes de GnRH (0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/kg). Les réponses sont exprimées par les concentrations sériques en LH et en œstradiol. Elles sont significativement dose-dépendantes, plus élevées en fin qu'en début d'anœstrus et positivement corrélées. On a donc une augmentation de la sensibilité de l'hypophyse à la GnRH et de la réponse ovarienne aux gonadotrophines au fur et à mesure de la progression de l'anœstrus (VAN HAAFTEN *et al*., 1994).

De plus, une étude sur l'œstradiolémie a révélé une augmentation de la sécrétion d'œstradiol et d'androgènes dans le mois précédant le pro-œstrus (JEFFCOATE, 1993). Elle contribuerait en partie à l'augmentation de la fréquence et de l'amplitude des pulses de LH observée. En retour, ces pulses de LH stimulent les follicules, ce qui induit une augmentation de la production d'androgènes par les cellules thécales des follicules ainsi que la lutéinisation d'une petite région des follicules, permettant la production d'une faible quantité de progestérone (CONCANNON, 2009).

Notons qu'à tout moment de l'anœstrus, il y a une cohorte de follicules répondant à la LH qui peuvent répondre aux pulses physiologiques de GnRH. Il reste à éclaircir si cette réponse implique des récepteurs à la LH des cellules de la Granulosa en plus de ceux des cellules thécales (CONCANNON, 2009).

1.3.3.2.2 En pro-œstrus

En début de pro-œstrus, des follicules de deux à trois millimètres recrutés par l'augmentation de la FSH sont présents. Puis, les follicules deviennent plus gros (cinq à huit millimètres).

La concentration sérique en œstradiol augmente avec le développement folliculaire. Le taux qui était basal en fin d'anœstrus (environ 5 pg/ml) atteint un pic d'environ 45 à 120 pg/ml en fin de pro-œstrus (CONCANNON, 2009) comme le montre la figure 9.

Ainsi, pendant la première partie du pro-œstrus, les œstrogènes combinés à l'inhibine exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et limite la libération de LH et de FSH. Les follicules deviennent alors semi-autonomes et sont dits follicules pré-ovulatoires, stade ultime de la folliculogenèse et de l'ovogenèse, que la majorité des follicules n'atteindra jamais.

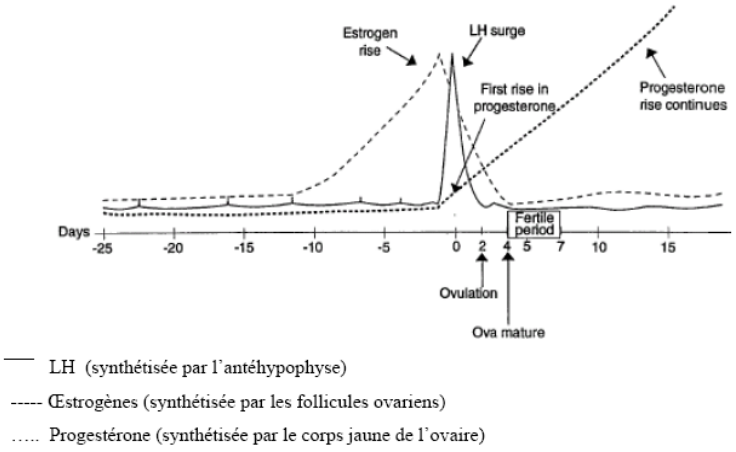
1.3.3.3 L'ovulation lors de l'œstrus

1.3.3.3.1 La phase pré-ovulatoire

Le déterminisme hormonal de l'ovulation et des chaleurs est plus complexe chez la chienne que pour d'autres espèces. Lors de l'ovulation, ce sont essentiellement les œstrogènes et la LH qui interviennent, comme présenté sur la figure 10, pour aboutir à la rupture du follicule ovarien qui s'accompagne de la libération des ovocytes (FONTBONNE *et al*., 2007).

En fin de pro-œstrus, au-delà d'une concentration-seuil, l'œstradiol exerce une rétroaction positive sur le système hypothalamo-hypophysaire. Une augmentation de la fréquence des décharges de GnRH se produit et ainsi les décharges de FSH et de LH se déroulent simultanément (MONNIAUX *et al.,* 2009), comme le montre la figure 10.

Figure 10 : Concentrations hormonales autour de l'ovulation – Modèle général d'après GOODMAN, 2002



De plus, la progestéronémie augmente rapidement pour passer de 0,2-0,4 ng/ml à 0,6-1 ng/ml au moment du pic de LH, comme présenté sur la figure 10. En parallèle de la progestérone, il y a augmentation d'un métabolite, la 17-alpha-hydroxy-progestérone. Ces deux molécules facilitent le moment et l'étendue du pic de LH et donc le début de l'œstrus, par diminution du ratio œstrogènes/progestérone. La concentration sérique en FSH augmente simultanément. Le temps de demi-vie de la FSH est plus long que celui de la LH et son taux sérique reste élevé plus longtemps (KOOISTRA *et al*., 1999).

Le pic pré-ovulatoire de LH dure un à trois jours. Sa concentration sérique s'élève en moyenne à 4-40 ng/ml. Il détermine le début de la phase lutéale, en stimulant la synthèse de progestérone par les follicules ovariens matures (CONCANNON, 2009).

1.3.3.3.2 L'ovulation et ses méthodes de détection

Ainsi, le facteur déclenchant de l'ovulation est une augmentation très significative de la concentration sérique en LH secrétée par l'hypophyse. L'ovulation survient 48 à 60 heures après le pic de LH. La progestéronémie est entre 4 et 10 ng/ml au moment de l'ovulation (FONTBONNE *et al.,* 2007).

(FONTBONNE *et al.,* 2007)

Il existe plusieurs méthodes de détection du moment de l'ovulation.

1.3.3.3.2.1 Comportement et modifications morphologiques

- L'éclaircissement des pertes vulvaires

Les pertes sanguines vulvaires, généralement très foncées pendant le pro-œstrus, s'éclaircissent au fur et à mesure que l'on se rapproche du moment optimal de fécondité et deviennent quasiment translucides. Alors que certaines chiennes perdent peu de sang pendant leurs chaleurs, à l'inverse, d'autres présentent des saignements vulvaires très colorés en période optimale.

L'aspect des écoulements reste cependant imprécis.

- L'acceptation de l'accouplement

La période d'acceptation de la saillie ne correspond pas toujours à la période de fécondation.

En effet, la chienne peut accepter d'être saillie pendant une période de huit jours (trois jours avant l'ovulation à cinq jours après l'ovulation : REYNAUD *et al.*, 2006). Or, le moment optimal de fécondation se situe deux jours après l'ovulation : c'est la période optimale pour un accouplement et/ou une insémination artificielle, afin d'optimiser la fertilité.

De plus, la chienne peut également se laisser saillir lors d'affections pathologiques des ovaires (kystes ovariens).

L'acceptation de l'accouplement n'est donc pas un critère fiable car il est inconstant.

- Le nombre de jours de chaleurs

D'après une étude menée sur 745 chiennes suivies au CERCA (Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort), on estime que 40% des chiennes sont prêtes pour une saillie entre le dixième et le treizième jour des chaleurs. Néanmoins, 10% le sont avant ces dates et 50% le sont après.

De plus, une étude a montré qu'il existe 44% de variation sur des cycles successifs chez la même chienne (BADINAND *et al.*, 1993).

Ce critère n'est donc pas fiable.

1.3.3.3.2.2 Visualisation des plis vaginaux par endoscopie

C'est une technique principalement utilisée dans les pays anglo-saxons. La paroi subit des modifications pendant les chaleurs : elle est très œdémateuse et rosée en début de chaleurs puis devient pâle, plissée et anguleuse lorsque l'on se rapproche de l'œstrus. Son utilisation est aussi pertinente que l'utilisation des frottis vaginaux.

1.3.3.3.2.3 La mesure de la résistivité du mucus vaginal

À l'aide d'un appareil nommé ohm-mètre, la résistivité du mucus vaginal peut être mesurée. Lors du pro-œstrus, cette mesure augmente progressivement avant de chuter dans les 48 heures avant l'ovulation. Il faut se fier à l'allure de la courbe et non aux valeurs mesurées. Cependant, il y a une grande variabilité avec cette technique. En effet, la longueur du vagin ne permet pas de faire les mesures toujours au même endroit. De plus, cette méthode est lourde car elle nécessite un suivi quotidien voire biquotidien pour être fiable. Enfin, le risque de transmission d'agents infectieux d'une chienne à l'autre est non négligeable, d'où l'importance de mesures d'hygiène aussi draconiennes que lourdes à mettre en place.

1.3.3.3.2.4 Pic de LH

C'est une méthode utilisée aux États-Unis. C'est une méthode très fiable puisque le pic de LH intervient entre 36 et 50 heures avant l'ovulation (REYNAUD *et al.*, 2005), mais elle est contraignante car elle implique deux à trois prises de sang par jour. De plus, ce dosage est très coûteux donc très peu réalisé en Europe.

D'après DE GIER *et al.* (2006), la concentration sérique en LH lors du pic est de 18,7 ± 5,8 ng/ml et la durée du pic de LH est de 36 ± 5 heures.

En pratique, les méthodes utilisées pour la détermination du moment optimal de fertilité sont la combinaison des frottis vaginaux et du dosage de la progestéronémie.

1.3.3.3.2.5 Frottis vaginaux

L'aspect des cellules vaginales a été développé dans la partie 1.2.2.5.

Chez environ 90% des chiennes, la cytologie vaginale est très utile et pertinente pour identifier la période juste avant et juste après l'ovulation. Cependant, chez 10% des femelles suivies, la cytologie vaginale évolue de façon inhabituelle par rapport à ce qui est décrit classiquement (FONTBONNE *et al*., 2005). Leur intérêt n'est réel que lorsqu'ils sont utilisés en combinaison avec le dosage de la progestérone plasmatique.

Ils ont comme autre intérêt la mise en évidence d'une infection vaginale.

1.3.3.3.2.6 Dosage de la progestérone plasmatique

Comme nous l'avons vu sur la figure 10, la chienne présente une particularité : la paroi des follicules commence à synthétiser de la progestérone à des taux détectables dès le pic de LH, c'est-à-dire environ 48 heures avant l'ovulation. C'est la « lutéinisation pré-ovulatoire des follicules ».

Ainsi, la progestéronémie, basale durant tout le pro-œstrus, devient détectable par dosage avant l'ovulation. Le tableau 1 résume les valeurs de progestéronémie dans l'étude de FONTBONNE (2008).

Tableau 1 : Progestéronémie à l'ovulation chez la chienne de race Beagle, d'après FONTBONNE, 2008

Nombre de chiennes	Âge	Progestéronémie à l'ovulation (ng/ml)
21	8-14 mois	5,39 ± 1,52
13	9 mois-8 ans	6,25 ± 1,48
35	10 mois-6 ans	6,25 ± 1,55

Rappelons que ces valeurs dépendent du laboratoire où sont expédiés les prélèvements et qu'il est nécessaire d'étalonner son laboratoire de proximité sur un centre de référence pour ce dosage de la progestérone plasmatique.

1.3.3.3.2.7 Le suivi échographique de l'ovulation

C'est la technique la plus précise actuellement mais peu pratiquée par les vétérinaires car elle est lourde à mettre en place (échographie quotidienne nécessaire pendant les jours précédant l'ovulation).

L'échographie ovarienne permet d'objectiver les changements tissulaires se produisant au niveau des ovaires avant et après l'ovulation : transformation d'un follicule pré-ovulatoire à cavité liquidienne en une structure lutéale après expulsion du liquide antral.

Chez la chienne, l'échographie des ovaires s'effectue par voie transabdominale comme le montrent les photographies 1 et 2.

Photographie 1 : Positionnement possible d'une échographie des ovaires d'après LEVY et FONTBONNE, 2007

Photographie 2 : Positionnement possible d'une échographie des ovaires d'après LEVY et FONTBONNE, 2007

Dans une étude menée sur 69 chiennes, l'ovulation a été clairement détectée par échographie chez 64 chiennes (92,6%). Les difficultés sont rencontrées pour des chiennes de très grande taille pour lesquelles obtenir une image de bonne qualité est plus difficile. Une échographie quotidienne suffit pour détecter correctement l'ovulation (FONTBONNE, 2008).

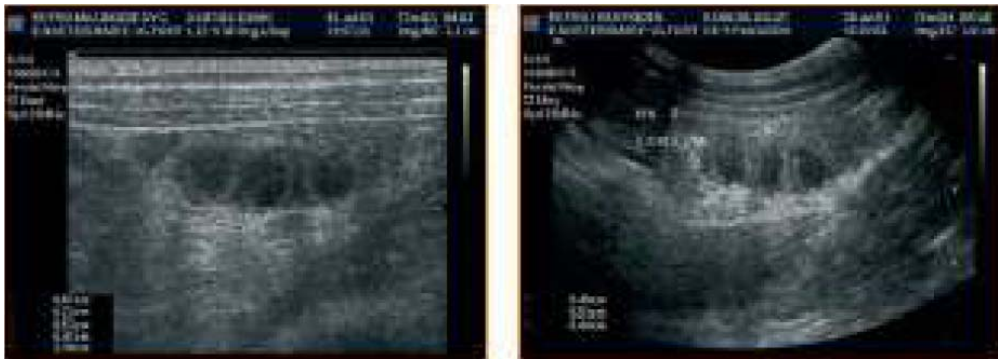
Il existe plusieurs signes échographiques, présentés dans le tableau 2, traduisant l'ovulation. Ils ne sont pas tous systématiquement observés.

Tableau 2 : Fréquence des signes échographiques caractérisant l'ovulation chez la chienne d'après FONTBONNE, 2008

Signe échographique	Fréquence (en %) sur 48 chiennes
Point blanc intrafolliculaire avant l'ovulation	> 29,2%
Persistance de follicules non ovulés	45,9%
Liquide autour de l'ovaire	39,6%
Structures hypoéchogènes dans l'ovaire après l'ovulation	50%
Disparition complète des cavités folliculaires	37,5%

En période pré-ovulatoire, les follicules ovariens en croissance apparaissent sous forme de taches anéchogènes (liquide folliculaire) sphériques, accolées les unes aux autres comme le montrent la photographie 3. Leur taille va passer progressivement de trois millimètres à six à sept millimètres (au maximum neuf millimètres) en début d'œstrus. Parallèlement, leur paroi va augmenter de taille dans les jours qui précèdent l'ovulation (lutéinisation pré-ovulatoire).

Photographie 3 : Aspect de follicules pré-ovulatoires d'après LEVY et FONTBONNE, 2007



À l'ovulation, on observe une disparition des cavités folliculaires totale ou partielle, avec le plus souvent persistance de structures intra-ovariennes anéchogènes ou hypoéchogènes et de taille inférieure à celle des follicules pré-ovulatoires comme le montrent la photographie 4.

Photographie 4 : Aspect de follicules au moment de l'ovulation d'après LEVY et FONTBONNE, 2007

Le moment de l'ovulation est corrélé à une forte augmentation de la progestéronémie. Il est donc recommandé d'utiliser la valeur de la progestéronémie, associée à l'échographie, pour augmenter la précision de la détermination de l'ovulation.

1.3.4 La période post-ovulatoire

1.3.4.1 La phase post-ovulatoire en œstrus

(CONCANNON, 2009)

Les œstrogènes, l'inhibine, la FSH et la LH retrouvent progressivement leur concentration de base comme présenté sur la figure 9. La progestéronémie augmente rapidement avec

l'installation des corps jaunes et dépasse 10 ng/ml après l'ovulation, comme le montre la figure 9.

La durée de l'œstrus est variable. On considére que l'œstrus physiologique s'étend du pic de LH au premier frottis vaginal de métœstrus situé en moyenne sept jours après le pic de LH avec des valeurs minimales et maximales de six et onze jours après le pic de LH.

1.3.4.2 Le métœstrus

Les cellules du corps jaune canin semblent préprogrammées pour croître, se différencier et survivre pendant environ 65 jours.

La progestérone présente ainsi des valeurs élevées du pic de LH jusque 55 à 75 jours chez les chiennes non-gestantes. Généralement, la progestérone est à son maximum 15 à 25 jours après le pic de LH à des valeurs de 15 à 85 ng/ml et diminue ensuite progressivement. La progestérone a comme seule origine les corps jaunes et est sous dépendance de la LH et de la prolactine qui sont des facteurs lutéotropes. Dans la plupart des études, la progestéronémie ne diffère pas entre les chiennes gestantes et les chiennes non-gestantes (CONCANNON, 2009).

La fin du métœstrus est définie lorsque la progestéronémie atteint pour la première fois une valeur inférieure à 3 nmol/l (OKKENS et KOOISTRA, 2006).

1.4 Quelques affections de l'appareil génital de la chienne

Nous allons développer dans cette partie les principales affections de l'appareil génital de la chienne, qui peuvent faire suite à certains traitements hormonaux visant à maîtriser médicalement la reproduction de la chienne, que nous développerons dans la partie 2.

1.4.1 La lactation de pseudo-gestation

(FONTBONNE *et al.*, 2007)

Cette affection touche régulièrement 64% des chiennes. Elle se caractérise par un développement mammaire et une lactation sans gestation. Elle survient lorsque la progestéronémie s'effondre, soit entre un mois et demi et trois mois après les chaleurs.

Les symptômes sont variables. Ils peuvent être physiques (développement mammaire, lactation…) et/ou comportementaux (construction d'un nid, maternage d'objets…).

La guérison est souvent spontanée, en deux à quatre semaines, mais les récidives étant fréquentes, il est conseillé de traiter cette affection qui peut favoriser l'apparition de tumeurs mammaires.

1.4.2 L'hyperplasie glandulo-kystique de l'utérus/le pyomètre

(FONTBONNE *et al.*, 2007)

L'hyperplasie glandulo-kystique (HGK) est une affection de l'utérus de la chienne ou de la chatte qui apparaît pendant la phase de métœstrus (période pendant laquelle les ovaires sécrètent de la progestérone).

Elle correspond à une altération de l'endomètre caractérisée par un épaississement, une hyperplasie et une destruction dans les cas les plus sévères. Dans les cas sévères, elle est associée à l'apparition de kystes. Le pyomètre est une accumulation de pus dans une ou les deux cornes de l'utérus associée à une destruction plus ou moins marquée de la paroi de l'utérus.

Ces deux affections se rencontrent plus fréquemment chez la chienne âgée lors du métœstrus. Cependant, elles peuvent se rencontrer chez la jeune femelle en cas d'anomalie congénitale (kyste ovarien sécrétant…) ou acquise (vaginite…) ou encore lors de traitement hormonal intempestif (avortement de convenance aux œstrogènes par exemple).

L'HGK et le pyomètre ne peuvent se développer que sous une imprégnation de progestérone répétée ou prolongée (naturelle ou progestatifs) associée pour le pyomètre à un envahissement bactérien.

La progestérone induit des modifications dans les cellules et les glandes de l'endomètre. Les glandes se développent et un exsudat inflammatoire est libéré dans l'utérus où il fait le lit d'une contamination bactérienne. De plus, la progestérone inhibe la réponse immunitaire de l'utérus et en diminue la contractilité. Toutes ces modifications peuvent entrainer une hyperplasie glandulo-kystique de l'endomètre.

Une sécrétion concomitante d'œstrogènes augmente le risque d'apparition de pyomètre car les œstrogènes augmentent le nombre de récepteurs à la progestérone dans l'endomètre, amplifiant ainsi l'action de la progestérone.

La forme non compliquée d'HGK est en général asymptomatique. Cependant, elle est associée à un échec de l'implantation d'œufs fécondés avec comme conséquence de petites portées ou une infertilité et une mort embryonnaire précoce dans certains cas.

Lors de pyomètre, les signes cliniques sont variables. Il peut être « à col ouvert » : la chienne présente alors des écoulements vulvaires purulents et un léchage fréquent de la vulve ou bien « à col fermé » : le pus s'accumule dans les cornes utérines sans perte vulvaire associée.

Les autres signes présents peuvent être l'abattement, l'anorexie, des troubles digestifs, une polyuro-polydypsie ou une ptôse abdominale.

Le traitement de choix est chirurgical : c'est l'ovariohystérectomie. Cependant, il peut être médical si la chienne n'est pas anesthésiable ou si la femelle est destinée à la reproduction (FONTBONNE *et al.*, 2007).

1.4.3 Les tumeurs mammaires

(FONTBONNE *et al.*, 2007) (LANA *et al.*, 2007) (SCHNEIDER *et al*., 1969)

En terme d'incidence, les tumeurs mammaires représentent le premier type de tumeur la plus fréquente chez la chienne. Leur fréquence varie de 25% à 50% de l'ensemble des tumeurs selon les auteurs. L'âge moyen de diagnostic des tumeurs mammaires chez la chienne est de huit à douze ans. Cinquante pour cent des tumeurs mammaires sont malignes chez la chienne.

Les hormones stéroïdes jouent un rôle dans le développement des tumeurs mammaires. Les œstrogènes joueraient un rôle dans l'initiation des tumeurs et dans leur développement. La progestérone favorise la multiplication cellulaire. Elle agit sur des tissus préalablement stimulés par les œstrogènes. L'Hormone de croissance (GH : Growth Hormone) stimule la croissance des tumeurs. Dans certaines études, il est rapporté que de fortes concentrations en prolactine augmenteraient l'apparition de lésions pré néoplasiques.

L'interaction de la progestérone et des progestagènes synthétiques avec les récepteurs à la progestérone situés dans la mamelle stimule la production locale de GH (Growth Hormone, hormone de croissance) qui a une action sur la croissance cellulaire et la différenciation de la glande mammaire.

Il semble que les lactations de pseudo gestation répétées augmenteraient le risque de tumeur mammaire. Une hypothèse émise est que la distension mammaire et la rétention de lait sans vidange entraînerait une hypoxie locale avec une libération de radicaux libres connus pour être cancérigènes. Ces effets ne sont pas observés en cas de lactation post-partum, en effet il n'y alors pas d'accumulation ni de dégradation du lait dans la glande mammaire.

Les tumeurs mammaires se caractérisent par la présence de masses palpables dans le tissu mammaire. Le plus souvent, il n'y a aucune répercussion sur l'état général. Cependant, les tumeurs mammaires peuvent être associées à la présence de métastases, principalement au niveau pulmonaire, se traduisant alors par une dyspnée et une intolérance à l'exercice.

Le traitement est la chirurgie ; il correspond à l'exérèse de la chaine mammaire entière ou de la demi-chaine mammaire en fonction des mamelles touchées.

Ces affections étant sous dépendance hormonale, leur prévention passe par la stérilisation, que nous allons exposer dans la partie 2.

2 Maîtrise de la reproduction chez la chienne

Par « maîtrise de la reproduction » on entend prévention ou suppression définitive des chaleurs chez la chienne ou encore interruption de la gestation après un accouplement indésirable. Nous allons développer dans cette partie uniquement les méthodes de prévention ou de suppression des chaleurs.

En 2008, la FACCO (Chambre Syndicale des Fabricants d'Aliments Préparés pour Chiens, Chats, Oiseaux et Autres animaux Familiers) a réalisé avec TNS Sofres (Société française d'enquêtes par sondages) sa quatorzième étude sur la place des animaux de compagnie en France. Elle a révélé un nombre de chiens en baisse constante (7,8 millions) et un taux de stérilisation chirurgicale qui augmente d'année en année (29,8% de la population totale de chiens sont stérilisés, soit + six points par rapport à 2006), ce qui est une preuve tangible du souhait des propriétaires de maîtriser la reproduction de leur animal.

La maîtrise de la reproduction de la chienne présente en effet de nombreux avantages :

- réduction d'un certain nombre d'affections hormono-dépendantes : tumeur mammaire, lactation de pseudo-gestation, pyomètre, prolapsus vaginal, que nous avons développées dans la partie 1.4 ;
- éviter les désagréments comme les pertes sanguines, l'attraction des mâles lors des ballades ;
- éviter une gestation, notamment lorsque mâles et femelles cohabitent ;
- maîtrise de la surpopulation animale.

Comme nous l'avons décrit dans la partie 1.3, la fonction de reproduction est contrôlée par l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaires. Afin de contrôler la fertilité, il est donc possible d'agir sur ces trois aires :

- sur l'hypothalamus en contrôlant la production et la sécrétion de GnRH et ses effets ;
- sur l'hypophyse en contrôlant les récepteurs à la GnRH présents sur les cellules gonadotropes ou encore en contrôlant celles-ci ;
- sur les ovaires soit en contrôlant la libération des hormones stéroïdes (administration de stéroïdes ou gonadectomie), soit en intervenant avec la fécondation ou la production de sperme.

Nous allons présenter successivement la méthode chirurgicale puis les méthodes médicales de maîtrise de la reproduction.

Nous consacrerons un chapitre à part sur les agonistes de la GnRH (partie 3).

2.1 Stérilisation chirurgicale

(Alliance for Contraception in Cats and Dogs [http://www.acc-d.org]) (CORRE, 2004)

Il existe deux méthodes de stérilisation chirurgicale qui sont utilisables : l'ovariectomie ou l'ovariohystérectomie. Elles se pratiquent toutes deux sous anesthésie générale.

2.1.1 L'ovariectomie

L'ovariectomie consiste à retirer chirurgicalement les ovaires. Le reste du tractus génital est laissé en place. Selon la technique du chirurgien, l'ouverture de la cavité abdominale se fait sur la ligne blanche ou par les flancs.

Les avantages de l'ovariectomie sont :

- la suppression définitive de l'activité sexuelle et des chaleurs ;
- la suppression du comportement sexuel ;
- la réduction d'affections hormono-dépendantes de l'endomètre ou du vagin ;
- la suppression du risque de pseudo-gestation ;
- lors de stérilisation précoce, la prévention de l'apparition des tumeurs mammaires. Cependant, en pratique, les propriétaires attendent souvent les premières chaleurs avant de faire stériliser leur chienne.

Pour le dernier point, l'effet protecteur de l'ovariectomie est décrit par de nombreux auteurs. Il semble que le risque relatif de développer des tumeurs mammaires est d'autant plus faible que l'ovariectomie est réalisée précocement. Les chiennes stérilisées avant le premier œstrus présenteraient un risque très réduit de développer des tumeurs mammaires ; l'incidence des tumeurs étant alors de 0.5%. Si la stérilisation est réalisée après le premier œstrus, le risque relatif du développement de tumeurs mammaires est de 8%, après le second œstrus il est de 26% (SCHNEIDER *et al*, 1969).

L'effet protecteur de l'ovariectomie peut être expliqué par la baisse des concentrations sériques en hormones stéroïdes sexuelles et l'arrêt de leur sécrétion cyclique. Chez les jeunes chiennes, deux hypothèses sont émises : une diminution du nombre de cellules mammaires susceptibles de subir une transformation tumorale ou bien une protection vis-à-vis de l'initiation tumorale par un blocage du développement mammaire.

Les femelles non stérilisées ont quatre fois plus de chances de développer des tumeurs mammaires (FONTBONNE *et al.* 2007).

Cependant, il existe certains risques inhérents à cette intervention.

Les risques per-opératoires sont :

- les risques inhérents à toute anesthésie générale (arrêt cardio-respiratoire, hypoxie et atteinte neuronale…) ;
- les risques d'hémorragie (rupture du pédicule ovarien…).

Les risques postopératoires sont :

- les infections (péritonite…) ;
- les déhiscences de plaie ;
- les retards ce cicatrisation ;
- la douleur et l'inflammation postopératoire, d'où un traitement anti-inflammatoire de quelques jours.

La stérilisation chirurgicale doit être suivie d'un contrôle de plaie à cinq jours et d'un retrait des fils à 12 jours.

De plus, des effets secondaires peuvent être attendus : une prise de poids, d'où une augmentation du risque d'obésité et une incontinence urinaire qui est rapportée dans 10 à 20% des cas et qui se produit généralement dans les trois ans suivant l'intervention par incompétence sphinctérienne provoquée par un taux d'œstrogènes circulant trop faible (HOLT et THRUSFIELD, 2003).

2.1.2 L'ovariohystérectomie

C'est une opération qui consiste à retirer les ovaires et l'utérus. Elle est un peu plus longue que l'ovariectomie.

L'ouverture de la cavité abdominale se fait par la ligne blanche ; elle est de quelques centimètres plus grande que celle d'une ovariectomie. Lors d'une stérilisation de convenance, l'utérus n'est retiré en plus des ovaires que si le chirurgien estime que son aspect est anormal.

Dans le cadre d'une intervention de convenance, les avantages et les inconvénients de l'ovariohystérectomie sont identiques à ceux de l'ovariectomie.

Ainsi, la stérilisation chirurgicale est généralement considérée comme la meilleure méthode pour la contraception canine mais elle comporte des effets secondaires. Certains propriétaires voulant maîtriser la reproduction de leur chienne sont réticents devant cette méthode jugée trop invasive. De plus, elle est définitive, ce qui ne correspond pas aux exigences de certains clients, notamment ceux souhaitant faire reproduire leur chienne, ou encore les éleveurs dont les chiennes participent à des concours durant lesquels leurs lices ne doivent pas être en chaleurs.

Face aux attentes de ces propriétaires, la recherche et le développement d'alternatives à la stérilisation chirurgicale progressent depuis quelques décennies.

Quels sont les caractéristiques auxquelles une alternative à la chirurgie pourrait ne pas répondre ? (Alliance for Contraception in Cats and Dogs [http://www.acc-d.org])

- L'efficacité
- La réversibilité

  Les propriétaires qui ne veulent pas faire reproduire leur animal ont tendance à vouloir une méthode de stérilisation permanente.

  A l'inverse, les propriétaires souhaitant mettre leur animal à la reproduction ou les éleveurs voudront une méthode réversible. Ces derniers souhaiteront connaître la durée au bout de laquelle la fertilité sera pleinement retrouvée.
- Le contrôle du comportement sexuel

  Pour bon nombre de propriétaires, l'une des raisons d'utiliser une méthode contraceptive est de supprimer le comportement sexuel de leur animal. Cependant, d'autres souhaitent simplement éviter des gestations non désirées et pensent qu'il est inapproprié d'interférer avec les comportements naturels de leur animal.
- La facilité d'utilisation (implants ou injections)

  L'injection peut entrainer des douleurs au point d'injection. Idéalement, les produits développés devront entrainer une douleur à l'injection et une réaction au point d'injection minimales. Pour l'immuno-stérilisation, les rappels nécessaires peuvent constituer un frein à l'acceptation du propriétaire.

  Les implants ont le même potentiel douloureux que les injections.

Ainsi, le produit alternatif « idéal » et qui peut être développé sur le marché doit répondre à certains critères : il doit être efficace, sûr, facile d'utilisation, avoir une formulation stable et un coût de développement raisonnable.

2.2 Progestagènes

(FONTBONNE *et al.*, 2007) (LÉVY, 2010) (ROMAGNOLI, 2002) (VERSTAGEN et ENGLAND, 1999)

2.2.1 Définition

Les dérivés de la progestérone sont des dérivés de synthèse appelés « analogues de la progestérone », progestagènes ou encore progestatifs. Cette famille inclut les dérivés de la 17-hydroxyprogestérone (progestagènes à 21 carbones) : mégestrol, médroxyprogestérone, delmadinone, cyprotérone, proligestone et récemment osatérone.

2.2.2 Mode d'action

Il n'y a aucun consensus sur le mode d'action des progestagènes actuellement. Il semble que lorsqu'ils sont utilisés en métœstrus, ils potentialisent l'effet de la progestérone endogène : inhibition des contractions utérines, du développement du col utérin, des saignements et de l'œdème vulvaires.

S'ils sont utilisés dans une autre phase du cycle, ils exercent un feedback négatif sur la synthèse de GnRH (ROMAGNOLI, 2002). Leur cible étant en effet les neurones opioïdergiques de l'hypothalamus, ils diminuent ainsi les pulses de GnRH. Cela inhibe la sécrétion des gonadotrophines FSH et LH, empêchant la croissance folliculaire et l'ovulation. De plus, ils ont un effet anti-œstrogène direct.

S'ils sont administrés en fin de pro-œstrus (avant ou pendant le pic d'œstrogènes), ils peuvent inhiber le pic pré ovulatoire de LH (ROMAGNOLI, 2002).

Ils ne sont généralement pas utilisés en œstrus car ils augmentent alors le risque de pyomètre (FONTBONNE *et al.*, 2007).

2.2.3 Administration

Plusieurs molécules sont disponibles en médecine vétérinaire. Le tableau 3 résume, chez la chienne et, pour chaque molécule, le nom déposé, le protocole d'utilisation et les particularités d'utilisation.

Tableau 3 : Utilisation des progestagènes dans la prévention ou l'interruption des chaleurs chez la chienne d'après ROMAGNOLI, 2002 ; LÉVY, 2010 et FONTBONNE *et al.*, 2007

Molécule et (nom déposé)	Protocole d'utilisation	Particularités
Acétate de médroxyprogestérone (Supprestal®, Agestal®, Perlutex®, Controlestril®, Depo-promone®, Hebdo'pil®)	Prévention de l'œstrus : PO : 1cp 1jour sur 2 jusqu'à la date désirée des chaleurs IM, SC : 2,5-3 mg/kg tous les 5 à 6 mois	Administré toutes les 3 semaines par voie parentérale, peut entrainer une acromégalie ou un diabète sucré Doit être utilisé au moins 5 à 10 jours avant les chaleurs présumées
Acétate de mégestrol (Pilucalm®, Canipil®, Dogalact®)	Interruption de l'œstrus : 2mg/kg/j PO pendant 8 jours dès les premiers signes de chaleurs Retour en chaleurs 5 à 6 mois plus tard	PO uniquement
Proligestone (Delvosteron®)	Interruption/Prévention de l'œstrus : Voie parentérale uniquement : 10-33 mg/kg SC tous les 3 à 6 mois Chaleurs 4 à 5 mois plus tard	Progestagène dernière génération
Acétate de delmadinone (Tardak®)	Prévention de l'œstrus : 1-2 mg/kg tous les 5 mois	Peu de données

PO : *per os* ; IM : intramusculaire ; SC : sous-cutanée ; cp : comprimé

2.2.4 Effets indésirables

(LÉVY, 2010)

Il a été démontré que les progestagènes ont de nombreux effets secondaires :

- augmentation de l'incidence des affections utérines : ils activent en effet la croissance de la muqueuse utérine et la sécrétion glandulaire favorisant ainsi à eux seuls l'apparition d'hyperplasie glandulo-kystique de l'utérus et de pyomètre (DOW, 1957 ; VON BERKY et TOWNSEND, 1980) ;
- augmentation de l'incidence des tumeurs mammaires : ils stimulent la synthèse hypophysaire et mammaire d'hormone de croissance (GH). Or celle-ci joue un rôle primordial dans la croissance mammaire, favorisant la survenue de lésions mammaires ;
- augmentation de la sécrétion d'hormones de croissance, favorisant l'apparition de diabète sucré. La GH est en effet hyperglycémiante et cette hyperglycémie est à l'origine d'une insulinorésistance ;
- baisse de l'activité de l'axe corticotrope : se produit chez 25 à 30% des chiennes traitées à l'acétate de médroxyprogestérone ou à la proligestone aux doses thérapeutiques (CONCANNON et MEYERS-WALLEN, 1991) ;
- réaction cutanée au point d'injection lorsqu'ils sont associés à un excipient huileux : décoloration, alopécie, atrophie cutanée ;
- modification du comportement : augmentation de l'appétit et du poids, polydipsie, légère dépression chez toutes les chiennes ;
- anœstrus définitif : il est donc déconseillé d'utiliser les progestagènes sur des chiennes destinées à la reproduction ;
- inhibition de la parturition lorsque la chienne est traitée pendant la gestation.

La sévérité de ces effets dépend de la molécule utilisée, de la dose, de la formulation (*per os* ou injection dépôt), de la durée de traitement et de l'âge de l'animal.

Ainsi, les contre-indications à l'utilisation de progestagènes sont :

- chienne diabétique
- antécédent de pyomètre ou d'hyperplasie glandulo-kystique
- tumeur mammaire
- chienne destinée à la reproduction
- chienne prépubère (attendre les premières chaleurs pour détecter une éventuelle affection de l'appareil génital)

Afin de limiter les effets secondaires des progestagènes (ROMAGNOLI, 2002), il est important de :

- questionner le propriétaire sur l'anamnèse (antécédents de pyomètre ou d'hyperplasie glandulo-kystique, chaleurs persistantes…) afin d'écarter une affection ovarienne ;
- faire un examen clinique complet pour détecter une éventuelle gestation ou une affection de l'utérus ;
- bien palper le tissu mammaire afin de vérifier l'absence de nodule ou de lactation de pseudo-gestation (aggravation des signes à l'arrêt du traitement) ;
- faire un frottis vaginal.

Etant donnés les effets secondaires non négligeables des progestagènes, leur utilisation est déconseillée chez une chienne reproductrice.

2.2.5 L'acétate d'osatérone

(European Medicines Agency, 2007)
[http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/veterinary/000112/WC500069535.pdf]

Nous avons choisi de rédiger une partie sur l'acétatate d'osatérone (OSA), molécule que nous avons utilisée dans la partie expérimentale afin de prévenir l'œstrus induit par la pose d'un implant de desloréline.

Le nom déposé de l'acétate d'osatérone est Ypozane® (Virbac, Carros, France). Selon l'autorisation de Mise sur le Marché, l'Ypozane® est utilisé dans le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP) chez les chiens mâles.

Après une administration orale chez le chien, l'OSA est rapidement absorbé et subit une première métabolisation principalement dans le foie.

Il est transformé en 15β acétate d'osatérone hydroxylé, son principal métabolite, qui est également pharmacologiquement actif. Ils se fixent tous deux à des protéines plasmatiques, principalement l'albumine. Cette fixation est réversible et n'est pas affectée par d'autres substances connues pour leur fixation spécifique à l'albumine.

L'OSA est éliminé en 14 jours, principalement via les fèces par le biais de l'excrétion biliaire (60%) et, dans une moindre mesure, via l'urine (25%).

L'administration d'OSA chez le rat et le chien entraine une baisse transitoire des concentrations sériques en testostérone et en LH (HONMA *et al*., 1995). Cet effet s'explique par le rétrocontrôle négatif qu'exerce l'OSA sur la synthèse de la GnRH, entrainant une diminution de la sécrétion des gonadotrophines FSH et LH.

L'OSA est un progestagène, dont l'action a été mise en évidence chez la lapine (MIEDA *et al.,* 1994). Il a également un effet anti-œstrogène, mis en évidence chez la ratte.

Du fait de sa structure stéroïde, l'activité minéralocorticoïde et glucocorticoïde de l'OSA a été évaluée. L'OSA a une faible affinité pour les récepteurs aux glucocorticoïdes. Une baisse transitoire de la concentration sérique en cortisol a été notée chez le chien mâle à des posologies de 0,5 mg/kg/jour. Cet effet est transitoire (OHTA *et al*., 1994).

L'OSA n'a pas montré d'effet minéralocorticoïde.

C'est une molécule chimiquement proche de la chlormadinone, un progestagène ayant une faible activité utérine et donc entrainant peu de complications. Son utilisation présente donc moins d'effet secondaire que celle des autres progestagènes.

2.3 Androgènes

(Alliance for Contraception in Cats and Dogs [http://www.acc-d.org]) (KUTZLER et WOOD, 2006) (VERSTAGEN et ENGLAND, 1999)

2.3.1 Définition et mode d'action

Les androgènes peuvent être administrés aux chiennes en anœstrus pour prévenir le retour à la cyclicité. Leur mécanisme d'action est identique à celui des progestagènes ; ils exercent un feedback négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et préviennent ainsi l'augmentation de la sécrétion des gonadotrophines au-dessus de valeurs basales. Ils ne sont pas utilisés pour inhiber l'œstrus chez des femelles ayant une activité folliculaire (pro-œstrus ou œstrus).

2.3.2 Administration et effets secondaires

La mibolérone est un androgène de synthèse qui a été commercialisé aux Etats-Unis pour la prévention de l'œstrus chez le chien et le chat mais qui a été récemment retirée du marché.

Des injections hebdomadaires de propionate de testostérone ou des comprimés de méthyltestostérone peuvent être utilisés pou prévenir l'œstrus chez les chiennes de race Greyhound. En effet, elles ne peuvent courir ni en œstrus ni en métœstrus car dans le premier cas elles attirent les mâles et dans le second cas leurs performances sont diminuées par la présence d'un taux élevé de progestérone dans le sang. Cependant, les molécules dérivées de la testostérone ne doivent pas être administrées dans les sept jours qui précèdent la course (effet anabolisant de la testostérone). Leur utilisation prolongée peut entrainer un anœstrus prolongé ou permanent chez les femelles Greyhound.

Ces molécules possèdent des propriétés androgéniques à l'origine d'effets secondaires non négligeables : signes de masculinisation (hypertrophie clitoridienne), troubles du comportement (augmentation de l'agressivité), rétention hydrosodée, vaginites.

L'administration d'androgènes n'est pas recommandée avant les premières chaleurs car ils interfèrent avec la croissance.

2.4 Immuno-stérilisation

Depuis trois décennies, des efforts ont été faits afin de développer un vaccin qui pourrait supprimer la fertilité chez le mâle et chez la femelle.

Les cibles de l'immuno-contraception sont les effecteurs de la fonction de reproduction : la GnRH, la LH et ses récepteurs et les gamètes (la zone pellucide de l'ovocyte et les protéines du sperme).

2.4.1 Vaccins contre la GnRH

(Alliance for Contraception in Cats and Dogs [http://www.acc-d.org]) (GONZALEZ *et al*., 1989) (KUTZLER et WOOD, 2006)

Les caractéristiques de la GnRH en font un candidat de choix pour l'immunocontraception :

- elle est présente chez le mâle et chez la femelle donc potentiellement efficace quel que soit le sexe ;
- elle est bien conservée parmi les mammifères donc potentiellement efficace chez de nombreuses espèces ;
- son immunociblage entraine l'arrêt de la sécrétion des hormones stéroïdes et donc supprime le comportement sexuel autant que la fertilité.

Cependant, le développement d'un vaccin contre la GnRH est problématique pour plusieurs raisons.

D'une part, la GnRH native n'est que faiblement immunogène. C'est un petit décapeptide bien conservé parmi les mammifères et donc, dans des conditions normales, reconnu par le système immunitaire comme un peptide du « soi ». Ainsi, l'administration de GnRH native ne résulte pas dans la production d'anticorps, parce que l'animal est tolérant à ses propres hormones. Il est donc nécessaire d'administrer de la GnRH couplée à une protéine étrangère (c'est-à-dire ayant de nombreux déterminants antigéniques, comme l'ovalbumine, la thyroglobuline, la toxine tétanique…) afin d'entrainer une réponse immunitaire (Immunoglobulines G) par l'animal. Les anticorps anti-GnRH ainsi produits captent et inactivent la GnRH.

De plus, la GnRH manque de groupements chimiquement actifs. Le choix de l'agent qui peut être couplé à la GnRH est donc restreint (KUTZLER et WOOD, 2006).

Pour augmenter l'immunogénicité, la GnRH doit être conjuguée à des antigènes mobilisant les lymphocytes T-helper. Par exemple, la GnRH recombinée avec l'épitope p35 provenant de la protéine F du virus de la maladie de Carré est très immunogène et son administration entraine la perte de la fonction testiculaire chez le chien mâle (JUNG *et al*, 2005).

Des adjuvants sont également utilisés pour augmenter l'immunogénicité : l'eau, l'huile, l'hydroxyde d'aluminium…

Généralement, de multiples injections sont nécessaires avant que l'immunité ne se développe.

Les effets physiologiques d'un titre en anticorps contre la GnRH sont :

- la suppression du comportement sexuel chez le mâle et chez la femelle
- la suppression de la synthèse et de la sécrétion des gonadotrophines et des hormones stéroïdiennes
- l'arrêt de la gamétogenèse
- l'atrophie des gonades

Un vaccin contre la GnRH utilisable chez la jument (Improvac®) est disponible en Australie. Après deux vaccinations (à quatre semaines d'intervalle), l'activité sexuelle cesse en six semaines et la durée de contraception excède 54 semaines chez la plupart des juments.

Un vaccin Canine Gonadotrophin Releasing Factor Immunotherapeutic a été développé par Pfizer Santé Animale aux Etats-Unis pour le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate chez le chien mâle adulte. Il a été préparé à partir d'un analogue de la GnRH lié à une protéine adjuvante. Bien qu'il n'ait pas été développé pour la contraception, un des effets du traitement a été la réduction du comportement sexuel (Alliance for Contraception in Cats and Dogs).

Ce produit n'a obtenu qu'une acceptation conditionnelle de l'USDA (United States Department of Agriculture) en 2009. Ainsi, comme tous les produits autorisés sous condition, une efficacité raisonnable a été démontrée mais des études plus approfondies doivent être mises en œuvre. Pour des raisons commerciales, les recherches sur ce produit ont été arrêtées.

Le tableau 4 résume les avantages et les inconvénients de l'utilisation des vaccins contre la GnRH pour la maîtrise de la reproduction.

Tableau 4 : Avantages et inconvénients de l'utilisation des vaccins contre la GnRH pour la maîtrise de la reproduction, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs

Avantages	Inconvénients
Utilisable chez le mâle et chez la femelle Supprime le comportement sexuel Réversible Effets peuvent apparaître suite à 2 injections initiales à quelques semaines d'intervalle puis rappel annuel	Difficultés d'obtention d'une réponse immunitaire suffisante et efficace (parfois, pas de réponse immunitaire induite) Réaction au point d'injection possible selon la formulation (adjuvants) Contraignant (multiples injections nécessaires) Mise en place de la réponse immunitaire parfois longue (quelques mois) Durée des effets variable (reste à développer)

2.4.2 Vaccins contre la LH et ses récepteurs

(Alliance for Contraception in Cats and Dogs [http://www.acc-d.org]) (GONZALEZ *et al*., 1989) (KUTZLER et WOOD, 2006)

L'immuno-contraception ciblant la LH et ses récepteurs a été utilisée avec succès chez les carnivores domestiques.

Dans de nombreux cas, l'immunisation avec des hormones allogéniques n'entraine pas la production d'anticorps, car l'animal est tolérant à ses propres hormones.

PINEDA *et al.* (1967) ont démontré que l'immunisation active de lapins avec de la LH bovine purifiée était associée à une atrophie des organes reproducteurs. Des études ultérieures ont montré que les anticorps anti-LH de lapins ont une réaction croisée avec les gonadotrophines canines et félines, suggérant qu'une réponse similaire pourrait être obtenue chez les chiens immunisés contre la LH bovine (PINEDA *et al.*, 1972 ; FAULKNER *et al.*, 1975).

Les chiens immunisés contre la LH et la FSH ont un titre en anticorps mesurable trois semaines après l'injection, qui persiste pendant six mois environ (FAULKNER *et al.*, 1975).

Les problèmes principaux associés à une immunisation contre la LH pour le contrôle de la fonction de reproduction sont la variabilité de la réponse immunitaire et la persistance inconstante des anticorps (FAULKNER *et al.*, 1975).

Le développement d'une réponse immunitaire contre un récepteur hormonal entraine un blocage de l'action de cette hormone.

Ainsi, SAXENA *et al.* (2002) ont testé l'utilisation de récepteurs bovins à la LH comme antigène provoquant une réponse immunitaire humorale chez la chienne. Les chiennes vaccinées ont eu une suppression de l'œstrus pendant une durée supérieure à onze mois, avec un retour à une fonction reproductive normale liée à un déclin du titre en anticorps.

Cependant, les récepteurs à la LH utilisés proviennent de bovins d'abattoir, ce qui pose des problèmes réglementaires pour leur obtention.

Il semble que l'efficacité de cette vaccination est équivalente à celle provoquée par les vaccins contre la GnRH.

Le tableau 5 résume les avantages et inconvénients des vaccins contre la LH et ses récepteurs.

Tableau 5 : Avantages et inconvénients de l'utilisation des vaccins contre la LH et ses récepteurs pour la maîtrise de la reproduction d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs

Avantages	Inconvénients
Suppression du comportement sexuel Réversible	Réglementation Réponse immunitaire variable Réaction au point d'injection selon la formulation Parfois non réversible

2.4.3 Vaccins contre les gamètes

Ils ont pour but d'entrainer chez la femelle uniquement une réponse immunitaire qui va interférer avec la fécondation ou le transport du sperme.

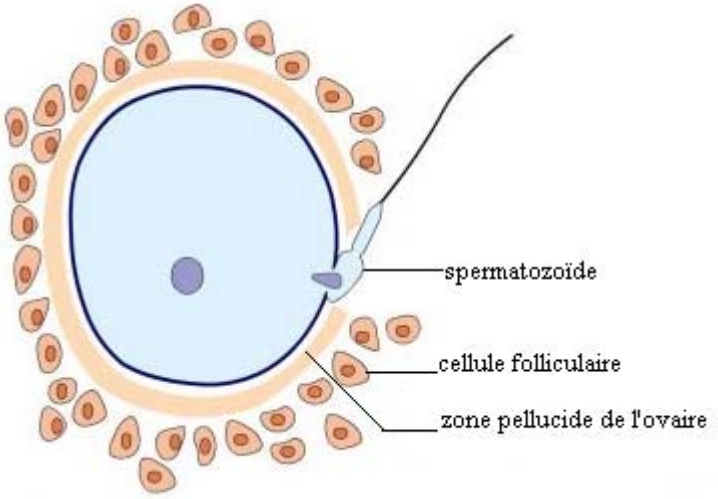
La production d'hormones reste normale ; ces vaccins n'ont donc pas d'incidence sur le comportement sexuel. L'œstrus n'est donc pas altéré chez la femelle.

2.4.3.1 Vaccins contre la zone pellucide

(Alliance for Contraception in Cats and Dogs [http://www.acc-d.org]) (GONZALEZ *et al*., 1989) (KUTZLER et WOOD, 2006)

Les ovaires sont enveloppés d'une zone pellucide, une couche protectrice constituée de matériel acellulaire et de glycoprotéines. Les glycoprotéines sont spécifiques d'espèce mais leur structure est similaire entre les espèces. La fécondation commence par la fixation des spermatozoïdes sur la zone pellucide, comme le montre la figure 11.

Figure 11 : Fixation et fusion du spermatozoïde sur la zone pellucide de l'ovaire, d'après Intelligo [http://www.intellego.fr/]



La zone pellucide est un faible alloantigène. Ainsi, l'immunisation avec une zone pellucide de la même espèce a un faible effet (DUNBAR, 1983).

La zone pellucide de porc, collectée dans les abattoirs, a été utilisée comme antigène pour la préparation de vaccins (GWATKIN *et al.*, 1980). Les anticorps anti-zone pellucide de porc interagissent fortement avec la zone pellucide de chien (MAHI-BROWN *et al.*, 1982). Les chiennes immunisées avec de la zone pellucide de porc ont un comportement d'accouplement normal mais aucune gestation ne résulte de ces accouplements (SHIVERS *et al.*, 1978). Il a été déterminé que les anticorps présents dans le fluide folliculaire bloquent les récepteurs aux spermatozoïdes de la zone pellucide (MAHI-BROWN *et al.*, 1982).

Ainsi, la production d'anticorps contre la zone pellucide prévient la pénétration de l'ovocyte et donc la fécondation.

Des rappels sont nécessaires pour maintenir le titre en anticorps.

Cependant, la vaccination contre la zone pellucide entraine parfois des perturbations folliculaires pouvant induire une infertilité définitive. Ainsi, selon Alliance for Contraception in Cats and Dogs, le développement de kystes ovariens est l'affection la plus couramment décrite (MAHI-BROWN *et al.*, 1988) et semble être à médiation immune. Les modifications histologiques observées expliquent les modifications cycliques observées (pertes vulvaires de longue durée, comportement d'œstrus).

Des méthodes alternatives à la collecte de zones pellucides de porc en abattoir doivent être trouvées. Selon Alliance for Contraception in Cats and Dogs, un clonage de l'ADNc (Acide désoxyribonucléique complémentaire) de différentes protéines de la zone pellucide a été réalisé (YONEZAWA *et al*., 2001) mais il est difficile de rendre ces protéines biologiquement actives car les modèles de glycosylation sont difficiles à reproduire.

Une seconde génération de vaccins contre la zone pellucide utilisant des recombinants ou des antigènes de synthèse de la zone pellucide est à l'étude.

Il n'existe pas de produit commercialisé actuellement.

Le tableau 6 résume les avantages et inconvénients des vaccins contre la LH et ses récepteurs.

Tableau 6 : Avantages et inconvénients de l'utilisation de vaccins contre la zone pellucide pour la contraception chez la chienne, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs

Avantages	Inconvénients
Réversible quand la vaccination est discontinue (dépend de l'antigène utilisé)	Ne prévient pas les maladies hormono-dépendantes Pas chez le mâle Réponse immunitaire variable Réaction au point d'injection selon la formulation Rappels nécessaires Retour à la reproduction difficile à prévoir (dépend de la cinétique de décroissance des antigènes de la zone pellucide) Ne supprime pas le comportement sexuel Pathologies des ovaires dans certaines études Parfois non réversible

Ainsi, s'ils préviennent la fécondation, les vaccins contre la zone pellucide n'ont cependant aucune incidence sur la prévention des affections hormono-dépendantes, rendant leur utilisation beaucoup moins intéressante.

2.4.3.2 Vaccins contre les protéines du sperme

(Alliance for Contraception in Cats and Dogs [http://www.acc-d.org])

Il existe peu de publications car les protéines du sperme n'ont pas été largement étudiées.

Le principe est d'utiliser comme antigène des protéines exprimées uniquement dans le sperme, qui entraine une réponse immunitaire locale (Immunoglobulines A) de l'appareil génital femelle. Ainsi, la production d'anticorps contre les protéines du sperme prévient la fécondation.

Des études récentes (NAZ et CHAUHAN, 2002) sur des souris ont montré une durée de la contraception de 300 jours. Aucune étude n'a été menée chez le chien. Cependant, cette méthode reste théoriquement possible.

Le tableau 7 présente les avantages et les inconvénients des vaccins contre les protéines du sperme.

Tableau 7 : Avantages et inconvénients de l'utilisation de vaccins contre les protéines du sperme pour la contraception chez la chienne, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs

Avantages	Inconvénients
Réversible quand la vaccination est discontinue (dépend de l'antigène utilisé)	Ne prévient pas les maladies hormono-dépendantes Pas chez le mâle Réponse immunitaire variable Réaction au point d'injection selon la formulation Retour à la reproduction difficile à prévoir (dépend de la cinétique de décroissance des antigènes) Ne supprime pas le comportement sexuel

Comme les vaccins contre la zone pellucide, les vaccins contre les protéines du sperme ne préviennent pas les maladies hormono-dépendantes.

L'immuno-stérilisation s'avère efficace et semble être utilisée de façon préférentielle chez la faune sauvage. Elle n'est disponible qu'aux Etats-Unis. Son inconvénient principal reste la variabilité de la réponse immunitaire.

2.5 Analogues de la GnRH

Comme nous l'avons vu dans la partie 1.3, la GnRH joue un rôle-clé dans le contrôle de la reproduction des mammifères.

Les analogues de la GnRH regroupent les agonistes et les antagonistes. Ils sont produits par substitution d'acides aminés de la GnRH native. Les agonistes stimulent la libération des gonadotrophines alors que les antagonistes inhibent cette même sécrétion. Leur administration aboutit *in fine* à l'inhibition de l'action de la GnRH, via le blocage (antagonistes) ou la désensibilisation (agonistes) de ses récepteurs. Cela entraine une suppression de la sécrétion des hormones stéroïdes et donc supprime le comportement sexuel autant que la fertilité (GOBELLO, 2007).

2.5.1 Antagonistes de la GnRH

2.5.1.1 Définition et mode d'action

Les antagonistes de la GnRH établissent une compétition avec l'hormone naturelle pour l'occupation des récepteurs à la GnRH. Ils agissent sur le récepteur de la GnRH native, présent sur les cellules hypophysaires. Ils se fixent sur ce récepteur mais sont dépourvus d'activité stimulatrice. Leur fixation bloque celle de la GnRH endogène, entrainant une

suppression immédiate du relarguage des gonadotrophines et donc une suppression temporaire de la fonction de reproduction (SCHALLY, 1999).

Depuis les années 70, un nombre croissant d'antagonistes de la GnRH a été développé. Les données sur les antagonistes de la GnRH chez le chien sont limitées (GOBELLO, 2007).

2.5.1.2 Effets

Leurs effets chez le chien ont été décrits il y a deux décennies lorsque les premiers composés furent disponibles. Vickery *et al*. ont démontré en 1989 qu'une injection unique de 2 mg/kg ou des injections quotidiennes à la dose de 300 µg/kg pendant sept à quatorze jours de detirelix, un antagoniste de la GnRH, entrainent un report de l'œstrus pendant 23 ± 1 jours.

Certains antagonistes entrainent une libération d'histamine, ce qui a ralenti leur développement. Un lien entre la conformation et la puissance de fixation a été mis à jour. Malheureusement, les antagonistes les plus puissants sont ceux qui entrainent le plus gros relarguage d'histamine (PADULA, 2005).

Des modifications structurales ont été effectuées afin de diminuer cet effet secondaire. Ainsi, une troisième génération d'antagoniste a été récemment produite. Par exemple, le cetrorelix inhibe l'ovulation chez 75% des rats en pro-œstrus ayant reçu 1,5 µg sans effet toxique (BAJUSZ *et al*., 1988). Une réversibilité complète à l'arrêt d'un traitement quotidien de 60 jours a été observée (BOKSER *et al.*, 1991).

Des études plus récentes (HERBST *et al.*, 2004) ont montré que l'acycline, un antagoniste de troisième génération, peut maintenir des concentrations en gonadotrophines à des valeurs basales pendant 2 semaines après une administration unique chez l'Homme.

Dans l'étude de GOBELLO *et al.* (2005), l'administration sous-cutanée d'acycline à la dose de 100 µg/kg chez six chiennes en début de pro-œstrus entraine :

- une diminution significative de la taille de la vulve dès 36 heures après l'injection
- une modification de l'écoulement vulvaire qui diminue en quantité et devient moins hémorragique dès les deux premiers jours
- une modification de la cytologie vaginale. Le frottis de pro-œstrus devient un frottis d'œstrus puis de diœstrus en moins d'une semaine

Aucun animal n'a présenté de comportement d'œstrus ni d'ovulation comme le montrent les concentrations basales en progestérone 12 jours après le traitement. Un retour en pro-œstrus se produit en 19,7 ± 3,6 jours après traitement et le premier œstrus est normal.

Aucun effet secondaire n'a été observé.

L'acycline n'est pas disponible en France. Ainsi, aucun usage clinique de cette molécule ne peut être fait.

2.5.1.3 Propriétés

Selon PADULA (2005), les caractéristiques d'un « bon » antagoniste de la GnRH sont :
- une haute affinité pour le récepteur à la GnRH (fixation sans stimulation)
- une résistance à l'activité enzymatique
- de faibles propriétés histaminergiques

Le tableau 8 résume les avantages et inconvénients de l'utilisation des antagonistes de la GnRH.

Tableau 8 : Avantages et inconvénients de l'utilisation des antagonistes de la GnRH pour la contraception chez la chienne, d'après Alliance for Contraception in Cats and Dogs

Avantages	Inconvénients
Mâle et femelle Supprime le comportement sexuel (pas d'entrée en chaleurs) Efficace après une très courte période (12 à 48 heures) Réversible au bout d'une durée variable	Administration continue nécessaire Hautes doses requises Pas de formulation longue durée chez l'animal Relargage d'histamine pour certains antagonistes Réaction au site d'injection

Les avantages principaux des antagonistes de la GnRH sont une absence de stimulation initiale, contrairement aux agonistes de la GnRH et une suppression quasi immédiate de la fonction de reproduction.

Bien que le report de l'œstrus par les antagonistes de la GnRH soit de courte durée, le retour à une cyclicité normale se produit dans un délai court et prévisible après l'arrêt du traitement, ce qui les rend prometteurs. Cependant, des formulations longue action à un coût raisonnable sont à développer chez l'animal afin de les rendre disponibles pour le contrôle de la fonction de reproduction, voire de la prévention d'affections hormono-dépendantes (HERBERT et TRIGG, 2005).

2.5.2 Agonistes de la GnRH

Dans le cas de l'administration chronique des agonistes, la réponse des cellules gonadotropes de l'hypophyse se décompose en une première phase de stimulation de la sécrétion de LH et de FSH, cohérente avec le rôle d'agoniste, puis en une deuxième phase de désensibilisation avec une baisse de la sécrétion de LH.

Nous développerons leurs propriétés dans la partie 3 et les mécanismes de cette désensibilisation dans la partie 3.2.4.2.

3 La GnRH et ses agonistes

Comme nous l'avons vu dans la partie 2, les progestagènes sont les molécules les plus utilisées dans le cadre de la stérilisation chimique. Ils sont efficaces mais connus pour leurs effets secondaires graves.

La nécessité de trouver des traitements alternatifs a focalisé la recherche sur la GnRH qui est considérée comme une hormone-clé dans le contrôle de la fonction de reproduction chez les mammifères.

Comme présenté dans la partie 1.3, il s'agit d'une hormone sécrétée de façon pulsatile par l'hypothalamus pour agir sur l'hypophyse. Elle entraine la sécrétion des gonadotrophines FSH et LH qui agissent sur les gonades pour stimuler la production d'hormones stéroïdes.

Nous allons présenter les caractéristiques de cette hormone, puis développer l'utilisation des agonistes de la GnRH, notamment de la desloréline, récemment mise sur le marché sous la forme d'implants sous-cutanés.

3.1 La GnRH

3.1.1 Nature biochimique et synthèse

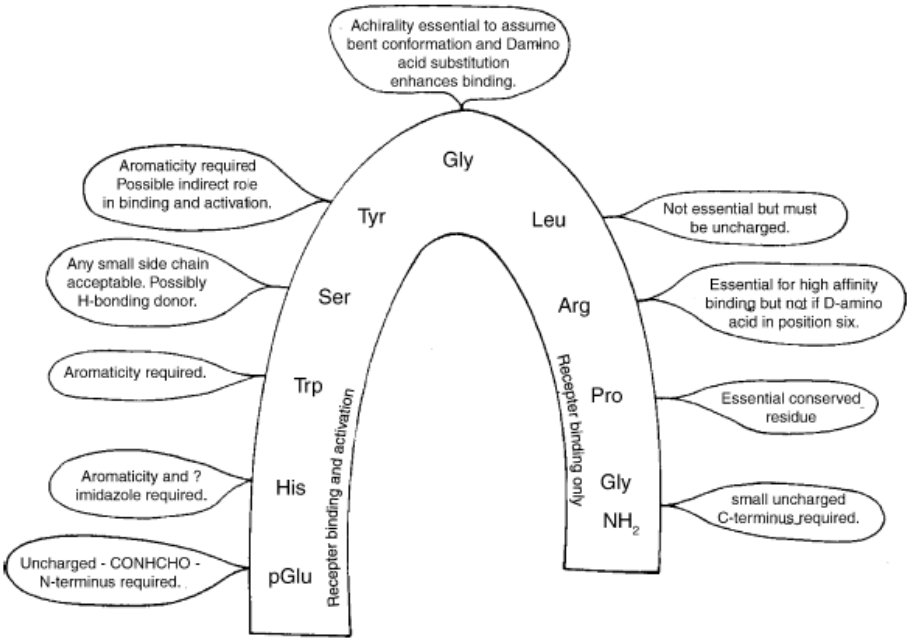
La GnRH a été isolée et séquencée pour la première fois au début des années 1970 par Schally et ses collaborateurs (SCHALLY *et al.*, 1971). Sa séquence est présentée sur la figure 12.

Figure 12 : Séquence d'acides aminés de la GnRH d'après PADULA, 2005

$$PGlu^{1} - His^{2} - Trp^{3} - Ser^{4} - Tyr^{5} - Gly^{6} - Leu^{7} - Arg^{8} - \mathrm{Pr}o^{9} - Gly^{10} - NH2$$

C'est un décapeptide endogène dont la structure, présentée sur la figure 13, est conservée chez tous les mammifères. Cette propriété permet son utilisation dans le contrôle de la fertilité d'un grand nombre d'espèces.

Figure 13 : Structure tertiaire de la GnRH d'après PADULA, 2005



3.1.2 Mode de sécrétion

La GnRH, sécrétée de façon pulsatile par certains neurones hypothalamiques, est directement reversée dans le système porte hypothalamo-hypophysaire. Elle est libérée de manière très rapide et disparaît du sang du système porte-hypophysaire en moins de cinq minutes (étude chez le mouton par des approches chirurgicales) car elle est rapidement clivée par les protéases (CALDANI *et al.,* 1991).

Cette pulsatilité, qui est régulée en amplitude et en fréquence, est indispensable au déroulement normal de la fonction de reproduction. La seule exception à la pulsatilité est le moment du pic pré-ovulatoire de LH (SCHNEIDER *et al.*, 2006).

Il en résulte une libération progressive et soutenue de FSH et une libération pulsatile de LH dans l'heure qui suit la décharge de GnRH. Ces deux gonadotrophines agissent sur les gonades où elles régulent la production des stéroïdes sexuels, le développement folliculaire ovarien et l'ovulation (CALDANI *et al.,* 1991).

3.1.3 Action de stimulation du système gonadotrope

3.1.3.1 Interaction avec les récepteurs hypophysaires

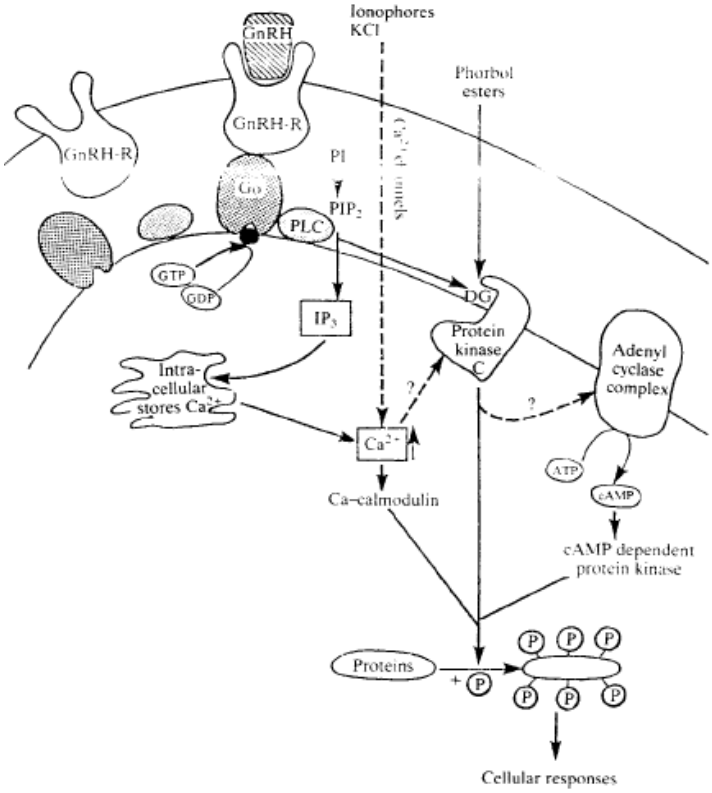
Le récepteur hypophysaire à la GnRH appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G, encore appelés les GCPR. Cependant, contrairement aux GCPR classiques, il ne présente pas la terminaison cytoplasmique C-terminale. Celle-ci est habituellement la cible des kinases GCPR qui, par phosphorylation, entrainent l'endocytose du complexe récepteur-ligand (COUNIS *et al.,* 2005).

Le récepteur à la GnRH est situé sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse.

3.1.3.2 Libération de FSH et de LH par les cellules de l'antéhypophyse

Comme présenté sur la figure 14, la fixation de la GnRH sur son récepteur entraine l'activation d'une enzyme, la phospholipase C. Celle-ci permet l'hydrolyse du phosphatidylinositoldiphosphate en diacylglycérol (DG) et inositoltriphosphate (IP3), deux seconds messagers. Le DG entraine l'activation de plusieurs protéines kinases C (PKC) alors que l'IP3 permet la mobilisation du calcium intracellulaire du réticulum endoplasmique et l'entrée de calcium par les canaux de la membrane extracellulaire. La GnRH peut aussi entrainer l'activation des phospholipases A2 et D, et induire l'augmentation des concentrations intracellulaires d'Adénosine monophosphate cyclique (AMPc). L'activation de ces différentes voies module l'expression des gènes responsables de l'expression des sous-unités constituant les gonadotrophines FSH et LH (COUNIS *et al*., 2005).

Figure 14 : Représentation schématique de la transduction du signal par les récepteurs à la GnRH d'après CLAYTON, 1989



GnRH-R : récepteur à la GnRH, Go : GTP (Guanosine triphosphate)-binding protein, PLC : Phospholipase C, IP3 : inositol 1,4,5-triphosphate, DG : diacylglycérol, cAMP :Adénosine monophosphate cyclique, Ca2+ : ion calcium, P : groupement phosphate, PI : phosphoinoside, PIP2 : inositol 4,5-diphosphate.

3.1.3.3 Conséquences sur l'activité des organes sexuels (axe hypothalamo hypophyso-gonadique)

La FSH et la LH sont ainsi libérées dans la circulation sanguine, où elles rejoignent les gonades afin d'exercer leur action stimulatrice sur la production des stéroïdes et protéines sexuels dont les androgènes, les œstrogènes, la progestérone et l'inhibine.

La LH stimule la synthèse des stéroïdes sexuels en favorisant la conversion du cholestérol en progestérone (elle-même précurseur des androgènes et des œstrogènes).

Comme nous l'avons vu dans la partie 1.3.1.2, en synergie avec la LH, la FSH induit la synthèse d'œstrogènes par les cellules de la Granulosa des follicules en stimulant l'activité de l'aromatase, enzyme qui transforme les androgènes en œstradiol.

3.1.4 Régulation

3.1.4.1 Facteurs influençant la synthèse de GnRH

La libération de GnRH est influencée par les stimuli environnementaux (stress, saison) et par des stimuli internes (métabolisme). De nombreux peptides influencent la libération de GnRH (ocytocine ou le peptide Y) (SCHNEIDER *et al.*, 2006).

3.1.4.2 Rétrocontrôles hormonaux

L'existence de rétrocontrôles hormonaux a été récemment explorée par BEIJERINK et ses collaborateurs en 2007.

Quatre chiennes en anœstrus et quatre chiennes ovariectomisées ont reçu une administration intraveineuse de GnRH (Fergatyl®, Intervet). Les concentrations plasmatiques en FSH et en LH ont été mesurées avant et après l'injection.

Les concentrations plasmatiques basales en FSH et en LH avant l'administration de GnRH sont significativement plus élevées chez les chiennes ovariectomisées, d'où l'hypothèse de l'intervention d'un rétrocontrôle négatif des hormones ovariennes sur la sécrétion des gonadotrophines lors de l'anœstrus.

Deux rétrocontrôles supplémentaires ont été identifiés : l'inhibition de la production de GnRH gonadotrophine-dépendante et l'inhibition de la production de GnRH GnRH-dépendante (BEIJERINK *et al.*, 2007).

De plus, la libération de GnRH et des gonadotrophines semble être dépendante de la sensibilité de l'hypothalamus à l'œstradiol. Tout au long de l'anœstrus, il y a un rétablissement du feedback positif de l'œstradiol sur l'hypothalamus et, comme nous l'avons dit dans la partie 1.3.3.2.1, la sensibilité de l'hypophyse à la GnRH et la réponse ovarienne augmentent tout au long de l'anœstrus (VAN HAAFTEN *et al.*, 1994).

3.2 Les agonistes de la GnRH

(COUNIS *et al*., 2005)

Alors que les fluctuations physiologiques de la GnRH orchestrent la fonction de reproduction normale, à l'inverse des hauts niveaux ou des stimulations prolongées suppriment la synthèse et la sécrétion des gonadotrophines FSH et LH.

Cette réponse double a fait du récepteur à la GnRH une cible pour les traitements courte ou longue action à base d'analogues de la GnRH (agonistes et antagonistes) avec pour applications cliniques potentielles l'induction ou la prévention de l'œstrus, le traitement des maladies hormono-dépendantes ou la contraception. De plus, la GnRH est une cible préférentielle pour le contrôle de la fertilité parce qu'elle agit avec une haute affinité et une haute spécificité pour ses récepteurs (HERBERT et TRIGG, 2005).

La séquence de la GnRH étant conservée chez les mammifères, le contrôle de la fertilité par des analogues de la GnRH représente un intérêt chez de nombreuses espèces.

3.2.1 Mode de synthèse et structure

Les agonistes de la GnRH sont des peptides similaires à la GnRH mais modifiés sur les sites de dégradation enzymatique de la GnRH. Ces modifications permettent une résistance plus importante aux peptidases et une plus grande affinité pour le récepteur. Ainsi, les agonistes de la GnRH sont des décapeptides qui ont une demi-vie plus longue et une puissance augmentée (PADULA, 2005).

Une des caractéristiques fondamentales des agonistes de la GnRH est la substitution des L-isomères en D-isomères. La relation structure-fonction dépend aussi de la structure tertiaire des molécules. Celle de la GnRH est présentée sur la figure 13.

Le domaine terminal NH2 est impliqué dans la fixation au récepteur alors que le domaine terminal COOH est impliqué dans la fixation au récepteur et dans l'activation, déterminant ainsi la puissance. Ainsi, les agonistes de la GnRH ont deux acides aminés substitués par rapport à l'hormone : en positions six et dix, ce qui les rend environ 200 fois plus puissants que l'hormone naturelle. Des molécules d'une telle puissance sont appelées superagonistes.

En médecine vétérinaire, il y a plus de 700 agonistes de la GnRH actuellement commercialisés dans le monde. Les plus utilisés sont la buséréline et la desloréline (SCHNEIDER *et al.*, 2006). D'autres agonistes sont également utilisés en pratique : la gonadoréline (GnRH), l'acétate d'histréline (histréline), l'acétate de nafaréline (nafaréline), l'acétate de lutréline (lutréline), l'acétate de desloréline (desloréline), l'acétate d'azagyl nafaréline (azagyl nafaréline), l'acétate de buséréline (buséréline), l'acétate de leuprolide (leuprolide) et l'acétate de goséréline (goséréline).

Les séquences de certains agonistes sont présentées sur la figure 15.

Figure 15 : Séquences d'acides aminés d'agonistes de la GnRH utilisés en médecine vétérinaire et humaine d'après SCHNEIDER *et al.*, 2006

	Amino acid									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH-I	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	**Gly**	**Leu**	**Arg**	**Pro**	**Gly.NH2**
Agonists										
Lupron	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D Leu	**Leu**	**Arg**	**Pro** NEt	
Zoladex	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D Ser (tBu)	**Leu**	**Arg**	**Pro**	**Gly.NH2**
Supprelin	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D His (ImBzl)	**Leu**	**Arg**	**Pro**	**Gly.NH2**
Synarel	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D Nal	**Leu**	**Arg**	**Pro**	**Gly.NH2**
Triptorelin	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D Trp	**Leu**	**Arg**	**Pro**	**Gly.NH2**
Buserelin	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D Ser (tBu)	**Leu**	**Arg**	**Pro** NEt	
Goserelin	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D Ser (tBu)	**Leu**	**Arg**	**Pro**	AzGly
Deslorelin	**pGlu**	**His**	**Trp**	**Ser**	**Tyr**	D Trp	**Leu**	**Arg**	**Pro** NEt	

Glu : acide glutamique ; His : histidine ; Trp : tryptophane ; Ser : sérine ; Tyr : tyrosine ; Leu : leucine ; Arg : arginine ; Pro : proline ; Gly : glycine

Par exemple, la desloréline présente 2 modifications de structure par rapport à la GnRH : la glycine en position 6 a été remplacée par le D-tryptophane et le groupement glycinamide C-terminal a été remplacé par un groupement éthylamide.

3.2.2 Pharmacologie des différents agonistes

L'évaluation de la réponse biologique à un agoniste prend en compte son affinité pour le récepteur, son absorption *in vivo*, sa distribution et sa résistance à la dégradation.

3.2.2.1 Voies d'administration

(PADULA, 2005)

Les agonistes de la GnRH sont sensibles à la dégradation par les peptidases gastro-intestinales. Leur biodisponibilité suite à une administration par voie orale n'est que de 0,1%. L'administration intra-nasale s'est révélée inefficace et variable avec seulement 4 à 21% de biodisponibilité relative par rapport à des injections sous-cutanées et intraveineuses. Elle nécessite donc des administrations fréquentes et à doses élevées.

La biodisponibilité après une administration par voie intravaginale en combinaison avec des acides organiques est de 20% chez le rat.

La voie parentérale semble donc être la voie à privilégier.

3.2.2.2 Puissance des agonistes

La puissance d'une molécule correspond à la concentration qui produit 50% de son effet maximal.

De nombreuses méthodes peuvent être utilisées afin de d'apprécier la puissance d'un agoniste. Selon la méthode utilisée, l'évaluation de la puissance peut être très variable. Ainsi, la desloréline est entre 10 et 144 fois plus puissante que la GnRH naturelle selon la méthode utilisée (PADULA, 2005).

Ce paramètre peut être utilisé pour comparer les différents agonistes, à condition que la méthode d'évaluation de la puissance soit identique.

3.2.2.3 Pharmacocinétique

(PADULA, 2005)

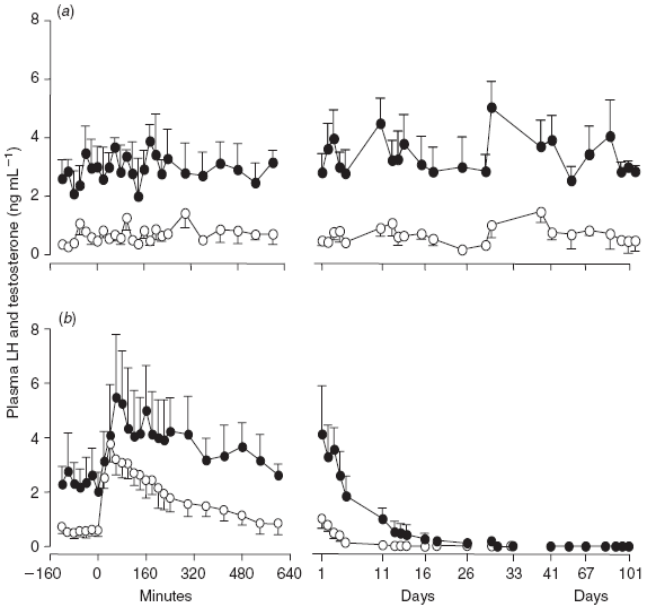
Les agonistes de la GnRH sont plus stables que la GnRH elle-même. Ils sont rapidement absorbés et éliminés après administration parentérale, principalement par le métabolisme hépatique en fragments peptidiques et reliquats d'acides aminés.

3.2.3 Stimulation initiale de l'activité génitale et utilisation pour l'induction des chaleurs

L'administration continue d'agonistes de la GnRH a un double effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire : stimulateur puis inhibiteur.

Les agonistes de la GnRH, mimant l'action de la GnRH naturelle, stimulent initialement la production et la libération des gonadotrophines FSH et LH par l'hypophyse. Ainsi (figure 16), chez le chien mâle, on note que l'administration d'agonistes de la GnRH (implant sous-cutané de desloréline 6 mg) entraine une augmentation rapide de la synthèse de LH en 20 minutes, avec un pic de production après 40 minutes environ. Les concentrations en testostérone suivent le même modèle (JUNAIDI *et al.*, 2007). Cet effet, identique chez la chienne, est appelé l'effet « flare-up », qui peut être à l'origine de l'apparition de chaleurs et d'ovulations.

Figure 16 : Concentrations plasmatiques en LH (cercles vides) et en testostérone (cercles pleins) chez des chiens mâles suivant l'administration d'un implant placebo (a) ou d'un implant contenant 6 mg de desloréline, d'après JUNAIDI *et al.*, 2007



Le moment d'implantation correspond à la minute 0, jour 0.

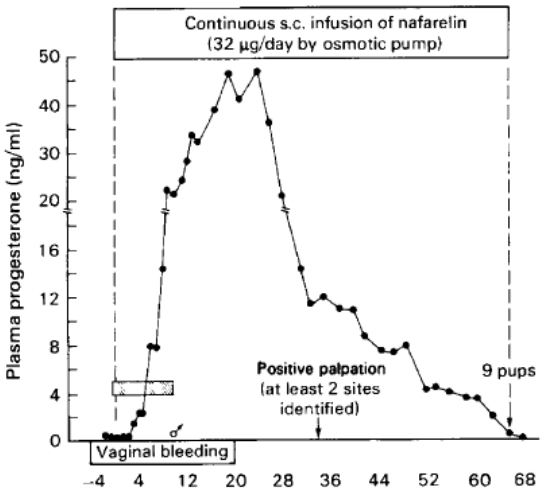
Ensuite, lors d'administration continue, s'opère une désensibilisation des récepteurs qui provoque le retour de FSH et LH à des valeurs basales, comme présenté dans la partie 3.2.4.2.

Dans les études que nous allons citer, la présence d'un œstrus induit par l'administration d'agonistes de la GnRH est objectivée par l'augmentation de la progestéronémie, les manifestations comportementales (acceptation du mâle, levée de la queue), physiques (écoulements vulvaires séro-hémorragiques) et cytologiques (cellules kératinisées aux frottis vaginaux).

3.2.3.1 Effet de l'administration d'agonistes de la GnRH ou de GnRH

Dans l'étude de MC RAE *et al*. en 1985, trois chiennes cyclées de race Beagle ont été traitées avec des pompes osmotiques sous-cutanées délivrant 32 µg/kg/jour de nafaréline. Le traitement a débuté 90 à 100 jours après le début de l'œstrus. Les résultats sont présentés sur la figure 17.

Figure 17 : Progestéronémie et fertilité chez trois chiennes recevant 32µg/jour de nafaréline au début du traitement, d'après MC RAE *et al.*, 1985



Elles ont présenté :

- des signes d'œstrus (frottis vaginal présentant des cellules kératinisées dès quatre à onze jours après le début du traitement ; écoulements hémorragiques vulvaires entre neuf et douze jours après le début du traitement)
- une augmentation transitoire de la progestéronémie de façon concomitante aux signes d'œstrus similaire à celle observée lors d'un œstrus normal, suggérant la survenue d'une ovulation suivie d'un retour à un niveau basal.

Dans l'étude de CAIN *et al*. en 1988, l'administration de GnRH toutes les 90 minutes pendant 13 jours permet l'induction d'un œstrus fertile chez sept des huit chiennes adultes traitées en anœstrus.

CAIN *et al.* ont démontré en 1989 qu'une « pompe à infusion » (Pulsamat ® Ferring USA) qui délivre la GnRH de manière pulsatile toutes les 90 minutes a réussi à induire l'œstrus chez sept des huit chiennes traitées en anœstrus. Dans cette étude, des doses croissantes ont été utilisées. A partir de la dose de 1,9 ng/kg/min, un pro-œstrus et un œstrus sont observés. Cependant, seulement deux chiennes sur cinq ont ovulé.

D'après l'étude de CONCANNON *et al.* (1997), l'administration pendant sept à quinze jours d'une dose supérieure à 80 ng/kg de GnRH induit efficacement un pro-œstrus suivi d'un œstrus avec une ovulation et une gestation. En effet, 19 chiennes sur 24 présentent des signes d'œstrus et 18 chiennes sur 19 ont ovulé.

Dans l'étude d'INABA *et al.* (1998), l'administration d'acétate de leuprolide entraine un œstrus de durée identique à celle des chiennes témoins. Cependant, le pro-œstrus précédant l'œstrus est de plus courte durée chez les chiennes traitées.

Dans l'étude de VOLKMANN *et al*. (2006), 100% des chiennes (28/28) traitées par des implants de desloréline (Ovuplant®) présentent des signes d'œstrus. Parmi ces chiennes, toutes celles en anœstrus (13/13) ont ovulé.

Ainsi, l'administration pulsatile de GnRH ou d'agonistes de la GnRH est efficace pour induire l'œstrus chez la chienne.

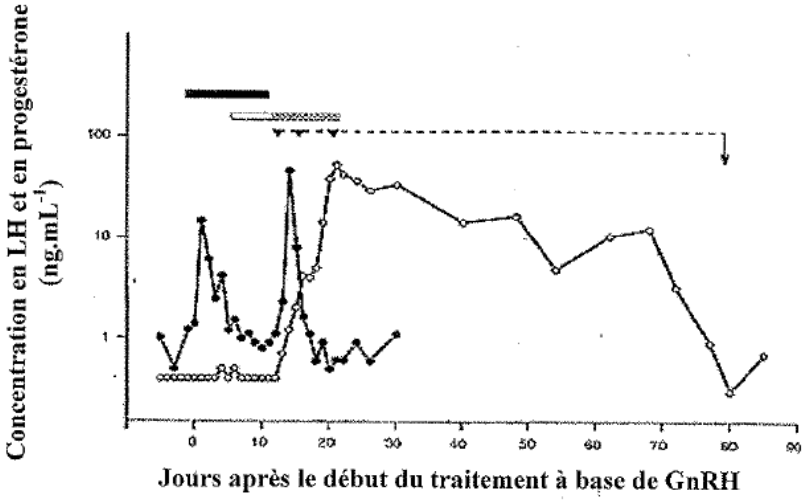
3.2.3.2 Variations hormonales suite à l'administration d'agonistes de la GnRH et mécanisme d'action

Selon INABA *et al.* (1998), les variations hormonales en œstradiol et en progestérone consécutives à l'œstrus induit sont similaires à celles d'un œstrus spontané. Un pic en œstradiol précède l'œstrus et la concentration en progestérone reste supérieure à 1 ng/ml pendant plus de 60 jours après la saillie.

D'autres études ont démontré que, même si les mécanismes d'entrée en œstrus sont différents, les variations hormonales de l'œstrus induit sont similaires à celles d'un œstrus spontané :

- pic d'œstrogènes juste avant le début de l'œstrus. Ce pic est néanmoins plus faible que lors d'œstrus spontané (CAIN *et al.*, 1988)
- pic pré-ovulatoire de LH huit à vingt jours après le début du traitement (CONCANNON *et al.*, 1997), comme le montre la figure 18
- progestéonémie en phase lutéale ou lors de la gestation normale (CONCANNON *et al.*, 1997), comme le montre la figure 18

Figure 18 : Concentrations sériques en progestérone (cercles vides) et en LH (cercles pleins) suite à l'administration de 385 µg/kg de GnRH en IV toutes les 90 minutes pendant 10 jours induisant un œstrus fertile chez une chienne en anœstrus, d'après CONCANNON *et al.*, 1997



La barre pleine correspond aux dix jours d'administration de la GnRH.

La barre vide correspond au pro-œstrus ; la barre quadrillée correspond à l'œstrus. Les triangles inversés correspondent aux jours de saillie et la flèche au jour de la mise-bas.

Ainsi, selon CONCANNON *et al*. (1997), l'augmentation de sécrétion de LH provoquée par l'administration continue de GnRH met fin prématurément à l'anœstrus en induisant des vagues folliculaires. Cette réponse ovarienne est certainement provoquée par la stimulation par les gonadotrophines. Aucun effet direct sur les ovaires n'a été démontré chez les carnivores.

3.2.3.3 Effet du moment du cycle et de l'âge

Le moment du cycle et l'âge de la chienne traitée par des agonistes de la GnRH sont connus pour moduler leur effet initialement stimulateur de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

3.2.3.3.1 Effet de l'âge

En 2006, RUBION *et al.* ont noté que des chiennes recevant des implants sous-cutanés de nafaréline à l'âge de 4,88 ± 0,32 mois ne présentent pas d'œstrus suivant l'implantation.

TRIGG *et al.* (2006) ont pu observer ce même phénomène chez 6 chiennes âgées de 4 mois et recevant des implants de desloréline.

En revanche, leur utilisation chez six chiennes âgées de plus de sept mois a provoqué un œstrus (comportement d'œstrus, écoulement vulvaire séro-sanguinolent) systématique dans le mois suivant l'implantation. Quatre chiennes sur six présentèrent un frottis d'œstrus et une concentration en progestérone supérieur à 2 ng/ml ; une chienne sur six présenta un frottis d'œstrus sans progestéronémie supérieure à 2 ng/ml ; une chienne sur six ne présenta que les signes d'œstrus et les écoulements vulvaires. Ces résultats sont présentés sur la figure 19.

Figure 19 : Résultats de l'étude de TRIGG *et al.*, 2006

Group	No.	Vulva swelling	Sanguineous vaginal discharge	Increasing of percentage of superficial cells	Serum progesterone >2 ng/ml
Control	6	5 a	5 a	5 a	5 a
Deslorelin implant at 4 mo of age	6	0 b	0 b	0 b	0 b
Deslorelin implant at 7 mo of age	6	6 a	6 a	5 a	4 a

Dans une même colonne, les groupes qui n'ont pas la même lettre ont des résultats significativement différents ($p < 0,01$).

INABA *et al.* (1998) ont noté l'induction d'un œstrus conduisant à une ovulation fécondante (comportement d'œstrus, frottis d'œstrus et gestation jusqu'au terme) chez cinq sur six chiennes pré pubères de un an recevant une injection d'acétate de leuprolide à libération prolongée.

3.2.3.3.2 Effet du moment du cycle

L'incidence de l'œstrus varie en fonction du stade d'implantation.

Dans l'étude de MC RAE *et al.* (1985), l'apparition de chaleurs induites par le traitement avec des agonistes de la GnRH n'a pu être évitée. Cinq chiennes adultes étaient traitées en pro-œstrus et trois autres en anœstrus.

Plusieurs autres études ont montré que des chiennes adultes recevant des agonistes de la GnRH lors de l'anœstrus y répondent par un œstrus induit. (TRIGG *et al.*, 2006 ; FONTAINE et FONTBONNE, 2010).

Il est aussi intéressant de noter qu'il semble que l'incidence de l'ovulation varie en fonction du stade de l'anœstrus : début, milieu, fin. En effet, le nombre de cycles anovulatoires serait plus élevé en début et milieu d'anœstrus qu'en fin d'anœstrus (VOLKMANN, 2006 ; FONTAINE et FONTBONNE, 2010). Nous expliquerons les raisons éventuelles de ce mécanisme dans la partie 3.2.3.5.

Dans l'étude de TRIGG *et al.* (2001), les chiennes traitées en métœstrus (25 chiennes) présentent un œstrus induit par la pose d'un implant de desloréline lorsque la concentration initiale en progestérone est inférieure à 5 ng/ml, à l'exception de deux chiennes.

Dans cette étude, les chiennes en métœstrus dont la progestérone est supérieure à 5 ng/ml recevant des implants de desloréline n'entrent pas en chaleurs suite à l'implantation (TRIGG *et al.*, 2001).

Ainsi, il semble que l'œstrus induit par l'administration d'agonistes de la GnRH peut être évitée chez les chiennes dont l'âge est inférieur à quatre mois (immaturité sexuelle) ou pendant les 60 jours suivant le pic ovulatoire (concentration en progestérone supérieure à 5 ng/ml). Cependant, il a pu être récemment établi que l'induction de l'œstrus peut être provoquée chez des chiennes en métœstrus dont les concentrations en progestérone sont très élevées, parfois supérieures à 60 ng/ml (FONTAINE et FONTBONNE, 2010).

3.2.3.4 Utilisation des agonistes de la GnRH pour l'induction des chaleurs chez la chienne

3.2.3.4.1 Délai entre le début du traitement et l'entrée en chaleurs

Ce délai est quasiment identique quel que soit le protocole.

Selon l'étude de CAIN *et al*. (1989), l'administration lors de l'anœstrus de GnRH par voie intraveineuse à la concentration de 140 µg/kg toutes les 90 minutes par des pompes pendant 11 à 12 jours entraine une entrée en pro-œstrus en 5,6 ± 0,53 jours chez toutes les chiennes cyclées de race Beagle testées.

Selon l'étude d'INABA *et al.* (1998), une injection unique lors de l'anœstrus d'acétate de leuprolide micro encapsulée (libération prolongée), par voie sous-cutanée, à la concentration de 100 µg/kg entraine des signes d'œstrus en 10,3 ± 0,9 jours chez toutes les chiennes cyclées de race Beagle testées.

Selon l'étude de CONCANNON *et al.* (2006), l'administration continue lors de l'anœstrus de lutréline, un agoniste de la GnRH, induit un pro-œstrus clinique et cytologique en 4,8 ± 0,2 jours chez 89% des chiennes cyclées de race Beagle testées.

Selon l'étude de KUTZLER (2005), la pose sous-cutanée d'un implant de 2,1mg de desloréline est suivie d'une entrée en chaleurs en six jours maximum, avec un œstrus qui apparaît en trois à cinq jours après l'implantation.

Plus récemment, FONTAINE et FONTBONNE (2010) ont induit les chaleurs en 4,2 ± 1,4 jours suivant la pose sous-cutanée d'implants de desloréline 4,7 mg.

3.2.3.4.2 Délai entre le début du traitement et l'ovulation

Plusieurs études ont montré que l'œstrus induit par l'administration d'agonistes de la GnRH est généralement suivi d'une ovulation mais les résultats des différentes études diffèrent.

En 1989, CONCANNON *et al.*, utilisant un protocole avec de la lutréline ont obtenu 18 ovulations chez les 24 chiennes traitées, soit 75% d'ovulations. Dans un deuxième protocole en 2006 ils ont obtenu 59% d'ovulations.

Les études de CAIN *et al.* en 1989 et d'INABA *et al.* en 1998 n'ont pas déterminé le moment de l'ovulation. Cependant, les chiennes traitées ont été mises à la reproduction ; les taux de gestation obtenus dans ces deux études (taux de 88% dans l'étude de CAIN *et al*. et taux de 77% dans l'étude d'INABA *et al*.) confirment que ces chiennes ont ovulé.

En 2002, les 11 chiennes traitées avec un implant de desloréline dans le protocole de KUTZLER *et al*. ont ovulé. Sept chiennes ont ovulé entre 11 et 15 jours après l'implantation et quatre d'entre elles après 11 jours.

Dans l'étude de VOLKMANN *et al.* (2006), utilisant également des implants de desloréline, le délai entre l'implantation et le pic de LH varie entre neuf et dix-sept jours, indiquant que l'ovulation a eu lieu entre 11 et 19 jours après l'implantation.

Enfin, dans l'étude de FONTAINE et FONTBONNE en 2010, 76% des 29 chiennes traitées avec un implant de desloréline ont ovulé entre 10 et 14 jours après l'implantation.

3.2.3.4.3 Protocoles d'induction des chaleurs chez la chienne

Le tableau 9 résume les différents protocoles d'induction de l'œstrus par les agonistes de la GnRH chez la chienne. Le stade est déterminé par l'analyse cytologique des frottis vaginaux et la progestéronémie.

Tableau 9 : Protocoles d'induction des chaleurs utilisés dans différentes études chez la chienne

Agoniste utilisé	Posologie	Résultats	Stade du cycle sexuel	Références
Lutréline	24µg/jour pompes osmotiques SC 14 jours	Œstrus chez 19/24 chiennes	Début d'anœstrus	CONCANNON *et al.*, 1989
Leuprolide	100µg/kg SC microencapsulé	Œstrus chez 12/12 chiennes	Début d'anœstrus : 6 chiennes Anœstrus tardif : 6 chiennes	INABA *et al.*, 1998
Desloréline (Ovuplant ®)	Implants 1,05mg ou 2,1mg Sous muqueuse vestibulaire du vagin	Œstrus chez 28/28 chiennes	Anœstrus 6 chiennes Métœstrus 6 chiennes (+ PGF2α avant implantation)	VOLKMANN *et al.*, 2006

Dans l'étude de VOLKMANN *et al*. (2006), les chiennes en métœstrus sont initialement traitées avec un lutéolytique : la prostaglandine F2α (PGF2α) trois à cinq jours avant la pose de l'implant de desloréline.

3.2.3.5 Prévention de l'œstrus induit

L'effet initialement stimulateur de l'administration d'agonistes de la GnRH a un certain nombre d'indications comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.3.4.

Cet effet est plus prononcé chez la femelle et entraine l'induction d'un œstrus en quelques jours. Dans le cadre de l'utilisation des agonistes de la GnRH pour une stérilisation chimique

de la chienne, cet effet constitue un inconvénient. Pire encore, il peut aggraver certaines maladies hormono-dépendantes.

Plusieurs études ont eu pour but de prévenir cet œstrus induit.

En 2001, TRIGG *et al.* ont pu mettre en évidence l'absence d'induction d'un œstrus par la pose d'un implant de desloréline chez les chiennes en métœstrus dont la progestéronémie est supérieure à 5 ng/ml.

Les progestagènes sont connus depuis longtemps pour leurs effets inhibiteurs sur le fonctionnement ovarien, via la rétroaction hypothalamique.

Dans l'étude de WRIGHT *et al*. en 2001, il a été observé que l'acétate de mégestrol (MGA) permettait de prévenir cet œstrus.

Cette étude a porté sur 39 chiennes en anœstrus (cytologie vaginale et progestéronémie inférieure à 3 ng/ml) de races diverses. Elles ont été réparties en cinq groupes, chaque groupe ayant reçu un traitement différent. Un groupe a été le groupe témoin (chiennes implantées mais ne recevant pas de MGA). Un autre groupe était le groupe contrôle (chiennes non implantées et ne recevant pas de MGA).

Les signes de pro-œstrus/œstrus ont été évalués ainsi : écoulement vulvaire séro-hémorragique, comportement d'œstrus, cytologie vaginale.

L'œstradiolémie et la progestéronémie ont été mesurées durant la période de traitement au MGA, avant (deux prélèvements par semaine) et après (trois prélèvements par semaine) l'implantation.

Le tableau 10 résume les différents protocoles utilisés et leurs résultats.

Tableau 10 : Nombre de chiennes manifestant des signes de pro-œstrus/œstrus et une progestéronémie détectable après traitement à la desloréline et au MGA dans l'étude de WRIGHT *et al.*, 2001

Groupe	Nombre de chiennes	Traitement avec MGA		Jour de la pose de l'implant de desloréline	Résultats (nombre de chiennes)	
		Dose (mg/kg)	Durée (jours)		Signes de pro-œstrus/œstrus	Progestéronémie détectable
1	5	2	21	14	0	0
2	5	2	14	7	0	1
3	5	1	14	7	2	1
4	9	0	-	0	9	5
5	4	Non traitées	-	Non traitées	0	0

Des signes de pro-œstrus/œstrus ont été observés chez toutes les chiennes témoins (groupe 4 : ne recevant que l'implant de desloréline), chez deux chiennes du groupe 3 (1 mg/kg de MGA) mais chez aucune des chiennes ayant reçu 2 mg/kg de MGA.

L'efficacité du traitement a été fonction du protocole utilisé. Une dose de 2mg/kg/jour de MGA pendant 14 jours ou 21 jours, débutant 1 semaine avant la pose de l'implant a été optimale pour inhiber l'ovulation.

Cette étude n'a cependant pas mis en évidence l'utilité d'administrer le MGA à la fois avant et après la pose de l'implant.

CORRADA *et al*. (2006) ont testé l'efficacité du MGA à la même dose sur 42 chiennes en anœstrus (plus de 90 jours après le dernier œstrus et cytologie vaginale) recevant un implant de 10 mg de desloréline. La durée de traitement au MGA a été réduite à huit jours.

Les signes d'œstrus étaient : un gonflement vulvaire, un écoulement vulvaire séro-hémorragique. Lorsque ces signes étaient présents, une cytologie vaginale quotidienne et un dosage de la progestérone plasmatique avaient été réalisés deux semaines plus tard pour confirmer l'ovulation.

Lorsque l'administration du MGA a débuté quatre jours avant la pose de l'implant, une chienne sur dix a présenté des chaleurs. En débutant ce traitement seulement un jour avant la pose de l'implant de desloréline, quatre chiennes sur huit ont présenté des chaleurs.

Donc, une dose de 2mg/kg/jour de MGA pendant huit jours, débutant quatre jours avant la pose de l'implant a été efficace pour inhiber l'effet « flare-up » chez neuf chiennes sur dix implantées en anœstrus.

Cependant, sur les chiennes chez lesquelles le traitement semble avoir fonctionné, quatre ont présenté un gonflement vulvaire pendant cinq à sept jours, deux à vingt-huit jours après l'implantation et trois ont présenté un œstrus décalé (entre 26, 40 et 51 jours après l'implantation). Cela suggère un report de l'œstrus par le traitement au MGA, ce qui limite l'efficacité du protocole.

Dans cette étude, la durée de l'interœstrus (défini comme la période entre deux cycles œstraux), augmentée par l'administration de desloréline seule, n'est pas modifiée par l'administration simultanée de MGA, comme le montre le tableau 11.

Tableau 11 : Durée de l'interœstrus suite à la pose d'un implant de desloréline associée ou non à l'administration de MGA, d'après CORRADA *et al.*, 2006

Traitement	Durée de l'interœstrus (jours)
Implant desloréline 10 mg SC seul	445,7 ± 24,1
MGA 2 mg/kg + implant desloréline 10mg SC 1 jour plus tard	450,0 ± 25,9
MGA 2 mg/kg + implant desloréline 10mg SC 4 jours plus tard	433,3 ± 36,7

Ces traitements semblent donc avoir une efficacité limitée.

L'étude de SUNG *et al.* (2006) a remis en question l'efficacité des progestagènes à prévenir l'œstrus induit par l'administration d'un implant 4,7 mg de desloréline. Des chiennes de race Greyhound en anœstrus tardif ont reçu 2 mg/kg/jour de MGA pendant 13 jours. Le traitement a débuté sept jours avant la pose d'un implant de desloréline. Quatre chiennes sur cinq ont présenté des signes de pro-œstrus/œstrus (gonflement vulvaire, écoulement vulvaire séro-hémorragique, comportement, cytologie vaginale, progestéronémie > 0,5 ng/ml). Celui-ci s'est produit en 8,4 +/- 1,7 jours (entre trois et dix-neuf jours) après l'implantation.

Les auteurs ont aussi noté chez les chiennes implantées et traitées au MGA une baisse de la réponse hypophysaire à l'administration d'agonistes de la GnRH (baisse significative de la concentration plasmatique à la LH par rapport aux chiennes non traitées au MGA). Cependant, les concentrations plasmatiques en œstradiol sont significativement plus élevées chez les chiennes traitées. Cela suggère une sensibilité ovarienne élevée à la stimulation par les hormones hypophysaires. Or, comme nous l'avons vu dans la partie 1.3.3.2.2 (étude de VAN HAAFTEN *et al*., 1994), celle-ci serait plus élevée en anœstrus tardif qu'en début d'anœstrus. Ainsi, l'efficacité du MGA à prévenir l'œstrus induit peut être diminuée dans cette étude dans le cas où les chiennes étaient en anœstrus tardif. Le stade où le traitement a débuté n'est pas connu dans cette étude. Une dose plus importante de progestagènes ou une durée plus longue pourrait améliorer l'efficacité.

Plus récemment, VALIENTE *et al*. (2009) ont utilisé l'acycline, antagoniste de la GnRH chez des chiennes en anœstrus recevant un implant de desloréline pour prévenir l'œstrus induit. Neuf chiennes n'ont reçu qu'un implant de 10 mg de desloréline alors que 12 chiennes ont reçu un implant de desloréline combiné à une injection unique d'acycline (330 µg/kg SC) dans les 48 heures suivant l'implantation.

Des signes d'œstrus ont été détectés chez toutes les chiennes ne recevant que la desloréline et chez 75% (neuf/douze) des chiennes recevant l'acycline. Se basant sur la progestéronémie, l'ovulation se produit chez toutes les chiennes ne recevant que la desloréline et chez cinq sur neuf chiennes ayant présenté des signes d'œstrus.

Ainsi, la stimulation ovarienne a été empêchée chez un quart des chiennes traitées, alors que la période de stimulation a été reportée et que l'ovulation a été inhibée chez environ la moitié des chiennes.

La durée de l'interœstrus n'a pas semblé être affectée par le traitement concomitant avec l'acycline. Aucune réaction secondaire n'a été observée dans cette étude.

La suppression par les antagonistes de la GnRH du « flare-up » chez les chiennes traitées par les agonistes de la GnRH dépend de la dose, de la puissance et de la durée de traitement. Ainsi, il est possible d'améliorer l'efficacité en ajustant les doses d'antagonistes de la GnRH. Le stade de l'anœstrus et les variations individuelles jouent également un rôle dans cette efficacité.

Ainsi, aucun protocole n'est complètement satisfaisant dans la prévention de l'œstrus induit. ROMAGNOLI *et al.* (2009) recommandent d'administrer les agonistes de la GnRH en diœstrus. Cependant, cela semble ne pas être complètement efficace, étant donné que l'induction de l'œstrus est rapportée chez des chiennes dont la progestéronémie est supérieure à 60 ng/ml (FONTAINE et FONTBONNE, 2010).

Dans la partie expérimentale, nous allons tester l'utilisation de l'acétate d'osatérone, dont nous avons présenté les caractéristiques dans la partie 2.2, dans la prévention de l'œstrus induit par la pose d'un implant de desloréline.

3.2.4 Les agonistes de la GnRH et la suppression de l'œstrus chez la chienne

Initialement, les agonistes de la GnRH ont été développés pour traiter l'infertilité en raison de leurs effets stimulateurs de l'activité ovarienne, comme présenté dans la partie 3.1.3. Mais l'inhibition de la fertilité qu'ils provoquent du fait de la perturbation de l'administration pulsatile de GnRH a rapidement été découverte (HERBERT et TRIGG, 2005).

Les premières études portant sur la suppression réversible de l'activité sexuelle des carnivores par les agonistes de la GnRH ont été réalisées sur des chiens adultes mâles.

Comme cela a été décrit dans la partie 3.2.3, l'administration d'agonistes de la GnRH provoque tout d'abord une augmentation rapide des concentrations plasmatiques en gonadotrophines FSH et LH, qui s'accompagne d'une augmentation des concentrations en hormones stéroïdes (JUNAIDI *et al.,* 2007).

Ensuite, lors d'administration continue (implant de desloréline 6 mg utilisé dans l'étude de JUNAIDI *et al*., 2007) les concentrations en LH commencent à décliner, pour atteindre des valeurs très basses dès la deuxième semaine suivant l'implantation (0,06 ± 0,03 ng/ml) et par la suite, les concentrations en LH deviennent indétectables (< 0,06 ng/ml) chez le chien mâle, comme le montre la figure 16 présentée dans la partie 3.2.3.

Les concentrations plasmatiques en testostérone suivent le même modèle, montrant une rapide augmentation initiale suivie d'un déclin graduel. Ces concentrations sont quasi nulles 25 jours après l'implantation et indétectable entre 30 et 101 jours après l'implantation chez le chien mâle, comme le montre la figure 16.

La suppression de l'activité sexuelle par une administration continue d'agonistes de la GnRH a également été démontrée chez la chienne pendant des périodes supérieures à 1 an (MC RAE *et al.*, 1985 ; VICKERY *et al.*, 1989). Cette démonstration nécessite des études au long terme, du fait du long intervalle entre les périodes d'œstrus dans cette espèce (VICKERY *et al.*, 1989).

3.2.4.1 Efficacité chez la chienne adulte cyclée

L'étude de MC RAE *et al.* en 1985 a permis de montrer qu'il est possible d'obtenir une longue suppression réversible de l'œstrus et de l'ovulation chez la chienne grâce à un analogue de la GnRH, l'acétate de nafaréline.

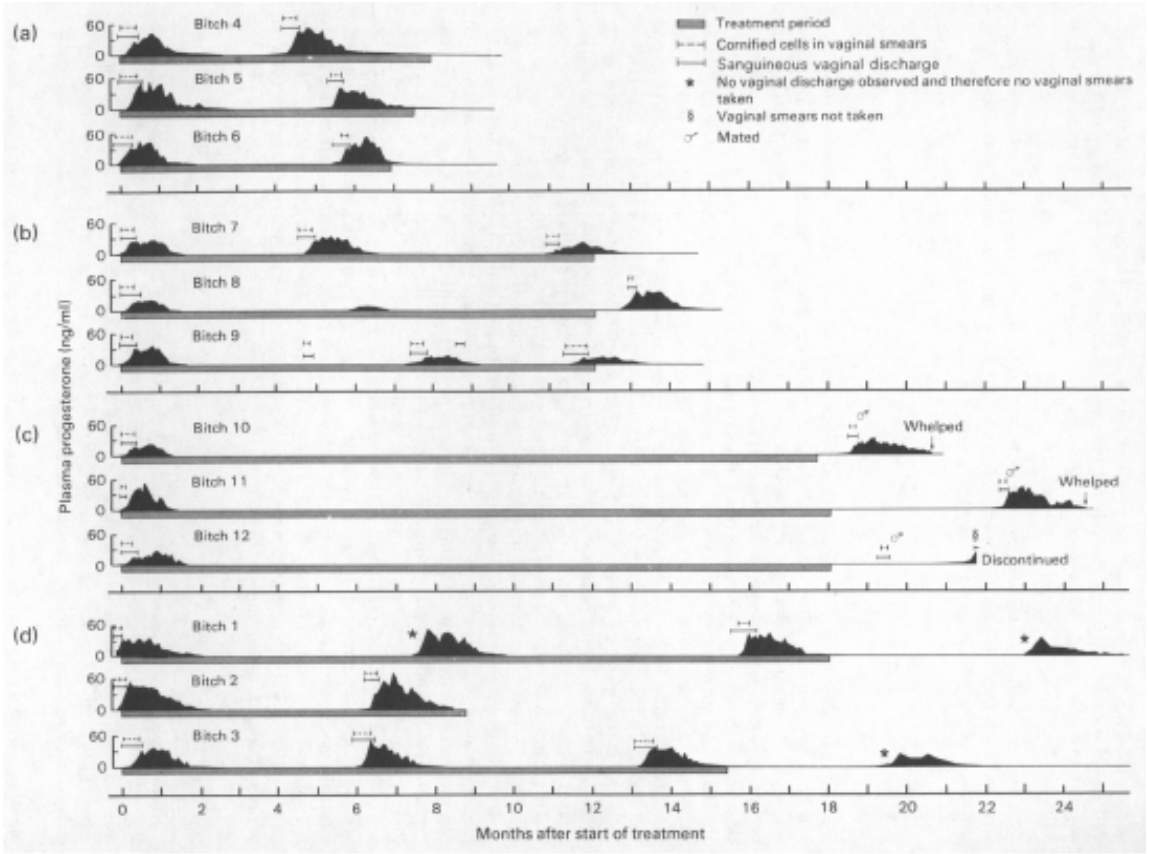
Douze chiennes de race Beagle ont été séparées en quatre groupes de trois, recevant respectivement : un placebo, 2, 8 ou 32 µg de nafaréline par jour via des mini-pompes osmotiques sous-cutanées délivrant à une concentration constante une solution d'acétate de nafaréline. L'administration débuta pendant la première semaine après le début des écoulements vulvaires sanguinolents.

L'ovulation a été mesurée par la concentration plasmatique en progestérone. Les signes d'œstrus correspondaient au gonflement de la vulve et aux écoulements vulvaires sanguinolents.

L'ovulation imminente n'a pas été affectée par le traitement, quelle que soit la dose administrée (élévation des taux de progestérone). La progestéronémie en phase lutéale fut significativement inférieure chez les chiennes recevant 8 ou 32 µg de nafaréline par jour.

L'administration de 2 ou 8 µg de nafaréline par jour n'a pas empêché la survenue régulière de l'œstrus alors que l'administration de 32 µg de nafaréline par jour a complètement supprimé les signes d'œstrus et l'ovulation pendant les 18 mois de traitement, comme le montre la figure 20.

Figure 20 : Concentrations plasmatiques en progestérone et dates d'apparition des écoulements vaginaux sanguins et de la kératinisation pendant et après le traitement des chiennes Beagle avec (a) 2, (b) 8, (c) 32 µg de nafaréline par jour, (d) placebo, d'après MC RAE *et al.*, 1985



L'étude de TRIGG *et al.* (2001) a montré une suppression efficace de l'activité sexuelle chez la chienne pendant plusieurs mois, comme le montre le tableau 12.

CORRADA *et al.* (2006) ont pu, lors de l'étude visant également à prévenir l'œstrus induit par l'administration de progestagènes, objectiver l'efficacité des agonistes des implants de desloréline par une augmentation significative de la durée de l'interœstrus chez les chiennes traitées avec des implants de 10mg de desloréline. Cette durée est présentée dans le tableau 13.

Quel est le mécanisme qui gouverne cette suppression de l'activité sexuelle par l'administration continue d'agonistes de la GnRH ?

3.2.4.2 Mode d'action : la désensibilisation des récepteurs à la GnRH

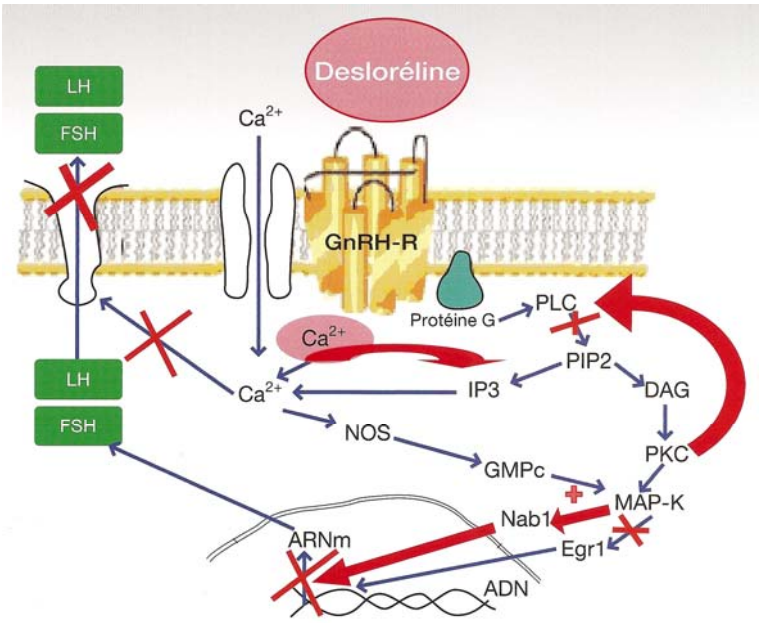
Comme cela a été dit dans l'introduction de la partie 3.2.4, l'administration continue d'agonistes de la GnRH provoque une réduction progressive de la sécrétion de FSH et de LH par l'hypophyse.

Ce phénomène est causé par une désensibilisation des récepteurs à la GnRH. Elle est à l'origine de l'action pharmacologique anti-reproductive des agonistes de la GnRH est propre aux récepteurs de la famille GPCR (récepteurs couplés aux protéines G), dont les propriétés ont été développées dans la partie 3.1.3.1.

Les récepteurs à la GnRH des mammifères ont une variation structurale : ils ne possèdent pas la séquence C-terminale cytoplasmique, propre aux récepteurs de la famille des GPCR, qui est habituellement impliquée dans la désensibilisation des récepteurs (elle est impliquée dans la réduction du nombre de récepteurs). Ainsi, les récepteurs à la GnRH ne sont pas inactivés et il semble que leur nombre ne diminue pas suite à l'administration continue d'agonistes de la GnRH. En revanche, la désensibilisation ou perte de réponse des cellules hypophysaires serait la conséquence de modifications des mécanismes post-récepteurs intracellulaires impliquant les seconds messagers (COUNIS *et al.*, 2005 ; VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007).

Ces mécanismes sont présentés sur la figure 21.

Figure 21 : Effets de l'administration continue de desloréline sur le récepteur à la GnRH, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007



GnRH-R : récepteur à la GnRH, PLC : Phospholipase C, PIP2 : phosphatidylinositol 4,5-diphosphate, DAG : diacylglycérol, IP3 : inositol 1,4,5-triphosphate, PKC : phopshokinase C, MAP-K : mitogen associated protein kinase, NOS : NO synthétase, Egr1 : early growth response protein 1, Nab1 : NGFI-A Binding protein 1 (répresseur d'Egr1), ARNm : ARN messager, Ca2+ : ion calcium.

D'une part, la stimulation continue des récepteurs à la GnRH orienterait les voies de signalisation cellulaire vers l'activation d'inhibiteurs de la synthèse d'ARNm codant pour FSH et LH.

De plus, l'activation continue de la PKC (phosphokinase C) et du calcium provoque, respectivement, l'inactivation de la PLC (phospholipase C) et de l'IP3 (inositol triphosphate) (rétrocontrôle négatif). Il en résulte une absence de réponse des cellules hypophysaires à la stimulation continue du récepteur à la GnRH.

3.2.4.3 Durée d'action

Dans l'étude de MC RAE *et al.* (1985), aucun œstrus n'est observé pendant toute la période de traitement (18 mois) chez les trois chiennes traitées via des mini-pompes osmotiques délivrant quotidiennement 32 µg/jour d'acétate de nafaréline. La concentration en progestérone est restée basale durant tout le traitement. Ces résultats sont présentés sur la figure 20 (partie 3.2.4.1) : aucun œstrus n'est observé sur les chiennes 10, 11 et 12 durant toute la période de traitement.

L'étude de TRIGG *et al.* (2001), dont les résultats sont présentés dans le tableau 12, montre qu'il existe chez la chienne une relation significative entre la durée efficace de suppression de l'activité sexuelle et la dose de desloréline utilisée (implants de 3, 6 ou 12 mg sur 30 chiens entiers). Dans cette même étude, la durée d'inhibition de l'activité sexuelle est en moyenne de 1 an chez la chienne adulte cyclée, et peut atteindre 27 mois.

Tableau 12 : Durée de l'interœstrus chez 52 chiennes recevant un implant de desloréline, en fonction du moment d'implantation (anœstrus, métœstrus ou gestation) et la dose de desloréline, d'après TRIGG *et al.*, 2001

Stade d'implantation	Quantité de desloréline implantée (en mg)			
	0	**3**	**6**	**12**
Anœstrus	Abs	10,0	13,9 ±1,9 mois	Abs
Métœstrus	5,5 ± 0,5 mois	10,7 ± 1,4 mois	14,6 ±3,5 mois	15,7 ± 1,7 mois
Gestation	8,5 ± 1,5 mois	Abs	20,4 ± 3,4 mois	19,6 ± 2,5 mois

Cependant, il n'existe pas de relation entre la durée efficace du traitement et le stade du cycle de la chienne traitée.

Dans l'étude de FONTAINE et FONTBONNE (2010), il est noté qu'il y a actuellement peu de données sur la durée d'efficacité chez la chienne mais il semble qu'elle soit similaire à celle observée chez le mâle. En effet, chez les chiennes pour lesquelles cela a pu être observé, cette durée était comprise entre six et dix mois après implantation.

3.2.4.4 Retour à la fertilité/Réversibilité

Toutes les études précédemment citées portant sur l'effet inhibiteur de l'activité sexuelle des agonistes de la GnRH précisent que les traitements sont réversibles, avec un retour à l'arrêt des chaleurs dans des délais exposés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Délai de retour en chaleurs après arrêt du traitement ou de l'interœstrus lors de traitement à base d'agonistes de la GnRH

Protocole	Nombre de chiennes adultes cyclées	Délai de retour en chaleurs après arrêt du traitement	Durée de l'interœstrus (mois)	Référence
Acétate de nafaréline 32µg/jour, 18 mois	3	3, 5 et 18 semaines		MC RAE *et al.*, 1985
Azagly-nafaréline 16 µg/jour, 12 ou 18 mois	13	1,3 mois		VICKERY *et al.*, 1989
Acétate de desloréline (implant) 3mg 6mg 12mg	52		10,0 à 10,7± 1,4 13,9 ± 1,9 à 20,4 ± 1,4 15,5 ± 1,7 à 19,6 ± 2,5	TRIGG *et al.*, 2001
Acétate de desloréline (implant 10mg)	42		14,86 (± 24,1 jours)	CORRADA *et al.*, 2006

Dans le cas des implants d'agonistes de la GnRH, c'est la durée de l'interœstrus qui a été évaluée.

Dans l'étude de CORRADA *et al.* (2006), la durée de l'interœstrus a été évaluée pendant une période contrôle avant le début de l'étude. Les chiennes sont ainsi leur propre témoin. Une partie des chiennes de l'étude n'a reçu que l'implant de desloréline. La durée de l'interœstrus est de 183,7 ± 24,1 jours durant la période contrôle alors qu'elle est de 445,7 ± 24,1 jours suite à l'implantation de desloréline.

L'évaluation de la réversibilité ou non du traitement doit prendre en compte la présence ou non d'une ovulation lors de l'œstrus consécutif à l'arrêt du traitement ainsi que de sa fertilité, qui sont évalués dans certaines études seulement.

Dans l'étude de MC RAE *et al*. (1985), les chiennes ayant présenté des signes d'œstrus trois et dix-huit semaines après l'arrêt du traitement produisirent des portées normales de cinq et six chiots respectivement. La troisième montra des signes d'œstrus cinq semaines après l'arrêt du traitement mais l'ovulation n'eut pas lieu (absence d'augmentation de la progestéronémie). Après 11 semaines, des signes d'œstrus accompagnés d'une augmentation de la progestérone plasmatique furent observés. Elle ne fut pas mise à la reproduction. Ces résultats sont présentés sur la figure 20.

Dans les études de VICKERY *et al.* (1989), toutes les chiennes (8/8) furent fertiles au premier œstrus.

Dans l'étude de TRIGG *et al.* (2001), neuf chiennes traitées et revenues en chaleurs ont été mises à la reproduction au premier œstrus suivant l'implantation. Six de ces neuf chiennes devinrent gestantes. Deux d'entre elles furent autopsiées avant la fin de la gestation et quatre d'entre elles eurent des portées viables. Comme le moment optimal d'accouplement n'avait pas été déterminé, il est possible que toutes les chiennes soient fertiles.

Récemment, FONTAINE et FONTBONNE (2010) rapportent également des gestations chez des chiennes traitées avec des implants de 4,7 mg de desloréline.

Il ne semble donc pas y avoir des effets à long-terme sur la fertilité.

3.2.5 Sécurité

Selon l'étude de TRIGG *et al*. en 2001, aucune réaction inflammatoire ni œdème n'a été observé au site d'implantation lors de l'utilisation des implants de desloréline.

Le traitement n'a aucune incidence sur la gestation si l'implantation est réalisée en milieu ou en fin de gestation (TRIGG *et al*. 2001).

Dans le cadre de l'utilisation pour la suppression de l'œstrus, le principal effet secondaire observé après la pose d'un implant de desloréline est l'induction d'un œstrus chez la chienne adulte cyclée. Cet effet est cependant utilisé en pratique pour l'induction de l'œstrus comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.3.

Comme nous l'avons vu dans la partie 2, différentes méthodes de contraception existent, comme la vaccination ou l'administration d'hormones sexuelles. Ces approches présentent certaines limites, comme une inefficacité relative de nombreux vaccins ou encore les effets secondaires liés à l'utilisation prolongée des hormones sexuelles. Les agonistes de la GnRH semblent quant à eux être une bonne alternative.

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.4, quand ils sont administrés de façon prolongée, ils entrainent une infertilité par blocage des récepteurs hypophysaires à la GnRH. Ainsi, même s'ils peuvent être utilisés de façon ponctuelle pour modifier le cycle sexuel, une part importante des applications cliniques des agonistes de la GnRH est basée sur leur présence sur une longue durée dans l'organisme.

L'administration parentérale semble être la voie à privilégier comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.2.1. Les premières études utilisaient des injections sous-cutanées ou intraveineuses. Cependant, du fait de la courte demi-vie des agonistes, il était nécessaire de réaliser ces injections quotidiennement afin d'obtenir l'effet escompté.

Dans l'étude MC RAE *et al.* (1985), l'utilisation de mini-pompes osmotiques sous-cutanées nécessite de les remplacer tous les 14 ou 30 jours, selon le modèle utilisé, dans des conditions chirurgicales stériles, sous anesthésie locale. Leur utilisation demeure donc réservée au domaine expérimental.

Ces administrations quotidiennes étant lourdes et coûteuses, cela représentait un obstacle à un développement large de ces molécules. Ainsi, la nécessité de développer des formulations libérant dans l'organisme l'agoniste à des taux biologiquement actifs pendant environ une année a été rapidement mise à jour. L'échec à développer un système de délivrance adéquat a longtemps été un frein à la commercialisation de produits à base d'agonistes de la GnRH.

Récemment, des formulations biocompatibles, faciles d'utilisation, d'un coût raisonnable et libérant des quantités suffisantes d'agonistes de la GnRH pour couvrir de longues périodes ont été développées (HERBERT et TRIGG, 2005) :

- microsphères lyophilisées de 20 à 30 μm de diamètre, administrées par voie sous-cutanée ou intramusculaire : le leuprolide (Lupron Depot®, Abbot)
- implants entourés d'une matrice polymérique de silicone, injectables par voie sous-cutanée : la buséréline (Suprefact®, Aventis)

Ces formulations ont été développées en médecine humaine, avec une durée de vie de un à trois mois.

3.3 L'implant de desloréline, une alternative aux méthodes de stérilisation « classiques »

En 2008, un implant composé d'une matrice lipidique biocompatible, administré par voie sous-cutanée et permettant la libération progressive d'acétate de desloréline dans l'organisme a été mis sur le marché vétérinaire en France : c'est le Suprelorin® 4,7 mg implant pour chiens, Virbac. Nous allons développer ses caractéristiques dans cette partie.

3.3.1 Caractéristiques du produit

(European Medecines Agency, 2007)
[http://www.emea.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/veterinary/000109/WC500068835.pdf]

3.3.1.1 Présentation

Le Suprelorin® 4,7 mg implant pour chiens contient 4,7 mg de desloréline sous forme d'acétate de desloréline. Son indication est l'induction d'une infertilité temporaire chez les chiens mâles arrivés à maturité sexuelle, non castrés et en bonne santé.

Il ne présente aucune contre-indication.

3.3.1.2 Informations cliniques

L'infertilité est obtenue environ six semaines après le traitement initial. Elle est maintenue au moins jusqu'à six mois suivant ce traitement. Les chiens traités doivent donc être tenus à l'écart des chiennes en chaleurs au cours des six premières semaines de traitement.

Peu d'effets indésirables sont rapportés. Chez certains chiens, il est possible d'observer un œdème modéré au site de l'implant. Sur le plan histologique, des réactions locales légères avec une inflammation chronique du tissu conjonctif et formation d'une capsule et d'un dépôt de collagène ont été observés trois mois après l'administration.

La voie d'administration est la voie sous-cutanée.

Aucune réaction n'a été observée après l'administration sous-cutanée simultanée de 10 implants.

3.3.1.3 Conditionnement

La présentation finale commercialisée comprend une boîte en carton contenant un pistolet pour deux ou cinq implants, dans des sachets individuels en aluminium ayant été stérilisés, ainsi qu'un dispositif d'implantation (bouton poussoir), comme le montre la figure 22.

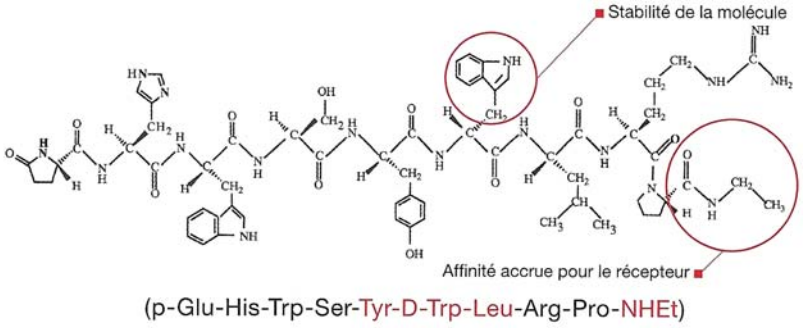
Figure 22 : Le packaging du Suprelorin®, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007

3.3.1.4 La desloréline, un superagoniste de la GnRH

La desloréline présente deux modifications de structure par rapport à la GnRH : la glycine en position 6 a été remplacée par le D-tryptophane, ce qui augmente sa stabilité et le groupement glycinamide C-terminal a été remplacé par un groupement éthylamide, ce qui augmente l'affinité pour le récepteur, comme présenté sur la figure 23. Elle est ainsi moins sensible au clivage et donc plus puissante que la GnRH naturelle.

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.2.2, la desloréline est 10 à 144 fois plus puissante que la GnRH naturelle (PADULA, 2005). Elle a une affinité 7 fois plus importante que la GnRH naturelle au récepteur à la GnRH : c'est un superagoniste. (COUNIS *et al.*, 2005)

Figure 23 : Structure de la desloréline, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007



Les cercles rouges correspondent aux séquences d'acides aminés qui diffèrent de la GnRH endogène.

Sa formule selon la Nomenclature recommandée par l'IUPAC-IUB (International Union of Pure and Applied Chemists) est [D-Trp6, Pro9-des-Gly10-NH2]GnRH-ethylamide.

3.3.2 Un nouveau système de délivrance : l'implant sous-cutané

3.3.2.1 Principe

Le système de délivrance prolongée des agonistes de la GnRH doit présenter certaines caractéristiques : il doit être facile d'utilisation, biocompatible, sûr, efficace c'est-à-dire libérer des quantités suffisantes d'agonistes pendant une durée adéquate, et être relativement

peu coûteux à développer. Pour la première fois, un tel système a été développé en médecine vétérinaire. C'est le Suprelorin ® qui libère la desloréline de concentration 4,7 mg de façon continue grâce à un implant biocompatible et sûr (VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007). L'Autorisation de Mise sur le Marché n'existe que pour le chien mâle mais de nombreuses études ont démontré son efficacité chez les deux sexes et même chez d'autres espèces comme le chat ou le furet, comme exposé dans la partie 3.2 (TRIGG *et al*., 2001).

3.3.2.2 Présentation de l'implant Suprelorin®

L'implant est un cylindre solide, opaque, blanc à jaune pâle de 2,3 mm de diamètre par 12,5 mm de longueur. Il contient une matrice lipidique biocompatible (triglycérides saturés) qui permet une libération prolongée de la desloréline au cours du temps (25 µg/kg/jour pendant 6 mois d'où une concentration de 4,7 mg dans l'implant de Suprelorin®). Il est fourni dans un pistolet pour implant pré-chargé dont le dispositif est présenté sur les figures 24 et 25. Chaque pistolet est conditionné dans un sachet en aluminium scellé puis stérilisé.

Figure 24 : Implanteur et actionneur du Suprelorin ®, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007

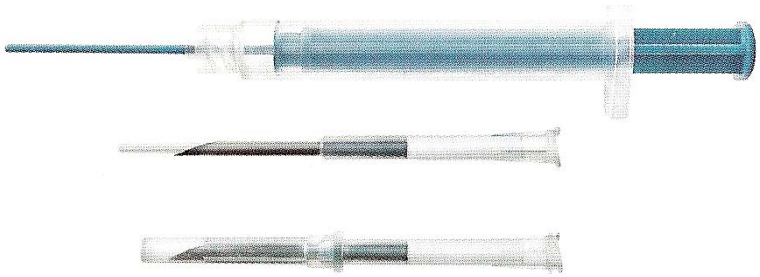
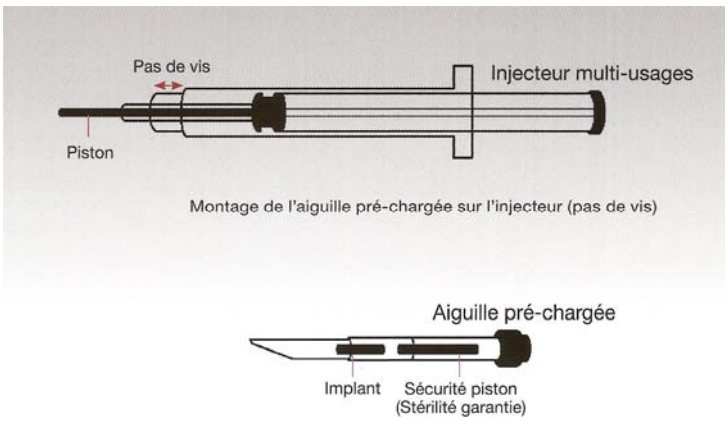


Figure 25 : Schéma de l'implanteur, d'après VIRBAC SANTÉ ANIMALE, 2007



Quelle que soit la taille, tous les animaux reçoivent la même dose : 4,7 mg car le mécanisme d'action est central : en effet la desloréline cible les récepteurs à la GnRH présents dans le lobe antérieur de l'hypophyse. De plus, la concentration de desloréline active libérée dépend essentiellement des propriétés physico-chimiques de l'implant. Ainsi, la cinétique de diffusion de la desloréline est considérée identique entre espèces, quelle que soit la taille.

Ainsi, il semble que la même quantité de desloréline est efficace quel que soit le poids et la taille des chiens. La durée de suppression chez les chiens de grande taille n'est pas différente

de celle des chiens de taille moyenne. Cependant, une durée d'action plus longue peut être observée chez les chiens de petite taille. Les différences observées entre les différents chiens semblent plutôt provenir d'une sensibilité individuelle à la desloréline, la taille du chien n'intervenant que dans une moindre mesure.

Comme tous les agonistes de la GnRH, l'implant de desloréline a un double effet : stimulateur (effet « flare-up » à l'origine des chaleurs) puis inhibiteur. En tirant avantage de ce double-effet, les agonistes de la GnRH sont utilisés à la fois pour induire et pour prévenir l'œstrus (GOBELLO, 2007).

3.3.2.3 Etudes et résultats

3.3.2.3.1 Utilisation de systèmes à libération prolongée pour induire l'œstrus

La GnRH native ou des formulations à courte durée d'action ont été au départ utilisées pour induire l'œstrus mais cela nécessitait des perfusions continues ou des injections fréquentes (toutes les 90 minutes) pendant six à quatorze jours (CONCANNON, 1989). Ces protocoles ne sont pas utilisables en clinique car ils sont lourds, nécessitent une hospitalisation et il est peu acceptable de réaliser des injections quotidiennes pour la contraception. Ils étaient donc exclusivement réservés au domaine expérimental.

En 1996, une formulation à libération prolongée chez le chien, un implant de busséréline, a été utilisée pour induire l'œstrus chez 29 chiennes en anœstrus. Toutes les femelles ovulèrent et eurent des portées normales (CINONE *et al.*, 1996).

En 2001, un implant à libération prolongée, biodégradable, contenant de l'acétate de desloréline (Ovuplant ®, Fort Dodge Animal Health, Overland Park, KS, USA)2,1mg, ayant une Autorisation de Mise sur le Marché pour l'induction de l'ovulation chez la jument a été utilisé pour la première fois chez sept chiennes Beagle. Un œstrus rapide et synchronisé fut induit (KUTZLER *et al.*, 2001a, b).

De la desloréline à des doses de 2,1 mg et 1,05 mg implantée dans la muqueuse vestibulaire peut induire l'œstrus chez des chiennes en anœstrus ou en diœstrus trois à cinq jours après un traitement de sept jours au Dinoprost® (50-250 µg/kg), un analogue de la prostaglandine F2 alpha. Alors que toutes les chiennes en anœstrus ovulèrent, une des six chiennes recevant 2,1mg et trois des neuf chiennes recevant 1,05mg en diœstrus n'ovulèrent pas (VOLKMANN *et al*., 2006).

Les études citées précédemment étaient limitées au domaine expérimental et généralement pratiquées sur des chiennes de race Beagle. Plus récemment, FONTAINE et FONTBONNE (2010) ont réalisé une étude clinique pour l'induction de l'œstrus par le Suprelorin® chez 29 chiennes de races diverses. Lors de cette étude, l'implantation ne se fit pas en zone inter scapulaire comme chez le chien mâle mais en zone ombilicale afin de rendre visible l'implant à travers la peau et ainsi faciliter son retrait. Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.3.4, l'ovulation se produit 12 ± 2 jours après l'implantation. Contrairement à l'étude de

KUTZLER (2005), l'implant était retiré juste après l'ovulation (lorsque le taux de progestérone était supérieur à 5-6 ng/ml), étant donné que dans d'autres essais préliminaires une anovulation avait été rapportée lors d'un retrait plus précoce. Une absence d'ovulation fut rapportée dans 24% des cas (7/24 chiennes).

3.3.2.3.2 Utilisation des systèmes à libération prolongée dans la suppression de l'œstrus

Lorsque des systèmes de délivrance contenant 41% d'azagly-nafaréline furent placés dans la région ombilicale de six chiennes Beagle pendant un an, aucun signe d'œstrus et des concentrations plasmatiques faibles de FSH et de progestérone furent obtenus (RUBION *et al.*, 2003).

Comme nous l'avons développé dans la partie 3.2.4, les chiennes recevant un implant de desloréline ont une durée de l'interœstrus augmentée (études de TRIGG *et al*., 2001, de CORRADA *et al.*, 2006 et de FONTAINE et FONTBONNE, 2010).

Dans l'étude de ROMAGNOLI *et al.* (2009), cinq chiennes en anœstrus et cinq chiennes en diœstrus reçoivent un implant de desloréline (4,7mg ou 9,4mg) tous les cinq mois. La suppression de l'activité sexuelle est observée chez six chiennes sur dix pendant un à quatre ans.

Ainsi, les implants de desloréline offrent des perspectives intéressantes dans le contrôle de la fertilité chez la chienne. En effet, ils sont faciles d'utilisation et rendent possibles l'administration prolongée de ces molécules. De plus, ils sont réversibles. Quelque soit la taille de l'animal, le même implant est utilisé. Ils sont également faciles à retirer, ce qui permet leur utilisation pour l'induction des chaleurs chez la chienne, permettant ainsi de prévoir l'ovulation et donc la mise à la reproduction à des moments souhaités par le propriétaire.

3.3.3 Durée d'action

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.4.3, dans l'étude de TRIGG *et al*. (2001), les chiennes recevant un implant de 6mg de desloréline retournent en chaleurs 13,9 ± 1,9 mois après implantation en anœstrus, 14,6 ± 3,5 mois après implantation en métœstrus. Le tableau 13 présente ces durées en fonction de la dose de desloréline.

Selon l'étude de FONTAINE et FONTBONNE (2010), la durée d'action chez la chienne est similaire à celle observée chez le mâle et elle est était comprise entre six et dix mois après implantation.

3.3.4 Réversibilité

Le retour à la fertilité après implantation de desloréline a été vérifié. Récemment, FONTAINE et FONTBONNE (2010) rapportent des gestations chez les chiennes au premier œstrus suivant le traitement à base d'implant Suprelorin®.

3.3.5 Profil de sécurité

Aucune réaction n'a été observée au site d'implantation (TRIGG *et al.,* 2001). FONTAINE et FONTBONNE (2010) n'ont noté aucune migration lors d'implantation en région ombilicale.

3.3.5.1 Œstrus induit

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.3.2, il se produit une augmentation de la progestéronémie consécutive à l'ovulation induite par la pose de l'implant. Les chiennes implantées présentent donc le même risque que des chiennes ayant des œstrus naturels de développer certaines affections hormono-dépendantes comme le pyomètre. Il est donc important de vérifier l'absence d'anomalie de l'utérus avant l'implantation.

3.3.5.2 Kystes ovariens

Dans l'étude de FONTAINE et FONTBONNE (2010), cinq chiennes implantées en anœstrus présentèrent des chaleurs persistantes pendant plus de 30 jours. Dans deux cas seulement cela était lié à la présence de kystes ovariens et les chiennes furent stérilisées chirurgicalement. Dans les trois autres cas, aucune anomalie ovarienne ne fut détectée et les signes d'œstrus cessèrent une semaine après le retrait de l'implant. Ainsi, il faut souligner l'importance de contrôler les chiennes 30 jours après l'implantation pour vérifier par échographie l'absence de kystes ovariens.

Deuxième partie : Étude expérimentale

1 Objectifs

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.3, l'administration quotidienne d'agonistes de la GnRH a un double effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire : d'abord stimulateur puis inhibiteur. Ainsi, la pose d'un implant sous-cutané de d'acétate de desloréline 4,7 mg (Suprelorin ®) chez la chienne adulte induit des chaleurs 4,2 ± 1,4 jours suivant l'implantation (FONTAINE et FONTBONNE, 2010). C'est ce que l'on appelle l'effet « flare-up ».

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.4.2, plusieurs études ont montré que cet œstrus induit est généralement suivi d'une ovulation. Récemment, dans l'étude de FONTAINE et FONTBONNE en 2010, 76% des 29 chiennes traitées avec un implant de desloréline ont ovulé entre 10 et 14 jours après l'implantation.

Ainsi, la pose d'un implant de desloréline comme le Suprelorin ® entraine un œstrus qui de plus est souvent fertile. Dans le cadre de l'utilisation du Suprelorin ® pour une stérilisation chimique de la chienne, cet effet constitue donc un inconvénient majeur.

Plusieurs méthodes ont déjà été utilisées afin de prévenir cet œstrus induit, comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.3.5. Par exemple, l'implantation sur les chiennes en métœstrus dont la progestéronémie est supérieure à 5 ng/ml n'est pas suivie d'un œstrus induit (TRIGG *et al.*, 2001). ROMAGNOLI *et al.* (2009) recommandent d'administrer des agonistes de la GnRH en diœstrus. Cependant, cela semble ne pas être complètement efficace, étant donné que l'induction de l'œstrus est rapportée chez des chiennes dont la progestéronémie est supérieure à 60 ng/ml (FONTAINE et FONTBONNE, 2010).

Les progestagènes sont connus depuis longtemps pour leurs effets inhibiteurs sur le fonctionnement ovarien via le feedback négatif qu'ils exercent sur la synthèse de GnRH (ROMAGNOLI, 2002) comme présenté dans la partie 2.2 de la partie bibliographique.

Ainsi, l'acétate de mégestrol (MGA) a été utilisé chez des chiennes implantées en anœstrus selon différents protocoles dans plusieurs études : celle de WRIGHT *et al.* (2001) ou encore celle de CORRADA *et al.* (2006), montrant une efficacité relative dépendant grandement de la dose, de la durée de traitement et du moment d'administration par rapport à l'implantation.

L'étude de SUNG *et al.* (2006) remet en question l'efficacité des progestagènes à prévenir l'œstrus induit par l'administration d'un implant 4,7 mg de desloréline car dans son étude, seules 20% des chiennes traitées au MGA et implantées en anœstrus ne présentent pas de chaleurs.

Un antagoniste de la GnRH, l'acycline, a également été utilisé en association avec la desloréline dans une étude de VALIENTE *et al.* (2009). Ce protocole a une efficacité limitée car seules 25% des chiennes recevant l'acycline ne présentent pas de signes d'œstrus.

Ainsi, au jour où nous écrivons ces lignes, aucun protocole n'est complètement satisfaisant à ce jour dans la prévention de l'œstrus induit.

Cette étude a pour but de déterminer si l'œstrus induit (chaleurs et ovulation) par la pose d'un implant de desloréline 4,7 mg (Suprelorin®), un agoniste de la GnRH, peut être prévenu chez la chienne, en toute sécurité, par l'administration d'acétate d'osatérone, un progestagène, lorsqu'il est administré autour du moment de l'implantation de la desloréline. Nous allons également étudier la durée de suppression de l'activité sexuelle (seuls des résultats préliminaires sont disponibles pour ce deuxième objectif, l'étude étant encore en cours).

2 Matériel et méthodes

2.1 Animaux

Cinq chiennes d'expérimentation, adultes cyclées de race Beagle, de trois à six ans, pesant 11 kg, en bonne santé, ont été incluses dans l'étude. Elles vivaient toutes en chenil expérimental à l'École nationale vétérinaire d'Alfort. L'alimentation de ces cinq chiennes était des croquettes de marque Royal Canin®. L'eau était distribuée à volonté. Elles ont constitué le groupe 1 qui ne comportait donc qu'une seule race. Les caractéristiques de ces chiennes sont présentées sur l'annexe 1.

Onze chiennes de races diverses, dont les propriétaires sont des clients du CERCA (Centre d'Étude en Reproduction des Carnivores Domestiques de l'École nationale vétérinaire d'Alfort), âgées de six mois à neuf ans, pesant de 5 à 30 kg, en bonne santé, ont constitué le groupe 2 qui était donc un groupe multiraces. Parmi ces chiennes, huit étaient adultes et cyclées et trois étaient prépubères. Ces dernières avaient cependant plus de six mois et, d'après l'étude de TRIGG *et al.* (2001) et certaines études non publiées du CERCA, auraient du rentrer en chaleurs lors d'implantation en anœstrus. Les caractéristiques de ces chiennes sont présentées sur l'annexe 2.

L'âge moyen des chiennes des groupes 1 et 2 était de 2,4 ± 2,2 ans (minimum six mois, maximum neuf ans).

Une chienne (6,3%) était de petite taille (poids inférieur à 5 kg). Douze chiennes (75%) étaient de taille moyenne (poids compris entre 5 et 15 kg) et trois chiennes (18,7%) étaient de grande taille (poids supérieur à 15 kg).

Vingt-huit chiennes adultes cyclées et une chienne prépubère, de races diverses, dont les propriétaires étaient des clients du CERCA, âgées de huit mois à neuf ans, pesant 2 à 35 kg, en bonne santé, ont constitué le groupe témoin. Les caractéristiques de ces chiennes sont présentées sur l'annexe 3.

L'âge moyen des chiennes du groupe témoin était de 3,3 ± 2,1 ans (minimum huit mois, maximum neuf ans).

Cinq chiennes (17,2%) était de petite taille (poids inférieur à 5 kg). Onze chiennes (37,9%) étaient de taille moyenne (poids compris entre 5 et 15 kg) et treize chiennes (44,8%) étaient de grande taille (poids supérieur à 15 kg).

Toutes les chiennes incluses dans l'étude étaient en anœstrus au début de l'étude.

Les critères déterminant l'anœstrus étaient :

- la cytologie vaginale (cytologie typique d'anœstrus présentée sur la figure 3 de la partie 1.2.2.5 de la partie bibliographique)
- la valeur de la progestéronémie inférieure à 3nmol/L (OKKENS et KOOISTRA, 2006) comme présenté dans la partie 1.3.4.2 de la partie bibliographique (c'est-à-dire inférieure à 1 ng/ml ; nous utiliserons comme unité les ng/ml). Le détail de la progestéronémie par chienne est présenté sur les annexes 1 (chiennes Beagle), 2 (chiennes de clients) et 3 (chiennes témoins).

Toutes les chiennes avaient un tractus génital sain, ce qui a été vérifié lors d'une échographie du tractus génital en début d'étude.

Toutes les chiennes ont présenté dans le passé des chaleurs régulières. Elles n'ont jamais eu d'affections de l'appareil reproducteur. Enfin, elles n'ont jamais reçu de traitement hormonal.

2.2 Traitements

Les cinq chiennes d'expérimentation du groupe 1 et les 11 chiennes de clients du groupe 2 ont été traitées par un implant d'acétate de desloréline (DA) 4,7mg et de l'acétate d'osatérone (OSA) *per os*, une fois par jour pendant deux jours (la veille et le jour de la pose de l'implant).

Les 29 chiennes de clients du groupe témoin ont été uniquement traitées par l'implant d'acétate de desloréline 4,7mg.

2.2.1 Acétate de desloréline (DA)

Toutes les chiennes ont été traitées par un implant sous-cutané d'acétate de desloréline 4,7mg (Suprelorin®), dont les caractéristiques sont présentées dans la partie 3.3.1 de la partie bibliographique. Il a été posé grâce au dispositif pour implant pré-chargé dont le dispositif est présenté sur les figures 24 et 25.

Les chiennes du groupe 1 et 2 ont été implantées le deuxième et dernier jour de la prise d'acétate d'osatérone.

Toutes les chiennes ont été implantées en région ombilicale après désinfection locale à la povidone iodée (Bétadine®) diluée.

La photographie 5 montre l'implantation du Suprelorin® en région ombilicale.

Photographie 5 : Pose d'un implant d'acétate de desloréline (Suprelorin®) en région ombilicale

2.2.2 Acétate d'osatérone (OSA)

(European Medecines Agency, 2007)
[http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/veterinary/000112/WC500069535.pdf]

Le nom déposé du médicament utilisé est Ypozane® (Virbac, Carros, France). Les caractéristiques de ce produit sont présentées dans la partie 2.2 de la partie bibliographique.

Le comprimé d'OSA, rond, blanc biconcave, a été administré *per os*.

Les chiennes traitées (groupes 1 et 2) ont reçu chacune une dose de 0,5 mg/kg environ. Étant donné le conditionnement de l'Ypozane® que nous avons utilisé (comprimés de 3,75 mg ou de 7,5 mg), cette dose était comprise entre 0,47 mg/kg et 0,68 mg/kg selon la chienne, une fois par jour pendant deux jours, la veille et le jour-même de la pose du Suprelorin®.

Le tableau 14 résume les différents protocoles utilisés pour chaque groupe.

Tableau 14 : Protocole utilisé pour chaque groupe

Groupe	Jour 1	Jour 2
Groupe 1 (n=5)	0,68mg/kg d'OSA *per os*	0,68mg/kg d'OSA *per os* + implant SC de DA 4,7 mg
Groupe 2 (n=11)	0,47 à 0,66 mg/kg d'OSA *per os*	0,47 à 0,66 mg/kg d'OSA *per os* + implant SC de DA 4,7 mg
Groupe témoin (n=29)	Aucun traitement	Implant SC de DA 4,7 mg

OSA : acétate d'osatérone (Ypozane®)

DA : acétate de desloréline (Suprelorin®)

SC : sous-cutané

2.3 Suivi

2.3.1 Groupe 1 (n=5)

Rappelons que ce groupe n'était constitué que de chiennes d'expérimentation de race Beagle.

Le premier jour correspondait à la prise du premier comprimé d'OSA, après s'être assuré du stade du cycle sexuel (anœstrus), comme présenté dans la partie 2.1 de la partie expérimentale (frottis vaginal et progestéronémie). Une échographie du tractus génital a permis de vérifier la normalité du tractus génital.

Le deuxième jour correspondait à la prise du deuxième et dernier comprimé d'OSA et à la pose de l'implant de DA.

Pendant les 15 premiers jours de l'étude, une observation de la vulve, une échographie du tractus génital ainsi qu'un frottis vaginal ont été réalisés chaque jour sur les cinq chiennes, afin de déterminer une éventuelle entrée en chaleurs ou une éventuelle ovulation suite à la pose de l'implant de DA accompagné d'un traitement *per os* avec de l'OSA.

Une mesure de la progestéronémie a été réalisée aux quinzième et trentième jours de l'étude.

Les détails de la réalisation des frottis vaginaux, des mesures de progestérone plasmatique et de l'échographie du tractus génital sont présentés dans la partie 2.3.4.

Trois critères ont été choisis afin de déterminer la présence d'un œstrus :

- le critère physique : gonflement vulvaire, pertes vulvaires séro-hémorragiques comme présenté dans la partie 1.2.2.1 de l'étude bibliographique
- le critère cytologique : cytologie vaginale
- le critère hormonal : valeur de la progestéronémie

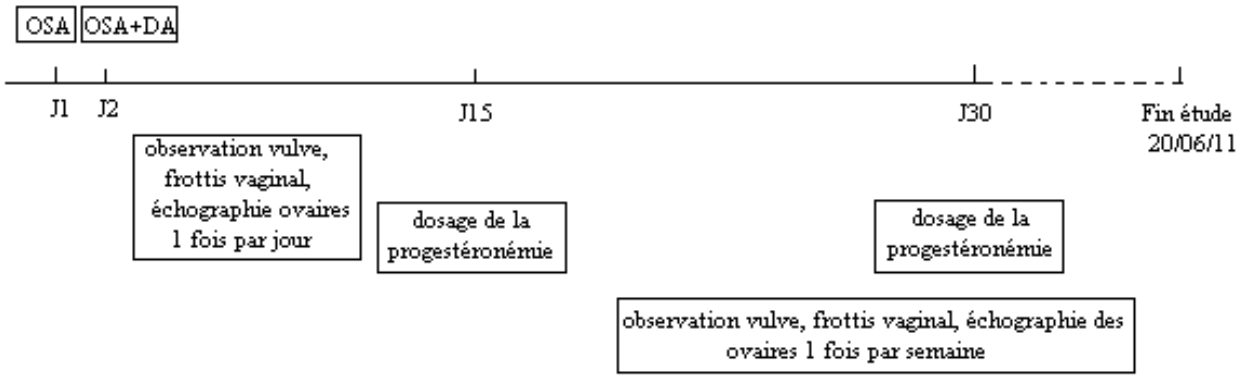
Les signes d'entrée en chaleurs ont été déterminés par le critère physique, qu'il faut distinguer de l'ovulation, dont la détection a été basée sur la combinaison de la cytologie vaginale et de la progestéronémie, méthode présentée dans la partie 1.3.3.3.2 de la partie bibliographique.

Après cette période de 15 jours, une observation de la vulve, une échographie du tractus génital ainsi qu'un frottis vaginal ont été réalisés une fois par semaine jusqu'au retour en chaleurs sur les cinq chiennes. Un dosage de la progestérone plasmatique a été réalisé au trentième jour de l'étude.

L'étude de la durée de la suppression de l'activité sexuelle n'étant pas encore terminée au moment où nous écrivons ces lignes, le CERCA suit encore la date de retour en chaleurs chez ces chiennes.

Le protocole et le suivi appliqués au groupe 1 sont présentés sur la figure 26.

Figure 26 : Protocole appliqué au groupe 1



2.3.2 Groupe 2 (n=11)

Rappelons que ce groupe était constitué de chiennes de races diverses, adultes cyclées (n=8) ou prépubères (n=3).

Le premier jour correspondait à la prise du premier comprimé d'OSA, après s'être assuré du stade du cycle sexuel (anœstrus), comme présenté dans la partie 2.1 de la partie expérimentale (frottis vaginal et progestéronémie). Une échographie du tractus génital a permis de vérifier la normalité du tractus génital.

Le deuxième jour correspondait à la prise du deuxième et dernier comprimé d'OSA et à la pose de l'implant de DA.

Les détails de la réalisation des frottis vaginaux, des mesures de progestérone plasmatique et de l'échographie du tractus génital sont présentés dans la partie 2.3.4.

Les chiennes de ce groupe étaient des chiennes de clients. Leur suivi a donc été différent de celui du groupe 1.

Il a été demandé aux propriétaires d'observer des signes d'entrée en chaleurs de leurs chiennes, notamment les signes cliniques du pro-œstrus présentés dans la partie 1.2.2.1 de l'étude bibliographique : pertes vulvaires séro-sanguinolentes, gonflement de la vulve ou encore l'attrait des mâles, jusqu'à ce qu'elles retournent en chaleurs.

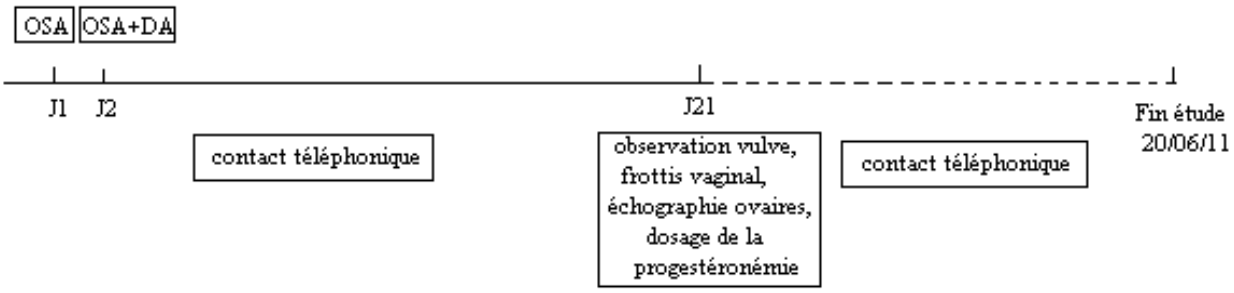
Un contrôle au CERCA a été effectué trois semaines après la pose de l'implant. Les propriétaires devaient alors rapporter leurs observations. Un frottis vaginal, un dosage de la progestérone plasmatique ainsi qu'une échographie du tractus génital ont été réalisés lors de ce contrôle, afin de déterminer si une ovulation a eu lieu (frottis vaginal et progestéronémie) et d'éventuels effets secondaires (échographie) suite à la pose de l'implant de DA accompagné d'un traitement *per os* avec de l'OSA.

Un contact téléphonique permanent a été mis en place avec les propriétaires afin de nous signaler toute observation anormale.

L'étude de la durée de la suppression de l'activité sexuelle n'étant pas encore terminée à l'heure actuelle, le CERCA est encore en lien avec ces propriétaires qui le contacteront en cas d'observation anormale.

Le protocole et le suivi appliqués au groupe 2 sont présentés sur la figure 27.

Figure 27 : Protocole appliqué au groupe 2



2.3.3 Groupe témoin (n=29)

Rappelons que ce groupe était constitué de chiennes de races diverses, adultes cyclées (n=28) ou prépubères (n=1).

Le premier jour correspondait à la détermination du stade du cycle sexuel (seules les chiennes en anœstrus ont été incluses dans l'étude), comme présenté dans la partie 2.1 de la partie expérimentale (frottis vaginal et progestéronémie). Il correspondait également au jour de la pose de l'implant de DA. Une échographie du tractus génital a permis de vérifier la normalité du tractus génital.

Les détails de la réalisation des frottis vaginaux, des mesures de progestérone plasmatique et de l'échographie du tractus génital sont présentés dans la partie 2.3.4.

Les chiennes de ce groupe étaient des chiennes de clients. Il a donc été demandé aux propriétaires d'observer des signes d'entrée en chaleurs de leurs chiennes, comme cela a été expliqué pour le groupe 2.

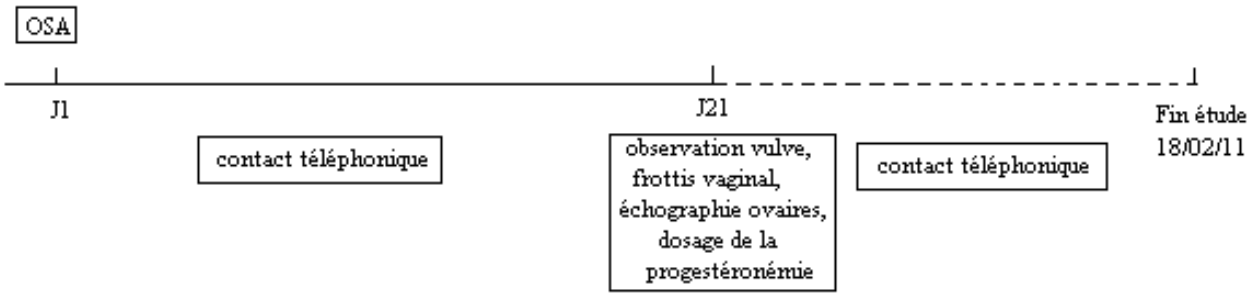
Un contrôle au CERCA a été effectué trois semaines après la pose de l'implant. Les propriétaires devaient alors rapporter leurs observations. Un frottis vaginal, un dosage de la progestéronémie ainsi qu'une échographie du tractus génital ont été réalisés lors de ce contrôle, afin de déterminer si une ovulation a eu lieu (frottis vaginal et progestéronémie) et d'éventuels effets secondaires (échographie) suite à la pose de l'implant de DA.

Comme pour le groupe 2, un contact téléphonique permanent a été mis en place avec les propriétaires afin de nous signaler toute observation anormale.

Comme pour le groupe 2, l'étude de la durée de la suppression de l'activité sexuelle n'étant pas encore terminée à l'heure actuelle, le CERCA est encore en lien avec ces propriétaires qui le contacteront en cas de changement anormal.

Le protocole et le suivi appliqués au groupe témoin sont présentés sur la figure 28.

Figure 28 : Protocole appliqué au groupe témoin



2.3.4 Examens réalisés

2.3.4.1 Frottis vaginal

Les frottis vaginaux ont été réalisés comme présenté dans la partie 1.2.2.5. Ils ont été colorés par une coloration unicolore, May Gründwald Giemsa, Diff quick : RAL 555®.

Combinés au dosage de la progestérone plasmatique, ils permettent de déterminer le stade du cycle sexuel, comme nous l'avons vu dans la partie 1.2.2.5 de la partie bibliographique.

2.3.4.2 Dosage de la progestérone plasmatique

Le dosage de la progestérone plasmatique a été effectué de la manière suivante. Une prise de sang réalisée dans la veine jugulaire a permis de récolter trois millilitres de sang total dans un tube hépariné (vert). Il a ensuite été centrifugé pendant cinq minutes à 4000 tours/minute dans une centrifugeuse ThermoFisher® Jouan B4i. Le plasma ainsi récupéré a été placé dans la machine Roche diagnostics® Elecsys 2010 pour doser la progestérone par électro chimiluminescence.

Combiné à la réalisation des frottis vaginaux, ce dosage permet de déterminer le stade du cycle sexuel et de savoir si une ovulation a eu lieu, comme nous l'avons vu dans la partie 1.3.3.3.2 de la partie bibliographique. Lors de progestéronémie basale, c'est-à-dire inférieure à 1 ng/ml, nous avons estimé que l'ovulation n'avait pas eu lieu (que la chienne était toujours en anœstrus).

2.3.4.3 Échographie du tractus génital

Lors de l'échographie des ovaires, l'animal était positionné sur le dos ; elle a donc été réalisée par voie transabdominale, comme cela a été présenté sur les photographies 1 et 2. L'échographe utilisé était de marque Kontron Medical® Mindray. La sonde utilisée était une sonde linéaire de fréquence 7,5 MHz. Elle a été placée en avant de l'apophyse transverse des troisièmes ou quatrièmes lombaires. Après avoir localisé le rein, nous avons déplacé la sonde caudalement au rein, en position dorso-latérale.

L'échographie a eu pour but de déterminer des éventuels effets secondaires sur l'appareil génital. En effet, d'après FONTAINE et FONTBONNE (2010), de rares effets secondaires peuvent apparaître suite à la pose d'un implant de Suprelorin® : chaleurs ou lactation persistantes, kystes ovariens. Il faut également vérifier l'absence de pyomètre.

L'échographie du tractus génital, lorsqu'elle est réalisée quotidiennement comme cela a été le cas dans le groupe 1, permet aussi un suivi de l'ovulation.

2.4 Durée de l'étude

L'étude a duré 365 jours pour le groupe 1 ; 395 jours pour le groupe 2 et 631 jours pour le groupe témoin.

2.5 Traitement statistique des résultats

Nous avons utilisé le test du $\chi 2$ pour comparer les pourcentages observés dans les deux groupes : celui des chiennes implantées (DA) et traitées avec de l'acétate d'osatérone (groupes 1 et 2) et celui des chiennes seulement implantées (DA) (groupe témoin).

Ce test est fondé sur l'hypothèse nulle, à savoir l'absence de différences entre les pourcentages observés. Un indice est calculé, qui quantifie l'écart entre les données observées et les données théoriques. Cet indice est ensuite comparé aux fluctuations d'échantillonnage de l'indice lorsque l'hypothèse nulle est vérifiée. Une table permet de connaître les valeurs de cet indice dues simplement aux fluctuations d'échantillonnage, c'est-à-dire la probabilité α pour que l'indice $\chi 2$ égale ou dépasse une valeur donnée, lorsque l'hypothèse nulle est vérifiée.

Nous avons pris, comme cela est souvent fait, la limite de cinq pour cent et nous avons comparé la valeur du $\chi 2$ pour cinq pour cent et la valeur de l'indice calculé avec les résultats observés. Si l'indice calculé est supérieur à la valeur du $\chi 2$ pour cinq pour cent, ceci signifie que l'écart observé est supérieur à celui dû aux simples fluctuations d'échantillonnage, et on peut rejeter l'hypothèse nulle (avec un risque d'erreur de cinq pour cent), c'est-à-dire conclure que la différence est « significative ». Au contraire, si l'indice calculé est inférieur à la valeur du $\chi 2$ pour cinq pour cent, on conclut qu'il n'y a pas de différence significative.

Les conditions d'application du test du $\chi 2$ sont :

- les effectifs calculés de toutes les cases sont d'au moins 5
- les « individus » dénombrés sont indépendants sur le plan statistique

Les « individus » sont indépendants dans notre étude.

3 Résultats

Des signes de pro-œstrus/œstrus furent observés chez 18,8% (3/16) des chiennes des groupes 1 et 2 et chez 96,5% (28/29) des chiennes du groupe témoin.

Trois (18,8%) des chiennes des groupes 1 et 2 ont ovulé (mesure de la progestéronémie).

Quatorze (48,3%) des chiennes du groupe témoin ont ovulé.

Les résultats sont présentés dans le tableau 15.

Les résultats par chienne sont présentés sur les annexes 4 et 5.

Tableau 15 : Résultats dans chaque groupe : nombre d'entrée en chaleurs et nombre d'ovulations

Groupe	Nombre de chiennes traitées	Nombre d'entrée en chaleurs	Nombre d'ovulations
Groupe 1	5	1	0
Groupe 2	11	1	3
Groupe témoin	29	28	14

3.1 Groupes 1 et 2

3.1.1 Prévention de l'œstrus induit

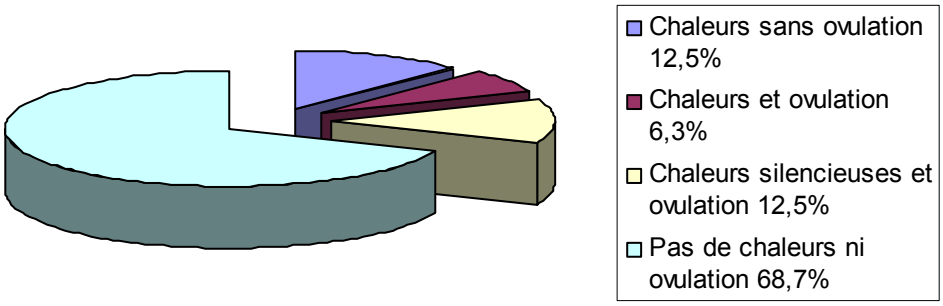
Le tableau 16 présente les résultats chiffrés des groupes 1 et 2 et la figure 29 présente ces mêmes résultats sous forme de graphique.

Tableau 16 : Détail du nombre d'entrées en chaleurs et/ou ovulations dans les groupes 1 et 2

	Nombre de chiennes	Pourcentage
Ni chaleurs ni ovulation	11	68,7%
Chaleurs sans ovulation	2	12,5%
Chaleurs silencieuses et ovulation	2	12,5%
Chaleurs et ovulation	1	6,3%

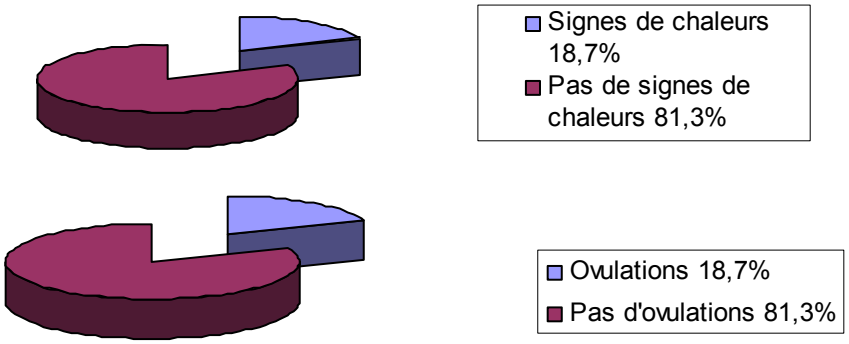
Les chaleurs sont exprimées cliniquement, à différencier des chaleurs silencieuses durant lesquelles la chienne exprime peu de signes cliniques (peu de saignements vulvaires…).

Figure 29 : Résultats détaillés des groupes 1 et 2



Trois chiennes sur seize (18,7%) ont eu des signes cliniques de chaleurs. Trois chiennes sur seize (18,7%) ont ovulé. Ces résultats sont présentés sur la figure 30.

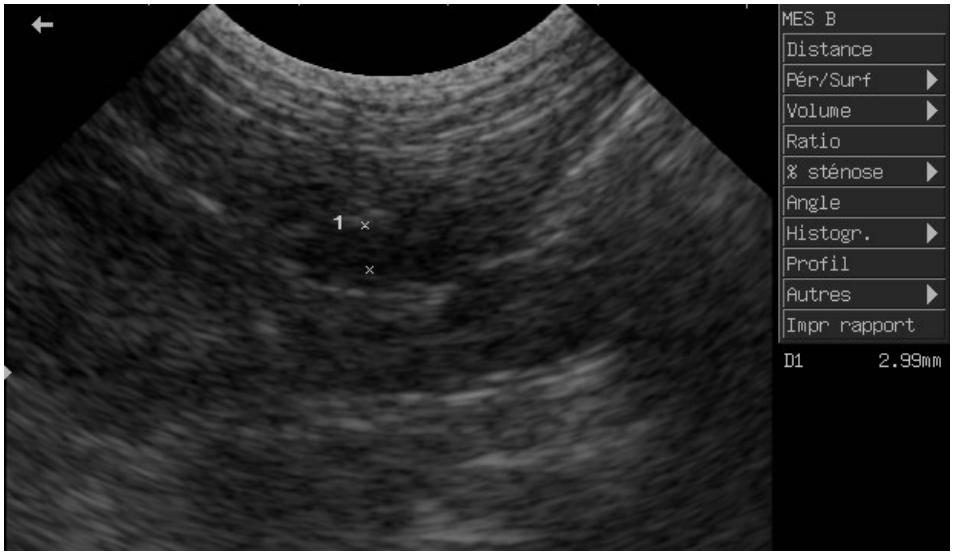
Figure 30 : Résultats (signes de chaleurs/ovulations) des groupes 1 et 2



Deux chiennes (12,5%) ont présenté des chaleurs sans ovulation.

L'une était une chienne Beagle d'expérimentation qui a présenté des signes de chaleurs cinq jours après l'implantation : gonflement de la vulve et frottis vaginal rosé mais pas de pertes vulvaires séro-hémorragiques visibles. Elle a été suivie tous les jours pendant les 15 premiers jours (frottis vaginal, échographie). Le frottis était un frottis d'œstrus montrant plus de 60 à 80% de cellules kératinisées. Comme le montre la photographie 6, l'échographie ovarienne répétée n'a pas montré d'ovulation mais nous avons vu des structures sphériques au contenu anéchogène mesurant deux à quatre millimètres de diamètre (follicules). La progestéronémie étant restée basale, il n'y a pas eu d'ovulation. Elle n'est pas encore revenue en chaleurs.

Photographie 6 : Follicule de 2,99 mm lors de l'échographie ovarienne de la chienne Beagle ayant présenté des signes de chaleurs sans ovulation



L'autre était une chienne croisée qui a présenté des signes de chaleurs cinq jours après l'implantation. Lors du contrôle à trois semaines, les cellules vaginales du frottis étaient à plus de 80% des cellules parabasales. Ses ovaires étaient isoéchogènes. La progestéronémie étant restée basale, il n'y a pas eu d'ovulation. Elle n'est pas encore revenue en chaleurs.

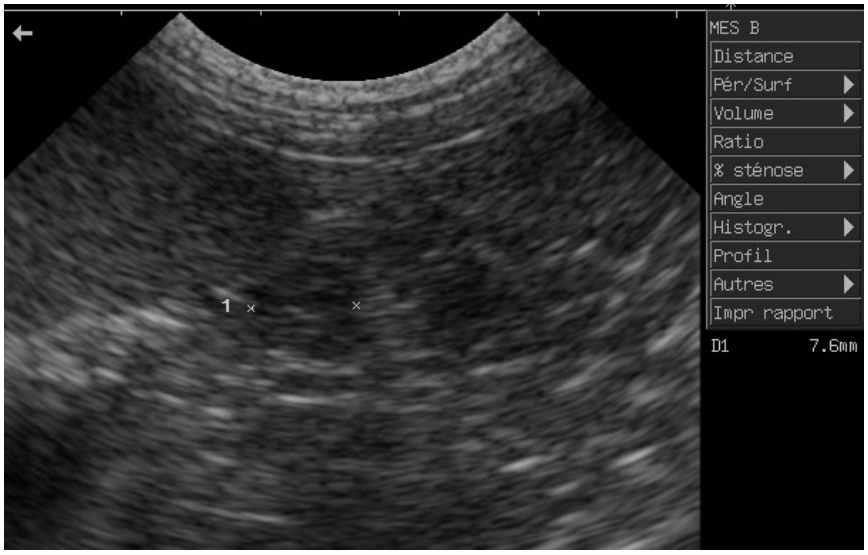
Une chienne (6,3%) a présenté des chaleurs avec ovulation.

Les signes de chaleurs de cette chienne de race Bouledogue français apparurent dans la semaine suivant l'implantation. Ils furent très discrets (gonflement vulvaire sans pertes vulvaires séro-hémorragiques visibles) et ne durèrent que deux à trois jours. Lors de l'échographie ovarienne, des structures sphériques anéchogènes (trois à cinq par ovaire) mesurant sept à dix millimètres de diamètre furent visualisées (probablement des corps jaunes). La chienne était ainsi en diœstrus au moment du contrôle à trois semaines, avec une progestéronémie de 9,9 ng/ml.

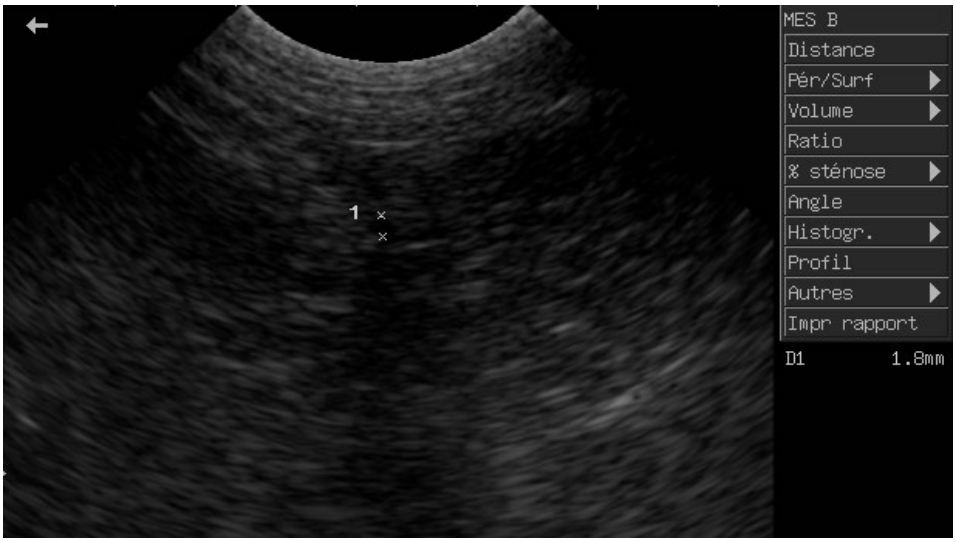
Deux chiennes (12,5%) n'ont pas présenté de chaleurs (chaleurs silencieuses) mais ont ovulé.

L'une est une chienne Beagle d'expérimentation. Elle a été suivie tous les jours pendant les 15 premiers jours (frottis vaginal, échographie). Les cellules vaginales du frottis étaient à plus de 80% des cellules kératinisées. Comme présenté sur les photographies 7 et 8, l'échographie a montré des structures sphériques au contenu anéchogène augmentant de taille (follicules en croissance) puis une disparition partielle de ces cavités avec persistance de structures intra-ovariennes anéchogènes (corps jaunes). Elle est revenue en chaleurs 283 jours après l'implantation.

Photographie 7 : Follicule pré-ovulatoire de 7,6 mm lors de l'échographie ovarienne de la chienne Beagle d'expérimentation ayant ovulé (ovaire gauche)



Photographie 8 : Structure anéchogène post-ovulatoire de 1,8 mm lors de l'échographie ovarienne de la chienne Beagle d'expérimentation ayant ovulé (ovaire gauche)



L'autre était une chienne de race Bouledogue français qui n'a pas présenté de signes clairs de chaleurs mais des pertes blanchâtres entre le deuxième et le quatrième jour suivant l'implantation. Lors du contrôle à trois semaines, les cellules vaginales du frottis étaient à plus de 80% des cellules parabasales, chaque ovaire contenait deux corps jaunes et la progestéronémie était très élevée (44,52ng/ml). Elle a donc ovulé. Elle n'est pas encore revenue en chaleurs.

Toutes les chiennes ayant eu des signes de chaleurs ou ayant ovulé sont des chiennes adultes cyclées.

Le délai entre l'implantation et l'entrée en chaleurs a été inférieur à sept jours pour les chiennes des groupes 1 et 2 (délai de cinq jours précisément pour une chienne Beagle d'expérimentation et pour une chienne croisée et délai non connu précisément mais inférieur à une semaine pour une chienne de race Bouledogue français).

Ainsi, 11 chiennes sur 16 (68,7%) n'ont présenté ni signes de chaleurs ni ovulation. Le protocole prévient l'œstrus induit (chaleurs et ovulations) par la pose d'un implant de Suprelorin® chez 68,7% des chiennes. Il prévient les signes de chaleurs chez 81,3% des chiennes et l'ovulation chez 81,3% des chiennes également.

3.1.2 Durée d'efficacité

À la fin de l'étude, le 20/06/2011 c'est-à-dire 395 jours après le début de l'étude, seules trois chiennes sur seize étaient revenues en chaleurs. Chez ces chiennes, la durée de la stérilisation a été de 145, 283 et 332 soit une moyenne de 253,3 ± 96,9 jours.

La durée de stérilisation des chiennes des groupes 1 et 2 sur la période de l'étude est comprise entre 145 jours (chienne revenue en chaleurs) et 395 jours (chienne pas encore revenue en chaleurs), soit une moyenne de 290,9 ± 76,5 jours.

Une très grande variabilité est observée.

3.2 Groupe témoin

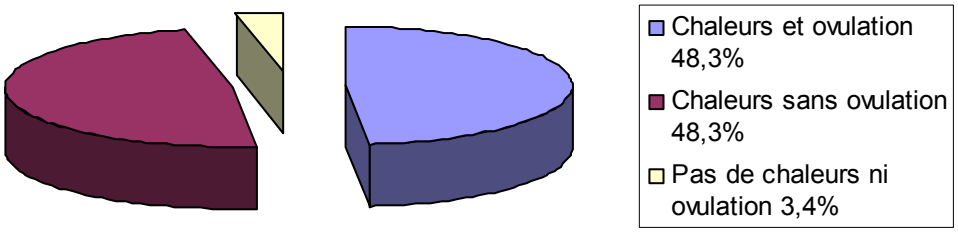
3.2.1 Œstrus induit

Le tableau 17 présente les résultats chiffrés du groupe témoin et la figure 31 présente ces mêmes résultats sous forme de graphique.

Tableau 17 : Détail du nombre d'entrées en chaleurs et/ou ovulations dans le groupe témoin

	Nombre de chiennes	Pourcentage
Chaleurs et ovulation	14	48,3%
Chaleurs sans ovulation	14	48,3%
Pas de chaleurs ni ovulation	1	3,4%

Figure 31 : Résultats détaillés du groupe témoin

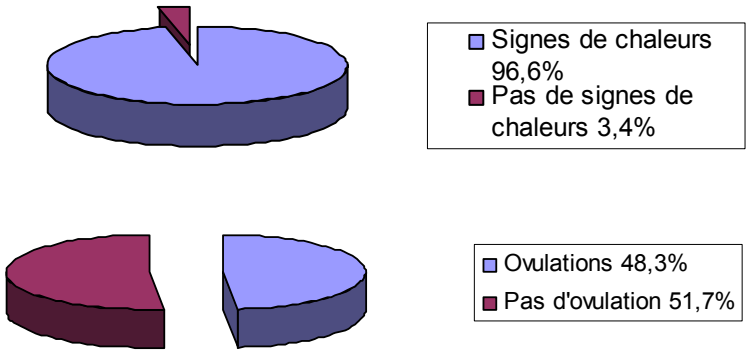


Des signes de chaleurs ont été observés chez 28/29 chiennes (96,6%). Ces signes étaient un gonflement vulvaire accompagné parfois de pertes vulvaires séro-sanguinolentes. Ils ont été observés par les propriétaires des chiennes.

L'ovulation a eu lieu chez 14/29 chiennes (48,3%). Les résultats par chienne sont présentés sur l'annexe 5.

Ces résultats sont présentés sur la figure 32.

Figure 32 : Résultats (signes de chaleurs/ovulations) du groupe témoin



3.2.2 Durée d'efficacité

La durée d'efficacité sur la période de l'étude est comprise entre 63 jours (chienne revenue en chaleurs) et 631 jours (chienne pas encore revenue en chaleurs), soit une moyenne de 366,1 ± 124,7 jours. Cette durée n'a pu être évaluée que sur 23 chiennes car nous avons retiré l'implant sur six chiennes suite à l'apparition d'effets secondaires présentés dans la partie 3.3 suivante. Une très grande variabilité est observée.

3.3 Comparaison groupes 1 et 2/groupe témoin

Comme nous l'avons présenté dans la partie 2.5, nous avons utilisé le test du $\chi 2$ pour comparer les résultats des groupes 1 et 2 avec ceux du groupe témoin.

3.3.1 Entrées en chaleurs

Le tableau 18 présente les effectifs d'entrée en chaleurs dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin.

Tableau 18 : Effectifs observés sur le nombre d'entrée en chaleurs dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin

Protocole/résultats	Nombre entrées en chaleurs visibles	Nombre non entrées en chaleurs	TOTAL
Desloréline + osatérone	3	13	16
Desloréline seule	28	1	29
TOTAL	31	14	45

Pour calculer les effectifs théoriques, on va utiliser l'hypothèse nulle selon laquelle les pourcentages d'entrées en chaleurs sont identiques chez les chiennes implantées et traitées à l'OSA et chez les chiennes seulement implantées. Dans ce cas, on obtient 31 entrées en chaleurs sur un total de 45 chiennes, soit 69% (31/45). Le tableau 19 présente ces effectifs théoriques.

Tableau 19 : Effectifs théoriques sur le nombre d'entrée en chaleurs dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin

Protocole/résultats	Nombre entrées en chaleurs visibles	Nombre non entrées en chaleurs	TOTAL
Desloréline + osatérone	11	5	16
Desloréline seule	20	9	29
TOTAL	31	14	45

Les effectifs calculés sont tous supérieurs à cinq.

Calcul du $\chi 2$:

$\chi 2$ calculé = $(3-11)^2/11 + (13-5)^2/5 + (28-20)^2/20 + (1-9)^2/9 = 28,9$.

Le nombre de degré de liberté pour un tableau de ce genre est (nombre de colonnes – 1) (nombres de lignes – 1), soit ici (2-1)(2-1)=1

Dans la table de $\chi 2$, le seuil de signification à cinq pour cent pour un degré de liberté est $\chi 2=3,84$.

La valeur trouvée : 28,9, dépasse cette limite et permet donc de considérer que l'écart observé entre le groupe implanté et traité à l'osatérone et le groupe témoin est significatif et non pas dû simplement aux fluctuations d'échantillonnage.

Ainsi, il y a significativement moins d'entrée en chaleurs dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone à la dose de 0,5mg/kg/jour la veille et le jour-même de la pose d'un implant de desloréline que dans le groupe uniquement implanté, avec un risque d'erreur de 5%.

3.3.2 Ovulations

Le tableau 20 présente les effectifs du nombre d'ovulations dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin.

Tableau 20 : Effectifs observés sur le nombre d'ovulations dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin

Protocole/résultats	Nombre ayant ovulé	Nombre n'ayant pas ovulé	TOTAL
Desloréline + osatérone	3	13	16
Desloréline seule	14	15	29
TOTAL	17	28	45

Pour calculer les effectifs théoriques, on va utiliser l'hypothèse nulle selon laquelle les pourcentages de chiennes ayant ovulé sont identiques chez les chiennes implantées et traitées à l'osatérone et chez les chiennes seulement implantées. Dans ce cas, on obtient 17 entrées en chaleurs sur un total de 45 chiennes, soit 37% (17/45). Le tableau 21 présente ces effectifs théoriques.

Tableau 21 : Effectifs théoriques sur le nombre d'ovulations dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone et dans le groupe témoin

Protocole/résultats	Nombre ayant ovulé	Nombre n'ayant pas ovulé	TOTAL
Desloréline + osatérone	6	10	16
Desloréline seule	10	19	29
TOTAL	17	28	45

Les effectifs calculés sont tous supérieurs à cinq.

Calcul du $\chi 2$:

$\chi 2$ calculé = $(3-6)^2/6 + (13-10)^2/10 + (14-10)^2/10 + (15-19)^2/19 = 4,84$

Le nombre de degré de liberté pour un tableau de ce genre est (nombre de colonnes – 1) (nombres de lignes – 1), soit ici (2-1)(2-1)=1

Dans la table de $\chi 2$, présentée ci-dessous, le seuil de signification à cinq pour cent pour un degré de liberté est $\chi 2=3,84$.

La valeur trouvée : 4,84, dépasse cette limite et permet donc de considérer que l'écart observé entre le groupe implanté et traité à l'osatérone et le groupe témoin est significatif et non pas dû simplement aux fluctuations d'échantillonnage.

Ainsi, il y a significativement moins d'ovulations dans les groupes traités à l'acétate d'osatérone à la dose de 0,5mg/kg/jour la veille et le jour-même de la pose d'un implant de desloréline que dans le groupe uniquement implanté, avec un risque d'erreur de 5%.

3.4 Effets secondaires

Aucune réaction inflammatoire locale n'a été observée.

Dans les groupes 1 et 2, seule une chienne (6,3%) a présenté des pertes vulvaires blanchâtres deux jours après la pose de l'implant. Ces pertes n'ont duré que deux jours et la chienne a ovulé par la suite.

Dans le groupe témoin, huit chiennes sur 29 (27,6%) ont présenté des effets secondaires. Ces effets secondaires étaient : un abattement sans cause trouvée (une chienne), des chaleurs persistantes (deux chiennes), des lactations persistantes (trois chiennes). Ces trois motifs ont motivé un retrait de l'implant chez les six chiennes atteintes. Des kystes ovariens (une chienne) et une cystite (une chienne) ont été également décelés, sans motiver un retrait de l'implant.

4 Discussion

4.1 Conformité aux objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude était de déterminer si l'œstrus induit (signes de chaleurs et ovulation) par la pose d'un implant de desloréline 4,7 mg (Suprelorin®), un agoniste de la GnRH, pouvait être empêché chez la chienne, en évitant des effets secondaires, par l'administration d'un progestagène, l'acétate d'osatérone, autour du moment de la pose de l'implant. Nous voulions également étudier la durée de suppression de l'activité sexuelle.

L'étude a pu être menée à son terme et a ainsi mis en évidence une prévention de l'entrée en chaleurs (signes cliniques de chaleurs) chez 81,3% des chiennes recevant de l'OSA à la posologie de 0,5mg/kg la veille et le jour-même de la pose d'un implant sous-cutané d'acétate de desloréline 4,7mg.

Ce même protocole a été efficace pour prévenir l'ovulation chez 81,3% des chiennes également.

Il a été efficace pour prévenir l'entrée en chaleurs et l'ovulation chez 68,7% des chiennes.

Notre étude a aussi confirmé les études antérieures développées dans la partie 3.2.3.4 de la partie bibliographique : l'implant de desloréline (ou d'autres agonistes de la GnRH) entraine un œstrus lorsqu'il est administré en anœstrus.

La partie de l'étude concernant la durée de suppression de l'activité sexuelle est encore en cours. Nous n'avons ici que des résultats préliminaires.

Concernant la sécurité, nous avons pu établir une liste d'effets secondaires observés suite à la pose d'un implant de desloréline : chaleurs persistantes, kystes ovariens, lactation persistante, abattement.

L'étude est encore en cours afin d'une part pouvoir évaluer la durée de suppression de l'activité sexuelle et d'autre part juger de la fertilité après le retour en chaleurs.

4.2 Validité des résultats

4.2.1 Critères d'inclusion des chiennes dans l'étude

Au début de notre étude, toutes les chiennes étaient en anœstrus. Cela a été déterminé par l'observation de la vulve, la cytologie vaginale, le dosage de la progestéronémie. L'échographie du tractus génital a permis d'inclure uniquement des chiennes ayant un tractus génital sain. L'historique des chiennes a aussi été précisé, à savoir l'absence d'éventuels traitements hormonaux antérieurs, la régularité des chaleurs et l'absence d'affection de l'appareil reproducteur dans l'anamnèse.

L'ensemble de ces critères a rendu fiable l'inclusion des chiennes dans notre étude.

Un biais pourrait être cependant d'avoir inclus des chiennes prépubères (trois dans le groupe testé et un dans le groupe témoin). Comme nous l'avons présenté dans la partie 3.2.3.3.1 de la partie bibliographique, dans l'étude de TRIGG *et al.* (2001), l'utilisation d'implants d'acétate de desloréline chez six chiennes âgées de plus de sept mois a provoqué un œstrus (comportement d'œstrus, écoulement vulvaire séro-sanguinolent) systématiquement dans le mois suivant l'implantation de desloréline. Des questions demeurent concernant l'induction de chaleurs suite à la pose d'un implant de desloréline chez les chiennes prépubères car peu de données sont disponibles. Cependant, des études de terrain, notamment certaines études réalisées au CERCA ont montré un œstrus induit chez les chiennes prébubères de plus de 6 mois, ce qui nous a confortés pour inclure ces chiennes dans l'étude.

Un autre biais pourrait être la taille des chiennes incluses dans l'étude.

En effet, seules trois des seize chiennes (18,7%) des groupes 1 et 2 étaient des chiennes de grande race (poids supérieur à 15 kg). Dans l'étude de SUNG *et al*. (2006), qui a remis en question l'utilisation du MGA pour prévenir l'œstrus induit, des chiennes de race Greyhound (poids supérieur à 25 kg) ont reçu 2 mg/kg/jour d'acétate de mégestrol pendant 13 jours. L'efficacité à prévenir l'œstrus induit n'a été que de 20%. Nous pouvons nous demander si le fait d'avoir utilisé uniquement des chiennes de grande taille n'a pas biaisé les résultats obtenus.

L'âge pourrait également constituer un biais. L'âge moyen des chiennes des groupes 1 et 2 était de 2,4 ± 2,2 ans. Celui des chiennes du groupe témoin était de 3,3 ± 2,1 ans.

Cependant, FONTAINE et FONTBONNE (2010) ont mis en évidence que les facteurs âge et taille n'interviennent pas sur l'incidence des chaleurs chez les chiennes adultes traitées par un implant de desloréline.

4.2.2 Évaluation de l'efficacité

Dans notre étude, l'efficacité de l'OSA à prévenir l'œstrus induit et l'ovulation a été évaluée par différents critères : physiques, cytologiques et hormonaux, dont la combinaison permet la mise à jour de signes d'œstrus et une détection efficace de l'ovulation.

Dans les groupes 2 et témoin, il a été demandé aux propriétaires de noter les signes d'entrée en chaleurs. Notons l'importance de leur coopération pour ne pas biaiser les résultats de notre étude. Cela ne nous a pas posé de problème particulier, les propriétaires ayant coopéré sans problème.

4.2.3 Durée de l'étude

Dans les parties 3.2.3.4.1 et 3.2.3.4.2 de la partie bibliographique, nous avons vu que le délai entre l'implantation et l'ovulation était compris entre 10 et 14 jours chez 76% des chiennes dans l'étude de FONTAINE et FONTBONNE (2010). Nous avons donc intensifié les examens pendant cette période (notamment chez les cinq chiennes Beagle d'expérimentation chez lesquelles un frottis et une échographie du tractus génital quotidiens ont été effectués) et effectué a minima un contrôle à trois semaines chez les chiennes de clients (et plus souvent en cas d'effet secondaire). L'observation des Beagle d'expérimentation et le contact avec les

propriétaires a duré plusieurs mois, jusqu'au retour en chaleurs des chiennes. Ainsi, il nous a été possible de détecter d'éventuelles chaleurs décalées dans le temps, comme cela fut le cas dans l'étude de CORRADA *et al*. (2006) où une chienne implantée et traitée au MGA avait présenté des chaleurs 51 jours après l'implantation.

Notre étude est encore en cours afin de déterminer la durée d'efficacité (suppression de l'activité sexuelle).

4.3 Choix du protocole

4.3.1 Acétate de desloréline

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.3.2.2 de la partie bibliographique, la cinétique de diffusion de la desloréline est considérée identique entre espèces et quelle que soit la taille. C'est pourquoi, dans notre étude, quelle que soit la taille de la chienne, un seul implant de Suprelorin® a été posé.

4.3.2 Acétate d'osatérone

4.3.2.1 Choix de la molécule

Comme nous l'avons vu dans la partie 3.2.3.5 de la partie bibliographique, les progestagènes ont déjà été utilisés pour prévenir l'œstrus induit (acétate de mégestrol dans les études de WRIGHT *et al.* (2001), de CORRADA *et al.* (2006) et de SUNG *et al.* (2006)). Leur mécanisme d'action par le feedback négatif qu'ils exercent sur l'hypothalamus ainsi que leur effet anti-œstrogène en font des molécules de choix pour prévenir l'œstrus induit. C'est une des raisons pour laquelle nous avons choisi cette famille de molécule.

Comme nous l'avons vu dans la partie 2 de la partie bibliographique, l'acétate d'osatérone est une molécule chimiquement proche de la chlormadinone qui est un progestagène développant une faible activité utérine et donc entrainant peu de complications. C'est le principal critère qui a motivé le choix de l'OSA pour la prévention de l'œstrus induit.

4.3.2.2 Posologie et durée de traitement

L'acétate de mégestrol s'est montré efficace sur un bon nombre de chiennes dans les études de WRIGHT *et al.* (2001) et de CORRADA *et al.* (2006). Cependant, il doit être administré pendant plusieurs semaines, ce qui est une contrainte pour le propriétaire et peut entrainer un manque d'observance.

C'est pourquoi, nous avons voulu mettre en place un traitement de courte durée autour du moment de l'implantation. Pour cela, nous avons calculé la dose d'OSA correspondant à une efficacité de 15 jours, dose que nous avons répartie sur deux jours seulement. En effet, il est admis que les agonistes de la GnRH stimulent l'hypophyse pendant 15 jours environ chez le chien mâle. Nous avons extrapolé ce résultat pour la femelle et c'est donc sur cette durée que nous avons voulu stopper cette stimulation. Ce calcul a été effectué en fonction de la pharmacocinétique de l'OSA. Cette dose est de 0,5mg/kg/jour pendant deux jours.

4.3.2.3 Mécanisme d'action de l'acétate d'osatérone

Le mécanisme par lequel l'OSA supprimé l'œstrus induit n'est pas clair. Comme nous l'avons vu, c'est un progestagène qui exerce un rétrocontrôle négatif sur la GnRH, ce qui entraine une inhibition de la sécrétion des gonadotrophines FSH et LH. Son mécanisme d'action peut aussi impliquer l'inhibition de la réponse de l'hypophyse à la desloréline et un effet direct sur les ovaires qui inhibe la réponse folliculaire aux gonadotrophines.

4.4 Comparaison avec la littérature

Nous avons vu dans la partie 3.2.3.5 de la partie bibliographique que plusieurs études ont eu pour but la prévention de l'œstrus induit par la pose d'un implant de desloréline. Notre étude introduit une nouveauté : l'utilisation de l'acétate d'osatérone pour la prévention de cet œstrus. En effet, dans les études précédentes, seul l'acétate de mégestrol (MGA) a été utilisé, à des doses et des durées variables.

Dans l'étude de WRIGHT *et al*. en 2001, portant sur 39 chiennes de races diverses, il est observé que l'acétate de mégestrol (MGA) peut prévenir cet œstrus chez 40% à 100% des chiennes selon le protocole. Plusieurs protocoles ont été utilisés, avec une durée d'administration variant de 14 à 21 jours. Dans cette étude, le nombre de chiennes utilisé est de cinq par protocole. L'efficacité obtenue est donc à nuancer.

CORRADA *et al*. (2006) ont testé l'efficacité du MGA à la dose de 2 mg/kg sur 42 chiennes en anœstrus recevant un implant de 10 mg de desloréline. La durée de traitement au MGA a été réduite à huit jours. Ce protocole a été efficace pour prévenir l'œstrus induit chez 90% des chiennes a priori. Cependant, sur les chiennes chez lesquelles le traitement semble avoir fonctionné, quatre ont présenté un gonflement vulvaire et trois ont présenté un œstrus décalé (entre 26, 40 et 51 jours après l'implantation). Cela suggère un report de l'œstrus par le traitement au MGA, ce qui limite l'efficacité du protocole. Dans notre étude, il n'a pas été observé d'œstrus décalé.

Dans l'étude de SUNG *et al.* (2006), des chiennes en anœstrus ont reçu 2 mg/kg/jour de MGA pendant 13 jours. L'efficacité à prévenir l'œstrus induit est de 20% seulement. Cette étude a remis en question l'utilisation du MGA pour prévenir l'œstrus induit. Seules des chiennes de race Greyhound ont été utilisées dans cette étude, ce qui peut constituer un biais.

Ainsi, nous avons testé dans notre étude un nouveau progestagène, l'acétate d'osatérone, jamais utilisé auparavant dans ce cadre à notre connaissance, pour prévenir l'œstrus induit par la pose d'un implant d'acétate de desloréline. Cette molécule a été choisie pour les raisons citées dans la partie 2.2 de la partie bibliographique et 4.3.2.1 sur le choix de l'OSA.

En comparaison avec les études précédemment réalisées pour prévenir l'œstrus induit, il semble que notre protocole ait une efficacité identique ou le plus souvent supérieure.

Notre protocole présente plusieurs avantages : le faible coût, la facilité d'utilisation (administration pendant deux jours seulement), l'efficacité et l'absence d'effets secondaires.

Nous avons aussi testé l'efficacité de l'OSA à prévenir l'œstrus induit sur un plus grand nombre de chiennes que dans les études précédentes.

4.5 Durée d'efficacité

La durée d'efficacité est de 290,9 ± 76,5 jours dans les groupes 1 et 2. Elle est de 366,1 ± 124,7 jours dans le groupe témoin. Ainsi, elle est en moyenne plus longue dans le groupe témoin mais cela n'est pas significatif. De plus, cela est à nuancer car la période d'étude du groupe témoin est beaucoup plus longue. Il faudrait donc attendre que toutes les chiennes soient revenues en chaleurs pour évaluer précisément cette durée et ainsi pouvoir la comparer à littérature.

En effet, comme nous l'avons présenté dans la partie 3.2.4.4 de la partie bibliographique, la durée de l'interoestrus suite à la pose d'un implant de desloréline a été évaluée dans des études antérieures. Dans l'étude de TRIGG *et al.* (2001), elle était de 10,0 à 10,7± 1,4 mois avec un implant 3 mg ; 13,9 ± 1,9 à 20,4 ± 1,4 mois avec un implant 6 mg ; 15,5 ± 1,7 à 19,6 ± 2,5 mois avec un implant 12 mg. Dans l'étude de CORRADA *et al.* (2006), elle a été évaluée à 14,86 mois (± 24,1 jours).

4.6 Effets secondaires

Dans les groupes 1 et 2, seule une chienne (6,3%) a présenté des effets secondaires : des pertes vulvaires blanchâtres deux jours après la pose de l'implant qui n'ont duré que deux jours. La chienne a ovulé par la suite. Aucune conséquence sur son appareil génital ni sur son état général n'a été observé. Cet effet secondaire est donc considéré comme bénin.

Dans le groupe témoin, 27,6% des chiennes ont présenté des effets secondaires qui étaient, par ordre de fréquence croissante : lactation persistante, chaleurs persistantes, kystes ovariens, abattement sans cause trouvée et cystite.

La pose d'un implant de desloréline expose donc à l'apparition d'effets secondaires touchant notamment l'appareil génital. Notons donc l'importance d'examiner l'appareil génital avant toute implantation.

Il peut être intéressant d'implanter le Suprelorin® en région ombilicale, afin de faciliter son retrait lors d'effet secondaire. Nous avons fait ce choix dans notre protocole et nous avons ainsi retiré l'implant chez 6 chiennes du groupe témoin ayant présenté un effet secondaire.

CONCLUSION

Notre étude a montré que l'acétate d'osatérone, un progestagène, empêche la survenue de l'œstrus induit par la pose d'un implant sous-cutané d'acétate de desloréline 4,7mg chez 81,3% des chiennes lorsqu'il est administré à la posologie de 0,5mg/kg la veille et le jour-même de l'implantation.

Ce même protocole est efficace pour prévenir l'ovulation chez 81,3% des chiennes également.

Il est efficace pour prévenir l'entrée en chaleurs et l'ovulation chez 68,7% des chiennes.

Ainsi, son efficacité est identique ou le plus souvent supérieure à celle des études précédemment réalisées avec d'autres progestagènes. Le protocole que nous avons utilisé doit être néanmoins affiné afin d'être appliqué pour prévenir l'œstrus induit par la pose d'un implant de desloréline. Des études précises sur la stimulation de l'hypophyse par l'administration d'agonistes de la GnRH et sur la durée de celle-ci permettraient de préciser la posologie et la durée d'administration.

La mise au point d'un protocole très efficace faciliterait également l'application clinique des agonistes de la GnRH longue action dans le traitement des maladies hormono-dépendantes, en l'absence de l'effet indésirable de stimulation initiale de la production des hormones sexuelles.

Si certains effets secondaires apparaissent suite à la pose d'un implant de desloréline, d'où l'importance de l'examen de l'appareil génital avant la pose d'un implant, aucun effet secondaire notable n'a été observé avec notre protocole de prévention de l'œstrus induit.

De plus, des études sur une durée plus longue permettraient d'évaluer la sécurité à long terme (retour en chaleurs et à la fertilité) suite à l'administration d'acétate d'osatérone autour de l'implantation de Suprelorin®. Il pourrait ainsi être envisagé de mettre les chiennes à la reproduction afin d'évaluer la fertilité lors de l'utilisation d'un tel protocole.

Rappelons enfin que les agonistes de la GnRH ne sont qu'une alternative parmi les méthodes de stérilisation et de traitement des maladies hormono-dépendantes classiquement utilisées chez la chienne.

BIBLIOGRAPHIE

Alliance for Contraception in Cats and Dogs. Contraception and fertility control in animals. [http://www.acc-d.org] (page consultée le 19 octobre 2010)

BADINAND F, FONTBONNE A, MAUREL MC, SILIART B (1993). Fertilization time in the bitch in relation to plasma concentration of oestradiol, progesterone and luteinizing hormone and vaginal smears. *J. Reprod. Fertil.*, **47**, 63-67.

BAJETTA E, CELIO L, ZILEMBO N, BONO A, GALLUZO D, ZAMPINO MG *et al*. (1994). Ovarian function suppression with the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analogue goserelin in premenopausal advanced breast cancer. *Tumori*, **80**, 28-32.

BAJUSZ S, CSERNUS VJ, JANAKY T, BOKSER L, FEKETE M, SCHALLY AV (1988). New antagonists of LHRH. II. Inhibition and potentialisation of LHRH by closely related analogues. *Int. J. Pept. Prot. Res.*, **32**, 425-435.

BEIJERINK NJ, BUIJTELS JJC, OKKENS AC, KOOISTRA HS, DIELMAN SJ (2007). Basal and GnRH-induced secretion of FSH and LH in anestrous versus ovariectomized bitches. *Theriogenology*, **67**, 1039-1045.

BOKSER L, SRKALOVIC G, SZEPESHAZI K, SCHALLY A (1991). Recovery of pituitary gonadal function in male and female rats after prolongated administration of a potent antagonist of luteinising hormone releasing hormone. (SB-75). *Neuroendocrinology,* **54**, 136-145.

CAIN JL, CAIN GR, FELDMAN EC, LASLEY BL, STABENFELDT GH (1988). Use of pulsatile intravenous administration of gonadotropin-releasing hormone to induce fertile oestrus in bitches. *Am. J. Vet. Res.*, **49**, 1993-1996.

CAIN JL, LASLEY BL, CAIN GR, FELDMAN EC, STABENFELDT GH (1989). Induction of ovulation in bitches with pulsatile or continuous infusion of GnRH. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, **39**, 143-147.

CALDANI M, CARATY A, PELLETIER J, THIÉRY JC, TILLET Y (1991). La libération pulsatile de LH et son contrôle. *In* : Thibaut C, Lavasseur MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA : Paris, 71-88.

CHUN R, GARRETT L (2005). Urogenital and mammary gland tumors. *In* : Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medecine 6th ed. St Louis : Elsevier Saunders, 784-789.

CINONE M, MINOIA P, LACALANDRA G, DELL'AQUILA M (1996). Oestrus induction in the bitch with buserelin implant. *In* : Proceeding of the Satellite Meeting 1th ICAR, Sydney, p.32.

CLAYTON RN (1989). Gonadotrophin-releasing hormone: its actions and receptors. *J. Endocrinology,* **120**, 11-19.

CONCANNON P (1989). Induction of fertile oestrus in anoestrus dogs by constant infusion of GnRH agonist. *J Reprod Fertil Suppl*, **39**, 149–160.

CONCANNON P, LASLEY B, VANDERLIP S (1997). LH release, induction of oestrus and fertile ovulations in response to pulsatile administration of GnRH to anoestrous dogs. *J. Reprod. Fertil*., **51**, 41-54.

CONCANNON PW (1993). Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *J Reprod Fertil Suppl.,* **47**, 3-27.

CONCANNON PW (2009). Endocrinologic Control of normal Canine Ovarian Function. *Reprod. Domest. Anim.,* **44,** 3-15.

CONCANNON PW, MC CANN JP, TEMPLE M (1989). Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J. Reprod. Fertil.*, **39**, 3-12.

CONCANNON PW, MEYERS-WALLEN VN (1991). Current and proposed methods for contraception and termination of pregnancy in dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **198**, 1214-1225.

CONCANNON PW, TEMPLE M, MONTANEZ A, NEWTON L (2006). Effects of dose and duration of continuous GnRH-agonist treatment on induction of estrus in beagle dogs: competing and concurrent up-regulation and down-regulation of LH release. *Theriogenology*, **66**, 1488-96.

CORRADA Y, HERMO G, JOHNSON C, TRIGG T, GOBELLO C (2006). Short-term progestin treatment prevent estrous induction by a GnRH agonist implant in anestrous bitches. *Theriogenology*, **65**, 366–373.

CORRE J (2004). Élaboration d'un document pédagogique de reproduction canine. Thèse Méd. Vét., Alfort, 207p.

COUNIS R, COMBARNOUS Y, CHABOT V, TARAGNAT C (2001). Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires. *In* : Thibaut C, Lavasseur MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA : Paris, 65-84.

COUNIS R, LA VERRIÈRE JN, GARREL G, BLEUX C, COHEN-TANNOUDJI J, LERRANT Y *et al*. (2005). Gonadotropin-releasing hormone and the control of gonadotrope function. *Reprod. Nutr. Dev*., **45**, 243-254.

DE GIER J, BEIJERINK NJ, KOOISTRA HS, OKKENS AC (2008). Physiology of the canine anœstrus and methods for manipulation of its length. *Reprod. Domest. Anim.,* **43**, 157-164.

DE GIER J, KOOISTRA HS, DJAJADININGRAT-LAANEN SC, DIELEMAN SJ, OKKENS AC (2006). Differential regulation of the secretion of Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone around the time of ovulation in the bitch. *Theriogenology*, **66**, 1419–1422.

DEGUEURCE C (2003). Dissection de l'abdomen et du bassin des carnivores. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique d'Anatomie des animaux domestiques, 71p.

DOW C (1957). The cytic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Vet. Rec.*, **69,** 1409-1415.

DRIANCOURT MA, GOUGEON A, MONNIAUX D, ROYÈRE D, THIBAULT C (2001). Folliculogenèse et ovulation. *In :* Thibault C, Levasseur MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA : Paris, 316-347.

DUMON C (2009). Maîtrise médicale de la reproduction dans l'espèce canine. *EMC (Elsevier Masson SAS)*, Vétérinaire, 0400, 9p.

DUNBAR BS (1983). Antibodies to zona pellucida anigens and their role in fertility. *In :* Immunology Reprodcution, pp. 505-534. Eds T.G. Wegmann & T.J. Gill. Oxford, New-York.

EMEA (European Medecines Agency). European Public Assessment Report. Résumé des caractéristiques du produit. Mise à jour le 10/07/2007. [http://www.emea.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/veterinary/000109/WC500068835.pdf] (page consultée le 17 janvier 2011).

EMEA (European Medecines Agency). European Public Assessment Report. Résumé des caractéristiques du produit. Mise à jour le 11/07/2007.

[http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/veterinary/000112/WC500069535.pdf] (page consultée le 5 juin 2011).

FAULKNER LC, PINEDA MH, REIMERS TJ (1975). Immunization against gonadotropins in dogs. *In* : Immunization With Hormones In Reproduction Research, pp. 199-214. Ed. E. Neischlag. North Holland Publishing, Amsterdam.

FONTAINE E, FONTBONNE A (2010). Use of deslorelin to control fertility in the bitch. *In* : Symposium deslorelin : deslorelin in practice, 7th EVSSAR Congress. Louvain la Neuve, Belgium, 14th-15th May, pp. 15-17.

FONTBONNE A (2008). L'infertilité chez la chienne. Polycopié de reproduction animale, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, CERCA, 51p.

FONTBONNE A, ARUS MARTÍ J, ENGLAD G *et al.* (2005). Manuel de la Reproduction Canine. Aimargues, Royal Canin SAS, 143p.

FONTBONNE A, LÉVY X, FONTAINE E *et al.* (2007). Guide pratique de reproduction clinique canine et féline. Paris, Med'Com, 272p.

GOBELLO C (2007). New GnRH analogs in canine reproduction. *Anim. Reprod. Sci.*, **100**, 1-13.

GOBELLO C, HERMO G, RODRIGUEZ R, TORTORA M, CORRADA T (2005). Use of the GnRH antagonist, acycline, on estrous cycle interruption in the bitch : a preminilary report. *Theriogenology,* **64** (3), 13.

GONZALEZ A, ALLEN AF., POST K, MAPLETOFT RJ, MURPHY BD (1989). Immunological approaches to contraception in dogs. *J. Reprod. Fert. Suppl.,* **39**, 189-198.

GOODMAN M (2002). Demystifying Ovulation Timing. *Clinical Techniques in Small Animal Practice,* **17**, n° 3, 97-103.

GWATKIN RBL, ANDERSON OF, WILLIAMS DT (1980). Large scale isolation of bovine and pig zonae pellucida : chemical, immunological and receptor properties. *Gamete Res.,* **3**, 217-231.

HERBERT CA, TRIGG TE (2005). Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Anim. Reprod. Sci.*, **88**, 141-153.

HERBST KL, COVIELLO AD, PAGE S, AMORY JK, ANAWALT BD, BREMNER WJ (2004). A single dose of the potent gonadotropin-releasing hormone antagonist acyline suppresses gonadotropins and testosterone for 2 weeks in healthy young men. *J. Clin. Endocrinol. Metab*., **89** (12), 5959–5965.

HOLT PE, THRUSFIELD MV (2003). Association in bitches between breed, size, neutering and docking, and acquired urinary incontinence due to incompetence of the urethral sphincter mechanism. *Vet. Record*, **133**, 177-80.

HONMA S, TAKEZAWA Y, YAMANAKA H (1995). The effects of antiandrogen TZP-4238 on plasma testosterone and LH, and steroidogenesis in rats and canine testis. *Folia Endocrinol*, 71, 679-694;

INABA T, TANI H, GONDA M, NAKAGAWA A, OHMURA M, MORI J *et al*. (1998). Induction of fertile oestrus in bitches using a sustained-release formulation of a GnRH agonist (leuprolide acetate). *Theriognology*., **49**, 975-982.

Intelligo, la communauté du savoir scolaire. [http://www.intellego.fr/] (page consultée le 22 novembre 2010)

JEFFCOATE IA (1993). Endocrinology of anoestrous bitches. *J. Reprod. Fertil. Suppl*., **47,** 69-76.

JOHNSTON SD, KUSTRITZ MVR, OLSON PNS (2001). Canine and feline theriogenology. Philadelphia, WB Saunders, 592p.

JUNAIDI A, WILLIAMSON P, MARTIN G, STANTON P, BLACKBERRY M, CUMINS J *et al*. (2007). Pituitary and testicular endocrine responses to exogenous gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and luteinising hormone in male dogs treated with GnRH agonist implants. *Reprod Fertil Dev*, **19**, 891–898.

JUNG MJ, MOON YC, CHO IH, YEH JY, KIM SE, CHANG WS *et al.* (2005). Induction of castration by immunization of male dogs with recombinant GnRH-canine distemper virus T helper cell epitope p35. *J Vet Sci,* **6**, 21-4.

KOOISTRA HS, OKKENS AC, BEVERS MM, POPP-SNIJDERS C, VAN HAAFTEN B, DIELEMAN SJ *et al*. (1999). Concurrent pulsatile secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during different phases of the estrous cycle and anestrus in beagle bitches. Biol Reprod.; **60** (1), 65-71.

KUTZLER MA (2005). Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology*, **64,** 766-775.

KUTZLER MA, WHEELER R, LAMB S, VOLKMANN D (2002). Deslorelin implant administration beneath the vulvar mucosa for the induction of synchronous estrus in bitches. 3rd EVSSAR European Congress. Liege, Belgium, p 96.

KUTZLER MA, WHEELER R, VOLKMANN DH (2001a). Canine estrus induction using the GnRH agonist, deslorelin. *In* : Proceedings of the Annual Eur Vet Soc Small Anim Reprod, Milan, pp. 147-148.

KUTZLER MA, WHEELER R, VOLKMANN DH (2001b). Serum deslorelin concentrations in bitches after Ovuplant ® administration. *In* : Proccedings of the Annual Meeting Society Theriogenology, Vancouver, p. 13.

KUTZLER M, WOOD A (2006). Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology*, **66**, 514-525.

LABRIE F, BÉLANGER A, LUU-THE V, LABRIE C, SIMARD J, CUSAN L *et al*. (2005). Gonadotropin-releasing hormone agonists in the treatment of prostate cancer. Endocrine Reviews, 26, 361-379.

LANA SE, RUTTEMAN GR, WITHROW SJ (2007). Tumors of the mammary gland. *In* : Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 4th edition. Saunders Elsevier, St Louis 619-636.

LÉVY X (2010). Induction et prévention des chaleurs chez la chienne. *Point Vét.*, **41** (307), 25-30.

LÉVY X, FONTBONNE A (2007) Determining the optimal time of mating in bitches: particularities. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, **31** (1), 128-134.

LOMBARDI P, FLORIO S, PAGNINI U, CRISPINO A, AVALLONE L (1999). Ovarian function suppression with a GnRH analogue : D-ser(But[t])[6]-Azgly[10]-LHRH (Goserelin) in hormone dependant canine mammary cancer. *J. Vet. Pharmacol. Ther*., **22**, 56-61.

MAHI-BROWN CA, HUANG TTF, YAMAGIMACHI R (1982). Infertility in bitches induced by active immunization with porcine zonae pellucida. *J. exp. Zool.,* **222**, 89-95.

MAHI-BROWN CA, YAMAGIMACHI R, NELSON ML, YANAGIMACHI H, PALUMBO N (1988). Ovarian histology of bitches immunized with zonae pellucidae. *Am J Reprod Immunol*, **18**, 94-103.

MC RAE GI, ROBERTS BB, WORDEN AC, BAJKA A, VICKERY BH (1985). Long-term reversible suppression of oestrus in bitches with nafarelin acetate, a potent LHRH agonist. *J. Reprod. Fert.*, **74**, 389-397.

MIEDA M, OHTA Y, SAITO T, TAKAHASHI H, SHIMAZAWA E, MIYASAKA K (1994). Antiandrogenic activity and endocrinological profile of a novel antiandrogen, TZP-4238 in the rat. *Endocrine Journal*, **41** (4), 445-452.

MONNIAUX D, CARATY A, CLEMENT F, DALBIES-TRAN R, DUPONT J, FABRE S *et al.* (2009). Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Productions Animales*, **22** (2), 1-18.

NAZ RK, CHAUHAN SC (2002). Human Sperm-Specific Peptide Vaccine That Causes Long-Term Reversible Contraception. *Biol. Reprod.*, **67**, 674-680.

OHTA Y, MINATO K, HOSHINO T, HIRABAYASHI N, HONMA S (1994). The effect of antiandrogen TZP-4238 on corticosteroid hormone in the dog. *Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi,* **70** (8), 913-24

OKKENS AC, KOOISTRA HS (2006). Anoestrus in dogs : a fascinating story. *Reprod. Domest. Anim.*, **41**, 291-296.

PADULA AM (2005). GnRH analogues-agonists and antagonists. *Anim. Reprod. Sci*., **88**, 115-126.

PAGNINI U, FLORIO S, CRISPONO L, PAGNINI G, COLANGELO D, ROCCO D *et al.* (2002). Direct effect of a gonadotropin-releasing hormone agonist on the growth of canine mammary tumour cells. *J. Cell. Biochem*., **85**, 470-481.

PINEDA MH, LUEBEN DC, FAULKNER LC, HOPWOOD ML (1967). Atrophy of rabbit testes associated with production of antiserum to bovine luteinizing hormone. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,* **125**, 665-668.

PINEDA MH, FAITH MR, FAULKNER LC, LUEBEN DC (1972). Cross reaction of anti-bovine luteinizing hormone serum. *Am. J. vet. Res*., **33**, 45-50.

PONGLOWHAPAN S, CHURCH D, KHALID M (2008). Differences in the proportion of collagen and muscle in the canine lower urinary tract with regard to gonadal status and gender. *Theriogenology*, **70**, 1516–1524.

PONGLOWHAPAN S, CHURCH D, SCARAMUZZI R, KHALID M (2007). Luteinizing hormone and follicle stimulating hormone receptors and their transcribed genes (mRNA) are present in the lower urinary tract of intact male and female dogs. *Theriogenology*, **67**, 353–366.

REICHLER I (2010): Use of deslorelin to control urinary incontinence in the bitch. *In* : Symposium deslorelin : deslorelin in practice, 7th EVSSAR Congress. Louvain la Neuve, Belgium, 14th-15th May, pp. 15-17.

REICHLER I, BARTH A, PICHE C, JOCHLE W, ROOS M, HUBLER M *et al*.(2006a). Urodynamic parameters and plasma LH in spayed beagle bitches before and 8 weeks after GnRH depot analogue treatment. *Theriogenology*, **66**, 2127–2136.

REICHLER I, HUBLER M, JOCHLE W, TRIGG T, PICHE C, ARNOLD S (2003). The effect of GnRH analogs on urinary incontinence after ablation of the ovaries in dogs. *Theriogenology*, **60**, 1207–1216.

REICHLER I, HUNG E, JOCHLE W, PICHE C, ROOS M, HUBLER M *et al.* (2005). FSH and LH plasma levels in bitches with differences in risk for urinary incontinence. *Theriogenology*, **63**, 2164–2180.

REICHLER I, JOCHLE W, PICHE C, ROOS M, ARNOLD S HUBLER (2006b). Effect of a long acting GnRH analogue or placebo on plasma LH/ FSH, urethral pressure profiles and clinical signs of urinary incontinence due to sphincter mechanism incompetence in bitches. *Theriogenology*, **66**, 1227–1236.

REYNAUD K, FONTBONNE A, MARSELOO N, VIARIS DE LESEGNO C, SAINT-DIZIER M, CHASTANT-MAILLARD S (2006). In vivo canine oocyte maturation, fertilization and early embryogenesis : a review. *Theriogenology*, **66**, 1685-1693.

REYNAUD K, FONTBONNE A, MARSELOO N, VIARIS DE LESEGNO C, THOUMIRE S, CHASTANT-MAILLARD S (2005). Maturation ovocytaire, fécondation et développement embryonnaire chez la chienne. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire France*, **158**, n°2, 167-172.

ROMAGNOLI S (2002). Clinical use of hormones in the control of reproduction in bitches and queens. *In* : Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, SPCV, Oeiras, 10-12 Out, 162-166.

ROMAGNOLI S, STELLETTA C, MILANI C, GELLI D, FALOMO M, MOLLO A (2009). Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. *Reprod. Dom. Anim.*, **44**, 36–39.

RUBION S, GUERIN C, CRIVIERI-GODET E, HORSPOOL L, RUTTEN F, DRIANCOURT MA (2003). Treatment with a subcutaneous GnRH agonist containing devise suppresses FSH and ovarian function in bitches. *Reprod. Dom. Animal.,* **79**, 355.

RUBION S, DESMOULINS P, RIVIÈRE-GODET E, KINZIGER M, SALAVERT F, RUTTEN F *et al.* (2006). Treatment with a subcutaneous GnRH agonist containing controlled release device reversibly prevents puberty in bitches. *Theriogenology*, **66**, 1651–1654.

SAXENA BB, CLAVIO A, SINGH M, RATHNAM P, BUKHAROVICH Y, REIMERS T *et al*. (2002). Modulation of ovarian function in female dogs immunized with bovine luteinizing hormone receptor. *Reprod. Domes.t Anim.,* **37**, 9-17.

SCHAEFERS-OKKENS AC (1996). Ovaries. *In* : RIJNBERK A, Clinical Endocrinology of Dogs and Cats. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 131-156.

SCHALLY AV (1999). LH-RH analogues: I. Their impact on reproductive medicine. *Gynecol. Endocrinol*., **13**, 401-409.

SCHALLY AV, ARIMURA A, KASTIN AJ, MATUSO H, BABA Y, REDDING TW *et al*. (1971). Gonadotropin releasing hormone : one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle stimulating hormones. *Science*, **173**, 1036-1038.

SCHNEIDER F, TOMEK W, GRŰNDER C (2006). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues : a review. *Theriogenology,* **66**, 691-709.

SCHNEIDER R, DORN CR, TAYLOR DON (1969). Factors Influencing Canine Mammary Cancer Development and Postsurgical Survival. *J. Natl Cancer Inst.*, **43**, 1249-1261.

SHIVERS CA, GENGOZIANN, FRANKLIN LE, MCLAUGHLIN CL (1978). Antigenic crossreactivity between human and marmoset zonae pellucidae : a potential target for immunocontraception. *J. med. Primatol*., **7**, 242-248.

SUNG M, ARMOUR A, WRIGHT P (2006). The influence of exogenous progestin on the occurence of proestrous or estrous signs, plasma concentrations of luteinizing hormone and estradiol in deslorelin (GnRH agonist) treated anestrous bitches. *Theriogenology*, **66**, 1513–1517.

Syndicat des Fabricants d'Aliments préparés pour Animaux Domestiques, Paris. *FACCO Chambre Syndicale des Fabricants d'Aliments Préparés pour Chiens, Chats, Oiseaux et Autres animaux Familiers.* [http://www.facco.fr] (page consultée le 18 octobre 2010)

THIBAULT C, LEVASSEUR MC (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris : INRA éditions, Ellipses éditions, 316-347, 479-503.

TIRET L (2006-2007). Physiologie de l'appareil reproducteur. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie et Thérapeutique, 104p.

TRIGG T, DOYLE A, WALSH J, SWANGCHAN-UTHAI T (2006). A review of advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction. *Theriogenology*, **66**, 1507–1512.

TRIGG T, WRIGHT P, ARMOUR A, WILLIAMSON P, JUNAIDI A, MARTIN G *et al*. (2001). Use of a GnRH analogue implant to produce reversible long-term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs. *J Reprod Fertil*, **57**(Suppl.), 255–261.

VALIENTE C, DIAZ J, ROSA D, MATTIOLI G, GARCIA ROMERO G, GOBELLO C (2009). Effect of a GnRH antagonist on GnRH agonist-implanted anoestrous bitches. *Theriogenology*, **72**, 926–929.

VAN HAAFTEN B, BERVERS MM, VAN DEN BROM WE, OKKENS AC, VAN SLUIJS FJ, WILLEMSE AH *et al.* (1994). Increasing sensitivity of the pituitary to GnRH from early to late anoestrus in the beagle botch. *J. Reprod. Fertil.,* **101**, 221-225.

VERSTEGEN JP, ENGLAND GCW (1999). Developments in the Control of Reproduction in the Bitch. *Reprod. Dom. Anim*., **34**, 381-384.

VICKERY BH, MCRAE GI, GOODPASTURE JC, SANDERS LM (1989). Use of potent LHRH analogues for chronic contraception and pregnancy termination in dogs. *J. Reprod. Fert., Suppl.,* **39**, 175-187.

Vie, site ressource en Sciences de la Vie - ENS / DGESCO / UPMC 1999-2011. [http://www.snv.jussieu.fr/vie/index.html] (page consultée le 5 juin 2011).

VIRBAC SANTÉ ANIMALE (2007). Tous les avantages de la castration sans la chirurgie, Dossier technique, Carros, France, 26p.

VOLKMANN DH, KUTZLER MA, WHEELER R, KREKELER N (2006). The use of deslorelin implants for the synchronization of œstrus in diestrous bitches. *Theriogenology*, **66**, 1497-1501.

VON BERKY AG, TOWNSEND WL (1980). The relationship between the prevalence of uterine lesions and the use of MPA for the canine population control. *Austr. Vet. J*., **56**, 137-140.

WRIGHT P, VERSTEGEN J, ONCLIN K, JOCHLE W, ARMOUR A, MARTIN G *et al*. (2001). Suppression of the oestrous responses of bitches to the GnRH analogue deslorelin by progestin. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl **57**, 263–268.

WURTH E (2010). Étude comparative de l'ovulation chez les mammifères. Thèse Méd. Vét., Alfort, 98p.

YONEZAWA N, FUKUI N, KUNO M, SHINODA M, GOKO S, MITSUI S *et al.* (2001). Molecular cloning of bovine zona pellucida glycoproteins ZPA and APB and analysis for sperm-bonding component of the zona. Eur J Biochem, **268**(12), 3587-3594.

Annexe 1 : Présentation des chiennes du groupe 1 (chiennes d'expérimentation de race Beagle ayant reçu le protocole desloréline + osatérone)

Numéro de la chienne	Âge	Poids en kg	Progestéronémie début étude (ng/ml)	Posologie acétate d'osatérone	Date implantation
1	6	11	< 0,03	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,68mg/kg	23/06/2010
2	3	11	< 0,03	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,68mg/kg g	23/06/2010
3	3	11	< 0,03	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,68mg/kg	23/06/2010
4	3	11	< 0,03	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,68mg/kg	23/06/2010
5	3	11	< 0,03	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,68mg/kg	23/06/2010

Annexe 2 : Présentation des chiennes du groupe 2 (chiennes de propriétaires ayant reçu le protocole desloréline + osatérone)

Numéro de la chienne	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**
Âge	1 an	1 an	1 an	9 mois	1 an	1 an	9 ans	6 mois	6 mois	6 mois	7 mois
Poids en kg	17	11	12	12	14	9,5	30	8	15	5	20
Race ou apparenté	Labrador Retriever	Bouledogue français	Beagle	Bouledogue français	Croisée	Croisée	American Staffordshire Terrier	Bouledogue français	Épagneul Breton	Spitz	Golden Retriever
Maturité sexuelle	Pubère	Pubère	Pubère	Pubère	Pubère	Pubère	Pubère	Prépubère	Prépubère	Prépubère	Prépubère
Progestéronémie début étude (ng/ml)	7	< 0,03	< 0,03	0,143	1,08	0,084	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Posologie acétate d'osatérone	1,5cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,66mg/kg	/4 cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,5mg/kg	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,62mg/kg	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,62mg/kg	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,54mg/kg	¾ cp Ypozane® 7,5 mg soit 0,59mg/kg	2 cp d'Ypozane® 7,5 mg soit 0,50mg/kg	1/2cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,47mg/kg	1cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,50mg/kg	3/4cp d'Ypozane® 3,75mg, soit 0,56mg/kg	1,5cp d'Ypozane® 7,5mg, soit 0,56mg/kg
Date implantation	21/05/2010	15/06/2010	04/10/2010	08/10/2010	02/11/2010	07/12/2010	07/12/2010	22/06/2010	05/07/2010	26/10/2010	09/11/2010

Annexe 3 : Présentation des chiennes du groupe témoin (chiennes de propriétaires ayant reçu uniquement l'implant de desloréline)

Numéro de la chienne	Race ou apparenté	Âge	Date d'implantation
1	Berger belge malinois	2 ans	25/02/2009
2	Braque Saint Germain	9 ans	04/03/2009
3	Bouledogue anglais	2 ans	04/03/2009
4	Cane Corso	3 ans	05/03/2009
5	Labrador Retriever	1 an	26/05/2009
6	Labrador Retriever	2 ans	28/05/2009
7	Beagle	2 ans	28/05/2009
8	Croisé	3 ans	09/06/2009
9	Beagle	3 ans	20/07/2009
10	Croisé	1 an	24/11/2009
11	Croisé	1 an	02/12/2009
12	Yorkshire Terrier	2 ans	08/12/2009
13	Beagle	4 ans	10/12/2009
14	Lhassa Apsso	2 ans	04/01/2010
15	Cavalier King Charles	1 an	12/01/2010
16	Croisé	3 ans	19/01/2010
17	Jack Russel Terrier	4 ans	02/02/2010
18	Beagle	4 ans	03/02/2010
19	Labrador Retriever	5 ans	08/02/2010
20	Berger belge malinois	3 ans	08/02/2010
21	Berger belge malinois	4 ans	08/02/2010
22	Berger belge malinois	3 ans	08/02/2010
23	Croisé	5 ans	08/02/2010
24	Beagle	4 ans	23/02/2010
25	Beagle	4 ans	09/03/2010
26	Berger belge malinois	9 ans	12/03/2010
27	Bouledogue Français	2 ans	21/04/2010
28	Beagle	4 ans	22/06/2010
29	Teckel	4 ans	02/07/2010

Annexe 4 : Résultats par chienne des groupes 1 et 2

Numéro de la chienne	Entrée en chaleurs ?	Ovulation ?	Effets secondaires ?	Durée effet stérilisant en jours (chiennes revenues en chaleurs)	Durée efficacité à fin de l'étude (20/06/2011) en jours
1	Non	Oui	Non	283	
2	Non	Non	Non		363
3	Non	Non	Non		363
4	Non	Non	Non		363
5	Oui Gonflement vulvaire 5 jours après l'implantation	Non	Non		363
6	Non	Non	Non		395
7	Oui	Oui	Non		370
8	Non	Non	Non		259
9	Non	Oui	Oui Pertes vulvaires blanchâtres 2 jours après l'implantation, pendant 2 jours		255
10	Non	Non	Non		230
11	Oui	Non	Non		195
12	Non	Non	Non	145	
13	Non	Non	Non	332	
14	Non	Non	Non		350
15	Non	Non	Non		237
16	Non	Non	Non		223

Annexe 5 : Résultats par chienne du groupe témoin

Numéro de la chienne	Entrée en chaleurs ?	Ovulation ?	Effets secondaires ?	Durée effet stérilisant en jours (chiennes revenues en chaleurs)	Durée efficacité à fin de l'étude (18/02/2011) en jours
1	Oui	Oui	Non	430	
2	Oui	Oui	Non	303	
3	Oui	Non	Non	415	
4	Oui	Non	Non	453	
5	Non	Non	Non	401	
6	Oui	Oui	Non		631
7	Oui	Oui	Non	430	
8	Oui	Non	Oui Chaleurs persistantes	Retrait de l'implant. Durée de l'étude : 98 jours	
9	Oui	Non	Non	556	
10	Oui	Oui	Non		451
11	Oui	Non	Oui Lactation	425	
12	Oui	Non	Non		437
13	Non	Oui	Non	413	
14	Oui	Oui	Non		410
15	Oui	Oui	Non	Décès au cours d'une anesthésie générale. Durée de l'étude : 182 jours	
16	Oui	Non	Oui Lactation persistante	Retrait de l'implant. Durée de l'étude : 45jours	
17	Oui	Non	Oui Lactation persistante	Retrait de l'implant. Durée de l'étude : 92 jours	
18	Oui	Non	Non	285	
19	Oui	Oui	Oui Cystite	284	
20	Oui	Oui	Non		375
21	Oui	Oui	Non		375

22	Oui	Oui	Non		375
23	Oui	Oui	Oui Abattement	Retrait de l'implant. Durée de l'étude : 108 jours	
24	Oui	Oui	Non	281	
25	Oui	Non	Non	251	
26	Oui	Oui	Oui Kystes ovariens	63	
27	Oui	Non	Oui Chaleurs persistantes	Retrait de l'implant. Durée de l'étude : 96 jours	
28	Non	Non	Non	146	
29	Oui	Non	Non		231

PRÉVENTION DE L'ŒSTRUS INDUIT PAR LA POSE D'UN IMPLANT DE DESLORÉLINE CHEZ LA CHIENNE : UTILISATION DE L'ACÉTATE D'OSATÉRONE

ANJOLRAS Emilie

Résumé

L'administration continue d'agonistes de la GnRH a un double effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire : d'abord stimulateur puis inhibiteur. L'effet stimulateur (effet « flare-up ») entraine un œstrus chez la chienne, ce qui constitue ainsi un frein à l'utilisation de ce produit dans le cadre de la stérilisation chimique. Jusqu'à présent aucune solution complètement efficace n'a été trouvée pour empêcher cet effet.

L'objectif de notre étude réalisée au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores d'Alfort a été de prévenir l'œstrus induit par la pose d'un implant d'acétate de desloréline, un agoniste de la GnRH, en administrant l'acétate d'osatérone, un progestagène.

Seize chiennes ont été traitées par un implant d'acétate de desloréline 4,7mg et de l'acétate d'osatérone *per os* à la posologie de 0,5mg/kg, une fois par jour pendant deux jours (la veille et le jour de la pose de l'implant). 29 chiennes (groupe témoin) n'ont été traitées que par l'implant d'acétate de desloréline 4,7mg. Toutes les chiennes ont été implantées en anœstrus.

Une observation de la vulve, des frottis vaginaux et des mesures de la progestérone plasmatique ont permis de déterminer une éventuelle entrée en chaleurs et/ou la présence d'une ovulation. Des échographies du tractus génital ont permis de détecter d'éventuels effets secondaires. Un contact téléphonique a été mis en place avec les propriétaires des chiennes.

Notre protocole empêche la survenue de l'œstrus induit chez 81,3% des chiennes. Il est efficace pour prévenir l'ovulation chez 81,3% des chiennes également. Il est efficace pour prévenir l'entrée en chaleurs et l'ovulation chez 68,7% des chiennes.

Ainsi, même si son efficacité est identique ou le plus souvent supérieure à celle des études précédemment réalisées et s'il présente plusieurs avantages : faible coût, facilité d'utilisation, absence d'effets secondaires, notre protocole doit être affiné afin d'être appliqué.

Mots clés : AGONISTE DE LA GNRH / STÉRILISATION / DESLORÉLINE / OSATÉRONE / PROGESTÉRONE / ŒSTRUS / IMPLANT / CARNIVORE / CHIENNE / CERCA

Jury :
Président : Pr.
Directeur : Dr. FONTBONNE Alain
Assesseur : Dr. TIRET Laurent

PREVENTION OF ESTROUS INDUCTION BY A DESLORELIN IMPLANT IN THE BITCH : USE OF OSATERONE ACETATE

ANJOLRAS Emilie

Summary

Continuous administration of GnRH agonists has a dual effect on the hypothalamic-pituitary axis: first a stimulating effect and then a suppression of reproductive function. The stimulating effect ("flare-up effect), induces an estrous in the bitch and is highly undesirable for chemical sterilization. To date, no completely effective solution was found to prevent this.

The objective of our study at the Center of Study for Carnivores Reproduction was to prevent estrous induction by a deslorelin acetate implant, a GnRH agonist, in administering osaterone acetate, a progestagen.

Sixteen bitches received a deslorelin acetate 4.7mg implant and osaterone acetate orally at the dose of 0.5mg/kg once a day for two days (the day before and the day of implantation). 29 bitches (control group) received only the deslorelin acetate 4.7mg implant. All bitches were implanted in anoestrus.

An observation of the vulva, vaginal smears, measurements of plasma progesterone were used to determine a possibly onset of estrous and/or the presence of ovulation. Ultrasounds of the genital tract have to detect possible side effects. Telephone contact was established with the owners of bitches.

Our protocole prevents estrous induction in 81.3% of bitches. It is effective in preventing ovulation in 81.3% of bitches as well. It is effective in preventing both estrous induction and ovulation in 68.7% of bitches.

Whereas its effectiveness is most often the same or higher than that of previous studies and its several advantages : low cost, ease of use, lack of side effects, our protocole should be refined to be applied.

Keywords : GNRH AGONIST / STERILIZATION / DESLORELIN / OSATERONE / PROGESTERONE / ESTROUS / IMPLANT / / CARNIVORE / BITCH / CERCA

Jury :
Président : Pr.
Directeur : Dr. FONTBONNE Alain
Assesseur : Dr. TIRET Laurent