

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE



SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BATNA -1

Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques

Département Des Sciences Vétérinaires



Thèse

Pour l'obtention du diplôme du

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière

Sciences Vétérinaires

Option

Maitrise des Facteurs de la Reproduction chez les Herbivores

Présentée par :

M^{me}. BENBIA Souheyla

Thème

Influences des stéroïdes sexuels sur l'aspect cytologique et immuno-histochimique cervical et utérin au cours d'un cycle œstral chez la vache et la brebis

Soutenue publiquement le 15 / 05 / 2018

Jury :

Grade et université

Président : Pr. TLIDJANE Madjid	Professeur	Université Batna 1
Rapporteur : Pr. YAHIA Mouloud.	Professeur	Université Batna 2
Co-rapporteur : Pr. KAIDI Rachid.	Professeur	Université Blida
Examineur : Pr. BENHAMZA Louiza.	Professeur	Université Constantine 1
Examinatrice : Pr. BENNOUNE Omar	Professeur	Université Batna 1
Examineur : Dr. SAFSAF Boubekeur	Maitre de Conférences	Université Batna 1

Année Universitaire : 2017-2018

Remerciements

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur le professeur **YAHIA Mouloud** qui a assuré la direction scientifique de cette thèse. Je te remercie pour ta grande disponibilité, ton encadrement ainsi que les hautes compétences scientifiques qui m'ont été d'une aide très précieuse, me permettant de réaliser ces recherches dans d'excellentes conditions.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur le professeur **TLIDJANE Madjid** qui m'a fait l'honneur de présider ce jury
Je souhaite lui témoigner mon profond respect

J'exprime ma profonde reconnaissance et mes chaleureux remerciements à Madame le professeur **BENHAMZA Louiza**, Monsieur le professeur **BENNOUNE Omar** et Monsieur le Docteur **SAFSAF Boubkeur** pour leur participation à ce jury.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur le professeur **KAIDI Rachid** pour ses connaissances brillantes et pour sa participation à la direction de ce travail

Je tiens à remercier Monsieur le professeur **BENNOUNE Omar**, pour son aide, sa disponibilité et sa patience... Je vous remercie énormément pour vos conseils indispensables.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et mon profond respect à **madame le professeur RYMOND LETRON Isabel** et **Monsieur le professeur DELVERDIE Mexance** de l'ENVT, Toulouse, France, de m'avoir accueilli dans leur laboratoire lors de mon stage et de m'avoir confié ce sujet. Je vous remercie pour vos conseils avisés, éclairés et très constructifs.

Je tiens également à remercier **Monsieur le professeur ALBERTO MARIA Luciano** de l'université Degli stadi, Milan, Italie de m'avoir accueilli dans son laboratoire lors de mon stage. Je vous remercie pour nos discussions très précieuses.

L'aboutissement de ces travaux n'aurait pas été possible sans le soutien scientifique et technique de :

Laboratoire de Biotechnologie des Molécules Bioactive et Physiopathologie Cellulaire, département de Biologie des Organismes, Université Batna2 ;

Laboratoire d'Anatomo-pathologie de l'ENVT. Toulouse, France ;

Laboratoire de Biologie de la Reproduction et de Développement. Milan. Italie ;

Laboratoire d'Anatomopathologie de CHU de Batna ;

L'abattoir communal de Batna.

Dédicaces

*Je tiens d'abord de remercier ALLAH tout puissant, de m'avoir donné, force, courage, et patience
durant la réalisation de cette thèse.*

A l'espoir de **mon père**

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A **mon mari**

qui a toujours eu confiance en mes capacités et qui m'a soutenu pendant mes études malgré les obstacles. Merci d'avoir été toujours là et de m'avoir encouragé pendant mes moments de stress et de joie. Tu es un des principaux piliers et acteurs dans la réussite de cette thèse.

A **mes enfants** : Axel et Itheri

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous

A **ma Mère**

Merci d'avoir toujours été là pour moi. Si j'ai pu faire ce que je voulais c'est grâce à vous et tous les sacrifices que vous avez fait pour moi depuis mes années d'études.

A **mon frère Nassir**

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A toute **ma famille** et **ma belle-famille**,

Pour m'avoir beaucoup apporté à différentes étapes de ma vie, je vous remercie de tout mon cœur

A mon amis **HAFAF Samia**

Pour votre pr

ésence constante, dans les bons et les moins bons moments, votre aide et votre soutien

Liste des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie bibliographique

CHAPITRE I Aspects histologiques et cytologiques du cervix et de l'utérus

I.1. Aspects histologiques de l'endomètre	1
I.1.1. L'épithélium de surface	2
I.1.2. Stroma.....	3
I.1.3. Glandes utérines	3
I.2. Histologie du cervix	5
I.2.1. Glandes cervicales	6
I.3. Aspects cytologiques.....	7
I.3.1. Méthodes de prélèvement cytologique	7
I.3.1.1. Méthode par écouvillonnage	8
I.3.1.2. Méthode par lavage utérin	8
I.3.2. Eléments d'un frottis cytologique cervicale et utérin.....	8
I.3.2.1. Cellules épithéliales.....	8
I.3.2.2. Cellules inflammatoires.....	9

CHAPITRE II Aspects Morphologiques et Endocriniens du cycle oestral

II.1. Aspects morphologiques du cycle oestral.....	11
II.1.1. Dynamique folliculaire inter-œstrale	11
II.2. Régulation de la dynamique folliculaire	14
II.2.1. Gonadotrophines et stéroïdes ovariens	14
II.3. Lutéinisation : aspects morphologiques et endocriniens	16

CHAPITRE III

Récepteurs Nucléaires des Stéroïdes Ovariens

III.1. Progestérone et ses récepteurs	17
III.1.1. Rôles physiologiques de la progestérone sur l'endomètre	17
III.1.1.1. Effets sur la différenciation cellulaire	18
III.1.1.2. Effets sur l'implantation	18
III.1.2. Mécanismes de signalisation de la progestérone	18
III.1.2.1. Définition de RP	19
III.1.2.2. L'expression de RP	19
III.1.2.3. Structure et iso -formes des RPs	19
III.1.3. Mode d'action des RPs	21
III.1.3.1. Voie génomique directe	21
III.1.3.2. Voie extranucléaire indirecte	21
III.1.4. Rôles physiologiques des RPs	23
III.2. Œstrogènes et leurs récepteurs (RE)	23
III.2.1. Rôles des œstrogènes	23
III.2.2. Mode d'action des œstrogènes	24
III.2.2.1. Sous type $RE\alpha$	24
III.2.2.2. Sous type $ER\beta$	25
III.2.3. Voies de signalisation des œstrogènes	25
III.2.3.1. Voie ERE dépendent	26
III.2.3.2. Voie ERE Indépendante	26
III.2.3.3. Voie indépendante du ligand	26

Partie expérimentale

CHAPITRE I

Matériel et Méthodes

1.1. Protocole expérimentale	28
I.1.1. Collecte des échantillons	28

I.1.2. Dosage des hormones sexuelles	28
I.1.3. Etude histo-morphométrique	29
I.1.3.1. Technique histologique	29
I.1.3.2. Analyses morpho-métriques de l'endomètre.....	30
I.1.4. Etude immuno-histochimique	31
I.1.4.1. Mise en évidence des récepteurs hormonaux	31
I.1.4.2. Interprétation des résultats d'immuno-histochimie	32
I.1.5. Etude de la cytologie cervicale et utérine	33
1.2. Analyses statistiques	33

CHAPITRE II

Résultats et Discussion

II.1. Dosage des hormones sexuelles.....	34
II.2. Changements Histologiques de l'endomètre	35
II.2.1. Changements de l'épithélium luminal (EL).....	37
II.2.2. Changements histologiques des glandes endométriales (GE)	39
II.3. Changements morphométriques de l'endomètre	41
II.3.1. Mesure de la hauteur de l'épithélium luminal et glandulaire	41
II.3.2. Corrélations entre les hormones ovariennes et la HCE	45
II.3.3. Mesures morphométriques des glandes	47
II.3.3.1. Densité	47
II.3.3.2. Surface et périmètre des glandes.....	48
II.4. Expression des RE α et RP au niveau de l'endomètre	50
II.4.1. Immuno-localisation de RE α	50
II.4.2. Immuno-localisation des RP	53
II.4.3. Immuno-localisation de RE et RP au niveau du cervix	57
II.5. Etude de la cytologie cervicale et utérine	61
II.5.1. Etudes de la cytologie du cervicale.....	62
II.5.2. Etude de la cytologie utérine.....	64

II.5.3.	Lien entre la cytologie cervicale et utérine	66
II.5.4.	Corrélation entre la cytologie cervico-utérine et les hormones stéroïdiennes	68

References bibliographiques

Conclusion

Liste des Abréviations

ADNc : Acide Desoxyrobonucleique complementaire.

AF 1,2,3 : Activation Function.

AP-1 : Activator Protein 1.

C/EBP- β :CCAAT-Enhancer-Binding Proteins.

CJ : Corps jaune .

DBD : DNA Binding Domain.

EGF : Epidermal Growth Factor.

EL : épithélium luminal.

eNOS : Synthase endothéliale d'oxyde nitrique.

EREs :Eléments de réponse de l'œstrogène.

ERH : Elément de réponse hormonale

ESR1 : Estrogen receptor 1.

EGFR: Récepteur de l'EGF

FGF: Fibroblast growth factor.

GF : Growth factor.

GPR305 : G Protein-coupled Receptor 30.

GH: Growth hormone.

GS: Glandes superficielles.

GP: Glande profonde.

H 1,12 : Hélice 1 ,12 .

Hand2: Heart- and neural crest derivatives-expressed protein 2.

17 β HSD : 17 β hydroxylé stéroïdes .

3 β HSD : 3 β hydroxylé steroids.

HSP : Protéines de choc thermique.

ID : Domaine inhibiteur .

IGF1 : Insulin-like growth factor 1.

IGF-1R : insulin-like growth factor 1 (IGF-1) receptor.

IFNt : Interféron tau.

LBD : Ligand bindingdomain Un domaine de liaison du ligand .

mPR : Récepteurs membranaires non génomiques de la progestérone.

MUC-1 : Mucin-1.

NF- κ B : Nuclear factor-kappa B .

PGRMC : Récepteurs membranaires de la progestérone.

PIH : Pregnancy-induced hypertension.

PLC : Phospholipase C.

PL : Placental lactogen.

PRE : Eléments de réponse à la progestérone

PRL : Prolactine.

q : Bras long de chromosome.

RAF : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma.

RAS : Ras-related C3 botulinum toxin substrate.

RE : Récepteur des oestrogènes.

RFSH : Récepteur de Hormone Folliculo-Stimulante.

RLH : Récepteur de l'Hormone Lutéinisante.

RP : Récepteur nucléaire de la progestérone.

SP1: Specificity Proteine 1.

Liste des figures

Figure 1. Structure de la corne utérine de la vache en métoestrus.....	1
Figure 2 . Coupe histologique de la corne utérine de la vache..	2
Figure 3. Surfaces caronculaire de l'endomètre de Buffle d'Afrique	3
Figure 4. Coupe histologique de l'endomètre de buffle	4
Figure 5. Morphologie de la partie craniale (endo-cervix) (A) et caudale (exo-cervix) (B) du col de brebis le jour 1 après l'œstrus (jour 0)..	6
Figure 6. Cellules endométriales en phase folliculaire chez la vache	9
Figure 7. Aspect cytologique de neutrophile (a gauche), éosinophile (au milieu) et lymphocytes (a droite) .	9
Figure 8. Représentation schématique des différents stades de croissance des follicules	12
Figure 9. Représentation schématique de déroulement d'une vague folliculaire ovulatoire.	13
Figure 10. Vagues folliculaires au cours d'un cycle oestral chez la brebis	13
Figure 11. Recrutement, sélection et dominance montrant 3 vagues de croissance folliculaire durant le cycle œstral chez une vache.	14
Figure 12. La régulation physiologique de la teneur de la progestérone plasmatique chez la vache laitière..	17
Figure 13. Structure générale des RPs	20
Figure 14. Mode d'action du récepteur de la progestérone.	22
Figure 15. Voie extranucléaire indirecte du RP.....	22
Figure 16. Structures d'ER α et ER β	24
Figure 17. Voies de signalisation médiées par RE.	27
Figure 18. Système d'analyse d'image (software panoramic viewer) (3D Histech Ltd, Budapest, Hungary).30	
Figure 19. Méthode de mesure de la hauteur de l'épithélium glandulaire.....	31
Figure 20. Coupe histologique de l'endomètre (partie corne) de la vache au cours de la phase folliculaire (grossissement 100x ; 400x).....	36
Figure 21. Coupe histologique de l'endomètre de la brebis au cours de la phase folliculaire (coloration, H.E).	37
Figure 22. Aspect histologique des glandes superficielles (GS) et Profondes (GP) au cours de la phase folliculaire (coloration H.E)	40

Figure 23. Aspect de l'épithélium luminal de l'endomètre au cours de la phase folliculaire (A gauche) et lutéale (A droite) chez la vache (coloration H.E).....	41
Figure 24 . Variations de la HCE chez les vaches.....	42
Figure 25. Variations de la HCE chez la brebis.....	43
Figure 26. La densité des glandes superficielles et profondes chez la brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.	48
Figure 27. Mesures de la surface et le périmètre des glandes superficielles et profondes chez la brebis au cours de la phase folliculaire et profondes.	50
Figure 28. Immuno-localisation de RE endometrial chez la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale, exprimée en : Score d'intensité (IS), proportionnelle score(PS) et le quick score (QS).	50
Figure 29 . Immunolocalisation de RE α endométrial chez la brebis, exprimée en QS.	52
Figure 30. Immunolocalisation des RE α au niveau de l'endomètre de la vache cours de la phase lutéale (A droite) et folliculaire (A gauche) (coloration H&E).	53
Figure 31. Immuno-localisation des RPs endometriaux chez les vaches au cours de la phase folliculaire et Lutéale. Score d'intensité (IS), proportionnelle score(PS) et le quick score (QS).	53
Figure 32. Immunolocalisation des RPs au niveau de l'endomètre de la vache, au cours de la phase lutéale (coloration H&E).....	54
Figure 33. Quick score (QS) de RP endometrial chez la brebis au cours de la phase folliculaire et Lutéale.....	55
Figure 34. Quick score des RE α s au niveau du cervix de la vache. Effet de la région (a gauche) et la phase du cycle (à droite) sur l'expression de RE.....	57
Figure 35. Immunolocalisation des REs cervicaux au cours de la phase lutéale (a gauche) et folliculaire (a droite) (grossissement x 40, H.E) chez la brebis (Grossissement x40, H.E).	58
Figure 36. Immunolocalisation des RPs cervicaux au cours de la phase lutéale (A gauche) (Grossissement x100 H.E) et folliculaire (A droite) (grossissement x 40, coloration H&E) chez la brebis.....	58
Figure 37. Cytologie cervicale au cours d'un cycle oestral chez la brebis.....	62
Figure 38. Amas des cellules épithéliales cervicales.....	63
Figure 39. Cytologie utérine chez la brebis. A gauche l'effet de la région sur la cytologie utérine. A droite l'effet de la phase du cycle sur la cytologie utérine.....	65
Figure 40. Frottis utérin de la vache (grossissement. x 100, coloration May Giemsa).....	66
Figure 41. Effet de la région du prélèvement sur la cytologie pendant la phase folliculaire (a gauche) et lutéale (a droite) chez la brebis.	67

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques des cycles de quelques mammifères	11
Tableau 2. Scores d'immuno-histochimie des recepteurs hormonaux selon la méthode de Sağsöz <i>et al.</i> (2011).	32
Tableau 3. Concentration plasmatique de la progestérone et l'œstadiol-17 β au cours de la phase folliculaire et lutéale chez les brebis et les vaches (Moy $\pm$ SEM).	34
Tableau 4. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et la HCE des trois compartiments de l'endomètre chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.....	45
Tableau 5. Comparaison des mesures morphométriques des glandes superficielles et profondes de la corne et le corps utérin chez la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale	47
Tableau 6. Comparaison de la surface et le périmètre des glandes superficielles et profondes de la corne et le corps utérin chez la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale	48
Tableau 7. L'immunolocalisation des RE α endométriaux chez la brebis, exprimée en SI et le SP	51
Tableau 8. L'immunolocalisation des RP endométriaux chez la brebis, exprimée en SI et le SP	54
Tableau 9. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS de RP au niveau de trois compartiments endométriaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale..	56
Tableau 10. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS des RE α au niveau des trois compartiments endométriaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.	56
Tableau 11. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS des RP au niveau de quatre compartiments cervicaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.	61
Tableau 12. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS de RE α au niveau des quatre compartiments cervicaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.	61
Tableau 13. Evaluation de la cytologie cervicale au cours de la phase folliculaire et lutéale chez la vache laitière (Moy $\pm$ SEM).	64
Tableau 14. Evaluation de la cytologie utérine au cours d'un cycle oestral chez la vache laitière (Moy $\pm$ SEM).	66
Tableau 15. Lien entre la cytologie cervicale et utérine au cours d'un cycle oestral chez la vache laitière (Moy $\pm$ SEM).	67
Tableau 16. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et la cytologie cervico-utérine chez la vache et la brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.	68

INTRODUCTION

Introduction

Au cours de ces dernières décennies, une forte dégradation de la fertilité est constatée dans le cheptel ovin et bovin de notre pays, particulièrement chez les vaches laitières hautes productrices, ce qui répercute sans doute sur la rentabilité économique des exploitations de ces élevages. Parmi les facteurs ayant un impact sur les performances de la reproduction, les problèmes liés à la réceptivité utérine [1,2].

En effet, une désynchronisation entre l'utérus (endomètre) et le stade de la croissance du *conceptus* cause des mortalités embryonnaires précoces et des retours en chaleurs responsables des pertes économiques énormes chez les ruminants. Cette étroite relation entre l'embryon et les milieux utérins peut être attribuée à un allongement de la vie préimplantatoire chez ces espèces, dont la durée varie entre 19-20 jours, ce qui rend l'embryon très dépendant aux sécrétions utérines « *histotroph* » durant cette période critique

La connaissance du statut physiologique de l'utérus, les facteurs associés à leur altération et les outils de diagnostic, constituent les meilleurs moyens pour rétablir le potentiel de reproduction au sein des élevages ovins et bovins, surtout durant la période péri-implantatoire. En effet, une meilleure gestion de cette période, dépend en premier lieu sur une bonne synchronisation entre le *conceptus* et l'environnement utérin, et secondairement, sur les profonds remaniements structuraux et fonctionnels de l'endomètre indispensables à l'élongation, à l'apposition et à l'attachement du blastocyste sur les cellules épithéliales de l'endomètre.

En plus des problèmes liés à la santé utérine, les perturbations du profil endocrinien semblent jouer un rôle crucial dans le déclin de la fertilité, surtout, chez les vaches laitières hautes productrices [3,4]. L'altération de l'activité sécrétrice des glandes endométriales et le raccourcissement de la phase lutéale sont les conséquences majeures de cette perturbation [5].

Les modifications de l'utérus sont finement contrôlées par les stéroïdes ovariens, principalement la progestérone [6,7]. Récemment, de nombreux travaux ont prouvé l'impact de ces stéroïdes sur le transcriptome et le profil de l'expression génique de l'endomètre chez la vache et la brebis [8,9].

Afin de maintenir leurs fonctions physiologiques, l'utérus et le cervix, subissent des modifications structurales, biochimiques et morphologiques caractérisées par une prolifération, différenciation et une apoptose des cellules. Ces changements ont pour finalité de créer un environnement adéquat pour l'implantation. Ils sont finement contrôlés par de multiples facteurs paracriniens et endocriniens dont les œstrogènes et la progestérone. L'action de ces deux hormones est médiée principalement par des récepteurs nucléaires spécifiques (RE et RP pour l'œstrogène et

progestérone respectivement) détectés aux niveaux des cellules épithéliales, stromales et musculaires de l'utérus et le cervix.

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour apprécier le statut de l'utérus et le cervix : l'histologie et la cytologie apparaissent comme des outils très appropriés pour étudier les modifications physiologiques et pathologiques de l'appareil reproducteur femelle. Récemment, la méthode de la morphométrie assistée par un ordinateur est employée pour décrire avec plus de précision les variations morphologiques de l'endomètre chez la vache au cours de la gestation et durant le cycle œstral. Cette technique, est largement utilisée pour apprécier le rôle des contraceptives sur les changements cycliques de l'endomètre chez la femme [10]. Cependant, chez les ruminants les mécanismes physiologiques des remaniements histologiques restent inconnus.

Afin de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans les changements histo-morphologiques de l'endomètre et du cervix chez les brebis et les vaches au cours des deux phases du cycle œstral, la présente étude vise dans un premier temps, à analyser l'impact des stéroïdes ovariens sur l'aspect histomorphométrique de l'endomètre. Ainsi, d'élucider la relation entre le statut hormonal et les changements de l'expression des récepteurs des œstrogènes et de progestérone au niveau de la muqueuse cervicale et utérine, en tenant compte de la diversité des compartiments histologiques (cellules épithéliales luminales et glandulaires) d'une part et de chercher d'éventuels liens entre ces deux paramètres d'autre part.

Dans un deuxième temps, notre travail vise à évaluer les changements cytologiques utérins et cervicaux d'une part et la recherche de corrélations entre ces deux compartiments anatomiquement et histologiquement distincts.

Ce manuscrit comporte une partie bibliographique à travers laquelle des rappels histologiques et cytologiques de l'endomètre et le cervix, les aspects endocriniens et morphologiques du cycle œstral, et la description de la structure et les mécanismes d'actions des RE et RP ont été abordés.

Dans la seconde partie, après la mise au point des techniques expérimentales utilisées dans notre travail qui consiste à l'étude histo-morphométrique des différents compartiments endométriaux, l'immuno-localisation des RP et RE au niveau de l'endomètre et le cervix et finalement la cytologie de ces mêmes compartiments, les résultats obtenus seront exprimés et discutés.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

ASPECTS HISTOLOGIQUES ET

CYTOLOGIQUES DU CERVIX ET DE L'UTERUS

I.1 Aspects histologiques de l'endomètre

Chez les ruminants, l'utérus est composé de deux cornes enroulées reliées par un court corps. Il s'ouvre cranièlement aux oviductes et projet jusqu'au l'orifice interne du cervix [11]. Sur le plan histologique, trois couches peuvent être distinguées, la muqueuse intérieure (endomètre), la musculuse (myomètre) et la tunique séreuse externe (périmètre) [12].

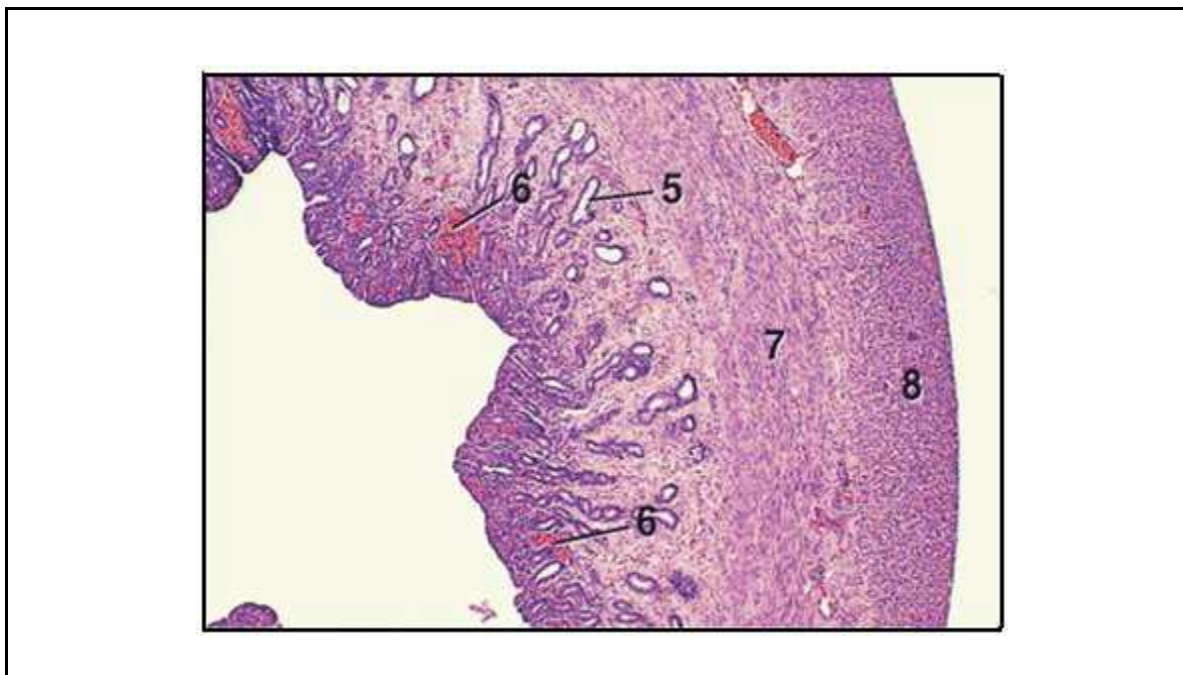


Figure 1. Structure de la corne utérine de la vache en métoestrus (x 25). 5. Glande utérine, 6. Régions hémorragiques, 7. Couche profonde circulaire du myomètre, 8. Couche superficielle longitudinale du myomètre [12].

L'endomètre désigne la muqueuse qui tapisse le corps et les cornes utérines. Il est épais et molle présentant des plis longitudinaux fragmentés en caroncules. Il est composé de l'extérieur vers l'intérieur par un épithélium de surface ou luminal, un tissu conjonctif sous adjacent, dont le quel on distingue un stroma compacte et spongieux, des glandes, des vaisseaux sanguins et des cellules immunitaires [12–14] **[Figures 1]**.

Sur le plan anatomo-histologique l'endomètre des ruminants est caractérisé par deux régions distinctes : la première consiste à une proéminence aglandulaire appelée caroncule, considérée comme un site d'adhérence embryonnaire. Cependant, la deuxième zone intercaronculaire est très glandulaire **[Figure 2]**. Ces glandes, synthétisent, sécrètent ou transportent une variété d'enzymes, de facteurs de croissance, de cytokines, de lymphokines, des hormones, des protéines de transport, et d'autres substances appelée collectivement «histotroph». Cette substance est responsable de la croissance, du

développement et l'apparition de signaux de reconnaissance de la gestation, et l'implantation / placentation [15–19].

Les glandes utérines peuvent apparaître au niveau de la couche la plus profonde des caroncules, mais leur origine était la région intercaronculaire [20–22] **[Figure 2]**.

I.1.1 L'épithélium de surface

Chez la vache et la brebis, l'utérus est limité généralement par un épithélium cylindrique simple ou pseudo- stratifié au cours du cycle œstral. Il devient cubique au cours de l'anoestrus . Cette barrière épithéliale est composée deux types cellulaires irrégulièrement mêlés, les unes ciliées, pourvues d'un noyau ovalaire ou sphéroïde, les autres non ciliées, de type sécrétoire dont le noyau est plus étroit et allongé [21,22].

La proportion des ces deux types cellulaires varie selon les endroits et les périodes, comme dans la trompe utérine. Par exemple, les cellules ciliées sont peu nombreuses durant la puberté, plus abondantes chez l'adulte et qu'elles se raréfient pendant l'œstrus et le métoestrus [21,22].

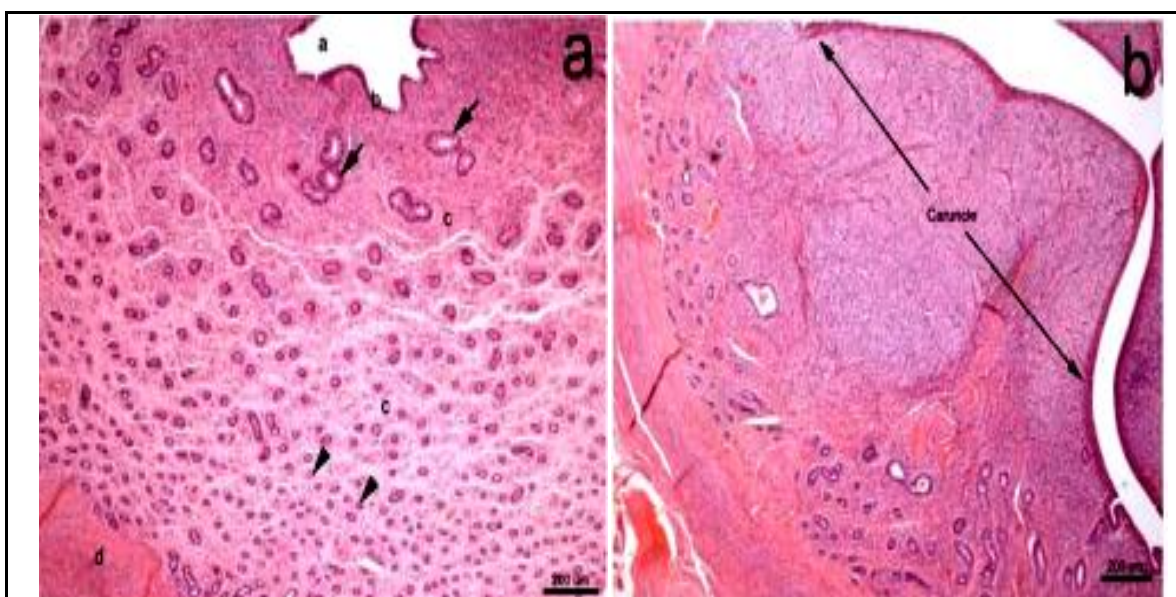


Figure 2 . Coupe histologique de la corne utérine de la vache. La zone intercaronculaire (a) la zone caronculaire (b) la lumière utérine (a), l'épithélium utérin (b), la couche conjonctif sous-épithélial (c), la couche musculaire (d), les glandes endométriales superficielles (flèches) et les glandes endométriales profondes (pointes). Coloration H & E [22].

L'épithélium de surface est séparé du stroma par une mince membrane basale (lamina propria). Ces deux structures ont souvent une apparence ondulée dans les zones caronculaires, ce qui en résulte une série de crêtes et de dépressions intermédiaires [23]**[Figure 3]**.

Le rapport entre la hauteur de la cellule à la hauteur de noyau est de 1,8: 1 et 1,5: 1 dans les zones caronculaire et intercaronculaire, respectivement. **Schmidit et al., (2006)** ont constaté une présence d'une infiltration lymphocytaire intra-épithéliale ; qui se répartit d'une manière aléatoire tout au long de l'épithélium [23] **[Figure 3]**.

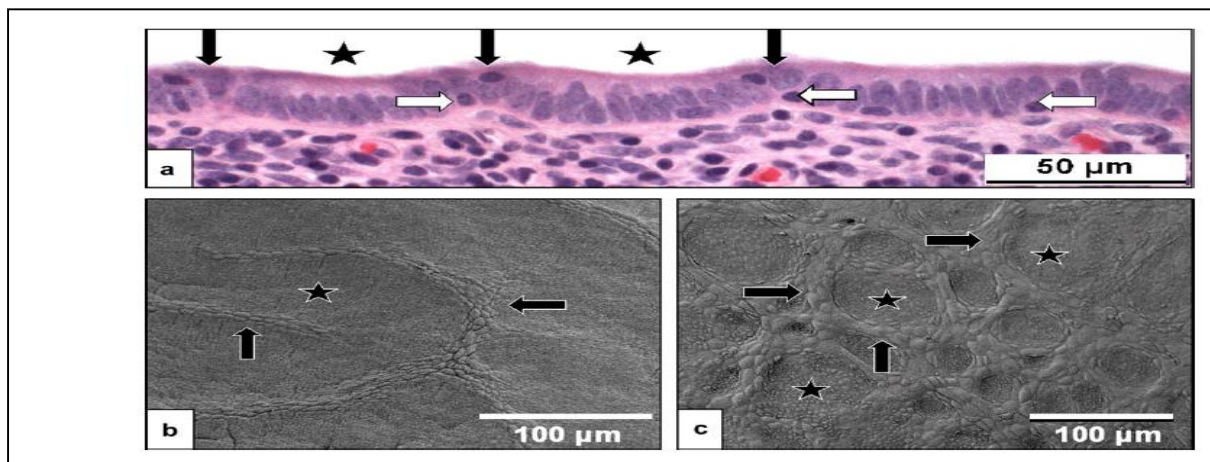


Figure 3. Surfaces caronculaires de l'endomètre de Buffle d'Afrique, (a) en microscope photonique, (b,c) en microscope électronique. (a) l'épithélium cylindrique simple de surface avec une lamina propria adjacente présente une apparence ondulée distincte. Crêtes (flèches noires), les dépressions (étoiles), lymphocytes intraépithéliaux (flèches blanches). (b et c) des cellules épithéliales crêtes cellulaire (flèches noires), dépressions peu profondes (étoiles) de différents diamètres [23].

I.1.2 Stroma

Il représente la majeure partie de l'endomètre, la densité des fibres de collagène permet de distinguer deux couches: le stratum compactum au contact de l'épithélium et le stratum spongium la partie plus profonde au-dessus de la couche musculaire [21].

En plus de ces fibres de collagène, le stroma comporte deux types de cellules : les cellules fixes ou réticulaires et les cellules mobiles comme : les lignées histiocytaires, mastocytaires et granulocytaires. Les lymphocytes y sont également en grand nombre **[Figure 3]**.

I.1.3 Glandes utérines

L'endomètre présente deux types des glandes : les internes siègent au niveau du stroma superficiel (glande superficielle) et les externes sont situées contre le myomètre et sont nommées les glandes profondes. Ces glandes endométriales varient dans leur forme et leur architecture selon la période du cycle, mais elles restent des glandes tubuleuses simples qui débouchent dans la lumière utérine [22,24,25].

Le développement et la morphogenèse de ces glandes sont des événements exclusivement post-natales chez les ruminants. Ils commencent sous forme des

invaginations de l'épithélium luminal (LE) qui envahissent progressivement le mésenchyme, entraînant finalement un réseau de glandes épithéliales tout au long du stroma. Tandis que, la capacité fonctionnelle de l'utérus adulte est établie par événements de développement associés à la "programmation" des tissus utérins pendant la période de la vie prénatale et postnatale.

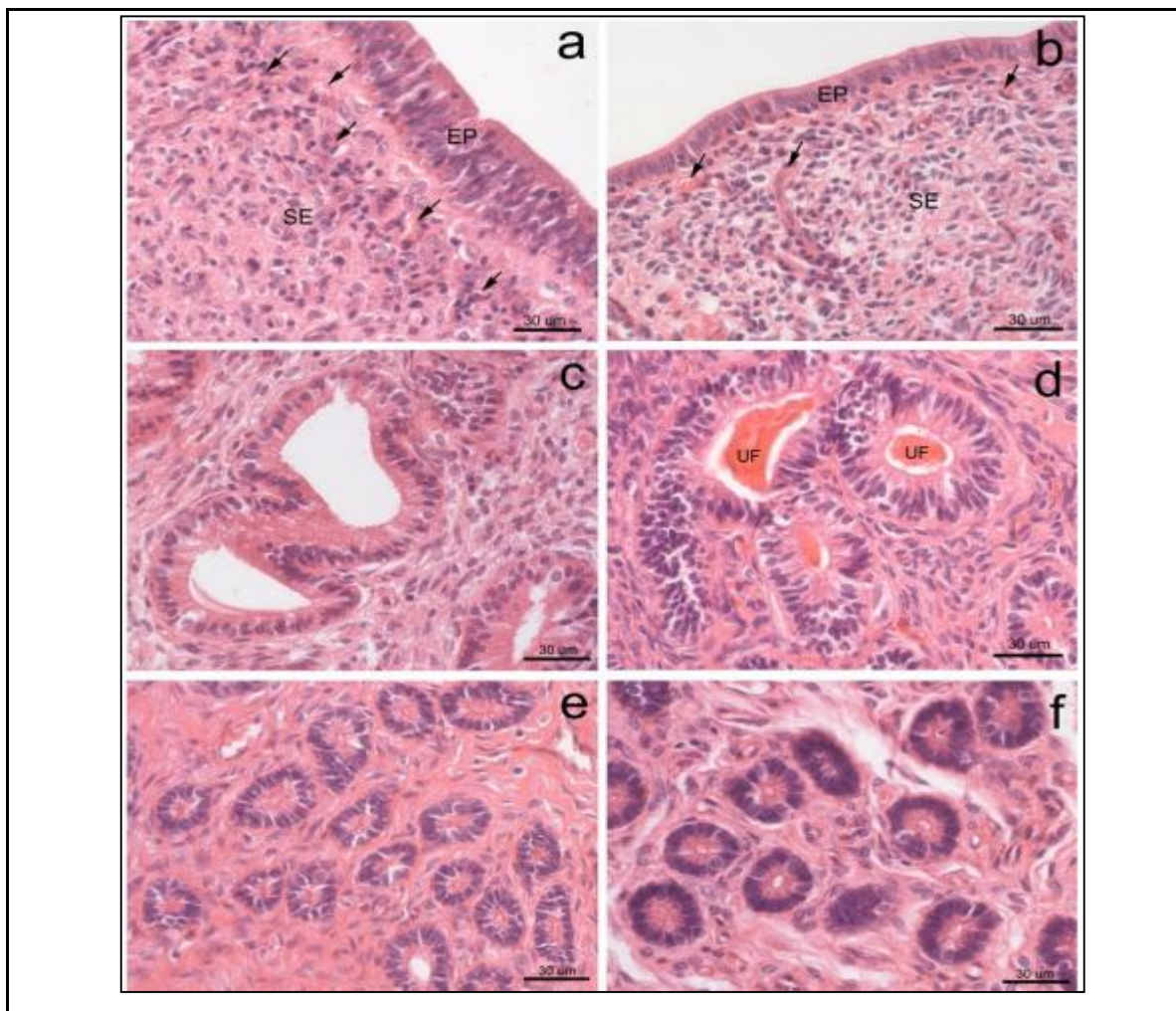


Figure 4. Coupe histologique de l'endomètre de buffle: la lumière de l'épithélium utérine (a, b) ; les glandes superficielles de l'endomètre (c, d) et les glandes endométriales profondes (e, f) ; en phase folliculaire (a, c, e) et le mi de la phase lutéale (b, d, f). Epithélium utérin (EP); couche sous-épithélial (SE); lait utérin (UF); Capillaires (flèches). Coloration H & E [22].

D'une façon générale, l'épithélium glandulaire superficiel est de type pseudo-stratifié cylindrique d'une façon générale, mais on peut déceler quelques zones cylindriques simples [Figure 4]. Il comprend aussi des cellules ciliées et sécrétrices. **Paisan Tienthai et al. 2013** [22], ont montré la présence des gouttelettes de sécrétion nettement saillie à partir de l'épithélium glandulaire superficiel au milieu de la phase lutéale et un fluide utérin accumulée à l'intérieur de la lumière de ces glandes [Figure 4]. Cependant, l'épithélium cylindrique simple voir cubique, était le type majoritaire au

niveau de l'épithélium glandulaire profond pendant les deux phases du cycle œstral chez la vache.

I.2. Histologie du cervix

Le cervix est organe fibreux, tubulaire de consistance dure, facilement repérable à l'examen transrectale. D'après **Bacha et Bacha, 2000** [12], cet organe présente une très grande variation morphologique selon les espèces, ce qui reflète les différents mécanismes physiologiques du transport du sperme et de la parturition. Pour ces raisons le canal cervical peut être droit ou peut contenir des plis annulaires ou des anneaux muqueux, qui se projettent dans la lumière. Il peut y avoir un seul ou double canal (chez le rat). Chez les ruminants, le col utérin est projeté dans le vagin via l'orifice cervical externe. Il mesure de 7 à 8 cm et de 4-10cm chez les vaches et les brebis respectivement [26–28]. Chez ces deux espèces, la lumière du col est très compliquée et tortueuse due à la présence d'anneaux cervicaux qui pointent en direction caudale fournissant une barrière physique contre les contaminations externes. Sur le plan anatomique le cervix est subdivisé en deux grands segments [12,21]:

- Vaginal ou exocervix, qui forme une protusion dans le vagin et est revêtu d'un épithélium squameux, pluristratifié de type vaginal;
- Utérin ou endocervix, le canal cervical proprement dit, très sinueux, recouvert sur la majeure partie de sa longueur d'un épithélium prismatique, unistratifié de type utérin.

Sur le plan histologique le col utérin est subdivisé en trois tuniques : la muqueuse, la musculuse et la séreuse :

- **La muqueuse** : est une mince couche sécrétrice, formée des plis annulaires qui se projettent dans la lumière, mais elle forme également de nombreux petits plis. Elle est bordée d'un épithélium superficiel cylindrique, avec un petit nombre de mucocytes. Chez la brebis, la partie crâniale (près de l'utérus) et médiane du col, sont recouvertes par un épithélium cylindrique cilié simple. Alors que, au niveau de la partie caudale (près du vagin) des régions tapissées par un épithélium pavimenteux stratifié ont été également observées [29,30].

Concernant le stroma cervical, il est pourvu de nombreuses fibres de collagènes, qui lui donnent sa consistance ferme et se retrouvent jusqu'aux faisceaux les plus profonds de la musculature. Ces fibres sont susceptibles de se gonfler fortement sous l'influence des

hormones ovariennes et contribuent à modifier la consistance et l'aspect du col au cours de l'oestrus [26,27,29,31–33] .

Selon la densité et la composition cellulaire, le compartiment stromale est classé en deux couches histologiquement distinctes: le stroma sous-épithélial lâche (stroma superficiel) et le stroma dense au dessus de la musculuse (stroma profond). Cette dernière couche se distingue de la première par la présence de cellules musculaires lisses, intercalées entre les fibroblastes. Dans la couche stromale superficielle les cellules musculaires lisses sont principalement d'origine vasculaire [32–34] .

➤ **La musculuse** : constituée d'une couche de muscles longitudinaux externes lisses et une épaisse couche musculaire circulaire interne. Chez les bovins, la couche externe est assez épaisse par rapport à celle des autres espèces. Dans la partie caudale (orifice vaginale), la couche musculaire est relativement mince par rapport à la couche stromale, tandis que la couche musculaire de la partie crâniale est beaucoup plus épaisse [29,33,34].

➤ **La sereuse** : est constituée d'une couche épaisse de tissus conjonctif lâche et de vaisseaux sanguins [29].

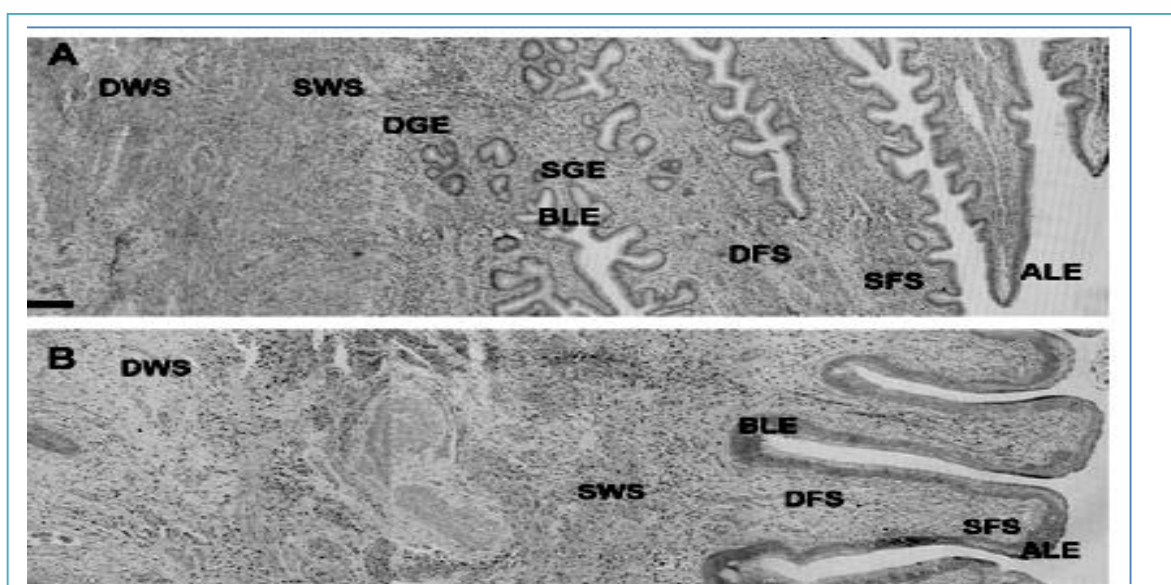


Figure 5. Morphologie de la partie crâniale (endo-cervix) (A) et caudale (exo-cervix) (B) du col de brebis le jour 1 après l'oestrus (jour 0). ALE et BLE, épithélium luminal apicale et basale; SGE et DGE, épithélium glandulaire superficielle et profonde; SFS et DFS, stroma des plis superficiels et profonds; et SWS et DWS, Stroma superficiel et profond [32].

1.2.1 Glandes cervicales

Elles existent dans l'espèce humaine et parmi les mammifères domestiques, seulement chez les petits ruminants [32]. Elles sont tubuleuses, simples et peu nombreuses

chez ces animaux alors qu'elles sont plus nombreuses et ramifiées chez la femme. Leur épithélium est identique à celui de la surface, mais les mucocytes y sont plus abondants. Elles présentent de discrètes variations au cours des cycles sexuels.

L'épithélium glandulaire n'a été observée que dans la zone crâniale du col, et a été classé en deux compartiments histologiques, comme suit: l'épithélium glandulaire superficiel (SGE), qui est adjacente à la lumière du col utérin et dans la couche stromale conjonctive lâche, et l'épithélium glandulaire profond (DGE), qui représente la couche stromale conjonctif dense [35]. Toutefois, il a été rapporté que les glandes tubulaires à la base des plis du col utérin ont été trouvées tout au long du cervix de brebis exposée chroniquement aux phytoestrogènes [36–38].

I.3. Aspects cytologiques

La cytologie est un outil de diagnostic fréquemment utilisée chez plusieurs espèces. Cette technique est pratiquée par plusieurs domaines médicaux : l'hématologie, la cancérologie et gynécologie. Chez le male l'examen cytologique de la semence est indispensable avant la fécondation ou la récolte des semences pour la congélation. Elle permettra l'appréciation de la qualité de la semence et détection des éventuelles pathogènes transmissibles sexuellement[39–42].

La cytologie endométriale est une technique d'une grande importance particulièrement chez la jument et la femme. Elle fait partie de l'examen de routine de l'exploration physiologique et pathologique de multiples problèmes de l'infertilité dont les endométrites subcliniques. Chez la vache, **Gilbert *et al.* (1998)** sont les premiers qui ont proposé l'examen cytologique de l'endomètre [43]. Cependant, chez les ovins cette technique est proposée par **Ahmadi et Nazifi 2006** [41].

Depuis l'année **2004**, elle est devenue une technique expérimentale de référence pour l'appréciation des différentes catégories des endométrites chez la vache. Bien que, la cytologie est plus sensible que la bactériologie. Malheureusement, cette technique ne fait pas partie d'examen de routine chez les ruminants [44].

I.3.1 Méthodes de prélèvements cytologiques

Plusieurs dispositifs ont été décrits pour la réalisation du prélèvement cytologique utérin.

I.3.1.1 Méthodes d'écouvillonnage

Réalisée soit à l'aide d'un écouvillon ou une cytobrosse. Cette méthode consiste à introduire un écouvillon stérile préalablement protégé des contaminations par une main gantée de l'opérateur, jusqu'au passage de l'entrée du col. il semble que la technique du cytobrosse apporte les meilleurs résultats pour l'étude cytologique [42,44,45].

I.3.1.2 Méthode de lavage utérin

Elle consiste à introduire une petite quantité du liquide physiologique tamponné, ne dépasse pas les 250ml, dans la cavité utérine à l'aide d'une seringue. Le liquide aspiré est ensuite centrifugé afin d'utiliser le culot récupéré. Cette technique semble altérer la fertilité de l'animal, suite aux traumatismes de l'endomètre [44,46,47].

I.3.2 Eléments d'un frottis cytologique cervicale et utérin

Différents types cellulaires peuvent être observés sur des frottis cervicaux et utérins : des cellules épithéliales, des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes, des éosinophiles, des macrophages, des globules rouges, des micro-organismes et des squames. Il a été décrit que la présence d'un grand pourcentage de cellules épithéliales dans un frottis permet de s'assurer la bonne qualité du prélèvement [41,48–52].

Plusieurs critères ont été décrits pour interpréter les résultats et la lecture des lames cytologiques. Selon de nombreuses études, il faut prendre en considération, le nombre de neutrophiles par champ, le nombre de neutrophiles par lame, le rapport neutrophiles/cellules épithéliales ou encore le pourcentage de neutrophiles par rapport au nombre total de cellules. Il a été rapporté que le chimiotactisme de neutrophiles présent des fluctuations physiologiques dépend du stade du cycle œstral [41,42,53].

I.3.2.1 Cellules épithéliales

Sont des cellules polarisées avec un pôle apical tourné vers la lumière de la cavité et un pôle basale dirigé vers le tissu conjonctif sous-jacent, qui se repose sur une lame basale (avec la présence de grains de mucus au pôle apical), elles sont rencontrées isolées ou en amas **[Figure 6]**. Les cellules épithéliales sont parmi les premiers moyens de défense vis-à-vis aux agressions externes. Elles participent à la production de la défensine (peptide antimicrobien) [54–56].

Ces cellules ont de complexes et importantes fonctions : la présentation de l'antigène [54], la synthèse et transport des immunoglobulines et la production des chimokines qui interviennent dans le phénomène de la diapédèse des lymphocytes et des

neutrophiles vers les lumière cervicale et utérine [55,57]. Elles participent également à la synthèse des PGF et PGE [58].

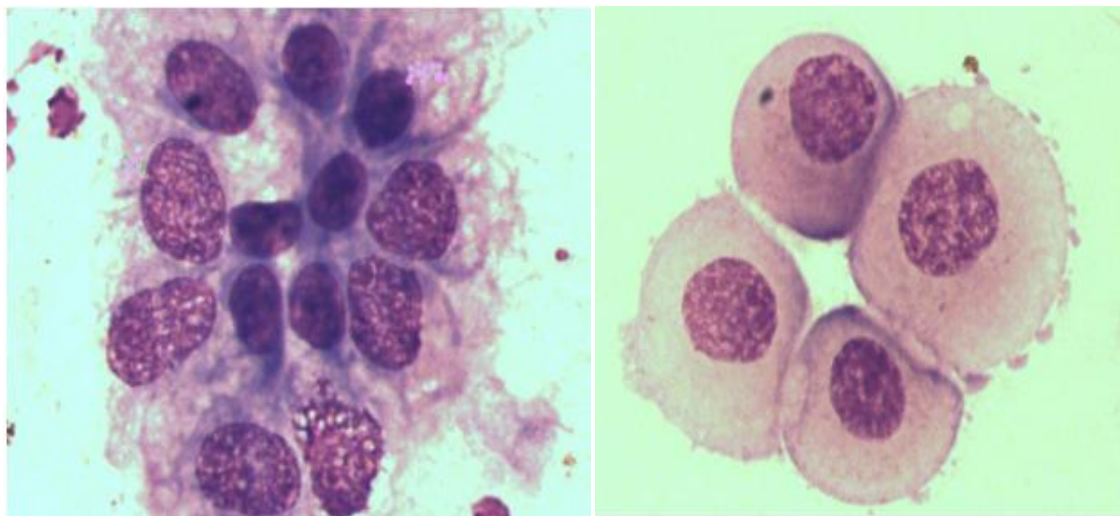


Figure 6. Cellules endométriales en phase folliculaire chez la vache [53].

I.3.2.2 Cellules inflammatoires

➤ Granulocytes neutrophiles

Représentent la population cellulaire prédominante des leucocytes dans un frottis cervicale ou utérin. Sa présence dans la lumière de ces deux compartiments est plus importante lors d'un processus inflammatoire. En effet, le frottis d'un utérus sain montre peu ou pas l'existence de neutrophiles. La forme de son noyau reflète son état d'activité : les jeunes neutrophiles avec un noyau polylobé incurvé en fer de cheval « non segmenté, elle représente la population dominante en cas d'un processus inflammatoire actif **[Figure 7]**. Des cellules dégénérées (cytoplasme gonflées avec absence des lobules) sont également remarquées dans ce cas [49–51,56,59,60].

Selon **Ahmadi et al. (2006)**, des fluctuations du taux de neutrophiles dans les frottis cervicaux et utérins sont observées au cours d'un cycle œstral. A cet effet, une augmentation significative du pourcentage de ces cellules est constatée principalement pendant le métoestrus [41,49].



Figure 7. Aspect cytologique de neutrophile (a gauche), éosinophile (au milieu) et lymphocytes (a droite) [61].

➤ **Eosinophiles** : leurs tailles moyennes varient entre 10 à 15µ. Possèdent un noyau bilobé anuclée avec une chromatine dense, un pont chromatinien incurvé relie les deux lobes [Figure 7]. Leur cytoplasme est acidophile avec de grosses granulations (rouge-orangé) à la coloration de May-Grünwald et Giemsa [62,63].

➤ **Basophiles** : ont un noyau volumineux et incisé le plus souvent. La particularité de ces cellules est la présence des grosses granulations basiques (bleu foncée), masquant parfois le noyau.

➤ **Lymphocytes -Plasmocytes**: petites cellules dont le diamètre compris entre 6 à 15 µm. Leurs noyaux sont arrondis ou ovoïdes. Présente une fine couche d'un cytoplasme plus ou moins basophile, finement granuleux autour du noyau [Figure 7]. . Ils ne sont pas toujours facilement distinguables d'autres cellules, notamment des cellules épithéliales dégénérées (perdues leurs cytoplasmes) [64].

➤ **Macrophages**: cellules volumineuses dont la taille varie entre 25-30 µm de diamètre, avec un cytoplasme acidophile abondant comprenant des vacuoles (intra cytoplasmiques) et parfois des particules phagocytées. Leur présence dans un frottis cervicale ou utérin est rare.

➤ **Autres éléments** : d'autres composants tels que les bactéries, les hématies et des débris de contamination fécale ont été occasionnellement détectés dans un frottis sains [65].

CHAPITRE II

ASPECTS MORPHOLOGIQUES ET

ENDOCRINIENS DU CYCLE OESTRAL

II.1 Aspects morphologiques du cycle oestral

Chez les ruminants, le cycle est divisé en deux phases: la phase lutéale, qui occupe environ 80% du cycle œstral et la phase folliculaire, représente seulement 20% [Tableau 1]. Selon la durée de vie du corps jaune et le nombre des vagues folliculaires la durée du cycle œstral peut aller de [18 à 24 jours] et de [17 à 21 jours] chez les bovins et les ovins respectivement [66,67].

Tableau 1. Caractéristiques des cycles de quelques mammifères [68]

Espèces	Durée du cycle (jours)	Phase lutéale (jours)	Phase folliculaire (jours)	Durée de l'oestrus	Moment de l'ovulation	
					Après le début des chaleurs	Après la fin des chaleurs
Vache	21 (18-25)	17 (15-19)	4 (2-5)	20h		10-12h
Brebis	17 (15-19)	15 (14-16)	2 (2-3)	24h	18-36h	
Jument	21 (16-30)	14 (12-15)	7 (4-15)	6j (2-14)	35-40h	
Femme	28 (24-35)	14 (12-17)	14 (12-18)		Vers le milieu du cycle	
Moyenne (min-max)						

Le développement des follicules ovariens ou la folliculogénèse suit une chronologie très bien connue chez les mammifères. Selon [69], cette étape commence à partir du 70ème jour de la gestation chez la brebis, l'âge à partir duquel les premiers follicules primordiaux seront formés.

À la naissance, les agnelles possèdent une réserve de 100 000 à 200 000 follicules et environ 500 000 chez la vache; mais, seulement quelques centaines d'entre eux ovuleront et la majorité des ovocytes s'atrophient ou dégénèrent [70]. Après la puberté, la croissance folliculaire devient rapide et aboutit à une (ou des) ponte (s) ovulaire (s) ou moment de l'ovulation et à la différenciation des cellules folliculaires, qui sont deux phénomènes étroitement imbriqués, suivi par un développement et une régression du corps jaune [71,72] [Figure 8] .

II.1.1 Dynamique folliculaire inter-œstrale

Au cours d'un cycle œstral, les ovaires sont le siège d'un processus continu et synchrone caractérisé par une maturation de l'ovocyte bloqué et une différenciation des cellules folliculaires, il s'agit d'un développement folliculaire terminal ou la folliculogénèse tardive. Chez plusieurs mammifères, cette étape se déroule par vagues successives et coordonnées. Ces dernières consistent à une croissance d'un ou plusieurs cohortes folliculaires depuis le stade cavitaire (antral) jusqu'au moment de l'ovulation ou l'atrophie [71,73,74].

Cette croissance terminale est strictement dépendante des hormones gonadiques principalement la FSH. C'est au cours de chaque cycle que s'effectue le recrutement, sélection et dominance folliculaire [Figure 8].

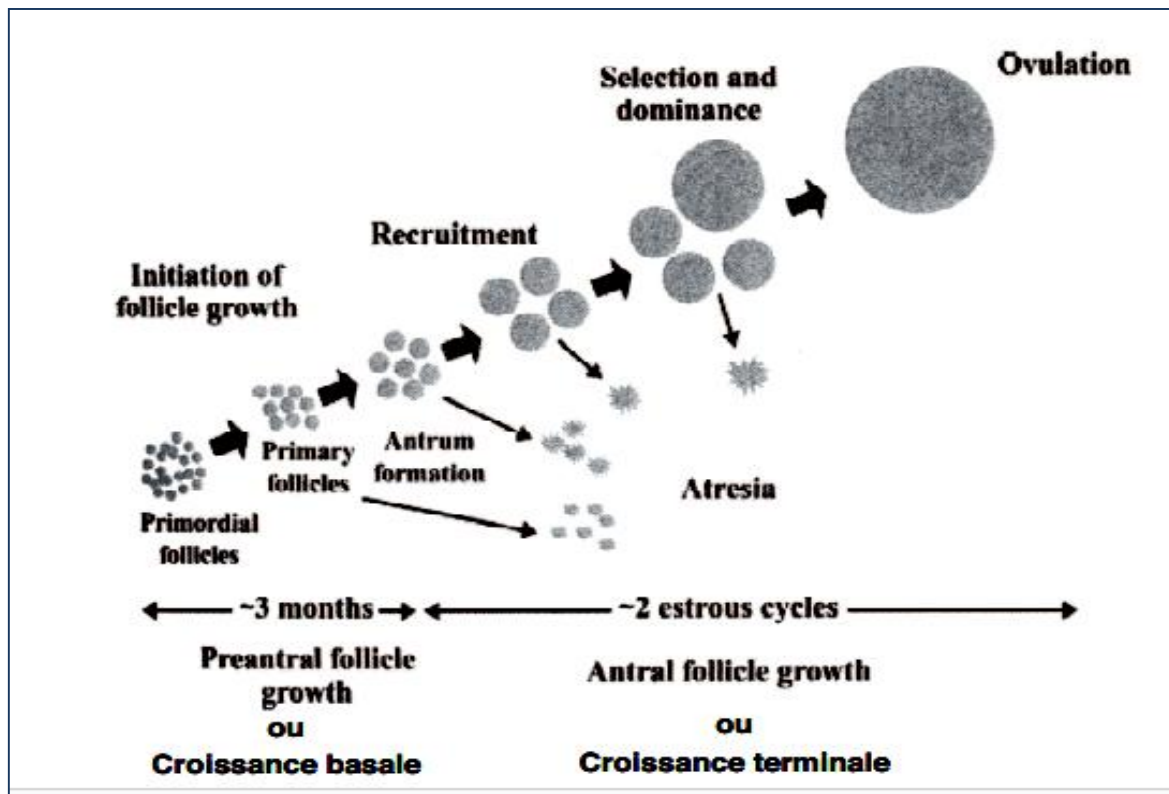


Figure 8. Représentation schématique des différents stades de croissance des follicules [75].

Chez les ruminants, un cycle ne comporte le plus souvent (dans 95% des cas) que deux ou trois cohortes folliculaires (occasionnellement quatre) espacées de sept à dix jours d'intervalle. Chaque vague folliculaire se développe autant pendant la phase folliculaire que durant la phase lutéale **[Figure 9, 10]**. En début de la phase lutéale (le jour de l'ovulation), une première cohorte folliculaire composée de 8-9 follicules de (2 à 3 mm) chez la vache et de 1-4 follicules de (3 à 5 mm) chez la brebis, gonado-dépendante va être recrutée [73,76].

Au bout de quelques jours, l'un (ou plusieurs) follicule(s) de cette cohorte devient (s) dominant (s) et le reste vont se diriger vers l'atrésie folliculaire, c'est la phase de la sélection ou la déviation folliculaire, qui est très courte chez les bovins, elle ne dépasse pas généralement 8 heures [71,72,76] **[Figure 9]**.

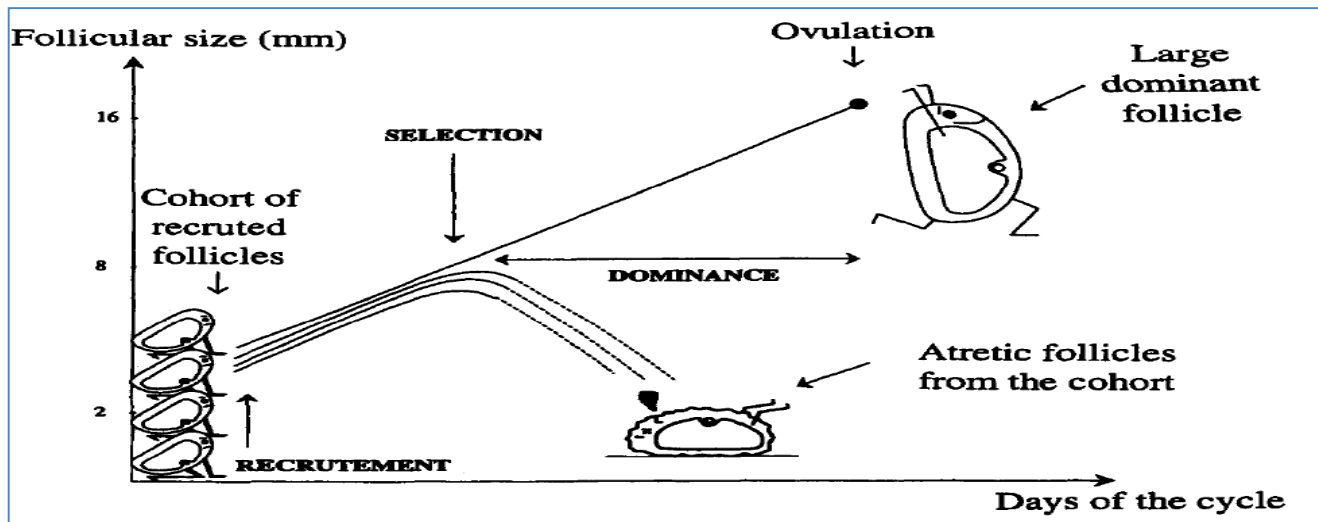


Figure 9. Représentation schématique de déroulement d'une vague folliculaire ovulatoire. A la phase du recrutement, une cohorte folliculaire gonado-dépendante émerge et commence sa croissance. A la sélection, le nombre des follicules en croissance égale le nombre d'ovulation. Un (des) follicule dominant (s) sélectionné (s) devient(s) pré-ovulatoire et le reste de la cohorte subissent l'atresie [68]

Au moment, de leur recrutement, tous les follicules ont la capacité d'être dominants [Figure 9,10]. Cependant, dès le troisième jour de recrutement, le (les) follicule (s) dominant (s) subit (s) une croissance rapide, il (s) atteint (s) approximativement(s) 8mm. Cette dominance coïncide avec l'apparition d'une activité aromatasase dans les cellules du granulosa, qui perdent progressivement leur pouvoir prolifératif et se différencient en cellules stéroïdogènes suite à l'augmentation de taux des œstrogènes plasmatiques d'origine thécale, ainsi le développement de la vascularisation thécale[75].

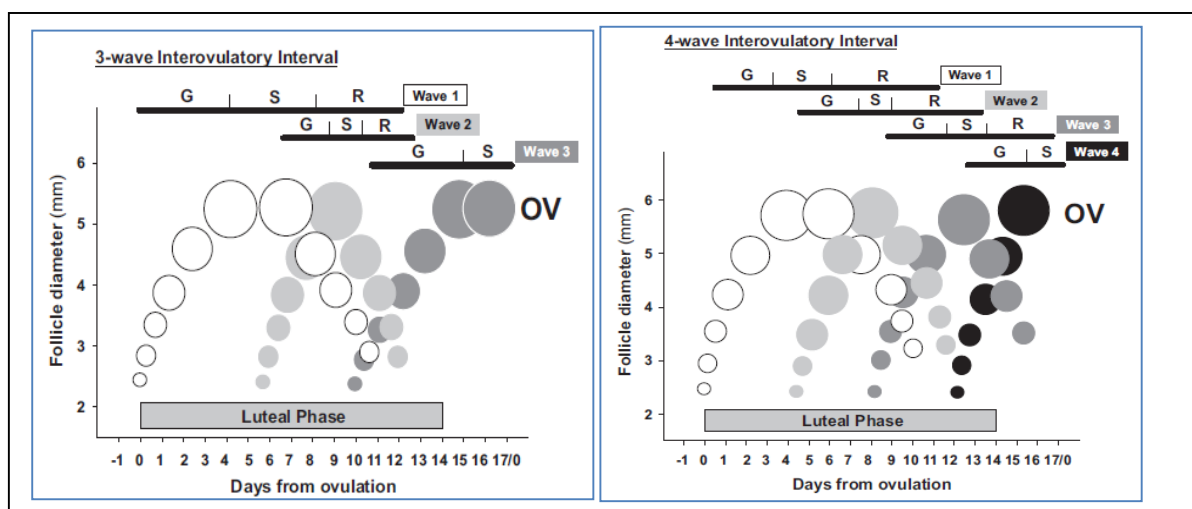


Figure 10. Vagues folliculaires au cours d'un cycle oestral chez la brebis .Wave interovulatory interval : vagues folliculaire entre deux ovulations ; G : phase de croissance, S : sélection, R : régression. Wave : vague ; Follicle diameter : diamètre d'un follicule ; OV : ovulation ; Days of ovulation : jours du cycle ; Luteal phase : phase lutéale [77].

Au cours de la phase de dominance, une réduction du nombre des follicules émergents ayant 4 à 6 mm de diamètre, est très remarquable chez la vache. Le jour de l'ovulation le (les) follicule (s) dominant (s) destiné (s) à ovuler atteint (s) une taille comprise entre 6-7 mm et 8 à 20mm de diamètre, chez la brebis et la vache respectivement. Généralement un cycle oestral chez les ruminants est caractérisé par trois à quatre vagues folliculaires. Bien que un cycle de deux vagues peut être observé chez la brebis [67,77] **[Figure 11]**. Chez cette dernière espèce, le follicule pré-ovulatoire est issu le plus souvent de la dernière vague [73,76] **[Figure 11]**.

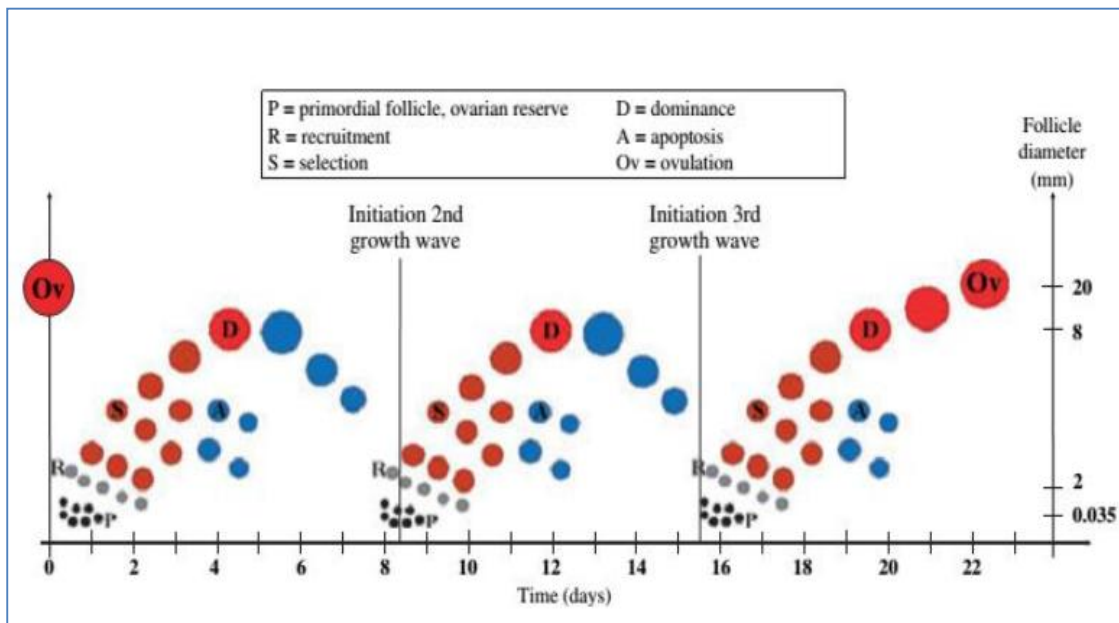


Figure 11. Recrutement, sélection et dominance montrant 3 vagues de croissance folliculaire durant le cycle œstral chez une vache. OV : ovulation ; Time (days) : jours du cycle ; Growth wave : vague de croissance folliculaire, P : Follicule primordiale, S : sélection ; R : Recrutement ; D : dominance ; Follicle diameter : Diamètre du follicule ; A : apoptose (atréxie folliculaire) [78].

II.2 Régulation de la dynamique folliculaire

II.2.1 Gonadotrophines et stéroïdes ovariens

Les hormones gonadotropes (FSH et LH) sont les principaux régulateurs du développement folliculaire terminal, communément décrit par le concept de cohorte folliculaire, elle correspond à un enchaînement de trois phases synchrones : émergence (recrutement), sélection et dominance comme il a été mentionné précédemment. Ces gonadotrophines agissent via des récepteurs membranaires couplés à la protéine G : RLH et RFSH pour LH et FSH respectivement. L'expression de ces récepteurs sur les cellules de la granulosa et thécales varie selon le diamètre du follicules et selon les espèces [78].

Le RFSH apparaît dès le stade de follicule primaire, leur réceptivité à la FSH augmente au cours de la croissance du follicule terminale (à une taille folliculaire de 2 mm et 4-5 mm chez la brebis

et la vache respectivement), ce qui coïncide au recrutement de la cohorte folliculaire. Pendant cette phase, Les RFSH sont localisés exclusivement sur les cellules de la granulosa, ils induisent une prolifération importante de ces cellules (effet mitogène) et l'expression de son propre récepteur [78,79].

La petite avance dont il pourrait bénéficier un follicule plus sensible par rapport aux autres s'amplifie. Ce dernier instaure alors une sorte de dialogue privilégié en sécrétant de plus en plus d'œstrogènes, ce qui a pour conséquence un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de la FSH, responsable d'une atresie des follicules dépendants de cette gonadotrophine [68,78].

Le (les) follicule (s) sélectionné (s) acquièrent (s) des RFSH sur les cellules de la thèque à une taille folliculaire très caractéristique de l'espèce (≥ 3 mm chez la brebis et > 8 mm chez la vache), à ce stade la FSH induit l'expression des RLH et la différenciation des cellules de granulosa en cellules stéroïdogènes (par une transcription des aromatasés). A cette taille le (les) follicule (s) dominant (s) ne souffre pas quant à lui (eux) de la diminution des teneurs en FSH. Il induit, suite à une sécrétion élevée d'œstradiol, un rétrocontrôle positif sur la sécrétion pulsatile de la LH, ou il (s) devenu (s) LH dépendant, a ce moment là, le devenir de ce (ces) follicule(s) dépend de la fréquence et l'amplitude des décharges LH ainsi le nombre et la sensibilité des RLH [79–83].

Au cours de la phase de dominance, une croissance explosive était remarquée chez la vache : de l'ordre de 5-6mm par jour. Les RLH situés sur les cellules de la thèque dès le stade pré-antral, apparaissent sur les cellules de la granulosa (9 à 10 mm chez la vache) au cours de la maturation finale de follicule préovulatoire, il contrôle la sécrétion des œstrogènes, stimule l'expression de ses propres récepteurs et des enzymes de la stéroïdogénèse (P450_{scc}, P450 17 α et 3 β HSD) [73,78,83,84]. Au delà de ce stade le devenir du follicule dominant ont dépend de la phase du cycle on distingue deux cas :

- Vague (s) folliculaire abortive: une atresie de (des) follicule (s) dominant (s) est observée avec des teneurs sériques élevées de la progestérone (présence d'un corps jaune), responsable d'un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, donc les pulses LH n'ont alors lieu que toute les 3-4heures, ce qui aboutit à la perte de la dominance, après une phase statique d'environ de six jours chez la vache. Une nouvelle cohorte sera donc recrutée par la suite [71,84].
- Vague(s) folliculaire (s) ovulatoire (s) : suite à une lyse du corps jaune en fin de dioestrus, les concentrations de la progestérone déclinent, le rétrocontrôle négatif est levé progressivement. La concentration plasmatique des œstrogènes augmente alors. Cette élévation constitue le signal ovarien induisant le déclenchement de la décharge ovulante de LH, induite

par l'augmentation de l'amplitude et la fréquence des pics pulsatiles LH. Seul le ou les follicule (s) qui exprime (s) de nombreux RLH sur leurs cellules de granulosa est (sont) capable (s) d'ovuler 24h après le pic ovulatoire de LH. La liaison de cette gonadotropine sur leurs récepteurs stimule l'expression de plusieurs gènes intervenant dans la rupture du follicule et le dialogue entre ce dernier et l'ovocyte mature [68,71,73,76].

II.3 Lutéinisation : aspects morphologiques et endocriniens

La lutéinisation est un événement qui caractérise la fin de la phase folliculaire et le début de la phase lutéale. A ce stade, des remaniements cytologiques et biochimiques des follicules rompus (corps jaune hémorragique), aboutissent à la formation d'une structure plus solide appelée : corps jaune. Chez les ruminants, le CJ est formé de deux types de cellules stéroïdogène bien différenciées au début de la lutéinisation, mêlent par la suite pour conduire à la formation d'un amas tissulaire plus homogène [85,86] .

On distingue : les grandes cellules LH -indépendantes, qui proviennent des cellules de la granulosa , et les petites cellules LH-dépendante qui sont issues de la thèque interne.

Sur le plan morphologique, le CJ évolue en trois étapes distinctes [87–89] :

- Dans un premier temps, les cellules de la thèque interne sont le siège de remaniements biochimiques, conduisant à leur différenciation en cellules stéroïdogènes, capables de synthétiser la progestérone, entraînant ainsi une élévation de la teneur plasmatique en progestérone. Elle dure de 5 à 6 jours. A ce moment là, le jeune corps jaune est insensible à l'activité lutéolytique de la PGF2 α .
- Dans un deuxième lieu, le CJ poursuit son développement jusqu'à une taille maximale caractéristique de l'espèce (2cm chez la vache) au bout de 9-10 jours. Elle correspond à la phase de maintien du corps jaune, durant laquelle la progestéronémie est à sa concentration maximale [87,90].
- Finalement, c'est la fécondation n'a pas lieu, autour de J16-J18 après l'ovulation chez la vache. le corps jaune subit une lyse , suite à une action recombinaisonnée de l'ocytocine sécrétée par les cellules lutéales , la PGF2 α endométriale et les œstrogènes synthétisés par le follicule dominant .

CHAPITRE III
RÉCEPTEURS NUCLÉAIRES DES STÉROÏDES
OVARIENS

La progestérone (P4) et les œstrogènes sont des hormones stéroïdiennes dérivées du cholestérol. La synthèse de ces hormones lipophiles est assurée principalement par les gonades et par les tissus périphériques, tels que le foie, le cœur, la peau et le cerveau dans une moindre mesure [91–95].

La teneur plasmatique de ces stéroïdes ovariens, subit des changements tout au long de la vie de la femelle, en particulier au cours du développement embryonnaire, les cycles de reproduction (cycle menstruel et œstral) et la gestation.

III.1. Progestérone et ses récepteurs

La progestérone est une hormone à 21 atomes du carbone de formule ($C_{21}H_{30}O_2$), elle est également nommée : 4-pregnène-3,20-dione. Sa masse moléculaire est de : 314,46 g/mol, sa demi-vie varie entre 5 à 15 minutes. Dans le foie, le pregnanediol est le principal produit de sa dégradation.

A partir du cholestérol apporté par les lipoprotéines (LDL), la progestérone est principalement produite par les cellules de la thèque interne du corps jaune pendant la phase lutéale [87,91,93,95] et le syncytiotrophoblaste du placenta au cours de la gestation [15,96].

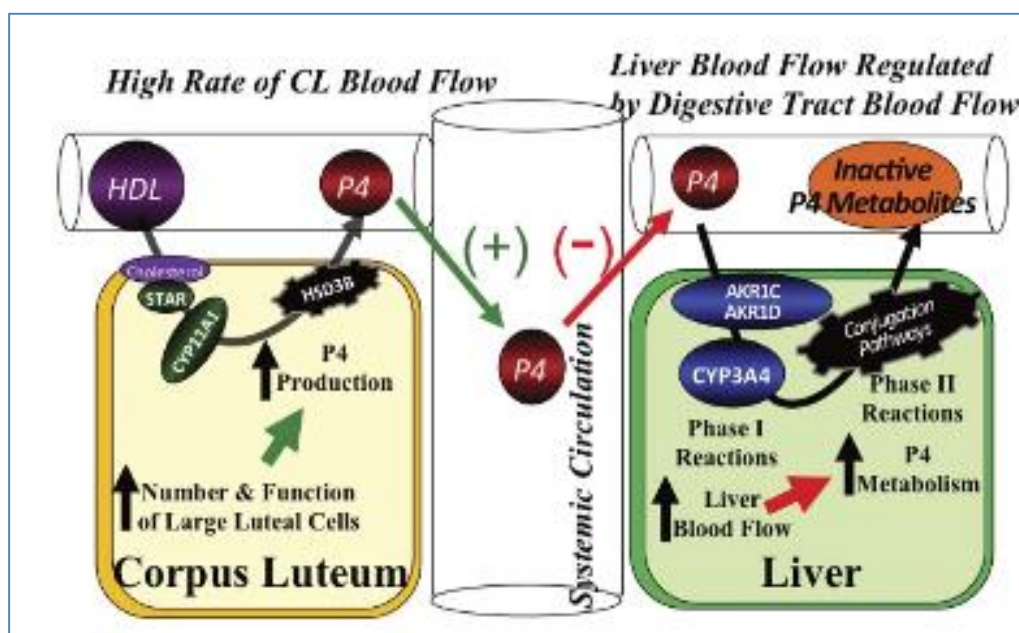


Figure 12. La régulation physiologique de la teneur de la progestérone plasmatique chez la vache laitière.

Liver : foie ; Corpus luteum : corps jaune ; High rate of CL blood flow: teneur plasmatique élevée en cholestérol ; Inactive P4 metabolites : progestérone inactive ; P4 production : synthèse de progestérone ; [91].

III.1.1. Rôles physiologiques de la progestérone sur l'endomètre

La progestérone (P4), l'hormone de gestation, est un régulateur clé de l'activité physiologique de la vie génitale femelle. Elle intervient dans la préparation, initiation et le maintien de la gestation [16,97–99]. Bien qu'elle induit la quiescence utérine, stimule la sécrétion d'histotrophe de l'utérus,

cette stéroïde diminue la réponse immunitaire de l'utérus pendant la gestation chez les mammifères [100–104]. Il a été décrit que les changements de l'activité proliférative au niveau de l'épithélium glandulaire et du stroma de l'endomètre sont liés aux variations cycliques des œstrogènes et de la progestérone [8,105,106].

III.1.1.1. Effets sur la différenciation cellulaire

La progestérone provoque la différenciation de l'épithélium glandulaire et les fibroblastes stromales. Cette transformation comprend des modifications morphologiques et biochimiques, à partir d'un phénotype prolifératif à un phénotype sécrétoire. Selon plusieurs auteurs, la P4 entraîne l'augmentation du pouvoir sécrétoire des glandes endométriales suite à l'accumulation des vacuoles basique dans l'épithélium glandulaire. Elle induit ainsi des modifications dans la composition des protéines sécrétées par ces glandes. Ces sécrétions offrent un environnement qui prend en charge le développement embryonnaire précoce [17–19,107].

III.1.1.2. Effets sur l'implantation

La progestérone favorise l'implantation en stimulant la production des enzymes responsables de la lyse de la zone pellucide. Toutefois, la lyse du zone pellucide n'est pas l'étape cruciale de ce processus, d'autres événements médiés par la progestérone n'ont pas encore été décrits dans l'initiation de l'implantation [15,16,96,100,108,109].

D'après **Maha Al-Asmakh (2007)**, la progestérone joue un rôle anti-inflammatoire dans l'utérus, cette action a pour effet la génération d'un tissu immunologique privilégié afin de faciliter l'implantation de l'embryon et empêcher le rejet embryonnaire [110].

III.1.2. Mécanismes de signalisation de la progestérone

Les effets physiologiques de la progestérone sur les cellules cibles passent par une liaison à des récepteurs nucléaires (RP) ou membranaires (PGRMC et mRP) spécifiques de cette stéroïde [14,110–112].

Les actions de la progestérone dans le système reproducteur féminin sont médiées principalement par les RPs nucléaires. La mise en évidence des récepteurs membranaires est difficile car leur capacité à se lier à la progestérone est relativement faible, par rapport aux RPs nucléaires, et certaines études suggèrent qu'ils ne sont pas activés par la progestérone [113,114]. Nous décrivons uniquement le mécanisme de signalisation nucléaire dans les parties qui suivent.

III.1.2.1. Définition de RP

Le RP est un récepteur endocrinien qui appartient à la famille des récepteurs nucléaires, il possède une haute affinité et spécificité vis-à-vis à la progestérone [105,115,116]. Cette protéine est capable d'activer des voies de signalisation dans le cytoplasme ou au niveau de la membrane cellulaire, et dans le noyau, ou ils sont considérés comme des facteurs de transcription [117].

III.1.2.2. L'expression de RP

Le gène du RP est constitué de 8 exons, séparés par sept introns. Il se trouve sur le chromosome (11q22.q23.1.) [117]. Comme la plupart des mammifères, l'expression de la protéine RP chez les ruminants est détectée au niveau des différent segments du tractus génital : les ovaire [118], l'utérus [119,120], le cervix et le vagin [121,122].

La transcription de ce gène peut être activée par l'interaction de l'œstradiol avec des éléments de réponse de l'œstrogène (EREs) situés dans la région promotrice du gène [123–125].

Au niveau de l'utérus, les RPs sont exprimés dans les cellules épithéliales, stromales et le compartiment myométriale. D'après plusieurs études, cette expression subit des changements spatio-temporelle à l'intérieur de ces compartiments sous l'effet des fluctuation des hormones sexuelles [14,48,119,126,127].

III.1.2.3. Structure et iso -formes des RPs

➤ Structure des RPs

Comme tous les RNs, les RPs contient cinq domaines suivants **[Figure 13]**:

✓ **Domaine A-B** : situé dans la région N-terminale, c'est la partie la plus hypervariable en termes de taille et de séquence d'acides aminés. Cette région contient des domaines de transactivation (AF-1 et AF-2) qui recrutent des protéines coactivatrices, ainsi un domaine inhibiteur situé entre AF-2 et AF-1, responsable du recrutement des corépresseurs [128,129].

✓ **Domaine C** : c'est la région la plus conservée, constitue d'une fraction qui sert à la liaison à l'ADN (DBD) est situé à côté de domaine AF-1. Il se compose d'environ 66-68 acides aminés avec deux structures en doigts de zinc. Il est responsable de l'interaction de complexe hormone-récepteur avec la séquence ERH (Eléments de réponse à l'hormone), située dans le promoteur du gène cible [128,130,131].

✓ **Domaine D** : domaine de localisation nucléaire [131].

✓ **Domaine E** : responsable de la liaison au ligand (LBD), hautement conservé. Il est situé à l'extrémité C-terminal de DBD. Le LBD contient un domaine d'activation AF-2. Il est responsable d'interaction du récepteur avec les HSP (protéines chaperonnes), la localisation nucléaire et la dimérisation. Ce domaine recrute également des protéines co-activatrice [131,132].

✓ **Domaine F** : dont la fonction est inconnue [131].

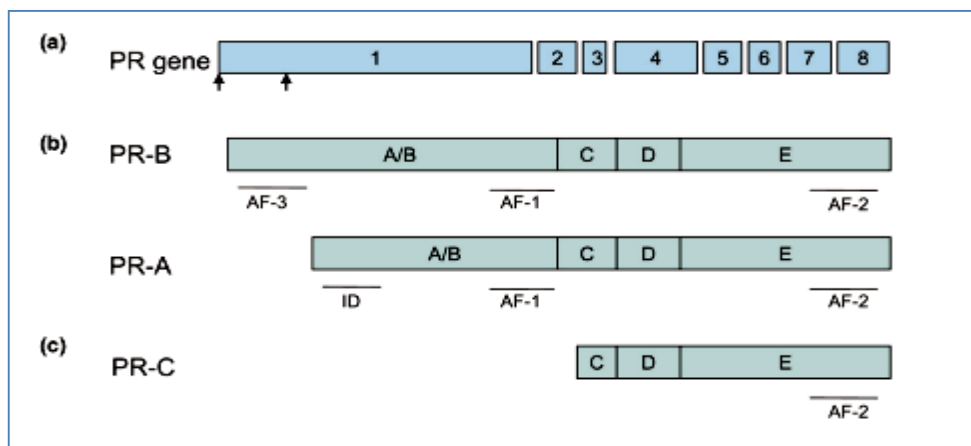


Figure 13. Structure générale des RPs [133].

➤ Isoformes des RPs

Il existe deux principaux isoformes pour les RPs, (RP-A) et (RP-B), dont la présence et les actions ont été démontrées chez plusieurs espèces. Il y a également un troisième isoforme RP-C qui a été identifiée dans le placenta humain [134,135]. Le RPA est une protéine de 90 à 94 kD alors que RP-B est de 120 à 118kD. Ils sont transcrits à partir d'un même gène sous l'influence de deux promoteurs différents. Ces deux isoformes peuvent former des homo et/ou des hétéro dimères [136].

Il existe différents sites de régulation des isoformes RP-A et RP-B par l'œstradiol dans les deux promoteurs : un site ERE/Sp1 pour le promoteur de l'isoforme A, un site AP-1 entre les deux promoteurs, et deux sites Sp1 pour le promoteur B [137].

Le RP-A, l'isoforme le plus court, ne contient pas les 164 acides aminés premières de RPB. Cependant la forme la plus longue, RP-B, présente un troisième site de transactivation (AF3) [133]. Les RP-A et RP-B affectent les gènes cibles d'une manière différente. Cette dernière forme est un puissant activateur des gènes dépendant de la progestérone dans les différentes cellules **[Figure 13]**.

Lorsque les deux isoformes de la RP sont activés dans la cellule, RP-A agit comme un puissant inhibiteur de RP-B et diminue l'effet de la progestérone sur les cellules cibles. Cette inhibition est causée par le domaine inhibiteur (ID) du RP-A. Bien que ce domaine est également présent dans RP-B, son action est supprimée par l'AF-3 [110,137–139].

Concernant la dernière forme décrite (RP-C) tronquée dans sa partie N-terminale, avec une masse moléculaire d'environ 60 kDa. Elle ne possède ni les domaines AF1 et AF3 ni le domaine de liaison à l'ADN [133,135]. La présence de ce troisième isoforme est signalé chez l'homme [126], la souris [140] et la Vache [141].

III.1.3. Mode d'action des RPs

RP- A et RP-B affectent la fonction cellulaire en modifiant l'expression des gènes via deux modes d'action: (i) le mode génomique directe, et (ii) le mode de extranucléaire indirect [126].

III.1.3.1. Voie génomique directe

C'est la voie la plus classique, dont le mécanisme est dépendant du ligand. Les récepteurs peuvent être activés suite à une liaison du P4 à la région LBD. En l'absence de ligand, le PR cytoplasmique est associé à un complexe des protéines chaperones, y compris les protéines HSP 70 et 90 du PIH, p23 et immunophilins, il est inactif sur le plan transcriptionnel [Figure 14].

Le complexe récepteur-protéines chaperones fournit une conformation spécifique du récepteur qui permet la bonne fixation du ligand. La Liaison de la progestérone à la LBD provoque un changement conformationnel du RP, qui permet la dissociation des protéines chaperones, la dimérisation, la translocation nucléaire du récepteur, la liaison du co-activateur sur le dimère, suivi par l'initiation de la transcription des gènes cibles suite à une interaction des dimères sur des éléments de réponse à la progestérone (ERP) [131,142].

D'après **Mulac-Jericevic et Conneely (1996)**, la diversité des rôles physiologiques de la progestérone est déterminée par la dimérisation du récepteur [143]. De nombreuses études in vitro ont montré que le RP peut également régulé les gènes par le biais de diaphonie avec d'autres facteurs de transcription, tels que le Sp1, AP-1(Activator Protein-1) ; NF- κ B, et C/EBP- β [134].

III.1.3.2. Voie extranucléaire indirect

Dans laquelle les RPs interagissent avec le Src des tyrosines kinases dans le cytoplasme pour activer les protéines kinases activées par les mitogènes (MAPK), qui affecte alors l'expression du gène [144] [Figure 15].

Le plus récemment **Lee et al., (2006)** ont découvert le mécanisme par lequel le RP active la transcription à travers sa capacité à activer la protéines Src/ras/RAF/ activées par un mitogène (MAP) kinase [145]. Le Src-1 (steroid receptor coactivator-1) est le premier membre identifié d'une famille de co-activateurs qui régulent l'action des récepteurs nucléaires stéroïde. En outre, le Src-1 est une

cible de la protéine mitogène-activée par la voie de la kinase (MAPK), fournissant un lien direct à une voie connue pour régler la transcription de gène récepteur stéroïde -dépendante [146].

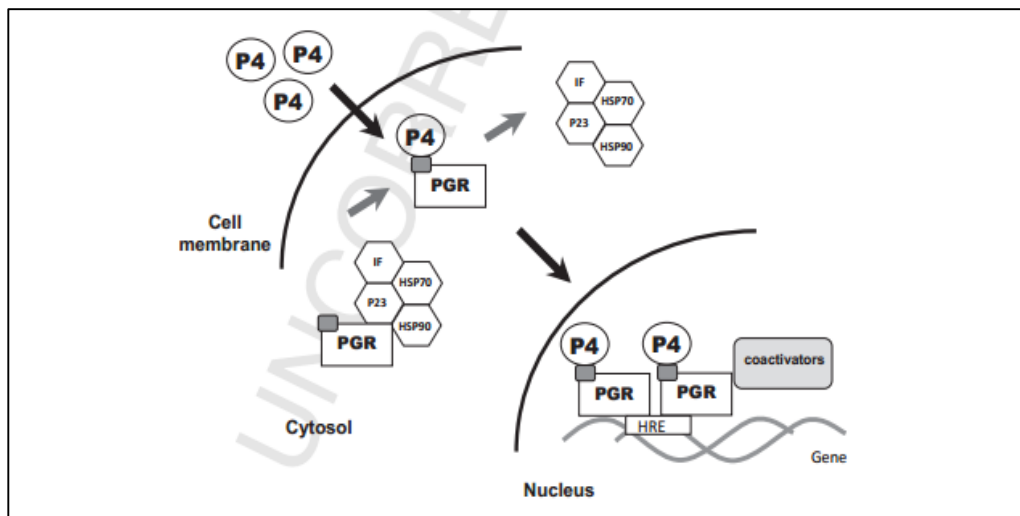


Figure 14. Mode d'action du récepteur de la progestérone. La forme inactive du récepteur est localisée dans le cytoplasme et est associée à un ensemble complexe de protéines chaperones. Lorsque la progestérone pénètre la membrane cellulaire et se lie au domaine de liaison du ligand (LBD) des récepteurs, l'agrégation de l'hormone conduit à la dissociation du complexe protéique chaperone et réinstallation du récepteur vers le noyau, où il subit une dimérisation. Le dimère du récepteur se lie à l'élément de réponse à l'hormone (EDH) situé à l'intérieur de la région promotrice du gène spécifique. Après activation du récepteur dimère par des récepteurs des co-activateurs, commence le processus de transcription. P4: la progestérone, SI : immunophilins, HSP : protéine de choc thermique [147].

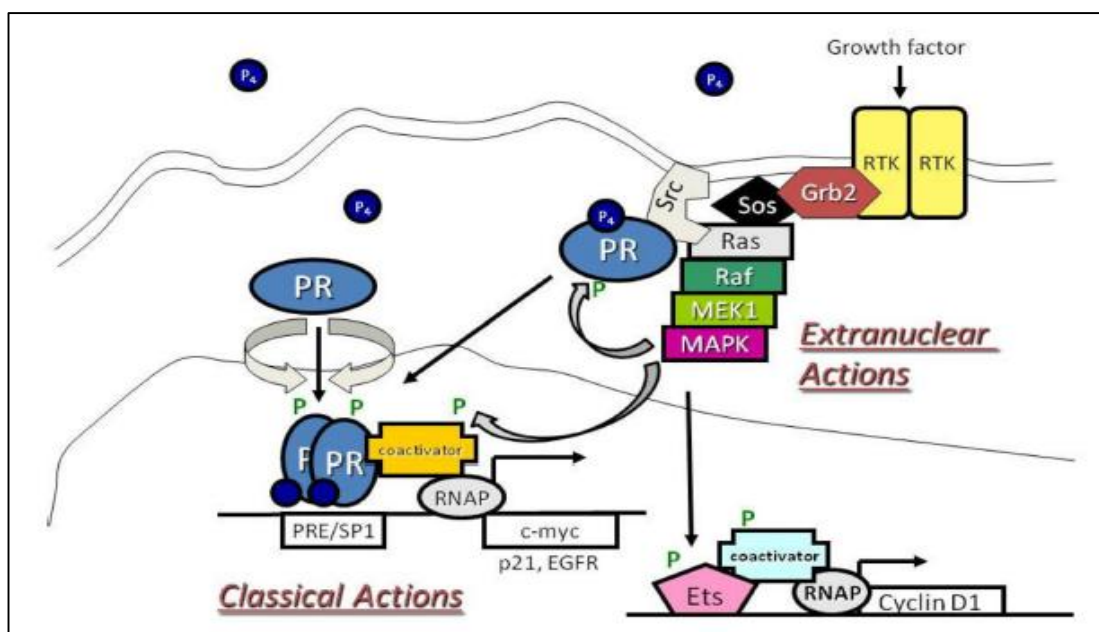


Figure 15. Voie extranucléaire indirecte du RP. La P4 se lie à RP induit l'association rapide de RP et de c-Src. Cette interaction conduit à une activation de c-Src dépendantes du module de signalisation MAPK par voie Ras / Raf. Cette activation de la MAPK peut conduire à une phosphorylation (P) de RP, co-activateurs de transcription et / ou l'activation des gènes cibles de MAPK en aval (la cycline D1). PRs phosphorylés peuvent activer la transcription directement en se liant à des éléments de réponse à la progestérone (PRES) ou indirectement par les interactions internes (SP1). Extranucléaire et les actions classiques de PR sont des actions hautement intégrées probables, plutôt que des événements séparables médiées par des populations distinctes de récepteurs [148].

III.1.4. Rôles physiologiques des RPs

Ces récepteurs agissent comme des facteur de transcription et participent à la régulation des processus de reproduction y compris les menstruations, l'implantation, la grossesse, maintenance de l'accouchement, développement mammaire et l'allaitement [110,129,147].

Le RP-A et le RP-B ont des fonctions distinctes dans l'utérus. L'expression du RP-A est à la fois nécessaire pour moduler les réponses antiprolifératives et d'implantation associée à la progestérone. Le RP-A est nécessaire non seulement pour inhiber l'effet hyperplasique induit par l'œstrogène au niveau de l'utérus, mais aussi pour limiter les effets prolifératif potentiellement néfastes de PR-B [143].

D'après plusieurs études, le RP-B est un puissant transactivateur en réponse à la progestérone, alors que PR- A est moins active et dans la plupart des cas inhibe la RP-B transcriptionnellement actif, en particulier lorsque son niveau est supérieur à celui de la RP-B [140].

Il est maintenant admis que la réponse à la progestérone est déterminée par les actions combinées de RP- A et RP-B, lors de la liaison du ligand a des formes homodimères ou hétérodimères qui ont des activités transcriptionnelle distinctes sur des promoteurs des gènes.

III.2. Les œstrogènes et ces récepteurs (REs)

Il existe quatre formes des œstrogènes naturels chez la femelle: estrone (E1), l'estradiol (E2, ou 17 β -œstradiol) et l'estriol (E3) et l'œstétrol (E4). Chaque forme de ces hormones est produite à partir du cholestérol suite à une série de réactions comme la substitution des groupements méthyle ou hydroxyle, produites tout au long de la biosynthèse de ces molécules [92].

III.2.1. Rôles des œstrogènes

Les œstrogènes, en particulier 17 β -œstradiol, jouent un rôle crucial dans le développement et la maturité du système reproducteur, néanmoins ils sont impliqués dans d'autres processus physiologiques chez les mammifères. En effet, cette hormone agit sur le développement, la croissance de l'os, l'homéostasie et la fonction du système immunitaire et cardio-vasculaire [149].

Les modifications cycliques de l'utérus sont sous contrôle des hormones sexuelles, notamment les œstrogènes. Ces changements se voient au niveau de l'épithélium luminale et glandulaire ainsi le stroma endométrial. En effet, une action proliférative mitogène a été observée dans différentes parties de la muqueuse utérine au cours de la phase oestrogénique du cycle sexuel. Cela correspond à un des effets trophiques de l'œstradiol. Ce dernier intervient dans diverses fonctions de l'utérus, y compris la croissance et l'implantation embryonnaire [112,150–153].

III.2.2. Mode d'action des œstrogènes

Les effets biologiques de l'E2 sont médiés par la liaison puis l'activation de leurs propres récepteurs (REs). Ces derniers appartiennent à la famille des récepteurs nucléaires. Les RE sont des facteurs de transcriptions se lient au ERE (éléments de réponse aux œstrogènes), qui sont présentes dans les régions régulatrices des gènes cibles de ces hormones. La séquence 5'GGTCAnnnTGACC3' a été définie comme l'élément de réponse des séquences d'œstrogènes. Cet élément est une répétition inversée de 13 paires de base avec un espacement de trois bases variables [154].

Il existe deux sous-types de RE et plusieurs isoformes et variants d'épissage de chaque sous-type. Le premier sous-type, le classique récepteur des œstrogènes α , le deuxième sous-type, β [149,154].

III.2.2.1. Sous type RE α

Le gène du RE α (ou gène *ESR1*) est localisé sur le bras long du chromosome 6, précisément sur le locus 6q25 [154]. Il est principalement exprimé dans les organes gonadiques (utérus, ovaire, prostate, testicules, et le sein), mais aussi présent à des faibles niveaux dans d'autres tissus tels que les os, le foie, les reins, le tissu adipeux et le cerveau [155].

➤ Structure de RE α

Comme les autres membres de la superfamille des récepteurs nucléaires, le RE α présente une structure protéique contenant de domaines fonctionnels désignés de A à F, à partir de l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale [Figure 16]. Le domaine de liaison à l'ADN : DBD, situé dans la région C et le domaine de liaison de l'hormone: LBD, situé dans la région E [156].

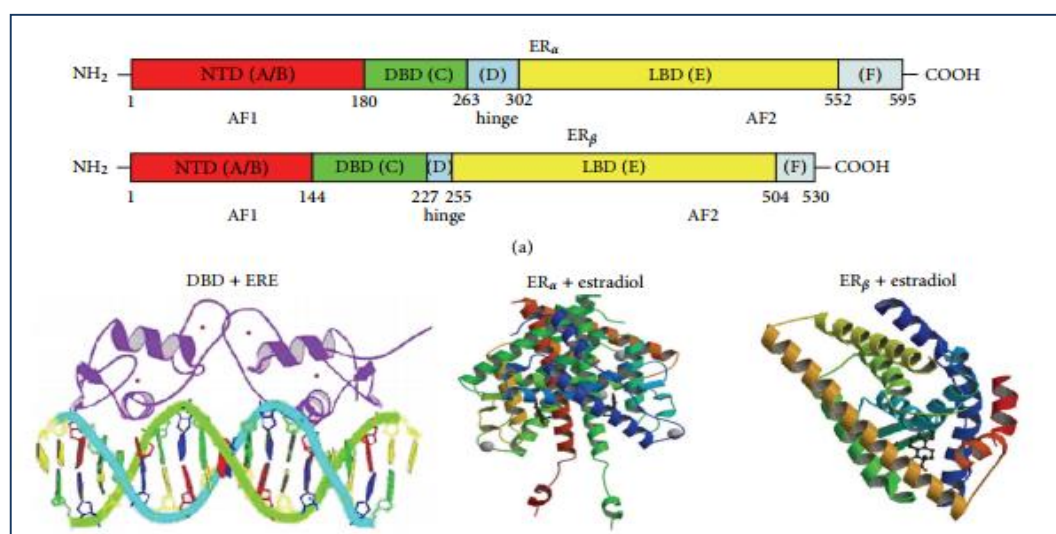


Figure 16. Structures d'ER α et ER β [156] .

Le domaine C assure la liaison à l'ADN (DBD). Il comprend deux doigts de zinc qui sont impliqués dans la liaison au récepteur et la dimérisation, se sont les régions de plus grande conservation entre les RE α et RE β , avec 97% d'homologie [149,154,156] **[Figure 16]**.

➤ Rôles de RE α

Chez les mammifères, le RE α joue un rôle crucial dans les processus physiologiques de l'appareil reproducteur féminin **[157–160]**. L'utérus est un tissu cible pour les œstrogènes et des niveaux significatifs de RE α sont exprimés dans tous les compartiments utérins (épithélium luminal et glandulaire, le stroma et le myomètre), adécté des niveaux variés d'expression de RE α au cours du cycle œstral et avec des pics au cours du proestrus, qui coïncide avec une élévation du taux de 17 β -oestradiol (E2), pour induire une réponse proliférative [150,159,161,162].

L'RE α est aussi le sous-type prédominant dans l'utérus normal et les oviductes, il participe à la régulation de la morphogénèse épithéliale, la cytodifferentiation et l'activité sécrétoire. C'est un facteur fondamentale pour le développement et la croissance du tractus génital femelle [163].

III.2.2.2. Sous type ER β

Le gène ER β humain ESR2 a été cloné en **1996** à partir du testicule et les travaux ultérieurs ont une meilleure compréhension de l'action physiologique et pathologique d'E2 dans les cellules et de tissus humains **[164]**.

➤ Structure de RE β

RE β est un membre de la superfamille des récepteurs d'hormones nucléaires [165] **[Figure 16]**.

➤ Rôle de RE β

Dans l'utérus pre-pubertal, RE α et RE β sont exprimés dans l'épithélium endometrial et le stroma pendant le développement précoce avant la maturité. Tandis que, la prolifération et la maturation coïncident avec une augmentation exclusive d'expression d'RE α . La présence d'RE β peut jouer un rôle dans la modulation et le régulation des effets d'RE α . Le gain du poids utérin, augmentation de la taille de l'épithélium luminal, formation des œdèmes, hyperplasie de l'épithélium et acini glandulaire, tous ces effets semble moduler par RE β [14,111,149,166,167].

III.2.3. Voie de signalisation des œstrogènes

Il est connu que tous les stéroïdes, y compris les œstrogènes, diffusent passivement dans la cellule pour agir comme des facteurs de transcriptions en se liant à leurs récepteurs, ce qui provoque

un changement de leurs structures pour former des complexes actifs. Les œstrogènes affectent la fonction cellulaire en modifiant l'expression des gènes via deux modes d'action en l'occurrence : le mode génomique, et le mode non génomique [168–170]. Nous intéressons à la voie génomique. Plusieurs voies sont impliquées dans ce mode de signalisation [171] [Figure 17].

III.2.3.1. Voie ERE dépendent

C'est le mode le plus classique. Dans le cytoplasme des cellules exprimant RE, ce dernier se trouve à l'état d'un monomère inactif, il forme un complexe multi-protéique avec les immunophilines et des protéines de choc thermique (par exemple, Hsp90, Hsp70 et HSP56). Suite à la liaison du RE avec son ligand naturel ou synthétique, au niveau du LBD, les protéines chaperonnes se dissocient, le récepteur se dimérise et subit un changement de conformation qui permettra son translocation nucléaire [168].

Dans le noyau, le complexe ligand –récepteur interagit avec les séquences ERE dans les régions promotrices des gènes cibles pour réguler la transcription de gènes par le recrutement des cofacteurs soit des co-activateurs ou des corépresseurs et les composants de la machinerie de la transcription [172]. Ainsi, les complexes d'ER-macromoléculaires facilitent les activités de transcription des gènes sensibles aux œstrogènes en déclenchant le remodelage de la chromatine au niveau des promoteurs cibles [171] [Figure 17].

III.2.3.2. Voie ERE Indépendante

Une partie des gènes régulés par les œstrogènes ne possèdent pas d'ERE complet dans leur séquence promotrice [Figure 17]. En effet, le complexe ligand récepteur peut interagir avec d'autres facteurs de transcription tels que SP-1 ou AP-1 protéine activatrice 1 (AP-1), le facteur NF- κ B, -jun liés sur leurs séquences spécifiques d'ADN [169].

Parmi les facteurs de transcription impliqués dans cette voie, SP-1 qui est le médiateur le plus prédominant dans l'interaction indirecte RE-ADN. En plus, il a été suggéré une vaste diaphonie entre RE et AP-1. Par exemple, l'RE α -AP1 favorise une prolifération des cellules co-régulée par E2 et la cycline D1 et d'autres gènes impliquées dans le cycle cellulaire [171].

III.2.3.3. Voie indépendante du ligand

Outre que la voie de RE oestrogéno-dépendante, des données récentes ont montré que, dans la physiologie normale des animaux, RE peut également être activé d'une manière indépendante du ligand par une variété de facteurs, y compris les neurotransmetteurs tels que la dopamine, les facteurs de croissance tels que le facteur de croissance épidermique (EGF) et de l'insuline-like growth factor-

1 (IGF-1), des activateurs de certaines voies de signalisation intracellulaires, telles que la protéine kinase C, la protéine kinase A, MAPK, le phosphatidyl inositol 3-kinase [173,174] [Figure 17].

Cette voie est impliquée dans la régulation des canaux ioniques membranaires et l'activation de la phospholipase C (PLC). L'activation de la voie indépendante du ligand est en grande partie liée à la phosphorylation de RE par la protéine kinase cellulaire. Par exemple, l'EGF peut déclencher la phosphorylation de Ser 118 à la fonction AF-1 de $RE\alpha$ et active la transcription du récepteur. De même, la protéine kinase A peut également provoquer la phosphorylation de Ser 236 dans le domaine de liaison à l'ADN du $RE\alpha$ et régule la dimérisation du récepteur [171].

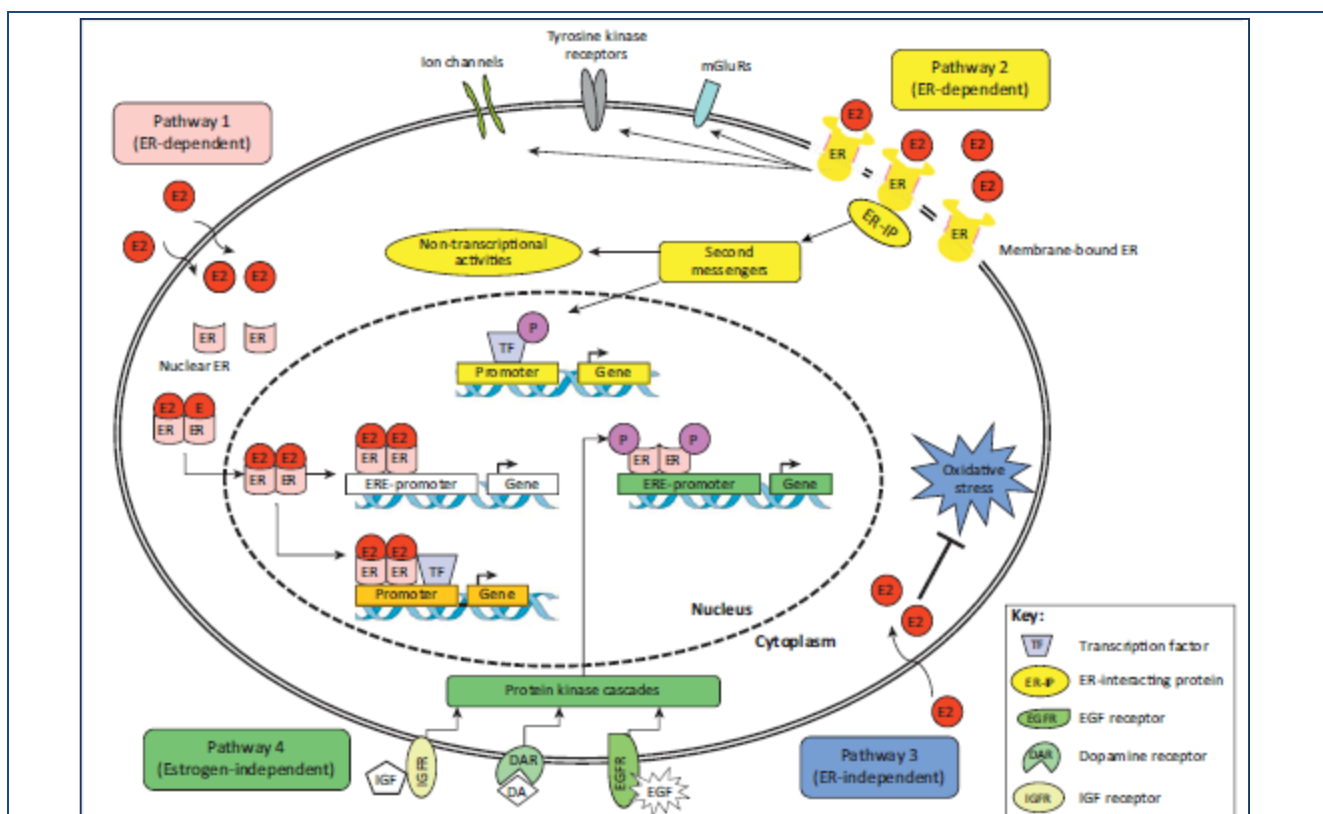


Figure 17. Voies de signalisation médiées par RE. Voie 1 (pathway 1): voie classique de la signalisation de l'œstrogène nucléaire avec ou sans ERE. **Voie 2 (pathway 2):** La signalisation membranaire de l'œstrogène conduit à des effets cytoplasmiques divers, y compris la régulation des canaux ioniques membranaires, des systèmes de seconds messagers, et la modification des facteurs de transcription ou d'autres récepteurs membranaires. **Voie 3 (pathway 3):** l'œstrogène peut aussi exercer des effets antioxydants d'une manière ER-indépendante. **Voie 4 (pathway 4):** actions génomiques indépendante du ligand. Les facteurs de croissance (GF) activent des cascades de protéines kinase, conduisant à la phosphorylation (P) et l'activation de RE nucléaires à ERE [171].

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre *ex vivo* étude est débutée le mois d'octobre 2013, au niveau de l'abattoir communal de la wilaya de Batna sur des vaches laitières d'âge moyen qui varie entre 4-10 ans et des brebis dont l'âge est compris entre 4-6ans.

I.1. Protocole expérimentale

I.1.1. Collecte des échantillons

Cinquante(50) vaches et 50 brebis apparemment saines de toutes pathologies reproductrices et non gravides (absence d'un embryon visible à l'oeil nue) sont utilisées dans notre expérimentation. Une prise du sang est réalisée à partir de la veine jugulaire, pour le dosage des hormones sexuelles, avant le sacrifice des animaux. La collecte des tractus génitaux est effectuée juste après l'abattage des animaux au fur et à mesure de leur arrivée de la chaîne d'abattage. Immédiatement les tractus génitaux et les prélèvements sanguins sont conservés au froid jusqu'à l'arrivée au laboratoire.

Ces animaux sont répartis en deux groupes égaux : le premier en phase folliculaire (n=25) et le deuxième en phase lutéale (n=25), en se basant sur plusieurs aspects macroscopiques principalement : absence ou présence d'un follicule ou d'un corps jaune au niveau de l'ovaire après une section longitudinale et l'aspect du cervix et de l'utérus [22,175].

I.1.2. Dosage des hormones sexuelles

Comme s'est mentionné précédemment, des prélèvements sanguins sont réalisés au niveau de la veine jugulaire (aiguille 4ml ; Vacutainer®), juste avant l'abattage de l'animale. Le sang est récupéré dans des tubes secs, centrifugé à une vitesse de 5000 tr/min pendant 5 min à une température ambiante. Le sérum récupéré est congelé à (-20°C) jusqu'à une utilisation ultérieure. Les dosages d'œstradiol 17β et de progestérone sont effectués par un automate (Hitachi Elecsys R 1010, Roche, Neuilly sur Seine, France), dont le principe se base sur la méthode immuno-Electrochemiluminescence (ECLIA).

Pour la progestérone, nous avons utilisé le kit Progestérone II (Cobas R, Roche) avec une limite de détection qui varie entre 0,03 ng/ml à 60,00 ng/ml. L'analyseur est calibré pour l'œstradiol 17β, à l'aide du kit Œstradiol II (Cobas R, Roche) avec une détection minimale de 5 pg/ml et maximale de 4300 pg/ml. Les coefficients de variation intra- et inter-dosage pour la progestérone et l'œstradiol sont respectivement : 2 et 10% et de 6 et 10% .

Dans ce cas les deux hormones l'estradiol et la progestérone du sérum sont mis en compétition avec de l'estradiol ou de la progestérone fixée sur des microbilles photosensibles face à un anticorps biotinylé spécifique, appelé « conjugué ». Des microbilles chimiosensibles recouvertes de streptavidine sont ajoutées au mélange. La biotine a une très forte affinité pour la streptavidine.

Les complexes immuns formés, associant les deux microparticules sont réactifs. Sous l'effet d'une lumière à 680 nm la particule photosensible libère de l'oxygène singulet qui réagit la particule chimiosensible. L'intensité du signal lumineux est inversement proportionnelle à la concentration en estradiol ou en progestérone.

Un deuxième kit d'oestradiol (E2 Diasorin RIA kit (Sorin Diagnostic, Antony, France) est utilisé pour le dosage des oestrogènes chez les ovins, dont la limite de détection minimale est de 0,07 pg/ml, dont la technique est basée sur la méthode RIA. Dans ce cas nous avons utilisé l'analyseur siemens (dimension vista) .

A noter que chaque dosage est effectué en duplicata.

I.1.3. Etude histo-morphométrique

I.1.3.1. Technique histologique

Les prélèvements histologiques sont réalisés après une dissection du cervix et de l'utérus à partir de quatre parties anatomiquement distinctes : l'endo-cervix (au dessous de l'utérus), exo-cervix (au dessus du vagin), le corps et la corne utérine [32]. Les biopsies prélevées sont plongées dans le formaldéhyde à 10% (1/10), conservées au moins 15 jours jusqu'à la réalisation des blocs. Pour la confection des blocs histologiques, un automate d'inclusion est utilisé, après un rinçage adéquat des échantillons à l'eau courante.

Pour la déshydratation et l'inclusion des biopsies, nous avons utilisé la chaîne suivante : six bains d'alcool de concentration croissante (60°, 70°, 90°, 95° et deux bains d'alcool absolu), suivi par deux autres bains de xylène pour l'éclaircissement et les deux derniers servent aux drainages de la paraffine. Les biopsies sont plongées dans deux bains de paraffine liquide (58°C) pour l'inclusion. La dernière étape est l'enrobage et la confection des blocs solides selon la méthode de **Wang et al., (2007)** [176].

Un microtome manuel est utilisé pour la préparation des coupes de 4µm. Les rubans des échantillons sont récupérés sur des lames en verre Superfrost ® (Menzel Glaeser, D-38116; Braunschweig, Germany), placées dans une étuve à une température de 40°C, pendant toute une nuit. Après cette étape, toutes les lames sont colorées par la coloration H.E (hemalun-Eosine) dans une batterie de coloration manuelle et finalement montées. A noter que pour chaque biopsie, trois lames sont réalisées.

I.1.3.2. Analyses morpho-métriques de l'endometre

Les coupes histologiques sont examinées et lues sous un microscope optique (Nikon Eclipse E400) relié à un système d'interprétation d'image à différents grossissements (100x) et (1000x) « grossissement à immersion ». Dans ce contexte deux systèmes sont utilisés : Image Pro-Plus version 6 (Media Cybernatics Inc., MD, USA) et image analysis software panoramic viewer (3D Histech Ltd, Budapest, Hungary) [Figure 18].

Trois compartiments endométriaux sont examinés (épithélium lamine, glandes superficielles et profondes), pour différents paramètres morphométriques en l'occurrence :

- 1) La hauteur de l'épithélium lamine (EL) et épithélium des glandes superficielles (EGS) et épithélium des glandes profondes (EGP) de la partie basale jusqu'à la région apicale) ;
- 2) La densité des glandes (DG) superficielles et profondes (nombre des glandes /1mm²) ;
- 3) Le périmètre des glandes (µm) ;
- 4) la surface totale des deux types de glandes.

Dix champs pour chaque compartiment sont évalués aléatoirement par lame selon la méthode décrite par [22]. Les lames sont lues par deux opérateurs différents, qui ignorent complètement la phase du cycle de l'animal.

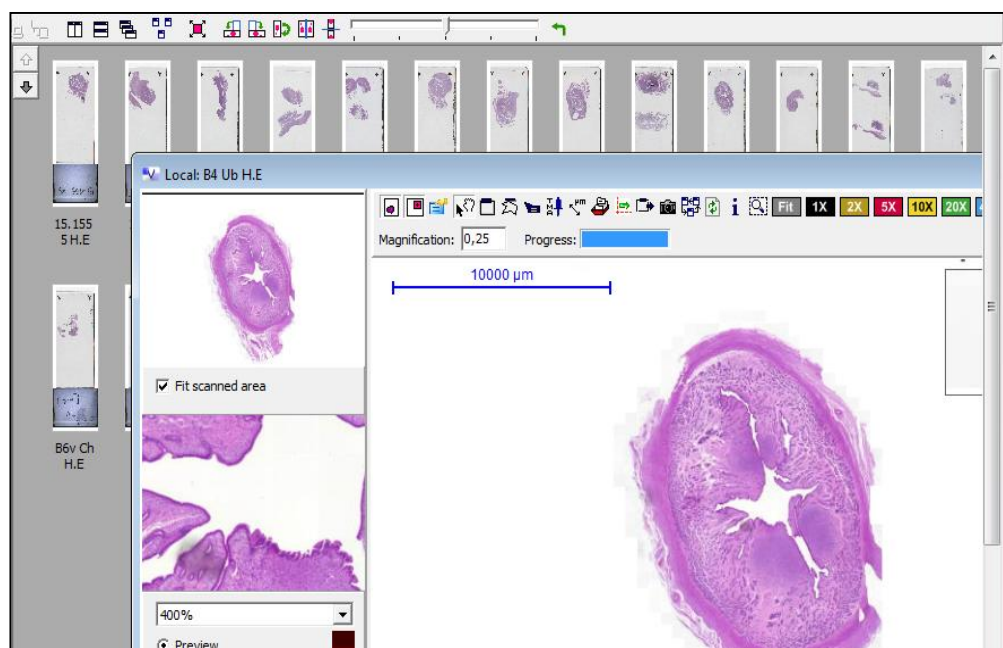


Figure 18 .Système d'analyse d'image (software panoramic viewer) (3D Histech Ltd, Budapest, Hungary).

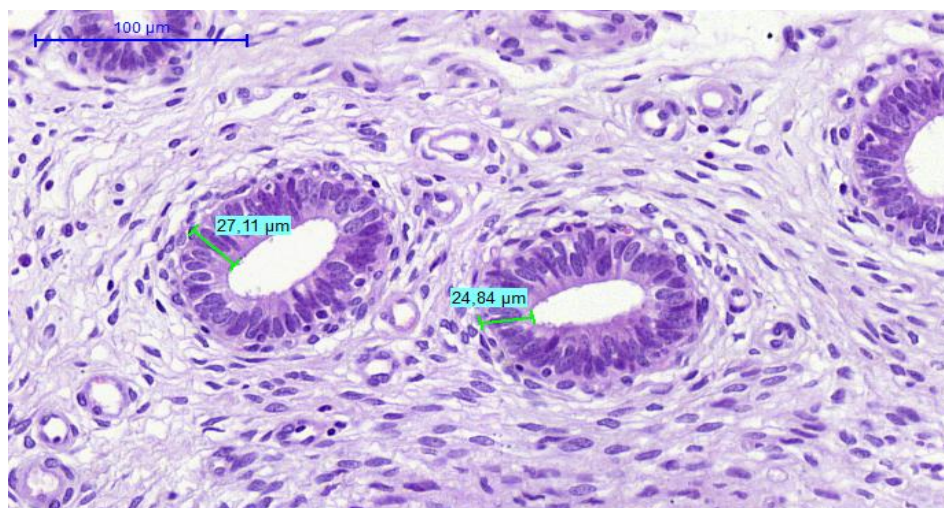


Figure 19. Méthode de mesure de la hauteur de l'épithélium glandulaire.

I.1.4. Etude immuno-histochimique

I.1.4.1. Mise en évidence des récepteurs hormonaux

Notre étude s'intéresse à la mise en évidence de deux types de récepteurs hormonaux dont le récepteur à l'œstrogène isoforme α (RE α) et les deux isoformes du récepteur de la progestérone (RP-A et RP-B). Seul le marquage nucléaire est pris en considération.

Les coupes destinées à la détection des récepteurs oestrogéniques (RE) et progestéroniques (RP) par la méthode d'immuno-histochimie (IHC) sont déposées sur des lames silanisées prétraitées Superfrost plus® (Menzel Glaeser, D-38116; Braunschweig, Germany), afin d'assurer une bonne révélation antigénique. Dans cette étude, la majorité des tests sont réalisés d'une manière automatique (AutostainerDako). Le protocole d'IHC sur coupes en paraffine est divisé en deux étapes distinctes :

La première consiste à un déparaffinage, démasquage antigénique à la fois, en incubant les lames dans un PT link (Dako) préchauffé à 96°C°, contenant un tampon à un pH bas (pH=6) (K8005-Dako), pendant 30 min. On laisse les lames refroidir sans qu'il y ait un changement brutal de la température. Les lames sont ensuite déplacées de PT link, rincer avec l'eau distillée, puis plonger immédiatement dans un tampon PBS à la température ambiante pendant 3-5 min.

La deuxième étape est effectuée dans un automate à une température ambiante. Durant cette étape, les lames sont traitées par un réactif de blocage de la peroxydase (peroxydase blocking : S2023, Dako), pendant 5 minutes, pour inhiber l'activité des peroxydases endogènes présentes dans les cellules et ainsi réduire l'intensité du signal. Les lames sont ensuite rincées avec l'eau distillée, passer dans un tampon PBS, puis incubé pendant 20 min avec un sérum de chèvre pour un meilleur blocage (Dako). Les lames sont ensuite incubées avec les anticorps primaires RE α (clone 1D5, Dako)

[32,177] et RP (clone PR-AT 4.14, Thermo-Scientific) [14,178], ce dernier anticorps permet la détection des RP-A et RP-B à la fois .

La révélation de ces anticorps primaires est réalisée par incubation avec le polymère de dextran conjugué à des anticorps secondaires et à l'enzyme peroxydase pendant 30 minutes suivie d'un rinçage à l'eau distillée. La détection du signal est faite par un kit diaminobenzidine (DAB), appliqué pendant 5 à 15 minutes. Les lames sont contre-colorées à l'hémalum, déshydratées dans quatre bains de l'éthanol à concentration croissante (50%, 75%, 90% et alcool absolu) puis dans du xylène. Enfin, recouvertes par des lamelles à l'aide d'un liquide de montage EUKITT (Dutscher, Brumath). La positivité de la réaction consiste en une coloration brunâtre et granulaire nucléaire.

Des témoins positifs sont utilisés dans notre étude. Pour cela, des blocs de paraffine de cas cliniques déjà testés positifs pour l'expression de REα et RP (tissu tumoral d'un adénocarcinome mammaire d'une souris transgénique) sont utilisés.

I.1.4.2. Interprétation des résultats d'immuno-histochimie

Pour l'interprétation de résultats de l'immunolocalisation de REα et RP, nous avons utilisé la méthode décrite par **Sağsöz et al.**, [121], basée sur trois scores : le score d'intensité (SI), de proportion (SP) et de Quick (SQ) [**Tableau 2**]. Concernant le premier score, il reflète l'intensité nucléaire de la couleur brune ou orangée. Le deuxième score exprime le pourcentage de toutes les cellules marquées positivement quelle que soit l'intensité de la couleur de la réaction parmi les 100 cellules comptées. La somme de ces deux scores reflète le Quick score.

$$QS = IS + PS \text{ [121].}$$

Tableau 2. Scores d'immuno-histochimie des récepteurs hormonaux selon la méthode de **Sağsöz et al.** (2011).

Intensité Score (IS)	Proportionnel Score (PS)
Score 0 : pas de couleur	Score 0 : aucune cellule marquée
Score 1 : marquage à faible intensité	Score 1 : moins de 1% des cellules marquées
Score 2 : marquage à moyenne intensité	Score 2 : entre (1-10%) cellules marquées
Score 3 : marquage à forte intensité	Score 3 : entre (11-33%) cellules marquées
	Score 4 : entre (34-66%) cellules marquées
	Score 5 : entre (67-100%) cellules marquées

I.1.5. Etude de la cytologie cervicale et utérine

Les frottis cervicaux et utérins, sont effectués dès l'arrivée au laboratoire. Pour cela, nous avons utilisé la technique de la cytobrosse [42].

Les prélèvements cytologiques sont réalisés après une dissection du cervix et de l'utérus à partir de quatre parties anatomiquement distinctes : l'endo-cervix (au dessous de l'utérus), exo-cervix (au dessus du vagin) , le corps et la corne utérine. Pour cela, quatre cytobrosses (CytobrushR Plus GT) sont utilisées pour un tractus génital, une pour chaque site de prélèvement.

Après incision de l'utérus et le cervix, la brosse est appliquée contre la muqueuse endométriale ou cervicale puis tourner dans un sens horaire, en appliquant une légère pression. A noter, que les femelles présentant un mucus cervical ou utérin trouble, contenant du sang ou de pus sont exclues de l'étude. Après la réalisation des prélèvements, chaque cytobrosse est roulée sur une lame microscopique propre. Pour chaque site de collecte, deux lames sont préparées.

Les lames sont ensuite fixées et colorées par la coloration de May-Grünwald- Giemsa pendant 30min. La lecture est faite par plusieurs observations, tout d'abord au plus faible grossissement (25x) dont le but est d'attester l'homogénéité de nos lames et la recherche d'un champ de lecture correcte, puis au grossissement intermédiaire (40x) pour le comptage des cellules et enfin à l'objectif à immersion (100x) pour confirmer le type cellulaire compté [179]. Deux cent cellules sont comptées par frottis.

Ces cellules font partie de l'une des catégories suivantes : granulocytes neutrophiles (Neu), lymphocytes (Lym), cellules épithéliales à contour cytoplasmique réduit ou atrophique (CEA) (cellules superficielles), cellules épithéliales à contour cytoplasmique visible et large avec un noyau rond (CEB) (cellules profondes). Pour être prise en compte, une cellule devrait avoir un contour nucléaire visible et intégré. Les cellules anuclées ne sont pas comptées.

A l'issue de la lecture, les pourcentages des différentes populations cellulaires sont calculés, soit le taux de granulocytes neutrophiles (% Neut), lymphocytes (% Lym), cellules épithéliales à contours cytoplasmiques réduits (%CEA) et finalement les cellules épithéliales à contours cytoplasmiques larges (%CEB), parmi les deux cent cellules comptées par lame.

I.2. Analyses statistiques

Les analyses statistiques de nos résultats sont réalisées à l'aide du logiciel Graph Pad prism 6.

L'analyse de la variance à un seul ou à deux facteurs (ANOVA I, ANOVA II) est utilisée pour comparer la différence entre les compartiments endométriaux et cervicaux. L'homogénéité de la variance entre les compartiments est vérifiée par le test de Bartlett. Dans le cas où ce test s'avère

significatif ($P < 0.05$), la distribution est normalisée par une transformation adéquate (logarithmique, la racine de carré). Lorsque ce test est non significatif ($P > 0.05$), un post test du Tukey est appliqué pour comparer les moyennes entre chaque compartiment.

Un test T de student est utilisé pour comparer les différences entre deux variables quantitatives. L'homogénéité de la variance entre les compartiments est vérifiée par le test Fischer. Dans le cas où ce test s'avère significatif ($P < 0.05$), la distribution est normalisée par une transformation adéquate (logarithmique, la racine de carré).

Nous avons utilisé la corrélation de pearson (r) pour la recherche des liens entre les paramètres étudiées. Les résultats sont exprimés en (moyenne $\pm$ SEM). Quand ($P < 0.05$), la différence statistique est considérée significative.

CHAPITRE II

RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1 Dosage des hormones sexuelles

Les résultats de la teneur plasmatique en progestérone et en œstrogènes au cours des deux phases du cycle chez les brebis et les vaches sont illustrés dans le tableau 3.

Tableau 3. Concentrations plasmatiques de la progestérone et d'œstradiol-17 β au cours de la phase folliculaire et lutéale chez les brebis et les vaches (Moy $\pm$ SEM).

Hormones	Espèce	Phase folliculaire	Phase lutéale	P value
Oestradiol-17 β (pg/mL)	Brebis	4.82 $\pm$ 0.17 ^a	2.84 $\pm$ 0.15 ^b	<0.05
	Vache	10.35 $\pm$ 0.57 ^a	6.52 $\pm$ 0.45 ^b	0.047
Progestérone (ng /mL)	Brebis	0.59 $\pm$ 3.18 ^a	5.98 $\pm$ 3.08 ^b	<0.0001
	vache	0.5 $\pm$ 0.13 ^a	10.35 $\pm$ 0.57 ^b	<0.0001

a,b : différence statistique entre la teneur de la progestérone et l'œstrogène entre les deux phases du cycle oestral ($p < 0.05$).

D'après les analyses statistiques du profil endocrinien, nous constatons des variations hautement significatives ($P < 0.0001$) du taux de la progésteronémie durant les deux stades du cycle oestral, où les taux plasmatiques moyens enregistrés pendant la phase lutéale et folliculaire chez les vaches et les brebis sont respectivement : (10.35 $\pm$ 0.57 Vs 0.5 $\pm$ 0.13 ng /mL) et (5.98 $\pm$ 3.08 Vs 0.59 $\pm$ 3.18 ng/mL). Les valeurs extrêmes de cette hormone varient entre (0.32- 12.09 ng/mL) et (0.38- 06.8 ng/mL) chez les vaches et les brebis. Toutefois, des variations individuelles remarquables sont observées entre animale chez les brebis.

D'autre part, nous avons noté que durant la phase lutéale le taux moyen de la progestérone dépasse 1 ng/ml, ce qui confirme la présence d'un ou plusieurs corps jaune(s) actif(s) au niveau des ovaires de nos femelles [180,181]. Récemment, il a été rapporté que les brebis de la race Oulad Djellal élevées dans la région de Chlef ont une activité cyclique maintenue tout au long de l'année [182].

Quant au taux plasmatique de l'œstradiol 17 β , l'effet de la phase du cycle est moins marqué ($P < 0.05$) que celui de la progésteronémie chez les deux espèces étudiées. De plus, les différences entre les animaux sont peu ou pas signalées chez eux. Les valeurs extrêmes de la teneur plasmatique en cette hormone sont: (9-13.15pg/ml) et (1-5.98 pg/ml) chez les vaches et les brebis respectivement.

Par opposition au profil de la progestérone, celui de l'œstradiol est caractérisé par la présence de deux et trois pics chez les vaches et les brebis respectivement, dont l'amplitudes sont différentes. Le pic principal est observé le jour d'œstrus suivi par un ou deux voir trois pics secondaires, à faibles amplitudes, lors de la phase lutéale [67,183]. Il a été décrit que, les races prolifiques des ovins présentent des fluctuations plus marquées de l'œstradiol que les autres races au cours d'un cycle oestral [67].

Le profil hormonal de nos animaux est similaire partiellement à celui rapporté par des travaux ultérieurs chez les brebis [67,184,185] et les vaches [186,183]. Par contre, nos résultats sont de loin plus faible que ceux décrits chez les bovins [181,187,188] et les brebis [32,189]. Cette différence pourrait s'expliquer par l'effet de la race, l'âge, la méthode du dosage, la période du prélèvement, l'alimentation et le poids de l'animal [180,186–188,190,191].

Recemment, **Martin et al. (2013)** ont réalisé une méta-analyse sur 20 travaux effectués sur des vaches et des génisses de différentes races, dont le cycle était naturel ou induit, durant une période étalée entre 1973 et 2010. Le profil décrit est caractérisé par une progestéronémie qui dépasse le seuil de 1 ng/mL le troisième jour du cycle, dès le 14^{ème} un pic de 5,5 ng/mL en moyen est signalé, suivi d'une chute à partir du 17^{ème} jour pour atteindre des valeurs minimales au 20^{ème} jour (<1 ng/mL). Concernant le taux plasmatique de l'œstradiol 17 β , ces auteurs, ont rapporté des valeurs maximales de cette hormone le jour d'oestrus (6-10 pg/mL), suivi d'une diminution le 1^{er} jour après l'oestrus (4-6 pg/mL). Dès le 18^{ème} jours du cycle, une élévation graduelle de l'oestrogène est constatée [186].

D'autre part, **Mondal et al. (2010)** ont trouvé que la concentration plasmatique périphérique de la progestérone varie entre ($0,3 \pm 0,06$ à $1,94 \pm 0,03$ ng / ml) au cours du cycle œstral chez le buffle, avec une plus faible teneur ($0,30 \pm 0,06$ ng / ml) pendant le pro-œstrus, suivi par une légère augmentation durant le début de la phase lutéale ($0,47 \pm 0,07$ ng / ml) [181].

Quand aux variations de la concentration plasmatiques d'œstradiol, les mêmes auteurs ont rapporté des faibles teneurs de cette hormone lors de dioestrus ($11,04 \pm 0,13$ pg / ml), puis une élévation très significative est observée pendant la période d'oestrus ($22,48 \pm 0,32$ pg / ml), avec un pic (35,8 pg / ml) lors du premier jour avant l'oestrus, suivi par une diminution dans le jour qui suit l'apparition des premiers signe d'œstrus (17,8 pg / ml). Une concentration basale de 5,7 pg / ml est signalée dans les deux jours post-oestrus [181].

II.2 Changements Histologiques de l'endomètre

Parmi les 400 lames (brebis et vaches) réalisées pour cette étude (dont 100 lames préparées pour chaque site du prélèvement : corps et corne utérin), certaines n'ont pas pu être lues pour plusieurs motifs : 42 lames étaient dépourvues d'épithélium luminal et 34 lames étaient illisibles en raison de la mauvaise qualité de la coupe histologique. Donc, sur les 324 lames de l'utérus (cornes et corps) : seul l'épithélium luminal et les glandes endométriales de

la région inter-caronculaire étaient évalués et interpréter en raison de l'absence de la région caronculaire dans la majorité des coupes histologiques préparées [Figure 20].

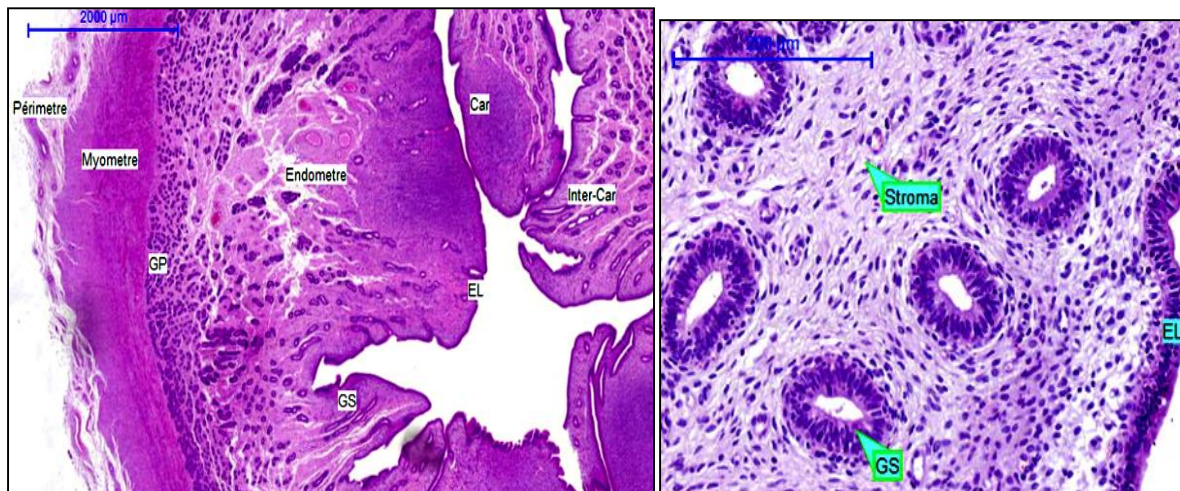


Figure 20. Coupe histologique de l'endomètre (partie corne) de la vache au cours de la phase folliculaire (grossissement 100x ; 400x). Car : région caronculaire, Inter-Car : région inter-caronculaire, EL : Épithélium lumenale, GS : Glande Superficielles, GP : Glande Profonde.

La lecture microscopique de nos lames montre que l'endomètre inter-caronculaire des deux espèces étudiées est apparu structurellement similaire à celui des autres mammifères. Il est formé d'un stroma recouvert majoritairement par un épithélium luminal pseudo-stratifié, délimité par une épaisse lame basale [12,192]. D'autre part, nous avons constaté la présence de deux couches bien distinctes du stroma : la première est superficielle cellulaire (riche en fibroblastes et cellules immunitaires) située au dessous de la lame basale, il s'agit du stratum compactum ; la seconde située plus profondément, pauvre en cellules et riche en glandes, désignée sous le nom de stratum spongium.

Des glandes tubuleuses simples, débouchent dans la lumière utérine ont été mises en évidence tout au long du stroma. Selon leurs localisations, on distingue deux types : les superficielles siégées au niveau du stroma compacte et les profondes, situées contre le myomètre. Une infiltration des différents types de cellules immunitaires (lymphocytes, neutrophiles et les monocytes) a été observée au niveau de l'épithélium luminal et le stroma. Ces observations sont en accord avec celles décrites dans la littérature [12,192].

Toutes ces structures endométriales sont en perpétuelles remaniements, pour assurer une bonne implantation d'un éventuel conceptus. La régulation de ces changements est liée à de multiples interactions entre les gènes et aux diverses facteurs paracrines, autocrines et endocrines, dont les œstrogènes et la progestérone présentent le chef d'orchestre de toutes ces modifications [105,193].

Nous décrivons par la suite les principaux changements histologiques des épithéliums et les glandes endométriales au cours de la phase folliculaire et lutéale chez les vaches et les brebis.

II.2.1 Changements de l'épithélium luminal (EL)

D'après la lecture des images microscopiques de nos lames, il apparaît que le type de l'épithélium luminal n'est pas affecté par le stade du cycle chez les deux espèces. Nous avons constaté que l'endomètre est bordé par un épithélium, en générale, pseudo-stratifié, avec présence de quelques endroits de types cylindriques simples ou transitoires durant les deux phases du cycle. Notons que le type transitoire est un peu plus observé chez la brebis que chez la vache surtout lors de la phase folliculaire [12,23].

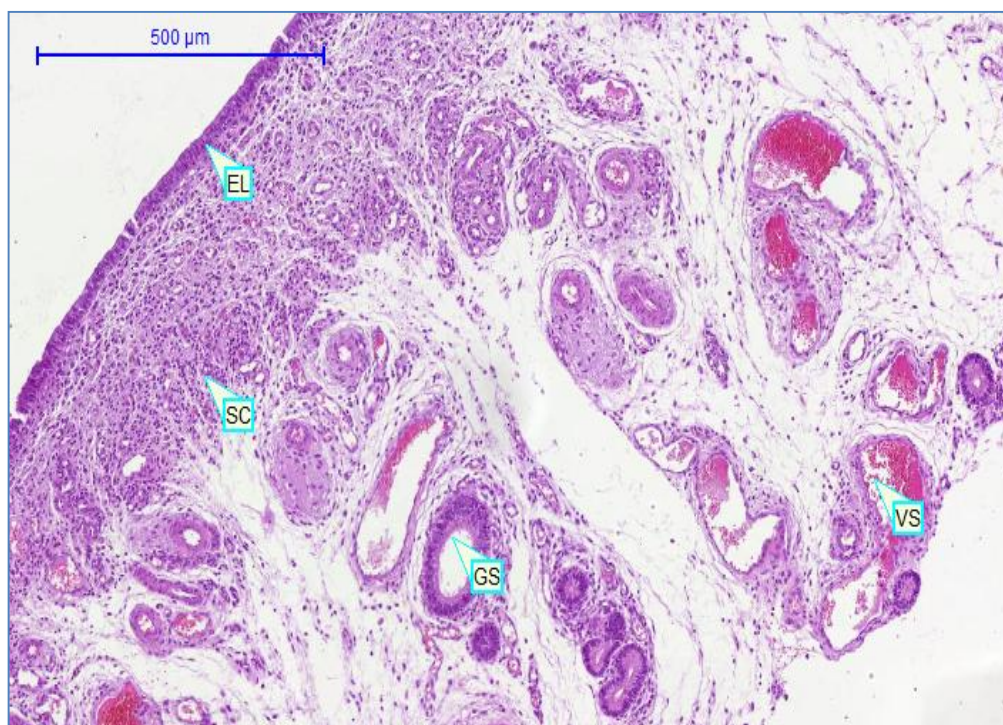


Figure 21. Coupe histologique de l'endomètre de la brebis au cours de la phase folliculaire (coloration, H.E).

D'après une étude réalisée par **Tienthai et Sajjarengpong, (2013)** au cours d'un cycle œstral chez le buffle, des variations micro-architecturelles de l'EL délimitant l'endomètre intercaronculaire sont décrites. Cet épithélium passe du type pseudo-stratifié au cylindrique simple durant la phase folliculaire et lutéale respectivement [22]. Ce qui est en contradiction avec les résultats de notre travail, où ces variations d'aspects n'ont pas été observées ni chez les vache ni chez les brebis. Nous suggérons que cette différence pourrait être due soit à l'effet de la race et de l'espèce, soit à la période de la collecte des échantillons qui n'est pas la même dans les deux expérimentations.

A l'inverse de l'effet du cycle, nous notons que le site du prélèvement (corps et corne utérin) ainsi la région de l'endomètre (caroncule ou intercaroncule) affectent particulièrement l'aspect de l'EL chez les deux espèces. En effet, dans les zones caronculaires, cette couche a une apparence ondulatoire, créant une série de crêtes et de dépressions intermédiaires.

Alors que dans la zone intercaronculaire, cette structure possède des invaginations primaires et secondaires (plis), dont le rôle est la formation des glandes endométriales, qui vont s'engager dans l'épaisseur de l'endomètre intercaronculaire. Nous avons constaté une complexité très remarquable de ces plis au niveau de la corne que le corps utérin **[Figure 20]**. Ceci confirme l'activité cellulaire intense d'une part et le rôle cruciale de la corne utérine dans la nutrition du conceptus spécialement durant la vie libre (péri-implantatoire) chez les ruminants d'autre part [105].

La raison de cette activité cellulaire intense semble être due à la quantité importante des hormones stéroïdiennes transportées par le sang vers la corne utérine par rapport aux autres segments du tractus génital. Il a été rapporté que la partie craniale de la corne ipsilatérale du corps jaune reçoit d'avantage une irrigation abondante que celle des autres parties utérines chez les ruminants [105,194–196], ce qui explique certainement la quantité importante des hormones stéroïdiennes transportées vers cette partie.

De même, les récepteurs impliqués dans la signalisation de ces hormones ont une localisation privilégié au niveau de la corne utérine [105,197]. D'ailleurs, les modifications du profil endocrinien surtout durant la période peri-ovulatoire participent à une régulation régionale transcriptionnelle et fonctionnelle [11,197].

En ce qui concerne la composition cellulaire de la barrière épithéliale luminale et glandulaire, nous avons noté la présence d'une faible population des cellules ciliées pourvues d'un noyau ovalaire ou sphéroïde et un grand pourcentage de cellules non ciliées, de type sécrétoire dont le noyau est plus étroit et allongé. Cette description est similaire a celle rapporté par des travaux réalisées la vache **[21,22,198,199]**. D'ailleurs chez cette espèce, ces deux types cellulaires représentent la population majoritaire de la trompe fallopienne **[175]**.

D'après nos résultats, il apparut que le site du prélèvement et le stade du cycle influencent le nombre et l'aspect de cette barrière cellulaire. Le pourcentage de cellules ciliées est sensiblement abondant au niveau du corps utérin que la corne. Tandis que, durant la phase lutéale une augmentation du pourcentage des cellules sécrétrices est remarquée par rapport à celles des cellules ciliées, surtout au niveau de la corne utérine. Il a été rapporté, que durant

la période de transition proestrus-œstrus les cellules ciliées augmentent significativement au niveau de l'épithélium luminal chez le buffle [22]. Ces mêmes auteurs montrent une augmentation du nombre des cellules ainsi que leurs longueurs durant la transition du pro-œstrus à l'œstrus.

II.2.2. Changements histologiques des glandes endométriales (GE)

Les invaginations de l'EL vont s'enfoncer tout au long de l'épaisseur de l'endomètre intercaronculaire pour former des glandes, dont la structure varie selon le stade du cycle. Pendant la phase folliculaire, ces glandes ont un aspect relativement droit et border majoritairement par un épithélium cylindrique simple bas, avec présence de quelques endroits d'épithélium cubique ou transitoire. Une fois la progéstonémie augmente lors de la phase lutéale, ces glandes deviennent plus complexes et tortueuses. Elles sont délimitées par un épithélium cylindrique pseudo-stratifié/ simple haut, avec présence des endroits de type transitoire.

Nous avons constaté la présence des signes de dégénérescences, particulièrement au niveau des glandes superficiels. Cependant, les GP ne présentent pas de remarquables modifications au cours des deux phases du cycle oestrale chez les animaux de notre expérimentation. Généralement, ce dernier type de glande est bordée par un épithélium cubique/ cylindrique simple bas. Cette description est en accord avec celle rapportée par des études ultérieures [20,24,25,176,200].

La composition de l'épithélium glandulaire est similaire à celle de l'EL. Bien que la proportion des cellules est différente. Durant la phase folliculaire, la majorité des cellules sont de type cilié **[Figure 22, 23]**. A ce moment la lumière glandulaire soit claire soit chargée de longue cilles **[Figure 22]**. Dès que la phase lutéale s'installe, le pourcentage de ces cellules ciliées est réduit au profit des cellules sécrétrices.

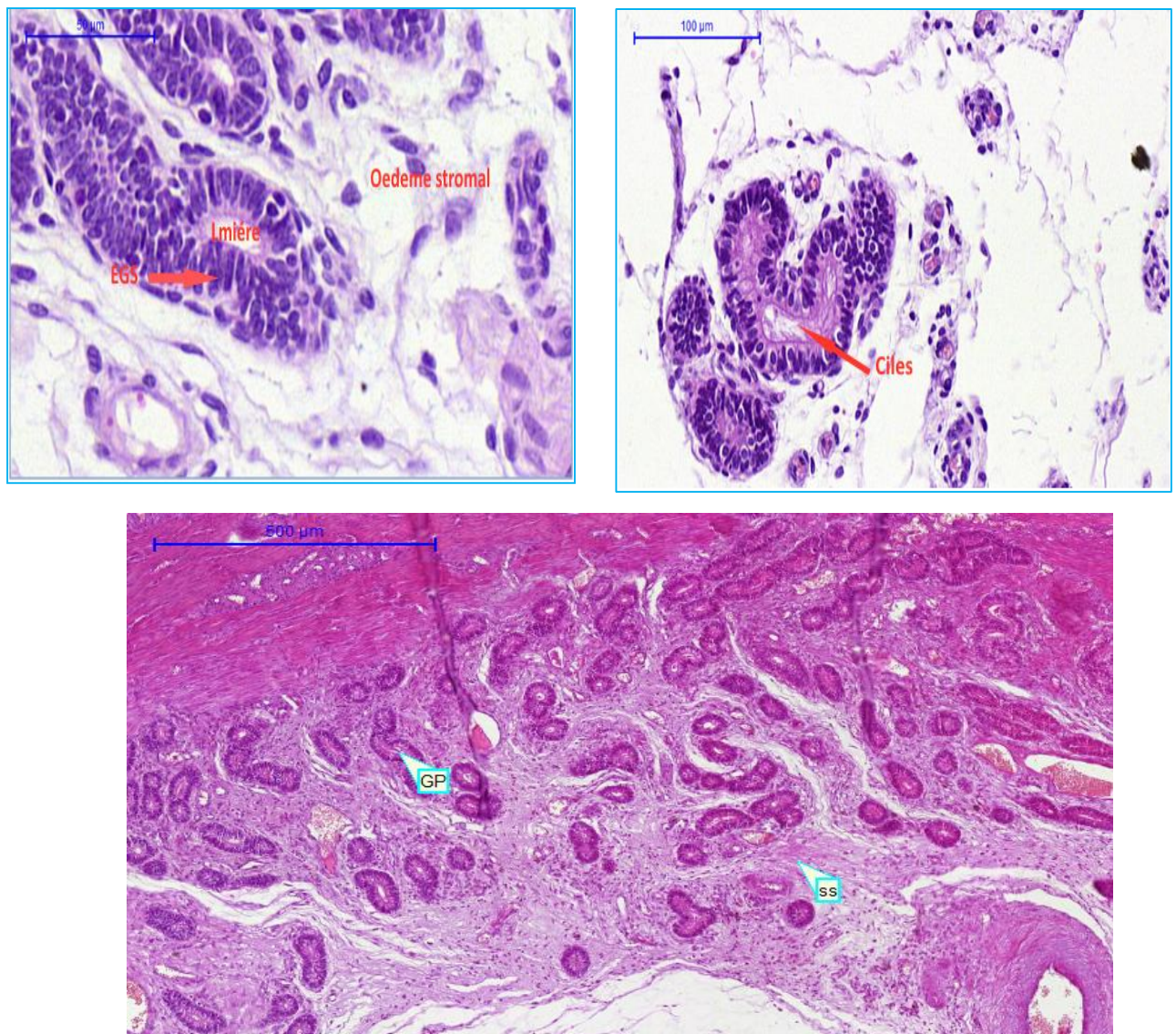


Figure 22. Aspect histologique des glandes superficielles (GS) et Profondes (GP) au cours de la phase folliculaire (coloration H.E)

La principale différence entre l'épithélium de surface et glandulaire était la présence d'un grand nombre des cellules ciliées dans le dernier type. Au sein de l'épithélium glandulaire, les cellules non ciliées contiennent plus de vésicules sécrétrices sous la surface luminale que les cellules ciliées. L'ultra structure cellulaire ne diffère pas significativement de celle des cellules épithéliales de surface , mais le nombre, la taille et la répartition des champs de glycogène furent beaucoup plus grandes et répandue dans les cellules glandulaires que dans les cellules épithéliales de surface [23].

Durant la phase lutéale, la forme et le diamètre de la lumière des glandes augmentent, particulièrement celles qui se trouvent à proximité de l'EL. Des vésicules de sécrétions sont souvent observées soit au dessous soit au dessus du noyau. La lumière de ces glandes apparaît trouble et dilatée.

II.3 Changements morphométriques de l'endomètre

La morphométrie est un moyen utilisé chez plusieurs mammifères, pour étudier la morphogénèse des glandes endométriales dans les cas physiologiques et le diagnostic des endométrites dans les cas pathologiques [25,201]. C'est une technique de diagnostic plus précise que celle de l'histologie ordinaire [202,203]. Elle est très utile pour évaluer les changements des épithéliums, en particulier utérins, car ces structures répondent rapidement et nettement à l'environnement hormonal et à la présence des pathogènes.

II.3.1 Mesure de la hauteur de l'épithélium luminal et glandulaire

Les résultats de mesures morphométriques de la hauteur des épithéliums des trois compartiments endométriaux en l'occurrence : EL, EGS et EGP au cours des deux phases du cycle œstral chez les vaches et les brebis sont représentés dans les figures 24 et 25 respectivement.

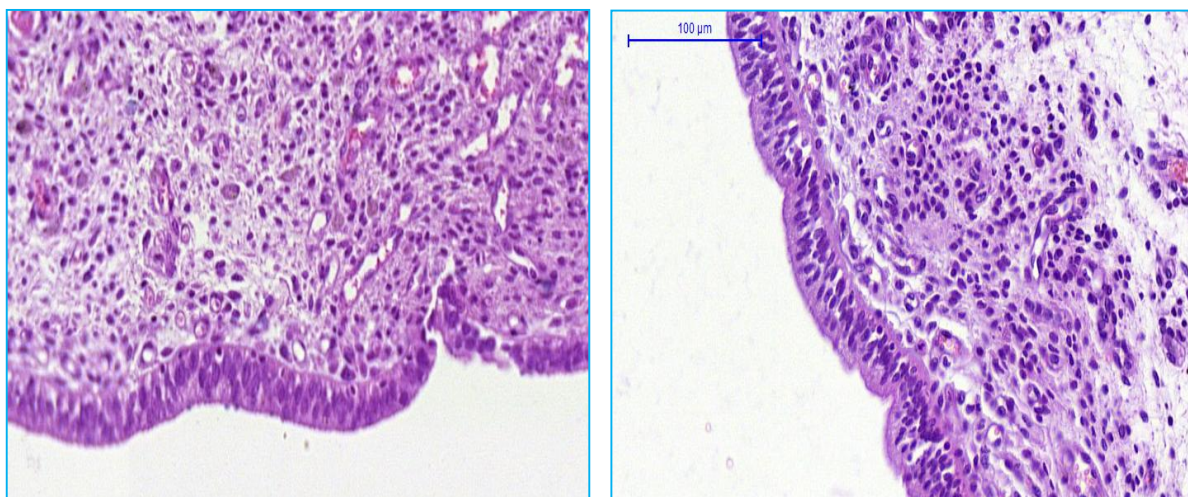
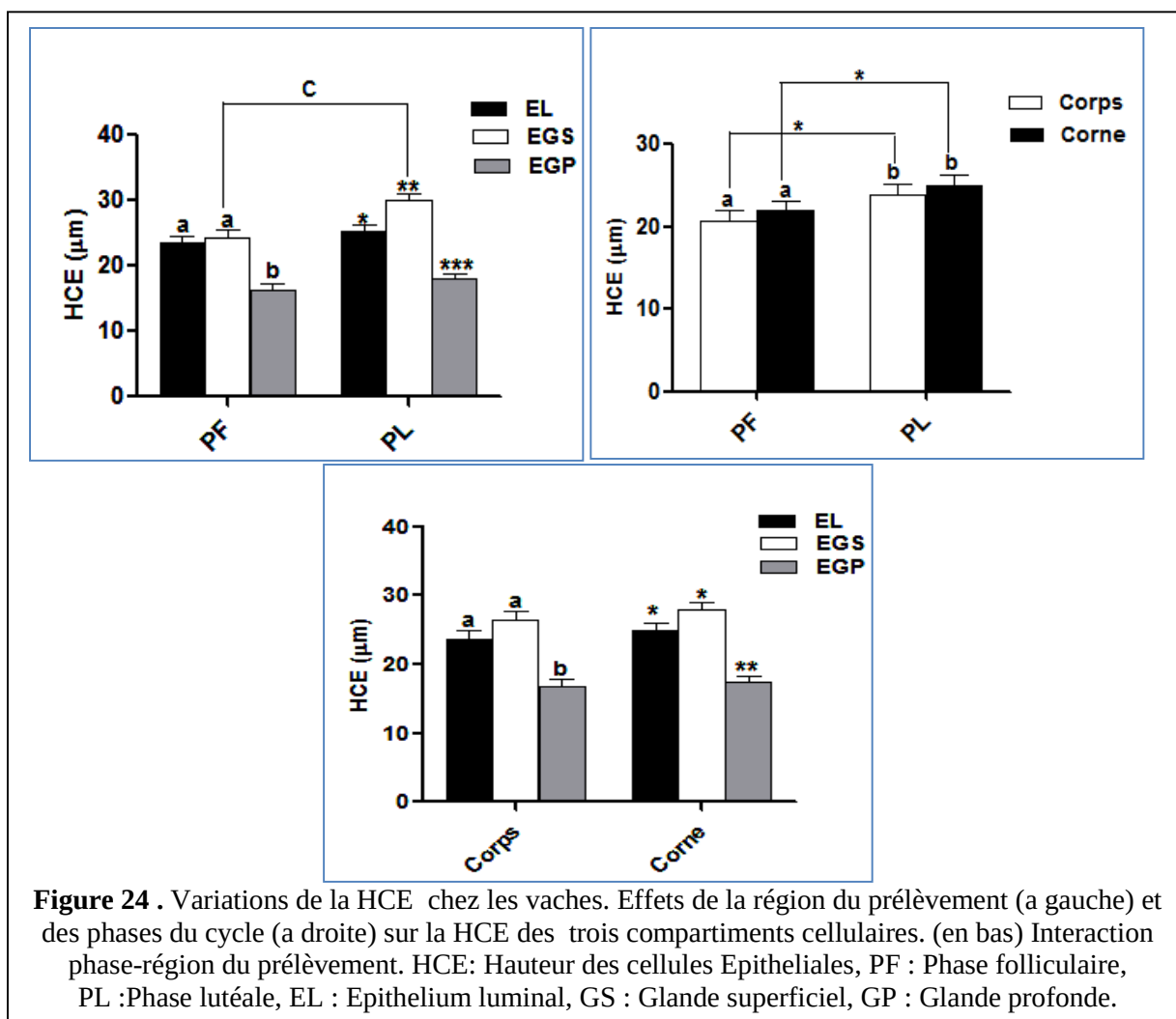


Figure 23. Aspect de l'épithélium luminal de l'endomètre au cours de la phase folliculaire (A gauche) et lutéale (A droite) chez la vache (coloration H.E).

En général, indépendamment de la région et les compartiments histologiques, la hauteur des cellules épithéliales (HCE) est significativement plus basse durant la phase folliculaire que lutéale chez la brebis ($P < 0,05$) ($19,96 \pm 0,64 \mu\text{m}$ vs $24,69 \pm 0,82 \mu\text{m}$) [Figure 25]. Cependant chez la vache cette différence n'est pas significativement constaté ($P > 0,05$) ($21,31 \pm 1,36 \mu\text{m}$ vs $24,11 \pm 1,40 \mu\text{m}$) [Figure 24].

D'autre part, l'analyse de la variance montre que la phase du cycle ($P < 0,0001$) et le compartiment histologique ($P < 0,0001$) affectent significativement la HCE chez les deux espèces. En outre, une interaction significative ($P < 0,0001$) entre ces deux facteurs est

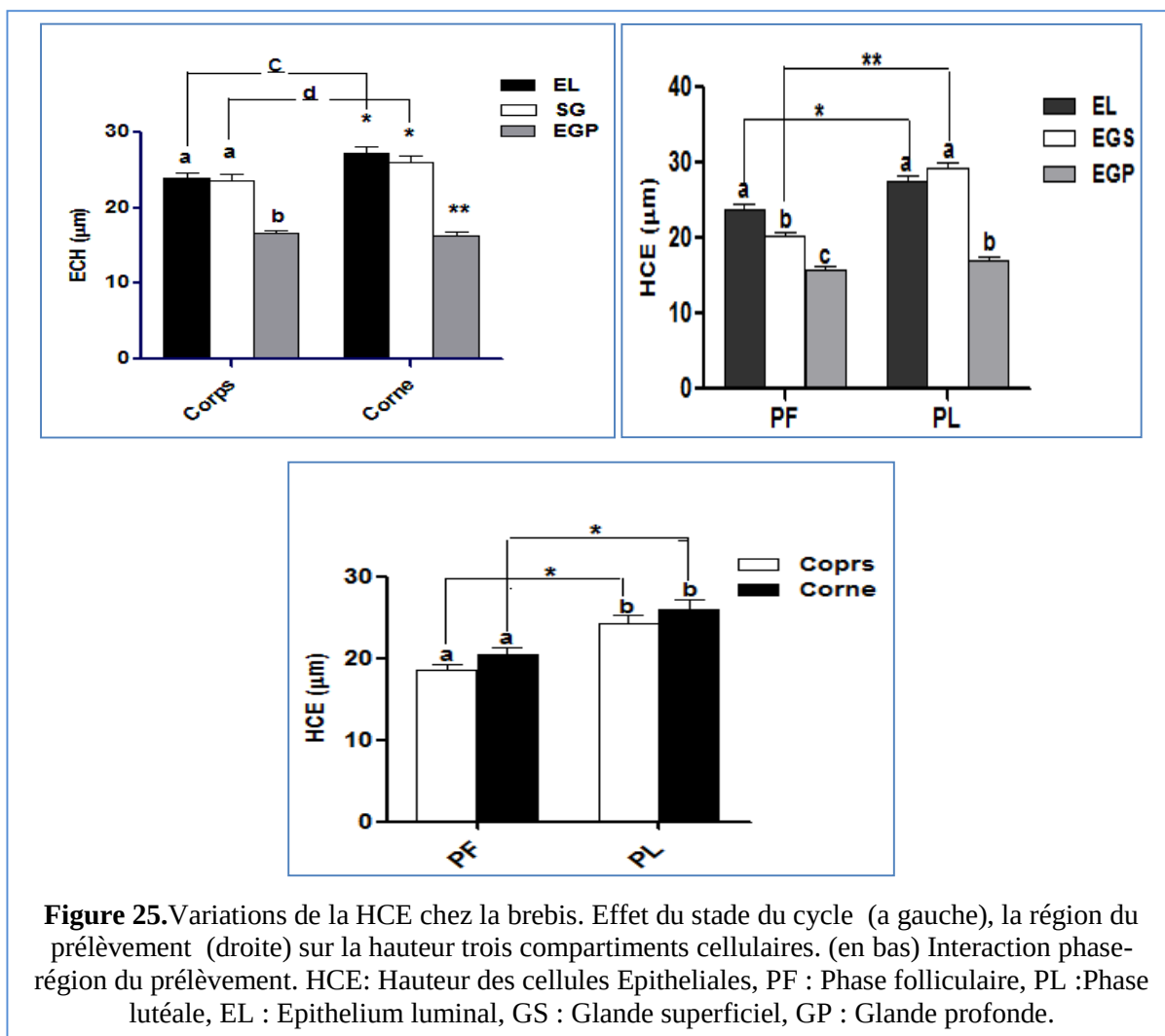
constatée uniquement chez la brebis. Néanmoins, l'interaction entre le site du prélèvement et le stade du cycle apparait non significative chez les vaches ($P=0.95$) et chez les brebis ($P=0.90$).



L'exploration de l'interaction phases – compartiments histologiques montre que, durant la phase folliculaire, chez la vache, la plus grande HCE est observée au niveau de l'EL et l'EGS ($P>0.05$), avec des différences hautement significatives entre ces deux compartiments et les GP ($P<0,0001$) [Figure 24]. Cependant, aucune différence significative n'a été trouvée entre l'EL et EGS. Ces mêmes constatations ont été observées chez les brebis pendant la phase lutéale [Figure 25]. D'autre part, au cours de cette dernière phase, chez la vache, l'EGS est le plus haut des autres épithéliums, avec des différences significatives entre les trois compartiments histologiques ($P<0.001$). Ces mêmes résultats sont observés au cours de la phase folliculaire chez la brebis [Figure 25].

D'après ces analyses statistiques, il semble que la hauteur du compartiment superficiel, notamment celle des glandes, est le plus sensible aux variations du stade du cycle.

Dans ce contexte, nous avons détecté, une augmentation très significative de la hauteur des EGS lors de la transition de la phase folliculaire vers la phase lutéale ($P < 0.001$) chez les deux espèces [Figure 24, 25]. Néanmoins, aucune différence statistique n'a été constatée pour EGP chez ces dernières espèces, ainsi pour LE seulement chez la vache ($P > 0.05$). Ces observations étaient en accord avec celles des études ultérieures réalisées chez la vache [199].



Selon une étude morphométrique réalisée au cours de différents stades de la gestation chez la vache, il a été rapporté que la hauteur de l'épithélium luminal et glandulaire subit une augmentation au fur et à mesure de la progression de la gestation [204]. Toutefois, d'après notre recherche bibliographique, aucune donnée n'a été fournie concernant les mesures morphométriques de l'endomètre chez la brebis.

Nous suggérons que ces variations de la hauteur au niveau de l'épithélium du compartiment superficiel sont probablement attribuées soit à une augmentation de l'activité sécrétrice de ces cellules, soit à une hypertrophie cellulaire (ARNm/ADN diminue) ou à une hyperplasie (augmentation du nombre des cellules) décrites au cours de la phase lutéale et les

différents stades de la gestation [96,104,205–207]. Des résultats quasi-similaires sont décrits chez la ratte non gravide [208].

Ces résultats confirment l'importance de remodelage endométrial chez les ruminants, qui est un processus régulé par de multiples facteurs paracrines, autocrines, transcriptionnels et certainement endocriniens. La progestérone sécrétée par le corps jaune néo-formé agit sur l'activité sécrétrice de l'endomètre. Elle induit une différenciation des cellules épithéliales et stimule la biosynthèse au niveau des glandes qui se distendent par l'accumulation d'un épais matériel sécrétoire riche en nutriments (protéine du lait utérin, osteopontin, COX2, galectins 3, 4, 9, 15...) , des transporteurs (transporteurs du glucose...) et des facteurs de croissances, nommé « histotrophe » [16,18,19,96,209–211].

Cet effet, ne serait possible qu'après une préalable imprégnation oestrogénique au cours de la phase folliculaire [212]. L'histotrophe est un composé nécessaire à la survie et le développement embryonnaire particulièrement durant la période péri-implantatoire longue chez les ruminants (16-19 jours). Cette période est un facteur critique pour la réussite de la reproduction chez ces espèces [11,213–215].

Des modifications spatio-temporelles dans la composition chimique de même que celles de l'expression des gènes participants dans la synthèse et la sécrétion de l'histotrophe ont été décrites chez la vache et la brebis [216,217].

D'autres arguments peuvent expliquer l'augmentation de la HCE du compartiment superficiel est la taille des gouttelettes lipidiques occupé dans les cellules. A cet effet, **Grazul-Bilska et al.,(2017)**, ont montré que l'imprégnation progestéronique au cours de la phase lutéale provoque une augmentation du volume de ces gouttelettes dans l'épithélium de surface et celui des glandes superficielles chez la brebis [107]. Cependant, ces structures ne sont pas détectées au niveau des GP. Des résultats similaires sont décrits chez la vache [218].

D'autre part, en ignorant les effets de phase et du compartiment histologique, nous notons aucune différence significative de la HCE entre la corne et le corps utérin chez la brebis ($p=0.48$) ($23,25 \pm 0,81 \mu\text{m}$ Vs $21,40 \pm 0,88 \mu\text{m}$) et chez la vache ($p=0.37$) ($23.48 \pm 0.89 \mu\text{m}$ Vs $22.33 \pm 0.93 \mu\text{m}$). Néanmoins, les résultats de l'ANOVA 2 montrent que, le site du prélèvement semble affecter seulement les résultats de la brebis ($p<0.05$). De plus, une interaction significative entre la région du prélèvement et les compartiments cellulaires est constaté uniquement chez cette dernière espèce ($P=0,02$).

D'après l'exploration de cette interaction, il apparaît que la hauteur du compartiment superficiel (EL et EGS) dépasse celle du compartiment profond (GP) au niveau des deux sites

du prélèvement ($P < 0,05$) chez les deux espèces de notre étude, avec l'absence de différence significative entre EL et EGS [Figure 24, 25]. D'autre part, une augmentation significative de la hauteur de l'EL ($P < 0,01$) et de l'EGS ($P < 0,05$) au niveau de la corne que celle du corps utérin, est observée seulement chez la brebis [Figure 24, 25]. Cependant l'EGP ne présente aucune différence entre les deux régions.

Ces changements peuvent être liés, en partie, à une augmentation de l'activité cellulaire au niveau de la corne, qui est le site privilégié de développement embryonnaire et l'implantation chez les ruminants [11,105,197]. En effet, le premier contact entre l'embryon et l'épithélium endométrial est effectué au niveau de cette partie du tractus génital, vers le 9^{ème} jour de gestation et au bout de 17^{ème} jours, l'embryon des ruminants, atteindra le corps et la corne controatérale [104].

II.3.2 Corrélations entre les hormones ovariennes et la HCE

Les résultats de la corrélation entre les concentrations plasmatiques de l'œstradiol 17β , progestérone et HCE sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et la HCE des trois compartiments de l'endomètre chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.

CH	Espèces	Concentrations plasmatiques d'œstradiol 17β				Concentrations plasmatiques de la progestérone			
		PF		PL		PF		PL	
		r	P	R	P	r	P	r	P
EL	Brebis	0.601	0.002	0.489	0.05	0,276	0,439	0,792	0,033
	Vache	0.5690	0.015	0.460	0.182	0,070	0,848	0,645	0,045
EGS	Brebis	0,761	0,010	0,465	0,174	0,356	0,311	0,822	0,004
	Vache	0,59	0,049	0,722	0,050	0,351	0,318	0,855	0,002
EGP	Brebis	0.394	0.054	0,396	0,257	0,143	0,695	0,555	0,097
	Vache	0.408	0.056	0,279	0,435	0,084	0,819	0,206	0,671

r : Coefficient de corrélation ; **P** : le seuil de signification ; **CH** : Compartiments Histologiques

Il ressort du tableau 4, que la concentration plasmatique des œstrogènes est corrélée positivement avec la HCE des trois compartiments cellulaires durant la phase folliculaire. Cette corrélation est significative uniquement au niveau de LE et EGS [Tableau 4]. Tandis que, au niveau de l'EGP, une tendance à une corrélation significative est observée chez la vache ($P=0.408$) et la brebis ($P=0.394$). Néanmoins, au cours de la phase lutéale ce lien semble être non significatif dans les trois compartiments cellulaires [Tableau 4].

D'autre part, le test de pearson montre que la progestéronémie est corrélée significativement et positivement avec le paramètre en question au niveau d'EL et EGS chez

les deux espèces durant la phase lutéale. Cependant, au cours de la phase folliculaire, aucune corrélation significative n'a été trouvée [Tableau 4].

Chez les bovins et les ovins, la plupart des cellules endométriales subissent des changements structuraux et fonctionnels tout au long du cycle œstral. En effet, des activités prolifératives et des différenciations cellulaires des différents compartiments de cette partie utérine sont liées aux variations de la concentration des hormones stéroïdiennes [157,176,219]. La même hypothèse a été proposée chez les rongeurs [220].

Johnson *et al.*, (1997), ont rapporté une réduction de la taille de l'épithélium luminal et glandulaire ainsi une compaction du stroma superficiel et profond chez les brebis ovariectomisées. Ces mêmes auteurs ont remarqué des changements de la taille, le volume de l'utérus ainsi la morphologie, la densité et la fonction des cellules endométriales au cours d'un cycle oestral et après un traitement par des stéroïdes ovariens chez ces mêmes animaux [219,221].

Plusieurs travaux ont rapporté que la synthèse de l'œstradiol (E2) au cours de la phase folliculaire d'un cycle œstral conduit à une prolifération des cellules épithéliales de l'endomètre chez les rongeurs [222–224] et les ruminants [221,225]. Récemment, une étude du transcriptome endométrial de la vache, montre que les œstrogènes induit l'expression des gènes impliqués dans l'avancement du cycle cellulaire, la prolifération, la division et la migration cellulaire. Cette expression nécessite une préalable imprégnation progestéronique [212].

Amira *et al.* (2011) ont constaté que la concentration élevée de la progestérone semble augmenter le pouvoir prolifératif des cellules endométriales et par conséquent leur épaisseur [208].

Rodriguez *et al.*, (2003), ont prouvé que l'estrogène induit la réplication de l'ADN et la prolifération cellulaire de l'utérus chez les mammifères, suite à une modification de l'expression génique de plusieurs gènes, y compris c-fos et c-jun. Ces derniers interagissent avec le facteur activateur de la transcription de la protéine-1 (AP-1) dans le noyau pour initier une cascade d'événements d'induction des gènes qui conduisent à la prolifération cellulaire [226].

II.3.3 Mesures morphométriques des glandes

II.3.3.1 Densité

La densité des glandes est le paramètre le plus souvent utilisé pour le diagnostic des endométrites [24,201]. Il est généralement admis que ce paramètre est estimé sur le comptage du nombre de glandes par unité de surface (mm^2) [24].

Tableau 5. Comparaison des mesures morphométriques des glandes superficielles et profondes de la corne et le corps utérin chez la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale (Moy $\pm$ SEM)

Phase du cycle	Site du prélèvement	Type des glandes	
		GS	GP
PL	Corne	29.39 $\pm$ 1.39 ^{a*}	37.61 $\pm$ 3.19 ^{b*}
	Corp	26.02 $\pm$ 0.30 ^{a*}	38.45 $\pm$ 2.09 ^{b*}
PF	Corne	16.72 $\pm$ 3.6 ^{a**}	34.11 $\pm$ 4.18 ^{b*}
	Corne	15.72 $\pm$ 3.2 ^{a**}	35.01 $\pm$ 2.09 ^{b*}

PL: Phase Lutéale ; PF : Phase Folliculaire ; GS : Glandes Superficielles ; GP : Glandes Profondes

a,b : comparaison des paramètres morphométriques entre les glandes ($p < 0.05$)

*,** : comparaison des paramètres morphométrique de chaque glandes entre les phases du cycle ($p < 0.05$)

D'après les résultats statistiques de notre étude, il apparaît que la phase du cycle affecte significativement ($P < 0.05$) la densité des glandes chez les deux espèces de notre expérimentation. Cependant, le site du prélèvement n'a aucun effet sur le paramètre en question. Ainsi, l'analyse de la variance à deux facteurs révèle une interaction significative entre la phase du cycle et le type de glandes ($P < 0.05$). Tandis que, aucune association n'a été trouvée entre le site du prélèvement et le type de glandes ni chez les brebis ($P = 0.69$), ni chez les vaches ($P = 0.88$).

L'exploration de l'interaction phase-type de glandes montre que les moyennes de la densité des glandes profondes sont significativement plus élevées que celles des glandes superficielles, durant les deux phases du cycle œstral. D'autre part, une augmentation de la densité des GS ($p = 0.04$ chez la vache, $p = 0.06$ chez la brebis) et GP ($P < 0,01$ chez les deux espèces) est constatée lors de la transition de la phase folliculaire vers la phase lutéale [Tableau 5] [Figure 26].

Ces constatations sont en accord avec celles décrites dans la littérature [22,176]. Selon une étude morphométriques réalisée chez la vache, il a été décrit que la densité moyenne de l'ensemble des glandes varie entre 25,3 ; 39,9 et 36.8 pendant la phase folliculaire, le 8^{ème} et le 16^{ème} jour respectivement [176]. Ces résultats sont très proches à ceux des nôtres durant la phase folliculaire et légèrement supérieurs durant la phase lutéale.

Cependant, les valeurs obtenues par **Tienthai et Sajjarengpong (2013)** sont très basses que celles enregistrées dans le présent travail [22]. Ces distinctions sont certainement dues à une différence des techniques utilisées et le moment de la collecte des échantillons. Toutefois, chez la femme, plusieurs travaux ont rapporté que le stade du cycle menstruel n'affecte pas le nombre de glandes endométriales [227].

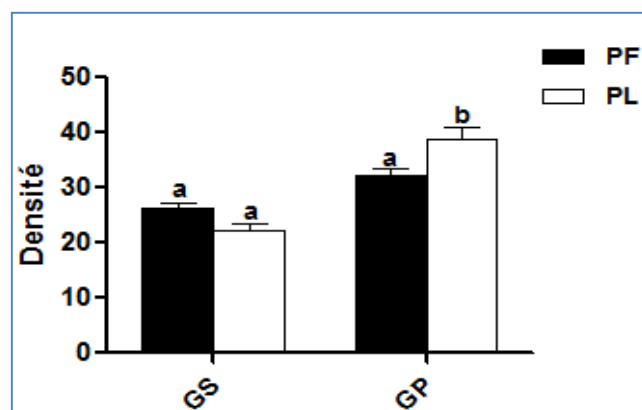


Figure 26. La densité des glandes superficielles et profondes chez la brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.

Plusieurs auteurs ont attribué les variations de la densité des glandes au cours du cycle oestral et la gestation aux fluctuations des hormones stéroïdiennes. A cet effet, un taux élevé des œstrogènes induit une augmentation rapide de la perméabilité vasculaire de l'endomètre, conduisant à un œdème du stroma, ce qui provoque un relâchement des fibres du collagène et par la suite la dispersion des glandes [22,24]. Il a été rapporté que durant la phase lutéale (dioestrus) la tortuosité des glandes est augmentée sous l'effet de la progestérone [228].

II.3.3.2 Surface et périmètre des glandes

La surface (superficie) et le périmètre glandulaire sont les paramètres morphométriques les mieux utilisés pour évaluer plus précisément les changements architecturaux et fonctionnels des glandes endométriales [176,227].

Tableau 6. Comparaison de la surface et du périmètre des glandes superficielles et profondes de la corne et le corps utérin chez la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale (Moy $\pm$ SEM)

		Surface des glandes (μm^2)		Périmètre des glandes (μm)	
		GS	GP	GS	GP
PL	Corne	9630 $\pm$ 918.2*	492.0 $\pm$ 72.87*	583 $\pm$ 33.76*	317.7 $\pm$ 30.04*
	Corp	9012 $\pm$ 817.0*	472.0 $\pm$ 89.07*	457 $\pm$ 23.66*	297.7 $\pm$ 32.24*
PF	Corne	4891 $\pm$ 882.17**	251.8 $\pm$ 28.93**	326.3 $\pm$ 37.8**	202.0 $\pm$ 11.92**
	Corps	4796 $\pm$ 852.97**	256.2 $\pm$ 23.29**	300.0 $\pm$ 46.1**	212.5 $\pm$ 10.64**

* : différence entre les sites de prélèvement au moment de la phase lutéale ($P \leq 0.05$) ;

** : différence entre les sites de prélèvement au moment de la phase folliculaire ($P \leq 0.05$)

D'après les résultats statistiques de notre étude, des changements spatiotemporels du périmètre et la surface des glandes ont été constatés au cours du cycle œstral chez nos animaux. L'analyse de la variance fait apparaître un effet significatif du stade du cycle et de type de glandes sur la surface ($P < 0.0001$) et le périmètre des glandes ($P < 0.05$). Alors que, aucun effet significatif n'a été observé pour le site du prélèvement ($P = 0.06$) chez la brebis et la vache ($P > 0.05$) [Tableau 6], [Figure 27].

Nous avons révélé également une interaction hautement significative ($P < 0.0001$) entre le stade du cycle et le type de glandes. Aucune association entre site du prélèvement et le stade du cycle n'a été constaté chez la vache ($P = 0.78$). Chez la brebis cette association à une tendance d'être significative ($P = 0.072$).

L'exploration de l'interaction phase-type de glandes, nous à permis de constater une augmentation significative ($P < 0.01$) de la surface et du périmètre des glandes superficielles durant la phase folliculaire [Tableau 6] [Figure 27]. Cependant, cette différence n'est pas statistiquement significative au niveau des glandes profondes. Il apparait nettement que les mesures des paramètres en question décroissent lorsqu'on s'enfonce dans l'épaisseur de l'endomètre chez les deux espèces. Cette diminution est statistiquement hautement significative ($P < 0.0001$).

Chez plusieurs mammifères, les glandes endométriales subissent des profonds remaniements structurels et fonctionnels au cours du cycle sexuelle. Le diamètre de leur lumière, ainsi que leur superficie et périmètres s'accroissent lors de la transition de la phase folliculaire vers la phase sécrétrice (lutéale). C'est en effet en début du dioestrus qu'elles se prolifèrent et se différencient d'avantage, ensuite, elles se décroissent progressivement vers la fin du dioestrus [176,214].

Durant le premier temps de la phase progestéronique, des vacuoles de sécrétions sont accumulées à la base des cellules épithéliales glandulaires. Le volume de ces produits s'accroît au fur et à mesure de l'élévation du taux plasmatique de la progestérone. Plus tard, dans la phase sécrétoire, ces vacuoles, très actives et proliférantes, apparaissent dans le pôle apical de cellules épithéliales lumineuse et principalement glandulaires, ce qui abouti à une dilatation de la lumière de glandes et par conséquent l'augmentation de la surface de ces structures endométriales [21].

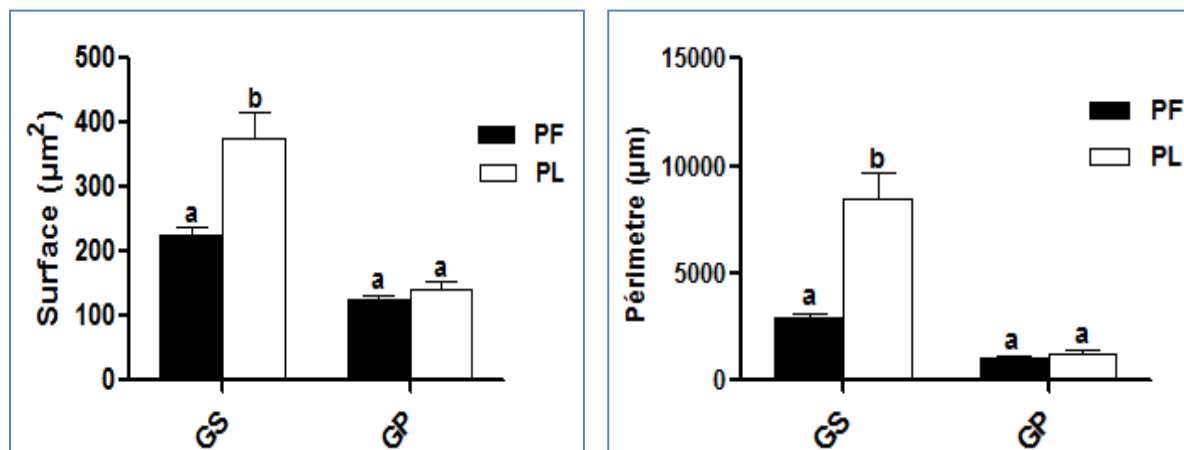


Figure 27. Mesures de la surface et le périmètre des glandes superficielles et profondes chez la brebis au cours de la phase folliculaire et profondes.

II.4 Expression des RE α et RP au niveau de l'endomètre

II.4.1. Immuno-localisation de RE α

Les résultats concernant la localisation immuno-histochimique des RE α au niveau des trois compartiments de l'endomètre de la vache au cours de la phase lutéale et folliculaire sont représentés dans la figure 28.

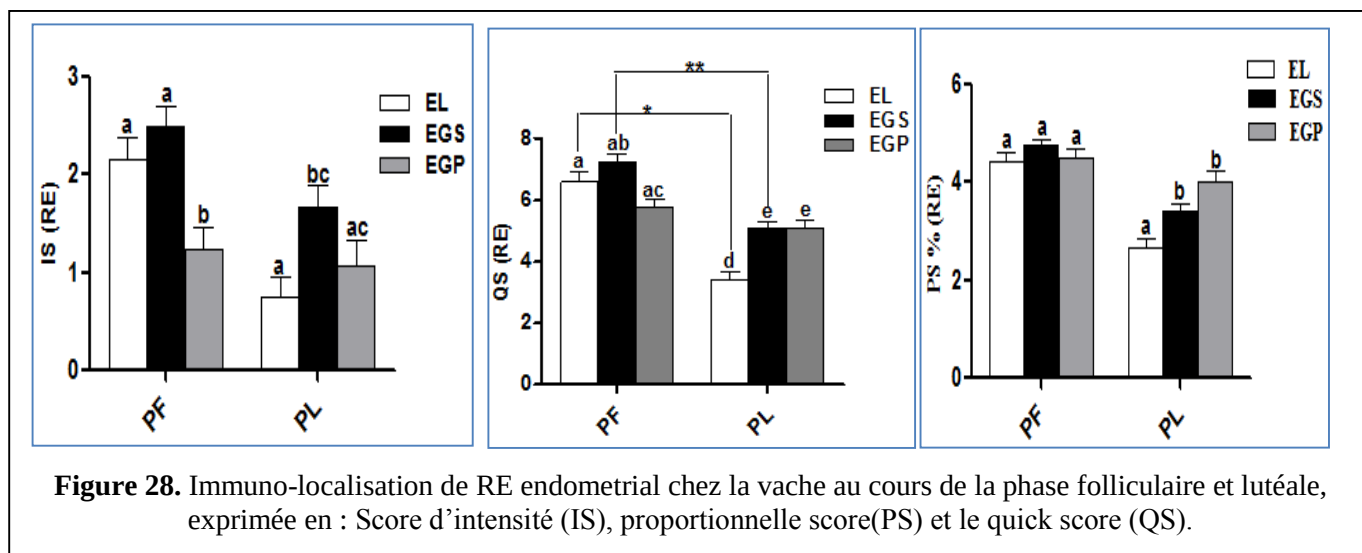


Figure 28. Immuno-localisation de RE endometrial chez la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale, exprimée en : Score d'intensité (IS), proportionnelle score (PS) et le quick score (QS).

La lecture microscopique de nos lames nous a permis de révéler un marquage nucléaire pour les RE α au niveau de trois types cellulaires et durant les deux phases du cycle chez les brebis et les vaches. Cette constatation est en accord avec des travaux précédents réalisés chez les ruminants [157,183]. Il a été décrit que la plupart des cellules utérines sont marquées positivement par les

anticorps anti RE, mais avec des intensités plus élevées pendant la phase folliculaire et principalement au niveau de l'épithélium et le myomètre [229].

Tableau 7. L'immunolocalisation des RE α endométriaux chez la brebis, exprimée en SI et le SP (Moy $\pm$ Sem)

		EL		GS		GP	
		SI	SP	SI	SP	SI	SP
PF	Corps	3.10 $\pm$ 0.19*	3.00 $\pm$ 1.05*	2.04 $\pm$ 2.28*	3.71 $\pm$ 4.35*	3.47 $\pm$ 0.81*	4.10 $\pm$ 0.19*
	Corne	3.51 $\pm$ 1.04*	3.41 $\pm$ 0.19*	2.46 $\pm$ 0.18*	3.55 $\pm$ 0.13*	3.02 $\pm$ 0.20*	4.76 $\pm$ 3.27*
PL	Corps	0.9 $\pm$ 0.21 ^a	1.16 $\pm$ 0.18 ^a	1.25 $\pm$ 0.22 ^a	2.01 $\pm$ 0.14 ^a	3.08 $\pm$ 0.25 ^a	4.00 $\pm$ 0.24 ^a
	Corne	0.58 $\pm$ 0.13 ^a	0.96 $\pm$ 3.74 ^a	2.05 $\pm$ 3.52 ^a	2.41 $\pm$ 0.14 ^a	3.78 $\pm$ 2.18 ^a	4.97 $\pm$ 0.77 ^a

*,** : différence statistique entre les deux sites u prélèvements au cours de la phase folliculaire (p<0.05).

a,b : différence statistique entre les deux sites u prélèvements au cours de la phase lutéale (p<0.05).

D'après les analyses statistiques de Quick Score (QS), il s'est avéré que la phase du cycle (P<0.001) affecte l'expression des RE α endométriaux chez les deux espèces de notre étude. Tandis que, l'effet de type cellulaire est constaté uniquement chez les brebis (P < 0.0001). Le test ANOVA à deux facteurs, a montré que la région du prélèvement n'a aucune influence sur les résultats du QS (P>0.05). Seulement l'interaction phase-compartiment est détectée chez les brebis (P<0.05).

En ignorant l'effet du site de prélèvement, on enregistre une diminution très significative des valeurs de QS lors de la transition de la phase folliculaire vers la phase lutéale chez les vaches. Néanmoins, cette diminution est observée uniquement au niveau du compartiment superficiel (EL, GS) chez les brebis. En plus, nous constatons que les GPs ont un QS plus élevé que les autres compartiments durant les deux phases du cycle chez les brebis et seulement pendant la phase lutéale chez les vaches.

Concernant les analyses statistiques du SI et celui de SP, il semble que, la phase du cycle (P < 0.001) et le type (P < 0.01) cellulaire affectent les résultats de ces deux facteurs. Ainsi, une association significative entre ces deux variables (P=0.05) et (P < 0.001) chez les vaches et les brebis est constatée. Les valeurs les plus faibles de ces deux paramètres sont observées durant la phase lutéale. Toutefois, des différences significatives ont été constatées entre les trois compartiments cellulaires pendant les deux phases du cycle (P<0.05) [Figure 28, 29], [Tableau 7].

Selon les résultats de notre étude, il apparaît que le SP de RE α est significativement très marqué au niveau GP et plus bas dans EL (P < 0.0001) au cours de la phase lutéale. Tandis que, lors

de la phase folliculaire cette différence demeure non significative uniquement chez la vache. En plus, les valeurs de SP sont significativement plus élevées lors du passage de la phase folliculaire vers la phase lutéale. En revanche, aucune différence n'a été signalée au niveau des GP ($P=0.12$). Des résultats similaires sont rapportés au cours cycle oestral chez les ruminants [106,183,230–232]. Plus récemment, **Martin et al. (2008)** ont démontré une diminution très significative des valeurs de SP et SI des $RE\alpha$ dans l'épithélium glandulaire et stromale ($P < 0,05$). En plus, il a été signalé que ce dernier compartiment présente un SP plus faible que celui de l'EG ($P < 0,05$) [233].

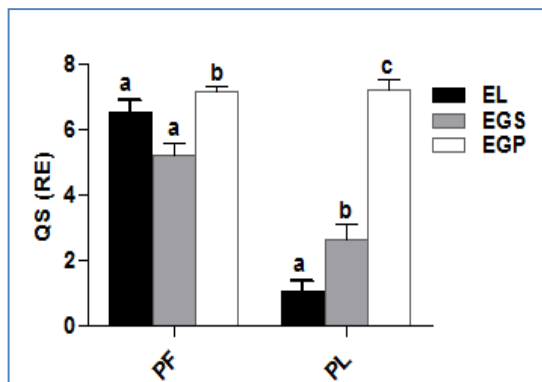


Figure 29. . Immunolocalisation de $RE\alpha$ endométrial chez la brebis, exprimée en QS.

Boos et al. (1996) ont rapporté des changements d'intensité de coloration des REs au niveau de tous les compartiments endométriaux au cours du cycle œstral chez la vache. A cet effet, une expression plus intense est signalée le 8ème et le 15ème jour post-œstrus au niveau de l'EL. Tandis que, au niveau des cellules stromales et glandulaires une forte et faible intensité est observée le jour d'œstrus et le 15ème jour du cycle respectivement [157].

Cette régulation spatio-temporelle de la distribution de $RE\alpha$ au niveau de l'endomètre peut être due aux fluctuations de la concentration des hormones stéroïdiennes. En effet, l'expression des gènes du récepteur étudié sont régulées principalement par le taux plasmatique des œstrogènes [159,161,230]. Par opposition aux effets répresseurs de la progestérone sur l'expression des RE et RP, l'œstradiol stimule leur expression au niveau de l'utérus [151,157,229,230]. Cependant, d'après une étude réalisée in vitro chez la vache, les œstrogènes et la progestérone ont peu d'effet sur l'expression des REs et des RPs [234].

La modifications temporelles des $RE\alpha$ s et RPs au niveau de l'EL pourrait être d'une grande importance pour l'initiation de la lutéolyse (en cas d'absence de gestation) ou l'initiation du phénomène d'implantation (en cas de gestation) [15,235].

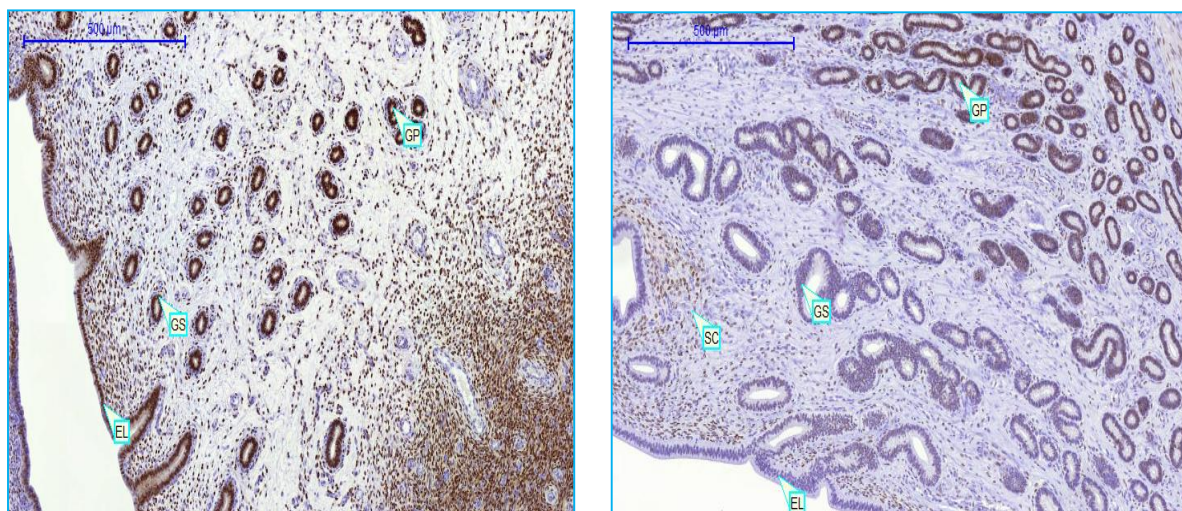


Figure 30. Immunolocalisation des RE α au niveau de l'endomètre de la vache cours de la phase lutéale (A droite) et folliculaire (A gauche) (coloration H&E).

II.4.2. Immuno-localisation des RPs

Les résultats concernant la localisation immuno-histochimique des RP au niveau des trois compartiments endométriaux des brebis et des vache au cours de la phase lutéale et folliculaire sont représentés dans la [Figure 31] et [Tableau 8].

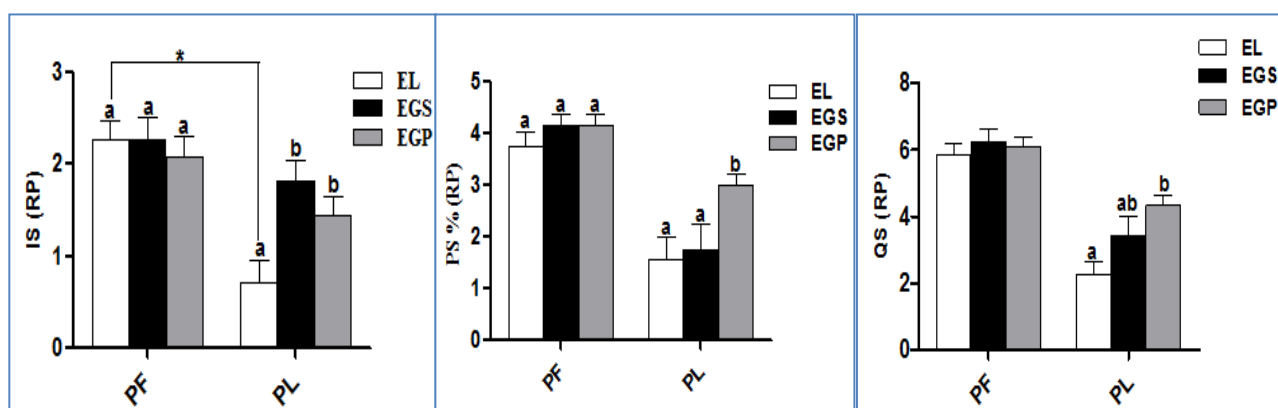


Figure 31. Immuno-localisation des RPs endometriaux chez les vaches au cours de la phase folliculaire et Lutéale. Score d'intensité (IS), proportionnelle score (PS) et le quick score (QS).

La lecture microscopique de nos lames nous a permis de constater que durant les deux phases du cycle, les trois compartiments endométriaux expriment tous un marquage nucléaire allant du faible à fort intensité pour le RP chez nos animaux [Figure 32]. Ces constatations sont partiellement en accord avec celles des travaux précédents réalisés chez les ruminants [157,183].

Les analyses statistiques de nos résultats, indiquent que le type cellulaire ($P < 0.05$) et la phase du cycle ($P < 0.001$) affectent l'intensité (SI), le proportionnel (SP) et le quick score (SQ) des RPs. Ainsi, le test d'ANOVA 2 pour le QS ($P = 0.07$ et $P < 0.0001$ chez les vaches et les brebis) et pour le SI ($P = 0.03$, $P = 0.001$; vaches et les brebis) et le PS ($P < 0.0001$ chez la brebis) montre une

interaction significative entre la phase du cycle et le type cellulaire. Cependant, le SP chez la vache ne montre aucune interaction entre les deux variables précédents. A signaler que la région du prélèvement n'a aucune influence sur le scoring des RPs chez les deux espèces étudiées.

Tableau 8. L'immunolocalisation de RP endométrial chez la brebis, exprimée en SI et le SP (Moy±Sem)

		EL		GS		GP	
		SI	SP	SI	SP	SI	SP
PF	Corps	2.76± 1.49*	3.00± 0.35*	3.00 ± 0.08*	2.81± 0.18*	2.90 ± 0.81*	4.91± 0.09*
	Corne	2.51± 2.15*	3.21± 1.27*	2.66 ± 1.07*	3.20± 1.95*	2.47 ± 1.10*	4.76 ± 0.07*
PL	Corps	0.84 ± 3.52 ^a	1.27± 1.34 ^a	1.00± 0.22 ^a	2.89 ± 0.01 ^a	2.71 ± 0.87 ^a	4.30 ±0.24 ^a
	Corne	0.47 ± 1.41 ^a	0.96± 3.74 ^a	1.15± 3.52 ^a	2.54 ± 2.74 ^a	2.61 ± 2.18 ^a	4.21±0.77 ^a

*,** : différence statistique entre les deux sites u prélèvements au cours de la phase folliculaire (p<0.05).

a,b : différence statistique entre les deux sites u prélèvements au cours de la phase lutéale (p<0.05).

En ignorant l'effet du site du prélèvement, nous notons une diminution très significative des valeurs de tous les scores des RPs lors de la transition de la phase folliculaire vers lutéale chez la vache. Néanmoins, cette diminution est observée uniquement au niveau du compartiment superficiel (EL, GS) chez la brebis. En plus, les scores les plus faibles ont été constatés au niveau de l'EL durant les deux phases du cycle chez la brebis mais seulement pendant la phase lutéale chez la vache. Aucune différence n'a été remarquée entre les trois compartiments cellulaires durant la phase folliculaire.

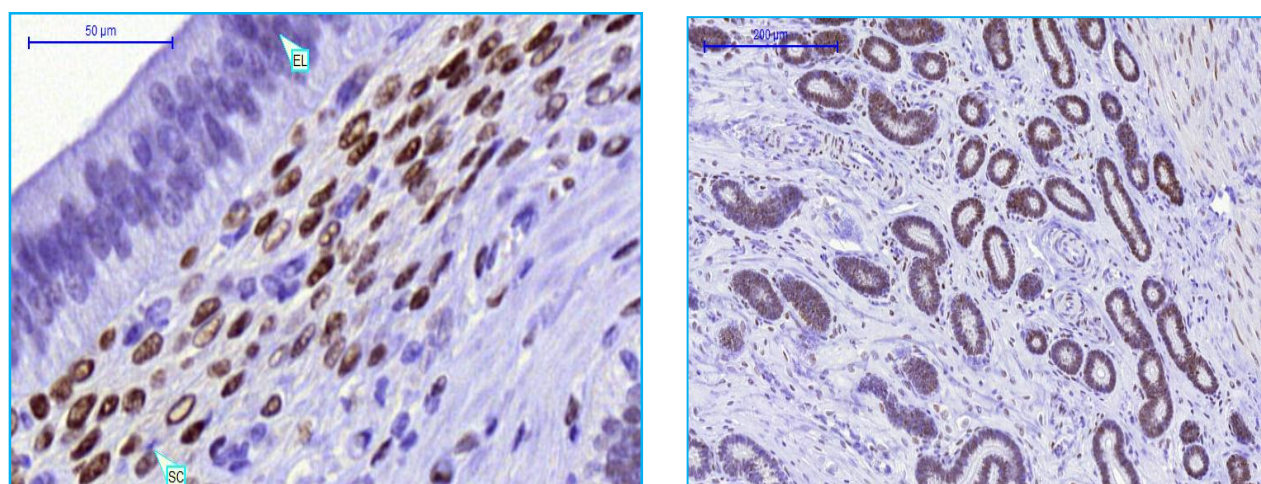


Figure 32. Immunolocalisation des RPs au niveau de l'endomètre de la vache, au cours de la phase lutéale (coloration H&E).

Nous notons que les RPs sont plus exprimés au niveau de l'épithélium glandulaire que luminale, particulièrement durant la phase lutéale chez les deux espèces de notre expérimentation [Figure 31, 333].

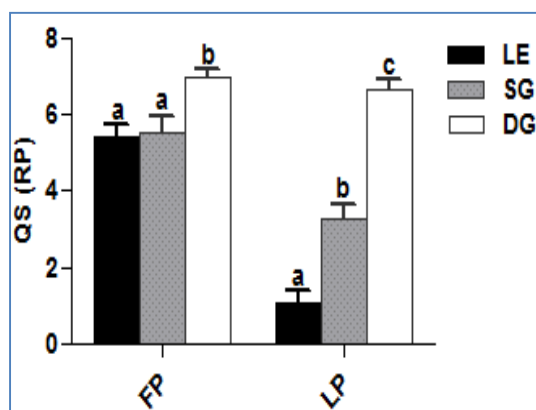


Figure 33. Quick score (QS) de RP endometrial chez la brebis au cours de la phase folliculaire et Lutéale.

Des changements spatio-temporels de l'intensité des RPs au niveau de l'endomètre chez les ruminants ont été rapportés par plusieurs travaux [106,157,166,183,229]. A cet effet, une intense immunoréaction des RPs est observée au moment de l'œstrus suivi par une diminution remarquable au cours de la phase lutéale chez la brebis [106,166] et la vache [183]. Chez cette dernière espèce la protéine RP est indétectable le premier et le seizième jours post-oestrus au niveau de l'épithélium luminal et glandulaire respectivement [236]. Par contre, d'après **Martin et al., (2008)**, l'immunomarquage des RPs semble constant durant le cycle oestral au niveau de l'épithélium glandulaire et du stroma utérin [233].

Cette perte de la RP au niveau l'EL de l'endomètre peut être directement corrélée à une expression réduite de certains gènes, tels que la protéine MUC1 anti-adhérent, empêchant le déroulement d'un bon attachement du conceptus. En outre, la perte de ce récepteur au niveau de l'épithélium glandulaire EG de l'endomètre semble être nécessaire pour l'apparition de l'expression d'autres gènes au cours de la gestation, tel que galectin- 15, l'ostéopontine et d'autres protéines du lait utérin [104,237,238]. Chez la brebis, la perte des RPs est suivie par une augmentation des RE et ceux des RO (récepteur d'ocytocine) au niveau de l'EL, permettant ainsi la synthèse de prostaglandine F2 α [239,240].

Chez les brebis ovariectomisées, l'œstradiol augmente le taux d'expression des récepteurs de la progestérone et d'œstradiol des cellules épithéliales et stromales [161,231]. Ces mêmes observations ont été signalées au cours d'un cycle oestral chez la vache [183,230].

Dans ce contexte, nous avons constaté des corrélations significativement positives entre le taux plasmatique des œstrogènes et l'expression des RPs et des RE α s au niveau de l'EL et EGS durant la phase folliculaire. Cependant, durant la phase lutéale un lien significatif et négatif est signalé uniquement entre l'expression des RPs et le taux sérique de la progestérone au niveau de l'EL [Tableau 9].

Tableau 9. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS des RPs au niveau des trois compartiments endométriaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.

		Concentrations plasmatiques d'œstradiol 17 β				Concentrations plasmatiques de la progestérone			
		PF		PL		PF		PL	
	Espèces	r	P	r	P	r	P	r	P
EL	Brebis	0,561	0,050	0,592	0,071	0,478	0,067	0,592	-0,050
	Vache	0,320	0,175	0,342	0,092	0,070	0,211	0,245	-0,245
GS	Brebis	0,678	0,041	0,627	0,087	0,032	0,311	0,322	-0,204
	Vache	0,519	0,047	0,222	0,404	0,551	0,218	0,655	-0,102
GP	Brebis	0,257	0,147	0,147	0,137	0,143	0,695	0,455	0,097
	Vache	0,423	0,086	0,200	0,956	0,084	0,819	0,206	0,671

Il a été signalé que, les oestrogènes sécrétées pendant la phase folliculaire accroissent l'expression des RPs, qui permettent à l'utérus de répondre mieux à la progestérone produites pendant la phase lutéale [241]. Les effets mitogènes de l'œstradiol 17 β sur l'utérus sont médiés par RE dans les cellules stromales. Cette voie est médiée par plusieurs facteurs de croissance (IGF et FGF) d'une manière autocrine et / ou paracrine.

Tableau 10. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS des RE α au niveau des trois compartiments endométriaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.

		Concentrations plasmatiques d'œstradiol 17 β				Concentrations plasmatiques de la progestérone			
		PF		PL		PF		PL	
CH	Espèces	r	P	r	P	r	P	r	P
EL	Brebis	0,301	0,002	0,689	0,062	0,478	0,099	0,592	0,083
	Vache	0,400	0,058	0,460	0,172	0,070	0,848	0,105	0,401
GS	Brebis	0,561	0,020	0,165	0,874	0,526	0,071	0,412	0,081
	Vache	0,291	0,088	0,492	0,150	0,351	0,478	0,595	0,092
GP	Brebis	0,394	0,184	0,256	0,483	0,122	0,995	0,387	0,154
	Vache	0,408	0,096	0,249	0,425	0,174	0,714	0,315	0,378

Boos et al. (1996) ont démontré que les œstrogènes augmentent l'expression du FGF-7 dans l'EL de l'endomètre, dont le rôle est de stimuler la prolifération de ces cellules et d'améliorer la capacité de l'utérus à supporter la survie du conceptus [157]. Toutefois, ces facteurs n'affectent pas la prolifération des glandes profondes [232]. Ce qui explique

probablement l'augmentation de la hauteur de l'épithélium du compartiment superficiel dans la présente étude.

D'autre part, l'inhibition de cette action (proliférative) implique un mécanisme paracrine des récepteurs stromal de la progestérone (**RP_s stromales**) via le facteur de transcription Hand2, exprimé uniquement dans le stroma. Ce facteur semble agir en supprimant la production de plusieurs facteurs de croissance dont les FGFs, qui agissent comme des médiateurs paracrines des effets mitogènes des œstrogènes par l'intermédiaire de leur récepteur (RFGF) au niveau de l'épithélium utérin [112]. Bien que, des résultats récents suggèrent que les RP_s épithéliales peuvent participer directement dans l'inhibition de la mitogenèse épithéliale [241].

II.4.3. Immuno-localisation de RE et RP au niveau du cervix

A partir de l'observation microscopique de nos lames, on remarque que durant les deux phases du cycle oestral, les RE_s et RP_s sont exprimés au niveau des quatre compartiments histologiques de la muqueuse cervicale chez nos animaux [Figure 35,36]. En plus, la partie craniale du cervix chez la brebis a montré une immunolocalisation de ces deux récepteurs au niveau des glandes superficielles et profondes. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par des études ultérieures chez les brebis [32,242] et les vaches [29]. En revanche, **Zhao et al. (1999)** n'ont pas trouvé aucune traçabilité de ces deux récepteurs au niveau de l'EL cervicale au cours de la phase lutéale [116].

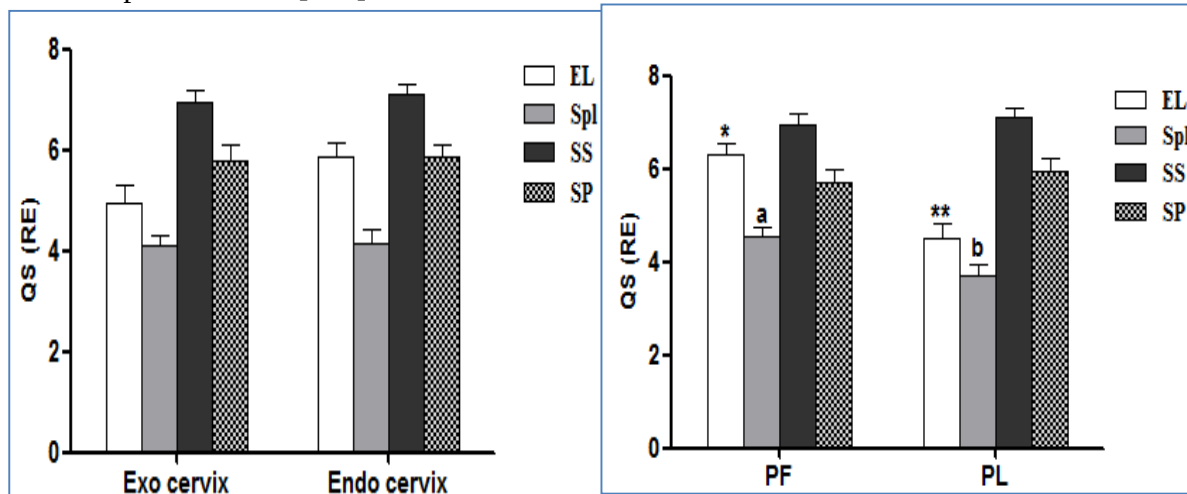


Figure 34. Quick score des RE_s au niveau du cervix de la vache. Effet de la région (a gauche) et la phase du cycle (à droite) sur l'expression de RE.

D'après les analyses statistiques de nos résultats, on constate que la phase du cycle ($P < 0.01$, $P < 0.01$), les compartiments histologiques ($P < 0.0001$; $P < 0.05$) affectent significativement l'expression des RE_s et ceux de la progestérone cervicale chez les vaches et les brebis

respectivement. Ainsi, une interaction entre ces deux paramètres est hautement significative ($P < 0,001$) est observée uniquement chez la brebis ($P=0.047$).

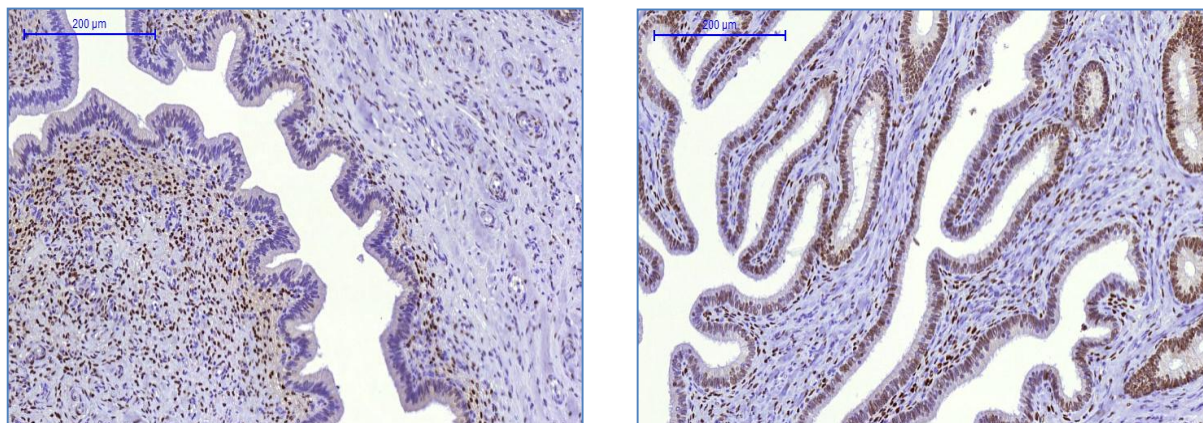


Figure 35. Immunolocalisation des REs cervicaux au cours de la phase lutéale (a gauche) et folliculaire (a droite) (grossissement x 40, H.E) chez la brebis (Grossissement x40, H.E).

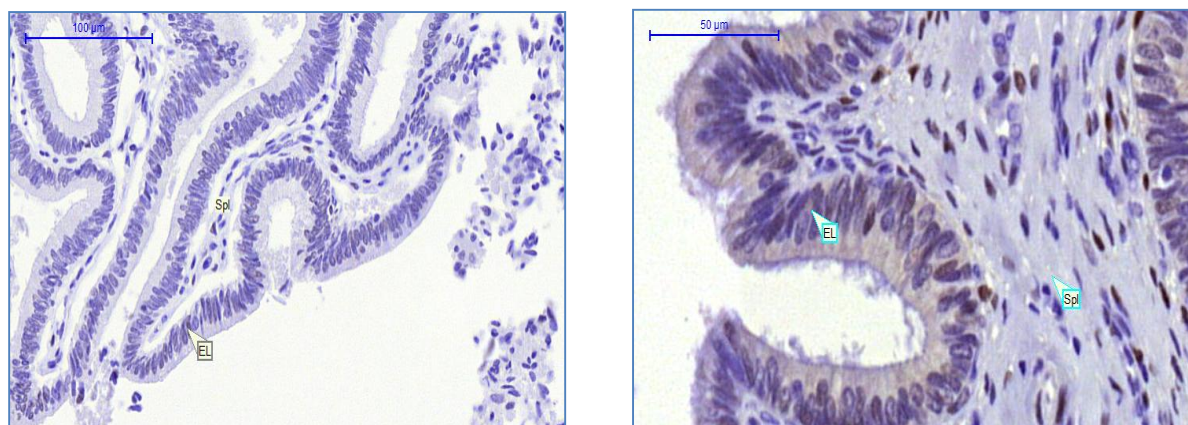


Figure 36. Immunolocalisation des RPs cervicaux au cours de la phase lutéale (A gauche) (Grossissement x100 H.E) et folliculaire (A droite) (grossissement x 40, coloration H&E) chez la brebis.

L'exploration de cette interaction a montré une diminution de tous les scores des REs et ceux des RPs lors du passage de la phase folliculaire vers la phase lutéale chez la brebis. Des constatations semblables ont été déclarées par de multiples chercheurs au niveau de l'endomètre [4,166] et le cervix [29,32,116,243] chez les ruminants. Ces variations apparaissent en partie corrélées à celles de la concentration et l'expression génique (ARN m de RE et RP) de ces protéines au niveau du cervix chez les brebis cycliques [242] et lors d'un oestrus induit au moment de la période d'anoestrus [244]. A cet effet, une augmentation à la fois de la concentration et le taux des ARNm de REs et ceux de RPs est rapporté chez la brebis, le jour de l'oestrus suivi par une baisse significative le 6^{ème} et le 13^{ème} [242].

Indépendamment de la région du prélèvement et les compartiments histologiques, récemment, il a été décrit que les ARN ms de REas sont fortement exprimés au niveau du cervix de nombreux mammifères non gravides que ceux des animaux gravides [245]. Contrairement à ces résultats, **Sağsöz et al., (2011)** ont constaté que le profil d'expression des RPs est inversement proportionnel à celui de REs chez la vache [121].

Nous suggérons que cette différence inter-étude, semble être due à la méthode employée pour la détection et l'interprétation des résultats. En effet, **Sağsöz et al., (2011)** ont utilisé des anticorps dirigés contre l'isoforme RP-B, dont les activités transcriptionnelles diffèrent à celles de RP-A. D'autre part, le site du prélèvement [32,105,242], les traitements de synchronisation [14] et l'alimentation [246] peuvent contribuer à cette différence.

L'exploration de l'interaction phase-compartiment histologique a montré que, le SI et le QS des deux récepteurs objets de ce travail, sont significativement plus élevés dans le compartiment profond (SS et SP) suivi par ceux de l'EL et le Spl(stroma luminal profond) cervicaux ($P < 0,05$) chez nos animaux pendant les deux phases du cycle. Ces observations sont en accord avec celles rapportées chez la vache [29,121], la brebis [242,244] et récemment chez la femme [160]. Néanmoins, nous n'avons marqué aucune différence significative dans le pourcentage des cellules marquées positivement (SP) de ces deux récepteurs, entre ces deux compartiments durant la phase folliculaire chez les vaches ($P=0.069$).

Ces résultats confirment le rôle crucial du stroma dans la différenciation et la prolifération de l'épithélium cervical. Il a été démontré que la différenciation de l'épithélium est médiée principalement par des facteurs paracrines stromales, dont la sécrétion est régulée par les oestrogènes et les progestérones via des récepteurs appropriés dans le stroma [247].

En ignorant l'effet de la phase du cycle et celui des compartiments histologiques, nous notons une influence significative du site de prélèvement uniquement chez les brebis. Cependant, aucune différence n'a été constatée chez les vaches. À cet effet, des scores significativement élevés des REas et RPs ont été signalés dans la muqueuse de la partie caudale que craniale chez les brebis. D'autre part, l'analyse de la variance à deux facteurs entre le site du prélèvement et les compartiments histologiques a montré que les scores les plus élevés des REas et RPs sont enregistrés au niveau des couches profondes (SS et SP) et les plus basses au niveau des couches superficielles (EL et Spl) indépendamment de la région du prélèvement. De multiples interactions entre le site du prélèvement, phase du cycle ($P < 0,001$) et le compartiment histologique ont été observées.

A signaler que le scoring de ces deux récepteurs demeure relativement le même au niveau du compartiment profond entre les deux parties du cervix. Toutefois une baisse significative de tous les scores lors du passage de la partie caudale vers la partie craniale est observée au niveau de l'EL et Spl. Un profil similaire que celui des REs est observé pour les RPs chez la brebis. Ces résultats sont en concordance partiellement à ceux trouvés par plusieurs études réalisées chez les brebis [32,242] et chez la vache [29]. Toutefois, des profils similaires ont été observé pour l'expression génique des ARNms des REs et de RPs au niveau de la partie caudale chez la brebis à cycle naturel ou induit [242,244]. L'explication de cette différence demeure inconnue.

D'après les résultats du test de Pearson, une corrélation significativement positive entre les QS des REs et RPs a été constatée au niveau de la partie caudale seulement ($r=0.51$, $P < 0.05$). Cependant, nous n'avons trouvé aucun lien significatif entre le SQ des ces récepteurs et celui de la concentration plasmatique des stéroïdes ovariens, durant les deux phases des cycles chez tous les animaux de notre étude. Une exception a été faite pour l'EL au cours de la phase folliculaire chez les brebis et les vaches [Tableau 11, 12].

Ces résultats sont en accord partiellement avec ceux déclarés chez les vaches par **Sagšöz et al., (2011)** [121]. Cette corrélation peut confirmer l'effet des ERs sur la transcription du gène pgr, codé pour les RP-A et RP-B, au niveau du cervix. Selon les résultats de la présente étude, nous avons remarqué que les niveaux d'expressions des REs et de RPs au niveau du cervix de la brebis sont plus exposés aux variations hormonales que ceux des vaches. Cette différence inter-espèce peut être attribuée à la longueur et la complexité anatomique de cet organe chez la brebis.

D'autre part, les changements spatio-temporels du profil d'expression des récepteurs stéroïdiens constatés au niveau de l'EL, semblent avoir un effet sur la composition et la consistance du mucus cervicale. Chez les ruminants cyclés le cervix est le plus souvent sous dominance de la progestérone, car une femelle non gravide est en phase lutéale 13 ou 14 jours et 14 ou 15 jours sur les 17ème et 21ème jour que dure le cycle oestrale chez la vache et la brebis respectivement [66,67]. Durant cette période le cervix demeure relativement fermé. Cependant, au moment du péri-oestrus, ce sont les œstrogènes qui prennent le relais, ce qui participe au relâchement et l'ouverture du cervix. Ainsi, au cours de cette phase la sécrétion d'une glaire filante et translucide est augmentée [248–250].

Tableau 11. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS des RPs au niveau de quatre compartiments cervicaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.

CH	Espèces	Concentrations plasmatiques d'œstradiol 17β				Concentrations plasmatiques de la progestérone			
		PF		PL		PF		PL	
		r	P	R	P	R	P	r	P
EL	Brebis	0,301	0,002	0,589	0,06	0,478	0,099	0,592	0,083
	Vache	0,400	0,105	0,460	0,092	0,070	0,848	0,245	0,245
Spl	Brebis	0,561	0,090	0,165	0,574	0,356	0,311	0,322	0,204
	Vache	0,291	0,097	0,422	0,150	0,351	0,318	0,655	0,102
SS	Brebis	0,394	0,054	0,256	0,137	0,143	0,695	0,455	0,097
	Vache	0,408	0,056	0,249	0,425	0,084	0,819	0,206	0,671
SP	Brebis	0,134	0,154	0,236	0,245	0,143	0,695	0,555	0,097
	Vache	0,008	0,656	0,239	0,335	0,084	0,819	0,206	0,671

r : Coefficient de corrélation ; P : le seuil de signification

D'après des études protéomiques de la glaire cervicale réalisée chez les ruminants, il a été remarqué que, la composition de cette glaire subit des changements cycliques liés directement à l'effet des hormones stéroïdiennes. En effet, sous l'effet d'une augmentation des taux plasmatiques des œstrogènes, juste avant le pic LH, la teneur des protéines mucines est augmentée dans la glaire. Alors que, durant la phase lutéale, la concentration de ces protéines sont diminuées sous l'effet des œstrogènes [248–250]. Nous suggérons que ces variations sont attribuées aux changements d'expression des REα et RPs au niveau de l'EL.

Tableau 12. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et le QS de RE α au niveau des quatre compartiments cervicaux chez les vaches et les brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.

CH	Espèces	Concentrations plasmatiques d'œstradiol 17β				Concentrations plasmatiques de la progestérone			
		PF		PL		PF		PL	
		r	P	R	P	R	P	r	P
EL	Brebis	0,578	0,097	0,547	0,079	0,568	0,109	0,692	0,071
	Vache	0,250	0,605	0,460	0,092	0,070	0,848	0,245	0,245
Spl	Brebis	0,461	0,090	0,165	0,574	0,356	0,311	0,322	0,204
	Vache	0,634	0,756	0,145	0,89	0,258	0,670	-0,30	0,49
SS	Brebis	0,781	0,194	0,256	0,137	0,421	0,695	0,875	0,097
	Vache	0,208	0,856	0,259	0,425	0,084	0,819	0,376	0,671
SP	Brebis	0,134	0,154	0,236	0,245	0,143	0,695	0,655	-0,297
	Vache	0,008	0,656	0,845	0,425	0,102	0,259	0,406	0,271

r : Coefficient de corrélation ; P : le seuil de signification

II.5 Etude de la cytologie cervicale et utérine

L'examen microscopique des frottis cervicaux et utérins que nous avons réalisé, nous a permis la mise en évidence : des cellules épithéliales cervicales à cytoplasme réduit et/ ou avec un noyau rond ou ovale (CEA), cellules épithéliales à large vacuole cytoplasmique (CEB), des Neutrophiles (Neut), et les Lymphocytes (Lym) [Figure 38, 40]. Les cellules épithéliales

représentent la population dominante dans les deux frottis, elles correspondent à une exfoliation de l'épithélium superficiel.

Il a été rapporté que la présence d'un grand nombre des ces cellules dans un frottis cervicale ou utérin, associée rarement à des cellules inflammatoires, témoigne d'un prélèvement cytologique normal [44,179].

II.5.1. Etude de la cytologie cervicale

Les résultats concernant les propriétés cytologiques du cervix chez la brebis et la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale sont présentés dans la [Figure 37] et le [Tableau 13](voir la page 64).

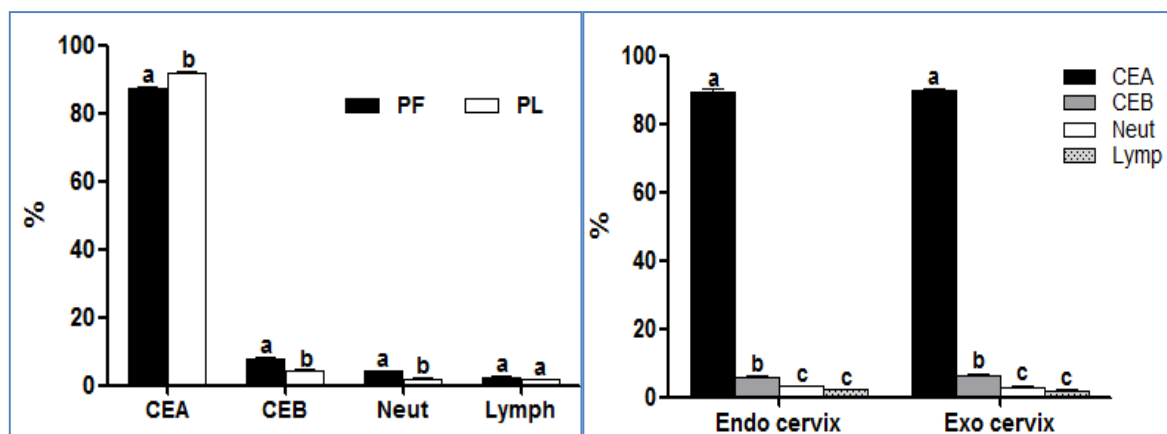


Figure 37. Cytologie cervicale au cours d'un cycle oestral chez la brebis. A gauche : effet de phase sur la cytologie cervicale. A droite : effet de la région du prélèvement sur l'aspect cytologique du cervix.

CEA : Cellules Epithéliales cervicales à cytoplasmes réduits et/ ou avec un noyau rond ou ovale , CEB : cellules épithéliales à large vacuole cytoplasmique, Neu : Neutrophiles, Lym : Lymphocytes

D'après les analyses statistiques de nos résultats, la phase du cycle ($P=0,002$, $P=0,24$), le type de cellules ($P < 0,0001$) affectent significativement les résultats de la cytologie cervicale chez les brebis et les vaches respectivement. Ainsi, l'interaction entre ces deux paramètres est hautement significative ($P < 0,001$). Cependant, le site du prélèvement n'a aucun effet sur le paramètre en question ($P=0,68$; $P>0,05$). Des interactions hautement significatives ont été observées entre la phase du cycle et le type cellulaire chez les deux espèces étudiées ($P < 0,0001$). Néanmoins, aucune association n'a été remarquée entre le site du prélèvement, la phase du cycle et le type cellulaire ni chez les vaches ($P=0,67$) ni chez les brebis ($P=0,80$).

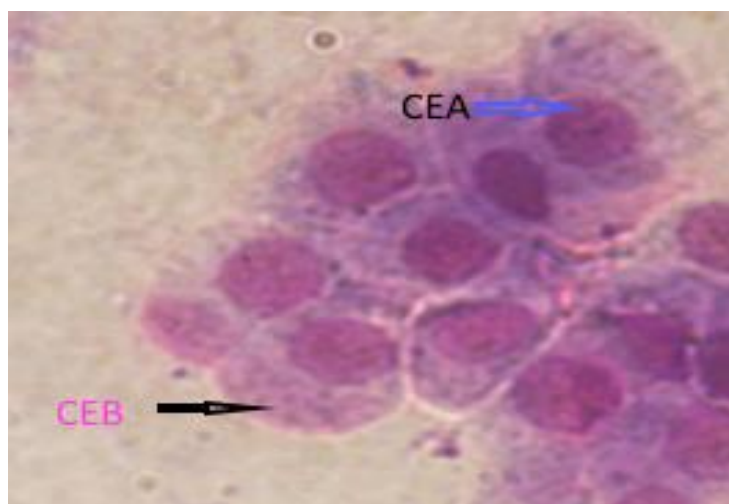


Figure 38. Amas des cellules épithéliales cervicales (grossissement. x 100, coloration May-Grünwald-Giemsa).

L'exploration de l'interaction phase – types cellulaires a montré que, contrairement aux lymphocytes, les CEA présentent le pourcentage le plus élevé dans nos frottis durant les deux phases du cycle chez les deux espèces de notre étude. Plusieurs travaux ont rapporté des résultats quasi-similaires [44,179]. D'après ces chercheurs, la présence d'un grand nombre de cellules épithéliales par rapport aux cellules inflammatoires dans un frottis, est un bon indice pour le statut reproducteur. En revanche, dans un frottis cytologique les Neut et les lymphocytes représentent la population majoritaire isolée de la partie caudal du cervix [251]. D'après **Yavari et al. (2009)**, les cellules épithéliales à large vacuole dans un frottis peuvent être utilisées comme des indicateurs de l'environnement utérin [252].

Il a été rapporté que, les cellules épithéliales de tractus génitale femelle constituent une barrière protectrice efficace contre la pénétration des pathogènes dans les compartiments profonds de la muqueuse après la parturition et au moment de l'œstrus. Ces cellules donc, possèdent un rôle immunitaire principal dans la reconnaissance et la réponse aux pathogènes chez les bovins. Cette fonction dépendante de la présence des récepteurs Toll like (TLR) au niveau de la membrane de cellules épithéliales. Les ligands de ces récepteurs sont présents dans une grande variété de pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus [253].

L'activation du système TLR a pour conséquence la synthèse de médiateurs proinflammatoires, qui agissent à leur tour en mobilisant et activant les cellules immunitaires ; il s'agit majoritairement des neutrophiles d'une part, et la synthèse de PGE d'autre part. A partir de ces données, on peut attribuer l'élévation de cellules épithéliales au moment de la phase lutéale, aux risques élevés des contaminations par des pathogènes [254,255].

Tableau 13. Evaluation de la cytologie cervicale au cours de la phase folliculaire et lutéale chez la vache laitière (Moy $\pm$ SEM).

	Site du prélèvement	CEA (%)	CEB (%)	Neu (%)	Lym (%)
PF	Endo-Cervix	77.90 $\pm$ 1.00 ^a	9.70 $\pm$ 0.73 ^a	7.7 $\pm$ 0.63 ^a	4.70 $\pm$ 0.70 ^a
	Exo-cervix	78,80 $\pm$ 1,22 [*]	9,70 $\pm$ 0.76 [*]	7.7 $\pm$ 0.63a [*]	4,30 $\pm$ 0,82 [*]
PL	Endo-Cervix	88.10 $\pm$ 0.60 ^b	3.80 $\pm$ 0.48 ^b	7.7 $\pm$ 0.63a ^b	4.3 $\pm$ 1.05 ^a
	Exo-cervix	87.30 $\pm$ 1.10 ^{**}	4.00 $\pm$ 0.49 ^{**}	4.00 $\pm$ 0.47 ^{**}	4.10 $\pm$ 0.85 [*]

CEA : Cellules Epithéliales cervicales à cytoplasmes réduits et/ ou avec un noyau rond ou ovale , **CEB** : cellules épithéliales à large vacuole cytoplasmique, **Neu** : Neutrophiles, **Lym** : Lymphocytes. **a,b** : différence statistique entre l'exo-col en phases folliculaire et lutéale ($p < 0.05$) *,** : différence statistique entre l'endo-col en phases folliculaire et lutéale ($p < 0.05$)

A cause de l'absence de l'effet du site de prélèvement sur l'aspect cytologique de nos animaux, nous avons regroupé les résultats de ces deux sites pour toutes les analyses ci dessous.

Selon nos résultats statistiques, une élévation très significative du pourcentage de CEA cervicaux est remarquée au cours de la phase lutéale que folliculaire chez les brebis (87.19 $\pm$ 0.69% vs 91.96 $\pm$ 0.50% ; $P < 0.001$) et les vaches (voir tableau 13). Toutefois, pour CEB, cette augmentation est observée lors du passage de la phase lutéale vers la phase folliculaire (7.80 $\pm$ 0.35 vs 4.38 $\pm$ 0.47 chez la brebis et les vaches (voir tableau 13) . Une cinétique similaire est constatée pour les Neut (4.11 $\pm$ 0.31 vs 2.03 $\pm$ 0.28 chez la brebis) et la vache (voir tableau 13). Pour le pourcentage des lymphocytes, aucun changement n'a été signalé au cours du cycle œstral.

Les mêmes résultats ont été rapportés par [41]. L'élévation de chimiotactismes des neutrophiles obtenus dans la présente étude concordent aux résultats des études précédentes [251] . Nous suggérons que l'élévation du taux de Neut durant la phase folliculaire coïncide avec une augmentation du rapport œstrogènes /progestérone [256]. Cette augmentation des œstrogènes responsable certainement d'un relâchement et l'ouverture partielle du cervix, ce qui rend la muqueuse cervicale plus exposée aux pathogènes. D'autre part, au moment d'œstrus le flux sanguin est augmenté sous l'effet des œstrogènes, rend l'extravasation des neutrophiles plus faciles.

II.5.2. Etude de la cytologie utérine

Les résultats concernant l'évaluation de la cytologie utérine chez la brebis et la vache au cours de la phase folliculaire et lutéale sont représentés dans la figure 39 et le tableau 14 respectivement.

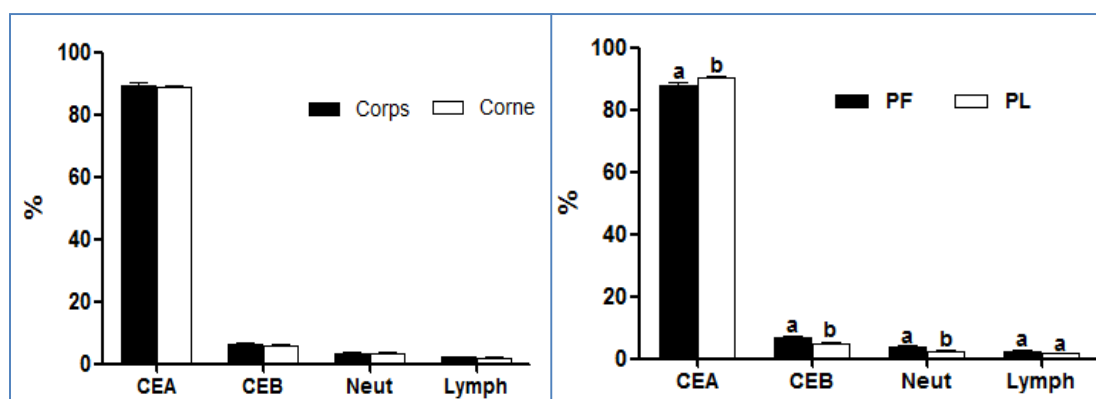


Figure 39. Cytologie utérine chez la brebis. A gauche l'effet de la région sur la cytologie utérine. A droite l'effet de la phase du cycle sur la cytologie utérine.

Les résultats statistiques de notre travail ont montré que le site de prélèvement n'affecte pas la cytologie utérine [Figure 39] [Tableau 14], En effet, le pourcentage de toutes les cellules étudiées : CEA, CEB, Neu et Lym ne présente aucune différence entre le corps et la corne de l'utérus pendant chaque phase du cycle oestral. Par contre, nous avons remarqué que la phase du cycle et le type cellulaire ont des effets significatifs sur l'aspect cytologique de l'utérus.

Dans ce contexte ; une élévation significative de la teneur des CEA au cours de la période de l'imprégnation progestéronique a été constatée chez les deux espèces étudiées. Ces résultats sont en accord avec ceux des études précédentes [42,179]. Ces derniers auteurs ont montré que le chimiotactisme des Neut ne change pas au cours du cycle oestral chez la vache, mais la présence des endométrites peut perturber ce profil. Cependant, nous avons signalé une élévation significative du pourcentage des CEB et des neutrophiles au cours de la phase folliculaire. Ceci est en désaccord avec **Ahmadi et al.**, [41,179]. Par contre, ces résultats sont en accord avec ceux de nombreux auteurs au cours de la phase folliculaire [257].

En revanche, les valeurs de Neut rapportées par **Dolatkhah et al., 2013** chez les vaches présentent des endométrites ou non (3.21 ± 0.17 vs 1.22 ± 0.24) sont de loin inférieures à ceux des nôtres [258]. Lors d'une contamination utérine, la phagocytose est le moyen le plus efficace durant un processus inflammatoire dans l'utérus. Elle fait appel à plusieurs cellules immunitaires, principalement les neutrophiles. D'après **Ahmadi et al., (2005)**, Ces cellules occupent 80% à 70% de la population immunitaire recrutée dans le cervix et l'utérus [258].



Figure 40. Frottis utérin de la vache (grossissement. x 100, coloration May Giemsa).

Le taux élevé des Neut durant la phase folliculaire trouvé dans la présente étude peut être attribué à une faible concentration de la progestérone et une élévation de la concentration plasmatique en œstrogène. En effet, **Roth et al ., 1983** ont montré que la progestérone à un effet suppressive sur la fonction des Neut [258].

D'autre part, ce sont les cellules épithéliales de l'utérus qui sont les premières en contact avec les pathogènes. ces cellules fonctionnent comme de véritables sentinelles qui reconnaissent les antigènes et déclenchent une réponse immunitaire innée dont le but est d'éliminer les bactéries et virus [253].

Tableau 14. Evaluation de la cytologie utérine au cours d'un cycle oestral chez la vache laitière (Moy $\pm$ SEM).

	Site du prélèvement	CEA (%)	CEB (%)	Neu (%)	Lym (%)
PF	Corps	80,50 $\pm$ 0.83 ^a	9,20 $\pm$ 0.44 ^a	6,10 $\pm$ 0.53 ^a	4,20 $\pm$ 0.80 ^a
	Corne	80,20 $\pm$ 0.82 [*]	9,60 $\pm$ 0.47 [*]	6,30 $\pm$ 0.51 [*]	3,90 $\pm$ 0.69 [*]
PL	Corps	86,40 $\pm$ 1.37 ^b	5,10 $\pm$ 0.83 ^b	4,00 $\pm$ 0.63 ^b	4,70 $\pm$ 0.70 ^a
	Corne	88,50 $\pm$ 1.31 ^{**}	4,10 $\pm$ 0.73 ^{**}	3,60 $\pm$ 0.68 ^{**}	3,80 $\pm$ 0.86 [*]

CEA : Cellules Epithéliales utérines à cytoplasmes réduit ou atrophié , CEB : cellules épithéliales à large vacuole cytoplasmique, Neu : Neutrophiles, Lym : Lymphocytes. **a,b** : différence statistique entre le corps en phases folliculaire et lutéale ($p < 0.05$) *,** : différence statistique entre le corne en phases folliculaire et lutéale ($p < 0.05$)

Il a été signalé que le pourcentage de neutrophiles dans un frottis utérin est directement corrélé avec la quantité des bactéries présentes [259]. Cependant, l'effet des hormones ovariennes sur l'activité des Neut utérins au cours de la phase folliculaire et lutéale est controversé. Pour certains auteurs, une progestéroémie élevée réprime l'activité phagocytaire des neutrophiles sanguins et utérins [253].

II.5.3. Lien entre la cytologie cervicale et utérine

Pour la recherche des éventuels liens entre la cytologie cervicale et utérine, nous avons regroupé les résultats des deux sites de prélèvement pour les deux compartiments étudiés (en

raison de l'absence des différences significatives des propriétés cytologiques entre les différents sites des prélèvements).

Les résultats d'évaluation de la cytologie cervicale et utérine au cours d'un cycle oestral chez la brebis et la vache sont représentés dans la figure 41 et le tableau 15 respectivement :

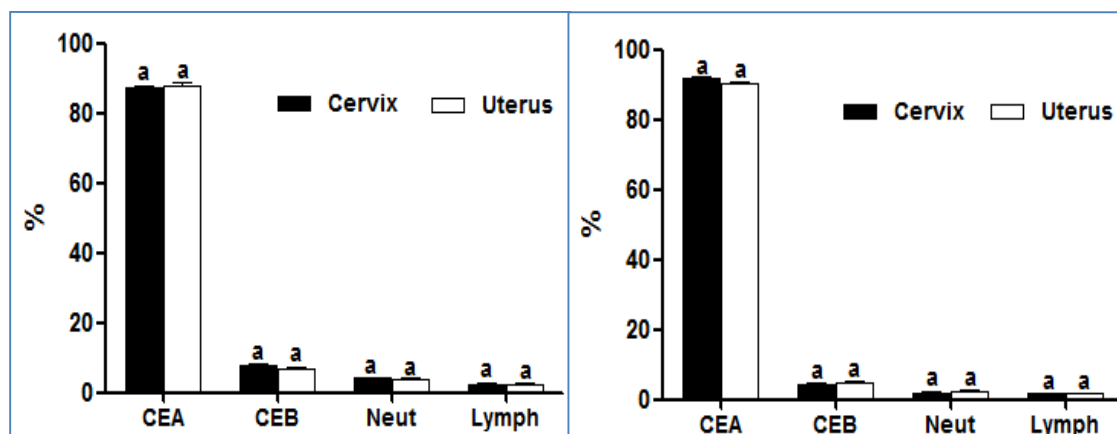


Figure 41. Effet de la région du prélèvement sur la cytologie pendant la phase folliculaire (a gauche) et lutéale (a droite) chez la brebis.

Les résultats de la cytologie cervicale et utérine ont révélé que le statut cellulaire est homogène au sein de ces deux compartiments chez les brebis et les vaches. Ces résultats sont en concordance avec ceux déclarés par [41,65,179]. Par opposition aux nos résultats, **Deguillaum *et al.*, (2012)** n'ont pas trouvé aucun lien cytologique entre le cervix et l'endomètre chez les vaches [260]. Des études récentes menées sur le profil protéomique et du transcriptome chez les ruminants, ont rapporté que les sécrétions utérines et cervicales possèdent plus de 500 protéines en commun [248–250]. Les différences inter-études peuvent être dues partiellement à une différence du protocole expérimental.

Tableau 15. Lien entre la cytologie cervicale et utérine au cours d'un cycle oestral chez la vache laitière (Moy $\pm$ SEM).

	Site du prélèvement	CEA (%)	CEB (%)	Neu (%)	Lym (%)
PF	Cervix	78.35 $\pm$ 1.11	9.70 $\pm$ 0.75	7.45 $\pm$ 0.68	4.50 $\pm$ 0.76
	Utérus	80,35 $\pm$ 0.82	9,40 $\pm$ 0.45	6,20 $\pm$ 0.52	4,05 $\pm$ 0.75
	P value	0.06	0.56	0.07	0.64
PL	Cervix	87,70 $\pm$ 0.85	3,90 $\pm$ 0.49	4,00 $\pm$ 0.43	4,20 $\pm$ 0.95
	Utérus	87.25 $\pm$ 0.98	4.60 $\pm$ 0.65	3.80 $\pm$ 0.65	4.25 $\pm$ 0.78
	P value	0.27	0.19	1.00	0.75

CEA : Cellules Epithéliales utérines à cytoplasmes réduits et/ ou avec un noyau rond ou ovale , **CEB** : cellules épithéliales à large vacuole cytoplasmique, **Neu** : Neutrophiles, **Lym** : Lymphocytes. **a,b** : différence statistique entre le cervix en phases folliculaire et lutéale ($p < 0.05$) *,** : différence statistique entre l'uterus en phases folliculaire et lutéale ($p < 0.05$)

Selon le tableau 15, il semble que les animaux de notre étude, présentent des endométrites sub-cliniques associées ou non à une cervicite durant la phase folliculaire. A cet

effet, des taux des Neut supérieurs aux seuils pathologiques décrits pour le cervix ($\geq 6\%$) et de l'utérus ($\geq 5\%$) sont enregistrés durant la phase folliculaire [260]. D'ailleurs ce seuil pathologique se diffère d'une étude à une autre. En effet, un seuil de $\geq 4\%$ a été décrit pour l'inflammation endométriale par **Madoz *et al.*, (2014)** [42]. Ces endométrites cytologiques, particulièrement après l'IA, ont des effets néfastes sur les performances de la reproduction de l'animal [261].

II.5.4. Corrélation entre la cytologie cervico-utérine et les hormones stéroïdiennes

D'après le test de la corrélation « pearson », il apparaît que durant les deux phases du cycle, la concentration plasmatique des oestrogènes est corrélée positivement et significativement avec toutes les populations cellulaires étudiées à l'exception des lymphocytes chez la vache et la brebis. Cependant la teneur plasmatique de la progestérone est corrélée significativement et négativement avec le pourcentage des CEB et les Neut. Tandis que, pour les CEA une corrélation négative est révélée chez les deux espèces durant les deux phases du cycle. Aucun lien n'a été trouvé entre la concentration des hormones stéroïdiennes et le taux des lymphocytes [Tableau 16].

Il a été montré que les défenses immunitaires d'un animal sont élevées durant la phase folliculaire que lutéale [204]. L'effet des hormones ovariennes sur l'activité des Neut utérins au cours de la phase folliculaire et lutéale est controversé. Pour certains auteurs, une progestéroémie élevée réprime l'activité phagocytaire des neutrophiles sanguins et utérins [259].

Tableau 16. Corrélation entre les teneurs plasmatiques des hormones ovariennes et la cytologie cervico-utérine chez la vache et la brebis au cours de la phase folliculaire et lutéale.

Espèce	Cellules	Concentrations plasmatiques d'œstradiol 17β				Concentrations plasmatiques de la progestérone			
		PF		PL		PF		PL	
		r	P	r	P	r	P	r	P
Brebis	CEA	0.41	<u>0.03</u>	0.37	<u>0.06</u>	0.47	<u>0.01</u>	0.65	<u>0.047</u>
	CEB	0.51	<u>0.008</u>	0.42	<u>0.03</u>	-0.69	<u>< 0.0001</u>	-0.84	<u>< 0.0001</u>
	Neut	0.47	<u>0.01</u>	0.50	<u>0.01</u>	-0.51	<u>0.007</u>	-0.62	<u>< 0.0001</u>
	Lym	0.37	<u>0.06</u>	0.29	0.15	0.02	0.9	-0.38	0.59
Vache	CEA	0,78	<u>0,01</u>	0,35	<u>0,052</u>	0,356	<u>0,03</u>	0,832	<u>0,004</u>
	Neut	0,60	<u>0,04</u>	0,56	<u>0,031</u>	-0,851	<u>< 0.0001</u>	-0,855	<u>0,002</u>
	CEB	0.85	<u>0.001</u>	0,41	<u>0,042</u>	-0,74	<u>0,01</u>	-0,66	<u>0,071</u>
	Lym	0.23	0.71	0.13	0.78	0.20	0.67	-0.30	0.49

r : Coefficient de corrélation ; P : le seuil de signification

CONCLUSION

Conclusion

En nous appuyant sur les techniques morphométriques, immunohistochimiques et cytologiques, nous avons analysé en détail et mettre en évidence l'impact majeur du stade du cycle et le site du prélèvement sur les changements morphologiques de l'endomètre et du cervix chez la brebis et la vache laitière.

Les paramètres morphométriques analysés dans la présente étude, en l'occurrence : la hauteur des cellules épithéliales luminales, des glandes superficielles et profondes ainsi la densité, la superficie et le périmètre des glandes, n'ont jamais été étudiés dans l'endomètre chez la brebis.

Sous l'influence des stéroïdes ovariens, nous confirmons la régulation fine des compartiments cellulaires de l'endomètre et du cervix au cours du cycle œstral chez les deux espèces étudiées. Parmi ces compartiments, soumis à une forte régulation endocrinienne, nous avons pu identifier les glandes superficielles. Cependant les glandes profondes ne montrent aucun changement durant les deux phases du cycle.

Suite à toutes ces modifications, nous avons conclu que l'endomètre de la vache et la brebis est subdivisé en deux zones morphologiquement et fonctionnellement distinctes : la zone superficielle active et la profonde faiblement active.

Toutefois, Le types cellulaires et le temps du prélèvement affectent de façon significative l'expression des récepteurs nucléaires étudiés,

Il semble que le contrôle de changements spatio-temporels de la morphologie de l'endomètre est associé à celui de l'expression des récepteurs nucléaires des œstrogènes et de la progestérone. Ceci n'élimine pas la possibilité que d'autres facteurs et voies de signalisation soit également impliqués dans ces modifications. Cette régulation sera explorée dans des études ultérieures plus approfondies, en particulier les gènes cibles de la progestérone liés aux remodelages de l'endomètre et le cervix.

Aucune différence significative n'a été constatée entre l'utérus et le cervix pour tout le profil cytologique. Un frottis exo-cervical semble être un outil plus pratique surtout chez la brebis, vu la complication anatomique de ce compartiment chez cette espèce, rendant la passage transcervicale difficile, pour l'étude de l'état physiologique et pathologique de l'utérus. Cette

technique est simple, rapide et ne nécessite pas de cathétérisme (lors de l'acte d'IA et le transfert embryonnaire) du cervix, surtout lorsque le col est fermé lors de la phase lutéale.

Notre étude a permis de dégager certains critères sur la morphologie de l'utérus et le cervix pouvant servir des indicateurs du statut physiologique de l'animal, ainsi pour mieux comprendre par ailleurs les mécanismes cellulaires de la réceptivité endométriale chez les ruminants et diminuer des pertes causées par une mauvaise gestion de la période péri-implantatoire.

Finalement, on peut conclure que l'utilisation de la morphométrie et la cytologie permettra d'ouvrir des nouvelles outils d'analyses efficaces, précises, rapides et moins coûteuses pour diminuer les échecs de la fertilité dans l'élevage ovin et bovin , en particulier lors du recours à des techniques de la biotechnologies (IA, transfère embryonnaire et la fécondation in vitro).

.

.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] Arbouche R, Arbouche HS, Arbouche F AY. Facteurs influençant les paramètres de reproduction des brebis ouled djellal. Arch Zootec 2013; 62:311–314.
- [2] Bouamra M. GF an., Ghozlane M. K. African Journal of Biotechnology Factors affecting reproductive performance of dairy cow in Algeria: Effects of clinical mastitis. African J Biotechnol 2017; 16:91–95.
- [3] Wiltbank MC, Baez GM, Garcia-Guerra A, Toledo MZ, Monteiro PLJ, Melo LF, Ochoa JC, Santos JEP, Sartori R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. Theriogenology 2016; 86.
- [4] Souza AH, Silva EPB, Cunha AP, Gümen A, Ayres H, Brusveen DJ, Guenther JN, Wiltbank MC. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. Theriogenology 2011; 75:722–733.
- [5] Cerri R, Chebel R, Rivera F, Narciso C, Oliveira R, Thatcher W, Santos J. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. J Dairy Sci 2011; 94:3342–3351.
- [6] Stevenson JS, Lamb GC. Contrasting effects of progesterone on fertility of dairy and beef cows 1 2. J Dairy Sci 2016; 99:5951–5964.
- [7] Bridges GA, Day ML, Geary TW, Cruppe LH. Triennial reproduction Symposium: Deficiencies in the uterine environment and failure to support embryonic development 1. J Anim Sci 2014; 91:3002–3013.
- [8] Wang Y, Wang C, Hou Z, Miao K, Zhao H, Wang R, Guo M, Wu Z, Tian J, An L. Comparative analysis of proteomic profiles between endometrial caruncular and intercaruncular areas in ewes during the peri-implantation period. J Anim Sci Biotechnol 2013; 39:7–11.
- [9] Hayashi K-G, Hosoe M, Kizaki K, Fujii S, Kanahara H, Takahashi T, Sakumoto R. Differential gene expression profiling of endometrium during the mid-luteal phase of the estrous cycle between a repeat breeder (RB) and non-RB cows. Reprod Biol Endocrinol 2017; 15:20.
- [10] Habiba MA, Bell SC, Al-Azzawi F. Endometrial responses to hormone replacement therapy: histological features compared with those of late luteal phase endometrium. Hum Reprod 1998; 13:1674–1682.
- [11] Sponchiado M, Gomes NS, Fontes PK, Martins T, Del Collado M, De A, Pastore A, Pugliesi G, Fá M, Nogueira G, Binelli M. Pre-hatching embryo-dependent and -independent programming of endometrial function in cattle. PLoS One 2017; 12:e0175954.
- [12] Bacha WJ, Bacha LM. Color atlas of veterinary histology. Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
- [13] Araújo ER, Sponchiado M, Pugliesi G, Van Hoeck V, Mesquita FS, Membrive CMB,

- Binelli M. Spatio-specific regulation of endocrine-responsive gene transcription by periovulatory endocrine profiles in the bovine reproductive tract. *Reprod Fertil Dev* 2016; 28:1533.
- [14] García-Palencia P, Sánchez MA, Nieto A, Vilar MP, González M, Veiga-Lopez A, González-Bulnes A, Flores JM. Sex steroid receptor expression in the oviduct and uterus of sheep with estrus synchronized with progestagen or prostaglandin analogues. *Anim Reprod Sci* 2007; 97:25–35.
- [15] Bazer FW. Pregnancy recognition signaling mechanisms in ruminants and pigs. *J Anim Sci Biotechnol* 2013; 4.
- [16] Binelli M, Scolari SC, Pugliesi G, Hoeck V Van, Gonella-Diaza AM, Andrade SCS, Gasparin GR, Coutinho LL, Asselin E. The Transcriptome Signature of the Receptive Bovine Uterus Determined at Early Gestation 2015.
- [17] Brooks K, Burns GW, Moraes JGN, Spencer TE. Analysis of the Uterine Epithelial and Conceptus Transcriptome and Luminal Fluid Proteome During the Peri-Implantation Period of Pregnancy in Sheep. *Biol Reprod* 2016; 95:88–88.
- [18] Forde N, Simintiras CA, Sturme R, Mamo S, Kelly AK, Spencer TE, Bazer FW, Lonergan P. Amino acids in the uterine luminal fluid reflects the temporal changes in transporter expression in the endometrium and conceptus during early pregnancy in cattle. *PLoS One* 2014; 9.
- [19] Forde N, Mehta JP, Mcgettigan PA, Mamo S, Bazer FW, Spencer TE, Lonergan P. Alterations in expression of endometrial genes coding for proteins secreted into the uterine lumen during conceptus elongation in cattle. *BMC Genomics* 2013; 14:5–13.
- [20] Gray CA, Abbey CA, Beremand P, Choi Y, Farmer JL, Adelson DL, Thomas TL, Bazer FW, Spencer TE. Identification of endometrial genes regulated by early pregnancy, progesterone, and interferon tau in the ovine uterus. *Biol Reprod* 2006; 74:383–394.
- [21] Priedkalns J, Leiser R. Female Reproductive System. In: Jo Ann Eurell BLF (ed.), *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6th ed. 2006:256.
- [22] Paisan Tienthai;, Kriengyot Sajjarengpong. Morphological Aspects by Light and Scanning Electron Microscopic Studies of Swamp Buffalo Endometrium at Follicular and Mid-luteal Phases. *Thai J Vet Med* 2013; 43:23–32.
- [23] Schmitz S, Gerber D, Soley J, Aire T, Boos A. Histo-morphology of the Uterus and Early Placenta of the African Buffalo (*Syncerus caffer*) and Comparative Placental Morphology of the African Buffalo and Cattle (*Bos taurus*). *Placenta* 2006; 27:899–911.
- [24] Gray CA, Taylor KM, Ramsey WS, Hill JR, Bazer FW, Bartol FF, Spencer TE. Endometrial Glands Are Required for Preimplantation Conceptus Elongation and Survival. *Biol Reprod* 2001; 64:1608–1613.
- [25] Gray CA, Bazer FW, Spencer TE. Effects of neonatal progestin exposure on female reproductive tract structure and function in the adult ewe. *Biol Reprod* 2001; 64:797–804.

- [26] Nabors B, Linford R. Anatomy of the Reproductive System of the Cow. In: Hopper RM (ed.), *Bovine Reproduction*. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc; 2015:819.
- [27] Réjean C, Lefebvre, Giovanni G. Anatomy of the Reproductive Tract of the Cow. In: DesCôteaux L, Gnemmi G, Colloton J (eds.), *Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography*. 1st ed. Blackwell Publishing Ltd; 2010:119.
- [28] Habibizad J, Karami-Shabankareh H, Muhaghegh-Dolatabady M. Influence of age and cervical grade on anatomy, morphology and depth of cervical penetration in Sanjabi ewes. *J Livest Sci Technol* 2015; 3:33–38.
- [29] Breeveld-Dwarkasing V, van der Weijden G, Taverne M, van Dissel-Emiliani F. The bovine cervix during the oestrous cycle: Regional differences in morphology and density of steroid hormone receptors. *Reprod Domest Anim* 2000; 35:120–124.
- [30] Cruz Júnior CA, Mcmanus C, Jivago JLPR, Bernardi M, Lucci CM. Anatomical and histological characterization of the cervix in Santa Inês hair ewes. *Anim Reprod* 2014; 11:49–55.
- [31] Rodríguez-Piñón M, Tasende C, Casuriaga D, Bielli A, Genovese P, Garófalo EG. Collagen and matrix metalloproteinase-2 and -9 in the ewe cervix during the estrous cycle. *Theriogenology* 2015; 84:818–826.
- [32] Rodríguez-Piñón M, Gonzalez R, Tasende C, Bielli A, Genovese P, Garófalo EG. Cervical changes in estrogen receptor alpha, oxytocin receptor, LH receptor, and cyclooxygenase-2 depending on the histologic compartment, longitudinal axis, and day of the ovine estrous cycle. *Theriogenology* 2014; 81:813–824.
- [33] Breeveld-Dwarkasing VNA, de Boer-Brouwer M, te Koppele JM, Bank RA, van der Weijden GC, Taverne MAM, van Dissel-Emiliani FMF. Regional Differences in Water Content, Collagen Content, and Collagen Degradation in the Cervix of Nonpregnant Cows. *Biol Reprod* 2003; 69:1600–1607.
- [34] van Engelen E, Breeveld-Dwarkasing V, Everts M, van der Weyden G, Taverne M, Rutten V. Smooth Muscle Cells of the Bovine Cervical Stroma may have a Secretory, rather than a Contractile Function during Parturition. *Reprod Domest Anim* 2009; 44:303–311.
- [35] Moré J. Anatomy and Histology of the Cervix uteri of the Ewe: New Insights. *Acta Anat* 1984; 120:156–159.
- [36] Adams NR. Organizational and activational effects of phytoestrogens on the reproductive tract of the ewe. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 208:87–91.
- [37] Adams N. Permanent infertility in ewes exposed to plant oestrogens. *Aust Vet J* 1990; 67:197–201.
- [38] Barberan M, Valderrabano J, Bascuas J. Histopathological changes in ewe lambs exposed to prolonged diet on lucerne. *Ann Rech Vétérinaires INRA Ed* 1990; 21:161–166.
- [39] Otsuka I, Kameda S, Hoshi K. Early detection of ovarian and fallopian tube cancer by

examination of cytological samples from the endometrial cavity. *BJC* 2013; 109:603–609.

- [40] Chapwanya A, Callanan J, Larkin H, Keenan L, Vaughan L. Breeding soundness evaluation of bulls by semen analysis, testicular fine needle aspiration cytology and trans-scrotal ultrasonography. *Ir Vet J* 2008; 61.
- [41] Ahmadi MR, Nazifi S. Evaluation of reproductive status with cervical and uterine cytology in fat-tailed sheep. *Comp Clin Path* 2006; 15:161–164.
- [42] Madoz LV, Giuliadori MJ, Jaureguiberry M, Plöntzke J, Drillich M, de la Sota RL. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 2013; 96:4333–4339.
- [43] Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN. Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 1998; 49:251.
- [44] Kasimanickam R. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2004; 62:9–23.
- [45] Cardoso B, Oliveira M, Pugliesi G, Batista E, Binelli M. Cytobrush: A tool for sequential evaluation of gene expression in bovine endometrium. *Reprod Domest Anim* 2017;1–5.
- [46] Dini P, Farhoodi M, Hostens M, Van Eetvelde M, Pascottini OB, Fazeli MH, Opsomer G. Effect of uterine lavage on neutrophil counts in postpartum dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2015; 158:25–30.
- [47] Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet J Vol Can Vet J* 2005; 4646:255–259.
- [48] A. Sharma, P. Kumar MS and NKV. Haemato-biochemical and endocrine profiling of north western Himalayan Gaddi s heep during various physiological/reproductive phases. *Open Vet J* 2015; 5:103–107.
- [49] Ahmadi MR, Kadivar A, Vatankhah M. Evaluation of polymorphonuclear (PMN) cells in cervical sample as a diagnostic technique for detection of subclinical endometritis in dairy cattle. *Asian Pacific J Reprod* 2016; 5:340–344.
- [50] Bogado Pascottini O, Hostens M, Dini P, Vandepitte J, Ducatelle R, Opsomer G. Comparison between cytology and histopathology to evaluate subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology* 2016; 86:1550–1556.
- [51] Paulo Elsen Saut J, Arlington Headley S, Resende Nasciutti N, Fleury Guedes Martins C, Akemi Tsuruta S, Moriya Shiota A, Soares de Barros Ramos Oliveira R, Maria dos Santos R, Vicente Mundim A. Comparative analysis between the cytobrush and low-volume uterine flush techniques for endometrial cytology in clinically normal postpartum crossbred dairy cows. *Semin Ciências Agrárias* 2013; 34:2329–2340.
- [52] Singh J, Honparkhe M, Chandra M, Kumar A, Ghuman SPS, Dhindsa SS. Diagnostic

Effect of Uterine Cytobrush Technique for Subclinical Endometritis in Crossbred Dairy Cattle. Indian Vet J Indian Vet J 2016; 93:11–13.

- [53] Brodzki P, Brodzki A, Kostro K, Kurek Ł, Marczuk J, Krakowski L. Cytological image of the endometrium in cows in follicular and luteal phases of the ovarian cycle and in cows with follicular and luteal ovarian cysts. Bull Vet Inst Pulawy 2014; 58:141–147.
- [54] Healy LL, Cronin JG, Sheldon IM. Endometrial cells sense and react to tissue damage during infection of the bovine endometrium via interleukin 1. Sci REPORTS | 2014; 4:7060.
- [55] Turner. ML, Cronin. JG, Healey. GD, Sheldon. IM. Epithelial and Stromal Cells of Bovine Endometrium Have Roles in Innate Immunity and Initiate Inflammatory Responses to Bacterial Lipopeptides In Vitro via Toll-Like Receptors TLR2, TLR1, and TLR6. Endocrinology 2014; 155:1453–1465.
- [56] Egberts J, Detterer J, Park A, Meinecke-Tillmann S. Exfoliative Endometrial Cytology in Embryo Donor Cows—Comparison of Sampling Localizations for the Diagnosis of Subclinical Endometritis. Vet Sci 2016; 3:35.
- [57] Herath S, Fischer DP, Werling D, Williams EJ, Lilly ST, Dobson H, Bryant CE, Sheldon IM. Expression and Function of Toll-like Receptor 4 in bovine endometrium1 Europe PMC Funders Group. Endocrinology 2006; 147:562–570.
- [58] Barański W, Łukasik K, Skarżyński D, Sztachañska M, Zduńczyk S, Janowski T. Secretion of prostaglandins and leukotrienes by endometrial cells in cows with subclinical and clinical endometritis. Theriogenology 2013; 80:766–772.
- [59] Gaafar KM, Gabr MK, Teleb DF. The hormonal profile during the estrous cycle and gestation in Damascus goats. Small Rumin Res 2005; 57:85–93.
- [60] Hoelker M, Salilew-Wondim D, Drillich M, Christine G-B, Ghanem N, Goetze L, Tesfaye D, Schellander K, Heuwieser W. Transcriptional response of the bovine endometrium and embryo to endometrial polymorphonuclear neutrophil infiltration as an indicator of subclinical inflammation of the uterine environment. Reprod Fertil Dev 2012; 24:778.
- [61] Gelardi M, Marseglia GL, Licari A, Landi M, Dell ’albani I, Incorvaia C, Frati F, Quaranta N. Nasal cytology in children: recent advances. Ital J Pediatr 2012; 38:1–7.
- [62] Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. Annu Rev Immunol 2006; 24:147–174.
- [63] HOGAN SP, ROSENBERG HF, MOQBEL R, PHIPPS S, FOSTER PS, LACY P, KAY AB, ROTHENBERG ME. Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. Clin Exp Allergy 2008; 38:709–750.
- [64] Lebien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. Blood 2008; 112:1570–1580.
- [65] Ahmadi MR, Nazifi S, Sajedianfard J, Moattari G. Impact of estrous synchronization methods on cellular proportions in cervical mucus and serum hormone concentrations. Theriogenology 2007; 67:598–604.

- [66] Forde N, Beltman ME, Lonergan P, Diskin M, Roche JF, Crowe MA. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2011; 124:163–169.
- [67] Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL. Reproductive cycles in sheep. *Anim Reprod Sci* 2011; 124:259–268.
- [68] Driancourt MA. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 2001; 55:1211–1239.
- [69] Vacca GM, Dhaouadi A, Rekik M, Carcangiu V, Pazzola M, Dettori ML. Prolificacy genotypes at BMP1B, BMP15 and GDF9 genes in North African sheep breeds. *Small Rumin Res* 2010; 88:67–71.
- [70] Squires EJ. *Applied Animal Endocrinology*. vol. 114. 1st ed. CABI; 2003.
- [71] Monniaux D., Caraty A., Clément F., Dalbiés-Tran R., Dupont J., Fabre S., Gérard N., Mermillod P., Monget P., Uzbeko S. Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA ProdAnim* 2009; 22:59–76.
- [72] Bonnet A, Cabau C, Bouchez O, Sarry J, Marsaud N, Foissac S, Woloszyn F, Mulsant P, Mandon-Pepin B. An overview of gene expression dynamics during early ovarian folliculogenesis: specificity of follicular compartments and bi-directional dialog. *BMC Genomics* 2013; 14:904.
- [73] Mihm M, Evans A. Mechanisms for Dominant Follicle Selection in Monovulatory Species: A Comparison of Morphological, Endocrine and Intraovarian Events in Cows, Mares and Women. *Reprod Domest Anim* 2008; 43:48–56.
- [74] Mihm M, Baker PJ, Fleming LM, Monteiro AM, O'shaughnessy PJ. Differentiation of the bovine dominant follicle from the cohort upregulates mRNA expression for new tissue development genes. *Reproduction* 2008; 135:253–265.
- [75] Webb R, Garnsworthy PC, Gong J, Armstrong DG. Control of follicular growth : Local interactions and nutritional influences The online version of this article , along with updated information and services , is located on the World Wide Web at : Control of follicular growth : Local interactions and nut. *J Anim Sci* 2004.
- [76] Webb R, Buratini J, Hernandez-Medrano JH, Gutierrez CG, Campbell BK. Follicle development and selection: past, present and future. *Anim Reprod* 2016; 13:234–249.
- [77] Seekallu S V., Toosi BM, Grazul-Bilska AT, Rawlings NC. Markers of ovarian antral follicular development in sheep: Comparison of follicles destined to ovulate from the final or penultimate follicular wave of the estrous cycle. *Reproduction* 2010; 140:559–568.
- [78] Aerts J, Bols P. Ovarian Follicular Dynamics. A review with Emphasis on the Bovine Species. Part II: Antral Development, Exogenous Influence and Future Prospects. *Reprod Domest Anim* 2010; 45:180–187.
- [79] Sullivan RR, Faris BR, Eborn D, Grieger DM, Cino-Ozuna AG, Rozell TG. Follicular expression of follicle stimulating hormone receptor variants in the ewe. *Reprod Biol Endocrinol* 2013; 11:113.

- [80] Rosales-Torres AM, Sánchez AG, Aguilar CG. Follicular development in domestic ruminants. *Trop Subtrop Agroecosystems* 2012; 15.
- [81] Abdennebi L, Monget P, Pisselet C, Remy JJ, Salesse R, Monniaux D. Comparative expression of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone receptors in ovarian follicles from high and low prolific sheep breeds. *Biol Reprod* 1999; 60:845–854.
- [82] Xu Z, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Hamilton SA, Youngquist RS. Expression of Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone Receptor Messenger Ribonucleic Acids in Bovine Follicles during the First Follicular Wave 1. *Biol Reprod* 1995; 53:951–957.
- [83] Mario B, Murphy BD. Coordinated regulation of follicle development by germ and somatic cells. *Reprod Fertil Dev* 2010; 22:1–12.
- [84] Lucy MC. The bovine dominant ovarian follicle. *J Anim Sci* 2007; 85:89–99.
- [85] Sangha GK, Sharma RK, Guraya SS. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Rumin Res* 2002; 43:53–64.
- [86] Taylor C, Rajamahendran R. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can J Anim Sci* 1991; 71:61–68.
- [87] Tomac J, Cekinović D, Arapović J. Biology of the corpus luteum. *Period Biol* 2011; 113:43–49.
- [88] Kor NM. The effect of corpus luteum on hormonal composition of follicular fluid from different sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. *Asian Pac J Trop Med* 2014; 7:S282–S288.
- [89] Wathes D, Taylor V, Cheng Z, Mann GE. follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reprod Suppl* 2003; 61:219–237.
- [90] Drion P V., Remy B, Houtain JY, Mc Namara M, Baril G, Heyman Y, Cognie Y, Theau-Clement MC, Lebœuf B, Ectors F, Segers K, Beckers JF. Utilisation répétée des gonadotropines exogènes dans le contrôle de la reproduction: Justifications, relations structure-activité biologique, effets secondaires potentiels. Une synthèse. *Ann Med Vet* 1998; 142:373–396.
- [91] Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Cunha AP, Giordano JO, Fricke PM, Baez GM, Diskin MG. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal* 2014; 8:70–81.
- [92] Pasi Nokelainen. Biosynthesis of estradiol. Oulu University Library; 2000.
- [93] Guo IC, Wu LS, Lin JH, Chung BC. Differential inhibition of progesterone synthesis in bovine luteal cells by estrogens and androgens. *Life Sci* 2001; 68:1851–1865.
- [94] Miller WL, Geller DH, Rosen M. Ovarian and Adrenal Androgen Biosynthesis and Metabolism. *Androg Excess Disord Women* 2007:19–33.

- [95] Rekawiecki R, Kotwica J. Molecular regulation of progesterone synthesis in the bovine corpus luteum. *Vet Med (Praha)* 2007; 52:405–412.
- [96] Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA, Spencer TE, Wu G. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among novel cell signaling pathways 1. *Reprod Biol* 2008; 8:179–211.
- [97] Adams GP, Singh J, Baerwald AR. Large animal models for the study of ovarian follicular dynamics in women. *Theriogenology* 2012; 78:1733–1748.
- [98] Binelli M, Pugliesi G, Hoeck VV, Sponchiado M, Ramos RS, Oliveira ML, França MR, D’Alexandri FL, Mesquita FS, Membrive CMB. The role of proestrus on fertility and postovulatory uterine function in the cow. *Anim Reprod* 2014; 11.
- [99] Bisinotto R, Lean I, Thatcher W, Santos J. Meta-analysis of progesterone supplementation during timed artificial insemination programs in dairy cows. *J Dairy Sci* 2015; 98:2472–2487.
- [100] Dadarwal D, Mapletoft RJ, Adams GP, Pfeifer LFM, Creelman C, Singh J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 2013; 79:859–866.
- [101] Dharmaraj Neeraja, Wang Peng and CDD. Cytokine and Progesterone Receptor Interplay in the Regulation of MUC1 Gene Expression. *Mol Endocrinol* 2010; 24:2253–2266.
- [102] Dias FCF, Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ, Adams GP, Singh J. Progesterone concentration, estradiol pretreatment, and dose of gonadotropin-releasing hormone affect gonadotropin-releasing hormone-mediated luteinizing hormone release in beef heifers. *Domest Anim Endocrinol* 2010; 39:155–162.
- [103] Rider V. PROGESTERONE AND THE CONTROL OF UTERINE CELL PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION 2002:1545–1555.
- [104] Spencer TE. Progesterone and Placental Hormone Actions on the Uterus: Insights from Domestic Animals. *Biol Reprod* 2004; 71:2–10.
- [105] Takahashi H, Haneda S, Kayano M, Matsui M. Differences in progesterone concentrations and mRNA expressions of progesterone receptors in bovine endometrial tissue between the uterine horns ipsilateral and contralateral to the corpus luteum. *J Vet Med Sci* 2016:3–8.
- [106] Wathes DC, Hamon M. Localization of oestradiol, progesterone and oxytocin receptors in the uterus during the oestrous cycle and early pregnancy of the ewe. *J Endocrinol* 1993; 138:479–491.
- [107] Grazul-Bilska AT, Khanthusaeng V, Bass CS, Kaminski SL, Navanukraw C, Redmer DA. Lipid droplets in the ovine uterus during the estrous cycle: Effects of nutrition, arginine, and FSH. *Theriogenology* 2017; 87:212–220.
- [108] Bazer FW, Spencer TE, Johnson GA, Burghardt RC, Wu G. Comparative aspects of implantation. *Reproduction* 2009; 138:195–209.

- [109] de Tarso S, Apgar G, Gastal M, Gastal E. Relationships between follicle and corpus luteum diameter, blood flow, and progesterone production in beef cows and heifers: preliminary results. *Anim Reprod*, Belo Horiz 2016; 13:81–92.
- [110] Al-Asmakh M. Reproductive functions of progesterone receptors. *Recent Prog Horm Res* 2007; 12:147–152.
- [111] Akbalik ME, Saruhan BG. Localization of estrogen receptor α and progesterone receptor B in bovine cervix and vagina during the follicular and luteal phases 2010.
- [112] Li Q, Kannan A, DeMayo FJ, Lydon JP, Cooke PS, Yamagishi H, Srivastava D, Bagchi MK, Bagchi IC. The antiproliferative action of progesterone in uterine epithelium is mediated by Hand2. *Science* 2011; 331:912–6.
- [113] Kowalik MK, Kotwica J. Progesterone receptor membrane component 1 (PGRMC1) gene expression in corpus luteum during the estrous cycle in cows. *Reprod Biol* 2008; 8:291–297.
- [114] Luciano a. M, Corbani D, Lodde V, Tessaro I, Franciosi F, Peluso JJ, Modina S. Expression of progesterone receptor membrane component-1 in bovine reproductive system during estrous cycle. *Eur J Histochem* 2011; 55:145–150.
- [115] Vasconcellos A, Paredes M, Nuñez D, Barrientos E, Olmazábal Y, Navarrete J. Estudio de la Expresión de los Receptores de Progesterona y Estrógeno en el Endometrio de Ovejas Alimentadas con Dieta Normal y Dieta Suplementada. *Int J ...* 2010; 28:575–581.
- [116] Zhao Y, Williams LM, Hannah LT, Ross a W, McKelvey W a, Robinson JJ. Oestrogen and progesterone receptor immunoreactivity and c-fos expression in the ovine cervix. *J Reprod Fertil* 1999; 115:287–292.
- [117] McEwan IJ, Nardulli AM. Nuclear hormone receptor architecture - form and dynamics: The 2009 FASEB Summer Conference on Dynamic Structure of the Nuclear Hormone Receptors. *Nucl Recept Signal* 2009; 7:e011.
- [118] Nilsson EE, Skinner MK. Progesterone Regulation of Primordial Follicle Assembly In Bovine Fetal Ovaries. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 10:9–16.
- [119] Okumu LA, Forde N, Fahey AG, Fitzpatrick E, Roche JF, Crowe MA, Lonergan P. The effect of elevated progesterone and pregnancy status on mRNA expression and localisation of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. *Reproduction* 2010; 140:143–153.
- [120] Spencer TE, Bazer FW. Temporal and Spatial Alterations in Uterine Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Gene Expression during the Estrous Cycle and Early Pregnancy in the Ewe ' 1995; 1543:1527–1543.
- [121] Sağsöz H, Akbalik ME, Saruhan BG, Ketani M a. Localization of estrogen receptor α and progesterone receptor B in bovine cervix and vagina during the follicular and luteal phases of the sexual cycle. *Biotech Histochem* 2011; 86:262–71.
- [122] Ruiz-gonzález I, Sánchez MA, García-palencia P, Sánchez B. Differences in uterine

- immunoexpression of PR , ER α and OTR when comparing prostaglandin- to progestagen-based protocols for ovine estrus synchronization. *Anim Reprod Sci* 2012; 133:93–100.
- [123] Lee Y, Gorski J. Estrogen-induced transcription of the progesterone receptor gene does not parallel estrogen receptor occupancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:15180–15184.
- [124] Stormshak F, Bishop C V. Board-invited review: Estrogen and progesterone signaling: Genomic and nongenomic actions in domestic ruminants. *J Anim Sci* 2008; 86:299–315.
- [125] Martin I, Rodrigues MMP, Fujihara CJ, Marques Filho WC, Oba E, Laufer-Amorim R, Ferreira JCP. Localization patterns of steroid and luteinizing hormone receptors in the corpus luteum of Nelore (*Bos taurus indicus*) cows throughout the estrous cycle. *Livest Sci* 2013; 155:442–453.
- [126] Patel B, Elguero S, Thakore S, Dahoud W, Bedaiwy M, Mesiano S. Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Hum Reprod Updat* 2015; 21:155–173.
- [127] Rękawiecki R, Kowalik MK, Kotwica J. Nuclear progesterone receptor isoforms and their functions in the female reproductive tract. *Pol J Vet Sci* 2011; 14:149–158.
- [128] Lusher SJ, Raaijmakers HCA, Vu-Pham D, Kazemier B, Bosch R, McGuire R, Azevedo R, Hamersma H, Dechering K, Oubrie A, Van Duin M, De Vlieg J. X-ray structures of progesterone receptor ligand binding domain in its agonist state reveal differing mechanisms for mixed profiles of 11 β -substituted steroids. *J Biol Chem* 2012; 287:20333–20343.
- [129] Gadkar-Sable S. SCRGSGPC. Progesterone receptors: Various forms and functions in reproductive tissues. *Front Biosci* 2005; 10:2118–2130.
- [130] Schwerk C, Klotzbucher M, Sachs M, Ulber V, Klein-Hitpass L. Identification of a transactivation function in the progesterone receptor that interacts with the TAF(II)110 subunit of the TFIID complex. *J Biol Chem* 1995; 270:21331–21338.
- [131] Maudelonde T. Les récepteurs de la progestérone – Progesterone receptors. *La Lett Du Sénologue* 2008; 41:6–12.
- [132] Giangrande PH, Pollio G, McDonnell DP. Mapping and characterization of the functional domains responsible for the differential activity of the A and B isoforms of the human progesterone receptor. *J Biol Chem* 1997; 272:32889–900.
- [133] Cork DMW, Lennard TWJ, Tyson-Capper AJ. Alternative splicing and the progesterone receptor in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2008; 10:207.
- [134] Wetendorf M, Demayo FJ. Progesterone receptor signaling in the initiation of pregnancy and preservation of a healthy uterus. *Int J Dev Biol* 2014; 58:95–106.
- [135] Diep CH, Daniel AR, Mauro LJ, Knutson TP, Lange CA. Progesterone action in breast, uterine, and ovarian cancers. *J Mol Endocrinol* 2015; 54:R31–R53.

- [136] Taylor AH, McParland PC, Taylor DJ, Bell SC. The cytoplasmic 60 kDa progesterone receptor isoform predominates in the human amniochorion and placenta at term. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7:22.
- [137] Scarpin K. Progesterone action in human tissues: regulation by progesterone receptor (PR) isoform expression, nuclear positioning and coregulator expression. *Nucl Recept Signal* 2009; 7:1–13.
- [138] Grazul-Bilska AT, Khanthusaeng V, Bass CS, Kaminski SL, Navanukraw C, Redmer DA. Lipid droplets in the ovine uterus during the estrous cycle: Effects of nutrition, arginine, and FSH. *Theriogenology* 2016; 87:212–220.
- [139] Conneely OM, Mulac-Jericevic B, Lydon JP. Progesterone-dependent regulation of female reproductive activity by two distinct progesterone receptor isoforms. *Steroids* 2003; 68:771–778.
- [140] Condon JC, Hardy DB, Kovaric K, Mendelson CR. Up-Regulation of the Progesterone Receptor (PR)-C Isoform in Laboring Myometrium by Activation of Nuclear Factor- κ B May Contribute to the Onset of Labor through Inhibition of PR Function. *Mol Endocrinol* 2006; 20:764–775.
- [141] Schams D, Kohlenberg S, Amselgruber W, Berisha B, Pfaffl MW, Sinowatz F. Expression and localisation of oestrogen and progesterone receptors in the bovine mammary gland during development, function and involution. *J Endocrinol* 2003; 177:305–317.
- [142] Ribeiro ES, Greco LF, Bisinotto RS, Lima FS, Thatcher WW, Santos JE. Biology of Preimplantation Conceptus at the Onset of Elongation in Dairy Cows¹. *Biol Reprod* 2016; 94:1–18.
- [143] Mulac-jericevic B, Conneely OM. Reproductive tissue selective actions of progesterone receptors 1996.
- [144] Boonyaratanakornkit V, Edwards DP. Receptor mechanisms mediating non-genomic actions of sex steroids. *Semin Reprod Med* 2007; 25:139–153.
- [145] Lee K, Jeong J, Tsai M-J, Tsa JP, Lydon S, FJ DeMayo. Molecular mechanisms involved in progesterone receptor regulation of uterine function. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 102:41–50.
- [146] Boonyaratanakornkit V, Scott MP, Ribon V, Sherman L, Anderson SM, Maller JL, Miller WT, Edwards DP. Progesterone receptor contains a proline-rich motif that directly interacts with SH3 domains and activates c-Src family tyrosine kinases. *Mol Cell* 2001; 8:269–280.
- [147] Kowalik MK, Rekawiecki R, Kotwica J. The putative roles of nuclear and membrane-bound progesterone receptors in the female reproductive tract. *Reprod Biol* 2013; 13:279–289.
- [148] Christy R. Hagan, Daniel AR, Dressing GE, Lange CA. Role of Phosphorylation in Progesterone Receptor Signaling and Specificity. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 357:43–49.

- [149] Lee H-R, Kim T-H, Choi K-C. Functions and physiological roles of two types of estrogen receptors, ER α and ER β , identified by estrogen receptor knockout mouse. *Lab Anim Res* 2012; 28:71–6.
- [150] Meikle A, Tasende C, Sosa C, Garfalo EG. The role of sex steroid receptors in sheep female reproductive physiology. *Reprod Fertil Dev* 2004; 16:385.
- [151] Meikle A, Tasende C, Sahlin L. Regulation by Gonadal Steroids of Estrogen and Progesterone Receptors Along the Reproductive 2001; 42:161–169.
- [152] Meikle A, Rodríguez-piñón M. Estrogen and progesterone receptor content in the pituitary gland and uterus of progesterone- primed and gonadotropin ... 2002.
- [153] Moutsatsou P, Sekeris CE. Estrogen and progesterone receptors in the endometrium. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 816. 1997:99–115.
- [154] Gruber CJ, Gruber DM, Gruber IML, Wieser F, Huber JC. Anatomy of the estrogen response element. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15:73–78.
- [155] Millas L, Liquidato B. Estrogen receptors alpha and beta in non-target organs for hormone action: review of the literature. *Braz J Morphol Sci* 2009; 26:193–197.
- [156] Kumar R, Zakharov MN, Khan SH, Miki R, Jang H, Toraldo G, Singh R, Bhasin S, Jasuja R. The Dynamic Structure of the Estrogen Receptor. *J Amino Acids* 2011; 2011:1–7.
- [157] Boos A, Meyer W, Schwarz R, Grunert E. Immunohistochemical assessment of oestrogen receptor and progesterone receptor distribution in biopsy samples of the bovine endometrium collected throughout the oestrous cycle. *Anim Reprod Sci* 1996; 44:11–21.
- [158] Cherny RA, Salamonsen LA, Findlay JK. Immunocytochemical localization of oestrogen receptors in the endometrium of the ewe. *Reprod Fertil Dev* 1991; 3:321–331.
- [159] Ing NH, Ott TL. Estradiol up-regulates estrogen receptor-alpha messenger ribonucleic acid in sheep endometrium by increasing its stability. *Biol Reprod* 1999; 60:134–139.
- [160] Hong M-K, Wang J-H, Su C-C, Li M-H, Hsu Y-H, Chu T-Y. Expression of Estrogen and Progesterone Receptor in Tumor Stroma Predicts Favorable Prognosis of Cervical Squamous Cell Carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2017; 0:1.
- [161] Ing NH. Estrogen enhances endometrial estrogen receptor gene expression by a posttranscriptional mechanism in the ovariectomized ewe. *Biol Reprod* 1996; 54:591–599.
- [162] Ing NH, Zhang Y. Cell-specific expression of estrogen-responsive genes in the uteri of cyclic, early pregnant and ovariectomized ewes. *Theriogenology* 2004; 62:403–414.
- [163] Schönfelder G, Friedrich K, Paul M, Chahoud I. Developmental Effects of Prenatal Exposure to Bisphenol A on the Uterus of Rat Offspring. *Neoplasia* 2004; 6:584–594.
- [164] Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER β : Identification and characterization of a novel

human estrogen receptor. FEBS Lett 1996; 392:49–53.

- [165] Takama F, Kanuma T, Wang D, Kagami I, Mizunuma H. Oestrogen receptor beta expression and depth of myometrial invasion in human endometrial cancer. *Br J Cancer* 2001; 84:545–9.
- [166] Spencer TE, Bazer FW. Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe. *Biol Reprod* 1995; 53:1527–1543.
- [167] Intan-Shameha AR, Zuki ABZ, Noordin MM, Wahid H, Azmi TI. The effects of oestrogen and progesterone on lymphocyte and plasma cell population in the oviduct and uterine mucosae during follicular and luteal phases in ewes. *Pertanika J Trop Agric Sci* 2011; 34:181–187.
- [168] Björnström L, Sjöberg M. Mechanisms of Estrogen Receptor Signaling: Convergence of Genomic and Nongenomic Actions on Target Genes. *Mol Endocrinol* 2005; 19:833–842.
- [169] Safe S, Kim K. Non-classical genomic estrogen receptor (ER)/specificity protein and ER/activating protein-1 signaling pathways. *J Mol Endocrinol* 2008; 41:263–275.
- [170] Marino M, Galluzzo P, Ascenzi P. Estrogen Signaling Multiple Pathways to Impact Gene Transcription. *Curr Genomics* 2006; 7:497–508.
- [171] Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: From periphery to brain. *Trends Mol Med* 2013; 19:197–209.
- [172] Ascenzi P, Bocedi A, Marino M. Structure-function relationship of estrogen receptor α and β : Impact on human health. *Mol Aspects Med* 2006; 27:299–402.
- [173] Martin MB, Franke TF, Stoica GE, Chambon P, Katzenellenbogen BS, Stoica BA, McLemore MS, Olivo SE, Stoica A. A role for Akt in mediating the estrogenic functions of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I [In Process Citation]. *Endocrinology* 2000; 141:4503–4511.
- [174] Patrone C, Ma Z, Pollio G, Agrati P, M GP, Maggi A. Cross-coupling between insulin and estrogen receptor in human neuroblastoma cells. *Mol Endocrinol* 1996; 10:499–507.
- [175] Mokhtar DM. Microscopic and histochemical characterization of the bovine uterine tube during the follicular and luteal phases of estrous cycle. *J Microsc Ultrastruct* 2015; 3:44–52.
- [176] Wang CK, Robinson RS, Flint APF, Mann GE. Quantitative analysis of changes in endometrial gland morphology during the bovine oestrous cycle and their association with progesterone levels 2007.
- [177] Kimmins S, Russell GL, Lim HC, Hall BK, Maclaren LA. The effects of estrogen, its antagonist ICI 182, 780, and interferon-tau on the expression of estrogen receptors and integrin α V β 3 on cycle day 16 in bovine endometrium EndometriumEstrogensHormone AntagonistsCell Adhesion MoleculesSteroid Receptors. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1:1–10.

- [178] Ulbrich SE, Kettler A, Einspanier R. Expression and localization of estrogen receptor α , estrogen receptor β and progesterone receptor in the bovine oviduct in vivo and in vitro. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 84:279–289.
- [179] Ahmadi MR, Nazifi S, Ghaisari HR. Comparison of hormonal changes of estrous cycle with cytology of cervical mucosa and hematological parameters in dairy heifers. *Comp Clin Path* 2006; 15:94–97.
- [180] Thimonier J. Progesterone level analysis for the determination of the physiological status of female farm animals. *Prod Anim INRA* 2000; 13:177–183.
- [181] Mondal S, Suresh KP, Nandi S. Endocrine profiles of oestrous cycle in buffalo: A meta-analysis. *Asian-Australasian J Anim Sci* 2010; 23:169–174.
- [182] Taherti M, Kaidi R, Aggad H. Variations mensuelles de l'activité sexuelle de la brebis Ouled Djellal élevée dans la région de Chlef, Algérie. *Livest Res Rural Dev* 2016; 28.
- [183] Robinson RS, Mann GE, Lamming GE, Wathes DC. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. *Reproduction* 2001; 122:965–979.
- [184] Baby TE, Bartlewski PM. Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular development in cycling ewes. *Reprod Fertil Dev* 2011; 23:303.
- [185] Bartlewski PM, Sohal J, Paravinja V, Baby T, Oliveira MEF, Murawski M, Schwarz T, Zieba DA, Keisler DH. Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep? *Domest Anim Endocrinol* 2017; 58:30–38.
- [186] Martin O, Friggens N, Dupont J, Salvetti P, Freret S, Rame C, Elis S, Gatien J, Disenhaus C, Blanc F. Data-derived reference profiles with corepresentation of progesterone, estradiol, LH, and FSH dynamics during the bovine estrous cycle. *Theriogenology* 2013; 79:331–343.e4.
- [187] Hannan MA, Fuenzalida MJ, Siddiqui MAR, Shamsuddin M, Beg MA, Ginther OJ. Diurnal variation in LH and temporal relationships between oscillations in LH and progesterone during the luteal phase in heifers. *Theriogenology* 2010; 74:1491–1498.
- [188] Yildiz H. Serum progesterone, vitamin A, E, C e beta-carotene levels in pregnant and nonpregnant cows post-mating. *J Anim Vet Adv* 2005.
- [189] Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 2008; 69:72–80.
- [190] Jain GC, Pandey RS. Plasma Levels of Progesterone and Oestradiol 17- β in Growing Buffalo Heifers. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin R A* 1981; 28:455–458.
- [191] Davies MCG, Beck NFG. Plasma hormone profiles and fertility in ewe lambs given progestagen supplementation after mating. *Theriogenology* 1992; 38:513–526.
- [192] Bonnett BN, Miller RB, Etherington WG, Martin SW, Johnson WH. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. *Can J Vet*

Res 1991; 55:155–161.

- [193] Overbeck W, Jäger K, Schoon H-A, Witte TS. Comparison of cytological and histological examinations in different locations of the equine uterus—an in vitro study. *Theriogenology* 2013; 79:1262–1268.
- [194] Walsh SW, Yutrzenka GJ, Davis JS. Local Steroid Concentrating Mechanism in the Reproductive Vasculature of the Ewe. *Biol Reprod* 1979; 20:1167–1171.
- [195] Ford SP. Control of Uterine and Ovarian Blood Flow Throughout the Estrous Cycle and Pregnancy of Ewes, Sows and Cow. *J ANIM SCI* 1982; 55:32–42.
- [196] Pope WF, Maurer RR, Stormshak F. Distribution of progesterone in the uterus, broad ligament, and uterine arteries of beef cows. *Anat Rec* 1982; 203:245–249.
- [197] Araujo ER, Sponchiado M, Pugliesi G, Van Hoeck V, Mesquita FS, Membrive CMB, Binelli M. Spatio-specific regulation of endocrine-responsive gene transcription by periovulatory endocrine profiles in the bovine reproductive tract. *Reprod Fertil Dev* 2015; xx:1–12.
- [198] Almeida AP, Ayalon N, Bartoov B. Bovine endometrial epithelium ultrastructure 6 and 7 days post-breeding. *Anim Reprod Sci* 1986; 10:293–300.
- [199] Kojima Y, Selander U. Cyclical changes in the fine structure of bovine endometrial gland cells. *Zeitschrift Für Zellforsch Und Mikroskopische Anat* 1970; 104:69–86.
- [200] Garry R, Hart R, Karthigasu K, Burke C. Structural changes in endometrial basal glands during menstruation. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol* 2010; 117:1175–1185.
- [201] Carpenter KD, Gray CA, Noel S, Gertler A, Bazer FW, Spencer TE. Prolactin Regulation of Neonatal Ovine Uterine Gland Morphogenesis. *Endocrinology* 2003; 144:110 – 120.
- [202] Casanas-Roux F, Nisolle M, Marbaix E, Smets M, Bassil S, Donnez J. Morphometric, immunohistological and three- dimensional evaluation of the endometrium of menopausal women treated by oestrogen and Crinone, a new slow-release vaginal progesterone. *Hum Reprod* 1996; 11:357–363.
- [203] Habiba MA, Bell SC, Al-Azzawi F. Endometrial responses to hormone replacement therapy: histological features compared with those of late luteal phase endometrium. *Hum Reprod* 1998; 13:1674–1682.
- [204] Ramadan AA, Johnson Iii GL, Lewis GS. Regulation of Uterine Immune Function During the Estrous Cycle and in Response to Infectious Bacteria in Sheep. *J Anim Sci* 1997; 75:1621–1632.
- [205] Forde N, Carter F, Spencer TE, Bazer FW, Sandra O, Mansouri-Attia N, Okumu LA, McGettigan PA, Mehta JP, McBride R, O’Gaora P, Roche JF, et al. Conceptus-Induced Changes in the Endometrial Transcriptome: How Soon Does the Cow Know She Is Pregnant?1. *Biol Reprod* 2011; 85:144–156.
- [206] Forde N, Duffy GB, Mcgettigan PA, Browne JA, Mehta JP, Kelly AK, Mansouri-Attia N, Sandra O, Loftus BJ, Crowe MA, Fair T, Roche JF, et al. Evidence for an early

endometrial response to pregnancy in cattle: both dependent upon and independent of interferon tau. *Physiol Genomics* 2012; 44:799–810.

- [207] Guillomot M, Fléchon J-E, Wintenberger-Torres S. Conceptus attachment in the Ewe: an ultrastructural study. *Placenta* 1981; 2:169–181.
- [208] Amira ABK, Zuki ABZ, Goh YM, Noordin MM. Histological changes in the endometrial of pregnant Sprague-Dawley rats under supplementation levels of n-6 : n-3 fatty acid ratio. *African J Biotechnol* 2011; 10:5524–5528.
- [209] Forde N, Bazer FW, Spencer TE, Lonergan P. ‘Conceptualizing’ the Endometrium: Identification of Conceptus-Derived Proteins During Early Pregnancy in Cattle 1. *Biol Reprod* 2015; 92156:1–13.
- [210] França MR, da Silva MIS, Pugliesi G, Van Hoeck V, Binelli M. Evidence of endometrial amino acid metabolism and transport modulation by peri-ovulatory endocrine profiles driving uterine receptivity. *J Anim Sci Biotechnol* 2017; 8:54.
- [211] Fuller W. Bazer, Xiaoqiu Wang, Greg A. Johnson, Guoyao Wu. Select nutrients and their effects on conceptus development in mammals. *Anim Nutr* 2015; 1:85–95.
- [212] Shimizu T, Krebs S, Bauersachs S, Blum H, Wolf E, Miyamoto A. Actions and interactions of progesterone and estrogen on transcriptome profiles of the bovine endometrium. *Physiol Genomics* 2010; 42:290–300.
- [213] Spencer TE, Forde N, Lonergan P. Insights into conceptus elongation and establishment of pregnancy in ruminants. *Reprod Fertil Dev* 2017; 29:84–100.
- [214] Spencer TE, Forde N, Lonergan P. The role of progesterone and conceptus-derived factors in uterine biology during early pregnancy in ruminants. *J Dairy Sci* 2016; 99.
- [215] Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, Burghardt RC, Palmarini M. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reprod Fertil Dev* 2007; 19:65.
- [216] Satterfield MC, Song G, Hayashi K, Bazer FW, Spencer TE. Progesterone regulation of the endometrial WNT system in the ovine uterus. *Reprod Fertil Dev* 2008; 20:935–946.
- [217] Forde N, Mcgettigan PA, Mehta JP, O ’hara L, Mamo S, Bazer FW, Spencer TE, Lonergan P. Proteomic analysis of uterine fluid during the pre-implantation period of pregnancy in cattle. *Reproduction* 2014; 147:575–587.
- [218] Ribeiro ES, Santos JEP, Thatcher WW. Role of lipids on elongation of the preimplantation conceptus in ruminants. *Reproduction* 2016; 152:R115–R126.
- [219] Johnson ML, Redmer D a, Reynolds LP. Uterine growth, cell proliferation, and c-fos proto-oncogene expression throughout the estrous cycle in ewes. *Biol Reprod* 1997; 56:393–401.
- [220] Peyghambari F, Salehnia M, Forouzandeh M, Moghadam. The changes in morphology and morphometrical indices of endometrium of ovariectomized mice in response to exogenous ovarian hormones 2008; 6:125–131.

- [221] Johnson ML, Redmer D a, Reynolds LP. Effects of ovarian steroids on uterine growth, morphology, and cell proliferation in ovariectomized, steroid-treated ewes. *Biol Reprod* 1997; 57:588–596.
- [222] Chung D, Gao F, Jegga AG, Das SK. Estrogen mediated epithelial proliferation in the uterus is directed by stromal Fgf10 and Bmp8a. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 400:48–60.
- [223] de cássia Pereira da costa silVa rita, Karina Verolli de oliVeira Moura K, laurentino ribeiro Júnior circonciso, andreu guillo lidia. Estrogen signaling in the proliferative endometrium: implications in endometriosis. *Rev Assoc Med Bras* 2016; 62:72–77.
- [224] O ’brien JE, Peterson TJ, Tong H, Lee E-J, Pfaff LE, Hewitt SC, Korach KS, Weiss J, Jameson JL. Estrogen-induced Proliferation of Uterine Epithelial Cells Is Independent of Estrogen Receptor — Binding to Classical Estrogen Response Elements *. *J Biol Chem* 2006; 281:26683–2669.
- [225] Arai M, Yoshioka S, Tasaki Y, Okuda K. Remodeling of bovine endometrium throughout the estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 2013; 142:1–9.
- [226] Mendoza-Rodríguez CA, Merchant-Larios H, Segura-Valdez ML, Moreno-Mendoza N, Cruz ME, Arteaga-López P, Camacho-Arroyo I, Domínguez R, Cerbón M. c - fos and Estrogen Receptor Gene Expression Pattern in the Rat Uterine Epithelium During the Estrous Cycle. *Mol Reprod Dev* 2003; 64:379–388.
- [227] Wahab M, Thompson J, Hamid B, Deen S, Al-Azzawi F. Endometrial histomorphometry of trimegestone-based sequential hormone replacement therapy: a weighted comparison with the endometrium of the natural cycle. *Hum Reprod* 1999; 14:2609–2618.
- [228] Duna Mansour G, Maria Reis Ferreira A, Tavares Fernandes F, Henry M. Histomorphometry of epithelial structures of the mare’s endometrium 2004; 11:44–48.
- [229] Saruhan BG, Sagsoz H, Ketani MA. Immunohistochemical Detection of Estrogen and Progesterone Receptors in the Bovine Uterus and Their Relation to Serum Sex Steroid Hormone Levels During the Follicular and Luteal Phase İnek Uterusunda Folliküler ve Luteal Fazda Östrojen ve Progesteron Resep 2009; 15:447–454.
- [230] Kimmins S, Maclaren LA. Oestrous Cycle and Pregnancy Effects on the Distribution of Oestrogen and Progesterone Receptors in Bovine Endometrium. *Placenta* 2001; 22:742–748.
- [231] Wathes DC, Mann GE, Payne JH, Riley PR, Stevenson KR, Lamming GE. Regulation of oxytocin, oestradiol and progesterone receptor concentrations in different uterine regions by oestradiol, progesterone and oxytocin in ovariectomized ewes. *J Endocrinol* 1996; 151:375–393.
- [232] Zheng J, Johnson ML, Redmer DA, Reynolds LP. Estrogen and progesterone receptors, cell proliferation, and c-fos expression in the ovine uterus during early pregnancy. *Endocrinology* 1996; 137:340–348.
- [233] Martin I, Torres Neto R, Oba E, Buratini Jr J, Binelli M, Laufer-Amorim R, Ferreira J. Immunohistochemical Detection of Receptors for Oestrogen and Progesterone in Endometrial Glands and Stroma during the Oestrous Cycle in Nelore (*Bos taurus indicus*

) Cows. *Reprod Domest Anim* 2008; 43:415–421.

- [234] Xiao CW, Goff AK. Differential effects of oestradiol and progesterone on proliferation and morphology of cultured bovine uterine epithelial and stromal cells. *Reproduction* 1998; 112:315–324.
- [235] Bogacki M, Silvia WJ, Rekawiecki R, Kotwica J. Direct Inhibitory Effect of Progesterone on Oxytocin-Induced Secretion of Prostaglandin F₂ from Bovine Endometrial Tissue. *Biol Reprod* 2002; 67:184–188.
- [236] A Okumu, N Forde, AG Fahey, E Fitzpatrick, FJ Roche, A M Crowe, P Lonergan. The effect of elevated progesterone and pregnancy status on mRNA expression and localisation of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. *Reproduction* 2010; 140:143–153.
- [237] Satterfield MC, Hayashi K, Song G, Black SG, Bazer FW, Spencer TE. Progesterone Regulates FGF10, MET, IGFBP1, and IGFBP3 in the Endometrium of the Ovine Uterus 1 2008; 1236:1226–1236.
- [238] Satterfield MC, Song G, Kochan KJ, Riggs PK, Simmons RM, Elsik CG, Adelson DL, Bazer FW, Zhou H, Spencer TE. Discovery of candidate genes and pathways in the endometrium regulating ovine blastocyst growth and conceptus elongation 2009:85–99.
- [239] Arosh JA, Banu SK, McCracken JA. Novel concepts on the role of prostaglandins on luteal maintenance and maternal recognition and establishment of pregnancy in ruminants. *J Dairy Sci* 2016; 99:5926–5940.
- [240] Raheem KA. An insight into maternal recognition of pregnancy in mammalian species. *J Saudi Soc Agric Sci* 2017; 16:1–6.
- [241] Critchley HOD, Saunders PTK. Hormone Receptor Dynamics in a Receptive Human Endometrium. *Reprod Sci* 2009; 16:191–199.
- [242] Rodríguez-Piñón M, Tasende C, Puime P, Garófalo EG. Oestrogen and progesterone receptor binding capacity and oestrogen receptor alpha expression (ERalpha mRNA) along the cervix of cycling ewes. *Reprod Fertil Dev* 2008; 20:350–356.
- [243] Vesanen M, Isomaa V, Alanko M, Vihko R. Bovine uterine, cervical and ovarian estrogen and progesterone receptor concentrations. *Anim Reprod Sci* 1991; 26:61–71.
- [244] Rodríguez-Piñón M, Tasende C, Garófalo EG. Expression of genes for oestrogen and progesterone receptors in the cervix of anoestrous ewes treated with gonadotrophin releasing hormone with or without progesterone priming. *Anim Reprod Sci* 2011; 126:50–56.
- [245] Wagner GP, Nnamani MC, Chavan AR, Maziarz J, Protopapas S, Condon J, Romero R. Evolution of Gene Expression in the Uterine Cervix related to Steroid Signaling: Conserved features in the regulation of cervical ripening. *Sci Rep* 2017; 7:4439.
- [246] Sosa C, Lozano JM, Viñoles C, Acuña S, Abecia JA. Effect of plane of nutrition on endometrial sex steroid receptor expression in ewes 2004; 84:337–348.
- [247] Cunha GR, Cooke PS, Kurita T. Role of stromal-epithelial interactions in hormonal

- responses. *Arch Histol Cytol* 2004; 67:417–434.
- [248] Clement S, Riou C, Guillaume T, Valerie L, Harichaux G, Kohnke P, Reynau K, P DGS, Nadine G, Druart Xavier. Proteomes of the Female Genital Tract During the Oestrous Cycle* □ *S. Mol Cell Proteomic* 2016; 15:93–108.
- [249] Muthukumar S, Rajkumar R, Karthikeyan K, Liao C-C, Singh D, Akbarsha MA, Archunan G. Buffalo Cervico-Vaginal Fluid Proteomics with Special Reference to Estrous Cycle: Heat Shock Protein (Hsp)-70 Appears to Be an Estrus Indicator. *Biol Reprod* 2014; 9097:1–8.
- [250] Forde N, Mcgettigan PA, Mehta JP, O'hara L, Mamo S, Bazer FW, Spencer TE, Lonergan P. Proteomic analysis of uterine fluid during the pre-implantation period of pregnancy in cattle. *Reproduction* 2014; 147:575–587.
- [251] Ayen E, Shahrooz R, Kazemie S. Histological and histomorphometrical changes of different regions of oviduct during follicular and luteal phases of estrus cycle in adult azarbaijan buffalo. *Iran J Vet Res* 2012; 13:42–48.
- [252] Yavari M, Haghkhah M, Ahmadi M, Gheisari H, Nazifi S. Comparison of Cervical and Uterine Cytology Between Different Classification of Postpartum Endometritis and Bacterial Isolates in Holstein Dairy Cows. *Inter.jour.of Dairy Sci* 2009; 4:19–26.
- [253] Sheldon IM, Williams EJ, Miller ANA, Nash DM, Herath S. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet J* 2008; 176:115–21.
- [254] Cronin JG, Turner ML, Goetze L, Bryant CE, Sheldon IM. Toll-Like Receptor 4 and MYD88-Dependent Signaling Mechanisms of the Innate Immune System Are Essential for the Response to Lipopolysaccharide by Epithelial and Stromal Cells of the Bovine Endometrium. *Biol Reprod* 2012; 8651:1–9.
- [255] Davies D, Meade KG, Herath S, David Eckersall P, Gonzalez D, White JO, Steven Conlan R, Martin Sheldon I, Sheldon M. Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. *Reprod Biol Endocrinol* 2008; 653:1477–7827.
- [256] Subandrio AL, Sheldon IM, Noakes DE. Peripheral and intrauterine neutrophil function in the cow: the influence of endogenous and exogenous sex steroid hormones. *Theriogenology* 2000; 53:1591–1608.
- [257] Ohtani S, Okuda K, Nishimura K, Mohri S. Histological changes in bovine endometrium during the estrous cycle. *Theriogenology* 1993; 39:1033–1042.
- [258] Dolatkhah B, Hossein Mahdavi A, Reza Rahmani H, Ali Edriss M, khorvash M. Cytologic and histologic characteristics of endometritis in postpartum dairy cows. *Sch Res Libr Ann Biol Res* 2013; 4:70–76.
- [259] Dhaliwal G., Murray R., Woldehiwet Z. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim Reprod Sci* 2001; 67:135–152.
- [260] Deguillaume L, Geffré A, Desquilbet L, Dizien A, Thoumire S, Vornière C, Constant F, Fournier R, Chastant-Maillard S. Effect of endocervical inflammation on days to conception in dairy cows. *J Dairy Sci* 2012; 95:1776–1783.
- [261] Pascottini OB, Hostens M, Dini P, Van Eetvelde M, Vercauteren P, Opsomer G. Prevalence of cytological endometritis and effect on pregnancy outcomes at the time of insemination in nulliparous dairy heifers. *J Dairy Sci* 2016; 99:9051–9056.

Résumé

Chez les ruminants, des variations cycliques sont observées au niveau de l'endomètre suite à un processus de différenciation et de remodelage profond. Le premier objectif de la présente étude est d'évaluer l'influence des stéroïdes ovariens sur les changements histomorphométriques des trois compartiments endométriaux (EL, EGS et EGP) et d'expression des REs et PRs au niveau du même type cellulaire de l'endomètre et du cervix (EL, Spl, Ss, Sp) d'une part et d'établir un lien entre l'expression de ces récepteurs et les changements des paramètres. Le deuxième but de notre travail est d'étudier l'impact du cycle oestral sur la cytologie cervicale et utérine, ainsi de chercher des éventuels liens entre ces deux compartiments. A cet effet, les appareils génitaux de brebis (50) et de vache (50) sont collectés au niveau de l'abattoir communal de Batna. En se basant sur l'aspect macroscopique de l'ovaire, ces animaux sont répartis en deux groupes égaux (25 pour chacun) et cela pour chaque espèce : groupe en phase folliculaire (PF) et l'autre en phase lutéale (PL). Une prise du sang a été effectuée de la veine jugulaire pour le dosage de la teneur plasmatique des œstrogènes et de progestérone. Les prélèvements histologiques et cytologiques (% CEA, CEB, Neut et Lym) ont été réalisés à partir de quatre régions distinctes de chaque appareil reproducteur : corne et corps utérin et endo et l'exo col pour chaque animal. Les paramètres morphométriques (HCE, la densité, surface et le périmètre des GS et GP) ont été mesurés à l'aide de deux logiciels de traitement d'image (Panoramic Viewer et Image Pro-Plus version 6). La détection des REs et PRs est effectuée par une méthode immuno-histochimique. Ainsi le pourcentage des cellules épithéliales (CEA, CEB) et immunitaires (Neut et Lym) est calculé pour chaque frottis cytologique. Les résultats statistiques de nos résultats montrent que : des changements spatio-temporaux de tous les paramètres morphométriques, de l'expression de REs et RP est constaté au niveau du compartiment superficiel de l'endomètre. Ces modifications sont moins remarquées au niveau du cervix. Cependant aucun changement n'est observé au niveau des GP. Les GS sont le compartiment le plus soumis aux variations des paramètres étudiés. Des liens ont été trouvés entre les paramètres morphométriques et le profil hormonal et l'expression des récepteurs des hormones stéroïdiennes. Aucune différence significative n'a été constatée entre le frottis utérin et cervicale et cela pour le pourcentage de toutes les catégories cellulaires. Toutefois, la région de prélèvement n'affecte pas significativement les résultats de tous les paramètres étudiés. Les variations de la cytologie utéro-cervicale sont étroitement corrélées aux fluctuations de profil endocrinien de E2 et P4.

Mots clés : Vache, Brebis, Phase Folliculaire, Phase lutéale, RE, RP, Hormone, corrélation, histo-morphométrie, cytologie, utérus, cervix, IHC, RIA, ECLIA.

Abstract

Cyclic differentiation and remodeling process were occurred in the endometrium during oestrous cycle in the ruminant. The first goal of the present study was to evaluate the effect of the ovarian steroids on histo-morphometric changes in three endometrium compartments (LE, SGE and DGE) and to determine the distribution and expression of ER, PR receptors in the same endometrium compartments and various cervix layers (LE, SF, SS and DS) on the one hand and to establish a relationship between steroids receptors expression and morphometrics parameters. The second aim of our work was to study the affect of the oestrous cycle on cervical and uterine cytology, thus to determine a possible correlation between these two compartments. Reproductive tract of 50 healthy ewes and 50 dairy cows were obtained from BATNA abattoir. Based on macroscopic observation of the ovaries, animals were classified into two equal groups: follicular (n =25) and luteal (n=25). Blood samples were collected and plasma concentrations of oestrogene and progesterone were determined. Height of cells epithelium (HCE), progesterone and estrogene receptors (PR and ER respectively) expressions on luminal epithelium, superficial (SG) and basal (DG) glands were assessed using a morphometric and immunohistochemistry methods. The histological and cytological samples were obtained from four different sites for each reproductive tract: horn, body, endo and exo-cervix. Morphometric parameters (HCE, density, area and perimeter of SG and DG) were measured using both Panoramic Viewer and Image Pro-Plus version 6. PR and ER expression was assessed using a immunohistochemistry methods. Thus, epithelial (CEA, CEB) and Immune cells were calculated for each cytological smears. Our results show: Spatiotemporal changes of all morphometric parameters and steroids receptors (ER, PR) were observed in the superficial compartment of the endometrium. However, in cervix changes were slightly less than in uterus showed in cervical cells type. In DG these changes were note observed. Dramatic spatio-temporal changes occurred in SG in all most studies parameters. Correlations were found between morphometric parameters, hormonal profile and steroid receptors expression. In addition, no difference was found between uterine and cervical smears for all cells categories. Nevertheless, utero-cervical cytology was closely correlated with ovarian steroid level as well as oestradiol and progesterone. The simpling site does not significantly affect the results of our investigation.

Key words: cows, ewe, phase, follicular, luteal, ER, PR, hormone, correlation, histo-morphometry, cytology, uteri, cervix. IHC, RIA, ECLIA.

الملخص

خلال الدورة الشبقية، بطانة الرحم عرض لتمايزات نسيجية خلوية و وظيفية دورية عند المجترات. نهدف في المرحلة الاولى من هذه الدراسة الى تقييم مدى تأثير الهرمونات المبيضية على التغيرات المورفوقياسية لثلاث اجزاء نسيجية مختلفة لبطانة الرحم وهم: النسيج الظهاري الخهري ،مخاطية الغدد السطحية و العميقة و كذا على نسبة المستقبلات النووية لكل من الاستروجين و البروجيستيرون في اجزاء مختلفة من بطانة الرحم وعنقه هذا من جهة و ايجاد علاقة بين هذه المستقبلات النووية والتغيرات المورفومترية من جهة اخرى. اما المرحلة الثانية من هذا العمل فهي تهدف الى معرفة تأثير الدورة الشبقية على الدراسة الخلوية للرحم و عنقه و البحث عن علاقة بين هذين القسمين. لهذا الغرض، تم جمع الأعضاء التناسلية للأغنام (50)والابقار (50)من المذبح البلدي لبلدية باتنة. وبناء على الدراسة العيانية للمبيض قسمت هذه الحيوانات إلى مجموعتين متساويتين تضم كل واحدة منهما 25 بقرة و نفس العدد من الاغنام في كل قسم : مجموعة المرحلة الجرابية (PF) ومجموعة مرحلة اللوتينيية (PL). اخذت سحبات من الدم عن طريق الوريد الوداجي لمعايرة منسوب الاستروجين والبروجيستيرون . جمعت عينات الدراسة النسيجية و الخلوية من اربعة مناطق مختلفة من كل جهاز تناسلي :قرن وجسم الرحم و كذا المنطقة الامامية و الخلفية لعنق الرحم.. تم قياس المعايير المورفومترية (طول الخلايا المخاطية (HCE)، الكثافة (densité) ، المساحة (surface) والمحيط (perimetre) بالنسبة للغدد السطحي (GS) و العميقة (GP) باستخدام برنامجين لمعالجة الصور . و قمنا بالكشف عن المستقبلات النووية (RE) و (RP) بطريقة immunohistochemie. في الاخير اجرينا دراسة خلوية و ذلك بحساب النسب المئوية لكل من الخلايا الظهارية (CEA ،CEB) و المناعة (LYM ،Neut) في كل مسحة خلوية. اظهرت نتائج الدراسة الاتي : تباينات موضعية و زمنية للمخاطيات السطحية وخصوصا الغدد السطحية منها ،لرحم النعاج و الابقار، في جميع المعايير المورفومترية و كذا نسب المستقبلين النوويين على غرار (RP) (RE) . هذه التغيرات كانت اقل حدة على مستوى عنق الرحم. كما اننا لم نسجل اي تغيير لا موضعي و لا زمني في الغدد العميقة. اظهرت نتائج الدراسة الخلوية انه لا يوجد اي فرق بين مسحات الرحم و العنق و ان النسب المئوية للخلايا المخاطية يرتبط ارتباطا وثيقا بمنسوب كل الاستروجين والبروجيستيرون.

الكلمات المفتاحية : الابقار، النعاج ، المرحلة ، الجرابية ، اللوتينيية ، المستقبلات النووية ، الاستروجين ، البروجيستيرون ، المورفومترية ، الدراسة الخلوية ، الرحم ، عنق الرحم