

Université de Montréal

**Localisation immunohistochimique de l'enzyme
5 α -réductase type 1 et 3 dans la peau et la prostate de
chiens beagle en santé**

par LUCILENE BERNARDI DE SOUZA

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de *Maître ès Sciences* (M.Sc.)
en sciences vétérinaires, option sciences cliniques

Juillet 2018

© Lucilene Bernardi de Souza, 2018

Résumé

Les isoenzymes 5 α -réductase (5 α R), 5 α R1, 5 α R2 et 5 α R3 sont responsables de la conversion de la testostérone en dihydrotestostérone (DHT). Récemment, le niveau d'expression des gènes de la 5 α R dans la peau canine a été décrit, démontrant la présence de l'ARNm codant pour 5 α R1 et 5 α R3. Dans la prostate du chien, les trois formes de l'enzyme (5 α R1, 5 α R2 et 5 α R3) sont présentes. La localisation exacte des isoenzymes 5 α R dans la peau, le follicule pileux et la prostate du chien n'a toutefois pas encore été établie. Les objectifs de cette étude étaient de démontrer la localisation spécifique des isoenzymes 5 α R type 1 et 3 dans la peau normale des chiens, des follicules pileux et de la prostate par immunohistochimie. Huit jeunes chiens beagle matures et intacts, (4 mâles et 4 femelles) sans antécédents de maladie dermatologique ont été sélectionnés pour cette étude. Des biopsies cutanées ont été obtenues à partir de trois sites anatomiques normalement affectés par l'alopecie X (cou dorsal, face postérieure des cuisses et base de la queue) et de deux sites généralement non affectés (tête dorsale et région thoracique ventrale). La glande prostatique (n = 3) a été prélevée. Dans la prostate, la présence de 5 α R1 a été démontrée dans les cellules épithéliales sécrétoires et basales ainsi que dans les vaisseaux sanguins, tandis que la 5 α R3 est présente seulement dans les cellules épithéliales basales et les vaisseaux sanguins. Concernant la peau, la 5 α R1 a été détectée dans les follicules pileux en phase anagène au niveau de la gaine de tissu conjonctif, de la gaine externe et interne de la racine, de la tige pileuse et de la papille dermique. Elle a également été détectée dans les glandes sébacées et sudoripares, dans le muscle piloérecteur et dans les cellules endothéliales vasculaires. L'isoenzyme 5 α R3 a été détectée dans la gaine de tissu conjonctif et la papille dermique des follicules pileux en phase anagène ainsi que dans les cellules endothéliales vasculaires. À notre connaissance, il s'agit de la première étude qui décrit la localisation spécifique des isoenzymes 5 α R1 et 5 α R3 dans la peau normale, les follicules pileux et la prostate de chiens.

Mots-clés : alopecie X, 5 α -réductase isoenzymes, 5 α -réductase type 1, 5 α -réductase type 3, immunohistochimie, peau, prostate.

Abstract

The 5 α -reductase isoenzymes (5 α R) are responsible for the conversion of testosterone into DHT. Recently, we reported the presence of mRNA for 5 α -reductases in canine skin. Although we detected mRNA encoding 5 α R1 and 5 α R3 but not 5 α R2, the distribution and localization of 5 α R isoenzymes throughout the canine skin and hair follicle are still unknown. The objectives of this study were therefore to demonstrate the specific distribution and localization of 5 α R type 1 and 3 isoenzymes in the skin, hair follicle and prostate of healthy beagle dogs by immunohistochemistry. Eight healthy, unrelated and intact young-mature beagle dogs (4 males and 4 females) with no history of skin disease were selected for this study. Skin biopsy samples were obtained from three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic regions). Canine prostate glands (n=3) also collected. In the prostate gland, 5 α R1 was present in secretory epithelial cells, basal epithelial cells and blood vessels. On the other hand, 5 α R3 was present in basal epithelial cells and blood vessels, but was not detected in secretory epithelial cells. In the skin, 5 α R1 was detected in anagen hair follicle at the level of connective tissue sheath, outer and inner root sheath, hair shaft, and dermal papilla. It was also detected in the sebaceous and sweat glands, arrector pili muscles and in vascular endothelial cells. The 5 α R3 protein was detected in connective tissue sheath, dermal papilla and vascular endothelial cells of anagen hair follicles. To our knowledge, this is the first study describing the specific localization of 5 α R1 and 5 α R3 isoenzymes in normal canine skin, hair follicles and prostate of normal healthy beagle dogs.

Keywords : alopecia X, 5 α -reductase isoenzymes, 5 α -reductase type 1, 5 α -reductase type 3, immunohistochemistry, skin, prostate.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract	ii
Table des matières	iii
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures.....	vii
Liste des abréviations.....	ix
Remerciements	xi
Introduction	1
1 La peau	3
1.1 La structure de la peau	3
1.1.1 L'épiderme	3
1.1.1.1 La couche basale (le <i>stratum basale</i>).....	4
1.1.1.2 La couche épineuse (le <i>stratum spinosum</i>).....	5
1.1.1.3 La couche granuleuse (le <i>stratum granulosum</i>).....	5
1.1.1.4 La couche claire (le <i>stratum lucidum</i>).....	5
1.1.1.5 La couche cornée (le <i>stratum corneum</i>).....	5
1.2 Le derme	6
1.3 L'hypoderme (le pannicule/le tissu sous-cutané).....	6
1.4 Les annexes cutanées	7
1.4.1 Les follicules pileux.....	7
1.4.1.1 L'anatomie folliculaire.....	7
1.4.1.2 Le cycle pilaire et son contrôle.....	11
1.4.1.3 Les marqueurs d'expression de cellules souches.....	13
1.4.2 Les glandes sébacées et sudoripares	14
1.5 Les vaisseaux sanguins et lymphatiques.....	16
1.6 L'innervation de la peau	16
1.7 Les fonctions de la peau.....	16
2 La prostate.....	16
2.1 Morphologie de la prostate.....	17

2.1.1	Histologie de la prostate.....	18
2.1.2	L'unité glandulaire.....	18
2.1.3	Les cellules basales.....	19
2.1.4	Les cellules neuroendocrines.....	20
2.2	Les fonctions de la prostate.....	20
2.3	La physiologie de la prostate et sa régulation	21
3	Les androgènes	22
3.1	Définition et synthèse des hormones androgéniques.....	22
3.2	La testostérone et la dihydrotestostérone	24
3.2.1	Les récepteurs aux androgènes.....	25
3.3	Les isoenzymes 5 α -réductases	26
3.3.1	Historique.....	26
3.3.2	La famille 5 α R.....	27
3.3.3	Fonctions et régulation.....	29
3.3.4	Distribution dans les différents tissus	31
3.4	Les 5 α R, les androgènes et la peau.....	32
3.5	Les 5 α R, les androgènes et la prostate	33
4	Les désordres androgéniques humaines et canines	34
4.1	Les désordres prostatiques	34
4.1.1	L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP).....	34
4.1.2	Cancer de la prostate ou carcinome prostatique.....	37
4.2	Les maladies cutanées.....	39
4.2.1	L'alopecie androgénique humaine.....	39
4.2.2	L'alopecie X (<i>hair cycle arrest</i>)	43
	Hypothèse et objectifs.....	55
	Article en tant que première auteure.....	56
	Discussion générale	76
	Conclusion.....	83
	Bibliographie	84
	Annexe 1. Chapitre de livre - Current Veterinary Therapy XVI 2019	i
	Annexe 2. Projet de recherche 5 α R : Première étape.....	vi

Annexe 3. Femelles..... xv
Annexe 4. Mâles xxix

Liste des tableaux

Tableau 1. Distribution des enzymes 5 α R1, 5 α R2 et 5 α R3 chez l'humain et le chien selon différents auteurs.....	31
--	----

Liste des figures

Figure 1. Schéma des quatre couches cellulaires de l'épiderme en comparaison avec une coupe histologique.	4
Figure 2. Schéma du follicule pileux simple et composé en comparaison avec une coupe histologique de la peau d'un chat.	8
Figure 3. Dessin schématique d'un follicule pileux en phase anagène divisé par régions anatomiques.....	9
Figure 4. Structures du poil et du follicule pileux.	10
Figure 5. Structure du poil.....	11
Figure 6. Les différentes phases du cycle pileux chez le chien.	12
Figure 7. Résumé de l'expression des différents marqueurs de cellules souches connues chez la souris, l'humain et le chien.	14
Figure 8. Schéma de la composition des différents types cellulaires de la prostate adulte humaine normale.	18
Figure 9. Signalisation du récepteur aux androgènes (RA) dans la prostate.	19
Figure 10. Schéma représentant la synthèse des hormones sexuelles d'origine hypophysaire qui agissent sur la fonction prostatique.....	21
Figure 11. Représentation schématique de la voie de synthèse des hormones androgéniques dans les différents tissus.....	23
Figure 12. Activation du récepteur aux androgènes par la DHT.....	26

Figure 13. Arbre phylogénétique de la famille 5αR.	28
Figure 14. Représentation du métabolisme de la testostérone en DHT.	30
Figure 15. Un bulbe de follicule pileux humain avant et après traitement	42
Figure 16. Cas d’alopécie X diagnostiqué chez un chien poméranien présentant une alopécie à plusieurs endroits sans hyperpigmentation marquée de la peau.	44
Figure 17. Cas d’alopécie X diagnostiqué chez un husky sibérien avec hyperpigmentation importante de la peau.	44
Figure 18. Cas d’alopécie X extensive diagnostiqué chez un montagne des Pyrénées croisé avec hyperpigmentation et lésions de folliculite bactérienne.	44
Figure 19. Schéma général de synthèse des hormones stéroïdiennes d’origine surrénalienne et les zones histologiques du cortex surrénalien.	46
Figure 20. Analyse histopathologique des follicules pileux des biopsies cutanées d’un chien avec un diagnostic d’alopécie X.	49
Figure 21. Poméranien atteint d’alopécie X.	50
Figure 22. Évolution clinique de l’effet du traitement de desloréline dans deux cas d’alopécie X.	52
Figure 23. Chien de la race Keeshond atteint d’alopécie X.	53
Figure 24. Application de la technique de microneedling	54

Liste des abréviations

DHT :	Dihydrotestostérone
5αR :	5 α -réductase
5αRs :	5 α -réductases
5αR1 :	5 α -réductase type 1
5αR3 :	5 α -réductase type 3
ARNm :	Acide ribonucléique messager
AAH :	Alopécie androgénique chez l'homme
UVA :	Rayonnement ultraviolet A
UVB :	Rayonnement ultraviolet B
IgA :	Immunoglobuline A
ACTH :	Hormone adrénocorticotrope – (<i>Adrenocorticotropic hormone</i>)
GHRH :	Hormone libératrice d'hormone de croissance (<i>Growth hormone-releasing hormone</i>)
GHRF :	Facteur de libération d'hormone de croissance (<i>Growth hormone-releasing factor</i>)
IGF-1 :	Facteur de croissance de l'insuline-1 (Insulin growth factor-1)
CYP21 A2 :	Gène canin 21-hydroxylase A2
CTSL2 :	Gène de la cathepsine L2
PTCH2 :	Gène du <i>patched homolog 2</i>
O, p'-DDD :	O,p'-dichlorodiphenyldichloroethane
SC :	Sous-cutané
GnRH :	Hormone de libération des gonadotrophines (<i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>)
AA	Alopécie androgénique
AGA	<i>Androgenic alopecia</i>
HBP	Hyperplasie bénigne de la prostate
APS	Antigène prostatique spécifique
DHEA	Déhydroépiandrostérone
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>

« Nous continuons à avancer, à ouvrir de nouvelles portes et faire de nouvelles choses, parce que nous sommes curieux et la curiosité ne cesse de nous mener vers de nouveaux chemins. »

Walt Disney

Remerciements

Je remercie du fond du cœur la D^{re} Manon Paradis, ma directrice de maîtrise, d'avoir accepté de me superviser dans ce projet. Merci, Manon, de m'offrir la possibilité de découvrir un sujet passionnant et de pousser ma réflexion vers des nouvelles avenues.

J'aimerais remercier ma codirectrice de maîtrise, la D^{re} Marie-Odile Benoit-Biancamano, de m'avoir orientée, de s'être montrée disponible pour répondre à mes questions et d'avoir partagé son expertise qui m'a énormément guidée au fil de ce projet. Merci beaucoup de m'avoir accordé votre confiance tout au long de cette étude. J'ai énormément d'admiration pour vous!

Un merci très chaleureux au D^r Christopher Price, la personne qui m'a ouvert les portes de son laboratoire lors de mon arrivée au Canada et qui, avec beaucoup de patience, m'a montré les premiers pas du merveilleux monde de la biologie moléculaire! Sans votre aide et vos conseils, ce projet n'aurait jamais été possible. J'espère avoir la chance de travailler avec vous pour encore très longtemps!

Un gros merci à mon collègue et ami, le D^r Frédéric Sauvé. Merci Fred de m'avoir épaulé pendant toutes ces années et de m'avoir sans cesse encouragé à poursuivre malgré les difficultés. Je t'en serai toujours reconnaissante et je n'ai pas assez de mots pour te remercier!

Je souhaite remercier les membres de mon comité-conseil et les membres du jury qui ont gracieusement accepté d'évaluer et d'améliorer ce mémoire.

Je suis reconnaissante envers la famille Rosenbloom et le Fonds du Centenaire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal pour leur appui financier dans le cadre de ce projet.

Un merci spécial aux techniciennes en gestion des dossiers étudiants, M^{me} Christine Blondin et M^{me} Diane Rodier qui étaient toujours disponibles pour répondre à mes questions et m'aider lors de mes différentes (et nombreuses!) demandes. Vous êtes une équipe formidable!

Muito obrigada do fundo do meu coração à minha família, ao meu pai Dirceu, à minha amada mãe Geci e às minhas irmãs Luciële e Luciane. Mesmo distante, vocês estiveram sempre presentes comigo nesta jornada. Muito obrigada pelo amor incondicional e pelas palavras de

coragem que me pulsionam à sempre seguir em frente mesmo que estejamos separados por milhares de quilômetros de distância. Esse trabalho tem uma participação muito importante de vocês. Eu amo muito vocês, sempre e para sempre.

Pour terminer, j'aimerais adresser un remerciement spécial à mon conjoint, le D^r Gustavo Zamberlam. Merci Gugu d'être toujours là pour moi et de m'encourager à foncer dans ce projet. Cela n'a pas toujours été facile avec mes sautes d'humeur et sans ton appui, ce projet aurait été plus laborieux à accomplir. Je t'admire énormément, comme personne, comme enseignant, comme chercheur et comme compagnon de vie. Merci beaucoup de m'avoir bien soutenue pendant ces dernières années et de faire partie de cette aventure québécoise! Des nouveaux défis nous attendent et je suis chanceuse de les vivre avec toi. Je t'aime!

Introduction

L'alopecie X, ou plus récemment appelée arrêt du cycle pileaire (*hair cycle arrest*), est un terme utilisé pour désigner une dermatose mal comprise de la dermatologie vétérinaire, caractérisée par une alopecie non inflammatoire diffuse qui affecte principalement les races de chien nordiques et à pelage « pelucheux » (p. ex., Poméranien, Keeshond, husky sibérien, samoyède, malamute de l'Alaska, chow-chow) ainsi que le caniche miniature. Cette condition affecte principalement les jeunes adultes entre 1 et 3 ans, sans avoir une préférence pour les mâles ou femelles, qu'ils soient intacts ou stérilisés.

Ce désordre est caractérisé cliniquement par une perte progressive des poils, symétrique et non prurigineuse, dans les zones de friction (autour du cou, la face postérieure des cuisses et la base de la queue) et, éventuellement, une perte des poils au tronc. Avec le temps, une hyperpigmentation de la peau peut s'installer mais l'évolution clinique est très variable d'un chien à l'autre. Plusieurs années peuvent s'écouler avant que l'alopecie ne devienne extensive. La tête et les pieds ne sont généralement pas atteints. Mise à part l'alopecie, les chiens atteints ne présentent aucun signe clinique systémique.

De nombreuses hypothèses ont été explorées pour expliquer cette maladie, mais l'étiopathogénie précise de cette affection n'est toujours pas connue. L'alopecie X, qui affecte principalement les races sélectionnées pour l'hirsutisme, pourrait être causée par un défaut folliculaire primaire semblable à l'alopecie androgénique chez l'homme. Plusieurs études récentes soutiennent le rôle des androgènes dans la pathogénie de l'alopecie X. Ces publications démontrent une repousse variable des poils chez des chiens atteints d'alopecie X à la suite de la castration, ainsi que l'effet bénéfique de certains médicaments anti-androgéniques, tels que l'acétate d'osatéronne, l'acétate de desloréline et des inhibiteurs de l'enzyme 5 α -réductase (dutastéride et finastéride), supportant ainsi le rôle des androgènes dans l'alopecie X.

Les androgènes sont aussi impliqués dans certains désordres de la glande prostatique. La prévalence élevée du cancer et de l'hyperplasie bénigne de la prostate chez l'homme ainsi que les progrès techniques dans la détection précoce des carcinomes prostatiques avant l'apparition de métastases ont conduit à des efforts continus pour développer de nouvelles options thérapeutiques de nature minimalement invasive. Le chien est un animal qui partage une anatomie et une physiologie prostatique similaire à celles de l'homme et de ce fait, le chien

demeure un modèle animal très intéressant pour de futurs essais cliniques. Bien comprendre et bien documenter le fonctionnement de cet organe ainsi que les enzymes et les hormones qui en assurent la régulation deviennent une étape indispensable à la performance des nouvelles procédures et des techniques testées.

Les principales enzymes intracellulaires nécessaires au métabolisme des androgènes sont la 5 α -réductase type 1 et 2 ainsi que celle de type 3, récemment décrite. La 5 α -réductase est exprimée dans de nombreux tissus chez l'être humain et le chien, et bien que récemment, nous ayons démontré la présence de seulement deux isoformes de la 5 α -réductase (soit les types 1 et 3) dans la peau et la prostate de chiens beagle en santé, aucune information n'est disponible sur la localisation exacte de ces isoenzymes.

À l'heure actuelle, nous savons encore très peu sur la pathogénie de l'alopecie X et les recherches dans ce domaine nous permettraient d'avancer et d'explorer le rôle des hormones androgéniques ainsi que de démontrer ultérieurement que les enzymes 5 α -réductase pourraient faire partie intégrante de l'étiopathogénie de l'alopecie X chez le chien. De plus, en enrichissant nos connaissances sur la régulation prostatique et sur la nature des enzymes impliquées dans leur physiologie normale, nous pourrions envisager des traitements plus ciblés pour certaines conditions pathologiques de la prostate qui n'ont pas encore été explorées.

Recension de la littérature

1 La peau

La peau est un organe de structure très complexe, reconnue comme le plus grand, le plus lourd et le plus visible du corps. Elle agit principalement comme barrière physiologique entre l'animal et l'environnement. Sa formation résulte d'un arrangement complexe des cellules de l'ectoderme, de la crête neurale et de l'endoderme, desquels proviennent les trois couches principales : l'épiderme, le derme et l'hypoderme¹⁻³.

Il est essentiel de bien comprendre et identifier les différentes structures cutanées pour faciliter la compréhension de ce mémoire. Pour cette raison, une révision histopathologique de la peau sera exposée dans les pages qui suivent.

1.1 La structure de la peau

La peau est divisée en trois couches principales qui sont facilement différenciées à l'examen histopathologique : l'épiderme, le derme et l'hypoderme. Les structures seront révisées, couche par couche, ainsi que les annexes cutanées qui font partie intégrante de la peau.

1.1.1 L'épiderme

L'épiderme est la couche la plus externe de la peau et elle est constituée de ~ 85 % de kératinocytes, ~ 5 % de mélanocytes, ~ 3 à 8 % de cellules de Langerhans et ~ 2 % de cellules de Merkel. L'épiderme (*epidermis*) est subdivisé en cinq couches, nommées de l'intérieur vers l'extérieur : la couche basale (le *stratum basale*), la couche épineuse (le *stratum spinosum*), la couche granuleuse (le *stratum granulosum*), la couche claire (le *stratum lucidum*) présente aux coussinets et à la truffe et la couche cornée (le *stratum corneum* - Figure 1)^{1,3-5}.

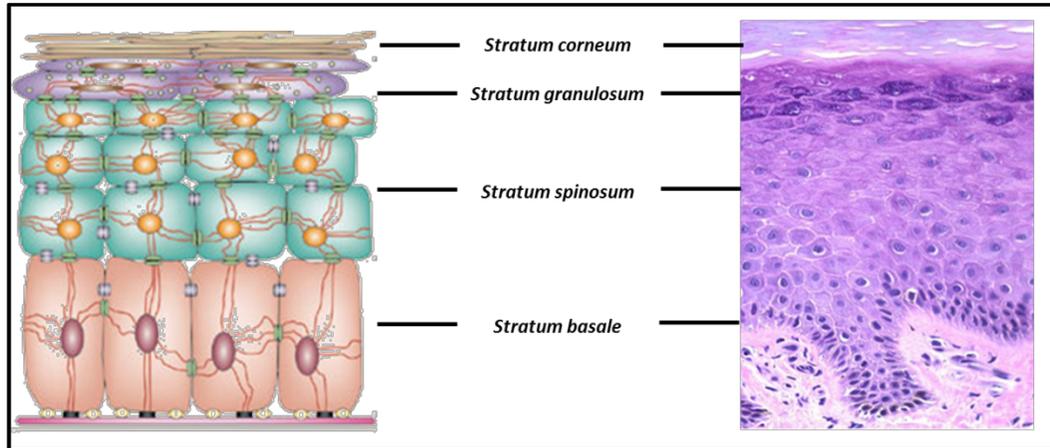


Figure 1. Schéma des quatre couches cellulaires de l'épiderme en comparaison avec une coupe histologique. Les mitoses se produisent principalement dans la couche basale, responsable de la différenciation cellulaire. Les cellules épithéliales de la couche basale migrent vers les couches plus superficielles par une série complexe d'évènements qui finissent par des changements métaboliques et morphologiques, un processus nommé kératinisation ou cornification. Modifié de Fuchs E et al. 2002.

1.1.1.1 La couche basale (le *stratum basale*)

La couche basale est la couche qui forme la jonction entre le derme et l'épiderme. Elle est composée d'une seule rangée des cellules de forme cuboïde, quelques mélanocytes et de cellules de Merkel. La majorité des kératinocytes localisés dans cette couche sont en constante duplication et assurent la régénération de l'épiderme^{6,7}. Les mélanocytes qu'on y retrouve sont responsables de la production de pigments de mélanine. Cette dernière a d'importantes fonctions telles que l'absorption des photons des rayons ultraviolets, incluant les UVA et les UVB, assurant une photoprotection partielle de la peau. De plus, elle absorbe des radicaux cytotoxiques libres et participe au développement de certains processus inflammatoires. Quant aux cellules de Merkel, elles sont majoritairement associées à une terminaison nerveuse. En plus d'avoir la fonction de mécanorécepteur de type 1 et être impliquées dans le processus de kératinisation, elles stimulent et maintiennent la population des cellules souches du follicule pileux qui, jouant ainsi un rôle important dans le contrôle du cycle pileux⁸⁻¹².

1.1.1.2 La couche épineuse (le *stratum spinosum*)

La couche épineuse, normalement de deux à trois couches d'épaisseur, est caractérisée principalement de kératinocytes parmi lesquels se trouvent infiltrés des cellules de Langerhans. Ces dernières font partie du système immunitaire cutané. Elles capturent les antigènes (virus, bactéries, allergènes...) et les présentent aux lymphocytes T de l'épiderme^{1, 13, 14}. En plus de jouer un rôle au niveau du système immunitaire cutané, les kératinocytes de la couche épineuse possèdent des desmosomes. Ces derniers représentent un système de jonction complexe entre deux kératinocytes qui accordent une résistance et une adhésion cellulaire. Des structures communicatives (*gap junctions*) sont aussi présentes et servent de voie intercellulaire primaire pour les communications chimiques cellule-cellule¹⁵⁻¹⁷.

1.1.1.3 La couche granuleuse (le *stratum granulosum*)

La couche granuleuse, généralement composée d'une à deux couches de cellules, est constituée de kératinocytes nucléés, de forme aplatie et qui contiennent des granules de kératohyaline dans leur cytoplasme. Ces granules sont constituées, entre autres, de profilaggrine et de filaments de kératine. La profilaggrine est un précurseur de la filaggrine, une protéine qui induit principalement l'agrégation des filaments de kératine. Ces filaments vont s'organiser en un réseau qui va former la matrice cytoplasmique des cornéocytes¹⁸.

1.1.1.4 La couche claire (le *stratum lucidum*)

Il s'agit d'une mince couche de cellules kératinisées mortes, anucléées, très compactes et située entre la couche granuleuse et la couche cornée. Cette couche se retrouve exclusivement aux coussinets et à la truffe¹.

1.1.1.5 La couche cornée (le *stratum corneum*)

La couche cornée constitue la couche la plus externe de l'épiderme et c'est l'endroit où le processus de différenciation des kératinocytes se termine. À ce niveau, les kératinocytes se nomment cornéocytes. Le *stratum corneum* assure sa fonction de barrière grâce aux cornéocytes et à la matrice lipidique extracellulaire. Souvent ce système est comparé à un modèle composé de briques (cornéocytes) et de mortier (lipides), témoignant de l'étanchéité de cette couche^{15, 17}.

Cette structure devient une barrière imperméable et assure la protection contre les microorganismes et les substances environnementales dommageables. De plus, le *stratum corneum* possède des propriétés immunologiques comme les peptides antimicrobiens (les défensines et les cathélicidines). Ces peptides sont considérés comme étant des éléments importants du système immunitaire inné ayant des propriétés antimicrobiennes et immunologiques, notamment celles d'améliorer la phagocytose, de stimuler la libération de prostaglandines, de neutraliser les effets septiques des polysaccharides et de favoriser le recrutement des certaines lignées de cellules immunitaires. Ces propriétés immunologiques régulent en partie la réponse cutanée associée à différentes pathologies dermatologiques¹⁹⁻²¹.

1.2 Le derme

Le derme est situé entre l'épiderme et l'hypoderme. Il est subdivisé en derme superficiel et derme profond et il est composé principalement de tissu conjonctif et de polymères solubles qui confèrent mouvement et assurent la fonction de la conformation corporelle²².

Les fibres dermiques sont formées par des fibroblastes responsables pour les propriétés élastiques du derme. Les fibres dermiques sont divisées en fibres de collagène, fibres réticulaires et fibres d'élastine. Ces composantes constituent une structure appelée matrice extracellulaire qui est particulièrement impliquée dans la réparation des plaies^{23, 24}.

La jonction dermo-épidermique est composée principalement de la membrane basale. Cette dernière est subdivisée en *lamina lucida*, *lamina densa* et *sublamina densa*²².

1.3 L'hypoderme (le pannicule/le tissu sous-cutané)

L'hypoderme, la couche la plus profonde de la peau, est composée essentiellement par des lobules d'adipocytes et de fibroblastes. Cette couche sert principalement d'isolant thermique et de réservoir d'énergie pour l'animal. Le tissu adipeux cutané est également considéré comme un tissu endocrinien puisqu'il possède des enzymes impliquées dans le métabolisme et la production d'hormones stéroïdiennes en plus de sécréter des protéines ayant un effet métabolique sur les autres cellules et tissus^{22, 25}.

1.4 Les annexes cutanées

1.4.1 Les follicules pileux

Le follicule pileux représente une entité unique, étant la seule structure vivante à pouvoir naître, mourir et renaître d'elle-même de façon autonome et cyclique¹. Les poils se retrouvent seulement chez les mammifères et leurs fonctions sont principalement la protection thermique, physique contre les agents infectieux et chimiques et a pour le but le camouflage. Le follicule pileux est constitué d'un regroupement de cellules souches multipotentes capables de régénérer plusieurs lignées cellulaires de la peau^{26,27}. Tel que mentionné précédemment, une caractéristique unique des follicules pileux est leur capacité d'auto renouvellement avec la production de nouveaux poils pendant toute la vie de l'animal. La régulation du cycle pileux lors du développement embryonnaire et durant la vie post-fœtale est un processus hautement conservé chez plusieurs mammifères et implique une série de signaux interactifs entre l'épithélium, l'environnement et les cellules mésenchymateuses. Les récentes recherches sur le sujet utilisant des techniques avancées en biologie moléculaire et des marqueurs histologiques ont permis de mieux comprendre le fonctionnement et le développement des poils. Malgré cela, notre connaissance des facteurs qui régulent la croissance pileuse n'est pas entièrement comprise chez les humains et est peu étudié chez les animaux de compagnie^{1,27}.

1.4.1.1 L'anatomie folliculaire

La plupart des omnivores et herbivores (chevaux, bovins, porcs, rats et souris) ont des follicules pileux simples comprenant un seul infundibulum avec une seule tige pileuse. Par contre, les carnivores comme les chiens et les chats et les lapins possèdent des follicules pileux composés, c'est-à-dire que chaque infundibulum contient un poil primaire (ou poil de garde) et un nombre variable de poils secondaires (ou sous-poils)^{28,29}. Chacun de ces poils possède son propre bulbe, mais toutes les tiges se rejoignent au niveau d'un ostium commun (Figure 2). Chez les chiots, seuls les follicules secondaires sont fonctionnels, ce qui leur donne un pelage caractéristique. Au cours de la croissance, les follicules primaires deviennent fonctionnels et les individus acquièrent un pelage d'adulte.

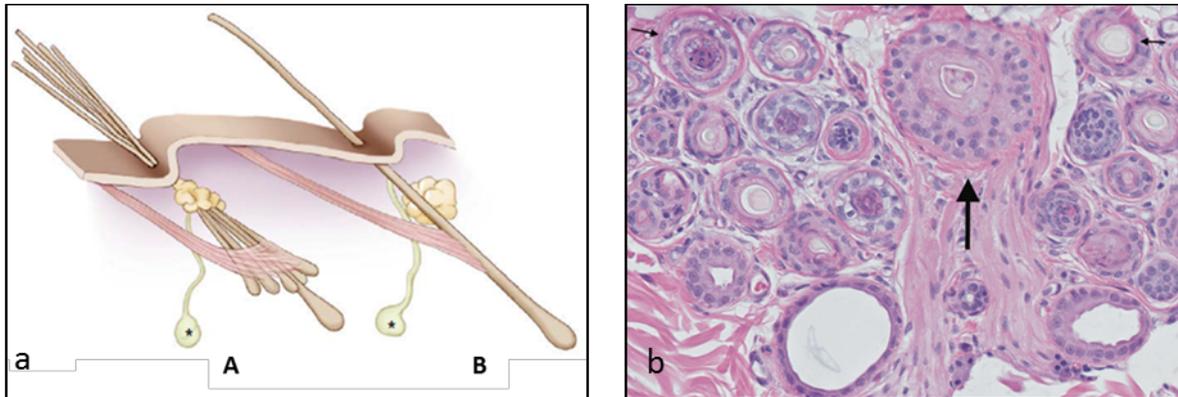


Figure 2. Schéma du follicule pileux simple et composé en comparaison avec une coupe histologique de la peau d'un chat. a) Follicule pileux composé (A) et follicule pileux simple (B). b) Coloration à l'hématoxyline et éosine en coupe horizontale d'un groupe de follicules composés de la peau féline. La grande flèche indique le follicule primaire et les petites flèches indiquent les follicules secondaires. Figure A modifiée de Miller WHjr et al. 2013 et Figure B modifiée de Genovese DW et al 2014 .

Chaque follicule primaire est associé à une glande sébacée et à une glande sudoripare ainsi qu'à un muscle piloérecteur conjointement appelés unité pilosébacée. Histologiquement, lorsqu'observée en coupe longitudinale, l'unité pilosébacée se divise en trois régions anatomiques :

- a) L'infundibulum ou la région pilosébacée est la portion supérieure et constitue le segment entre la surface de la peau et l'entrée du canal de la glande sébacée;
- b) L'isthme ou la portion médiane constitue le court segment entre le canal de la glande sébacée et l'attachement du muscle piloérecteur;
- c) Le segment inférieur est la portion la plus distale située entre l'attachement du muscle piloérecteur et la papille dermique (Figure 3)³¹.

L'infundibulum et l'isthme sont les segments permanents du follicule pileux tandis que le segment inférieur est transitoire et absent pendant la phase télogène²⁷.

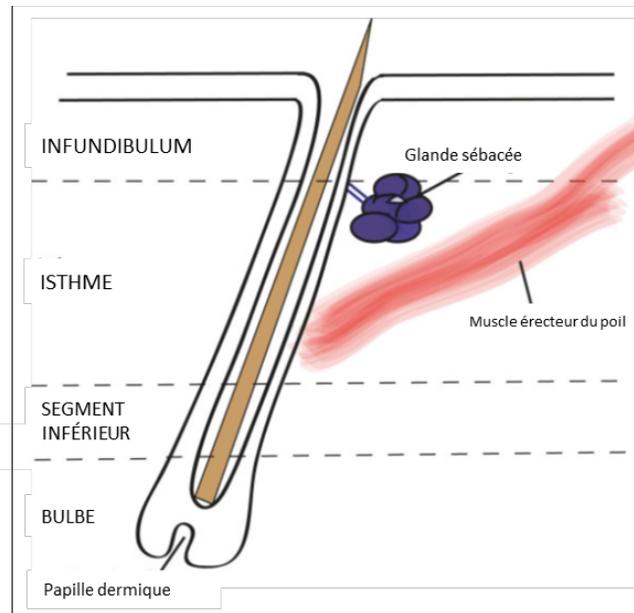


Figure 3. Dessin schématique d'un follicule pileux en phase anagène divisé par régions anatomiques. Les trois principales régions anatomiques sont illustrées ici : l'infundibulum, l'isthme et la partie inférieure. Les glandes sébacées, le muscle piloérecteur et le bulbe sont aussi illustrés. Modifiée de Welle MM et al. 2016.

Le follicule pileux est formé de trois gaines principales : la gaine épithéliale interne, la gaine épithéliale externe et la gaine conjonctive. Structuralement, la gaine épithéliale interne comporte trois couches : la couche de Henlé, la couche de Huxley et la cuticule. La fonction principale de la gaine épithéliale interne est de moduler la tige pileuse et de fournir la rigidité nécessaire pendant la croissance du poil. Les caractéristiques de la gaine épithéliale externe varient selon sa localisation. Dans sa partie inférieure près du bulbe, elle contient une ou deux couches de cellules riches en glycogène avec un aspect vacuolaire et elle s'épaissit près de l'épiderme, de façon très semblable aux cellules du *stratum spinosum* de l'épiderme. La gaine épithéliale externe est entourée par deux autres structures importantes: la membrane basale (la membrane vitrée) et la gaine conjonctive, la couche plus externe du follicule pileux composé par un tissu conjonctif très dense¹. Enfin, l'extrémité distale du follicule pileux comporte la papille dermique, une structure renfermant du tissu conjonctif très vascularisé, recouverte d'une mince prolongation de la membrane basale. De plus, la papille dermique contient les cellules souches indifférenciées qui se divisent intensément pour assurer la formation du poil (Figure 4).

La morphologie de la papille dermique change selon le cycle pileaire (volume maximale à la phase anagène et volume minimal lors de la phase télogène)^{32,33}.

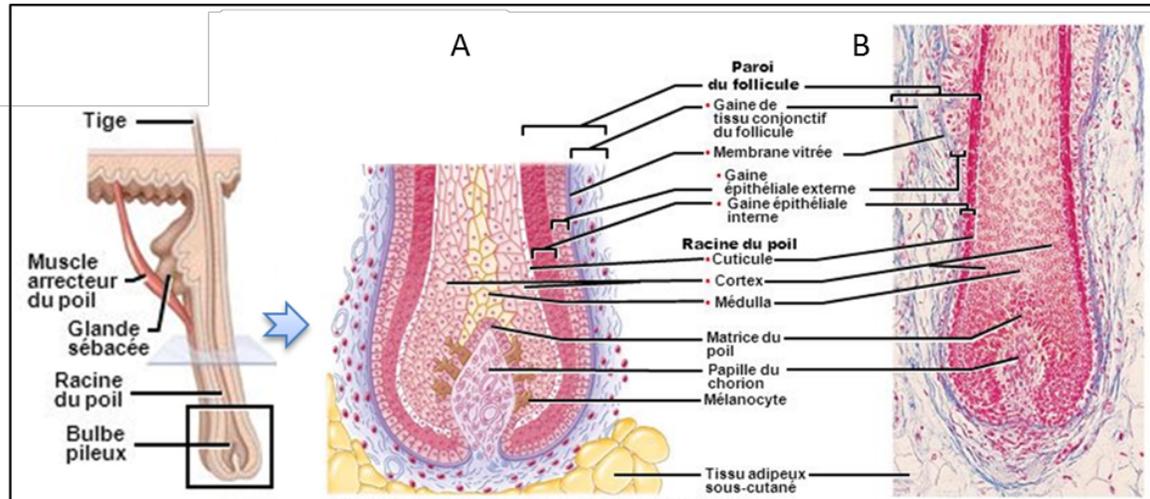


Figure 4. Structures du poil et du follicule pileux. A) Schéma d'une coupe longitudinale du follicule et du bulbe pileux avec les structures principales. B) Photomicrographie de la coupe longitudinale d'un follicule pileux en phase anagène et ses structures principales.

Image modifiée de : www.austincc.edu/apreview/PhysText/Integument.html.

La tige pileaire comporte trois couches de l'intérieur vers l'extérieur : une zone médullaire (médulla), une zone corticale (cortex) et une cuticule. La zone médullaire est la région centrale du poil, composée de rangées longitudinales de cellules cuboïdes et aplaties. Les cellules sont plus solides près de la racine du poil et le reste de la tige pileaire contient de l'air et des vacuoles de glycogène. Le cortex est responsable de la résistance, de la couleur et de l'élasticité du poil. Il est constitué de cellules kératinisées qui contiennent les pigments (p. ex., l'eumélanine, la pheomélanine) responsables de la couleur du pelage. Enfin, la cuticule est la couche plus externe de la tige pileaire. Elle est formée par des cellules kératinisées non pigmentées, aplaties et anucléées, bien arrangées entre elles (Figure 5)^{32, 33}.

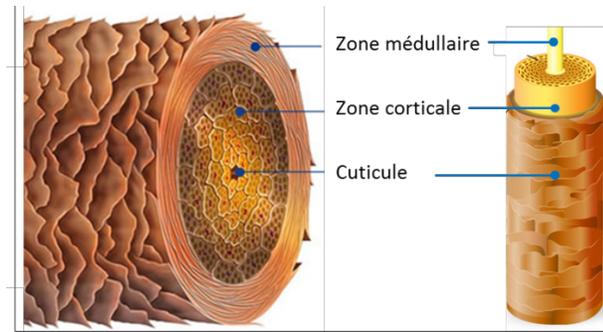


Figure 5. Structure du poil. Schéma d'une coupe transversale de la tige pileuse avec ses trois couches principales.

Image modifiée de : www.drhillhairloss.com/wp-content/uploads/2015/02/anatomy5.jpg

La taille, la forme et la quantité des follicules pileux varient considérablement entre les différentes races de chiens. En ce qui concerne la morphologie et la structure des poils, il n'y a pas d'information concrète sur le sujet. Les changements majeurs entre les différentes races (chiens à poils courts vs chiens à poils longs vs chiens pelucheux) reposent principalement sur la durée de chaque phase du cycle pileux.

1.4.1.2 Le cycle pileux et son contrôle

Après la morphogenèse qui a lieu pendant le développement embryonnaire du poil, le follicule pileux est maintenu grâce à un processus complexe de renouvellement cellulaire qui a trois phases principales : anagène (phase de croissance), catagène (phase de régression) et télogène (phase de repos), chacune des phases étant associée à des changements morphologiques spécifiques. Chaque phase contient plusieurs sous-phases qui ont été bien décrites chez le chien (Figure 6)³⁶. Récemment, une nouvelle terminologie nommée phase kénogène a été introduite pour décrire le follicule pileux qui a déjà passé par le stage télogène, qui a perdu sa tige pileuse (phase exogène) et qui demeure « vide » pour un certain temps en attendant qu'une nouvelle phase anagène recommence. Dans chaque phase du cycle pileux, les cellules qui participent au processus ont un phénotype différent et génèrent différents produits³⁷⁻⁴⁰. Il a été démontré que les follicules pileux de souris et les poils de sourcils humains restent dans la phase anagène pendant seulement 2 à 4 semaines, tandis que chez l'humain, les cheveux demeurent en phase anagène durant 2 à 6 ans^{41,42}. Chez l'homme, environ 1 % des cheveux en phase télogène

tombent quotidiennement. Cependant, nous n'avons pas de données semblables chez les animaux de compagnie. La croissance des poils chez les animaux domestiques n'est pas synchronisée et plusieurs cycles distincts ont cours simultanément chez un individu dans différents follicules pileux. Chez les animaux qui nécessitent des tontes régulières, comme le caniche et le mouton, la phase anagène prédomine, tandis que chez les chiens de races nordiques, c'est la phase télogène qui prédomine^{36,43}.

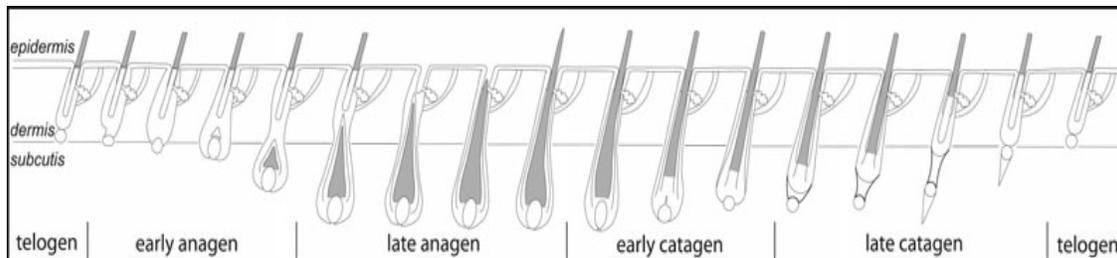


Figure 6. Les différentes phases du cycle pileux chez le chien. La position de la papille dermique et de la tige pileuse est illustrée durant les différentes phases du cycle pileux chez le chien. La papille dermique se déplace du derme (télogène à anagène II) vers l'hypoderme (anagène III à catagène VIII) puis remonte dans le derme. Modifiée de Munter T et al. 2011.

Le cycle de croissance pileux varie selon la région corporelle, l'âge et l'hérédité. Il est également contrôlé par de nombreux facteurs internes et externes tels que les hormones, les cytokines, l'alimentation, l'environnement et la prise de médicaments. La principale structure responsable de la régulation du cycle pileux est la papille dermique, où se retrouvent des cellules souches. À l'heure actuelle, la composition moléculaire et cellulaire des cellules souches régulatrices n'a été bien décrite que chez la souris. Chez cette espèce, la croissance du follicule est médiée par une interaction complexe entre les voies de signalisation incluant l'Hedgehog, la Wnt/ β -caténine, le facteur de croissance transformant- β (*transforming growth factor- β* /TGF- β), les protéines de la morphogenèse osseuse (*bone morphogenetic protein/BMP*) et la voie de signalisation Notch⁴⁴. Cependant, la façon dont ces éléments interagissent pour promouvoir l'initiation d'un nouveau cycle pileux n'est pas complètement comprise. Plusieurs études démontrent que les voies de signalisation impliquées dans ce processus semblent être en constante compétition et qu'un équilibre étroit de ces signaux est

requis pour le maintien des étapes du cycle pileux, soit lors de la période de repos ou lors de la période de croissance. Les cellules souches maintiennent un cycle ralenti lors de la libération de certains facteurs de croissance présents : BMP, TGF- β , FGF-18, ainsi que des inhibiteurs Wnt qui sont sécrétés principalement par la papille dermique. Si l'équilibre des signaux penche davantage vers l'activation des facteurs des croissances, une nouvelle phase anagène est initiée. Il a été démontré que l'activation de la voie de signalisation Wnt et sa subséquente stabilisation, ainsi que la localisation nucléaire de la β -caténine, est un point critique pour le début de la phase anagène. La voie Wnt est également importante pour la prolifération des cellules de la matrice du poil et par conséquent, sa croissance, tandis que la voie Notch est essentielle pour la phase finale de différenciation du follicule pileu⁴⁵.

1.4.1.3 Les marqueurs d'expression de cellules souches

La régénérescence du follicule pileux et le maintien du cycle de croissance des poils est orchestré principalement par des cellules souches épithéliales activées. Ces cellules sont responsables de la transformation du follicule pileux tout au long du cycle. Les cellules souches sont localisées à des endroits spécifiques dans les follicules pileux et divisées en différentes sous-populations identifiées par différents marqueurs⁴⁶. La localisation, l'expression et la fonction des cellules souches ont été largement étudiées chez la souris. Par contre, on en connaît encore très peu chez l'homme et encore moins chez le chien⁴⁵. Chez la souris et chez l'humain, plusieurs sous-populations de cellules souches distinctes sont distribuées dans différentes régions anatomiques du follicule pileux. L'expression des marqueurs de cellules souches chez la souris, l'homme et le chien est résumée dans la figure 7.

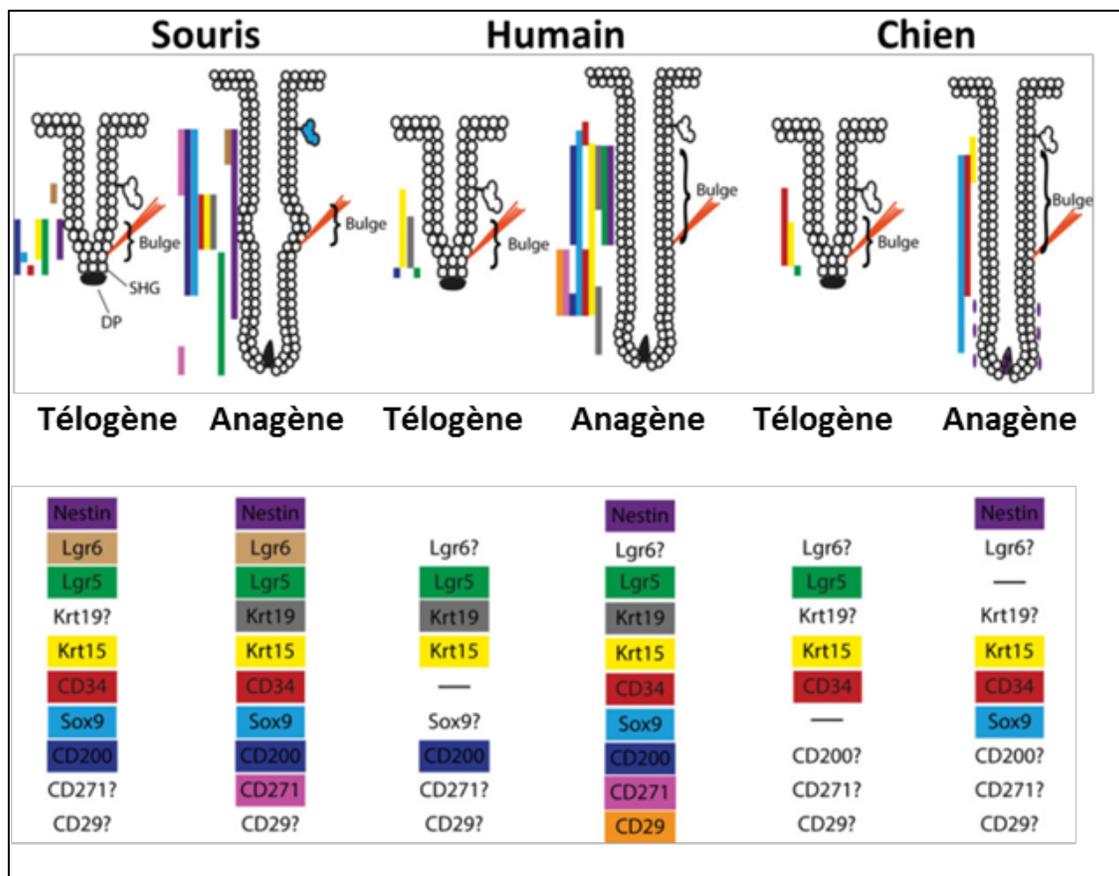


Figure 7. Résumé de l'expression des différents marqueurs de cellules souches connus chez la souris, l'humain et le chien. Le « point d'interrogation » indique qu'il n'y a aucune donnée sur le marqueur pour cette espèce. Modifié de Welle MM et al. 2016.

À l'heure actuelle, il y a très peu de recherche sur le fonctionnement du cycle pileaire canin et les substances impliquées. Le manque de données spécifiques entrave la compréhension de plusieurs désordres alopeciques caractérisés par l'arrêt du cycle pileaire. La distinction des différentes entités dans ce groupe de dermatoses n'est actuellement pas possible à partir des critères morphologiques disponibles^{42,47}.

1.4.2 Les glandes sébacées et sudoripares

La peau contient des glandes dont la fonction principale est de synthétiser des substances qui, selon leur nature, sont responsables de la thermorégulation, de la protection, de la participation au cycle de croissance pileaire et de l'élimination des éléments minéraux et

antimicrobiennes. Les deux types de glandes présentes dans la peau sont les glandes sébacées et sudoripares¹.

Les glandes sébacées se retrouvent dans la peau contenant des follicules pileux chez tous les mammifères à l'exception des baleines et des marsouins. Elles sont également absentes dans les coussinets plantaires et la truffe. Leur quantité varie en fonction de la région anatomique (par ex., elles sont plus grandes et plus nombreuses près des jonctions mucocutanées, dans les espaces interdigités, le cou dorsal, la croupe, le menton et la queue dorsale). Le sébum est synthétisé et réservé par les glandes sébacées et est sécrété par un canal qui s'ouvre dans l'infundibulum du follicule pileux. Cette activité est régulée par des facteurs endocriniens et non endocriniens. En général, les hormones androgéniques, dont le principal est la testostérone, ont un effet stimulateur sur l'activité glandulaire et peuvent augmenter la prolifération cellulaire et la production de sébum par les sébocytes. En contrepartie, les estrogènes et la cortisone ont l'effet contraire¹. Le sébum a une fonction protectrice ainsi qu'un important rôle comportemental (phéromones). Quand le sébum se combine aux sécrétions des glandes sudoripares, l'émulsion cireuse qui en résulte forme un film lipidique dont la fonction est d'assurer une protection contre plusieurs agents pathogènes et de maintenir l'hydratation⁴⁸⁻⁵⁰. Les glandes sébacées peuvent être utilisées comme unités pouvant moduler la distribution de certains médicaments topiques comme des antiparasitaires, des shampooings et des produits antiseptiques.

Les glandes sudoripares sont divisées quant à elle en glandes épitrichiales (apocrines) et atrichiales (eccrines). Les glandes sudoripares épitrichiales sont distribuées sur l'ensemble du corps où des poils sont présents. Elles sont donc absentes aux coussinets plantaires et à la truffe. L'ouverture du canal est localisée dans l'infundibulum, sous l'ouverture du canal sébacé. La fonction et la composition de la sueur sécrétée par les glandes épitrichiales n'est pas bien définie, mais celle-ci a probablement des propriétés antimicrobiennes (sels et IgA) et elle pourra également favoriser la dissémination des phéromones. Les glandes sudoripares atrichiales se retrouvent seulement dans les coussinets plantaires et le canal excréteur s'ouvre directement à la surface de la peau. Chez le chien et le chat, contrairement à plusieurs d'autres espèces animales, le rôle thermorégulateur des glandes sudoripares est minime et non significatif^{1, 22, 50-52}.

1.5 Les vaisseaux sanguins et lymphatiques

La peau contient un réseau vasculaire et lymphatique très bien développé. Les vaisseaux sanguins apportent de l'oxygène et des métabolites aux différentes structures cutanées telles que les follicules pileux, les glandes sébacées et sudoripares, ainsi que les muscles piloérecteurs. De plus, les anastomoses artérioveineuses assurent la thermorégulation. Les vaisseaux lymphatiques drainent les fluides du derme et servent de voie de communication entre la peau et les nœuds lymphatiques^{1, 53, 54}.

1.6 L'innervation de la peau

La peau est un organe sensoriel majeur qui comporte divers types de récepteurs. Les neurones périphériques envoient de nombreuses fibres afférentes primaires à la peau et ils sont responsables de leur innervation. Ils traversent le derme et pénètrent dans la membrane basale pour innerver les cellules épidermiques ou rester comme terminaisons libres. Les fibres nerveuses sont clairement impliquées dans la sensation somatique. Les thermorécepteurs sont sensibles au froid et à la chaleur tandis que les mécanorécepteurs sont stimulés par le toucher, la pression, la vibration ou le mouvement des poils. Les nocicepteurs répondent aux irritants et participent également à l'hyperalgésie et au prurit^{1,55}.

1.7 Les fonctions de la peau

En plus de servir de barrière physique de protection contre les agressions extérieures, la peau a comme rôle d'assurer plusieurs autres fonctions essentielles : la thermorégulation, la perception, la synthèse de la vitamine D, la production des annexes cutanées, la pigmentation, l'action antimicrobienne, l'immunorégulation, un rôle d'indicateur d'un désordre systémique, la sécrétion et l'excrétion¹.

2 La prostate

La prostate est la seule glande accessoire de l'appareil reproducteur du chien. Sa croissance et son fonctionnement dépendent de plusieurs hormones, notamment les hormones androgéniques⁵⁶.

2.1 Morphologie de la prostate

La morphologie de la prostate canine et humaine est semblable, les deux étant constituées de deux lobes prostatiques, droit et gauche, séparés par une scissure ventrale et dorsale (souvent palpable à travers la paroi du rectum par le toucher rectal). La prostate est également murée par une capsule de tissu conjonctif dense et irrégulier qui comporte des cellules musculaires lisses et de nombreuses fibres de collagène⁵⁷. Le stroma fibromusculaire de la prostate est constitué principalement de faisceaux de fibres musculaires lisses qui forment des septums divisant chacun des deux lobes prostatiques en lobules⁵⁸. Certaines cellules stromales sont androgéno-dépendantes et produisent des facteurs de croissance et de survie, agissant de façon paracrine sur les cellules épithéliales prostatiques. Les interactions stroma-épithélium sont d'une importance capitale dans la régulation de la croissance et de la réponse hormonale prostatique⁵⁹.

Chez l'homme, la prostate se divise en trois zones. Il est pertinent de bien les différencier en raison de leur propension à devenir hyperplasiques et/ou cancéreuses :

- **La zone périphérique** : c'est la région de la prostate située dans le parenchyme externe de la glande et qui contient le tissu glandulaire sécrétoire. C'est le site le plus sensible à l'inflammation (prostatite) et au développement de tumeurs malignes, tel que le carcinome prostatique.
- **La zone transitionnelle (de transition)** : elle entoure l'urètre prostatique et contient des glandes sensibles à la prolifération non cancéreuse, conduisant à l'hyperplasie bénigne de la prostate. L'hyperplasie de cette région de la prostate entraîne une compression urétrale partielle ou complète.
- **La zone centrale** : c'est la zone située dans le centre de la prostate, entourant l'utricule et les canaux éjaculateurs. Cette zone présente une plus faible incidence de maladies telles que l'inflammation et l'hyperplasie⁶⁰.

La prostate canine a une morphologie plus uniforme qui rend moins évidente la description de l'anatomie zonale bien reconnue chez l'homme. Au long de l'axe longitudinal, il n'y a pas de différenciation zonale basée sur la différenciation glandulaire et épithéliale. Les acini sont formés par l'épithélium sécrétoire qui demeure la structure principale de la prostate canine⁶¹.

2.1.1 Histologie de la prostate

Au niveau histologique, l'épithélium prostatique normal de chaque acinus est cylindrique, unistratifié et constitué de nombreuses glandes tubulo-alvéolaires. Il est composé de différents types cellulaires interconnectés qui comprennent essentiellement des cellules sécrétoires, des cellules neuroendocrines (seulement chez l'homme), des cellules souches et les cellules basales lesquelles sont accolées entre la membrane basale et les cellules sécrétoires (Figure 8)⁶².

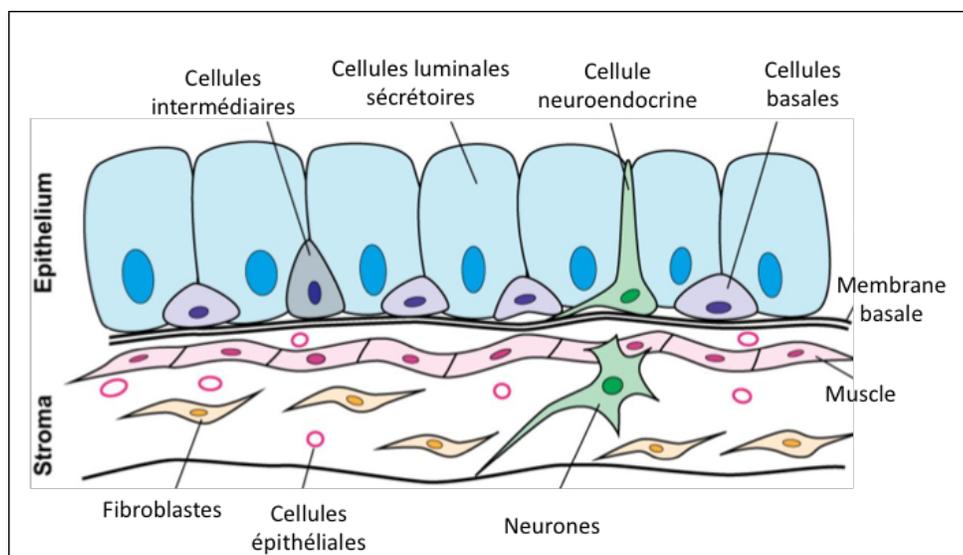


Figure 8. Schéma de la composition des différents types cellulaires de la prostate adulte humaine – Le compartiment épithélial est composé de cellules basales qui tapissent la membrane basale, de cellules lumineales sécrétoires et de rares populations de cellules intermédiaires et neuroendocrines. Cet épithélium est adjacent à un compartiment stromal constitué de cellules musculaires lisses, de fibroblastes et de composants vasculaires et neuronaux. Modifié de Toivanen R et al. 2017.

2.1.2 L'unité glandulaire

Les cellules sécrétoires sont principalement responsables de la sécrétion du liquide prostatique. Elles arborent les récepteurs aux androgènes et divers marqueurs de différenciation dont la production est sous le contrôle des hormones androgéniques, principalement la dihydrotestostérone. Ces cellules sont très bien différenciées, ne prolifèrent pas et requièrent une exposition continue aux hormones androgéniques pour leur survie^{63,64}. Les androgènes contrôleraient la survie de ces cellules via la sécrétion d'andromédines qui sont des facteurs

d'origine stromale. Les andromédines nécessaires au développement de la prostate n'ont toujours pas été clairement identifiées. Le rôle majeur des récepteurs aux androgènes des cellules sécrétoires serait d'inhiber la prolifération et d'assurer la différenciation des cellules prostatiques sécrétoires (Figure 9)⁶⁵.

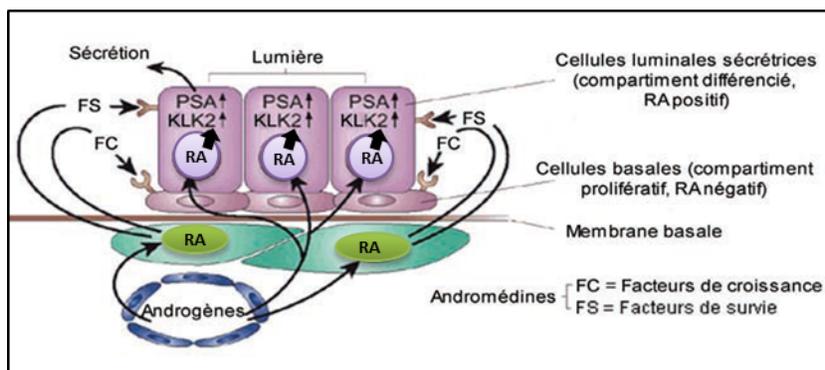


Figure 9. Signalisation du récepteur aux androgènes (RA) dans la prostate. Dans la prostate adulte normale, la croissance et le maintien de l'épithélium dépendent des andromédines, facteurs de croissance et de survie androgénosensibles, produites par les fibroblastes et les cellules musculaires lisses du stroma. Les androgènes sont aussi nécessaires à la différenciation des cellules luminales sécrétoires et à la production de diverses protéines sécrétées comme l'antigène prostatique spécifique (APS) et la peptidase 2 liée à la kallistéine (KLK2) en activant directement le RA. Modifiée de Isaacs JT. 2004

2.1.3 Les cellules basales

Les cellules basales sont moins nombreuses que les cellules luminales sécrétoires et n'expriment pas ou que faiblement les récepteurs aux androgènes. Dans ce compartiment résiderait une population de cellules souches capables de régénérer l'épithélium sécrétoire suivant la supplémentation en androgènes chez les animaux castrés. Chez le chien, la couche des cellules basales est rarement observée et toujours de façon discontinue, contrairement à la prostate humaine normale, où la couche basale est généralement bien identifiée avec coloration standard d'hémathoxyline et éosine. Sans autre coloration mettant en évidence ces cellules, son existence même pourrait être remise en question chez l'espèce canine⁶⁶. Les cellules de la couche

basale de la prostate canine ont un rôle méconnu et sont possiblement liées au renouvellement épithélial de la prostate par la population de cellules souches qui la compose^{67,68}.

2.1.4 Les cellules neuroendocrines

Chez l'homme, un quatrième type de cellules constitué par les cellules neuroendocrines est également retrouvé, dispersé dans tout l'épithélium prostatique. La fonction de ces cellules est méconnue. Il est possible que ces cellules participent à la régulation de la fonction prostatique et à la croissance des tissus voisins. Chez le chien, ces cellules sont absentes⁶⁹.

2.2 Les fonctions de la prostate

La prostate fournit, de par ses sécrétions, des facteurs essentiels à la composition du liquide prostatique. Ce liquide contient des éléments tels que du cholestérol, du calcium et des protéines utilisés par les spermatozoïdes. Parmi les protéines sécrétées, l'antigène prostatique spécifique (APS), aussi appelé kallikréine-3, a pour fonction de liquéfier le coagulat par le clivage des protéines, notamment la séminogéline. Il est également riche en ions zinc, ce qui lui confère une action antibactérienne et permet aussi une protection et une stabilisation de l'ADN des spermatozoïdes. De plus, ce liquide prostatique contient une légère quantité de sucres réducteurs utilisés par les spermatozoïdes comme source d'énergie garantissant une mobilité satisfaisante⁷⁰. Sa fonction de glande dite accessoire est associée au fait qu'en l'absence de prostate, la fertilité n'est pas complètement nulle, mais diminuée. Par ailleurs, des études rapportent que le fluide prostatique semble avoir un rôle important dans la modulation des contractions utérines et augmenterait le taux de fertilité chez les chiennes inséminées avec du sperme frais et congelé suivit d'une infusion de fluide prostatique⁷¹. De plus, en raison de sa position anatomique entre l'urètre et la vessie, la prostate participe au contrôle de la miction en régulant en partie la fonction du maintien de la continence urinaire^{72,73}.

La prostate est un des organes cibles des hormones androgéniques. La testostérone est métabolisée au niveau de la prostate en DHT par l'action de l'enzyme 5 α R et la DHT est responsable pour l'activation des récepteurs aux androgènes, dont un des rôles principaux est la régulation de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire prostatique (Figure 10)⁷⁴.

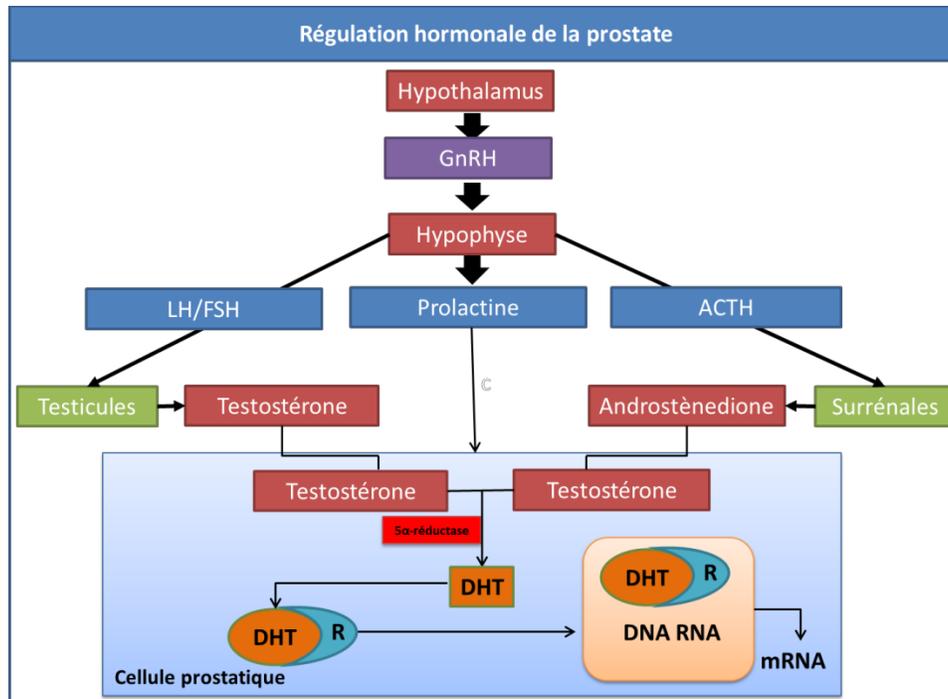


Figure 10. Schéma représentant la synthèse des hormones sexuelles d'origine hypophysaire qui agissent sur la fonction prostatique – La fonction prostatique et la croissance des cellules de la prostate sont régulées par la testostérone, hormone sécrétée principalement par les testicules. Une partie de la testostérone est également sécrétée par la glande surrénale sous forme d'androstènedione, qui, par l'action de l'enzyme 17 β -hydrolase, se transforme en testostérone. Une enzyme importante dans la synthèse des hormones androgéniques est la 5 α R qui assure la conversion de la testostérone en son homologue actif, la DHT. Modifié d'Allen NE et al. 2000.

2.3 La physiologie de la prostate et sa régulation

Différents facteurs interviennent dans la régulation de la prostate : des facteurs endocriniens, paracriniens, autocriniens et structuraux. De ces quatre types de facteurs impliqués, le plus étudié est le système endocrinien, particulièrement les effets des androgènes sur la régulation de la croissance de la prostate. Ces facteurs regroupent des hormones stéroïdiennes, telles que la testostérone et les œstrogènes, et des hormones polypeptidiques, telles que la prolactine, qui sont transportées via la circulation depuis les organes reproducteurs jusqu'à la prostate. Les facteurs endocriniens agissent principalement sur la taille de la prostate

et ils ont une action directe sur certaines conditions pathologiques comme l'hyperplasie bénigne de la prostate et le carcinome prostatique chez l'homme et le chien⁷⁶.

3 Les androgènes

Les hormones sont des messagers moléculaires sécrétés par certaines cellules glandulaires et qui, véhiculés par la circulation sanguine, sont capables de contrôler à distance l'activité cellulaire et tissulaire d'un organe cible. On distingue plusieurs classes d'hormones en fonction de leur nature biochimique et de leur mécanisme d'action : les hormones peptidiques ou protéiques (p. ex., le glucagon ou les hormones de croissance), les hormones monoaminées dérivées de l'acide aminé tyrosine (p. ex., l'adrénaline, la triiodothyronine et la thyroxine) et enfin, les hormones stéroïdiennes (p. ex., la testostérone et les œstrogènes) synthétisées à partir du cholestérol⁷⁷.

Les principaux tissus responsables de la stéroïdogénèse (synthèse des hormones stéroïdiennes) sont les glandes surrénales et les gonades (testicules et ovaires). Cependant, les androgènes peuvent être synthétisés dans certains tissus périphériques comme la peau et la prostate⁷⁷. Les œstrogènes (œstrone E1, 17β-estradiol E2) proviennent de l'aromatisation de certains androgènes comme la Δ4-androstènedione (Δ4-dione) et la testostérone, qui a lieu essentiellement dans les ovaires mais aussi dans les glandes mammaires chez la femme et dans les testicules et tissus périphériques chez l'homme⁷⁸.

3.1 Définition et synthèse des hormones androgéniques

Les androgènes sont des hormones sexuelles stéroïdiennes présentes principalement chez les mâles et jouant un rôle essentiel au développement et au maintien du système reproducteur masculin. Même si leur fonction est plus reconnue chez les mâles, les femelles produisent également des hormones androgéniques, mais en quantité plus faible, et elles ont comme rôle principal la participation à la formation des œstrogènes. Étant donné le rôle important des androgènes dans la physiologie normale de l'organisme, une activité androgénique anormale a été identifiée dans une grande variété de pathologies d'origine androgéno-dépendante^{77,79}.

Chez les mammifères mâles, les androgènes sont divisés en deux classes selon la source biologique :

- Les androgènes surrénaliens (la déhydroépiandrostérone et l'androstènedione) qui sont produits dans la région corticale de la surrénale. Les androgènes synthétisés par les surrénales semblent jouer un rôle androgène mineur comme l'indique de nombreuses études démontrant que la modification des fonctions androgéniques est plutôt liée à la castration.
- Les androgènes d'origine testiculaire (la testostérone et son dérivé réduit au niveau des tissus périphériques : la dihydrotestostérone ou DHT). Les cellules de Leydig sont les cellules testiculaires jouant un rôle principal dans la synthèse de la testostérone⁸⁰.

Dans le processus de synthèse de stéroïdes, le cholestérol est le plus important substrat engagé. Les réserves de cholestérol sont produites par des globules lipidiques cytoplasmiques qui peuvent s'épuiser durant les périodes de synthèse intense. Ce substrat peut aussi bien être synthétisé *de novo* à partir d'acétate ou encore apporté à la cellule par l'intermédiaire des lipoprotéines plasmatiques (Figure 11)⁸¹.

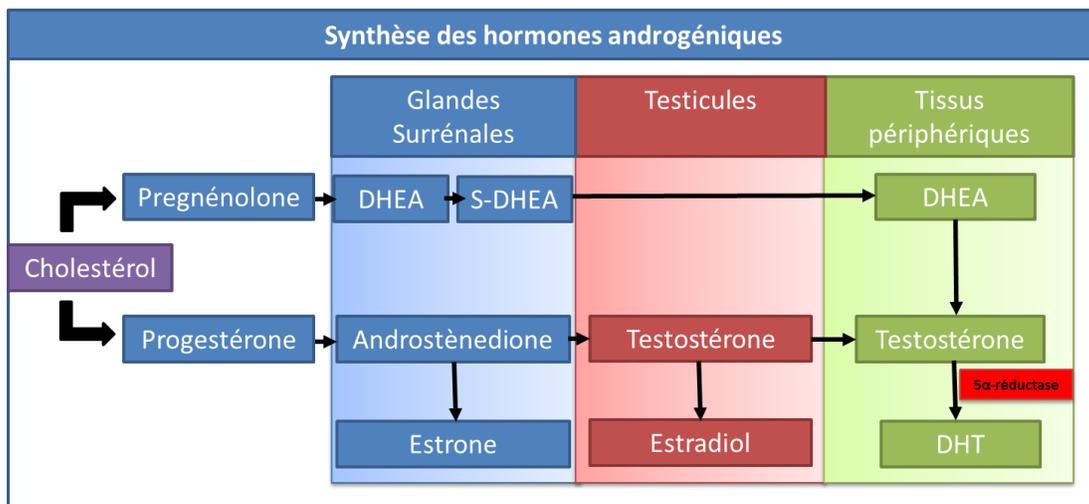


Figure 11. Représentation schématique simplifiée de la voie de synthèse des hormones androgéniques dans les différents tissus. La synthèse des hormones androgéniques part du cholestérol et après plusieurs étapes successives, mène à la formation des différentes hormones tout dépendant du tissu impliqué. Inspirée de Mooradian AD et al. 1987.

3.2 La testostérone et la dihydrotestostérone

Les cellules de Leydig sont les structures testiculaires principalement impliquées dans la synthèse de testostérone. Cette dernière peut passer librement à travers la membrane des cellules de Leydig et se disperser dans les différents compartiments testiculaires pour terminer dans la circulation sanguine. Dans le plasma, la testostérone circule sous trois formes : libre (2 %), liée à des protéines de transport (45 à 75 %) appelées TeBG (testostérone binding-globulin), c.-à-d. globuline liant la testostérone ou globuline liant les hormones sexuelles (SHBG pour sex hormone binding globulin), et liée à l'albumine (30 à 55 %)^{82,83}. Dans certains tissus cibles comme la prostate et la peau, la testostérone est catalysée par l'action de l'enzyme 5 α R en DHT, un androgène qui démontre plus d'affinité pour ses récepteurs que la testostérone⁸⁴. La DHT est une hormone plus puissante que la testostérone. Lors de la liaison de la DHT à ses récepteurs, il se forme un complexe qui active la transcription de certains gènes qui régulent plusieurs organes répondant à leur action⁸⁵.

Concernant les effets physiologiques des androgènes actifs, la DHT et la testostérone possèdent plusieurs effets biologiques : elles sont nécessaires à la détermination du sexe au cours de l'embryogenèse, elles exercent des effets hypertrophiques et hyperplasiques sur les organes sexuels secondaires mâles, ont un effet anabolisant sur les muscles squelettiques, elles participent au développement de l'os, au métabolisme du tissu adipeux ainsi qu'à la croissance pubertaire des poils du visage et du corps chez l'homme. D'ailleurs, la différence majeure entre la testostérone et la DHT apparaît en faible concentration, c'est-à-dire que l'action de la testostérone, principalement sur la prostate, n'est possible qu'à partir d'un certain seuil hormonal en dessous duquel elle n'a pas d'effet remarquable. En contrepartie, même en faibles concentrations, la DHT est capable de stimuler la croissance de la prostate. Le rôle majeur de la 5 α R est donc d'améliorer le signal aux androgènes en convertissant la testostérone en DHT. Elle assure de cette façon les fonctions normales de la prostate même lorsque la concentration en androgènes circulants est faible⁸⁶.

3.2.1 Les récepteurs aux androgènes

Comme décrit précédemment, la testostérone est métabolisée au niveau de la prostate en DHT par l'action de l'enzyme 5 α R. La DHT est responsable de l'activation des récepteurs aux

androgènes, dont un des rôles principaux est la régulation de gènes impliqués dans le métabolisme normale de la prolifération cellulaire prostatique ainsi que les activités fonctionnelles de la prostate⁸⁷. Le récepteur aux androgènes appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires et comporte quatre régions fonctionnelles, un domaine de régulation N terminal, un domaine de liaison à l'ADN, une région contenant un signal de localisation nucléaire et une région C terminale qui se lie au ligand⁸⁸. Le récepteur aux androgènes agit comme un facteur de transcription et il est localisé principalement dans le cytoplasme, où il est inactivé par l'action des protéines heat-shock (HSP70 et HSP90)⁸⁹. Lorsque la dihydrotestostérone se lie à son récepteur, une série de changements conformationnels induit la dissociation des protéines heat-shock du récepteur aux androgènes et par conséquent leur dimérisation, leur phosphorylation et leur translocation vers le noyau de la cellule pour finalement se lier à l'ADN sur sa région de gènes cibles aux éléments de réponse aux androgènes. Des activateurs, comme la protéine ARA70, se lient également au complexe, facilitant son interaction avec le facteur général de transcription (GTA). Par conséquence, une activation des gènes cibles se produit, canalisant des réponses biologiques telles que la croissance, la survie et la production d'antigène prostatique spécifique (Figure 12)⁹⁰.

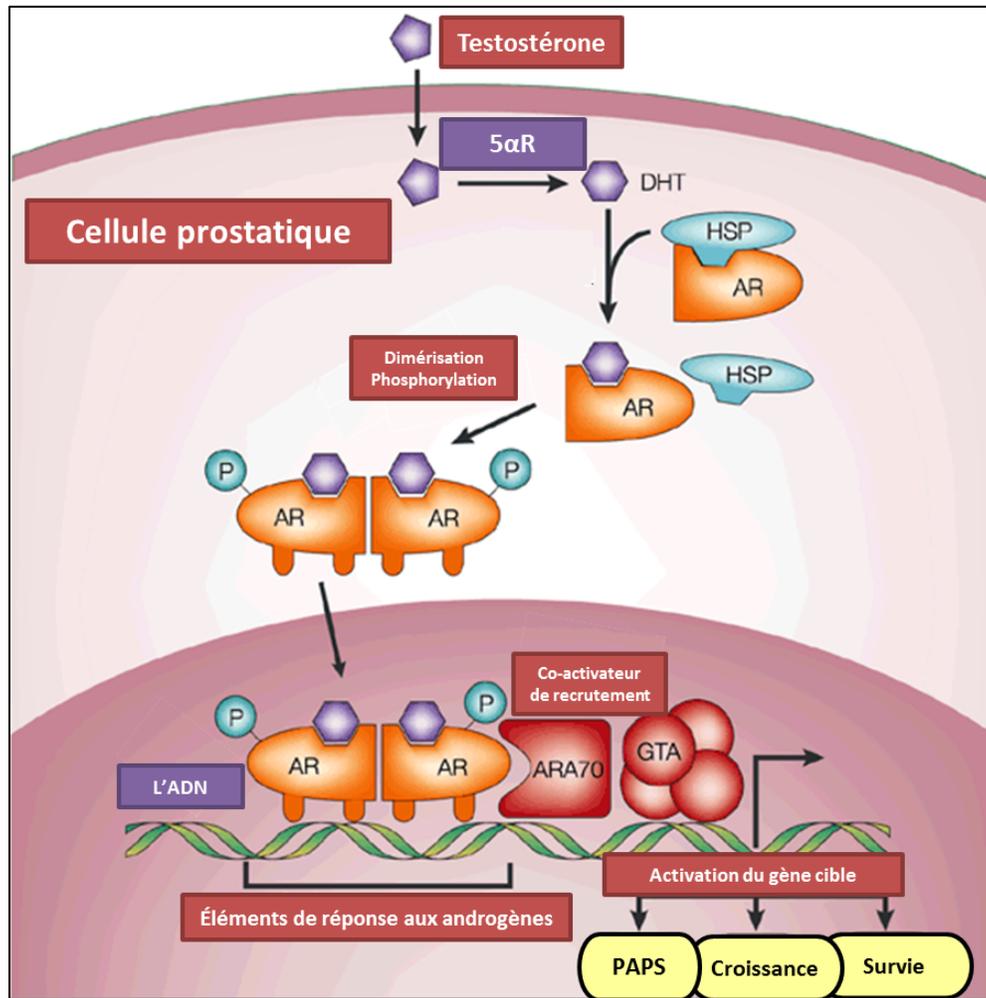


Figure 12. Activation du récepteur aux androgènes par la DHT. La testostérone en circulation libre entre dans les cellules de la prostate pour être convertie en DHT par la 5αR. Elle se lie aux récepteurs aux androgènes (AR) pour permettre l'activation de l'expression des gènes cibles. (HSP: heat-shock protein; GTA : G-Protein Activation Transcription; ARA70: Androgen Recepteur Associated Protein 70). Modifiée de Feldman BJ et al. 2001.

3.3 Les isoenzymes 5α-réductases

3.3.1 Historique

Les enzymes 5αR ont été caractérisées pour la première fois dans les années 1950, dans des échantillons de foie de rat⁹². Par la suite, vers les années 1960, l'action des isoenzymes 5αR

a été démontrée comme stimulant une catalysation irréversible de la testostérone en DHT. Puis, la DHT a été confirmée, lors de recherches de tissus prostatiques, comme l'hormone androgénique la plus puissante. Les recherches se sont poursuivies pour mieux caractériser cette découverte. L'utilisation de testostérone radiomarquée administrée à des souris a permis de démontrer une accumulation de DHT dans les noyaux des cellules prostatiques, liée à des récepteurs androgéniques. Ces données ont indiqué que la transformation de la testostérone en DHT est une étape cruciale dans l'action androgénique de ces hormones et ont attiré l'attention vers les enzymes 5 α R⁹³. Vers les années 1990, deux différentes isoformes de l'enzyme 5 α R ont été identifiées avec l'utilisation des techniques d'expression et clonage. La première isoenzyme isolée des échantillons, provenant de foies de rats, a été nommée 5 α -réductase type 1 (5 α R1) et la seconde isoenzyme, isolée de la prostate humaine a été nommée la 5 α -réductase type 2 (5 α R2)⁹⁴. Récemment, avec le développement des techniques moléculaires et l'analyse de profil d'expression des gènes, une troisième isoenzyme, soit la 5 α -réductase type 3 (5 α R3), a été identifiée dans les cellules cancéreuses de la prostate^{95,96}.

3.3.2 La famille 5 α R

La famille 5 α R est composée de 3 sous-familles avec un total de 5 isoenzymes qui sont à la base des différentes protéines, mais avec une fonction commune :

1. la sous-famille 5 α R type 1 et 2 avec 2 membres : les isoenzymes 5 α R1 et 5 α R2;
2. la 5 α R type 3 avec 1 membre : l'isoenzyme 5 α R3;
3. la sous-famille 5 α R-like avec 2 membres : les enzymes GPSN2 (glycoprotein synaptic 2) et GPSN2L (glycoprotein synaptic – like)⁹⁵.

Pour mieux compiler les données évolutives des isoenzymes 5 α R collectées à partir des différentes espèces d'eucaryotes, l'analyse phylogénétique de la famille 5 α R a été réorganisée et distribuée selon la figure 13.

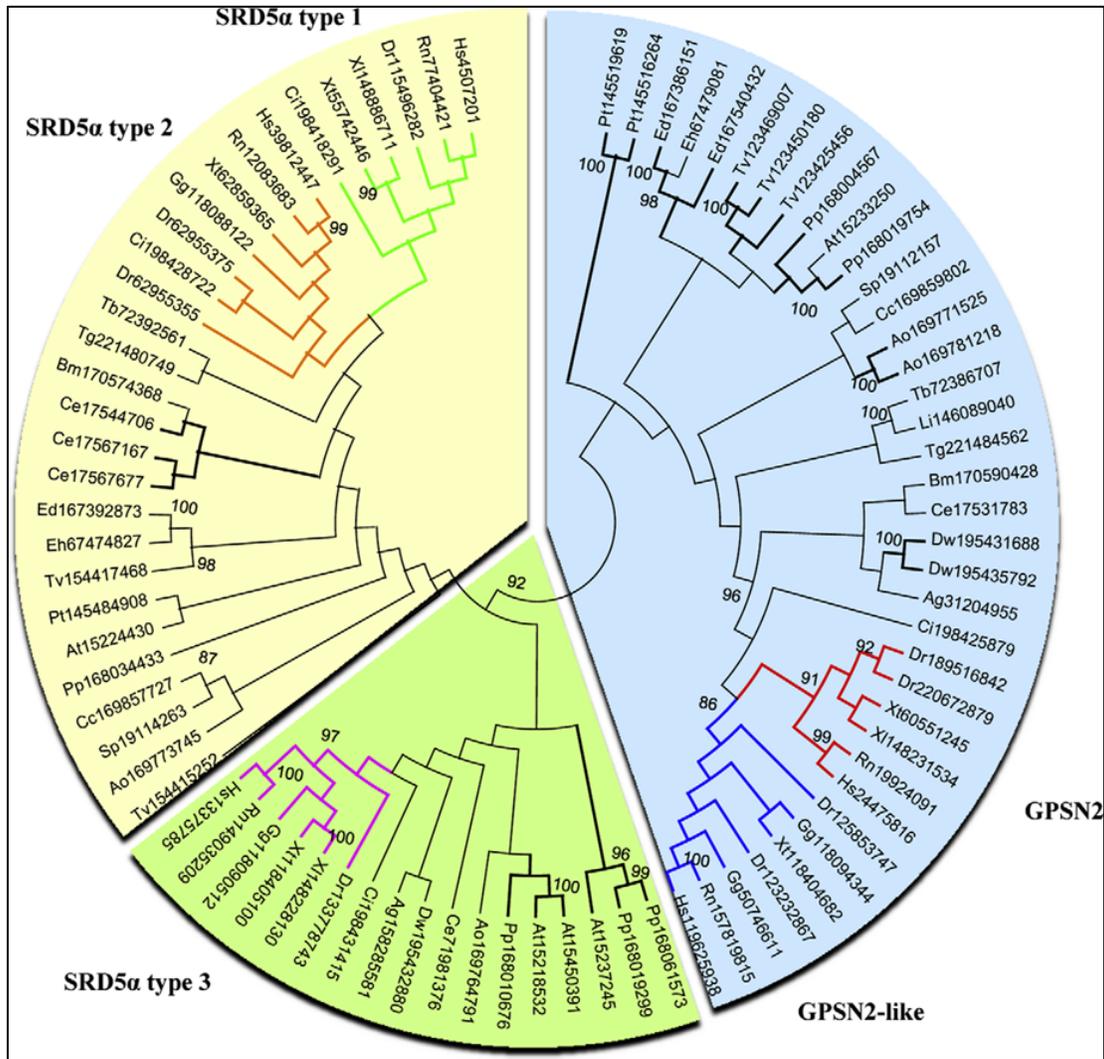


Figure 13. Arbre phylogénétique de la famille 5αR. Les segments colorés (vert, rouge, mauve, bleu) présentent une duplication spécifique au gène et les segments en gras représentent la duplication spécifique à l'espèce. Abréviations : Ag, *Anopheles gambiae*; Ao, *Aspergillus oryzae*; At, *Arabidopsis thaliana*; Bm, *Brugia malayi*; Cc, *Coprinopsis cinerea*; Ce, *Caenorhabditis elegans*; Ci, *Ciona intestinalis*; Dr, *Danio rerio*; Dw, *Drosophila willistoni*; Ed, *Entamoeba dispar*; Eh, *Entamoeba histolytica*; Gg, *Gallus gallus*; Hs, *Homo sapiens*; Li, *Leishmania infantum*; Pp, *Physcomitrella patens* subsp. *Patens*; Pt, *Paramecium tetraurelia*; Rn, *Rattus norvegicus*; Sp, *Schizosaccharomyces pombe*; Tb, *Trypanosoma brucei*; Tg, *Toxoplasma gondii*; Tv, *Trichomonas vaginalis*; Xl, *Xenopus laevis*; Xt, *Xenopus (Silurana) tropicalis* Langlois VS et al. 2010.

L'architecture des gènes SRD5A1, SRD5A2 et SRD5A3 (servant de codes pour les protéines 5 α R1, 5 α R2 et 5 α R3 respectivement) chez l'humain est similaire, avec cinq exons et quatre introns. Cependant, ces gènes sont situés sur différents chromosomes, avec SRD5A1 sur le chromosome 5, SRD5A2 sur le chromosome 5 et SRD5A3 sur le chromosome 2⁹⁷. Chez le chien, ces gènes sont aussi situés sur différents chromosomes, avec SRD5A1 sur le chromosome 34, SRD5A2 sur le chromosome 17 et SRD5A3 sur le chromosome 13^{98,99,Annexe2}.

3.3.3 Fonctions et régulation

Les 5 α R participent principalement dans trois voies de signalisation métaboliques : la production des androgènes, la biosynthèse d'acides biliaires et le métabolisme des œstrogènes. Les 5 α R ont comme substrats principaux la testostérone, le cortisol, l'aldostérone et la déoxycorticostérone. Toutefois, le rôle physiologique de l'implication de ces isoenzymes sur la réduction enzymatique de ces stéroïdes (sauf la testostérone) demeure encore mal compris⁹⁵.

Une autre fonction intéressante de ces isoenzymes est leur rôle de marqueur de malignité potentielle dans certains cancers. Des études ont démontré que l'expression de 5 α R1 augmente et que celle de 5 α R2 diminue lors de carcinomes prostatiques en comparaison avec l'hyperplasie prostatique bénigne, des tumeurs bénignes ou autres condition non cancéreuses chez l'homme. Également, l'expression de la 5 α R3 est augmentée dans le cancer de la prostate hormone-réfractaire (aussi appelé cancer de la prostate androgène-indépendant)⁹⁶. De plus, son expression est augmentée dans les adénocarcinomes de poumon, les carcinomes du sein, l'adénocarcinome de la glande thyroïde et lors de séminomes testiculaires par rapport à des tissus bénins⁹⁵.

L'enzyme 5 α R agit par réduction en utilisant le nicotinamide adénine dinucléotide (NADPH), une enzyme importante dans la régulation de l'action des stéroïdes. Cette enzyme sert de récepteur ou donneur d'hydrogène que catalyse la synthèse et la dégradation des hormones stéroïdiennes actives. Les isoenzymes 5 α R n'utilisent que seulement le NADPH comme cofacteur et plusieurs études démontrent que le NADPH stabilise l'activité enzymatique dans plusieurs tissus (Figure 14)⁹⁴.

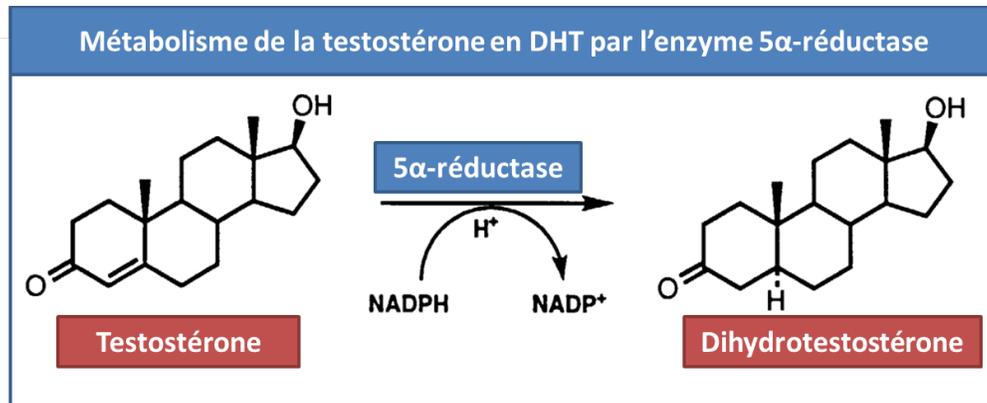


Figure 14. Représentation du métabolisme de la testostérone en DHT par l'enzyme 5 α R en utilisant le NADPH comme cofacteur. Modifiée de Aggarwal S et al. 2010.

Plusieurs études biochimiques et physiologiques ont décrit le contrôle hormonal, la dépendance vis-à-vis des lipides, ainsi que la caractérisation cinétique de l'activité enzymatique des 5 α R. Après la naissance, l'activité enzymatique varie beaucoup en fonction de l'âge dans des tissus comme l'hypophyse, le testicule, la prostate et l'épididyme. La régulation de l'activité enzymatique des 5 α R dépend principalement du pH et des tissus où ces enzymes sont situées. Le pH est important pour déterminer le niveau de liaison de l'isoenzyme à son substrat et la vitesse de la réaction enzymatique. Le pH optimal pour la 5 α R1 se situe entre 6,0 et 8,5, tandis que celui du 5 α R2 est entre 5 et 5,5 (pH acide). Cependant, il existe des évidences suggérant qu'à l'intérieur des cellules humaines, l'isoenzyme 5 α R2 fonctionne de manière optimale à un pH neutre (6,0-7,0). Dans certaines conditions, la 5 α R2 a une activité 5 α -réductrice supérieure à la 5 α R1 et ces variations d'activité peuvent être fortement reliées aux variations de pH^{94, 100, 101}. Étant donné que l'isoenzyme 5 α R3 a été découverte récemment, il existe très peu de données concernant son activité.

Au niveau de la régulation de l'expression de l'enzyme 5 α R, celle-ci est très élevée dans certains tissus androgénodépendants, comme l'épididyme et la prostate mais est à peine détectable dans d'autres tissus, tels que les muscles. Cependant, bien que la testostérone et la DHT soient normalement des régulateurs positifs des niveaux d'ARNm des 5 α R, les androgènes peuvent affecter de différentes manières l'expression des 5 α R dans différents tissus et types de cellules¹⁰².

FK et al. 1998; Ihle C et al. 1999; Yamana K et al. 2010; Godoy A et al. 2011; Chavez B et al. 2015; Span PN et al. 1998; Annexe 2.

3.4 Les 5 α R, les androgènes et la peau

Chez l'humain, il est bien connu que la peau est l'un des organes cibles des hormones androgéniques. La peau et ses annexes, comme les follicules pileux et les glandes sébacées, sont considérés comme des tissus stéroïdogéniques impliqués dans le développement de conditions associées à l'hyperandrogénie telles que la séborrhée, l'acné et l'alopécie androgénique¹¹³.

Les hormones ont une grande influence sur le système tégumentaire. Des changements cutanés majeurs sont notés lors des différentes étapes de maturation sexuelle, soit au niveau fœtal, périnatal et pubertaire. De plus, la peau demeure, chez différentes espèces, un organe où l'on retrouve plusieurs manifestations pathologiques liées aux androgènes.

Les follicules pileux humains sont sensibles à l'action androgénique des hormones produites par l'action de l'enzyme 5 α R et aussi par l'activation des récepteurs aux androgènes localisés principalement dans la papille dermique. Avec l'âge, les androgènes stimulent de nombreux follicules pileux à modifier leur couleur et leur taille par leur action directe sur la folliculogénèse. De plus, les androgènes entraînent des changements de transcription des gènes dans les cellules de la papille dermique qui régulent directement la croissance et le cycle des poils^{114,115}.

Chez les humains, les études de distribution tissulaire des 5 α R démontrent une démarcation assez variée. Les tissus du système reproducteur expriment préférentiellement la 5 α R2 tandis que les autres tissus expriment préférentiellement la 5 α R1¹⁰⁶. Dans la peau, l'isoenzyme prédominante est la 5 α R1. Cependant, le rôle physiologique des isoenzymes de la 5 α R n'est pas bien compris et leur distribution dans différentes régions cutanées varie d'une étude à l'autre. Une expression prédominante de l'enzyme 5 α R1 est notée dans les glandes sébacées et sudoripares, l'épiderme, les gaines épithéliales interne et externe, et dans les cellules de la papille dermique des follicules pileux. La 5 α R2 est également exprimée dans ces régions anatomiques mais à un très faible niveau^{103, 116, 117}. À la lumière de ces données, la 5 α R1 semble avoir une concentration plus élevée dans la peau humaine par rapport à la 5 α R2, suggérant que cette isoenzyme jouerait un rôle important dans le métabolisme androgénique des follicules

pileux. Une seule étude démontre la présence de l'isoenzyme 5 α R3 dans la peau humaine. Une analyse d'expression dans une seule biopsie cutanée a démontré un niveau élevé de cette isoenzyme dans le *stratum basale* et le *stratum spinosum*¹¹⁰.

Concernant l'espèce canine, nous avons jusqu'ici très peu d'information sur la présence et l'action des isoenzymes 5 α R dans la peau. Récemment, nous avons démontré le niveau d'expression d'ARN des isoenzymes 5 α R1 et 5 α R3 dans la peau de beagles en santé et l'absence d'expression de la 5 α R2 en utilisant la technique de PCR^{98,Annexe 2}. De plus, la présence de récepteurs d'androgènes dans la peau et les follicules pileux des chiens a été bien documentée par l'utilisation de la technique d'immunohistochimie. Des études immunohistochimiques ont démontré la présence de récepteurs aux androgènes dans les kératinocytes de l'épiderme inter-folliculaire, les glandes sébacées, les muscles érecteurs du poil, les vaisseaux sanguins, les nerfs et les fibroblastes. Ces mêmes récepteurs ont aussi été retrouvés dans les follicules pileux, la gaine épithéliale externe, la gaine conjonctive et la papille dermique¹¹⁸.

3.5 Les 5 α R, les androgènes et la prostate

Dans la prostate humaine normale, les niveaux d'expression d'ARNm de l'isoenzyme 5 α R2 sont plus abondants que celui de la 5 α R1, tandis que chez le chien, le niveau d'expression de l'isoenzyme 5 α R1 est plus marqué que celui de la 5 α R2¹⁰⁶. De plus, l'activité enzymatique de ces deux isoenzymes dans la prostate canine surpasse tous les autres tissus testés, même si le niveau d'expression de ces deux isoenzymes demeure assez bas dans la prostate en comparaison avec des tissus comme le foie et les testicules¹¹². Plus précisément, les isoenzymes 5 α R1 et 5 α R2 sont présentes au niveau des cellules épithéliales (sécrétoires et basales) de la prostate tandis que 5 α R2 est l'enzyme prédominante dans les cellules stromales^{94,106}. Concernant l'isoenzyme 5 α R3, nous n'avons à l'heure actuelle que de l'information concernant la présence d'ARNm pour cette isoenzyme dans la prostate normale canine. Par contre, son activité enzymatique dans cet organe demeure inconnue^{98,Annexe 2}. Chez l'homme, dans les tissus prostatiques atteints d'hyperplasie prostatique bénigne, l'expression de l'isoenzyme 5 α R3 est limitée aux cellules basales¹¹⁰.

4 Les désordres androgéniques humaines et canines

Chez l'homme, la DHT joue un rôle crucial dans la pathogenèse et la progression de plusieurs désordres telles que l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP), le cancer de la prostate, l'alopecie androgénique humaine et l'acné¹¹⁹. Chez le chien, les désordres hormonaux reliés aux androgènes dans différents organes sont encore très peu explorés. Les informations trouvées dans la littérature sont plus nombreuses concernant principalement l'HBP où la pathophysiologie est similaire chez l'homme et le chien.

4.1 Les désordres prostatiques

La prostate est une glande connue pour le développement de plusieurs conditions pathologiques. Chez l'homme et chez le chien, la prostate est touchée par deux affections principales reliées aux hormones androgéniques : l'HBP et le cancer de la prostate.

Le développement des désordres prostatiques bénins ou malins chez l'homme et le chien est principalement associé aux androgènes. Curieusement, la prostate est très sensible à la transformation oncogène avec une fréquence nettement supérieure à celle des autres tissus sexuels masculins tels que les testicules. En fait, selon les statistiques nord-américaines, environ un homme sur sept aura un diagnostic de cancer de la prostate au cours de sa vie¹²⁰.

Les désordres prostatiques canins ont une prévalence d'environ 2,5 % de la population canine mâle générale (chiens castrés et non castrés) et son incidence est directement corrélé à l'âge. En effet, environ 8 % des chiens de plus de 10 ans ont une affection prostatique cliniquement active, tandis que seulement 0,6 % des chiens de moins de 4 ans sont affectés. L'âge moyen au moment du diagnostic est d'environ 8,9 ans¹²¹.

4.1.1 L'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP)

L'HBP est un désordre commun au chien et à l'homme. Chez le chien, elle se caractérise à la fois par une hyperplasie (augmentation du nombre de cellules) et également une hypertrophie (augmentation de la taille des cellules) cellulaires^{122, 123}.

4.1.1.1 Étiopathogénie

L'HBP affecte les chiens mâles entiers, principalement à un âge avancé. Même si ce processus est androgénodépendant, l'expression des gènes impliqués dans la régulation de l'action androgénique, comme les récepteurs aux androgènes et les 5 α R, n'est pas complètement élucidée chez cette espèce¹²⁴.

L'étiologie exacte de l'HBP canine n'est pas complètement connue. Elle semble être liée à une dépendance hormonale à la fois des œstrogènes et des androgènes. Tout comme l'HBP chez l'homme, la DHT semble être une hormone clé considérant son augmentation dans les tissus prostatiques affectés^{125,126}. Quelques hypothèses ont été émises : une augmentation de l'activité des enzymes 5 α R, une diminution de l'activité de la 3 α -cétoréductase (l'enzyme responsable du catabolisme de la DHT), une augmentation des récepteurs cellulaires aux androgènes sous l'action des œstrogènes circulants, qui par le fait même augmente la quantité des récepteurs intracellulaires sensibles aux androgènes et entraînant l'augmentation de l'activité de la DHT sur le tissu prostatique¹²⁵.

Chez l'homme, l'HBP se manifeste dans cellules épithéliales et stromales de la zone de transition de la prostate. Ces cellules sont régulées principalement par les hormones androgéniques, notamment la DHT¹²⁴. L'importance de cette hormone dans l'HBP a été démontrée par son augmentation significative dans la prostate hyperplasique comparativement à des tissus prostatiques de taille normale¹²⁷. Concernant la présence des isoenzymes 5 α R dans les tissus prostatiques atteints d'HBP, les 5 α R1 et 5 α R2 ont été trouvées dans la région épithéliale et stromale chez l'humain, bien que la 5 α R2 soit l'isoenzyme prédominante dans les cellules stromales. Les deux isoenzymes sont surexprimées dans les tissus prostatiques atteints par d'HBP comparé à des tissus normaux¹⁰⁸. La 5 α R3 est seulement exprimée dans les cellules basales⁹⁷. Chez le chien, les trois isoenzymes 5 α R sont présentes dans la prostate normale, mais aucune information n'est disponible sur leur localisation exacte dans la prostate normale ou atteints d'HBP^{98, 112, Annexe 2}.

Cliniquement, les chiens atteints d'HBP n'expriment pas systématiquement des signes cliniques, donc un chien atteint d'HBP n'est pas nécessairement un chien malade. Chez les chiens qui développent des signes cliniques reliées à l'HBP, les saignements urétraux/prépuceux et du ténesme sont les symptômes les plus rapportés¹²⁸. Cette condition est

observée à partir de l'âge de 2 ans et sa prévalence augmente de façon linéaire avec l'âge. Ainsi, de 60 à 80 % des chiens de 6 ans ont un certain degré d'HBP et 95 % des chiens de 9 ans manifestent ce désordre au niveau histologique, mais pas nécessairement clinique¹²⁹.

4.1.1.2 Diagnostic

Plusieurs modalités diagnostiques sont disponibles pour mettre en évidence la maladie. Autant chez le chien que chez l'homme, le toucher rectal conjointement avec la palpation abdominale est un examen de routine permettant d'évaluer la forme, la taille et la consistance de la prostate. Chez le chien, une prostate normale devrait être en position pelvienne, symétrique, avoir des contours lisses et ne pas être douloureuse¹²³. Si des changements majeurs sont notés, combinés ou non à des signes cliniques compatibles avec une pathologie prostatique, des examens supplémentaires peuvent être requis.

Une analyse urinaire est un outil important pour exclure une infection urinaire qui peut simuler les signes cliniques d'une affection prostatique. En médecine vétérinaire, étant donné que la palpation transrectale est une méthode imprécise pour évaluer la prostate et considérant la grande diversité de races, les examens d'imagerie, notamment l'échographie, sont les plus performants pour évaluer la taille de la prostate. Même si l'examen échographique ne permet pas d'établir un diagnostic précis et certain, il permet de formuler une liste plus ciblée de diagnostics différentiels¹³⁰. L'aspiration à l'aiguille fine guidée par échographie par voie percutanée, périnéale, périrectale ou transabdominale est un examen peu coûteux comportant peu de complications potentielles. De plus, les biopsies prostatiques peuvent aussi aider au diagnostic définitif. Les prélèvements peuvent être effectués par voie percutanée ou par laparotomie¹³¹.

4.1.1.3 Traitement

Chez l'homme, plusieurs modalités thérapeutiques sont disponibles pour traiter cette affection. Les inhibiteurs de la 5 α R, tels que le dutastéride et le finastéride, constituent des traitements de première ligne appropriés et efficaces pour les patients présentant des troubles urinaires associés à une HBP confirmée. Plusieurs études ont démontré qu'en plus d'atténuer les symptômes, ces agents peuvent modifier l'évolution naturelle de l'HBP grâce à une réduction du risque de rétention urinaire et éviter une intervention chirurgicale¹³².

Chez le chien, la castration demeure le traitement de choix pour les mâles non stérilisés, mais le traitement aux inhibiteurs de 5 α R (le finastéride et le dutastéride) peut être utilisé hors homologation¹³³.

4.1.2 Cancer de la prostate ou carcinome prostatique

Parmi les processus néoplasiques prostatiques, les adénocarcinomes sont les tumeurs les plus fréquemment rencontrées chez l'espèce canine, suivi par les carcinomes à cellules transitionnelles, les carcinomes indifférenciés et plus rarement, les sarcomes (léiomyosarcomes, hémangiosarcomes)¹²³. Les chiens sont une des seules espèces animales qui développe spontanément des tumeurs prostatiques. Ainsi, ils servent comme modèle pour les cancers de la prostate chez les humains^{134, 135}.

4.1.2.1 Étiopathogénie

Contrairement à l'HBP, le carcinome prostatique est une transformation maligne qui implique les cellules basales sans avoir une composante d'androgénodépendance. Malgré que le carcinome de la prostate soit le cancer prostatique le plus souvent diagnostiqué chez les chiens, son incidence réelle n'est pas connue¹³⁶. Basé sur deux études, les tumeurs prostatiques ont une prévalence d'environ 13 % des affections prostatiques en général¹³⁷⁻¹³⁹. Chez l'homme, le cancer de la prostate est la forme de cancer la plus répandue au Canada et représente la troisième cause de décès par cancer chez les Canadiens. En 2017, selon la Société canadienne du cancer, 21 300 Canadiens ont reçu un diagnostic de cancer de la prostate, ce qui représente 21 % de tous les nouveaux cas de cancer chez l'homme et de ce nombre, 4 100 hommes sont décédés des suites de la maladie. En moyenne, quotidiennement, 58 Canadiens reçoivent un diagnostic de cancer de la prostate et 11 Canadiens en meurent. De plus, un homme sur sept risque d'avoir un cancer de la prostate au cours de sa vie¹⁴⁰. Ces chiffres sont alarmants et la recherche pour trouver des moyens efficaces de prévention, de dépistage et de traitement pour cette affection sont abondamment explorés au sein de la communauté des chercheurs de la santé.

Concernant l'âge de l'apparition de la maladie, le cancer de prostate est une maladie qui affecte les hommes et les chiens gériatriques. Lorsque l'âge chronologique des chiens est transformé en âge physiologique en équivalence avec l'âge humain, l'âge moyen du diagnostic

de cancer de la prostate chez les hommes et les chiens est similaire et tourne autour de 10 ans chez le chien et de 70 ans chez l'homme¹⁴¹.

Concernant l'étiologie des processus néoplasiques affectant la prostate chez l'homme, les androgènes seraient un facteur primordial dans l'apparition des carcinomes prostatiques. Chez le chien, des recherches démontrent que les animaux castrés et non castrés sont touchés par cette condition. Cette donnée indique que la testostérone circulant n'exercerait pas d'influence directe sur le développement des carcinomes prostatiques canins. Par contre, une autre hypothèse suggère que les androgènes d'origine surrénalienne pourraient avoir un rôle dans cette pathologie chez les chiens castrés¹⁴¹.

Cliniquement, le carcinome prostatique canin présente un comportement biologique agressif. Des métastases sont présentes au moment du diagnostic dans 80 % des cas. Les noeuds lymphatiques régionaux, les poumons et les os sont les sites les plus fréquemment touchés par les métastases¹³⁶.

4.1.2.2 Diagnostic

Les modalités diagnostiques pour le cancer de la prostate sont semblables à celles qui sont utilisées pour le diagnostic de l'HBP. Le diagnostic définitif se fait par cytologie ou biopsie avec analyse histopathologique des tissus anormaux.

4.1.2.3 Traitement

Chez l'homme, le cancer de la prostate se développe principalement dans la région glandulaire. Ce site est constitué de cellules fortement androgénodépendants, par conséquent, la thérapie antiandrogénique est une modalité efficace de traitement. Les inhibiteurs des isoenzymes 5 α R ont récemment été approuvés pour le traitement préventif et thérapeutique du cancer prostatique. Une diminution du niveau d'expression de la 5 α R2 et une augmentation de la 5 α R1 ont été observées en comparant le carcinome prostatique et l'HBP. Un certain nombre d'essais cliniques ont été réalisés pour explorer les effets des inhibiteurs de 5 α R avec des réponses favorables sur la prévention et/ou le ralentissement de l'apparition et de la progression du cancer, principalement avec le finastéride et le dutastéride. Étant donné que le finastéride est un inhibiteur sélectif de la 5 α R2 et que le dutastéride est un double inhibiteur en agissant sur les deux isoformes de la 5 α R, ce dernier semble être le traitement le plus efficace pour prévenir et

traiter le cancer de la prostate⁹⁷. Concernant la 5 α R3, elle est surexprimée dans les carcinomes prostatiques chez l'homme. En contrepartie, cette enzyme semble être faiblement inhibée par le dutastéride *in vitro* et par conséquent, elle pourrait continuer à promouvoir la production de DHT *in vivo*¹⁴². À l'heure actuelle, aucun inhibiteur spécifique pour la 5 α R3 n'est disponible comme agent thérapeutique.

Aucune donnée probante n'est disponible concernant la réponse du carcinome prostatique canin à la thérapie antiandrogène (castration ou inhibiteurs des 5 α R). La prostatectomie, même si elle est rarement curative, est une technique utilisée dans les cas non avancés, mais elle est souvent compliquée par l'incontinence urinaire. La chimiothérapie et la radiothérapie peuvent être palliatives et fournir un soulagement à court terme, principalement dans les cas d'obstruction, mais malheureusement, à l'heure actuelle, peu de chiens atteints d'un carcinome de la prostate sont traités avec une intention curative étant donné que la grande majorité de ces animaux ont des métastases au moment du diagnostic¹³⁶.

4.2 Les maladies cutanées

4.2.1 L'alopécie androgénique humaine

L'alopécie androgénique (AA) est le terme utilisé pour décrire une affection cutanée très fréquente dans laquelle la DHT est impliquée. L'AA est caractérisée par une perte progressive des cheveux et atteint les hommes, les femmes et aussi certains primates présentant une susceptibilité génétique¹¹⁵.

4.2.1.1 Étiopathogénie

Les prérequis pour le développement de l'AA sont principalement une prédisposition génétique et une quantité d'androgènes circulantes suffisantes pour activer les récepteurs aux androgènes intracellulaires localisées dans différentes régions du follicule pileux, mais principalement les cellules de la papille dermique¹⁴³. Malgré que presque 100 % de la population blanche possède la prédisposition autosomique héréditaire pour développer l'AA, seulement une partie de la population développe une perte de cheveux significative en raison de l'expression variable du gène en cause. En général, environ 73 % des hommes et 57 % des femmes de plus de 80 ans sont affectés par l'AA¹⁴⁴. La prévalence de l'AA est aussi reliée aux

origines raciales de chaque population. Chez les hommes caucasiens, la prévalence est d'environ 30 % pour les moins de 30 ans, de 50 % pour les 30 à 50 ans et de 50 % chez les hommes de plus de 60 ans¹⁴³. De plus, les hommes caucasiens sont quatre fois plus susceptibles de développer une calvitie que les hommes noirs, ce qui indique un composant racial génétique bien établi dans cette condition. Concernant la pathogenèse de l'AA, quatre facteurs sont importants à souligner et semblent être inter reliés :

- 1- **La miniaturisation progressive des follicules pileux :** la miniaturisation folliculaire qu'entraînent les changements du cycle de croissance des cheveux est centrée sur la papille dermique. Les cellules qui composent la papille dermique sont essentielles pour le maintien de la croissance des cheveux et constituent une structure ciblée par les androgènes que promeuvent les désordres du cycle de croissance des cheveux et qui sont responsables de l'apparition de cette maladie¹⁴⁵. La diminution du nombre de cellules de la papille dermique qui accompagne la miniaturisation des follicules pileux dans l'AA est en grande partie inexplicée, mais peut découler de l'apoptose cellulaire¹⁴⁶.

- 2- **L'altération de la dynamique du cycle pileux avec une augmentation des cheveux en phase télogène et une diminution des cheveux en phase anagène :** dans le cuir chevelu normal, la durée moyenne de la phase anagène est d'environ 3 ans, tandis que la phase télogène est de 3 mois. De plus, le ratio habituel des cheveux en phase anagène : télogène est d'environ 12 : 1. Chez un individu atteint par l'AA, à chaque changement de cycle, la durée de la phase anagène diminue tandis que la phase télogène reste la même ou se prolonge. La conséquence de ce raccourcissement de la phase anagène est une période de croissance nettement diminuée avec une durée trop courte pour que les nouveaux cheveux atteignent la surface de la peau. De plus, les cheveux en phase télogène sont plus fragiles et tombent plus facilement en comparaison avec les poils de la phase anagène, ce qui entraîne une augmentation de la chute de cheveux et finalement, l'alopecie¹⁴⁷.

- 3- **Les effets locaux des androgènes et leur implication dans la condition :** paradoxalement, l'influence des androgènes sur la croissance des poils est spécifique selon la région. Dans la région pubienne, la région axillaire, la barbe et la poitrine, les follicules pileux réagissent à la présence d'androgènes et se développent en nombre et taille. Par contre, les mêmes androgènes qui font pousser des cheveux à ces endroits sont aussi responsables de la miniaturisation des cheveux dans l'AA. À l'heure actuelle, il n'y a pas d'explication claire pour cette discordance¹⁴⁸.
- 4- **Prédisposition génétique :** la composante génétique impliquée dans l'AA est complexe. D'importantes preuves portent à croire que cette condition suit un modèle polygénique d'héritabilité avec une implication sur la production des androgènes, la conversion de testostérone en DHT et l'activité du récepteur aux androgènes¹⁴⁹.

4.2.1.2 Traitement

En général, le traitement pour l'AA est divisé en 2 catégories : médical ou chirurgical. Le traitement médical repose principalement sur l'utilisation de deux molécules homologuées pour cette condition : le finastéride et le minoxidil.

Le finastéride est une molécule qui bloque la transformation de la testostérone en DHT par une action directe sur l'isoenzyme 5 α R2. Les études démontrent une amélioration d'environ 30 % des patients avec l'utilisation de finastéride à long terme. Les effets secondaires, principalement d'ordre sexuel (baisse de la libido, troubles de l'érection, troubles de l'éjaculation), ont été observés dans des études cliniques. Par contre, ces effets sont considérés comme transitoires ou réversibles à l'arrêt du traitement¹⁵⁰.

Le minoxidil est un vasodilatateur développé originalement pour le traitement de l'hypertension. L'effet secondaire noté avec ce traitement est l'hypertrichose, retrouvée chez 24 à 100 % des patients traités avec cette drogue¹⁵¹. Le mécanisme d'action proposé pour expliquer la croissance des cheveux est probablement lié à l'augmentation du flux sanguin cutané qui stimule les facteurs de croissance vasculaires localisés dans la papille dermique¹⁵². Le minoxidil est le premier et, jusqu'à présent, le seul produit topique approuvé pour le traitement de l'AA¹⁵³.

Actuellement, une nouvelle molécule nommée WAY-316606 est sous investigation comme traitement alternatif contre la calvitie. Pour faire une mise en contexte, la cyclosporine

est un traitement utilisé depuis plusieurs années comme agent immunomodulateur pour plusieurs conditions, principalement pour prévenir le rejet d'organes transplantés et réduire les symptômes de certaines maladies auto-immunes ou allergiques. Ce médicament réduit l'activité d'une protéine appelée *secreted frizzled-related protein 1* (SFRP1), un régulateur de croissance qui inhibe le développement et la croissance de nombreux tissus, y compris les follicules pileux. Son inhibition cause l'hirsutisme, un des effets secondaires constatés lors de la prise de cyclosporine. Toutefois, en raison de ses effets secondaires plus néfastes que l'hirsutisme (e.g., immunosuppression), la cyclosporine n'a jamais été considérée comme un traitement contre la calvitie. Des efforts ont été mis sur la recherche d'une autre molécule pour bloquer le fonctionnement de la protéine SFRP1. De nouvelles recherches ont permis la découverte d'une molécule développée à l'origine pour traiter l'ostéoporose, appelée WAY-316606, qui ciblait l'action de la protéine SFRP1 (Figure 15). Cette protéine semble encore plus efficace que la cyclosporine pour inhiber la SFRP1 et surtout, sans ses effets secondaires. Cependant, un essai clinique reste indispensable à la confirmation de l'efficacité du traitement et de son innocuité¹⁵⁴.

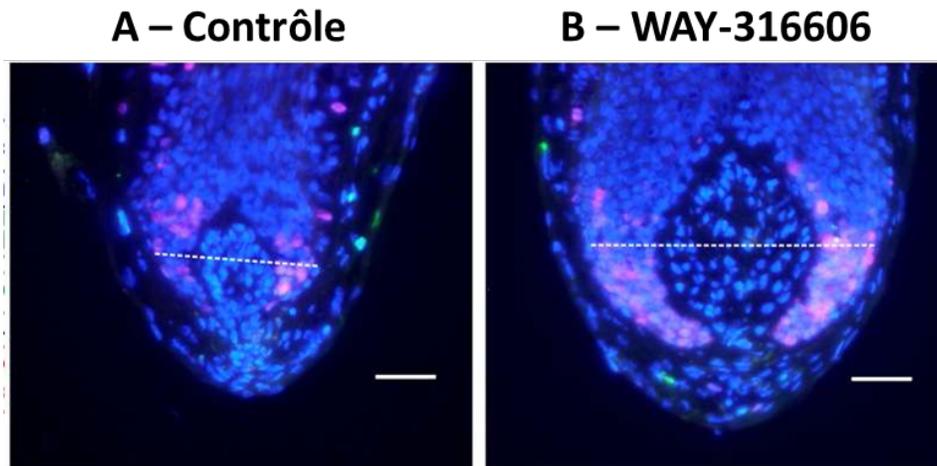


Figure 15. Bulbe de follicule pileux humain avant et après traitement. La figure A - Contrôle démontre un follicule témoin avec la taille réduite de la papille dermique. La figure B -WAY-316606 démontre le même follicule 6 jours après le traitement avec WAY-316606. Une augmentation de la taille de la papille dermique est notée. Il s'agit d'un effet secondaire à la prolifération des kératinocytes de la matrice du poil Hawkshaw NJ et al. 2018.

Bref, sans aucun traitement, l'AA est une condition progressive et les cheveux disparaissent à un rythme d'environ 5 % par année. Cependant, pour la grande majorité des personnes affectées, le choix de ne pas traiter la condition demeure encore une option valable.

4.2.2 L'alopécie X (*hair cycle arrest*)

L'alopécie X est une alopecie diffuse, non prurigineuse et non inflammatoire du chien adulte, qui suscite encore beaucoup de controverses. Bien que son étiopathogénie soit inconnue, un blocage du cycle pileaire secondaire à des anomalies portant sur les récepteurs hormonaux folliculaires est soupçonné.

Le nom «alopécie X» reflète le caractère obscur quant à l'étiologie de cette condition. Cette appellation est utilisée depuis une quinzaine d'années pour décrire une alopecie du chien adulte qui a été rapportée sous une grande diversité de noms dans la littérature : pseudo-Cushing; déficit en hormone de croissance (hyposomatotropisme) du chien adulte; alopecie répondant à l'hormone de croissance; alopecie répondant à la castration; alopecie associée à un déséquilibre des hormones sexuelles d'origine surrénalienne; hyperplasie surrénalienne congénitale like-syndrome; alopecie post-tonte; dysplasie folliculaire du husky sibérien et autres races nordiques; dysfonction folliculaires des races à pelage pelucheux, et plus récemment, alopecie associée à un arrêt du cycle pileaire (*hair cycle arrest*). Cette maladie est bien connue des éleveurs canins sous les homonymes de *black skin disease* du poméranien et de *coat funk* du malamute d'Alaska. La diversité des noms est purement descriptive et basée sur les différences de résultats de l'évaluation endocrinienne et/ou des réponses cliniques aux différentes modalités thérapeutiques¹⁵⁵.

L'alopécie X est plus fréquemment observée chez les chiens adultes principalement entre l'âge de 1 et 3 ans. Les races nordiques à pelage pelucheux comme les poméranien, chow-chow, keeshonds, malamutes d'Alaska et husky sibériens ainsi que les caniches nains sont particulièrement touchées par cette condition, évoquant une possible implication génétique. Les mâles et les femelles intacts ou stérilisés peuvent être atteints^{156, 157}.

Les premiers signes cliniques consistent en une perte de poils primaires dans les zones de friction (autour du cou, la face postérieure des cuisses et la base de la queue). Graduellement, tous les poils sont perdus dans ces régions et, éventuellement, une perte des poils primaires au

tronc peut être observée (Figure 16). Avec le temps, l'hyperpigmentation de la peau peut s'installer (Figure 17 et 18)¹⁵⁵. Mise à part la perte des poils, ces chiens sont généralement en bonne santé et ne présentent aucune autre anomalie clinique.

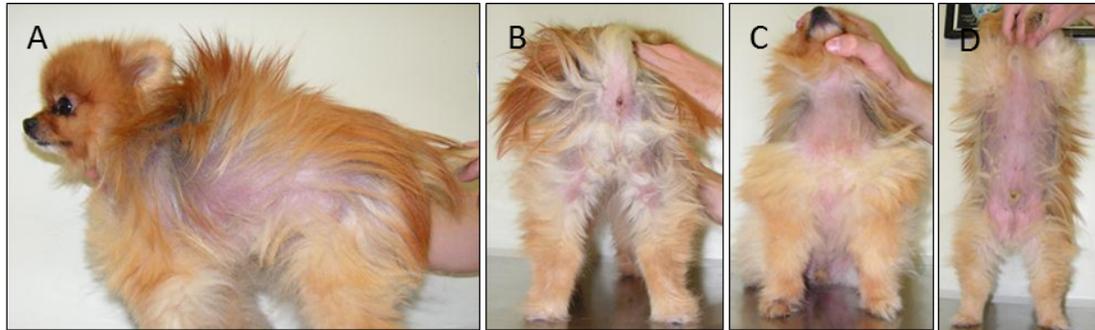


Figure 16. Cas d'alopecie X diagnostiqué chez un chien poméranien présentant une alopecie à plusieurs endroits sans hyperpigmentation marquée de la peau. Photos : gracieuseté de la D^{re} Manon Paradis.



Figure 17. Cas d'alopecie X diagnostiqué chez un husky sibérien avec hyperpigmentation importante de la peau. Les photos A et B démontrent une hypotrichose généralisée et une hyperpigmentation de la peau. La dernière photo (C) démontre une repousse de poils aux sites d'anciennes lésions de folliculite bactérienne (flèches rouges). Photos : gracieuseté du Département de dermatologie de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.



Figure 18. Cas d’alopécie X extensive diagnostiqué chez un chien montagne des Pyrénées croisé. La photo A démontre une hyperpigmentation de la peau et des lésions de folliculite bactérienne. La photo B démontre le même chien quelques semaines plus tard, avec des touffes de poils (les flèches rouges) observées sur le tronc apparues aux sites d’anciennes lésions de pyodermite. Photos : gracieuseté de la D^{re} Manon Paradis.

4.2.2.1 Étiopathogénie

Même si de nombreuses hypothèses ont été explorées, l’étiopathogénie précise de cette affection n’est toujours pas élucidée. L’alopécie X fut décrite pour la première fois chez le chien par Siegel en 1977^{158, 159}. Il a nommé cette condition sous le nom de pseudo-Cushing étant donné certaines ressemblances cliniques avec l’hyperadrénocorticisme. Cependant, chez les chiens alopéciques, les résultats d’analyses biochimiques, analyse d’urine et le test de la fonction surrénalienne et thyroïdienne ne démontaient pas d’anomalie. À cette époque, une première étiologie a été évoquée, soit un déficit en hormone de croissance ou hyposomatotropisme du chien adulte. Le diagnostic était basé soit pour la réponse positive au test, ou une repousse des poils à la suite d’injections d’hormones de croissance. Brièvement, la xylazine et la clonidine agissent sur les récepteurs adrénérgiques alpha-2 localisés dans l’hypothalamus. L’activation de ces récepteurs stimule la sécrétion de l’hormone de croissance via l’hormone de libération de l’hormone de croissance (*growth hormone-releasing hormone*, GHRH ou *growth hormone-releasing factor*, GHRF). Cependant, la validité des concentrations basales de l’hormone de croissance était questionnable et cette théorie a été rejetée quelques années plus tard à la suite de nouvelles publications sur le sujet. Par contre, il faut prendre en considération que l’hormone

de croissance semble engendrer une initiation de la phase anagène des follicules pileux par action directe ou indirecte via le facteur de croissance de l'insuline (*insuline growth factor*)-1 (IGF-1). Le véritable mécanisme d'action de cette hormone sur les follicules pileux chez le chien demeure encore inconnu¹⁵⁹⁻¹⁶¹.

Étant donné l'association contestable entre l'alopecie X et une possible corrélation avec l'hormone de croissance, d'autres anomalies hormonales ont été étudiées chez les chiens atteints de cette forme d'alopecie. Dans les années 1990, une nouvelle théorie a été proposée, soit une surproduction d'hormones sexuelles d'origine surrénalienne¹⁶¹. Dans une étude réalisée chez 7 poméraniens alopeciques et 12 poméraniens d'apparence clinique normale non castrés, des concentrations sériques anormales de certaines hormones ont été démontré chez les chiens alopeciques et non alopecique, principalement la 17-hydroxyprogestérone, en comparaison avec les 19 chiens croisés qui servaient de contrôle. À la lumière de ces trouvailles, les auteurs ont proposé une possible déficience partielle de l'enzyme hydroxylase-21 semblable à l'hyperplasie surrénalienne congénitale chez l'homme. L'hydroxylase-21 est une enzyme importante impliquée dans la synthèse du cortisol et sa déficience entraîne une augmentation sérique de la 17-hydroxyprogestérone, un substrat pour la synthèse d'estradiol et d'androstènedione (Figure 19)¹⁶¹.

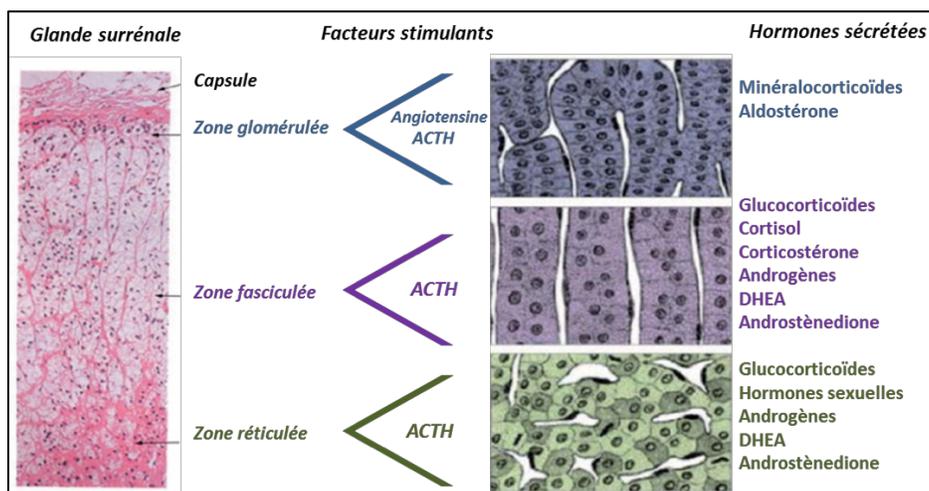


Figure 19. Les zones histologiques du cortex surrénalien et les facteurs stimulants nécessaires pour la production des hormones stéroïdiens d'origine surrénalienne.

Modifiée de Fulla Y et al. 2009.

Les signes cliniques chez les humains atteints d'hyperplasie surrénalienne congénitale tardive sont attribués à l'hyperandrogénisme. Par contre, il est peu probable qu'une hyperplasie surrénalienne soit la cause de l'alopecie X, principalement à la lumière de l'évaluation par résonance magnétique des glandes surrénales et hypophysaires chez 14 poméraniens atteints d'alopecie X, qui n'a pas démontré d'anomalie dans le cadre de la comparaison à des groupes contrôlés^{159,163}. De plus, le clonage et le séquençage du gène canin CYP21 A2 encodant l'hydroxylase-21 n'a révélé aucune mutation chez les poméraniens atteints d'alopecie X. Également, une mutation des gènes cathepsine L2 (CTSL2) et *patched homolog 2* (PTCH2) a été exclue comme possible cause d'alopecie X^{164, 165}.

Une autre hypothèse intéressante proposée est l'augmentation du cortisol basal comme cause de la perte des poils chez les chiens atteints d'alopecie X. Une étude chez des caniches miniatures et des poméraniens atteints de cette condition a démontré une augmentation du ratio cortisol/créatinine urinaire. Par contre, les concentrations sériques de cortisol après le test de stimulation à l'ACTH demeuraient dans les limites de référence et ces chiens ne démontraient aucun autre signe clinique d'hyperadrénocorticisme comme une polyphagie, une polydipsie, une polyurie ou un abdomen penduleux. Un fait intéressant basé sur quelques publications est l'utilisation de deux médicaments recommandés pour le contrôle de l'hyperadrénocorticisme naturel chez le chien : le mitotane et le trilostane. L'utilisation de ces deux médicaments a démontré des résultats satisfaisants chez un grand nombre de chiens atteints d'alopecie X soumis à ces traitements. Même si le rôle exact du cortisol et des hormones sexuelles surrénales dans la pathogénie de l'alopecie X n'est pas bien compris, il est possible que la repousse des poils soit due à la diminution de la sécrétion des hormones stéroïdiennes d'origine surrénalienne ou secondaire à l'inhibition des récepteurs des hormones sexuelles au niveau des follicules pileux^{166,167}.

Plusieurs indices soutiennent le rôle des hormones sexuelles dans la pathogénie de l'alopecie X, principalement à la lumière de la bonne repousse des poils suite à la castration et également lors de l'utilisation de certains médicaments antiandrogènes. Selon ces données, il est possible que ce désordre, qui affecte principalement les races sélectionnées pour l'hirsutisme, puisse être causé par un défaut folliculaire primaire, semblable à l'AA chez l'homme.

Une observation intéressante et unique associée à l'alopecie X est une repousse de poils aux sites de biopsies ou trauma (plaie, raclage cutané, pyodermite). Certains auteurs rapportent également des repousses associées à des coups de soleil¹⁶⁸. L'origine de ces repousses pourrait être liée à une augmentation du flux sanguin, à la présence de cytokines inflammatoires et des facteurs de croissances ou même à une modification de la température corporelle. De plus, d'anciennes publications ont démontré le lien entre le trauma cutané et l'induction de la phase anagène dans le follicule pileux¹⁶⁹. Ces observations et le fait que les poils repoussent au site de trauma chez les chiens atteints d'alopecie X suggèrent une possible inhibition locale de la phase anagène limitée au follicule pileux plutôt qu'une implication hormonale systémique.

4.2.2.2 Diagnostic

Le diagnostic de cette condition repose essentiellement sur le signalement, l'anamnèse, l'examen clinique et l'exclusion d'autres hypothèses diagnostiques. Les principaux diagnostics différentiels incluent l'hyperadrénocorticisme, l'hypothyroïdie, l'hyperoestrogénisme, l'alopecie récidivante des flancs, la défluxion télogène, l'adénite sébacée et certaines dysplasies folliculaires¹⁵⁵.

Un bilan sanguin comprenant une hématologie, un profil biochimique et des tests de la fonction thyroïdienne et surrénalienne sont recommandés. Si des signes systémiques sont présents (par exemple, polyurie, polydipsie ou polyphagie), il est recommandé de faire une urologie complète et une échographie abdominale pour bien évaluer le système urinaire, le foie et les glandes surrénales¹⁶⁸.

Une fois les maladies systémiques exclues, la biopsie cutanée peut aider à éliminer une maladie inflammatoire telle l'adénite sébacée. Afin de mettre en évidence les changements liés à l'atrophie folliculaire, les sites de biopsie choisis doivent être idéalement en état avancé d'alopecie. L'histopathologie cutanée révèle en général des changements non spécifiques d'une dysendocrinie avec une hyperkératose orthokératosique et hyperpigmentation épidermique, dilatation et hyperkératose folliculaire, et des follicules pileux en phase d'arrêt folliculaire (phase télogène). De plus, la présence de kératinisation trichilemmale excessive (follicules en flamme) est très évocatrice d'alopecie X (Figure 20)¹⁷⁰.

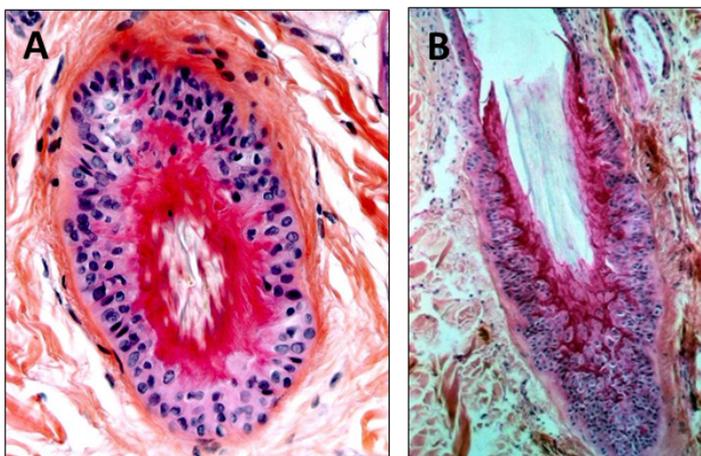


Figure 20. Analyse histopathologique des follicules pileux des biopsies cutanées d'un chien avec un diagnostic d'alopecie X. Les photos A et B démontrent un follicule pileux en flamme avec une extension de la kératinisation trichilemmale à travers la gaine épithéliale externe. Coloration hématoxyline et éosine. Les échelons représentent 100 μ m. Photos : gracieuseté de la D^{re} Manon Paradis.

4.2.2.3 Traitement

Il n'existe actuellement aucun consensus concernant une modalité de traitement étant donné que la pathogénie de cette condition demeure inconnue. De nombreux traitements médicaux et quelques options chirurgicales ont été proposés avec des résultats variables. L'évolution à moyen et à long terme ainsi que la réponse clinique sont imprévisibles et la repousse des poils à la suite du traitement choisi peut être temporaire. Dans le passé, l'administration d'hormone de croissance bovine, porcine ou de somatotropine synthétique ont été considérées comme des traitements possibles. L'administration de ces médicaments permettrait une initiation de la phase anagène des poils et par conséquent, une repousse partielle ou totale du pelage. De nos jours, ces traitements ne sont plus disponibles ni conseillés, principalement à cause des effets secondaires, notamment le diabète¹⁷¹.

Le traitement de choix chez les chiens non stérilisés demeure la castration. Une repousse de poils complète est notée chez 50 à 75 % des chiens et persiste durant plusieurs mois après la chirurgie. Dans certains cas la repousse des poils peut être permanente^{156,171}.

L'utilisation de la mélatonine orale est considérée comme étant le traitement de première ligne si la castration est inefficace. La mélatonine est une hormone synthétisée par la glande pinéale (l'épiphyse) et chez plusieurs espèces, elle est impliquée dans la régulation des processus physiologiques et comportementaux, dont la reproduction. Elle semble également liée au contrôle neuroendocrinien de la croissance du poil, mais le mécanisme exact d'action n'est pas encore bien connu. Il est à noter que les follicules pileux n'ont pas de récepteurs pour la mélatonine^{172,173}. Les hypothèses possibles de la réponse au traitement de mélatonine seraient une modulation des niveaux des hormones sexuelles, une interférence avec la production de cortisol, un blocage des récepteurs d'œstrogène des follicules pileux (l'œstrogène peut inhiber l'initiation de la phase anagène du poil) ou, dans moins probable, une déficience primaire de la production de mélatonine endogène. La mélatonine demeure un traitement très sécuritaire et peu coûteux permettant une repousse de poils dans environ 30 à 40 % des cas suite de l'administration orale de 3-6 mg/chien aux 8 à 12 heures pendant 3 à 4 mois (Figure 21)¹⁷⁴.

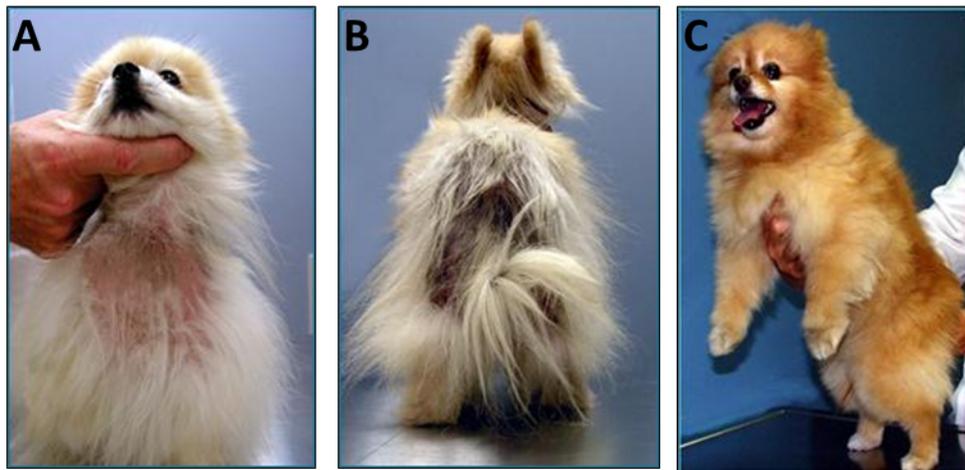


Figure 21. Poméranien atteint d'alopecie X. Les deux premières photos (A et B) démontrent les zones d'alopecie au moment du diagnostic avant le traitement de mélatonine et la photo C présente le chien après six mois de traitement à la mélatonine. Photos : gracieuseté de la D^{re} Manon Paradis.

D'autres modalités thérapeutiques incluent l'utilisation des drogues adrénolytiques telles que le mitotane (Lysodren®, O, p'-DDD). Bien que la dose d'induction recommandée soit inférieure à celle utilisée pour le traitement de l'hyperadrénocorticisme (par exemple, 15-25

mg/kg par 24 heures pendant 5 jours, puis tous les 7 à 14 jours en entretien), les effets secondaires tels que l'hypoadrénocorticisme associé à ce médicament doivent être soigneusement pris en compte avant son utilisation et une surveillance accrue en cours de traitement est nécessaire¹⁵⁶.

Le trilostane (Vetoryl®) est un inhibiteur compétitif de la β -hydroxystéroïde déshydrogénase qui interfère avec la stéroïdogénèse surrénalienne. Il a été utilisé avec succès dans de nombreux cas de chiens atteints d'alopécie X. La dose recommandée est similaire à celle pour le traitement de l'hyperadrénocorticisme, soit 3 à 3,6mg/kg/jour pour les grandes races et 10,8 mg/kg/jour pour les petites races. Les principaux inconvénients de cette modalité de traitement sont reliés à son coût et la possibilité de nécrose surrénalienne¹⁷⁵.

L'efficacité de l'utilisation des injections d'acétate de médroxyprogestérone (de 5 à 10 mg/kg injectée par voie sous-cutanée 1 fois par mois) a été démontrée dans le cadre d'une étude récente chez 40 à 60 % des chiens ainsi traités. Le mécanisme d'action proposé est que les progestagènes (progestérones synthétiques) peuvent induire la sécrétion d'hormone de croissance et par conséquent, stimuler la phase anagène des poils. Bien qu'aucun effet secondaire n'ait été observé dans cette étude, l'administration prolongée d'acétate de médroxyprogestérone peut induire le développement de nodules mammaires, l'hyperplasie endométriale kystique et le diabète¹⁷⁶.

De plus en plus de données suggèrent un lien entre les hormones sexuelles et la pathogénie de l'alopécie X. La repousse des poils à la suite de la castration (principalement chez des chiens mâles) et les succès obtenus à la suite de l'utilisation des médicaments anti-androgéniques tels que l'acétate d'osatéronne, la desloréline, le finastéride et le dutastéride évoquent une possible implication des hormones androgéniques dans la pathogénie de l'alopécie X. Des observations anecdotiques ont été rapportées avec l'utilisation de l'acétate d'osatéronne (Ypozane®), un stéroïde doté d'un effet anti-androgénique puissant et à effet progestatif approuvé pour le traitement de l'HBP chez le chien. Lors de son utilisation dans le traitement des chiens atteints d'alopécie X, un taux de succès allant jusqu'à 75 % a été noté lorsqu'il est administré quotidiennement par voie orale pendant une semaine tous les 3 mois. L'utilisation de la desloréline (Superolin®), un agoniste de GnRH de longue durée commercialisé en Europe

sous forme d'implant pour la castration chimique chez le chien (dose de 4,7 mg/implant), s'est avéré efficace chez environ 75 % des chiens mâles intacts (Figure 22)¹⁷⁷.



Figure 22. Évolution clinique de l'effet du traitement de desloréline dans deux cas d'alopécie X. (a et d) correspondent au moment du premier examen et du début du traitement, (b et e), trois mois après et (c et f) après six mois de traitement par la desloréline. Albanese F et al. 2014.

Les inhibiteurs de la 5 α -réductase (5 α R) tels que le finastéride et le dutastéride bloquent l'action de l'enzyme 5 α R responsable de la conversion de la testostérone en DHT. Le finastéride (un inhibiteur de la 5 α R de type 2) diminue significativement les taux sériques et tissulaires de la DHT chez les humains. Chez les hommes atteints d'AA, le cuir chevelu chauve avec ses follicules miniaturisés contient des quantités accrues de DHT par rapport au cuir chevelu normal¹⁷⁸. L'administration orale de finastéride (Propecia®, Proscar®) diminue les taux sériques de DHT et favorise la croissance des cheveux, bien que l'utilisation quotidienne du finastéride soit nécessaire chez les humains pour une action durable. Le dutastéride (Avodart®), un double inhibiteur de la 5 α R (type 1 et 2), est également approuvé pour le traitement de l'HBP chez l'homme. Bien que non homologuée pour l'AA chez l'homme, elle favorise la repousse des cheveux. Ces deux médicaments ont démontré leur efficacité chez quelques chiens atteints d'alopécie X (Figure 23).



Figure 23. Chien de la race keeshond atteint d’alopécie X. La première photo (A) représente le chien avant traitement et la deuxième photo (B) représente le chien après 10 mois de traitement avec Dutastéride®. Photos : gracieuseté de la D^{re} Manon Paradis.

Récemment, une nouvelle technique a été décrite pour induire la repousse des poils chez deux chiens poméraniens atteints d’alopécie X¹⁷⁹. Le Dermaroller® (*microneedling*) est utilisé en médecine humaine, principalement dans l’industrie cosmétique, depuis plusieurs années. Cette technique est une méthode peu agressive et sécuritaire pour atténuer les cicatrices et améliorer l’apparence de la peau chez les humains¹⁸⁰. La procédure comprend l’utilisation d’un dispositif contenant plusieurs micro-aiguilles qui, une fois en contact avec la peau, génèrent des micro-perforations sans provoquer de lésions profondes et par conséquent, sans induire de cicatrices. Même superficielles, les microlésions sont suffisantes pour causer une irritation cutanée qui induit l’activation du facteur de croissance $\beta 3$, le facteur de croissance des fibroblastes 7 et le collagène I^{181,182}. Le seul effet indésirable relié à cette technique est l’érythème post procédure, qui est de courte durée. L’utilisation d’anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens n’est pas recommandée¹⁷⁹. Chez les chiens, la procédure doit être réalisée sous sédation profonde ou anesthésie générale (Figure 24).



Figure 24. Application de la technique de microneedling. A) Application de microneedling. Le Dermaroller® est roulé sur des zones alopéciques avec une pression modérée. B) Poméranien avant le traitement de Dermaroller®. C) Le même chien, 12 semaines après le traitement de Dermaroller® Stoll S et al. 2015.

Enfin, même si les chercheurs essaient d'expliquer la cause de cette maladie, nous en savons encore très peu sur la pathogénie de l'alopecie X, si ce n'est sa forte implication génétique vu l'incidence élevée chez certaines races. Bien qu'un déséquilibre hormonal soit une explication très attrayante comme étiologie de l'alopecie X, cette hypothèse demeure mal comprise et il reste encore plusieurs questions sans réponse et des lacunes à combler.

Hypothèse et objectifs

Notre hypothèse principale est que chez un chien en santé, il n'y a pas de différence au niveau d'expression des $5\alpha R1$ et $5\alpha R3$ dans les échantillons de peau prélevés sur des sites représentant des régions anatomiques normalement affectés et non affectés par l'alopecie X. De plus, nous croyons que la distribution des enzymes $5\alpha R1$ et $5\alpha R3$ dans différentes structures de la peau et de la prostate des chiens en santé est similaire à la distribution des enzymes $5\alpha R1$ et $5\alpha R3$ dans la peau et la prostate chez l'homme en santé.

Les objectifs du projet de maîtrise consistent donc à :

1. Décrire la distribution des isoformes type 1 et 3 de l'enzyme 5 α -réductase dans les différentes structures cutanées de diverses régions corporelles de chiens beagle en santé.
2. Caractériser la distribution des isoformes type 1 et 3 de l'enzyme 5 α -réductase dans la prostate de chiens beagle mâles.

Article en tant que première auteure

Immunohistochemical localization of 5 α -reductase isoenzymes type 1 and 3 in the skin and prostate of healthy Beagle dogs

Lucilene Bernardi de Souza¹, Manon Paradis¹, Gustavo Zamberlam², Christopher Price² and Marie-Odile Benoit-Biancamano³.

Article en préparation pour soumission au journal Veterinary Dermatology.

Contribution des auteurs : Ma contribution globale concerne le design expérimental, la conception et préparation des protocoles, l'interprétation des résultats, la préparation des figures et l'écriture de l'article. Mes collaborateurs ont contribué au design expérimental et à l'interprétation des résultats. Marie-Odile Benoit-Biancamano et Manon Paradis ont dirigés le projet et ont aidé à l'écriture de l'article.

Authors' affiliations:

¹ Department of Veterinary Clinical Sciences, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec, Canada.

² Centre de Recherche en Reproduction et Fertilité, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec, Canada.

³ Department of Pathology and Microbiology, Groupe de Recherche en Pharmacologie Animale du Québec (GREPAQ), Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec, Canada.

Corresponding author: lucilene.bernardi.de.souza@umontreal.ca

Abstract

Alopecia X or hair cycle arrest has been described in dogs as a noninflammatory alopecia. Although the pathogenesis remains unknown, this disorder may be caused by a hormonal dysfunction similar to androgenic alopecia in men (AGA), which is caused by higher levels of dihydrotestosterone (DHT). The 5 α -reductase isoenzymes (5 α R) are responsible for the conversion of testosterone into DHT. Recently, we reported the presence of mRNA for 5 α -reductases enzymes mRNA in canine skin. Although we detected mRNA encoding 5 α R1 and 5 α R3 but not 5 α R2, the distribution and localization of 5 α R isoenzymes throughout the canine skin and hair follicles are still unknown. In addition, we reported for the first time that besides 5 α R1 and 2, the canine prostate also expresses 5 α R3 but likewise to the skin, the distribution and localization of these isoenzymes in canine prostate is still unknown. The objectives of this study were to identify the distribution and localization of 5 α R type 1 and 3 isoenzymes in the skin, hair follicles and prostate of healthy Beagle dogs by immunohistochemistry. Eight healthy, unrelated and intact young-mature Beagle dogs (4 males and 4 females) with no history of skin disease were selected for this study. Skin biopsy samples were obtained from three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic region). Prostate glands were collected from three dogs. 5 α R1 was detected in anagen hair follicles at the level of the connective tissue sheath, outer and inner root sheath, hair shaft, and dermal papilla. It was also detected in the sebaceous and sweat glands, arrector pili muscles and in vascular endothelial cells. 5 α R3 protein was detected in the connective tissue sheath, dermal papilla of anagen hair follicles and vascular endothelial cells. In prostate tissue, positive staining for the 5 α R1 was detected of the basal epithelial cells, secretory epithelial cells, and endothelial cells of blood vessels. Concerning 5 α R3 isoenzyme, positive staining was demonstrated in the basal epithelial cells and blood vessel endothelial cells. These results suggest that, similar to prostate, the canine skin express the enzymes responsible to convert testosterone into DHT. Future studies are required to determine a possible correlation between the activity of the two 5 α -reductase enzymes in the skin, local DHT production and alopecia X pathogenesis in dogs.

Keywords: skin, canine, hair cycle arrest, 5 α R1, 5 α R1, DHT, prostate.

Introduction

Alopecia X is an acquired noninflammatory alopecia that affects predominantly Nordic breeds with a dense undercoat (Samoyed, Alaskan Malamute), “plush-coated” dogs (Pomeranian, Keeshond) and Miniature Poodles, independent of sex, age and their neuter status.¹⁻² Initial clinical signs consist in bilateral symmetric hair loss around the neck, caudomedial thighs and tail. All hairs in those regions are eventually lost and some affected dogs develop hyperpigmentation of the exposed skin with time. The head, ventral thorax and distal legs usually remain unaffected. The reason why some areas are more affected by alopecia X than others remains unknown.¹⁻⁴

Although several names and hypotheses have been proposed in the past, the pathogenesis of this condition is unclear. Recent studies suggest a differential regulation in genes coding for enzymes involved in sex hormones metabolism in dogs with alopecia X.^{5,6} Furthermore, antiandrogen drugs such as deslorelin⁷ and osaterone acetate⁸ or surgical castration^{9,10} resulted in significant hair regrowth in dogs with alopecia X. These findings represent a strong evidence of androgen influence on this disorder and suggest that alopecia X may be similar to androgenic alopecia (AGA) in humans, a genetic disease characterized by a distinctive pattern of progressive hair loss from the scalp.¹¹ The key feature of AGA pathophysiology is a hair cycle alteration which is characterized by a decline in the duration of the anagen phase caused by the hormone dihydrotestosterone (DHT).¹²

DHT is an androgen hormone converted from testosterone by 5α -reductase isoenzymes (5α R). The expression of these isoenzymes has been reported in human tissues including the prostate gland, skin and hair follicles.^{18-20,30} In a recent study, we reported that besides 5α R type 1 (5α R1) and 2 (5α R2), the canine prostate also expresses 5α R type 3 (5α R3).¹³ We recently demonstrated that mRNA coding for 5α R1 and 5α R3 can be detected in the skin of healthy dogs,¹³ however, the distribution of 5α R proteins in canine skin, hair follicle and prostate still needs to be clarified.

The main objective of this study was to demonstrate the specific localization of 5α R1 and 5α R3 isoenzymes by immunohistochemistry in normal canine skin samples collected from sites representing anatomic regions normally affected and unaffected by alopecia X. We also

examined the prostate, as this is a positive control tissue frequently used for these enzymes. This study is an important stepping-stone for future studies aiming to elucidate a possible correlation between 5 α -reductases activity in skin, local DHT production and alopecia X pathogenesis in dogs.

Materials and Methods

Study population

All procedures related to animal care and experimentation were approved by the institutional animal care and use committee and follow the guidelines established by the Canadian Council on Animal Care. Eight healthy, unrelated and untreated intact beagle dogs (4 males and 4 females) with no history of skin disease were selected for this study. The age of animals varied from 9 months to 3 years (mean age 1.5 years). All dogs came from the same colony (CiToxLAB, Laval, QC, Canada) and were housed in the same manner in a controlled environment (21°C; artificial photoperiod of 12 h of light and 12 h of darkness). The animals were all euthanized immediately prior to biopsy collection as part of an unrelated protocol.

Biopsy collection

Using an 8-mm biopsy punch, skin samples were obtained post-mortem from each animal from three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic region). The entire prostate glands were collected from three dogs. Samples were fixed in 4% buffered formaldehyde for 24-48 h and embedded in paraffin; 4- μ m-thick sections were cut from each tissue block. Control sections were stained with haematoxylinphloxine saffron (HPS) in order to detect any histopathological abnormalities.

Immunohistochemical staining

The 5 α R isoenzymes (type I and III) were detected immunohistochemically by standard methods. Briefly, sample sections were mounted on SuperFrost slides. After dewaxing and

rehydration, the slides were subjected to antigen retrieval using an Antigen retrieval kit (Intermedico). Immunohistochemistry was carried out by incubation with a primary antibody, either 5 α -reductase type I (R-17, sc-20399, polyclonal goat IgG, Santa Cruz) or type III (N-Term, ABIN503095, polyclonal rabbit, Antibodies) and then a biotinylated secondary antibody revealed with the ABC kit (ImmunoCruz™ goat ABC Staining System, sc-2023, Santa Cruz) and AEC (Cedarlane). The samples were counter-colored with hematoxylin (Intermedico). All slides were examined by optical microscopy and the anatomical and tissue distribution was noted.

For each slide, positive staining was evaluated in different follicular units using 400X magnification. 5 α R1 and 5 α R3 were quantified according the intensity of the staining observed in the immunohistochemistry reaction. Negative stain/signal is herein represented by 0 or -; mild = 1 or +; moderate = 2 or ++; and marked = 3 or +++ . The intensity of the reactions was assessed within the epidermal cells, follicles in anagen phase (fibrous sheath, basement membrane, outer and inner root sheath), hair bulb (hair cortex, hair medulla, and dermal papilla), sebaceous and sweat glands, dermal blood vessels, arrector pili muscles, nerve fibers and deep dermal arterioles. Prostate tissue samples obtained from the male dogs were evaluated in a similar manner, with 5 α R1 and 5 α R3 intensity of the reaction assessed in epithelial cells (basal and secretory), fibromuscular stromal cells and endothelial cells of blood vessels.

Statistical analysis

Data that did not follow a normal distribution (Shapiro–Wilk test) was log-transformed. Skin structure, anatomic region (normally affected and non-affected regions) and/or animal gender were used as main effects in the F-test. Differences between means were tested with the Tukey–Kramer HSD test. All data analyses were performed with JMP software (SAS Institute, Cary, NC, USA). Data is presented as means \pm SEM.

Results

HPS stain

None of the samples demonstrated morphological changes and all sections were considered to be consistent with normal skin and prostate.

Immunohistochemistry stains in skin samples

Location of 5 α R1 isoenzyme

Marked staining was detected in the cells of the epidermis, outer and inner root sheath, sebaceous glands and apocrine glands. Moderate staining was also detected in the arrector pili muscles, superficial panniculus, vascular endothelial cells and deep dermal arterioles. Faint staining was detected in some dermal papilla cells and connective tissue sheath of anagen follicles (Fig. 1a).

Location of 5 α R3 isoenzyme

Moderate to marked staining was detected in the connective tissue sheath and dermal papilla cells of the hair follicles. Likewise, positive staining was present in vascular endothelial cells and deep dermal arterioles (endothelial cells and muscular wall). There was no staining of epidermal keratinocytes, dermal fibroblasts, sebaceous glands, apocrine glands, myoepithelial cells and superficial panniculus (Fig. 1b).

Immunohistochemistry stains in prostate samples

Marked staining for 5 α R1 was detected in the basal epithelial cells, secretory epithelial cells, and endothelial cells of blood vessels (Fig. 2a), whereas 5 α R3 was restricted to the basal epithelial cells and vascular endothelial cells (Fig. 2b).

5 α R1 and 5 α R3 staining intensity in skin samples

The average of mean staining intensity values in each main skin structure across the five anatomical sites was not significantly different between the sexes for both 5 α R1 and 5 α R3 ($P > 0.05$; Fig. 3). We then combined data from females and males to determine 5 α R1 and 5 α R3 levels in skin structures collected from sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) *versus* sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic region). The average of mean staining intensity values for both 5 α R1 and 5 α R3 in each skin structure combined for the three anatomical sites normally affected was not significantly different from the average of mean staining intensity values in skin structures combined for the

two sites generally unaffected by alopecia X ($P > 0.05$; Fig. 4). However, 5 α R1 and 5 α R3 levels varied significantly between the different skin structures and cutaneous adnexae ($P < 0.05$; Fig. 4); 5 α R1 protein was significantly more abundant in skin glands than in the epidermis, and lower in telogen compared to anagen follicles. 5 α R3 protein levels were higher in blood vessels than in hair follicles.

The precise location and the intensity levels of 5 α R1 and 5 α R3 in all skin components of Beagle dogs are summarized in Table 1 and Figure 5.

5 α R1 and 5 α R3 staining intensity in prostate samples

The immunostaining semi-quantitative analysis indicated that 5 α R1 presented strong, moderated and weak staining intensity in secretory epithelial cells, basal epithelial cells and blood vessels, respectively; while no signal was observed in fibromuscular stromal cells in samples from all 3 animals. On the other hand, 5 α R3 was presented strong staining intensity in basal epithelial cells and blood vessels, but was not detected in secretory epithelial cells (Table 2).

Discussion

DHT is a potent androgen formed from testosterone in a reaction catalysed by 5 α R isoenzymes.¹¹ In humans, DHT is known to be involved in hair growth metabolism, exerting a critical role in the development of androgenic alopecia.^{14,15} Similarly, there is strong evidence that DHT can also be involved in the pathogenesis of alopecia X in dogs.⁸⁻¹⁰ To confirm the existence of a local DHT production system in canine skin, we performed a previous study in which we demonstrated the presence of mRNA levels for 5 α R1 and 5 α R3 – but not 5 α R2 – in whole skin of healthy beagle dogs.¹³ In the present study, we indicate for the first time, to the best of the authors' knowledge, the immunohistochemical distribution of 5 α R1 and 5 α R3 isoenzymes in canine skin structures and hair follicles of different anatomic regions in both female and male healthy Beagle dogs. In addition, we present herein novel data elucidating 5 α R1 and 3 location in canine prostate.

Previously, we demonstrated that there was no significant difference for 5 α R1 and 5 α R3 mRNA levels between the different anatomic regions studied in skin, irrespective of gender. In addition, our previous results also indicated that 5 α R1 and 5 α R3 skin mRNA levels did not vary between males and females.¹³ Similarly, the immunohistochemistry results presented herein clearly indicate that the distribution and intensity of 5 α R1 and 5 α R3 staining in each skin sample assessed is not significantly different between the sexes nor when comparing sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic region). However, these results were not unexpected because healthy animals with no history of skin disorder were used in both studies. Together, the results from our studies indicate that both 5 α R1 and 5 α R3 represent stable potential markers to determine in future studies if 5 α -reductase enzymes may be more abundant in affected areas than in unaffected areas in dogs with alopecia X, as it is normally observed in both young men and women with AGA, whose affected anagen hair follicles demonstrate an increase in 5 α -reductase activity and consequently increased local levels of DHT.¹⁴⁻¹⁶

Concerning the localization of 5 α R1, the present study demonstrated a similar distribution pattern when compared to humans.¹⁷⁻¹⁹ In terms of 5 α R3, this isoenzyme has recently been discovered and little information is available on its distribution and activity in skin. A study with only one sample described that 5 α R3 is detected only in the *stratum basale* and *stratum spinosum* of human skin epidermis, which clearly differs from the distribution pattern in canine skin described herein.²⁰ Although this may represent a species-specific difference, the results published in human skin for 5 α R3 must be analyzed with caution as the number of samples used is limited. The results presented herein indicate that 5 α R1 was detected in canine anagen hair follicles at the level of connective tissue sheath, outer and inner root sheath, hair shaft, and dermal papilla. It was also detected in the sebaceous and sweat glands, arrector pili muscles and in vascular endothelial cells. The 5 α R3 isoenzyme, on the other hand, was detected almost exclusively in anagen hair follicles at the level of connective tissue sheath and dermal papilla, and also in vascular endothelial cells. Both 5 α R1 and 5 α R3 were found in the connective tissue sheath and dermal papilla of anagen hair follicles. Interestingly, according to reports in humans and canine hair follicles, this staining pattern is similar to the pattern observed for nestin, a stem cell marker for neural progenitor cells that are involved in the induction of the anagen phase in hair follicles.^{21,22} This leads to the hypothesis that local DHT

production induced by 5 α R1 and 5 α R3 may be involved in regulating stem cells activity and consequently the hair growth in dogs.

The present study also describes the 5 α R1 and 3 distribution and localization in canine prostate. Although mRNA levels for 5 α Rs have been shown in canine prostate^{13, 26}, to our knowledge, this is the first study indicating the location of 5 α R1 and 3 in prostate structures in dogs. Herein, we demonstrated that 5 α R1 presented a marked staining in the basal and secretory epithelial cells, while 5 α R3 was marked detected in basal epithelial cells and endothelial cells from blood vessels, but not in secretory epithelial cells. In humans, 5 α R1 and 2 have been reported in epithelial (basal and secretory) and stromal cells³¹, while 5 α R3 was predominantly detected in basal epithelial cells.²⁰ Interestingly, studies with human prostate cancer cells demonstrate that deletion of the gene coding for 5 α R3 isoenzyme significantly reduces DHT secretion, confirming the relevance of this isoform for DHT production.²³ Furthermore, studies with human malignant prostate tissues demonstrate that 5 α R3 levels are overexpressed in some cancers compared to their normal counterpart.²⁰ Therefore, the 5 α R3 immunohistochemical detection described herein in canine prostate and skin suggest that this isoenzyme may have important implications for the selection of 5 α -reductase inhibitors, especially knowing that these inhibitors may not be equally effective against all three isoforms. In humans with AGA, for example, the treatment is mainly based on the use of finasteride or dutasteride.^{24,25} Although their use in dogs for treatment of alopecia X has not been reported, they have been used in dogs with prostate cancer.²⁶⁻²⁸ While finasteride is normally considered a selective inhibitor for 5 α R2, dutasteride is considered active against 5 α R1 and 5 α R2. The ability of these drugs to inhibit 5 α R3, however, is not clear as one study showed potent inhibition of 5 α R3 activity by dutasteride in HEK293 cells stably expressing this gene¹⁵, whereas another study demonstrated that dutasteride did not effectively inhibit exogenous 5 α R3 activity in a hamster ovary cell line.²⁹ On the other hand, finasteride appears to be 50-fold less potent than dutasteride in the inhibition of 5 α R3.¹⁵

In summary, our findings indicate for the first time the localisation for 5 α R type 1 and 3 isoenzymes in the skin and prostate of healthy dogs. Further studies are required to characterize differences in 5 α R isoenzymes distribution and activity in the skin and hair follicles of dogs affected with alopecia X. In addition, taking into consideration that canine skin and prostate

express both 5 α R1 and 5 α R3, it seems likely that dutasteride would be the recommended inhibitor for alopecia X and/or pathological prostatic growth in dogs. However, future studies to identify a more appropriate/potent inhibitor for 5 α R3 would be extremely useful for optimal results in the treatment of these canine disorders.

Acknowledgements

This research was supported by research grants from the Rosenbloom family and the Fonds du Centenaire of the Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal. The authors wish to thank CiToxLAB North America for their technical support and tissue collection, and Claude Paquet for technical support with immunohistochemistry (Service de Diagnostic, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Miller W.H.Jr., Griffin C.E., Campbell K.L. Hair cycle arrest. In: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 7th ed. St. Louis, MO: Elsevier Mosby, 2013; 501-537.

2. Cochet-Faivre N. Hair cycle and alopecia X in dog. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 2008;43:1- 21.
3. Frank L.A., Hnilica K.A., Oliver J.W. Adrenal steroid hormone concentrations in dogs with hair cycle arrest (Alopecia X) before and during treatment with melatonin and mitotane. *Vet Dermatol.* 2004; 15 : 278-284.
4. Paradis M. An approach to symmetrical alopecia in the dog. In: Jackson H, Marsella R, eds. *BSAVA manual canine and feline dermatology*. 3rd edition. Gloucester, UK: BSAVA, 2012; 91-102.
5. Frank L.A. Oestrogen receptor antagonist and hair regrowth in dogs with hair cycle arrest (alopecia X). *Vet Dermatol.* 2007; 18(1): 63- 66.
6. Frank L.A., Donnell R.L., Kania S.A. Oestrogen receptor evaluation in Pomeranian dogs with hair cycle arrest (alopecia X) on melatonin supplementation. *Vet Dermatol.* 2006; 17(4):252-258.
7. Albanese F., Malerba E., Abramo F., et al. Deslorelin for the treatment of hair cycle arrest in intact male dogs. *Vet Dermatol.* 2014; 25(6):519-522.
8. Nagata M. Clinical approach to alopecia in dogs, in *Proceedings. 36th World Small Animal Veterinary Congress*. 2011; 280-281.
9. Rosser E. Castration responsive dermatosis in the dog. In: von Tscherner C, Halliwell R, eds. *Advances in Veterinary Dermatology*, volume 1. London: Balliere-Tindall, 1990; 34-42.
10. Huang H.P., Lien Y.H., Chang P.H. Effect of castration on hair re-growth in Pomeranians with hair cycle arrest (alopecia X). *J Vet Sci.* 2009; 1: 17–19.
11. Kaufman K.D. Androgens and alopecia. *Mol Cell Endocrinol.* 2002; 198 : 89–95.
12. Price V.H., *Androgenetic Alopecia in Women*. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2003; 8 : 24–27.

13. Bernardi de Souza L., Paradis M., Zamberlam G., et al. Identification of 5 α -reductase isoenzymes in canine skin. *Vet Dermatol.* 2016; 26 (5) : 363-366.
14. Azzouni F., Godoy A., Li Y., et al. The 5 alpha-reductase isozyme family: a review of basic biology and their role in human diseases. *Adv Urol.* 2012; 1–18.
15. Yamana K., Labrie F., Luu-The V., et al. Human type 3 5a-reductase is expressed in peripheral tissues at higher levels than types 1 and 2 and its activity is potently inhibited by finasteride and dutasteride. *Horm Mol Biol Clin Invest.* 2010; 2 : 293–299.
16. Sawaya M.E., Price V.H. Different levels of 5a-reductase type I and II, aromatase, and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia. *J Invest Dermatol.* 1997; 109 : 296–300.
17. Oliveira O.I., Lhullier C., Brum I.S., et al. The 5alpha-reductase type1, but not type 2, gene is expressed in anagen hairs plucked from the vertex area of the scalp of hirsute women and normal individuals. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36 : 1447– 1454.
18. Eicheler W., Dreher M., Hoffmann R., et al. Immunohistochemical evidence for differential distribution of 5 alpha-reductase isoenzymes in human skin. *Br J Dermatol.* 1995; 133(3) : 371-376.
19. Bayne E.K., Flanagan J., Einstein M., et al. Immunohistochemical localization of types 1 and 2 5alpha-reductase in human scalp. *Br J Dermatol.* 1999; 141(3) : 481-91.
20. Godoy A., Kawinski E., Li Y., et al. 5 α -reductase type 3 expression in human benign and malignant tissues: a comparative analysis during prostate cancer progression. *Prostate.* 2011; 71(10) : 1033-1046.
21. Gerhards N.M., Sayar B.S., Origgi F.C., et al. Stem Cell-Associated Marker Expression in Canine Hair Follicles. *J Histochem Cytochem.* 2016; 64: 190-204.
22. Sellheyer K., Nelson P. The concept of the onychodermis (specialized nail mesenchyme): an embryological assessment and a comparative analysis with the hair follicle. *J Cutan Pathol.* 2013; 40 : 463-471.

23. Uemura M., Takamura K., Chung S., et al. Novel 5 alpha-steroid reductase (SRD5A3, type-3) is overexpressed in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Sci.* 2008; 99: 81–86.
24. Jung J.Y., Yeon j.H., Choi J.W., et al. Effect of dutasteride 0.5 mg/d in men with androgenetic alopecia recalcitrant to finasteride. *Int J Dermatol.* 2014; 53 : 1351–1357.
25. Gubelin H.W., Barboza Martinez J., Tsai T.F., et al. A randomized, active- and placebo-controlled study of the efficacy and safety of different doses of dutasteride versus placebo and finasteride in the treatment of male subjects with androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol.* 2014; 70 : 489–498.
26. Span P.N., Van Bokhoven A., Smals A.G., et al. Partial sequencing and tissue distribution of the canine isoforms of steroid 5alphareductase type I and type II. *Prostate.* 2000; 44: 233–239.
27. Laroque P.A., Prahalada S., Gordon L.R., et al. Effects of chronic oral administration of a selective 5a-reductase inhibitor, finasteride, on the dog prostate. *Prostate.* 1994; 24 : 93–100.
28. Sirinarumitr K., Jhonston S.D., Kustritz M.V., et al. Effects of finasteride on size of the prostate gland and semen quality in dogs with benign prostatic hypertrophy. *J Am Vet Med Assoc.* 2001; 15: 1275–1280.
29. Titus M.A., Li Y., Kozyreva O.G., et al. 5a-Reductase type 3 enzyme in benign and malignant prostate. *Prostate.* 2014; 74 : 235–249.
30. Russell D.W., Wilson J.D. Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. *Annu Rev Biochem.* 1994; 63 : 25–61.
31. Aumüller G., Eicheler W., Renneberg H., et al. Immunocytochemical evidence for differential subcellular localization of 5 alpha-reductase isoenzymes in human tissues. *Acta Anat (Basel).* 1996; 156(4) : 241-252.

Figures and tables

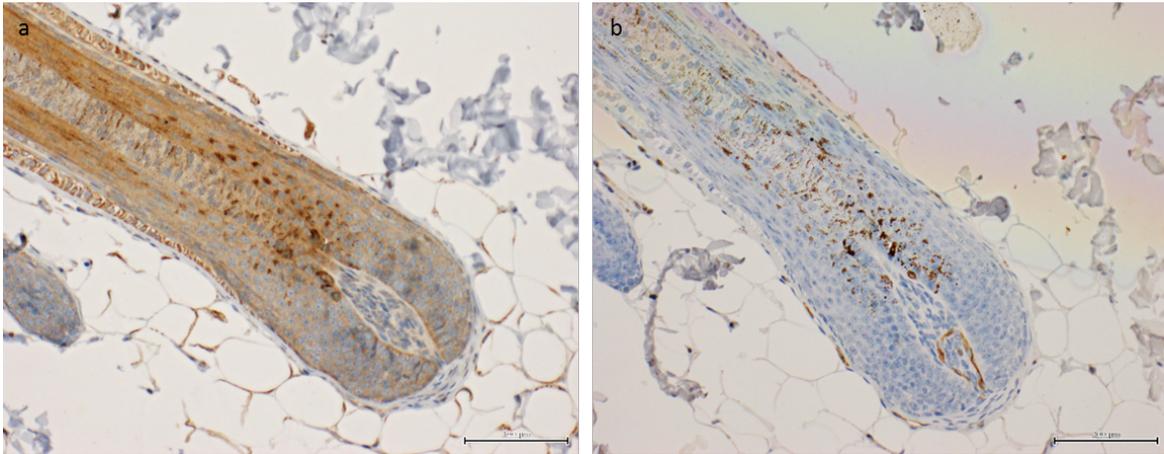


Figure 1. Photomicrograph of the skin. **(a)** Immunohistochemistry for 5αR1 and **(b)** 5αR3 isoenzymes. Bar = 200μm.

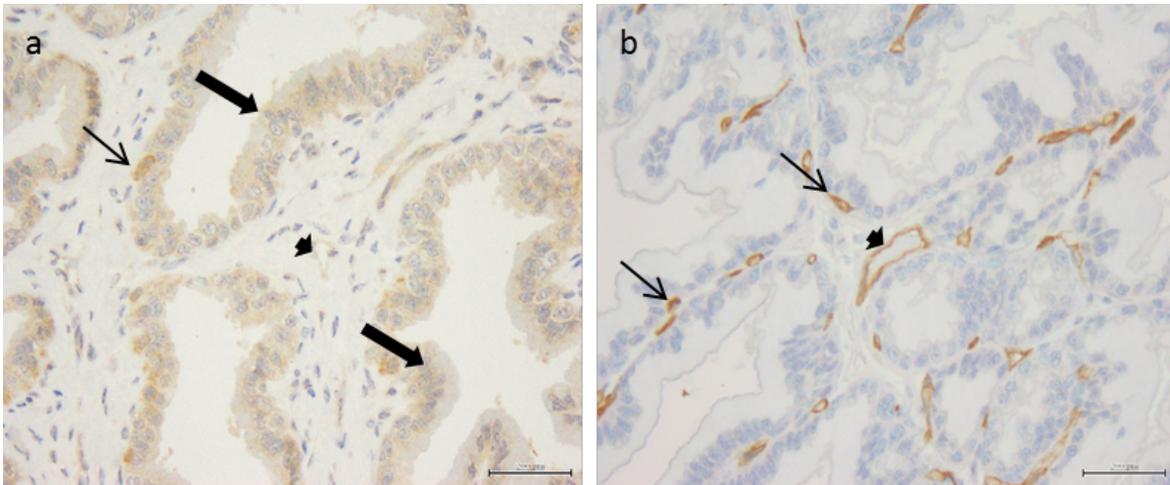


Figure 2. Photomicrograph of the prostate tissue. **(a)** Immunohistochemistry for 5αR1 isoenzyme. Positive staining of the basal epithelial cells (thin arrow), secretory epithelial cells (large arrow), and endothelial cells of blood vessels (short arrow). **(b)** Localization of 5αR3 isoenzymes. Positive staining in the basal epithelial cells (thin arrow) and blood vessel endothelial cells (short arrow). Bar = 400μm.

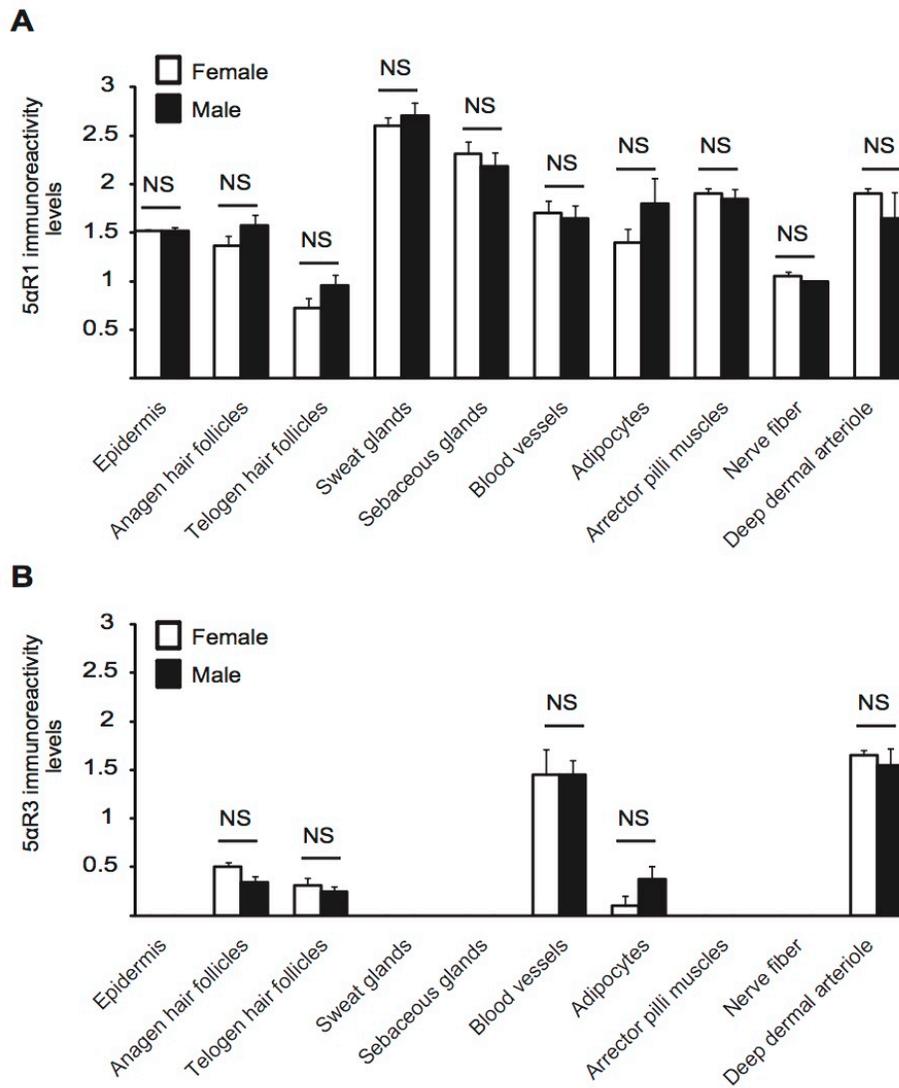


Figure 3. Intensity of the staining observed in the immunohistochemistry reaction for 5 α R1 and 5 α R3. Skin samples were obtained post-mortem from healthy Beagle dogs (n=8). Biopsies were collected from three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic region). Negative stain/signal is herein represented by 0; mild = 1; moderate = 2; and marked = 3. Data shown represent mean \pm SEM (NS, not significant ($P > 0.05$)). The results represent the average of mean staining intensity values for 5 α R1 (**A**) and 5 α R3 (**B**) in each main skin structure combined for all five anatomical sites in females (n=4) vs males (n=4).

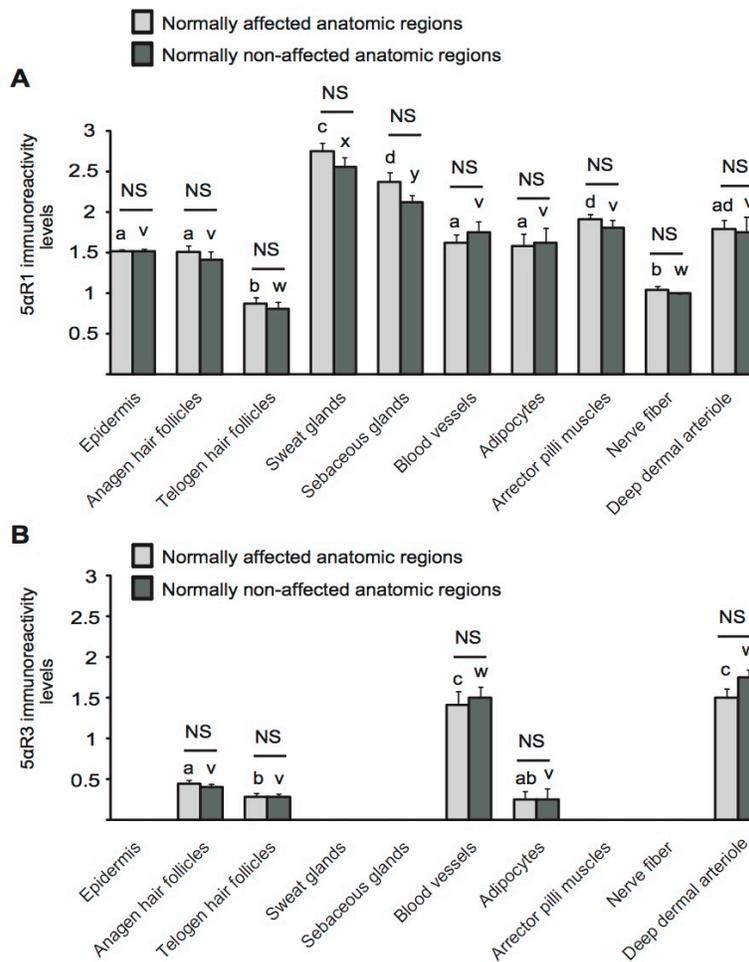


Figure 4. Intensity of the staining observed in the immunohistochemistry reaction for 5 α R1 and 5 α R3. Skin samples were obtained post-mortem from healthy Beagle dogs (n=8). Biopsies were collected from three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic region). Negative stain/signal is herein represented by 0; mild = 1; moderate = 2; and marked = 3. Data shown represent mean \pm SEM (NS, not significant, $P > 0.05$). The different superscript letters *a*, *b* and *c* indicate significant differences ($P < 0.05$) between skin structures in normally affected anatomic regions; and the superscript letters *v* and *w* indicate significant differences ($P < 0.05$) between skin structures in normally non-affected anatomic regions. The results represent the average of mean staining intensity values for 5 α R1 (**A**) and 5 α R3 (**B**) in each main skin structure from sites normally affected by alopecia X *versus* sites generally unaffected in all 8 animals (females and males combined).

Table 1. Immunoreactivity for 5 α R1 and 5 α R3 isoenzymes in the normal canine skin and hair follicle distributed in various regions in female and male dogs.

Skin structure	Female	Male	Female	Male
	5 α R1	5 α R1	5 α R3	5 α R3
Epidermis				
Stratum corneum	-	-	-	-
Stratum granulosum	++	++	-	-
Stratum spinosum	++	++	-	-
Stratum basale	++	+++	-	-
Basement membrane				
	-	-	-	-
Anagen hair follicle				
Dermal/fibrous sheat	+	+	++	++
Basement membrane	-	-	-	-
Outer root sheat	+++	+++	-	-
Inner root sheat	++	+++	-	-
Hair cortex	++	++	-	-
Hair medulla/Matrix	++	++	-	-
Dermal papilla	++	++	++	++
Telogen hair follicle				
Dermal/fibrous sheat	+	+	++	+
Basement membrane	-	-	-	-
Outer root sheat	+++	+++	-	-
Hair cortex	+	+	-	-
Sweat glands				
	+++	+++	-	-
Sebaceous glands				
	+++	+++	-	-
Others				
Blood vessels	++	++	++	++
Adipocytes	++	++	+	+
Muscle arrector pili	++	++	-	-
Nerve fiber	+	+	-	-
Deep dermal arteriole	++	++	++	++

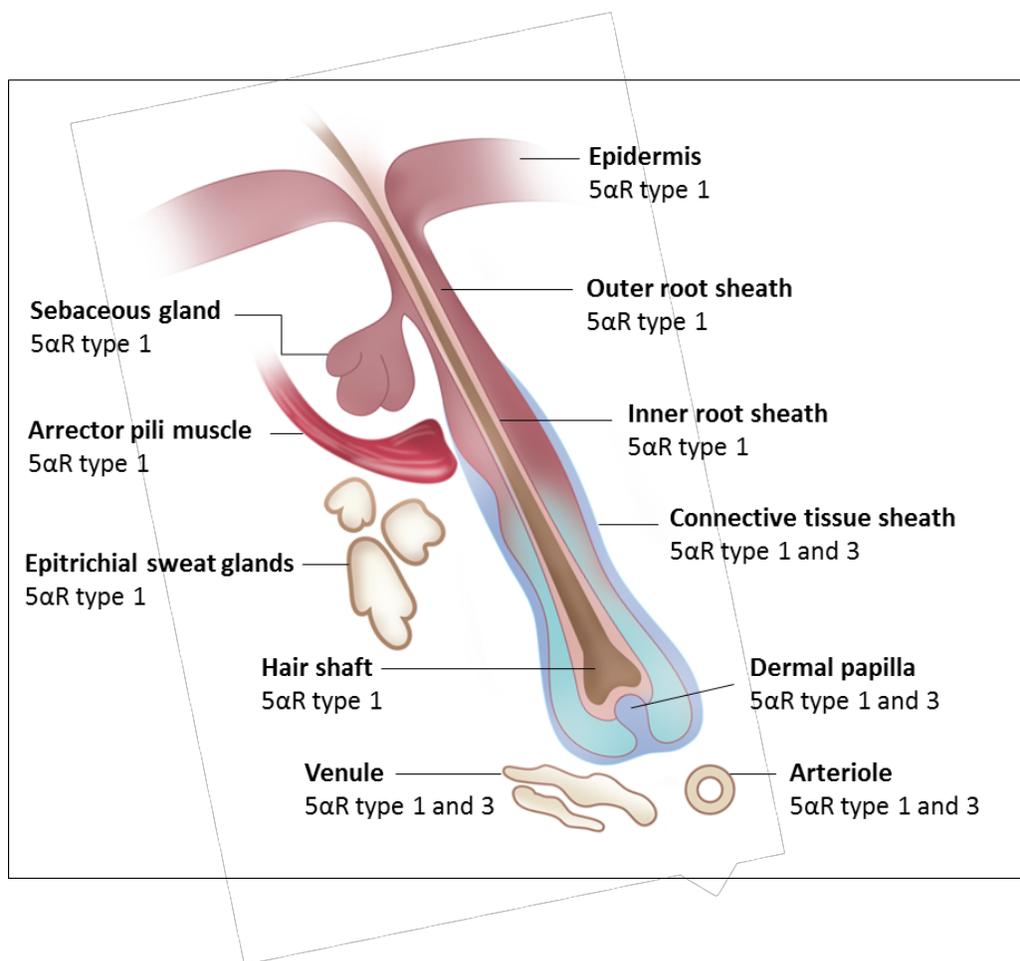
The relative distribution of immunostaining was comparable in the other skin areas examined. Assessment was semi-quantitative, and ranged from – (no staining) to +++ (strong staining).

Table 2. Immunoreactivity for 5 α R1 and 5 α R3 isoenzymes in canine prostate.

Prostate structure	5 α R1	5 α R3
Basal epithelial cells	++	+++
Secretory epithelial cells	+++	-
Fibromuscular stromal cells	-	-
Blood vessels	+	+++

The relative distribution of immunostaining was comparable in the other skin areas examined. Assessment was semi-quantitative, and ranged from – (no staining) to +++ (strong staining).

Figure 5. Representation of the distribution of 5 α R1 and 5 α R3 isoenzymes in normal canine skin and hair follicle.



Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

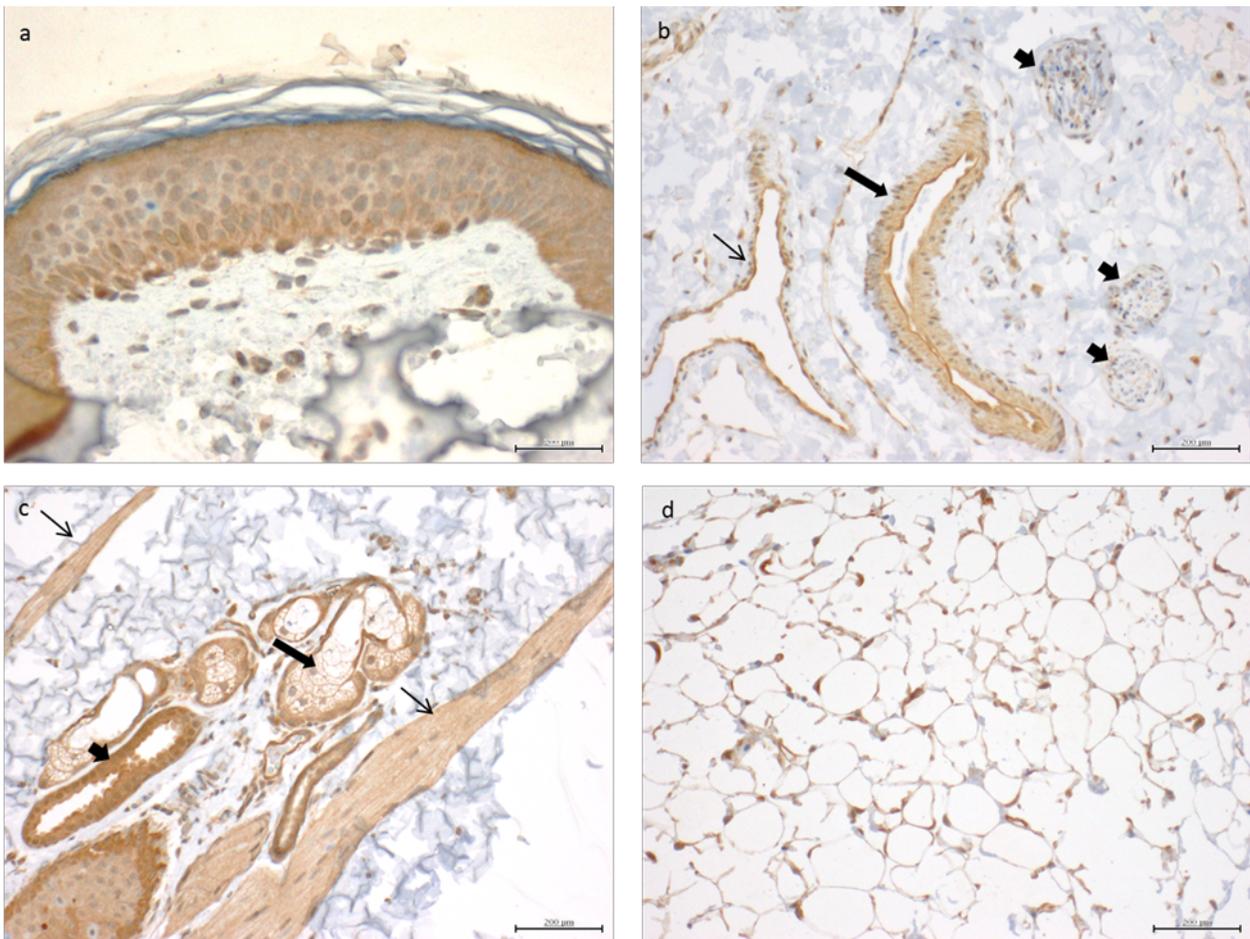


Figure S1. Immunohistochemistry for 5 α R1 (photomicrograph of the skin). **(a)** Positive staining in the epidermis. **(b)** Blood vessels (thin arrow), dermal arteriole cells (large arrow), and nerve fiber (short arrow). **(c)** Arrector pili muscle (thin arrow), sebaceous glands (large arrow), and sweat gland (short arrow). **(d)** Adipocytes. The scale bar represents 400 μ m in **(a)** and **(c)**, and 200 μ m in **(b)** and **(d)**.

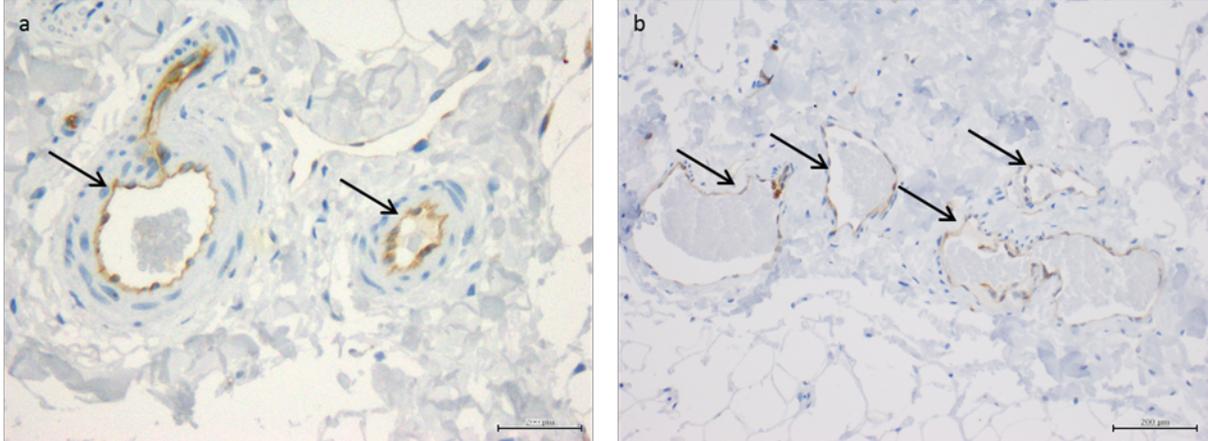


Figure S2. Immunohistochemistry for 5 α R3 (photomicrograph of the skin). Positive staining for 5 α R3 was visualized in dermal arteriole (**a**) and blood vessels (**b**). The scale bar represents 400 μ m in (**a**) and 200 μ m in (**b**).

Discussion générale

Dans le but de confirmer ou d'infirmer l'existence d'une possible production locale de DHT dans la peau canine, nous avons démontré dans une première étude la présence d'ARNm pour l'isoenzyme 5 α R1 et 5 α R3 (mais non 5 α R2) dans des échantillons de peau normaux chez des chiens beagles mâles et femelles en santé^{98, Annexe 2}. Par contre, nous n'avions pas d'information sur la localisation de ces isoenzymes. Selon les auteurs, la présente étude constitue le premier rapport décrivant la localisation exacte de l'enzyme 5 α R1 et 5 α R3 dans les différentes structures de la peau et des follicules pileux dans différentes régions anatomiques chez des chiens beagles mâles et femelles en santé en utilisant la technique d'immunohistochimie. Au niveau de la prostate, la présence d'ARNm pour l'isoenzyme 5 α R1 et 5 α R3 a été bien démontrée dans des études précédentes^{98, 9, Annexe 2}. Nous avons utilisé les échantillons prostatiques de chiens non seulement comme notre contrôle positif pour optimiser notre technique d'immunohistochimie, mais aussi dans l'objectif de déterminer pour la première fois la distribution exacte des isoenzymes 5 α R1 et 5 α R3 dans la prostate de chiens beagle mâles en santé.

Discussion de l'étude sur la peau canine

Notre étude démontre que la 5 α R1 se retrouve dans plusieurs structures de la peau : l'épiderme, les glandes sébacées, les muscles érecteurs des poils, les glandes sudoripares, la gaine épithéliale externe et interne, la gaine conjonctive, la tige pileuse, la papille dermique, les vaisseaux et artérioles dermiques. La distribution des 5 α R1 présente dans les différentes structures de la peau du chien concordent avec ce qui a été observé chez l'homme, ce que confirme l'hypothèse de notre étude^{103, 105, 183}.

Nous avons démontré la présence de 5 α R3 seulement dans la papille dermique, la gaine conjonctive, les vaisseaux sanguins et les artérioles dermiques. Il existe très peu d'informations sur la présence, la localisation et la fonction de la 5 α R3 au niveau de la peau chez l'homme et il n'y a aucune donnée chez le chien. Selon une étude dans le cadre de laquelle les auteurs ont utilisé un seul échantillon de peau humaine, la présence de 5 α R3 a été détectée seulement dans

le *stratum basale* et le *stratum spinosum* de l'épiderme¹¹⁰. Ce résultat est clairement différent de notre description, mais étant donné que le nombre d'échantillons utilisés dans cette étude chez l'homme était limité à un seul, la comparaison des données doit être faite avec beaucoup de réserve.

Les cellules présentes dans la papille dermique et la gaine conjonctive du follicule pileux sont des structures clé du développement et de la croissance des follicules pileux chez l'humain¹⁸⁴. Les cellules de la papille dermique sont un type de cellules mésenchymateuses spécialisées qui régulent la croissance du follicule pileux et joue un rôle important dans la pathogénèse de certaines alopecies chez l'homme^{185, 186}. Plusieurs recherches démontrent des informations précieuses sur le mécanisme de la croissance des cheveux et l'influence des hormones sexuelles travers ce processus. Une bonne partie de ces recherches ont été réalisées principalement avec des techniques *in vitro* utilisant des cultures cellulaires évaluant l'influence des hormones sexuelles sur les cellules de la papille dermique de différents sites corporels chez l'homme. Cette technique a été développée pour les tissus canins, incluant la peau, mais il n'y a pas encore de données sur l'influence des hormones sexuelles androgéniques sur aucune lignée cellulaire de la peau canine¹⁸⁷⁻¹⁹⁰. Nous avons démontré que les deux isoenzymes 5 α R1 et 5 α R3 sont présentes dans la papille dermique du follicule pileux en phase anagène chez le chien. Étant donné que la papille dermique demeure le grand « pacemaker » du cycle de croissance pileux, la présence des 5 α R1 et 5 α R3 à cet endroit mérite une attention spéciale. Cette découverte peut signifier une possible implication des androgènes dans le métabolisme des cellules de la papille dermique canine¹⁹¹⁻¹⁹³.

Une autre donnée intéressante dans notre étude est que les deux isoenzymes 5 α R1 et 5 α R3 ont été mises en évidence dans la gaine conjonctive des follicules pileux en phase anagène, en plus de la papille dermique, comme chez l'homme. Quelques études chez l'humain et maintenant chez le chien ont démontré que la localisation de ces isoenzymes est très similaire à la localisation de la nestine, un marqueur des cellules souches des follicules pileux¹⁹⁴⁻¹⁹⁶. Ces données peuvent nous amener à l'hypothèse d'une possible production locale de DHT à partir des isoenzymes 5 α R1 et 5 α R3 dans ces structures. De plus, la DHT peut avoir une éventuelle implication dans la régulation de l'activité des cellules souches et, par conséquent, dans le mécanisme de croissance pileux chez le chien. À partir de ces données et du fait que les follicules pileux constituent une source de cellules souches pluripotentes, notre étude ajoute des

éléments importants qui pourront être utilisés dans des études futures concernant l'implication des hormones androgéniques dans le mécanisme de régulation de la croissance des follicules pileux chez l'espèce canine.

La biologie de la croissance des poils et le rôle des hormones sexuelles dans ce processus sont très complexes et peu connus chez l'espèce canine. Chez l'homme, la DHT participe activement au métabolisme de croissance des poils avec un rôle critique dans le développement de l'AA^{101, 109, 197, 198}. Il est aujourd'hui admis que dans l'AA, il existe une augmentation de l'activité des isoenzymes 5 α R entraînant une augmentation de la production locale de DHT. Le mécanisme par lequel cette augmentation locale de DHT entraîne une diminution des poils en phase anagène et par conséquent, leur miniaturisation n'est pas formellement démontrée. Une inhibition de la prolifération cellulaire au niveau de la papille dermique combinée à un phénomène vasculaire par inhibition de la production locale du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire est suspectée¹⁹⁹.

L'alopécie X est une condition rencontrée principalement chez les chiens de races nordiques à pelage pelucheux, ce qui suggère une composante héréditaire possible à cette condition. Bien que de nombreuses hypothèses aient été proposées pour élucider cette condition, une possible perturbation du cycle de croissance pileux liée à un trouble endocrinien des hormones sexuelles a été évoquée. À l'heure actuelle, l'implication des hormones sexuelles androgéniques (incluent la DHT) dans le cycle de croissance du poil et son rôle possible dans l'étiopathogénie de l'alopécie X est fortement suspectée. Chez le chien, les récepteurs androgéniques ont été démontrés par immunohistochimie dans l'épiderme, les glandes sébacées, les muscles érecteurs du poil, l'endothélium des vaisseaux sanguins, les nerfs et dans certains fibroblastes dermiques. Ces récepteurs étaient également présents dans la gaine épithéliale externe, la tige pileux, la papille dermique et dans la gaine conjonctive des follicules pileux¹¹⁸. Dans tous les cas, l'expression des récepteurs présents dans les cellules épithéliales et folliculaires peut varier d'une région anatomique à l'autre et certaines hormones peuvent réagir de manière croisée avec d'autres récepteurs et entraîner des effets métaboliques variés. Un exemple classique est la progestérone qui peut se lier à des récepteurs androgéniques, ce qui, selon le tissu ciblé, produira des effets androgéniques ou anti-androgéniques²⁰⁰. La distribution des récepteurs androgéniques chez le chien correspond aux endroits où nous avons mis en évidence la présence des isoenzymes 5 α R sans observer de différence entre les régions

corporelles étudiées¹¹⁸. Mises ensemble, ces données suggèrent la présence d'un système local de conversion de testostérone en DHT où les enzymes 5 α R sont directement impliquées.

Dans une étude précédente, nous avons démontré qu'il n'y a pas de différence entre les niveaux d'ARNm pour la 5 α R1 et la 5 α R3 entre différentes régions anatomiques⁹⁸, Annexe 2. De façon similaire, dans la présente étude, nous n'avons pas trouvé de différence entre l'intensité des 5 α R1 et 5 α R3 dans les différentes régions corporelles quand on compare les endroits généralement affectés par l'alopecie X (cou, face postérieure des cuisses et base de la queue) et les endroits généralement non touchés par cette condition (tête et thorax ventral). De plus, il est important de mentionner que nous n'avons pas démontré de différence significative entre les mâles et les femelles. Par contre, nos résultats étaient à prévoir étant donné que nous avons utilisé seulement des animaux en santé sans aucun historique de problème dermatologique.

Discussion de l'étude sur la prostate canine

Cette étude a démontré pour la première fois la localisation exacte de ces deux isoenzymes dans les structures prostatiques du chien. L'isoenzyme 5 α R1 est présente dans les cellules épithéliales basales et sécrétoires de la prostate tandis que la 5 α R3 est présente les cellules basales et dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Chez l'homme, les isoenzymes 5 α R1 et 5 α R2 ont été rapportés dans les cellules basales et sécrétoires et l'isoenzyme 5 α R3 a été principalement détecté dans les cellules basales^{104, 110}.

Des études utilisant des cellules prostatiques cancéreuses humaines démontrent que la délétion du gène codant pour 5 α R3 diminue de façon significative la production de DHT, confirmant l'importance de cette isoenzyme dans la production des hormones androgéniques⁹⁶. Dans une étude qui utilisait des cellules cancéreuses provenant de la prostate humaine, il a été démontré que les niveaux de 5 α R3 sont surexprimés dans certains cancers en comparaison avec des tissus normaux¹⁴². De plus, il est possible que l'isoenzyme 5 α R3 ne fasse pas partie de la même famille que les 5 α R1 et 5 α R2. De ce fait, on renforce l'observation suivant laquelle les 5 α R3 ne sont pas inhibées de façon performante par la dutastéride, une drogue androgénique très puissante qui inhibe les isoenzymes 5 α R1 et 5 α R2 et qui représente un traitement de choix pour l'HBP et certains cancers de la prostate chez l'homme et les animaux^{95, 142}. La finastéride est normalement considérée comme un inhibiteur sélectif de la 5 α R2. En contrepartie, la

dutastéride inhibe jusqu'à 45 fois plus la 5 α R1 et 2,5 fois plus la 5 α R2 que la finastéride²⁰¹. Concernant l'action de ces inhibiteurs sur l'action de la 5 α R3, la finastéride semble 50 fois moins puissante que la dutastéride dans l'inhibition de 5 α R3. Cependant, la capacité de ces médicaments à inhiber la 5 α R3 n'est pas claire, car une étude a démontré une inhibition de l'activité de la 5 α R3 par la dutastéride dans des cultures cellulaires avec des cellules HEK293 exprimant 5 α R3 de façon stable tandis qu'une autre étude a démontré que la dutastéride n'inhibait pas efficacement l'activité 5 α R3 exogène dans une lignée cellulaire d'ovaire de souris^{109, 142}.

Applications cliniques et projets futurs

Pour le moment, notre étude demeure un projet sans application clinique immédiate. Par contre, elle apporte des données inédites sur la localisation des isoenzymes 5 α R dans la peau et la prostate du chien. Par conséquent, nous pouvons utiliser ces résultats pour avancer dans les recherches cliniques futures.

Au niveau de la peau, les résultats de cette étude indiquent que les 5 α R1 et 5 α R3 pourraient représenter de possibles marqueurs pour comparer la peau de chiens en santé et celle de chiens atteints d'alopécie X, comme chez les humains avec l'AA, chez lesquels les follicules en phase anagène démontrent généralement une augmentation de l'activité de l'enzyme 5 α R résultant en une augmentation de la production de DHT^{106, 116, 178}.

Dans un projet futur, nous pourrions d'abord utiliser des chiens avec un diagnostic d'alopécie X pour déterminer s'il y a des différences entre l'intensité et l'expression des 5 α R1 et 5 α R3 dans les différentes régions corporelles quand on compare les endroits affectés et les endroits non touchés par cette condition en utilisant les techniques d'immunohistochimie et de PCR en temps réel. Si nous avons la confirmation que les endroits affectés comportent une présence accrue de 5 α R, qui suggère la participation de ces enzymes dans la pathogénie de l'alopécie X, nous pourrions faire une étude *in vivo* pour mieux tester l'utilisation des inhibiteurs de 5 α R comme traitement possible de cette condition.

Concernant la prostate, en plus d'élucider la distribution de 5 α R1 dans cet organe, notre étude a démontré la présence de 5 α R3 dans les cellules basales et dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Étant donné que chez le chien, le traitement de choix pour l'HBP et

certaines cancers de la prostate utilise normalement des drogues anti-androgéniques puissantes pour l'inhibition d'isoenzymes 5 α R1 et 5 α R2, mais non la 5 α R3^{109,142}, la recherche de drogues inhibitrices spécifiques pour cette isoenzyme doit être explorée. De ce fait, des cellules impliquées dans certaines pathologies prostatiques peuvent être sélectionnés et utilisées pour des cultures cellulaires pour tester de nouvelles molécules thérapeutiques. De cette façon, la compréhension sur le mécanisme d'action de DHT sur la prostate orchestré par la 5 α R3 et l'efficacité de l'inhibition hormonale des nouvelles drogues ayant pour cibles les isoenzymes 5 α R3 seront mieux comprises avec l'utilisation des techniques de laboratoire avant l'implication de chiens vivants.

Limites de l'étude

Pour élucider la localisation exacte des enzymes 5 α R1 et 5 α R3 dans les différentes structures de la peau et des follicules pileux dans différentes régions anatomiques chez les chiens beagles en santé, nous avons utilisé uniquement la technique d'immunohistochimie. Cette technique permet la localisation de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu, par la détection d'antigènes cibles à l'aide d'anticorps spécifiques. Une des limitations de notre étude était le nombre limité d'anticorps commercialement disponibles pour les 5 α R chez le chien. Les anticorps utilisés dans la présente étude pour 5 α R1 et 5 α R3 sont des anticorps disponibles sur le marché et présentent une réactivité croisée avec le chien selon le fabricant. Bien que ces anticorps aient déjà été testés et soient référencés par la compagnie^{96,202}, ce sont deux anticorps polyclonaux, dont les réactions non-spécifiques potentielles n'ont pas été caractérisées au préalable. Les anticorps peuvent être d'origine polyclonale ou monoclonale. Les anticorps polyclonaux se distinguent des anticorps monoclonaux qui, eux, regroupent un seul type d'anticorps reconnaissant un épitope spécifique de l'antigène. Or, il est bien connu que les anticorps monoclonaux sont plus spécifiques. La spécificité d'une réaction immunohistochimique est normalement vérifiée par deux sortes de contrôles : les contrôles positifs et négatifs. Les contrôles positifs et les contrôles négatifs doivent ensemble appuyer la spécificité de la technique de détection en vérifiant que le marquage identifie bien l'anticorps primaire fixé au tissu. Comme contrôles positifs, nous avons utilisé des échantillons de prostate, car les niveaux d'expression protéique de 5 α R y sont significativement plus élevés par rapport

aux autres tissus. Bien que nous ayons utilisé un contrôle négatif pour la technique d'immunohistochimie dans tous les échantillons testés, nous n'avons pas testé ces anticorps dans d'autres tissus ou lignées cellulaires canines qui se caractérisaient par l'absence complète de 5 α R1 et 5 α R3. Cela constituerait l'une des manières de s'assurer de la spécificité de ces anticorps. De plus, l'utilisation d'un contrôle isotype peut également apporter des informations plus précises sur l'spécificité d'un anticorps, par contre selon les recherches de l'auteur, ces anticorps sont disponibles sur le marché seulement pour l'isoenzyme 5 α R2.

La présence de l'enzyme 5 α R1 et 5 α R3 dans les différentes structures de la peau et des follicules pileux chez les chiens indique fortement l'existence d'un système de production locale de DHT dans la peau canine. Cependant, nous n'avons détecté que la présence d'enzymes, ce qui n'indique pas nécessairement l'activité enzymatique. Par conséquent, une autre limite importante de la présente étude réside dans le fait qu'elle ne fait que décrire la distribution des 5 α R dans les tissus cibles mais ne confirme pas l'activité de telles enzymes. Pour convertir la testostérone en DHT, les enzymes 5 α R agissent par réduction en utilisant le NADPH comme cofacteur. Ces enzymes n'ont pas besoin d'être clivées, phosphorylées ou déphosphorylées pour être activées. Bien que leur activité dépende des niveaux de substrats et de cofacteurs disponibles, l'augmentation de leurs niveaux d'expression est déjà un indicateur raisonnable de leur activité. Par contre, la façon idéale d'évaluer l'activité 5 α R tissulaire est de déterminer la conversion accrue de la testostérone en DHT, dont la concentration locale de DHT doit être augmentée. Une autre façon de déterminer l'activité des 5 α R consiste à évaluer directement la capacité de l'activité de réduction des 5 α R en tissus biologiques par différents essais enzymatiques²⁰³.

Conclusion

Nous avons démontré pour la première fois la localisation des enzymes $5\alpha R1$ et $5\alpha R3$ dans la peau normale, les follicules pileux et la prostate de chiens beagle en santé.

Dans la peau, notre étude démontre que la distribution des $5\alpha R1$ dans les différentes structures de la peau du chien concorde avec ce qui a été observé chez l'homme. Par contre, la distribution de la $5\alpha R3$ dans les différentes structures de la peau du chien diffère de celle qui est observée pour cette enzyme chez l'homme. Nos résultats suggèrent cependant que, comme l'homme, le chien possède aussi un système local de production de DHT dans ces structures avec une possible implication dans la régulation du cycle de croissance des poils étant donné leur présence dans la papille dermique du follicule pileux, une structure clé pour la régulation du cycle pileux. Dans ce contexte, nous avons confirmé ici que chez les chiens beagle en santé, il n'y a pas de différence au niveau de la $5\alpha R1$ et la $5\alpha R3$ dans des échantillons de peau prélevés sur des sites représentant des régions anatomiques normalement affectées et non affectées par l'alopecie X. Par conséquent, la détection d'une augmentation des $5\alpha R$ dans ces structures pourrait également servir de futur marqueur pour l'alopecie X chez les chiens.

Au niveau de la prostate, nous avons démontré pour la première fois la distribution des isoenzymes $5\alpha R1$ et $5\alpha R3$ dans cette glande chez le chien. Chez l'homme, plus particulièrement, l'activité de la $5\alpha R3$ contribue de façon importante à la production de DHT dans la prostate. De plus, la $5\alpha R3$ est surexprimée par certaines cellules cancéreuses de la prostate. Cependant, des études doivent encore être faites pour clarifier les rôles de la $5\alpha R3$ dans les désordres de la prostate chez le chien.

Finalement, nos résultats peuvent contribuer de manière significative à la recherche sur l'étiopathogénie de l'alopecie X chez le chien et ouvrent la porte vers la recherche de nouvelles modalités thérapeutiques ciblant les troubles de la peau et de la prostate impliquant les $5\alpha R$, notamment la $5\alpha R3$, chez l'espèce canine.

Bibliographie

1. Miller WHJr, Griffin CE, Campbell KL. Structure and function of the skin. In: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2013. p. 1-56.
2. Chu DH. Development and structure of skin. In: Fitzpatrick's dermatology in general medicine 7th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2012. p. 57-73
3. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European journal of dermatology*. 2002;12(4):390-9.
4. Lai-Cheong JE, McGrath JA. Structure and function of skin, hair and nails. Review article. *Medicine*. 2017;45(6):347-51.
5. Murphy GF. Histology of the skin. In: Elder D, Elenistas R, Jaworsky C, Johnson Jr B, editor. *Lever's histopathology of the skin* 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997. p. 5-45.
6. Fuchs E, Raghavan S. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. *Nature reviews Genetics*. 2002;3(3):199-209.
7. Arda O, Goksugur N, Tuzun Y. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clinics in dermatology*. 2014;32(1):3-13.
8. Wu X, Hammer JA. Melanosome transfer: it is best to give and receive. *Current opinion in cell biology*. 2014;29:1-7.
9. Brenner M, Hearing VJ. The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin. *Photochemistry and photobiology*. 2008;84(3):539-49.
10. Van Neste D, Tobin DJ. Hair cycle and hair pigmentation: dynamic interactions and changes associated with aging. *Micron (Oxford, England : 1993)*. 2004;35(3):193-200.
11. Hu DN, McCormick SA, Seedor JA, Ritterband DC, Shah MK. Isolation, purification and cultivation of conjunctival melanocytes. *Experimental eye research*. 2007;84(4):655-62.
12. Oshima H, Rochat A, Kedzia C, Kobayashi K, Barrandon Y. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells. *Cell*. 2001;104(2):233-45.
13. Olivry T, Moore PF, Affolter VK, Naydan DK. Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Archives of dermatological research*. 1996;288(10):579-85.

14. Ricklin ME, Roosje P, Summerfield A. Characterization of canine dendritic cells in healthy, atopic, and non-allergic inflamed skin. *Journal of clinical immunology*. 2010;30(6):845-54.
15. Muller EJ, Galichet A, Wiener D, Marti E, Drogemuller C, Welle M, et al. Keratinocyte biology and pathology. *Veterinary dermatology*. 2014;25(4):236-8.
16. Taieb A. [The keratinocyte]. *Pathologie-biologie*. 1992;40(2):85-93.
17. Suter MM, Schulze K, Bergman W, Welle M, Roosje P, Muller EJ. The keratinocyte in epidermal renewal and defence. *Veterinary dermatology*. 2009;20(5-6):515-32.
18. Lee AY, Kim NH, Choi WI, Youm YH. Less keratinocyte-derived factors related to more keratinocyte apoptosis in depigmented than normally pigmented suction-blistered epidermis may cause passive melanocyte death in vitiligo. *The Journal of investigative dermatology*. 2005;124(5):976-83.
19. Elias PM. Structure and function of the stratum corneum extracellular matrix. *The Journal of investigative dermatology*. 2012;132(9):2131-3.
20. Menon GK, Cleary GW, Lane ME. The structure and function of the stratum corneum. *International journal of pharmaceutics*. 2012;435(1):3-9.
21. Hales JM, Camp RD. Potent T cell stimulatory material with antigenic properties in stratum corneum of normal human skin. *The Journal of investigative dermatology*. 1998;110(5):725-9.
22. Lloyd DH, Patel AP. A structure and function of the skin. In: *BSAVA manual of Small animal dermatology* 2nd ed: Dorset UK: BSAVA Co; 2003. p. 1-10.
23. Balsa IM, Culp WT. Wound Care. *The Veterinary clinics of North America Small animal practice*. 2015;45(5):1049-65.
24. Scott G, Leopardi S, Printup S, Madden BC. Filopodia are conduits for melanosome transfer to keratinocytes. *Journal of cell science*. 2002;115(Pt 7):1441-51.
25. Nordlund JJ. Vitiligo: a review of some facts lesser known about depigmentation. *Indian journal of dermatology*. 2011;56(2):180-9.
26. Yang CC, Cotsarelis G. Review of hair follicle dermal cells. *Journal of dermatological science*. 2010;57(1):2-11.
27. Welle MM, Wiener DJ. The Hair Follicle: A Comparative Review of Canine Hair Follicle Anatomy and Physiology. *Toxicologic pathology*. 2016;44(4):564-74.

28. Meyer W. Hair follicles in domesticated mammals with comparison to laboratory animals and humans. In: Hair Loss Disorders in Domestic Animals 1st ed. Ames, IA: Wiley-blackwell; 2009. p. 43–62.
29. Mangelsdorf S, Vergou T, Sterry W, Lademann J, Patzelt A. Comparative study of hair follicle morphology in eight mammalian species and humans. Skin research and technology : official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI). 2014;20(2):147-54.
30. Genovese DW, Johnson TL, Lamb KE, Gram WD. Histological and dermatoscopic description of sphynx cat skin. Veterinary dermatology. 2014;25(6):523-9, e89-90.
31. Cotsarelis G, Botchkarev V. Biology of Hair Follicles. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008. p739-749.
32. Lecklenburg M. Anatomy and physiology of the hair follicle. In: Mecklenburg Linek M, Tobin DJ. Hair Loss Disorders in Domestic Animals. Ames, IA: Wiley-Blackwell; 2009. p. 22-3.
33. Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. Current biology : CB. 2009;19(3):R132-42.
34. Figure source: www.austincc.edu/apreview/PhysText/Integument.html.
35. Figure source: www.drhillhairloss.com/wp-content/uploads/2015/02/anatomy5.jpg.
36. Muntener T, Doherr MG, Guscetti F, Suter MM, Welle MM. The canine hair cycle - a guide for the assessment of morphological and immunohistochemical criteria. Veterinary dermatology. 2011;22(5):383-95.
37. Higgins CA, Westgate GE, Jahoda CA. From telogen to exogen: mechanisms underlying formation and subsequent loss of the hair club fiber. The Journal of investigative dermatology. 2009;129(9):2100-8.
38. Milner Y, Sudnik J, Filippi M, Kizoulis M, Kashgarian M, Stenn K. Exogen, shedding phase of the hair growth cycle: characterization of a mouse model. The Journal of investigative dermatology. 2002;119(3):639-44.
39. Paus R. Control of the hair cycle and hair diseases as cycling disorders. Curr Opin Dermatol. 1996;3:248-58.

40. Stenn KS, Paus R. Controls of hair follicle cycling. *Physiological reviews*. 2001;81(1):449-94.
41. Duverger O, Morasso MI. To grow or not to grow: hair morphogenesis and human genetic hair disorders. *Seminars in cell & developmental biology*. 2014;25-26:22-33.
42. Favarato ES, Conceicao LG. Hair cycle in dogs with different hair types in a tropical region of Brazil. *Veterinary dermatology*. 2008;19(1):15-20.
43. Diaz SF, Torres SM, Dunstan RW, Jessen CR. The effect of body region on the canine hair cycle as defined by unit area trichogram. *Veterinary dermatology*. 2004;15(4):225-9.
44. Lee J, Tumbar T. Hairy tale of signaling in hair follicle development and cycling. *Seminars in cell & developmental biology*. 2012;23(8):906-16.
45. Rompolas P, Greco V. Stem cell dynamics in the hair follicle niche. *Seminars in cell & developmental biology*. 2014;25-26:34-42.
46. Alcolea MP, Jones PH. Lineage analysis of epidermal stem cells. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2014;4(1):a015206.
47. Al-Bagdadi FA, Titkemeyer CW, Lovell JE. Hair follicle cycle and shedding in male beagle dogs. *American journal of veterinary research*. 1977;38(5):611-6.
48. Smith KR, Thiboutot DM. Thematic review series: skin lipids. Sebaceous gland lipids: friend or foe? *Journal of lipid research*. 2008;49(2):271-81.
49. Akimoto N, Sato T, Sakiguchi T, Kitamura K, Kohno Y, Ito A. Cell proliferation and lipid formation in hamster sebaceous gland cells. *Dermatology (Basel, Switzerland)*. 2002;204(2):118-23.
50. Zouboulis CC, Baron JM, Bohm M, Kippenberger S, Kurzen H, Reichrath J, et al. Frontiers in sebaceous gland biology and pathology. *Experimental dermatology*. 2008;17(6):542-51.
51. Murphrey MB, Bhimji SS. Histology, Apocrine Gland. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC; Jan 2018.
52. Atoji Y, Yamamoto Y, Suzuki Y. Apocrine sweat glands in the circumanal glands of the dog. *The Anatomical record*. 1998;252(3):403-12.
53. Reynolds HM, Walker CG, Dunbar PR, O'Sullivan MJ, Uren RF, Thompson JF, et al. Functional anatomy of the lymphatics draining the skin: a detailed statistical analysis. *Journal of Anatomy*. 2010;216(3):344-55.

54. Braverman IM. The cutaneous microcirculation. The journal of investigative dermatology Symposium proceedings. 2000;5(1):3-9.
55. Boulais N, Misery L. The epidermis: a sensory tissue. European journal of dermatology : EJD. 2008;18(2):119-27.
56. Evans HE, Christensen GC. The urogenital system - Male genital organs. In: Evans HE. Miller's anatomy of the dog. Philadelphia: WB Saunders Company; 1993. p. 504-31.
57. Smith J. Canine prostatic disease: a review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. Theriogenology. 2008;70(3):375-83.
58. Basinger R, Robinette RCL, Spaulding KA. Prostate. In: Slatter DH. Textbook of Small Animal Surgery. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2003. p. 1542-57.
59. Cunha GR, Cooke PS, Kurita T. Role of stromal-epithelial interactions in hormonal responses. Archives of histology and cytology. 2004;67(5):417-34.
60. Aaron L, Franco OE, Hayward SW. Review of Prostate Anatomy and Embryology and the Etiology of Benign Prostatic Hyperplasia. The Urologic clinics of North America. 2016;43(3):279-88.
61. Lai CL, van den Ham R, van Leenders G, van der Lugt J, Teske E. Comparative characterization of the canine normal prostate in intact and castrated animals. The Prostate. 2008;68(5):498-507.
62. Toivanen R, Shen MM. Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification. Development (Cambridge, England). 2017;144(8):1382-98.
63. McNeal JE, Haillot O, Yemoto C. Cell proliferation in dysplasia of the prostate: analysis by PCNA immunostaining. The Prostate. 1995;27(5):258-68.
64. Buttyan R, Shabsigh A, Perlman H, Colombel M. Regulation of Apoptosis in the Prostate Gland by Androgenic Steroids. Trends in endocrinology and metabolism: TEM. 1999;10(2):47-54.
65. Isaacs JT, Isaacs WB. Androgen receptor outwits prostate cancer drugs. Nature medicine. 2004;10(1):26-7.
66. Rossignol A, Villers A, Molinié V, et al. Histologie et immunohistochimie de la prostate du chien. Validité du modèle animal pour l'étude des lésions précancéreuses. Revue Méd Vét. 2004;155:21-6.

67. Bonkhoff H. Role of the basal cells in premalignant changes of the human prostate: a stem cell concept for the development of prostate cancer. *European urology*. 1996;30(2):201-5.
68. Bonkhoff H, Stein U, Remberger K. The proliferative function of basal cells in the normal and hyperplastic human prostate. *The Prostate*. 1994;24(3):114-8.
69. Angelsen A, Mecsei R, Sandvik AK, Waldum HL. Neuroendocrine cells in the prostate of the rat, guinea pig, cat, and dog. *The Prostate*. 1997;33(1):18-25.
70. Barone R. *Anatomie comparée des mammifères domestiques*. 3ème ed. Paris: Vigot; 2001; p.159-187.
71. England GC, Moxon R, Freeman SL. Stimulation of mating-induced uterine contractions in the bitch and their modification and enhancement of fertility by prostatic fluid. *Reproduction in domestic animals*. 2012;47(6):1-5.
72. Kelleher SL, McCormick NH, Velasquez V, Lopez V. Zinc in specialized secretory tissues: roles in the pancreas, prostate, and mammary gland. *Advances in nutrition (Bethesda, Md)*. 2011;2(2):101-11.
73. Nelson RW, Couto CG. Disorders of the prostate. In: *Small Animal Internal Medicine*. 3rd ed. St Louis, MO, USA: Elsevier Science Health Science Division; 2003. p. 927-93.
74. Shaneyfelt T, Husein R, Bublely G, Mantzoros CS. Hormonal predictors of prostate cancer: a meta-analysis. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2000;18(4):847-53.
75. Allen NE, Key TJ. The effects of diet on circulating sex hormone levels in men. *Nutrition research reviews*. 2000;13(2):159-84.
76. Coffey DS. Androgen action and the sex accessory tissues. In: E. Knobil and J. B. Neill. *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press; 1988. p. 1081-119.
77. Mooradian AD, Morley JE, Korenman SG. Biological actions of androgens. *Endocrine reviews*. 1987;8(1):1-28.
78. Manna PR, Dyson MT, Stocco DM. Regulation of the steroidogenic acute regulatory protein gene expression: present and future perspectives. *Molecular human reproduction*. 2009;15(6):321-33.
79. Wilson JD. The role of androgens in male gender role behavior. *Endocrine reviews*. 1999;20(5):726-37.

80. Sundaram K, Kumar N. Metabolism of testosterone in Leydig cells and peripheral tissues. In: Payne AH, Hardy MP, Russell LD. The Leydig cell 1st ed. Vienne: Cache River Press; 1996. p. 287-306.
81. Chen YD, Kraemer FB, Reaven GM. Identification of specific high density lipoprotein-binding sites in rat testis and regulation of binding by human chorionic gonadotropin. The Journal of biological chemistry. 1980;255(19):9162-7.
82. Clark BJ, Stocco DM. Expression of the steroidogenic acute regulatory (StAR) protein: a novel LH-induced mitochondrial protein required for the acute regulation of steroidogenesis in mouse Leydig tumor cells. Endocrine research. 1995;21(1-2):243-57.
83. Rosner W. Plasma steroid-binding proteins. Endocrinology and metabolism clinics of North America. 1991;20(4):697-720.
84. Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russell DW. Deletion of steroid 5 alpha-reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. Nature. 1991;354(6349):159-61.
85. Chang C. Androgens and Androgen Receptor: Mechanisms, Functions, and Clinical Applications. Springer Science & Business Media. 2002:451.
86. Wright AS, Thomas LN, Douglas RC, Lazier CB, Rittmaster RS. Relative potency of testosterone and dihydrotestosterone in preventing atrophy and apoptosis in the prostate of the castrated rat. The Journal of clinical investigation. 1996;98(11):2558-63.
87. Martikainen P, Isaacs JT. An organ culture system for the study of programmed cell death in the rat ventral prostate. Endocrinology. 1990;127(3):1268-77.
88. Trapman J, Brinkmann AO. The androgen receptor in prostate cancer. Pathology - Research and Practice. 1996;192(7):87-90.
89. Wang Y, McAlpine SR. Heat-shock protein 90 inhibitors: will they ever succeed as chemotherapeutics? Future medicinal chemistry. 2015;7(2):87-90.
90. Heinlein CA, Chang C. Androgen receptor (AR) coregulators: an overview. Endocrine reviews. 2002;23(2):175-200.
91. Feldman BJ, Feldman D. The development of androgen-independent prostate cancer. Nature reviews Cancer. 2001;1(1):34-45.
92. Schneider JJ, Horstmann PM. Effects of incubating desoxycorticosterone with various rat tissues. The Journal of Biological Chemistry. 1951;191:139-59.

93. Saunders FJ. Some aspects of relation of structure of steroids to their prostate stimulating effects. In: Vollmer EP. *Biology of the Prostate and Related Tissue*. 1st ed. Washington, DC, USA: Government Printing Office; 1963. p. 139–59.
94. Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. *Annual review of biochemistry*. 1994;63:25-61.
95. Langlois VS, Zhang D, Cooke GM, Trudeau VL. Evolution of steroid-5alpha-reductases and comparison of their function with 5beta-reductase. *General and comparative endocrinology*. 2010;166(3):489-97.
96. Uemura M, Tamura K, Chung S, Honma S, Okuyama A, Nakamura Y, et al. Novel 5 alpha-steroid reductase (SRD5A3, type-3) is overexpressed in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer science*. 2008;99(1):81-6.
97. Wang K, Fan DD, Jin S, Xing NZ, Niu YN. Differential expression of 5-alpha reductase isozymes in the prostate and its clinical implications. *Asian journal of andrology*. 2014;16(2):274-9.
98. Bernardi de Souza L, Paradis M, Zamberlam G, Benoit-Biancamano MO, Price C. Identification of 5alpha-reductase isoenzymes in canine skin. *Veterinary dermatology*. 2015;26(5):363-6, e80-1.
99. Span PN, van Bokhoven A, Smals AG, Sweep CG, Schalken JA. Partial sequencing and tissue distribution of the canine isoforms of steroid 5alpha-reductase type I and type II. *The Prostate*. 2000;44(3):233-9.
100. Aggarwal S, Thareja S, Verma A, Bhardwaj TR, Kumar M. An overview on 5alpha-reductase inhibitors. *Steroids*. 2010;75(2):109-53.
101. Azzouni F, Godoy A, Li Y, Mohler J. The 5 alpha-reductase isozyme family: a review of basic biology and their role in human diseases. *Advances in urology*. 2012;2012:530121.
102. Li J, Ding Z, Wang Z, Lu JF, Maity SN, Navone NM, et al. Androgen regulation of 5alpha-reductase isoenzymes in prostate cancer: implications for prostate cancer prevention. *PLoS One*. 2011;6(12):e28840.
103. Eicheler W, Dreher M, Hoffmann R, Happle R, Aumuller G. Immunohistochemical evidence for differential distribution of 5 alpha-reductase isoenzymes in human skin. *The British journal of dermatology*. 1995;133(3):371-6.

104. Aumuller G, Eicheler W, Renneberg H, Adermann K, Vilja P, Forssmann WG. Immunocytochemical evidence for differential subcellular localization of 5 alpha-reductase isoenzymes in human tissues. *Acta anatomica*. 1996;156(4):241-52.
105. Bayne EK, Flanagan J, Einstein M, Ayala J, Chang B, Azzolina B, et al. Immunohistochemical localization of types 1 and 2 5alpha-reductase in human scalp. *The British journal of dermatology*. 1999;141(3):481-91.
106. Thigpen AE, Silver RI, Guileyardo JM, Casey ML, McConnell JD, Russell DW. Tissue distribution and ontogeny of steroid 5 alpha-reductase isozyme expression. *The Journal of clinical investigation*. 1993;92(2):903-10.
107. Habib FK, Ross M, Bayne CW, Grigor K, Buck AC, Bollina P, et al. The localisation and expression of 5 alpha-reductase types I and II mRNAs in human hyperplastic prostate and in prostate primary cultures. *The Journal of endocrinology*. 1998;156(3):509-17.
108. Iehle C, Radvanyi F, Gil Diez de Medina S, Ouafik LH, Gerard H, Chopin D, et al. Differences in steroid 5alpha-reductase iso-enzymes expression between normal and pathological human prostate tissue. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 1999;68(5-6):189-95.
109. Yamana K, Labrie F, Luu-The V. Human type 3 5alpha-reductase is expressed in peripheral tissues at higher levels than types 1 and 2 and its activity is potently inhibited by finasteride and dutasteride. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2010;2(3):293-9.
110. Godoy A, Kawinski E, Li Y, Oka D, Alexiev B, Azzouni F, et al. 5alpha-reductase type 3 expression in human benign and malignant tissues: a comparative analysis during prostate cancer progression. *The Prostate*. 2011;71(10):1033-46.
111. Chavez B, Ramos L, Garcia-Becerra R, Vilchis F. Hamster SRD5A3 lacks steroid 5alpha-reductase activity in vitro. *Steroids*. 2015;94:41-50.
112. Span PN, Schalken JA, Sweep FG, Smals AG. Identification and partial characterization of two steroid 5 alpha-reductase isozymes in the canine prostate. *The Prostate*. 1998;34(3):222-30.
113. Fritsch M, Orfanos CE, Zouboulis CC. Sebocytes are the key regulators of androgen homeostasis in human skin. *The Journal of investigative dermatology*. 2001;116(5):793-800.

114. Itami S, Kurata S, Sonoda T, Takayasu S. Mechanism of action of androgen in dermal papilla cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1991;642:385-95.
115. Randall VA, Thornton MJ, Hamada K, Redfern CP, Nutbrown M, Ebling FJ, et al. Androgens and the hair follicle. Cultured human dermal papilla cells as a model system. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1991;642:355-75.
116. Luu-The V, Sugimoto Y, Puy L, Labrie Y, Lopez Solache I, Singh M, et al. Characterization, expression, and immunohistochemical localization of 5 alpha-reductase in human skin. *The Journal of investigative dermatology*. 1994;102(2):221-6.
117. Chen W, Zouboulis CC, Fritsch M, Blume-Peytavi U, Kodelja V, Goerdts S, et al. Evidence of heterogeneity and quantitative differences of the type 1 5alpha-reductase expression in cultured human skin cells--evidence of its presence in melanocytes. *The Journal of investigative dermatology*. 1998;110(1):84-9.
118. Bratka-Robia CB, Egerbacher M, Helmreich M, Mitteregger G, Benesch M, Bamberg E. Immunohistochemical localization of androgen and oestrogen receptors in canine hair follicles. *Veterinary dermatology*. 2002;13(2):113-8.
119. Cilotti A, Danza G, Serio M. Clinical application of 5alpha-reductase inhibitors. *Journal of endocrinological investigation*. 2001;24(3):199-203.
120. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018;68(1):7-30.
121. Krawiec DR, Heflin D. Study of prostatic disease in dogs: 177 cases (1981-1986). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1992;200(8):1119-22.
122. Maini A, Archer C, Wang CY, Haas GP. Comparative pathology of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *In vivo (Athens, Greece)*. 1997;11(4):293-9.
123. Root-Kusritz M. V. KJS. Prostatic diseases. . In: S. J. Ettinger ECF, editor. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat 2nd ed*. Philadelphia: WBSaunders Company; 2000. p. 1687-98.
124. Skinder D, Zacharia I, Studin J, Covino J. Benign prostatic hyperplasia: A clinical review. *JAAPA : official journal of the American Academy of Physician Assistants*. 2016;29(8):19-23.
125. Levine AC. Pathogenesis and medical management of benign prostatic hyperplasia. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 1995;6(4):128-32.

126. Johnston SD, Kamolpatana K, Root-Kustritz MV, Johnston GR. Prostatic disorders in the dog. *Animal reproduction science*. 2000;60-61:405-15.
127. Ho CK, Habib FK. Estrogen and androgen signaling in the pathogenesis of BPH. *Nature reviews Urology*. 2011;8(1):29-41.
128. Memon MA. Common causes of male dog infertility. *Theriogenology*. 2007;68(3):322-8.
129. Basinger RR, Luther PB. Prostatic disease. In: Bojrab MJ. *Disease mechanisms in small animal surgery*. Philadelphia: Lea & Fabiger; 1993. p. 538-44.
130. Finn ST, Wrigley RH. Ultrasonography and ultrasound-guided biopsy of the canine prostate. In: Kirk WR. *Current veterinary therapy X Small animal practice* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1989. p. 1227-39.
131. Williams J. Prostatic disease in the dog. In *Practice*. 1999(21):558–75.
132. Roehrborn CG, Boyle P, Nickel JC, Hoefner K, Andriole G. Efficacy and safety of a dual inhibitor of 5-alpha-reductase types 1 and 2 (dutasteride) in men with benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2002;60(3):434-41.
133. Kutzler MA, Yeager A. Prostatic diseases. In: Ettinger SJ, Feldeman EC. *Textbook of veterinary internal medicine*. St Louis: Elsevier; 2005. p. 1809-18.
134. Forrester SD, Purswell BJ. Diseases of the prostate. In: Leib MS, Monroe WE. *Practical Small Animal Internal Medicine*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1997. p. 367-82.
135. Lester PA, Keller ET. The comparative biology of skeletal metastasis. *Veterinary and comparative oncology*. 2003;1(3):131-9.
136. Waters DJ, Sakr WA, Hayden DW, Lang CM, McKinney L, Murphy GP, et al. Workgroup 4: spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman primates. *The Prostate*. 1998;36(1):64-7.
137. Bell FW, Klausner JS, Hayden DW, Feeney DA, Johnston SD. Clinical and pathologic features of prostatic adenocarcinoma in sexually intact and castrated dogs: 31 cases (1970-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1991;199(11):1623-30.
138. Obradovich J, Walshaw R, Goullaud E. The influence of castration on the development of prostatic carcinoma in the dog. 43 cases (1978-1985). *Journal of veterinary internal medicine*. 1987;1(4):183-7.

139. Teske E, Naan EC, van Dijk EM, Van Garderen E, Schalken JA. Canine prostate carcinoma: epidemiological evidence of an increased risk in castrated dogs. *Molecular and cellular endocrinology*. 2002;197(1-2):251-5.
140. Figure source : <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/prostate/statistics/>.
141. Waters DJ, Patronek GJ, Bostwick DG, Glickman LT. Comparing the age at prostate cancer diagnosis in humans and dogs. *Journal of the National Cancer Institute*. 1996;88(22):1686-7.
142. Titus MA, Li Y, Kozyreva OG, Maher V, Godoy A, Smith GJ, et al. 5alpha-reductase type 3 enzyme in benign and malignant prostate. *The Prostate*. 2014;74(3):235-49.
143. Hamilton JB. Effect of castration in adolescent and young adult males upon further changes in the proportions of bare and hairy scalp. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1960;20:1309-18.
144. Messenger AG. Androgen effects on hair growth. *Dermatologic therapy*. 1998(8):7-17.
145. Randall VA. The use of dermal papilla cells in studies of normal and abnormal hair follicle biology. *Dermatologic clinics*. 1996;14(4):585-94.
146. Jahoda CA. Cellular and developmental aspects of androgenetic alopecia. *Experimental dermatology*. 1998;7(5):235-48.
147. Courtois M, Loussouarn G, Hourseau C, Grollier JF. Hair cycle and alopecia. *Skin pharmacology : the official journal of the Skin Pharmacology Society*. 1994;7(1-2):84-9.
148. Kaufman KD. Androgen metabolism as it affects hair growth in androgenetic alopecia. *Dermatologic clinics*. 1996;14(4):697-711.
149. Kuster W, Happle R. The inheritance of common baldness: two B or not two B? *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1984;11(5 Pt 1):921-6.
150. Mella JM, Perret MC, Manzotti M, Catalano HN, Guyatt G. Efficacy and safety of finasteride therapy for androgenetic alopecia: a systematic review. *Archives of dermatology*. 2010;146(10):1141-50.
151. Goh C, Zippin JH. Androgenetic alopecia: diagnosis and treatment with a focus on recent genetic implications. *Journal of drugs in dermatology : JDD*. 2009;8(2):185-92.

152. Rossi A, Cantisani C, Melis L, Iorio A, Scali E, Calvieri S. Minoxidil use in dermatology, side effects and recent patents. *Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*. 2012;6(2):130-6.
153. Varothai S, Bergfeld WF. Androgenetic alopecia: an evidence-based treatment update. *American journal of clinical dermatology*. 2014;15(3):217-30.
154. Hawkshaw NJ, Hardman JA, Haslam IS, Shahmalak A, Gilhar A, Lim X, et al. Identifying novel strategies for treating human hair loss disorders: Cyclosporine A suppresses the Wnt inhibitor, SFRP1, in the dermal papilla of human scalp hair follicles. *PLoS biology*. 2018;16(5):e2003705.
155. Paradis M. Diagnostic de l'alopecie X. L'indispensable de dermatologie canine et féline. 2th ed. France: MED'COM; 2009. p. 225-9.
156. Miller W.H.Jr, Griffin CE, Campbell KL. Hair cycle arrest. In: *Small Animal Dermatology*. 7th ed. St. Louis, MO: Elsevier Mosby; 2013. p. 501-37.
157. Paradis M. An approach to symmetrical alopecia in the dog. *BSAVA Manual of small animal dermatology*. 2nd ed. 2012. p. 91-102.
158. Muntener T, Schuepbach-Regula G, Frank L, Rufenacht S, Welle MM. Canine noninflammatory alopecia: a comprehensive evaluation of common and distinguishing histological characteristics. *Veterinary dermatology*. 2012;23(3):206-e44.
159. Frank LA. Growth hormone-responsive alopecia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2005;226(9):1494-7.
160. Campbell KL. Growth hormone-related disorders in dogs. *Comp Small Anim Pract* 1988;10:477-81.
161. Schmeitzel LP. Sex hormone-related and growth hormone-related alopecias. *The Veterinary clinics of North America Small animal practice*. 1990;20(6):1579-601.
162. Fulla Y, Guignat L, Dugué M-A, Assié G, Bertagna X. Exploration biologique de la fonction corticotrope: biology of glucocorticoadrenal function. *RFL - Revue francophone des laboratoires*. 2009;416:35-48.
163. Schmeitzel LP, Lothrop CD, Jr. Hormonal abnormalities in Pomeranians with normal coat and in Pomeranians with growth hormone-responsive dermatosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1990;197(10):1333-41.

164. Mausberg EM, Drogemuller C, Leeb T, Dolf G, Rufenacht S, Welle M. Evaluation of the CTSL2 gene as a candidate gene for alopecia X in Pomeranians and Keeshonden. *Animal biotechnology*. 2007;18(4):291-6.
165. Mausberg EM, Drogemuller C, Dolf G, Rufenacht S, Welle M, Leeb T. Exclusion of patched homolog 2 (PTCH2) as a candidate gene for alopecia X in Pomeranians and Keeshonden. *The Veterinary record*. 2008;163(4):121-3.
166. Frank LA, Hnilica KA, Oliver JW. Adrenal steroid hormone concentrations in dogs with hair cycle arrest (Alopecia X) before and during treatment with melatonin and mitotane. *Veterinary dermatology*. 2004;15(5):278-84.
167. Cerundolo R, Lloyd DH, Persechino A, Evans H, Cauvin A. Treatment of canine Alopecia X with trilostane. *Veterinary dermatology*. 2004;15(5):285-93.
168. Frank L. Canine alopecia X. In: Mecklenburg L, Linek M, Tobin DJ. *Hair Loss Disorders in Domestic Animals*. Ames, IA: John Wiley & Sons; 2009. p. 148–55.
169. Argyris TS. Hair growth induced by damage. *Adv Biol Skin* 1967;9:339–56.
170. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ. Atrophic diseases of the adnexa. In: Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK. *Skin disease of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science; 2005. p. 494-7.
171. Rosser J, Edmund J. Growth Hormone-Responsive Dermatitis. In: Griffin CE, Knockla KW, Mc Donald JM. *Current veterinary dermatology: the science and art of therapy*. St Louis; 1993. p. 288-91.
172. Dicks P, Morgan CJ, Morgan PJ, Kelly D, Williams LM. The localisation and characterisation of insulin-like growth factor-I receptors and the investigation of melatonin receptors on the hair follicles of seasonal and non-seasonal fibre-producing goats. *The Journal of endocrinology*. 1996;151(1):55-63.
173. Nixon AJ, Ford CA, Oldham JM, Pearson AJ. Localisation of insulin-like growth factor receptors in skin follicles of sheep (*Ovis aries*) and changes during an induced growth cycle. *Comparative biochemistry and physiology Part A, Physiology*. 1997;118(4):1247-57.
174. Paradis M. Melatonin therapy in canine alopecia. In: Bonagura JD. *Current Veterinary Therapy XIII*. 13 ed ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. p. 546-9.

175. Leone F, Cerundolo R, Vercelli A, Lloyd DH. The use of trilostane for the treatment of alopecia X in Alaskan malamutes. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2005;41(5):336-42.
176. Frank LA, Watson JB. Treatment of alopecia X with medroxyprogesterone acetate. *Veterinary dermatology*. 2013;24(6):624-7, e153-4.
177. Albanese F, Malerba E, Abramo F, Miragliotta V, Fracassi F. Deslorelin for the treatment of hair cycle arrest in intact male dogs. *Veterinary dermatology*. 2014;25(6):519-22, e87-8.
178. Sawaya ME, Price VH. Different levels of 5alpha-reductase type I and II, aromatase, and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia. *The Journal of investigative dermatology*. 1997;109(3):296-300.
179. Stoll S, Dietlin C, Nett-Mettler CS. Microneedling as a successful treatment for alopecia X in two Pomeranian siblings. *Veterinary dermatology*. 2015;26(5):387-90, e88.
180. Aust MC, Knobloch K, Reimers K, Redeker J, Ipaktchi R, Altintas MA, et al. Percutaneous collagen induction therapy: an alternative treatment for burn scars. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2010;36(6):836-43.
181. Aust MC, Reimers K, Kaplan HM, Stahl F, Repenning C, Scheper T, et al. Percutaneous collagen induction-regeneration in place of cicatrization? *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS*. 2011;64(1):97-107.
182. Zeitter S, Sikora Z, Jahn S, Stahl F, Strauss S, Lazaridis A, et al. Microneedling: matching the results of medical needling and repetitive treatments to maximize potential for skin regeneration. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2014;40(5):966-73.
183. Oliveira IO, Lhullier C, Brum IS, Spritzer PM. The 5alpha-reductase type 1, but not type 2, gene is expressed in anagen hairs plucked from the vertex area of the scalp of hirsute women and normal individuals. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 2003;36(10):1447-54.
184. Taylor M, Ashcroft AT, Westgate GE, Gibson WT, Messenger AG. Glycosaminoglycan synthesis by cultured human hair follicle dermal papilla cells: comparison with non-follicular dermal fibroblasts. *The British journal of dermatology*. 1992;126(5):479-84.

185. Fusenig NE, Limat A, Stakr H-J, Breitkreutz D. Modulation of the differentiated phenotype of keratinocytes of the hair follicle and from epidermis. *Journal of Dermatological Science*. 1994;1(7):142-51.
186. Simmons JK, Hildreth BE, Supsavhad W, Elshafae SM, Hassan BB, Dirksen WP, et al. Animal Models of Bone Metastasis. *Veterinary pathology*. 2015;52(5):827-41.
187. Kobayashi T, Fujisawa A, Amagai M, Iwasaki T, Ohyama M. Molecular biological and immunohistological characterization of canine dermal papilla cells and the evaluation of culture conditions. *Veterinary dermatology*. 2011;22(5):414-22.
188. Thornton MJ, Laing I, Hamada K, Messenger AG, Randall VA. Differences in testosterone metabolism by beard and scalp hair follicle dermal papilla cells. *Clinical endocrinology*. 1993;39(6):633-9.
189. Hamada K, Thornton MJ, Laing I, Messenger AG, Randall VA. The metabolism of testosterone by dermal papilla cells cultured from human pubic and axillary hair follicles concurs with hair growth in 5 alpha-reductase deficiency. *The Journal of investigative dermatology*. 1996;106(5):1017-22.
190. Thornton MJ, Hamada K, Messenger AG, Randall VA. Androgen-dependent beard dermal papilla cells secrete autocrine growth factor(s) in response to testosterone unlike scalp cells. *The Journal of investigative dermatology*. 1998;111(5):727-32.
191. Inamatsu M, Matsuzaki T, Iwanari H, Yoshizato K. Establishment of rat dermal papilla cell lines that sustain the potency to induce hair follicles from afollicular skin. *The Journal of investigative dermatology*. 1998;111(5):767-75.
192. Couchman JR. Hair follicle proteoglycans. *The Journal of investigative dermatology*. 1993;101(1 Suppl):60s-4s.
193. Itami S, Kurata S, Takayasu S. 5 alpha-reductase activity in cultured human dermal papilla cells from beard compared with reticular dermal fibroblasts. *The Journal of investigative dermatology*. 1990;94(1):150-2.
194. Gerhards NM, Sayar BS, Origgi FC, Galichet A, Muller EJ, Welle MM, et al. Stem Cell-Associated Marker Expression in Canine Hair Follicles. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 2016;64(3):190-204.

195. Sellheyer K, Nelson P. The concept of the onychodermis (specialized nail mesenchyme): an embryological assessment and a comparative analysis with the hair follicle. *Journal of cutaneous pathology*. 2013;40(5):463-71.
196. Mercati F, Pascucci L, Gargiulo AM, Dall'Aglio C, Ceccarelli P. Immunohistochemical evaluation of intermediate filament nestin in dog hair follicles. *Histology and histopathology*. 2008;23(9):1035-41.
197. Kaufman KD. Androgens and alopecia. *Molecular and cellular endocrinology*. 2002;198(1-2):89-95.
198. Trueb RM. Molecular mechanisms of androgenetic alopecia. *Experimental gerontology*. 2002;37(8-9):981-90.
199. Jamin C. L'alopecie androgénogénétique. *Ann Dermatol Venereol*. 2002;129:801-3.
200. Liberato MH, Sonohara S, Brentani MM. Effects of androgens on proliferation and progesterone receptor levels in T47D human breast cancer cells. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 1993;14(1):38-45.
201. Kim EH, Brockman JA, Andriole GL. The use of 5-alpha reductase inhibitors in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Asian Journal of Urology*. 2018;5(1):28-32.
202. Sanchez P, Torres JM, Olmo A, O'Valle F, Ortega E. Effects of environmental stress on mRNA and protein expression levels of steroid 5alpha-Reductase isozymes in adult rat brain. *Hormones and behavior*. 2009;56(3):348-53.
203. Iwai A, Yoshimura T, Wada K, Watabe S, Sakamoto Y, Ito E, et al. Spectrophotometric method for the assay of steroid 5alpha-reductase activity of rat liver and prostate microsomes. *Analytical sciences : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*. 2013;29(4):455-9.

Annexe 1. Chapitre de livre - Current Veterinary Therapy XVI 2019

(Le manuscrit a été envoyé aux éditeurs et il est en préparation pour la publication)

CHAPTER 135 - ALOPECIA X

Lucilene Bernardi de Souza, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada

Alopecia X, most recently also called hair cycle arrest, has been described in dogs as a noninflammatory alopecia affecting mainly Nordic and “plush-coated” breeds (e.g., Samoyed, Alaskan Malamute, Pomeranian, chow chow, and keeshound) and miniature poodles. Although several names and hypotheses have been proposed in the past, the pathomechanism of this disease is unknown. This hair cycle disorder may derive from genetic abnormalities but unidentified hormonal imbalance and/or a change in hormones receptors sensitivity at the hair follicle level have been proposed (Miller et al., 2013; Bernardi de Souza et al., 2015). A recent study suggests that alopecia X is related to a misregulation in genes coding for enzymes involved in sex hormones metabolism in dogs, reinforcing the potential role of sex hormones in this disorder (Brunner, 2017).

CLINICAL FEATURES

This condition occurs in both sexes regardless of neuter status, and generally in adult dogs. The initial clinical sign is a progressive loss of hair in frictional areas (around the neck, tail, caudal thighs and perineum) resulting in a dull coat. Gradually, the alopecia spreads to the truncal region and eventually the exposed skin may become hyperpigmented, mimicking some endocrine alopecias. Usually, head and legs are spared and these dogs are otherwise healthy. An interesting feature associated with alopecia X is the regrowth of tufts of hair at sites of skin trauma such a biopsy, surgery, scratches and wound, indicating that skin damage can induce anagen phase in affected dogs (Miller et al., 2013).

DIAGNOSIS

The breed affected, the history related to the clinical course of the alopecia, and the physical findings are considered important indicators that lead to suspect of alopecia X. However, alopecia X diagnosis is normally obtained by exclusion of other alopecic disorders. Endocrinopathies that can cause hair cycle arrest (e.g., hypothyroidism, hyperadrencorticism, and hyperstrogenism), sebaceous adenitis, telogen defluxion, and other follicular dysplasias should be ruled out.

Laboratory tests as serum biochemical profiles, CBC, urinalysis, thyroid and adrenal function may be required to rule out other differentials. Once systemic abnormalities have been excluded, skin biopsies are generally recommended and can be useful to assist the diagnosis and eliminate inflammatory disorders. Histopathology generally reveals nonspecific changes of skin endocrinopathy and this exam cannot differentiate alopecia X from other endocrine diseases (Miller et al, 2013). However, in many cases the presence of excessive trichilemmal keratinisation (flame follicles) is suggestive of this disorder (Gross, 2005).

TREATMENT AND MANAGEMENT

Several treatment modalities have been proposed; nevertheless the success rate and therapeutic responses are variable.

Castration is the first-line treatment in intact dogs. It results in 50-75% of complete hair regrowth (Miller et al., 2013).

Oral **melatonin** (3 to 6 mg/dog q8-12h, PO for 3-4 months) is the treatment of choice if castration is ineffective. Melatonin is safe, economical and effective in up to 40% of cases. Sedation and insulin resistance (at high doses) may occur as adverse effects (Paradis, 1999).

Two drugs used to treat hyperadrenocorticism have been used to manage some dogs with alopecia X. **Mitotane** (Lysodren®, Bristol-Myers Squibb) at induction dose 15 to 20 mg/kg q 24h, PO and maintenance dose 25 to 50 mg/kg 2-3 times weekly cause selective necrosis of the adrenal cortex, and has been shown to be efficacious in approximately in 50% of cases. Adverse effects (e.g., hypoadrenocorticism) must occur, and therefore close monitoring is required (Frank et al., 2004). **Trilostane** (Vetoryl®, Dechra) at ranged doses from 3 mg/kg (large and medium breeds) to 10.8 mg/kg/day (small breeds) PO, promotes partial-to-complete hair regrowth in more than 90% of Pomeranian and miniature poodles (Cerundolo et al., 2004). The exact mechanisms by which trilostane cause hair regrowth in dogs with alopecia X have not been identified.

Treatment with a single subcutaneous **deslorelin** implant dose 4.7mg (Suprelorin®, Virbac) has successfully promoted hair regrowth in 75% intact male dogs (Albanese et al., 2014). **Medroxyprogesterone acetate** injections (5 to 10 mg/kg monthly, SC) promote hair regrowth in 40-60% of cases and no adverse effects were reported in neutered dogs (Frank and Watson, 2013).

Microneedling is a new technique described to induce hair regrowth in dogs with alopecia X. Under general anesthesia, the skin is punctured with a medical dermaroller (Wolfenbüttel, Germany) with microneedles of 2.5 mm in length. Baths with antiseptic shampoo and hydration of the skin are recommended before the procedure. After treatment, 2% chlorhexidine spray and analgesic drugs (e.g. tramadol) can be used to prevent infections and reduce patient's discomfort, respectively. Steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs are not recommended (Stoll et al., 2015).

In summary, treatments are not always effective and unless associated with secondary skin infections, alopecia X appears to be a cosmetic disorder and, in those cases, no treatment can be considered a valid option.

References and Suggested Reading

Albanese F, Malerba E, Abramo F, et al. Deslorelin for treatment of hair cycle arrest in intact male dogs. *Vet Dermatol* 2014; 25:519-522.

Bernardi de Souza L, Paradis M, Zamberlam G, et al. Identification of 5 α -reductase isoenzymes in canine skin. *Vet Dermatol* 2015; 26:363-381.

Brunner MAT, Jagannathan V, Waluk D, et al. Novel insights into the pathways regulating the canine hair cycle and their deregulation in alopecia X. *PLoS One* 2017; 12: 1-14.

Cerundolo R, Lloyd DH, Persechino A, et al. Treatment of canine Alopecia X with trilostane. *Vet Dermatol* 2004; 15: 285-293.

Frank LA. Endocrine and metabolic diseases. In: Miller WH, Griffin CE, Campbell KL, eds. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*. 7th ed. St. Louis: Elsevier Mosby, 2013; 501-237.

Frank LA, Hnilica KA, Oliver JW. Adrenal steroid hormone concentrations in dogs with hair cycle arrest (Alopecia X) before and during treatment with melatonin and mitotane. *Vet Dermatol* 2004; 15: 278-284.

Frank LA, Watson JB. Treatment of alopecia X with medroxyprogesterone acetate. *Vet Dermatol* 2013; 24: 624-e154.

Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, et al. Atrophic diseases of the adnexa. In: Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK, eds. *Skin disease of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science, 2005; 494-497.

Paradis M. Melatonin therapy in canine alopecia. In: Bonagura JD, ed. *Current Veterinary Therapy XIII*. 13 ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999; 546-549.

Stoll S, Dietlin C, Nett-Mettler CS. Microneedling as a successful treatment for alopecia X in two Pomeranian siblings. *Vet Dermatol* 2015; 26:387-e88.

NEPASCOPE

Annexe 2. Projet de recherche 5 α R : Première étape

(Article publié dans le journal Veterinary Dermatology)

Identification of 5 α -reductase isoenzymes in canine skin

Lucilene B. Souza*, Manon Paradis*, Gustavo O. Zamberlam†, Marie-Odile Benoit-Biancamano ‡ and Christopher Price†

* Department of Veterinary Clinical Sciences, Faculté de Médecine Vétérinaire, University of Montreal, Saint Hyacinthe, Québec, Canada

† Centre de recherche en reproduction animale, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, QC, Canada

‡ Department of Veterinary Pathology, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, QC, Canada

Conflict of interest: No conflict of interest.

Sources of Funding: This study was supported by research grants from the Rosenbloom family and the Fonds du centenaire of the Faculté de Médecine Vétérinaire, University of Montreal.

Short running head: 5 α -reductase isoenzymes

ABSTRACT

Background - Alopecia X in dogs is a noninflammatory alopecia that may be caused by a hormonal dysfunction, similar to androgenic alopecia in men that is caused by higher levels of dihydrotestosterone (DHT). The 5 α -reductase isoenzymes, 5 α R1 and 5 α R2, and a recently described 5 α R3, are responsible for the conversion of testosterone into DHT. However, which 5 α -reductases are present in canine skin has not yet been described.

Objectives - The main objective of this study was to determine the pattern of expression of 5 α -reductase genes in canine skin.

Methods - Skin biopsies were obtained from healthy, intact young-mature Beagles (3 males, 4 females) at three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thorax). Prostate samples (n=3) were collected as positive controls for 5 α -reductase mRNA abundance measurement by real-time PCR.

Results - We detected mRNA encoding 5 α R1 and 5 α R3 but not 5 α R2. There were no significant differences in 5 α R1 and 5 α R3 mRNA levels between the different anatomic

regions, irrespective of gender ($p>0.05$). Moreover, the mean mRNA abundance in each anatomic region did not differ between males and females ($p>0.05$).

Conclusions and clinical importance - This is the first study demonstrating the expression of 5 α -reductases in canine skin, and to demonstrate the expression of 5 α R3 in this tissue. These results may help to elucidate the pathogenesis of alopecia X, and to determine more appropriate treatments for this disorder.

Introduction

Alopecia X (hair cycle arrest) has been described in dogs as a noninflammatory alopecia that affects predominantly “plush-coated” breeds (Chow Chow, Keeshound, Siberian husky, Alaskan malamute and Pomeranian) and miniature poodles.¹ This condition occurs in both sexes, generally in adult dogs, independent of their neuter status. The initial clinical sign is loss of hair in the frictional areas (around the neck, tail, caudal thighs and perineum). Gradually, the alopecia establishes in the truncal region and eventually the exposed skin may become hyperpigmented. The head and distal legs usually remain unaffected. The reason why some areas are more affected by alopecia X than others remains unknown.¹⁻³

The pathogenesis of this condition is unclear but several hypotheses have been proposed. Genetic disorders, abnormalities in the hair follicle receptors, and imbalance of gonadal and/or adrenal hormones may be involved.³ However, there is strong evidence of androgen influence on alopecia X. Treatments with antiandrogen drugs such as deslorelin⁴, osaterone acetate⁵ or physical castration^{6,7} resulted in significant hair regrowth in dogs with alopecia X. These results suggest that this disorder may be similar to androgenic alopecia (AGA) in humans, a genetic predisposition characterized by a progressive decline in the duration of the anagen phase of hair follicle growth caused by dihydrotestosterone (DHT).⁸

DHT is an androgen hormone converted from testosterone by the 5 α -reductase (5 α R) isoenzymes. In humans, type 1 (5 α R1) and type 2 (5 α R2) isoenzymes, and a recently described type 3 5 α R (5 α R3)⁹ are associated with DHT production. Studies with patients with AGA indicate a correlation between 5 α -reductases levels and hair loss in the affected areas.¹⁰ However, it is not known which 5 α -reductases are present in the skin in dogs.

The main objective of this study was to determine the pattern of expression of 5 α -reductase genes in normal canine skin. This is a crucial preliminary step for future studies that aim to clarify a potential correlation between 5 α -reductase activity and alopecia X in dogs.

Material and methods

Study population

All procedures related to animal care and experimentation were approved by the institutional animal care and use committee and follows the guidelines established by the Canadian Council on Animal Care.

Seven healthy, unrelated intact Beagles dogs (3 males and 4 females) with no history of skin disease were selected for this study. The age of animals varied from 9 months to 3 years (mean age 1.5 years). All dogs came from the same colony (CiToxLAB, Laval, QC, Canada) and were housed in the same manner in a controlled environment (21°C; artificial photoperiod of 12 h light and 12 hours of darkness). They were all euthanized for unrelated reasons immediately prior to biopsy collection.

Biopsy collection

Using a 8 mm biopsy punch, skin samples were obtained post-mortem from three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thoracic region). Prostate samples (n=3) were collected as positive controls for 5 α -reductase gene expression. The samples were stored in TRizol (Invitrogen) at -80°C until RNA extraction.

Nucleic acid extraction & RT-PCR

Total RNA was extracted from the skin biopsies using TRizol according to the manufacturer's instructions and quantified by absorbance at 260 nm. Total RNA (1 μ g) was first treated with 1 U of DNase (Promega) at 37°C for 5 min to digest any contaminating DNA, followed by incubation at 65°C for 5 min for DNase inactivation. The RNA was reverse transcribed in the presence of 1 mM oligo(dT) primer and 4 U of Omniscript RTase (Omniscript RT Kit; Qiagen), 0.25 mM dideoxy-nucleotide triphosphate (dNTP) mix, and 19.33 U of RNase Inhibitor (GE Healthcare) in a volume of 20 μ l at 37°C for 1 h. The reaction was terminated by incubation at 93°C for 5 min.

Real-time PCR was performed in a real-time thermal cycler (CFX96, BioRad) with SsoAdvanced Universal SYBR Green (BioRad). Canine-specific primer sequences were taken from the literature for ribosomal protein L13a (RLP13A)¹¹ whereas those for 5 α R1, 5 α R2 and 5 α R3 were designed with Primer Express (Applied Biosystems) and are given in Table 1. PCR was performed with dilutions of 1:32, 1:4, 1:2 and 1:2 cDNA for gene RLP13A, 5 α R1, 5 α R2 and 5 α R3 respectively. Common thermal cycling parameters (3 min at 95°C, 40 cycles of 45 s at 95°C, 30 s at 60°C and 30 s at 72°C) were used to amplify each transcript. Amplicon identity was established by sequencing

products of new primers and by melting-curve analyses conducted after every reaction. Samples were run in duplicate, and were expressed relative to RLP13A as housekeeping gene. Data were normalized to a calibrator sample using the Pfaffl $\Delta\Delta$ Ct method with correction for amplification efficiency.¹²

Statistical Analysis

Data that did not follow a normal distribution (Shapiro-Wilk test) were transformed to logarithms. Anatomic region and/or animal gender were used as main effects in the F-test. Differences between means were tested with the Tukey–Kramer HSD test. All analyses of data were performed with JMP software (SAS Institute). Data are presented as means \pm SEM.

Results

We detected mRNA encoding 5 α R1, 5 α R2 and 5 α R3 in canine prostate, but we could not detect 5 α R2 mRNA. We then determined the pattern of 5 α R1 and 5 α R3 gene expression in skin at different sites in healthy dogs. There were no significant differences in 5 α R1 and 5 α R3 mRNA levels between the different anatomic regions, irrespective of gender ($p>0.05$). Moreover, the mean mRNA abundance for both 5 α R1 and 5 α R3 in each anatomic region did not differ between males and females ($p>0.05$; Figure 1a). The average of mean mRNA values from all five anatomic regions was not significantly different between sexes for both 5 α R1 and 5 α R3 ($p>0.05$; Fig.1b).

Discussion

Alopecia X (hair cycle arrest) is an acquired noninflammatory alopecia in dogs whose pathogenesis remains an enigma, hence the term selected by some authors to name this disorder.³ Studies demonstrating clinical cure when using antiandrogen drugs or castration⁶ in dogs with alopecia X strongly suggest that this disorder may be similar to androgenic alopecia in humans (AGA), which involves DHT production from local activity of 5 α -reductase isoenzymes in the skin of affected areas.⁴⁻⁶ However, to our knowledge, it is still not known if and which 5 α -reductases are expressed in canine skin. This is the first report demonstrating the presence and the expression pattern of 5 α R genes in the skin of this species. Additionally, we also demonstrated for the first time that a recently described isoform in humans, 5 α R3⁹, is also found in canine prostate and skin.

To date, only two types of 5 α R had been identified in dogs: 5 α R1 and 5 α R2. These two isoforms were identified in many tissues. Besides the prostate, these enzymes can be found in adrenal gland, cerebellum, cerebrum, liver, testis, cardiac muscle, bladder wall, lung and pectoral muscle.¹³⁻¹⁵ We detected mRNA encoding 5 α R1 and 5 α R3 but not 5 α R2 in our canine skin samples. In humans, mRNA encoding 5 α R1, 5 α R2 and 5 α R3 are described in the skin, and 5 α R3 seems to be the most predominant isoenzyme detected, followed by 5 α R1 and 5 α R2.¹⁶⁻¹⁸ The absence of mRNA encoding 5 α R2 in canine skin in our study may represent a species-specific difference, although in human skin mRNA levels for 5 α R2 are very low in comparison to the other isoenzymes.¹⁸

In terms of the pattern of gene expression, in humans there is a correlation between 5 α -reductase levels and AGA. Both young women and young men had higher levels of 5 α R1 and 5 α R2 in affected areas in comparison to normal areas.¹⁰ In the present report, we measured mRNA levels for both 5 α R1 and 5 α R3 in five different anatomic regions: three anatomic sites normally affected by alopecia X (dorsal neck, back of thighs and base of tail) and two sites generally unaffected (dorsal head and ventral thorax).³ As mentioned, there was no significant difference for 5 α R1 and 5 α R3 mRNA levels between the different anatomic regions, irrespective of gender. These results were expected since healthy animals with no history of skin disorder were used. Nevertheless, we may hypothesize that in dogs with alopecia X, mRNA encoding 5 α -reductases may be more abundant in affected areas in comparison to unaffected areas. Future experiments will be performed to confirm this hypothesis. These findings may

help us to explain the reason why some areas of the body of the dog are more affected by alopecia X.

Alopecia X occurs in both sexes, independent of their neuter status.^{2,3} In the present study, the results indicated no difference for mRNA levels for both 5 α R1 and 5 α R3 between males and females. Considering that alopecia X does not occur exclusively in intact males, it suggests that the local conversion of testosterone into DHT in the skin may be a crucial step for the pathogenesis of this disorder. The 5 α -reductases present in the skin convert testosterone coming from the circulation to DHT. Hair follicles of humans affected with AGA demonstrate an increase in 5 α -reductase activity and consequently increased local levels of DHT.¹⁸⁻²⁰ Although we only evaluated 5 α -reductases at the mRNA level and not their activity, our results suggest the existence of a DHT conversion system in the skin of dogs.

In addition to AGA, DHT is the most potent and important androgen involved in several human disorders such as acne, seborrhoea, hirsutism, benign prostate hyperplasia and prostate cancer.¹⁹ The treatments of these diseases consist basically into reducing androgen levels through inhibition of the 5 α R activity.¹⁸⁻²⁰ Studies in humans with benign prostate hyperplasia have confirmed that 5 α R1 and 5 α R2 inhibitors effectively reduce prostate volume and control symptoms.¹⁹ Finasteride is an orally active 5 α R2 inhibitor causing a decrease in the conversion of testosterone into DHT approved for the treatment of benign prostatic hyperplasia and for AGA.²¹ Clinical studies in humans with AGA demonstrated a visible hair growth in up to 48% of men treated during 1 year with finasteride compared with 7% of hair growth in men that received placebo. This clinical improvement sustained a significantly reduced progression of hair loss in patients treated with finasteride during a period of five years. Dutasteride is an oral 5 α R1 and 5 α R2 inhibitor approved for the treatment of benign prostatic hyperplasia in man. It has been shown to provide significantly greater suppression of DHT than does finasteride although a recent study revealed that both drugs lead to similar reduction in prostate volume and improvement of symptoms associated with benign prostatic hyperplasia.²³⁻²⁶ These results indicate that 5 α -R inhibitors may be also effective in the treatment of alopecia X in dogs. Preliminary data from our group indicate that dutasteride has been effective in two dogs with alopecia X.

Although limited information is available of the role of 5 α R isoenzymes activity in canine tissues, the dog has been used as a model to test the role of 5 α R inhibitors in the treatment of prostate diseases. In canine prostate, previous analysis indicated the presence of 5 α R1 and 5 α R2, but predominantly 5 α R1. Treatment with finasteride reduces prostate size in dogs with benign prostatic hyperplasia.^{13, 27} This drug has been used in dogs and appears to be safe.^{27, 28} In addition, a recent study demonstrated that dutasteride contributes to control the clinical signs of prostatic adenocarcinoma in dogs.²⁹ Our study also demonstrated the presence of 5 α R3 in canine prostate. Interestingly, in human prostate tissues, 5 α R3 is inhibited poorly by dutasteride.³⁰ This finding represent a need to evaluate different or more specific 5 α -reductase inhibitors to this isoform with the objective to achieve better results in controlling prostatic diseases and alopecia X in dogs.

In summary, the results of the present study demonstrate for the first time the pattern of gene expression of 5 α R1 and 5 α R3 in total skin of normal healthy Beagle

dogs. More studies are needed to investigate the distribution, characteristics and activity of 5 α R isoenzymes in canine skin. We also intend to extend our investigation by showing a possible implication of 5 α R activity to the pathogenesis of alopecia X. These results may help to determine more appropriate treatments for this disorder.

References

1. Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Hair cycle arrest. In: *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*. 7th edition. St. Louis, MO: Elsevier Mosby, 2013; 501–537.
2. Frank LA, Hnilica KA, Oliver JW. Adrenal steroid hormone concentrations in dogs with hair cycle arrest (Alopecia X) before and during treatment with melatonin and mitotane. *Vet Dermatol* 2004; 15: 278-284.
3. Paradis M. An approach to symmetrical alopecia in the dog. In: Jackson H, Marsella R, eds. *BSAVA manual canine and feline dermatology*. 3rd edition. Gloucester, UK: BSAVA, 2012; 91-102.
4. Albanese F, Malerba E, Abramo F, Miragliotta V, Fracassi F. Deslorelin for the treatment of hair cycle arrest in intact male dogs. *Vet Dermatol* 2014; 25: 519-522.
5. Nagata M. Clinical approach to alopecia in dogs, in *Proceedings*. 36th World Small Animal Veterinary Congress 2011; 280-281.
6. Rosser E. Castration responsive dermatosis in the dog. In: von Tscharner C, Halliwell R, eds. *Advances in Veterinary Dermatology*, volume 1. London: Balliere-Tindall, 1990; 34–42.
7. Huang HP, Lien YH, Chang PH. Effect of castration on hair re-growth in Pomeranians with hair cycle arrest (alopecia X). *J Vet Sci* 2009; 1: 17–19.
8. Price VH. Androgenetic Alopecia in Women. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* 2003; 8: 24–27.
9. Uemura M, Tamura K, Chung S, Honma S, *et al*. Novel 5 alpha-steroid reductase (SRD5A3, type-3) is overexpressed in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Science* 2008; 99: 81-86.
10. Sawaya ME, Price VH. Different levels of 5 α -reductase type I and II, aromatase, and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia. *J Invest Dermatol* 1997; 109: 296-300.
11. Wood SH, Clements DN, McEwan NA, *et al*. Reference genes for canine skin when using quantitative real-time PCR. *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 15: 392-395.

12. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 2001; 29: 2002-2007.
13. Span PN, Van Bokhoven A, Smals AG, *et al.* Partial sequencing and tissue distribution of the canine isoforms of steroid 5 α -reductase type I and type II. *Prostate* 2000; 44: 233-239.
14. Span PN, Schalken JA, Sweep CGJ, *et al.* Identification and partial characterization of two steroid 5 α -reductase isozymes in the canine prostate. *Prostate* 1998; 34: 222–230.
15. Liang T, Cascieri MA, Cheung AH, *et al.* Species differences in prostatic steroid 5 α -reductases of rat, dog, and human. *Endocrinology* 1985; 117: 571–579.
16. Harris G, Azzolina B, Baginsky W, *et al.* Identification and selective inhibition of an isoenzyme of steroid 5 α -reductase in human scalp, in *Proceedings. National Academy of Sciences* 1992; 10787- 10791.
17. Oliveira OI, Lhullier C, Brum IS, *et al.* The 5 α -reductase type 1, but not type 2, gene is expressed in anagen hairs plucked from the vertex area of the scalp of hirsute women and normal individuals. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36: 1447-1454.
18. Yamana K, Labrie F, Luu-The V, *et al.* Human type 3 5 α -reductase is expressed in peripheral tissues at higher levels than types 1 and 2 and its activity is potently inhibited by finasteride and dutasteride. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation* 2010; 2: 293-299.
19. Cilotti A, Danza G, Serio M. Clinical application of 5 α -reductase inhibitors. *Journal of Endocrinological Investigation* 2001; 24: 199–203.
20. Azzouni F, Godoy A, Li Y, *et al.* The 5 alpha-reductase isozyme family: a review of basic biology and their role in human diseases. *Adv Urol* 2012; 2012: 1-18.
21. Rittmaster RS. Finasteride. *New England Journal of Medicine* 1994; 330: 120-125.
22. Kaufman KD. Androgens and alopecia. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2002; 198: 89-95.
23. Clark RV, Hermann DJ, Cunningham GR, *et al.* Marked suppression of dihydrotestosterone in men with benign prostatic hyperplasia by dutasteride, a dual 5 α -reductase inhibitor. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2179-2184.
24. Olszewska M, Rudnicka L. Effective treatment of female androgenic alopecia with dutasteride. *J Drugs Dermatol* 2005; 4: 637-640.

25. Olsen EA, Hordinsky M, Whiting D, Stough, *et al.* The importance of dual 5 α -reductase inhibition in the treatment of male pattern hair loss: results of a randomized placebo-controlled study of dutasteride versus finasteride. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55: 1014-1023.
26. Nickel JC, Gilling P, Tammela TL, *et al.* Comparison of dutasteride and finasteride for treating benign prostatic hyperplasia: the Enlarged Prostate International Comparator Study (EPICS). *BJU Int* 2011; 108: 388-394.
27. Laroque PA, Prahalada S, Gordon LR, *et al.* Effects of chronic oral administration of a selective 5 α -reductase inhibitor, finasteride, on the dog prostate. *Prostate* 1994; 24: 93–100.
28. Sirinarumitr K, Johnston SD, Kustritz MV, *et al.* Effects of finasteride on size of the prostate gland and semen quality in dogs with benign prostatic hypertrophy. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 15: 1275-1280.
29. Sharma R, Mahajan SK, Mohindroo J, *et al.* Clinical studies on diagnosis and management of prostatic adenocarcinoma in dogs. *Indian Journal of Veterinary Surgery* 2013; 34: 115-120.
30. Titus MA, Li Y, Kozyreva OG, *et al.* 5 α -Reductase type 3 enzyme in benign and malignant prostate. *Prostate* 2014; 74: 235-249.

Figure legends

Table 1.

Gene	Sense (5'- 3')	Antisense (3'- 5')	Accession number
5 α R1	CGCAACGGTCCTTGATT	GGGCATCGGCTTTCCT	NM_001287100.1
5 α R2	ACTCATTGCTCACTAGAGG	CTCAGCGCAGTAAATCAGA	NM_001287064.1
5 α R3	GCTGTGATTCACGTCGTCCA	ACATAGACGTTCCCTGCCATCC	XM_539274.4

Table 1. Primers used for real-time PCR.

Figure 1.

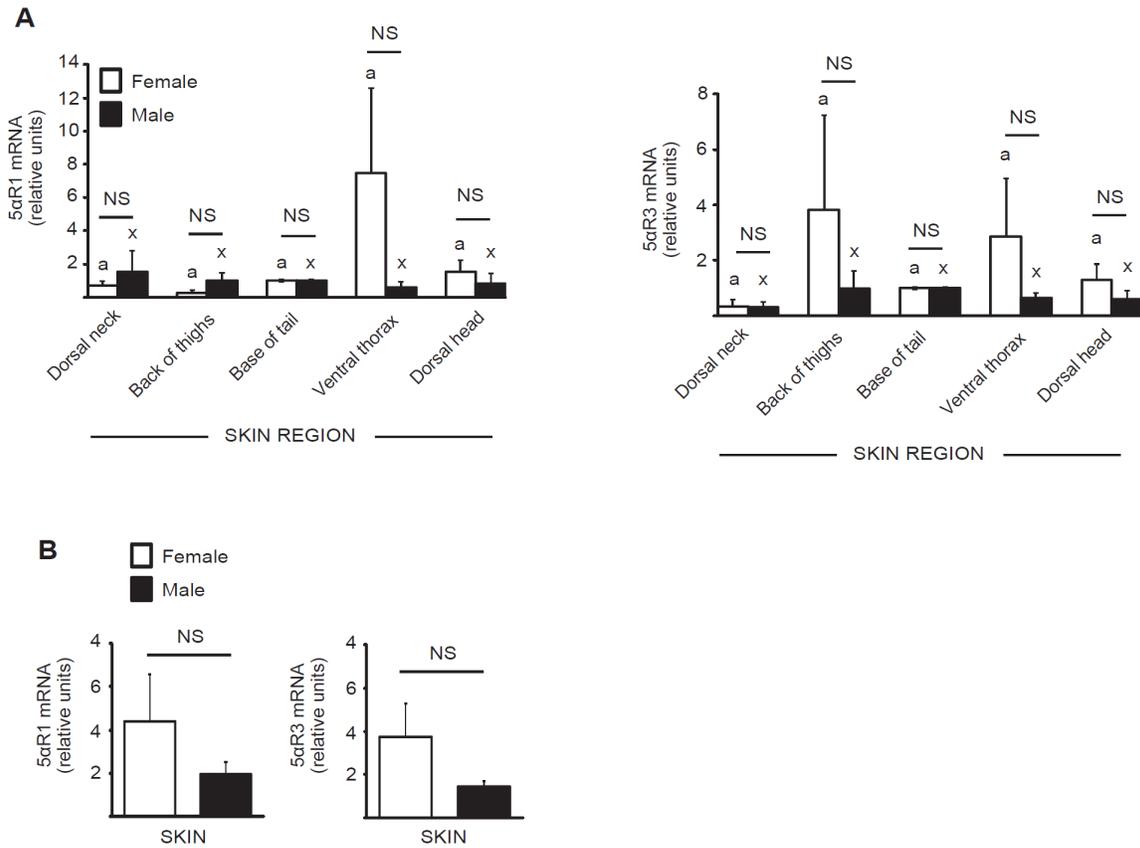


Figure 1. Relative abundance of 5αR1 and 5αR3 mRNA in canine skin. RNA was extracted from skin biopsies obtained from five different anatomic sites. Messenger RNA abundance was measured by real-time PCR. Data represent the mean ± SEM for samples collected from three males and four females. In **A**, the effect of anatomic region on 5αR gene expression is shown for each anatomic region in females and in males. Panel **B** shows the average mean mRNA values from all five anatomic regions for both 5αR1 and 5αR3 mRNA abundance in males compared with females. NS, not significant ($p > 0.05$).

Annexe 3. Femelles

Régions affectées : Cou dorsal => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: F-19462335 A	SaR1	SaR3	Number: F-1953967 A	SaR1	SaR3	Number: F-2021430 A	SaR1	SaR3	Number: F-2044367 A	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		++	-		+++	-		++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheath		+	+		+	+		+	+		+	++
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheath		+++	-		++	-		+++	-		+++	-
Inner root sheath		++	-		++	-		++	-		++	-
Hair cortex		++	-		++	-		++	-		++	-
Hair medulla/Matrix		++	-		+	-		++	-		++	-
Dermal papilla		+			+	++		+	++		+	++
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheath		-	++		-	++		-	+		-	++
Basement membrane		-	+		-	+		-	+		-	+
Outer root sheath		+++	-		++	-		++	-		++	-
Hair cortex		+	-		++	-		-	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		+++	-		++	-		+++	-		++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		+++	-		++	-		++	-		++	-
Others												
Blood vessels		++	++		++	++		++	+		++	++
Adipocytes		+	-		+	-		++	-		+	-
M arrector pili		+	-		++	-		++	-		++	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	++		+	++		++	++		++	++

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: F-19462335 A	SaR1	Number: F-1953967 A	SaR1	Number: F-2021430 A	SaR1	Number: F-2044367 A	SaR1		Moyenne SaR1
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum	0	0	0	0	0	0	0	0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum	2	2	2	2	2	2	2	2	Stratum granulosum	2
Stratum spinosum	2	2	2	2	2	2	2	2	Stratum spinosum	2
Stratum basale	2	2	2	3	2	2	2	2	Stratum basale	2,25
Basement membrane	0	0	0	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath	1	1	1	1	1	1	1	1	Dermal/fibrous sheath	1
Basement membrane	0	0	0	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheath	3	2	2	3	2	2	2	2	Outer root sheath	2,75
Inner root sheath	2	2	2	2	2	2	2	2	Inner root sheath	2
Hair cortex	2	2	2	2	2	2	2	2	Hair cortex	2
Hair medulla/Matrix	2	1	2	2	2	2	2	2	Hair medulla/Matrix	1,75
Dermal papilla	1	1	1	1	1	1	1	1	Dermal papilla	1
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath	0	0	0	0	0	0	0	0	Dermal/fibrous sheath	0
Basement membrane	0	0	0	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheath	3	2	2	2	2	2	2	2	Outer root sheath	2,25
Hair cortex	1	2	0	0	0	0	0	0	Hair cortex	0,75
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	3	2	2	3	2	2	2	2	Secretory cells	2,5
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	3	2	2	2	2	2	2	2	Sebaceous lobules	2,25
Others									Others	
Blood vessels	2	1	2	2	2	2	2	2	Blood vessels	1,75
Adipocytes	1	2	2	2	2	1	1	1	Adipocytes	1,5
M arrector pili	1	2	2	2	2	2	2	2	M arrector pili	1,75
Nerve fiber	1	1	1	1	1	1	1	1	Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole	2	1	1	2	2	2	2	2	Deep dermal arteriole	1,75

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: F-19462335 A	SaR3	Number: F-1953967 A	SaR3	Number: F-2021430 A	SaR3	Number: F-2044367 A	SaR3		Moyenne SaR3
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum	0	0	0	0	0	0	0	0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum	0	0	0	0	0	0	0	0	Stratum granulosum	0
Stratum spinosum	0	0	0	0	0	0	0	0	Stratum spinosum	0
Stratum basale	0	0	0	0	0	0	0	0	Stratum basale	0
Basement membrane	0	0	0	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath	1	1	1	1	1	2	2	2	Dermal/fibrous sheath	1,25
Basement membrane	0	0	0	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheath	0	0	0	0	0	0	0	0	Outer root sheath	0
Inner root sheath	0	0	0	0	0	0	0	0	Inner root sheath	0
Hair cortex	0	0	0	0	0	0	0	0	Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix	0	0	0	0	0	0	0	0	Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla	0	0	2	1	2	2	2	2	Dermal papilla	2
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath	2	2	2	1	2	2	2	2	Dermal/fibrous sheath	1,75
Basement membrane	0	0	0	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheath	0	0	0	0	0	0	0	0	Outer root sheath	0
Hair cortex	0	0	0	0	0	0	0	0	Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	0	0	0	0	0	0	0	0	Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	0	0	0	0	0	0	0	0	Sebaceous lobules	0
Others									Others	
Blood vessels	2	2	2	1	2	2	2	2	Blood vessels	1,75
Adipocytes	0	0	0	0	0	0	0	0	Adipocytes	0
M arrector pili	0	0	0	0	0	0	0	0	M arrector pili	0
Nerve fiber	0	0	0	0	0	0	0	0	Nerve fiber	0
Deep dermal arteriole	2	2	2	2	2	2	2	2	Deep dermal arteriole	2

Tableau final des moyennes des femelles

Région : cou dorsal

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2,25	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,75	0
Inner root sheat	2	0
Hair cortex	2	0
Hair medulla/Matrix	1,75	0
Dermal papilla	1	2
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0	1,75
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,25	0
Hair cortex	0,75	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,5	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,25	0
Others		
Blood vessels	1,75	1,75
Adipocytes	1,5	0
M arrector pili	1,75	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	1,75	2

Régions affectés : Arrière des cuisses => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: F-19462335 F	SaR1	SaR3	Number: F-1953967 F	SaR1	SaR3	Number: F-2021430 F	SaR1	SaR3	Number: F-20443	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		++	-		++	-		++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheat		-	+		+	NR		+	+		++	+
Basement membrane		-	-		-	NR		-	-		-	-
Outer root sheat		+++	-		+++	NR		+++	-		+++	-
Inner root sheat		++	-		++	NR		++	-		+++	-
Hair cortex		++	-		+	NR		+	-		+	-
Hair medulla/Matrix		+	-		+	NR		+	-		+	-
Dermal papilla		+	NR		++	NR		+	-		+	++
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheat		+	+		-	-		+	-		-	+
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheat		+++	-		++	-		++	-		+++	-
Hair cortex		-	-		++	-		-	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		++	-		+++	-		+++	-		+++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		+++	-		+++	-		++	-		+++	-
Others												
Blood vessels		++	++		++	-		+	-		++	++
Adipocytes		++	++		+	-		+	-		+	-
Marrow pili		++	-		++	-		+	-		++	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	+		++	+		+	+		++	+

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: F-19462335 F	SaR1	Number: F-1953967 F	SaR1	Number: F-2021430 F	SaR1	Number: F-20443	SaR1		Moyenne SaR1
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		2		2		2		2	Stratum granulosum	2
Stratum spinosum		2		2		2		2	Stratum spinosum	2
Stratum basale		2		2		2		2	Stratum basale	2
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheat		0		1		1		2	Dermal/fibrous sheat	1
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		3		3		3		3	Outer root sheat	3
Inner root sheat		2		2		2		3	Inner root sheat	2,25
Hair cortex		2		1		1		1	Hair cortex	1,25
Hair medulla/Matrix		1		1		1		1	Hair medulla/Matrix	1
Dermal papilla		1		2		1		1	Dermal papilla	1,25
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheat		1		0		1		0	Dermal/fibrous sheat	0,5
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		3		2		2		3	Outer root sheat	2,5
Hair cortex		0		2		0		0	Hair cortex	0,5
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells		2		3		3		3	Secretory cells	2,75
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules		3		3		2		3	Sebaceous lobules	2,75
Others									Others	
Blood vessels		2		2		1		2	Blood vessels	1,75
Adipocytes		2		1		1		1	Adipocytes	1,25
Marrow pili		2		2		1		2	Marrow pili	1,75
Nerve fiber		1		1		1		1	Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole		2		2		1		2	Deep dermal arteriole	1,75

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: F-19462335 F	SaR3	Number: F-1953967 F	SaR3	Number: F-2021430 F	SaR3	Number: F-20443 F	SaR3		Moyenne SaR3
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		0		0		0		0	Stratum granulosum	0
Stratum spinosum		0		0		0		0	Stratum spinosum	0
Stratum basale		0		0		0		0	Stratum basale	0
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheat		1		0		1		1	Dermal/fibrous sheat	0,75
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		0		0		0		0	Outer root sheat	0
Inner root sheat		0		0		0		0	Inner root sheat	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix		0		0		0		0	Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla		0		0		0		2	Dermal papilla	0,5
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheat		1		0		0		1	Dermal/fibrous sheat	0,5
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		0		0		0		0	Outer root sheat	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells		0		0		0		0	Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules		0		0		0		0	Sebaceous lobules	0
Others									Others	
Blood vessels		2		0		0		2	Blood vessels	1
Adipocytes		2		0		0		0	Adipocytes	0,5
Marrow pili		0		0		0		0	Marrow pili	0
Nerve fiber		0		0		0		0	Nerve fiber	0
Deep dermal arteriole		1		1		1		1	Deep dermal arteriole	1

Tableau final des moyennes des femelles

Région : arrière des cuisses

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	3	0
Inner root sheat	2,25	0
Hair cortex	1,25	0
Hair medulla/Matrix	1	0
Dermal papilla	1,25	1
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0,5	0,5
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,5	0
Hair cortex	0,5	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,75	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,75	0
Others		
Blood vessels	1,75	1
Adipocytes	1,25	0,5
M arrector pili	1,75	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	1,75	1

Régions affectées : Base de la queue => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: F-19462335	SaR1	SaR3	Number: F-1953967 G	SaR1	SaR3	Number: F-2021430 G	SaR1	SaR3	Number: F-2044367 G	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stratum granulosum	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Stratum spinosum	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Stratum basale	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Basement membrane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheath	-	++	-	+	++	-	++	++	-	+	+++	-
Basement membrane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Outer root sheath	+++	-	-	+++	-	-	+++	-	-	+++	-	-
Inner root sheath	+	-	-	++	-	-	+++	-	-	++	-	-
Hair cortex	+	-	-	+	-	-	++	-	-	+	-	-
Hair medulla/Matrix	-	-	-	+	-	-	++	-	-	+	-	-
Dermal papilla	-	++	-	++	+	-	+	+++	-	+	+++	-
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheath	+	++	-	-	+	-	-	-	-	-	++	-
Basement membrane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Outer root sheath	+++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Hair cortex	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells	+++	-	-	+++	-	-	+++	-	-	+++	-	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules	+++	-	-	+++	-	-	++	-	-	++	-	-
Others												
Blood vessels	++	+	-	++	++	-	+	+	-	++	+++	-
Adipocytes	++	-	-	+	-	-	++	-	-	+	-	-
M arrector pili	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Nerve fiber	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Deep dermal arteriole	++	++	-	++	++	-	++	++	-	++	+++	-

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: F-19462335	SaR1	Number: F-1953967 G	SaR1	Number: F-2021430 G	SaR1	Number: F-2044367 G	SaR1	Epiderme	Moyenne SaR1
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum	0		0		0		0		Stratum corneum	0
Stratum granulosum	2		2		2		2		Stratum granulosum	2
Stratum spinosum	2		2		2		2		Stratum spinosum	2
Stratum basale	2		2		2		2		Stratum basale	2
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath	0		1		2		1		Dermal/fibrous sheath	1
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	3		3		3		3		Outer root sheath	3
Inner root sheath	1		2		3		2		Inner root sheath	2
Hair cortex	1		1		2		1		Hair cortex	1,25
Hair medulla/Matrix	0		2		2		1		Hair medulla/Matrix	1
Dermal papilla	0		1		1		1		Dermal papilla	1
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath	1		0		0		0		Dermal/fibrous sheath	0,25
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	3		2		2		2		Outer root sheath	2,25
Hair cortex	0		2		0		0		Hair cortex	0,5
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	3		3		3		3		Secretory cells	3
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	3		3		2		2		Sebaceous lobules	2,5
Others									Others	
Blood vessels	2		2		1		2		Blood vessels	1,75
Adipocytes	2		1		2		1		Adipocytes	1,5
M arrector pili	2		2		2		2		M arrector pili	2
Nerve fiber	1		1		1		1		Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole	2		2		2		2		Deep dermal arteriole	2

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: F-19462335 G	SaR3	Number: F-1953967 G	SaR3	Number: F-2021430 G	SaR3	Number: F-2044367 G	SaR3	Epiderme	Moyenne SaR3
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum	0		0		0		0		Stratum corneum	0
Stratum granulosum	0		0		0		0		Stratum granulosum	0
Stratum spinosum	0		0		0		0		Stratum spinosum	0
Stratum basale	0		0		0		0		Stratum basale	0
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath	2		2		2		3		Dermal/fibrous sheath	2,25
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	0		0		0		0		Outer root sheath	0
Inner root sheath	0		0		0		0		Inner root sheath	0
Hair cortex	0		0		0		0		Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix	0		0		0		0		Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla	2		1		3		3		Dermal papilla	2,25
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath	2		1		0		3		Dermal/fibrous sheath	1,5
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	0		0		0		0		Outer root sheath	0
Hair cortex	0		0		0		0		Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	0		0		0		0		Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	0		0		0		0		Sebaceous lobules	0
Others									Others	
Blood vessels	1		2		1		3		Blood vessels	1,75
Adipocytes	0		0		0		0		Adipocytes	0
M arrector pili	0		0		0		0		M arrector pili	0
Nerve fiber	0		0		0		0		Nerve fiber	0
Deep dermal arteriole	2		2		2		3		Deep dermal arteriole	2,25

Tableau final des moyennes des femelles

Région : base de la queue

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	2,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	3	0
Inner root sheat	2	0
Hair cortex	1,25	0
Hair medulla/Matrix	1	0
Dermal papilla	1	2,25
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0,25	1,5
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,25	0
Hair cortex	0,5	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	3	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,5	0
Others		
Blood vessels	1,75	1,75
Adipocytes	1,5	0
M arrector pili	2	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	2	2,25

Régions non-affectées : Thorax ventral => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: F-19462335 C	SaR1	SaR3	Number: F-1953967 C	SaR1	SaR3	Number: F-2021430 C	SaR1	SaR3	Number: F-2044367 C	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		++	-		++	-		++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheath		-	++		+	+		NR	NR		++	++
Basement membrane		-	-		-	-		NR	NR		-	-
Outer root sheath		-	-		++	-		NR	NR		++	-
Inner root sheath		-	-		++	-		NR	NR		++	-
Hair cortex		++	-		++	-		NR	NR		+	-
Hair medulla/Matrix		-	-		+	-		NR	NR		+	-
Dermal papilla		-	+		+	++		NR	NR		+	+++
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheath		-	+		-	+		-	-		-	+
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheath		+++	-		++	-		++	-		++	-
Hair cortex		-	-		+	-		-	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		++	-		+++	-		++	-		++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		++	-		++	-		++	-		++	-
Others												
Blood vessels		++	+		+	-		++	++		++	++
Adipocytes		++	-		+	-		+	-		+	-
M. arrector pili		++	-		++	-		++	-		++	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	++		++	+		++	++		++	+

5AR type 1

	Number: F-19462335 C	SaR1	Number: F-1953967 C	SaR1	Number: F-2021430 C	SaR1	Number: F-2044367 C	SaR1		Moyenne SaR1
Epiderme										
Stratum corneum	0		0		0		0		Epiderme	0
Stratum granulosum	2		2		2		2		Stratum corneum	0
Stratum spinosum	2		2		2		2		Stratum granulosum	2
Stratum basale	2		2		2		2		Stratum spinosum	2
Basement membrane	0		0		0		0		Stratum basale	2
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheath	0		1		0		2		Hair follicle anagen phase	0
Basement membrane	0		0		0		0		Dermal/fibrous sheath	0,75
Outer root sheath	0		2		0		2		Basement membrane	0
Inner root sheath	0		2		0		2		Outer root sheath	1,33
Hair cortex	0		2		0		1		Inner root sheath	1,33
Hair medulla/Matrix	0		1		0		1		Hair cortex	0,75
Dermal papilla	0		1		0		1		Hair medulla/Matrix	0,66
									Dermal papilla	0,66
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheath	0		0		0		0		Hair follicle telogen phase	0
Basement membrane	0		0		0		0		Dermal/fibrous sheath	0
Outer root sheath	3		2		2		2		Basement membrane	0
Hair cortex	0		1		0		0		Outer root sheath	2,25
									Hair cortex	0,25
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells	2		3		2		2		Sweat glands (epitrichial)	2,25
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules	2		2		2		2		Sebaceous glands (holocrine)	2
Others										
Blood vessels	2		1		2		2		Others	1,75
Adipocytes	2		1		1		1		Blood vessels	1,25
M. arrector pili	2		2		2		2		Adipocytes	2,25
Nerve fiber	1		1		1		1		M. arrector pili	2
Deep dermal arteriole	2		2		2		2		Nerve fiber	1
									Deep dermal arteriole	2

5AR type 3

	Number: F-19462335 C	SaR3	Number: F-1953967 C	SaR3	Number: F-2021430 C	SaR3	Number: F-2044367 C	SaR3		Moyenne SaR3
Epiderme										
Stratum corneum	0		0		0		0		Epiderme	0
Stratum granulosum	0		0		0		0		Stratum corneum	0
Stratum spinosum	0		0		0		0		Stratum granulosum	0
Stratum basale	0		0		0		0		Stratum spinosum	0
Basement membrane	3		2		2		2		Stratum basale	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheath	2		1		2		2		Hair follicle anagen phase	1,66
Basement membrane	0		0		0		0		Dermal/fibrous sheath	0
Outer root sheath	0		0		0		0		Basement membrane	0
Inner root sheath	0		0		0		0		Outer root sheath	0
Hair cortex	0		0		0		0		Inner root sheath	0
Hair medulla/Matrix	0		0		0		0		Hair cortex	0
Dermal papilla	1		2		3		3		Hair medulla/Matrix	0
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheath	1		1		0		1		Hair follicle telogen phase	2
Basement membrane	0		0		0		0		Dermal/fibrous sheath	0,75
Outer root sheath	0		0		0		0		Basement membrane	0
Hair cortex	0		0		0		0		Outer root sheath	0
									Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells	0		0		0		0		Sweat glands (epitrichial)	0
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules	0		0		0		0		Sebaceous glands (holocrine)	0
Others										
Blood vessels	1		0		2		2		Others	1,25
Adipocytes	0		0		0		0		Blood vessels	0
M. arrector pili	0		0		0		0		Adipocytes	0
Nerve fiber	0		0		0		0		M. arrector pili	0
Deep dermal arteriole	2		1		2		1		Nerve fiber	0
									Deep dermal arteriole	1,5

Tableau final des moyennes des femelles

Région : ventral thorax

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1,66
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	1,33	0
Inner root sheat	1,33	0
Hair cortex	1	0
Hair medulla/Matrix	0,66	0
Dermal papilla	0,66	2
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0	0,75
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,25	0
Hair cortex	0,25	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,25	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2	0
Others		
Blood vessels	1,75	1,25
Adipocytes	1,25	0
M arrector pili	2	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	2	1,5

Régions non-affectées : Tête dorsal => transformation des marqueurs en chiffres

Classification : 0 = 0; 0-1 = +; 1-2= ++; 2-3= +++

	Number: F-19462335 A	5aR1	5aR3	Number: F-1953967 A	5aR1	5aR3	Number: F-2021430 A	5aR1	5aR3	Number: F-2044367 A	5aR1	5aR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		++	-		+++	-		++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheath		+	+		+	+		+	+		+	++
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheath		+++	-		++	-		+++	-		+++	-
Inner root sheath		++	-		++	-		++	-		++	-
Hair cortex		++	-		++	-		++	-		++	-
Hair medulla/Matrix		++	-		+	-		++	-		++	-
Dermal papilla		+	-		+	++		+	++		-	++
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheath		-	++		-	++		-	+		-	++
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheath		+++	-		++	-		++	-		++	-
Hair cortex		+	-		++	-		-	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		+++	-		++	-		+++	-		++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		+++	-		++	-		++	-		++	-
Others												
Blood vessels		++	++		+	++		++	+		++	++
Adipocytes		+	-		++	-		++	-		+	-
M arrector pili		+	-		++	-		++	-		++	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	++		+	++		++	++		++	++

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: F-19462335 A	5aR1	Number: F-1953967 A	5aR1	Number: F-2021430 A	5aR1	Number: F-2044367 A	5aR1		Moyenne 5aR1
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		2		2		2		2	Stratum granulosum	2
Stratum spinosum		2		2		2		2	Stratum spinosum	2
Stratum basale		2		2		3		2	Stratum basale	2,25
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath		1		1		1		1	Dermal/fibrous sheath	1
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		3		2		3		3	Outer root sheath	2,75
Inner root sheath		2		2		2		2	Inner root sheath	2
Hair cortex		2		2		2		2	Hair cortex	2
Hair medulla/Matrix		2		1		2		2	Hair medulla/Matrix	1,75
Dermal papilla		1		1		1		1	Dermal papilla	1
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath		0		0		0		0	Dermal/fibrous sheath	0
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		3		2		2		2	Outer root sheath	2,25
Hair cortex		1		2		0		0	Hair cortex	0,75
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells		3		2		3		2	Secretory cells	2,5
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules		3		2		2		2	Sebaceous lobules	2,25
Others									Others	
Blood vessels		2		1		2		2	Blood vessels	1,75
Adipocytes		1		2		2		1	Adipocytes	1,5
M arrector pili		1		2		2		2	M arrector pili	1,75
Nerve fiber		1		1		1		1	Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole		2		1		2		2	Deep dermal arteriole	1,75

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: F-19462335 A	5aR3	Number: F-1953967 A	5aR3	Number: F-2021430 A	5aR3	Number: F-2044367 A	5aR3		Moyenne 5aR3
Epiderme									Epiderme	
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		0		0		0		0	Stratum granulosum	0
Stratum spinosum		0		0		0		0	Stratum spinosum	0
Stratum basale		0		0		0		0	Stratum basale	0
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath		1		1		1		2	Dermal/fibrous sheath	1,25
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		0		0		0		0	Outer root sheath	0
Inner root sheath		0		0		0		0	Inner root sheath	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix		0		0		0		0	Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla				2		2		2	Dermal papilla	2
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath		2		2		1		2	Dermal/fibrous sheath	1,75
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		0		0		0		0	Outer root sheath	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells		0		0		0		0	Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules		0		0		0		0	Sebaceous lobules	0
Others									Others	
Blood vessels		2		2		1		2	Blood vessels	1,75
Adipocytes		0		0		0		0	Adipocytes	0
M arrector pili		0		0		0		0	M arrector pili	0
Nerve fiber		0		0		0		0	Nerve fiber	0
Deep dermal arteriole		2		2		2		2	Deep dermal arteriole	2

Tableau final des moyennes des femelles.

Région : tête dorsal

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2,25	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,75	0
Inner root sheat	2	0
Hair cortex	2	0
Hair medulla/Matrix	1,75	0
Dermal papilla	1	2
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0	1,75
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,25	0
Hair cortex	0,75	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,5	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,25	0
Others		
Blood vessels	1,75	1,75
Adipocytes	1,5	0
M arrector pili	1,75	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	1,75	2

Moyenne femelles régions non-affectées 5AR type 1 et 5AR type 3

	Dorsal head	Dorsal head	Ventral thorax	Ventral thorax
	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme				
Stratum corneum	0	0	0	0
Stratum granulosum	2	0	2	0
Stratum spinosum	2	0	2	0
Stratum basale	2,25	0	2	0
Basement membrane	0	0	0	0
Hair follicle anagen phase				
Dermal/fibrous sheat	1	1,25	1	1,66
Basement membrane	0	0	0	0
Outer root sheat	2,75	0	1,33	0
Inner root sheat	2	0	1,33	0
Hair cortex	2	0	1	0
Hair medulla/Matrix	1,75	0	0,66	0
Dermal papilla	1	2	0,66	2
Hair follicle telogen phase				
Dermal/fibrous sheat	0	1,75	0	0,75
Basement membrane	0	0	0	0
Outer root sheat	2,25	0	2,25	0
Hair cortex	0,75	0	0,25	0
Sweat glands (epitrichial)				
Secretory cells	2,5	0	2,25	0
Sebaceous glands (holocrine)				
Sebaceous lobules	2,25	0	2	0
Others				
Blood vessels	1,75	1,75	1,75	1,25
Adipocytes	1,5	0	1,25	0
M arrector pili	1,75	0	2	0
Nerve fiber	1	0	1	0
Deep dermal arteriole	1,75	2	2	1,5

Moyenne femelles régions affectées 5AR type 1 et 5AR type 3

	Dorsal neck	Dorsal neck	Back of thighs	Back of thighs	Base of tail	Base of tail
	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme						
Stratum corneum	0	0	0	0	0	0
Stratum granulosum	2	0	2	0	2	0
Stratum spinosum	2	0	2	0	2	0
Stratum basale	2	0	2	0	2	0
Basement membrane	0	0	0	0	0	0
Hair follicle anagen phase						
Dermal/fibrous sheat	1	2	1	1	1	2,25
Basement membrane	0	0	0	0	0	0
Outer root sheat	2,66	0	3	0	3	0
Inner root sheat	2	0	2,25	0	2	0
Hair cortex	1,66	0	1,25	0	1,25	0
Hair medulla/Matrix	2	0	1	0	1	0
Dermal papilla	1,66	2,25	1,25	1	1	2,25
Hair follicle telogen phase						
Dermal/fibrous sheat	0	1,75	0,5	0,5	0,25	1,5
Basement membrane	0	0	0	0	0	0
Outer root sheat	2,33	0	2,5	0	2,25	0
Hair cortex	0,33	0	0,5	0	0,5	0
Sweat glands (epitrichial)						
Secretory cells	2,75	0	2,75	0	3	0
Sebaceous glands (holocrine)						
Sebaceous lobules	2,25	0	2,75	0	2,5	0
Others						
Blood vessels	1,5	1,5	1,75	1	1,75	1,75
Adipocytes	1,5	0	1,25	0,5	1,5	0
M arrector pili	2	0	1,75	0	2	0
Nerve fiber	1,25	0	1	0	1	0
Deep dermal arteriole	2	1,5	1,75	1	2	2,25

Moyenne femelles (5 régions) 5AR type 1

	Dorsal head	Ventral thorax	Dorsal neck	Back of thighs	Base of tail
	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1
Epiderme					
Stratum corneum	0	0	0	0	0
Stratum granulosum	2	2	2	2	2
Stratum spinosum	2	2	2	2	2
Stratum basale	2,25	2	2	2	2
Basement membrane	0	0	0	0	0
Hair follicle anagen phase					
Dermal/fibrous sheat	1	1	1	1	1
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	2,75	1,33	2,66	3	3
Inner root sheat	2	1,33	2	2,25	2
Hair cortex	2	1	1,66	1,25	1,25
Hair medulla/Matrix	1,75	0,66	2	1	1
Dermal papilla	1	0,66	1,66	1,25	1
Hair follicle telogen phase					
Dermal/fibrous sheat	0	0	0	0,5	0,25
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	2,25	2,25	2,33	2,5	2,25
Hair cortex	0,75	0,25	0,33	0,5	0,5
Sweat glands (epitrichial)					
Secretory cells	2,5	2,25	2,75	2,75	3
Sebaceous glands (holocrine)					
Sebaceous lobules	2,25	2	2,25	2,75	2,5
Others					
Blood vessels	1,75	1,75	1,5	1,75	1,75
Adipocytes	1,5	1,25	1,5	1,25	1,5
M arrector pili	1,75	2	2	1,75	2
Nerve fiber	1	1	1,25	1	1
Deep dermal arteriole	1,75	2	2	1,75	2

Moyenne femelles (5 régions) 5AR type 3

	Dorsal head	Ventral thorax	Dorsal neck	Back of thighs	Base of tail
	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3
Epiderme					
Stratum corneum	0	0	0	0	0
Stratum granulosum	0	0	0	0	0
Stratum spinosum	0	0	0	0	0
Stratum basale	0	0	0	0	0
Basement membrane	0	0	0	0	0
Hair follicle anagen phase					
Dermal/fibrous sheat	1,25	1,66	2	1	2,25
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0
Inner root sheat	0	0	0	0	0
Hair cortex	0	0	0	0	0
Hair medulla/Matrix	0	0	0	0	0
Dermal papilla	2	2	2,25	1	2,25
Hair follicle telogen phase					
Dermal/fibrous sheat	1,75	0,75	1,75	0,5	1,5
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0
Hair cortex	0	0	0	0	0
Sweat glands (epitrichial)					
Secretory cells	0	0	0	0	0
Sebaceous glands (holocrine)					
Sebaceous lobules	0	0	0	0	0
Others					
Blood vessels	1,75	1,25	1,5	1	1,75
Adipocytes	0	0	0	0,5	0
M arrector pili	0	0	0	0	0
Nerve fiber	0	0	0	0	0
Deep dermal arteriole	2	1,5	1,5	1	2,25

Moyenne total des 5 régions (femelles)

Tableau conversion de la moyenne en +++ pour l'enzyme 5AR type 1

	Dorsal head Moyenne 5aR1	Ventral thorax Moyenne 5aR1	Dorsal neck Moyenne 5aR1	Back of thighs Moyenne 5aR1	Base of tail Moyenne 5aR1		Moyenne total 5aR1 F
Epiderme						Epiderme	
Stratum corneum	0	0	0	0	0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum	2	2	2	2	2	Stratum granulosum	2
Stratum spinosum	2	2	2	2	2	Stratum spinosum	2
Stratum basale	2,25	2	2	2	2	Stratum basale	2,05
Basement membrane	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase						Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheat	1	1	1	1	1	Dermal/fibrous sheat	1
Basement membrane	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheat	2,75	1,33	2,66	3	3	Outer root sheat	2,548
Inner root sheat	2	1,33	2	2,25	2	Inner root sheat	1,916
Hair cortex	2	1	1,66	1,25	1,25	Hair cortex	1,432
Hair medulla/Matrix	1,75	0,66	2	1	1	Hair medulla/Matrix	1,282
Dermal papilla	1	0,66	1,66	1,25	1	Dermal papilla	1,114
Hair follicle telogen phase						Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheat	0	0	0	0,5	0,25	Dermal/fibrous sheat	0,15
Basement membrane	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheat	2,25	2,25	2,33	2,5	2,25	Outer root sheat	2,316
Hair cortex	0,75	0,25	0,33	0,5	0,5	Hair cortex	0,466
Sweat glands (epitrichial)						Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	2,5	2,25	2,75	2,75	3	Secretory cells	2,65
Sebaceous glands (holocrine)						Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	2,25	2	2,25	2,75	2,5	Sebaceous lobules	2,35
Others						Others	
Blood vessels	1,75	1,75	1,5	1,75	1,75	Blood vessels	1,7
Adipocytes	1,5	1,25	1,5	1,25	1,5	Adipocytes	1,4
M arrector pili	1,75	2	2	1,75	2	M arrector pili	1,9
Nerve fiber	1	1	1,25	1	1	Nerve fiber	1,05
Deep dermal arteriole	1,75	2	2	1,75	2	Deep dermal arteriole	1,9

Moyenne total des 5 régions (femelles)

Tableau conversion de la moyenne en +++ pour l'enzyme 5AR type 3

	Dorsal head Moyenne 5aR3	Ventral thorax Moyenne 5aR3	Dorsal neck Moyenne 5aR3	Back of thighs Moyenne 5aR3	Base of tail Moyenne 5aR3		Moyenne total 5aR3 F
Epiderme						Epiderme	
Stratum corneum	0	0	0	0	0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum	0	0	0	0	0	Stratum granulosum	0
Stratum spinosum	0	0	0	0	0	Stratum spinosum	0
Stratum basale	0	0	0	0	0	Stratum basale	0
Basement membrane	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase						Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheat	1,25	1,66	2	1	2,25	Dermal/fibrous sheat	1,632
Basement membrane	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0	Outer root sheat	0
Inner root sheat	0	0	0	0	0	Inner root sheat	0
Hair cortex	0	0	0	0	0	Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix	0	0	0	0	0	Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla	2	2	2,25	1	2,25	Dermal papilla	1,9
Hair follicle telogen phase						Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheat	1,75	0,75	1,75	0,5	1,5	Dermal/fibrous sheat	1,25
Basement membrane	0	0	0	0	0	Basement membrane	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0	Outer root sheat	0
Hair cortex	0	0	0	0	0	Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)						Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	0	0	0	0	0	Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)						Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	0	0	0	0	0	Sebaceous lobules	0
Others						Others	
Blood vessels	1,75	1,25	1,5	1	1,75	Blood vessels	1,45
Adipocytes	0	0	0	0,5	0	Adipocytes	0
M arrector pili	0	0	0	0	0	M arrector pili	0
Nerve fiber	0	0	0	0	0	Nerve fiber	0
Deep dermal arteriole	2	1,5	1,5	1	2,25	Deep dermal arteriole	1,65

Annexe 4. Mâles

Régions affectées : Cou dorsal => transformation des marqueurs en chiffres

Classification : 0 = 0; 0-1 = +; 1-2= ++; 2-3= +++

	Number: M-1930063 B	SaR1	SaR3	Number: M-1935233 B	SaR1	SaR3	Number: M-19943325 B	SaR1	SaR3	Number: M-1945964 B	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		+	-		+	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		++	-		++	-		++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheath		+	+		+	+		+	++		+	++
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheath		+++	-		+++	-		+++	-		++	-
Inner root sheath		+++	-		+++	-		++	-		++	-
Hair cortex		++	-		++	-		++	-		+	-
Hair medulla/Matrix		++	-		++	-		++	-		+	-
Dermal papilla		++	++		++	++		+	+		+	++
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheath		+	+		+	+		-	++		+	++
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheath		++	-		++	-		+++	-		++	-
Hair cortex		+	-		+	-		-	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		+++	-		+++	-		++	-		++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		++	-		++	-		++	-		++	-
Others												
Blood vessels		++	++		++	++		++	++		++	+
Adipocytes		++	+		++	+		+	+		+	-
M arrector pili		++	-		++	-		++	-		+	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	++		++	++		++	++		+	++

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: M-1930063 B	SaR1	Number: M-1935233 B	SaR1	Number: M-19943325 B	SaR1	Number: M-1945964 B	SaR1	Epiderme	Moyenne SaR1
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		2		2		2		2	Stratum granulosum	2
Stratum spinosum		1		1		2		2	Stratum spinosum	2
Stratum basale		2		2		2		2	Stratum basale	2
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheath		1		1		1		1	Dermal/fibrous sheath	1
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		3		3		3		2	Outer root sheath	2,75
Inner root sheath		3		3		2		2	Inner root sheath	2,5
Hair cortex		2		2		2		1	Hair cortex	1,75
Hair medulla/Matrix		2		2		2		1	Hair medulla/Matrix	1,75
Dermal papilla		2		1		1		1	Dermal papilla	1,25
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheath		1		1		0		1	Dermal/fibrous sheath	0,75
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		2		2		3		2	Outer root sheath	2,25
Hair cortex		1		1		0		0	Hair cortex	0,5
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells		3		3		2		2	Secretory cells	2,5
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules		2		2		2		2	Sebaceous glands (holocrine)	2,25
Others										
Blood vessels		2		2		2		2	Blood vessels	2
Adipocytes		2		3		1		1	Adipocytes	1,75
M arrector pili		2		2		2		1	M arrector pili	1,75
Nerve fiber		1		1		1		1	Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole		2		3		2		1	Deep dermal arteriole	2

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: M-1930063 B	SaR3	Number: M-1935233 B	SaR3	Number: M-19943325 B	SaR3	Number: M-1945964 B	SaR3	Epiderme	Moyenne SaR3
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		0		0		0		0	Stratum granulosum	0
Stratum spinosum		0		0		0		0	Stratum spinosum	0
Stratum basale		0		0		0		0	Stratum basale	0
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheath		1		1		2		2	Dermal/fibrous sheath	1,5
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		0		0		0		0	Outer root sheath	0
Inner root sheath		0		0		0		0	Inner root sheath	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix		0		0		0		0	Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla		1		0		1		2	Dermal papilla	1,25
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheath		1		0		2		2	Dermal/fibrous sheath	1,25
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheath		0		0		0		0	Outer root sheath	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells		0		0		0		0	Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules		0		0		0		0	Sebaceous glands (holocrine)	0
Others										
Blood vessels		2		1		2		1	Blood vessels	1,5
Adipocytes		1		1		1		0	Adipocytes	0,75
M arrector pili		0		0		0		0	M arrector pili	0
Nerve fiber		0		0		0		0	Nerve fiber	0
Deep dermal arteriole		2		1		2		2	Deep dermal arteriole	1,75

Tableau final des moyennes des mâles

Région : cou dorsal

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	1,5	0
Stratum basale	2	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1,5
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,75	0
Inner root sheat	2,5	0
Hair cortex	1,75	0
Hair medulla/Matrix	1,75	0
Dermal papilla	1,25	1,25
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0,75	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,25	0
Hair cortex	0,5	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,5	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,25	0
Others		
Blood vessels	2	1,5
Adipocytes	1,75	0,75
M arrector pili	1,75	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	2	1,75

Régions affectées : Arrière des cuisses => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: M-1930063 F	SaR1	SaR3	Number: M-1935233 F	SaR1	SaR3	Number: M-19943325 F	SaR1	SaR3	Number: M-1945964 F	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		+++	-		+++	-		+++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheat		+	++		+	+		+	+		+	+
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheat		+++	-		+++	-		+++	-		+++	-
Inner root sheat		+++	-		+	-		+++	-		++	-
Hair cortex		++	-		++	-		++	-		++	-
Hair medulla/Matrix		+++	-		+	-		++	-		++	-
Dermal papilla		++	+		++	+		+	+		+	-
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheat		+	+		+	+		+	+		-	+
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheat		+++	-		++	-		+++	-		+++	-
Hair cortex		++	-		+	-		+	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		+++	-		++	-		+++	-		+++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		++	-		++	-		+++	-		++	-
Others												
Blood vessels		++	++		+	++		++	+		+	+
Adipocytes		++	+		++	-		++	-		+	-
M arrector pili		++	-		++	-		++	-		++	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	+		++	+		+	++		+	+

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: M-1930063 F	SaR1	Number: M-1935233 F	SaR1	Number: M-19943325 F	SaR1	Number: M-1945964 F	SaR1		Moyenne SaR1
Epiderme										
Stratum corneum	0		0		0		0		0	0
Stratum granulosum	2		2		2		2		2	2
Stratum spinosum	2		2		2		2		2	2
Stratum basale	2		3		3		3		3	2,75
Basement membrane	0		0		0		0		0	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheat	1		1		1		1		1	1
Basement membrane	0		0		0		0		0	0
Outer root sheat	3		3		3		3		3	3
Inner root sheat	3		1		3		2		2	2,25
Hair cortex	2		2		2		2		2	2
Hair medulla/Matrix	3		1		2		2		2	2
Dermal papilla	2		2		1		1		1	1,5
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheat	1		1		1		0		0	0,75
Basement membrane	0		0		0		0		0	0
Outer root sheat	3		2		3		3		3	3
Hair cortex	2		1		0		0		0	2,75
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells	3		2		3		3		3	2,75
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules	2		2		3		2		2	2,25
Others										
Blood vessels	2		1		2		1		1	1,5
Adipocytes	2		2		2		2		2	1,75
M arrector pili	2		2		2		1		1	2
Nerve fiber	1		1		1		1		1	1
Deep dermal arteriole	2		2		1		1		1	1,5

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: M-1930063 F	SaR3	Number: M-1935233 F	SaR3	Number: M-19943325 F	SaR3	Number: M-1945964 F	SaR3		Moyenne SaR3
Epiderme										
Stratum corneum	0		0		0		0		0	0
Stratum granulosum	0		0		0		0		0	0
Stratum spinosum	0		0		0		0		0	0
Stratum basale	0		0		0		0		0	0
Basement membrane	0		0		0		0		0	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheat	2		1		1		1		1	1,25
Basement membrane	0		0		0		0		0	0
Outer root sheat	0		0		0		0		0	0
Inner root sheat	0		0		0		0		0	0
Hair cortex	0		0		0		0		0	0
Hair medulla/Matrix	0		0		0		0		0	0
Dermal papilla	1		1		1		0		0	0,75
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheat	1		1		1		1		1	1
Basement membrane	0		0		0		0		0	0
Outer root sheat	0		0		0		0		0	0
Hair cortex	0		0		0		0		0	0
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells	0		0		0		0		0	0
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules	0		0		0		0		0	0
Others										
Blood vessels	2		2		1		1		1	1,5
Adipocytes	1		0		0		0		0	0,25
M arrector pili	0		0		0		0		0	0
Nerve fiber	0		0		0		0		0	0
Deep dermal arteriole	1		1		2		1		1	1,25

Tableau final des moyennes des mâles

Région : arrière des cuisses

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2,75	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	3	0
Inner root sheat	2,25	0
Hair cortex	2	0
Hair medulla/Matrix	2	0
Dermal papilla	1,5	0,75
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0,75	1
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,75	0
Hair cortex	1	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,75	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,25	0
Others		
Blood vessels	1,5	1,5
Adipocytes	1,75	0,25
M arrector pili	2	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	1,5	1,25

Régions affectées : Base de la queue => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: M-1930063 G	SaR1	SaR3	Number: M-1935233 G	SaR1	SaR3	Number: M-19943325 G	SaR1	SaR3	Number: M-1945964 G	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stratum granulosum	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Stratum spinosum	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Stratum basale	++	-	-	+++	-	-	++	-	-	++	-	-
Basement membrane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheath	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	++
Basement membrane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Outer root sheath	+++	-	-	++	-	-	+++	-	-	+++	-	-
Inner root sheath	+++	-	-	+	-	-	++	-	-	+++	-	-
Hair cortex	++	-	-	+	-	-	++	-	-	+	-	-
Hair medulla/Matrix	+++	-	-	+	-	-	++	-	-	++	-	-
Dermal papilla	++	+	-	+	+	-	+	+	-	++	++	-
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheath	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-
Basement membrane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Outer root sheath	+++	-	-	+++	-	-	++	-	-	+++	-	-
Hair cortex	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells	+++	-	-	++	-	-	+++	-	-	+++	-	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules	++	-	-	+++	-	-	++	-	-	++	-	-
Others												
Blood vessels	++	+	-	+	++	-	+	+	-	+	+	-
Adipocytes	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
M arrector pili	++	-	-	++	-	-	++	-	-	++	-	-
Nerve fiber	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Deep dermal arteriole	++	+	-	+	+	-	+	++	-	++	+	-

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: M-1930063 G	SaR1	Number: M-1935233 G	SaR1	Number: M-19943325 G	SaR1	Number: M-1945964 G	SaR1	Epiderme	Moyenne SaR1
Epiderme										
Stratum corneum	0		0		0		0		Stratum corneum	0
Stratum granulosum	2		2		2		2		Stratum granulosum	2
Stratum spinosum	2		2		2		2		Stratum spinosum	2
Stratum basale	2		3		2		2		Stratum basale	2,25
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath	1		0		1		1		Dermal/fibrous sheath	0,75
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	3		2		3		3		Outer root sheath	2,75
Inner root sheath	3		1		2		3		Inner root sheath	2,25
Hair cortex	2		1		2		1		Hair cortex	1,5
Hair medulla/Matrix	3		1		2		2		Hair medulla/Matrix	2
Dermal papilla	2		1		1		2		Dermal papilla	1,5
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath	1		1		0		0		Dermal/fibrous sheath	0,5
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	3		3		2		3		Outer root sheath	2,75
Hair cortex	2		0		0		0		Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	3		2		3		3		Secretory cells	2,75
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	2		3		2		2		Sebaceous lobules	2,25
Others									Others	
Blood vessels	2		1		1		1		Blood vessels	1,25
Adipocytes	2		2		1		2		Adipocytes	1,75
M arrector pili	2		2		2		2		M arrector pili	2
Nerve fiber	1		1		1		1		Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole	2		1		1		2		Deep dermal arteriole	1,5

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: M-1930063 G	SaR3	Number: M-1935233 G	SaR3	Number: M-19943325 G	SaR3	Number: M-1945964 G	SaR3	Epiderme	
Epiderme										
Stratum corneum	0		0		0		0		Stratum corneum	0
Stratum granulosum	0		0		0		0		Stratum granulosum	0
Stratum spinosum	0		0		0		0		Stratum spinosum	0
Stratum basale	0		0		0		0		Stratum basale	0
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase									Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheath	1		1		1		2		Dermal/fibrous sheath	1,25
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	0		0		0		0		Outer root sheath	0
Inner root sheath	0		0		0		0		Inner root sheath	0
Hair cortex	0		0		0		0		Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix	0		0		0		0		Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla	1		1		1		2		Dermal papilla	1,25
Hair follicle telogen phase									Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheath	0		1		1		1		Dermal/fibrous sheath	0,75
Basement membrane	0		0		0		0		Basement membrane	0
Outer root sheath	0		0		0		0		Outer root sheath	0
Hair cortex	0		0		0		0		Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)									Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	0		0		0		0		Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)									Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	0		0		0		0		Sebaceous lobules	0
Others									Others	
Blood vessels	1		2		1		1		Blood vessels	1,25
Adipocytes	0		0		0		0		Adipocytes	0
M arrector pili	0		0		0		0		M arrector pili	0
Nerve fiber	0		0		0		0		Nerve fiber	0
Deep dermal arteriole	1		1		2		1		Deep dermal arteriole	1,25

Tableau final des moyennes des mâles

Région : base de la queue

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2,25	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	0,75	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,75	0
Inner root sheat	2,25	0
Hair cortex	1,5	0
Hair medulla/Matrix	2	0
Dermal papilla	1,5	1,25
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0,5	0,75
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,75	0
Hair cortex	0	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,75	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,25	0
Blood vessels	1,25	1,25
Adipocytes	1,75	0
M arrector pili	2	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	1,5	1,25

Régions non-affectées : Thorax ventral => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: M-1930063 C	SaR1	SaR3	Number: M-1935233 C	SaR1	SaR3	Number: M-19943325 C	SaR1	SaR3	Number: M-1945964 C	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		+++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		++	-		++	-		+++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheat		+	+		+	+		+	+		++	++
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheat		+++	-		+++	-		+++	-		+++	-
Inner root sheat		++	-		++	-		+	-		++	-
Hair cortex		++	-		++	-		++	-		++	-
Hair medulla/Matrix		++	-		++	-		++	-		++	-
Dermal papilla		++	++		+	+		+	NR		+	+
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheat		+	-		+	-		-	+		-	++
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheat		+++	-		++	-		+++	-		+++	-
Hair cortex		+	-		+	-		-	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		+++	-		++	-		++	-		+++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		++	-		+++	-		++	-		++	-
Others												
Blood vessels		++	++		++	++		+	++		++	+
Adipocytes		++	-		+++	+		++	+		+	-
M arrector pili		+	-		++	-		++	-		++	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	++		+++	++		+	++		+	++

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: M-1930063 C	SaR1	Number: M-1935233 C	SaR1	Number: M-19943325 C	SaR1	Number: M-1945964 C	SaR1		Moyenne SaR1
Epiderme										
Stratum corneum		0		0		0		0	Epiderme	0
Stratum granulosum		3		2		2		2	Stratum corneum	0
Stratum spinosum		2		2		2		2	Stratum granulosum	2,25
Stratum basale		2		2		3		3	Stratum spinosum	2
Basement membrane		0		0		0		0	Stratum basale	2,25
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheat		1		1		1		2	Basement membrane	0
Basement membrane		0		0		0		0	Dermal/fibrous sheat	1,25
Outer root sheat		3		3		3		3	Basement membrane	0
Inner root sheat		2		2		1		2	Outer root sheat	3
Hair cortex		2		2		2		2	Inner root sheat	1,75
Hair medulla/Matrix		2		2		2		2	Hair cortex	2
Dermal papilla		2		1		1		1	Hair medulla/Matrix	2
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheat		1		1		0		0	Dermal papilla	1,25
Basement membrane		0		0		0		0	Hair follicle telogen phase	
Outer root sheat		3		3		3		3	Dermal/fibrous sheat	0,5
Hair cortex		1		1		0		0	Basement membrane	0
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells		3		2		2		3	Outer root sheat	2,25
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules		2		3		2		2	Hair cortex	0,5
Others										
Blood vessels		2		2		1		2	Sweat glands (epitrichial)	2,5
Adipocytes		2		3		2		1	Secretory cells	2,5
M arrector pili		1		2		2		2	Sebaceous glands (holocrine)	
Nerve fiber		1		1		1		1	Sebaceous lobules	2,25
Deep dermal arteriole		2		3		1		1	Others	
									Blood vessels	1,75
									Adipocytes	2
									M arrector pili	1,75
									Nerve fiber	1
									Deep dermal arteriole	1,75

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: M-1930063 C	SaR3	Number: M-1935233 C	SaR3	Number: M-19943325 C	SaR3	Number: M-1945964 C	SaR3		Moyenne SaR3
Epiderme										
Stratum corneum		0		0		0		0	Epiderme	0
Stratum granulosum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum spinosum		0		0		0		0	Stratum granulosum	0
Stratum basale		3		2		3		3	Stratum spinosum	0
Basement membrane		0		0		0		0	Stratum basale	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheat		1		1		1		2	Basement membrane	0
Basement membrane		0		0		0		0	Dermal/fibrous sheat	1,25
Outer root sheat		0		0		0		0	Basement membrane	0
Inner root sheat		0		0		0		0	Outer root sheat	0
Hair cortex		0		0		0		0	Inner root sheat	0
Hair medulla/Matrix		0		0		0		0	Hair cortex	0
Dermal papilla		2		1		1		1	Hair medulla/Matrix	0
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheat		0		0		1		2	Dermal papilla	1,33
Basement membrane		0		0		0		0	Hair follicle telogen phase	
Outer root sheat		0		0		0		0	Dermal/fibrous sheat	0,75
Hair cortex		0		0		0		0	Basement membrane	0
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells		0		0		1		0	Outer root sheat	0
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules		0		0		1		0	Hair cortex	0
Others										
Blood vessels		2		2		2		2	Sweat glands (epitrichial)	0,25
Adipocytes		0		1		1		0	Secretory cells	0,25
M arrector pili		0		0		0		0	Sebaceous glands (holocrine)	
Nerve fiber		0		0		0		0	Sebaceous lobules	0,25
Deep dermal arteriole		2		2		2		2	Others	
									Blood vessels	1,75
									Adipocytes	0,5
									M arrector pili	0
									Nerve fiber	0
									Deep dermal arteriole	2

Tableau final des moyennes des mâles

Région : thorax ventral

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2,25	0
Stratum spinosum	2	0
Stratum basale	2,25	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1,25	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	3	0
Inner root sheat	1,75	0
Hair cortex	2	0
Hair medulla/Matrix	2	0
Dermal papilla	1,25	1,33
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	0,5	0,75
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,75	0
Hair cortex	0,5	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	2,5	0,25
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2,25	0,25
Others		
Blood vessels	1,75	1,75
Adipocytes	2	0,5
M arrector pili	1,75	0
Nerve fiber	1	0
Deep dermal arteriole	1,75	2

Régions non-affectées : Tête dorsal => transformation des marqueurs en chiffres

	Number: M-1930063 A	SaR1	SaR3	Number: M-1935233 A	SaR1	SaR3	Number: M-19943325 A	SaR1	SaR3	Number: M-1945964 A	SaR1	SaR3
Epiderme												
Stratum corneum		-	-		-	-		-	-		-	-
Stratum granulosum		++	-		++	-		++	-		++	-
Stratum spinosum		+	-		+	-		++	-		++	-
Stratum basale		++	-		++	-		++	-		++	-
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Hair follicle anagen phase												
Dermal/fibrous sheat		+	+		+	++		+	+		+	+
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheat		+++	-		+++	-		+++	-		+++	-
Inner root sheat		+++	-		++	-		++	-		++	-
Hair cortex		++	-		+	-		+	-		+	-
Hair medulla/Matrix		+++	-		+	-		+++	-		+	-
Dermal papilla		+	+		+	+		+	+		+	NR
Hair follicle telogen phase												
Dermal/fibrous sheat		+	+		+	++		+	+		+	+
Basement membrane		-	-		-	-		-	-		-	-
Outer root sheat		++	-		++	-		+++	-		++	-
Hair cortex		+	-		+	-		-	-		-	-
Sweat glands (epitrichial)												
Secretory cells		+++	-		+++	-		+++	-		+++	-
Sebaceous glands (holocrine)												
Sebaceous lobules		++	-		++	-		++	-		++	-
Others												
Blood vessels		++	+		+	+		++	++		++	+
Adipocytes		++	+		++	-		++	NR		+	-
M arrector pili		+	-		+	-		+	-		+	-
Nerve fiber		+	-		+	-		+	-		+	-
Deep dermal arteriole		++	++		++	+		+	++		+	+

5AR type 1 et leur moyenne

	Number: M-1930063 A	SaR1	Number: M-1935233 A	SaR1	Number: M-19943325 A	SaR1	Number: M-1945964 A	SaR1	Epiderme	Moyenne SaR1
Epiderme										
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		2		2		2		2	Stratum granulosum	2
Stratum spinosum		1		1		2		2	Stratum spinosum	1.5
Stratum basale		2		2		2		2	Stratum basale	2
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheat		1		1		1		1	Dermal/fibrous sheat	1
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		3		3		3		3	Outer root sheat	3
Inner root sheat		3		2		2		2	Inner root sheat	2.25
Hair cortex		2		1		1		1	Hair cortex	1.25
Hair medulla/Matrix		3		1		3		1	Hair medulla/Matrix	2
Dermal papilla		1		1		1		1	Dermal papilla	1
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheat		1		1		1		1	Dermal/fibrous sheat	1
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		2		3		3		2	Outer root sheat	2.25
Hair cortex		1		1		0		0	Hair cortex	0.5
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells		3		3		3		3	Secretory cells	3
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules		2		2		2		2	Sebaceous glands (holocrine)	2
Others										
Blood vessels		2		1		2		2	Blood vessels	1.75
Adipocytes		2		2		2		1	Adipocytes	1.75
M arrector pili		2		2		2		1	M arrector pili	1.75
Nerve fiber		1		1		1		1	Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole		2		2		1		1	Deep dermal arteriole	1.5

5AR type 3 et leur moyenne

	Number: M-1930063 A	SaR3	Number: M-1935233 A	SaR3	Number: M-19943325 A	SaR3	Number: M-1945964 A	SaR3	Epiderme	Moyenne SaR3
Epiderme										
Stratum corneum		0		0		0		0	Stratum corneum	0
Stratum granulosum		0		0		0		0	Stratum granulosum	0
Stratum spinosum		0		0		0		0	Stratum spinosum	0
Stratum basale		0		0		0		0	Stratum basale	0
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase										
Dermal/fibrous sheat		1		2		1		1	Dermal/fibrous sheat	1.25
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		0		0		0		0	Outer root sheat	0
Inner root sheat		0		0		0		0	Inner root sheat	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix		0		0		0		0	Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla		1		1		1		1	Dermal papilla	1
Hair follicle telogen phase										
Dermal/fibrous sheat		1		2		1		1	Dermal/fibrous sheat	1.25
Basement membrane		0		0		0		0	Basement membrane	0
Outer root sheat		0		0		0		0	Outer root sheat	0
Hair cortex		0		0		0		0	Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)										
Secretory cells		0		0		0		0	Secretory cells	0
Sebaceous glands (holocrine)										
Sebaceous lobules		0		0		0		0	Sebaceous glands (holocrine)	0
Others										
Blood vessels		1		1		2		1	Blood vessels	1.25
Adipocytes		1		0		0		0	Adipocytes	0.33
M arrector pili		0		0		0		0	M arrector pili	0
Nerve fiber		1		0		0		0	Nerve fiber	0.33
Deep dermal arteriole		2		1		2		1	Deep dermal arteriole	1.5

Tableau final des moyennes des mâles

Région : tête dorsal

	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme		
Stratum corneum	0	0
Stratum granulosum	2	0
Stratum spinosum	1,5	0
Stratum basale	2	0
Basement membrane	0	0
Hair follicle anagen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	3	0
Inner root sheat	2,25	0
Hair cortex	1,25	0
Hair medulla/Matrix	2	0
Dermal papilla	1	1
Hair follicle telogen phase		
Dermal/fibrous sheat	1	1,25
Basement membrane	0	0
Outer root sheat	2,25	0
Hair cortex	0,5	0
Sweat glands (epitrichial)		
Secretory cells	3	0
Sebaceous glands (holocrine)		
Sebaceous lobules	2	0
Others		
Blood vessels	1,75	1,25
Adipocytes	1,75	0,33
M arrector pili	1,75	0
Nerve fiber	1	0,33
Deep dermal arteriole	1,5	1,5

Moyenne mâles régions non-affectées 5AR type 1 et 5AR type 3

	Dorsal head	Dorsal head	Ventral thorax
	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR1
Epiderme			
Stratum corneum	0	0	0
Stratum granulosum	2	0	2,25
Stratum spinosum	1,5	0	2
Stratum basale	2	0	2,25
Basement membrane	0	0	0
Hair follicle anagen phase			
Dermal/fibrous sheat	1	1,25	1,25
Basement membrane	0	0	0
Outer root sheat	3	0	3
Inner root sheat	2,25	0	1,75
Hair cortex	1,25	0	2
Hair medulla/Matrix	2	0	2
Dermal papilla	1	1	1,25
Hair follicle telogen phase			
Dermal/fibrous sheat	1	1,25	0,5
Basement membrane	0	0	0
Outer root sheat	2,25	0	2,75
Hair cortex	0,5	0	0,5
Sweat glands (epitrichial)			
Secretory cells	3	0	2,5
Sebaceous glands (holocrine)			
Sebaceous lobules	2	0	2,25
Others			
Blood vessels	1,75	1,25	1,75
Adipocytes	1,75	0,33	2
M arrector pili	1,75	0	1,75
Nerve fiber	1	0,33	1
Deep dermal arteriole	1,5	1,5	1,75

Moyenne mâles régions affectées 5AR type 1 et 5AR type 3

	Dorsal neck	Dorsal neck	Back of thighs	Back of thighs	Base of tail	Base of tail
	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR3
Epiderme						
Stratum corneum	0	0	0	0	0	0
Stratum granulosum	2	0	2	0	2	0
Stratum spinosum	1,5	0	2	0	2	0
Stratum basale	2	0	2,75	0	2,25	0
Basement membrane	0	0	0	0	0	0
Hair follicle anagen phase						
Dermal/fibrous sheat	1	1,5	1	1,25	0,75	1,25
Basement membrane	0	0	0	0	0	0
Outer root sheat	2,75	0	3	0	2,75	0
Inner root sheat	2,5	0	2,25	0	2,25	0
Hair cortex	1,75	0	2	0	1,5	0
Hair medulla/Matrix	1,75	0	2	0	2	0
Dermal papilla	1,25	1,25	1,5	0,75	1,5	1,25
Hair follicle telogen phase						
Dermal/fibrous sheat	0,75	1,25	0,75	1	0,5	0,75
Basement membrane	0	0	0	0	0	0
Outer root sheat	2,25	0	2,75	0	2,75	0
Hair cortex	0,5	0	1	0	0	0
Sweat glands (epitrichial)						
Secretory cells	2,5	0	2,75	0	2,75	0
Sebaceous glands (holocrine)						
Sebaceous lobules	2,25	0	2,25	0	2,25	0
Others						
Blood vessels	2	1,5	1,5	1,5	1,25	1,25
Adipocytes	1,75	0,75	1,75	0,25	1,75	0
M arrector pili	1,75	0	2	0	2	0
Nerve fiber	1	0	1	0	1	0
Deep dermal arteriole	2	1,75	1,5	1,25	1,5	1,25

Moyenne mâles (5 régions) 5AR type 1

	Dorsal head	Ventral thorax	Dorsal neck	Back of thighs	Base of tail
	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1	Moyenne 5aR1
Epiderme					
Stratum corneum	0	0	0	0	0
Stratum granulosum	2	2,25	2	2	2
Stratum spinosum	1,5	2	1,5	2	2
Stratum basale	2	2,25	2	2,75	2,25
Basement membrane	0	0	0	0	0
Hair follicle anagen phase					
Dermal/fibrous sheat	1	1,25	1	1	0,75
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	3	3	2,75	3	2,75
Inner root sheat	2,25	1,75	2,5	2,25	2,25
Hair cortex	1,25	2	1,75	2	1,5
Hair medulla/Matrix	2	2	1,75	2	2
Dermal papilla	1	1,25	1,25	1,5	1,5
Hair follicle telogen phase					
Dermal/fibrous sheat	1	0,5	0,75	0,75	0,5
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	2,25	2,75	2,25	2,75	2,75
Hair cortex	0,5	0,5	0,5	1	0
Sweat glands (epitrichial)					
Secretory cells	3	2,5	2,5	2,75	2,75
Sebaceous glands (holocrine)					
Sebaceous lobules	2	2,25	2,25	2,25	2,25
Others					
Blood vessels	1,75	1,75	2	1,5	1,25
Adipocytes	1,75	2	1,75	1,75	1,75
M arrector pili	1,75	1,75	1,75	2	2
Nerve fiber	1	1	1	1	1
Deep dermal arteriole	1,5	1,75	2	1,5	1,5

Moyenne mâles (5 régions) 5AR type 3

	Dorsal head	Ventral thorax	Dorsal neck	Back of thighs	Base of tail
	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3	Moyenne 5aR3
Epiderme					
Stratum corneum	0	0	0	0	0
Stratum granulosum	0	0	0	0	0
Stratum spinosum	0	0	0	0	0
Stratum basale	0	0	0	0	0
Basement membrane	0	0	0	0	0
Hair follicle anagen phase					
Dermal/fibrous sheat	1,25	1,25	1,5	1,25	1,25
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0
Inner root sheat	0	0	0	0	0
Hair cortex	0	0	0	0	0
Hair medulla/Matrix	0	0	0	0	0
Dermal papilla	1	1,33	1,25	0,75	1,25
Hair follicle telogen phase					
Dermal/fibrous sheat	1,25	0,75	1,25	1	0,75
Basement membrane	0	0	0	0	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0
Hair cortex	0	0	0	0	0
Sweat glands (epitrichial)					
Secretory cells	0	0,25	0	0	0
Sebaceous glands (holocrine)					
Sebaceous lobules	0	0,25	0	0	0
Others					
Blood vessels	1,25	1,75	1,5	1,5	1,25
Adipocytes	0,33	0,5	0,75	0,25	0
M arrector pili	0	0	0	0	0
Nerve fiber	0,33	0	0	0	0
Deep dermal arteriole	1,5	2	1,75	1,25	1,25

Moyenne total des 5 régions (mâles):

Tableau de la moyenne pour l'enzyme 5AR type 1

	Dorsal head Moyenne 5aR1	Ventral thorax Moyenne 5aR1	Dorsal neck Moyenne 5aR1	Back of thighs Moyenne 5aR1	Base of tail Moyenne 5aR1			Moyenne total 5aR1M
Epiderme							Epiderme	
Stratum corneum	0	0	0	0	0		Stratum corneum	0
Stratum granulosum	2	2,25	2	2	2		Stratum granulosum	2,05
Stratum spinosum	1,5	2	1,5	2	2		Stratum spinosum	1,8
Stratum basale	2	2,25	2	2,75	2,25		Stratum basale	2,25
Basement membrane	0	0	0	0	0		Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase							Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheat	1	1,25	1	1	0,75		Dermal/fibrous sheat	1
Basement membrane	0	0	0	0	0		Basement membrane	0
Outer root sheat	3	3	2,75	3	2,75		Outer root sheat	2,9
Inner root sheat	2,25	1,75	2,5	2,25	2,25		Inner root sheat	2,2
Hair cortex	1,25	2	1,75	2	1,5		Hair cortex	1,7
Hair medulla/Matrix	2	2	1,75	2	2		Hair medulla/Matrix	1,95
Dermal papilla	1	1,25	1,25	1,5	1,5		Dermal papilla	1,3
Hair follicle telogen phase							Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheat	1	0,5	0,75	0,75	0,5		Dermal/fibrous sheat	0,7
Basement membrane	0	0	0	0	0		Basement membrane	0
Outer root sheat	2,25	2,75	2,25	2,75	2,75		Outer root sheat	2,55
Hair cortex	0,5	0,5	0,5	1	0		Hair cortex	0,5
Sweat glands (epitrichial)							Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	3	2,5	2,5	2,75	2,75		Secretory cells	2,7
Sebaceous glands (holocrine)							Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	2	2,25	2,25	2,25	2,25		Sebaceous lobules	2,2
Others							Others	
Blood vessels	1,75	1,75	2	1,5	1,25		Blood vessels	1,65
Adipocytes	1,75	2	1,75	1,75	1,75		Adipocytes	1,8
Marrector pili	1,75	1,75	1,75	2	2		Marrector pili	1,85
Nerve fiber	1	1	1	1	1		Nerve fiber	1
Deep dermal arteriole	1,5	1,75	2	1,5	1,5		Deep dermal arteriole	1,65

Tableau de la moyenne pour l'enzyme 5AR type 3

	Dorsal head Moyenne 5aR3	Ventral thorax Moyenne 5aR3	Dorsal neck Moyenne 5aR3	Back of thighs Moyenne 5aR3	Base of tail Moyenne 5aR3			Moyenne total 5aR3 M
Epiderme							Epiderme	
Stratum corneum	0	0	0	0	0		Stratum corneum	0
Stratum granulosum	0	0	0	0	0		Stratum granulosum	0
Stratum spinosum	0	0	0	0	0		Stratum spinosum	0
Stratum basale	0	0	0	0	0		Stratum basale	0
Basement membrane	0	0	0	0	0		Basement membrane	0
Hair follicle anagen phase							Hair follicle anagen phase	
Dermal/fibrous sheat	1,25	1,25	1,5	1,25	1,25		Dermal/fibrous sheat	1,3
Basement membrane	0	0	0	0	0		Basement membrane	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0		Outer root sheat	0
Inner root sheat	0	0	0	0	0		Inner root sheat	0
Hair cortex	0	0	0	0	0		Hair cortex	0
Hair medulla/Matrix	0	0	0	0	0		Hair medulla/Matrix	0
Dermal papilla	1	1,33	1,25	0,75	1,25		Dermal papilla	1,116
Hair follicle telogen phase							Hair follicle telogen phase	
Dermal/fibrous sheat	1,25	0,75	1,25	1	0,75		Dermal/fibrous sheat	1
Basement membrane	0	0	0	0	0		Basement membrane	0
Outer root sheat	0	0	0	0	0		Outer root sheat	0
Hair cortex	0	0	0	0	0		Hair cortex	0
Sweat glands (epitrichial)							Sweat glands (epitrichial)	
Secretory cells	0	0,25	0	0	0		Secretory cells	0,05
Sebaceous glands (holocrine)							Sebaceous glands (holocrine)	
Sebaceous lobules	0	0,25	0	0	0		Sebaceous lobules	0,05
Others							Others	
Blood vessels	1,25	1,75	1,5	1,5	1,25		Blood vessels	1,45
Adipocytes	0,33	0,5	0,75	0,25	0		Adipocytes	0,366
Marrector pili	0	0	0	0	0		Marrector pili	0
Nerve fiber	0,33	0	0	0	0		Nerve fiber	0,066
Deep dermal arteriole	1,5	2	1,75	1,25	1,25		Deep dermal arteriole	1,55