

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Saad Dahleb Blida 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

En Biologie

Option : Bio-signalisation Cellulaire et Moléculaire, Immunologie

### **THEME**

Régulation de la fonction sexocorticoïde chez le  
bélier de race D'man au cours du nyctémère et des  
saisons

Présenté par : Melle Lahreche Sarra et Melle Zerouki Zineb  
Soutenu devant le jury composé de :

<b>Présidente :</b>	Mme Kanane .A	MAA/BPC	Univ. Blida 1
<b>Promotrice :</b>	Mme Amokrane .A	MAA/BPC	Univ. Blida 1
<b>Examinatrice :</b>	Dr. Mataoui H	MCB/BPC	Univ. Blida 1

**2015/2016**

## *Remerciements*

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire LRZA de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) de Faculté des Sciences Biologiques, dirigé par le Pr. KHAMMAR F.

Tout d'abord, nous remercions الله le tout puissant, de nous avoir donné la force, le courage, la santé, et la patience de terminer ce mémoire.

Un grand merci à Mme AMOKRANE A. qui nous a mis sur le bon chemin au cours de ces 6 mois, et pour le temps et la confiance qu'elle nous a accordé tout au long de ce travail.

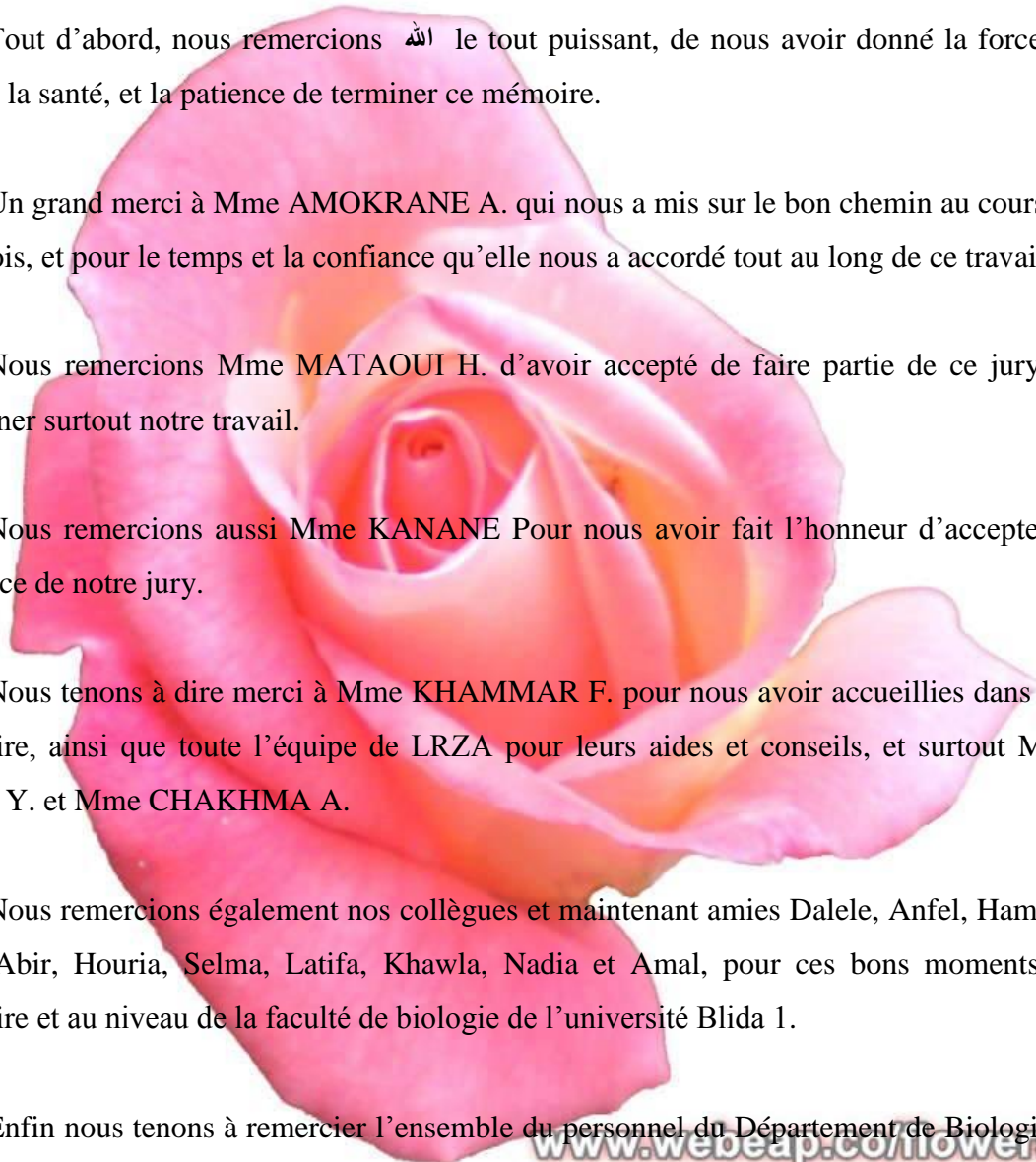
Nous remercions Mme MATAOUI H. d'avoir accepté de faire partie de ce jury, et d'examiner surtout notre travail.

Nous remercions aussi Mme KANANE Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Nous tenons à dire merci à Mme KHAMMAR F. pour nous avoir accueillies dans son laboratoire, ainsi que toute l'équipe de LRZA pour leurs aides et conseils, et surtout Mme ZATRA Y. et Mme CHAKHMA A.

Nous remercions également nos collègues et maintenant amies Dalele, Anfel, Hamida, Fethia, Abir, Houria, Selma, Latifa, Khawla, Nadia et Amal, pour ces bons moments au laboratoire et au niveau de la faculté de biologie de l'université Blida 1.

Enfin nous tenons à remercier l'ensemble du personnel du Département de Biologie et Physiologie Cellulaire (BPC) de l'université de Blida 1, à Mr Boukhatem, ainsi que toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.



[www.webeap.co/flowers](http://www.webeap.co/flowers)

## *Dédicace*

Je dédie ce modeste travail :

D'abord à mes chers parents « **Ibrahim** » et « **Zahoua** » qu'ils ont été toujours derrière moi pour me soutenir et m'appuyer, qu'Allah les protège.

A mes frères « **Oussama** » et « **Abderrahmane** », je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé, et de succès.

A tous mes oncles et tantes, ainsi que tous mes cousins, et cousines.

A tous mes amis et collègues de l'université de Blida 1, particulièrement à la promotion BCM 2015/2016.

« **Sarah** »

## *Dédicace*

Je dédie ce mémoire à :

Mes chers parents, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, et

leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands

sacrifices.

Mes frères et sœurs

Et mes amies

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du

secondaire et de l'enseignement supérieur.

« Zineb »

## *Résumé*

L'objectif de notre étude, est de mettre en évidence le rôle de la lumière sur le fonctionnement corticosurrénalien. Pour cela, une investigation est conduite sur 24 béliers D'man adultes élevés dans la bergerie de la station expérimentale d'El-Méniaa (30° 34' Latitude Nord, 02° 52' Longitude Est, Altitude 379m), soumis aux conditions de température et de lumière naturelles.

Au cours des équinoxes et des solstices, des prélèvements sanguins sont réalisés chaque 4 heures durant le nyctémère ; les animaux sont ensuite sacrifiés. Les surrénales prélevées sont conservées dans le Bouin aqueux en vue de l'étude histomorphométrique. L'androsténedionémie est mesurée par technique radioimmunologique (RIA) utilisant l'androsténedione marquée à l'iode 125.

On note des variations de l'épaisseur de la corticosurrénale (légèrement plus développée en phase claire (0.44%,  $p=0.03$ ) qu'en phase sombre) aussi bien aux équinoxes qu'aux solstices. Quant à la zone réticulée, elle se montre légèrement plus épaisse en phase obscure, excepté le printemps. Le cortex et la ZR présentent aussi une variation morphométrique, en relation avec la durée du jour ; caractérisée par: un maximum en été/printemps et un minimum en hiver/automne.

Le profil de sécrétion de l'androsténedione se caractérise par: des concentrations considérables en phase claire quoique, les pics de sécrétion sont décelés durant la phase sombre, sauf pour le solstice d'été. Le rythme saisonnier de l'activité sexocorticoïde se caractérise par un maximum en jours longs (été/printemps) et un minimum en jours courts (hiver/automne), suivant parfaitement les variations saisonnières de la morphométrie réticulaire. Enfin, nous rapportons l'existence de corrélations significatives entre la structure et l'activité de la ZR et de la ZF confirmant un déterminisme endogène commun: **l'ACTH**.

Au vu de ces résultats, il semble que la lumière journalière et saisonnière a un effet puissant sur la synchronisation de la corticosurrénale, se manifestant par des changements de l'aspect histologique de la surrénale et de son activité sécrétoire, ce qui serait un mécanisme d'adaptation du mouton D'man aux conditions environnementales.

**Mots clés :** Androsténedione, Cycle phase claire/phase sombre, Mouton D'man, Photopériode, Sahara, Zone réticulée.

## المخلص

الهدف المسطر من خلال دراستنا، هو دراسة تأثير شدة الضوء على نشاط قشرة الغدة الكظرية، لذلك، تم إجراء تجربة على 24 كبش بالغ من سلالة دمان في حظيرة المحطة التجريبية للمنيعة، خاضعين لشروط درجة الحرارة و الضوء الطبيعيين.

خلال جميع الفصول (21 سبتمبر، 21 ديسمبر، 21 مارس، 21 جوان)، تم اخذ عينات دم كل أربع ساعات خلال فترات التناوب النهاري، بعد ذلك، تمت التضحية بالحيوانات، الغدد الكظرية المأخوذة تم حفظها و تثبيتها بمحلول بوين من اجل الدراسة المورفونسيجية. الاندروستنديون الموجود في البلازما قدر تركيزه بتقنية القياسي الشعاعي، باستخدام متتبع الاندروستنديون معلم باليود 125.

تم تسجيل تغيرات في سمك قشرة الغدة الكظرية (زيادة طفيفة خلال فترة الضوء (0.44 بالمائة) مقارنة بفترة الظلام)، أيضا في الخريف و الربيع مقارنة بالشتاء و الصيف. بالنسبة للمنطقة شبكية الشكل، فهي تبدو أكثر سمكا بشكل طفيف في فترة الظلام، باستثناء الربيع. هيكله كل من القشرة الكظرية و المنطقة شبكية الشكل تتغير أيضا حسب مدة اليوم، حيث تتميز بقيم قصوى في الصيف و الربيع، و قيم أدنى في الشتاء و الخريف.

معدل إفراز الاندروستنديون يتميز بتراكيز هامة أثناء فترة الضوء، مع أن الذروات الإفرازية قد سجلت بفترة الظلام ماعدا الصيف. التناوب الموسمي لنشاط السنيرويدات القشرية الجنسية يتميز بقيم عظمى في الصيف و الربيع (أيام طويلة)، و قيم أدنى في الشتاء و الخريف (أيام قصيرة)، وفقا للتغيرات الموسمية لهيكل المنطقة شبكية الشكل. وأخيرا، توجد علاقة متبادلة بليغة بين بنية و وظيفة المنطقة شبكية الشكل و المنطقة محزومة الشكل، ما يدل على أن لديهما منظم داخلي مشترك هو هرمون الغدة النخامية (L<sup>ACTH</sup>).

انطلاقا من هذه النتائج، يبدو جليا أن شدة الضوء اليومية و الموسمية ذات تأثير قوي على ضبط القشرة الكظرية، حيث يتجلى ذلك في تغيرات نسيجية للغدة الكظرية، وفي وظيفتها الإفرازية، هذا ما قد يمثل آلية تكيف الكبش دمان مع الظروف المناخية.

**الكلمات المفتاحية :** الاندروستنديون، دورة مرحلة الضوء/ مرحلة الظلام، الكبش دمان، فترة الإضاءة الموسمية، صحراء، المنطقة شبكية الشكل.

## *Abstract*

The objective of our study is to demonstrate the role of the light on adrenal cortex function. For this, an investigation is conducted on 24 adult rams of D'man breed raised in the sheep-fold of the experimental farm of El Meniaa (30° 34 ' Northern Latitude, 02°52 ' Eastern Longitude , Altitude 379m), subjected to the conditions of natural temperature and light.

During equinoxes and solstices, blood samples are carried out each 4 hours during the clear phase/dark phase cycle; the animals are then sacrificed. The taken adrenal glands are preserved in aqueous Bouin for the histomorphometric study. The plasma androstenedione is measured by radioimmunoassay (RIA) using the androstenedione marked with I125.

We report variations in thickness of adrenal cortex (more developed slightly in clear phase (0.44%,  $p=0.03$ ) as in dark phase) as well to the equinoxes as with the solstices. As for the reticularis zona, it is shown slightly thicker in obscure phase, except spring. The cortex and the ZR present also a morphometric variation, in relation to the duration of the day; characterized by: a maximum in summer/spring and a minimum in winter/autumn.

The profile of secretion of androstenedione is characterized by: considerable concentrations in clear phase though, the peaks of secretion are detected during the dark phase, except for the summer solstice. The seasonal rhythm of the sexocorticoïde activity is characterized by a maximum in long days (summer/spring) and a minimum in short days (winter/autumn), following perfectly the seasonal variations of the reticular morphometry. Lastly, we report the existence of significant correlations between the structure and the activity of the ZR and the ZF confirming a common endogenous determinism: **the ACTH**.

Within sight of these results, it seem that the daily and seasonal light has a powerful effect on synchronization of the adrenal cortex, appearing by changes of the histological aspect of the adrenal gland and its secretary activity, which would be an adaptation mechanism of the sheep D'man in the environmental conditions.

**Key words:** Androstenedione, Clear phase/dark phase cycle, Sheep D'man, Photoperiod, Desert, Reticularis zona.

## Liste des abréviations :

- **17OH-PREG** : 17-hydroxypregnénone.
- **17OH-PROG** : 17-hydroxyprogestérone.
- **A4** : Androsténone.
- **AC**: Adénylate cyclase.
- **ACTH**: Adreno-cortico-trophique hormone.
- **Ag**: antigène.
- **AMPc** : Adénosine monophosphate cyclique.
- **ARE** : Androgen Responsive Elements.
- **ATF-1** : Activating transcription factor 1.
- **ATP**: Adénosine triphosphate.
- **B**: Mean bound counts of specimen.
- **Bo**: Mean bound counts at maximum binding.
- **C** : Surface cellulaire.
- **C°** : Celsius.
- **CEH** : Cholestérol ester hydrolase.
- **Cm**: Centimètre.
- **CREB**: Response element-binding protein.
- **CRH**: Corticotropin-releasing hormone.
- **CYB5A**: Cytochrome B5 type A.
- **Cyt-b5**: Cytochrome b5.
- **DHEA**: Déhydroépiandrostérone.
- **DHEA-S** : Sulfate de déhydroépiandrostérone.
- **DHT** : Dihydrotestostérone.
- **ER** : Récepteur aux estrogènes.
- **ESM** : Erreur Standard à la Moyenne.
- **g**: Gramme.
- **GDP**: Guanosine diphosphate.
- **GPCR** : Récepteur couplé à la protéine G.
- **GR $\alpha$** : Glucocorticoid receptor alpha.
- **GTP**: Guanosine triphosphate.
- **h** : Heure.
- **HES**: Hématéine-Eosine-Safran.
- **HHS** : Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.
- **HSD17B5** : 17-beta hydroxystéroïde déshydrogénase de type 5.



- **HSD3B1** : 3-beta-hydroxystéroïde déshydrogénase/delta.
- **HSD3B2** : 3β-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2.
- **HSP**: Heat shock proteins.
- **I125**: Iode 125.
- **LDL**: Low Density Lipoprotein (lipoprotéines de basse densité).
- **LRZA** : Laboratoire de la Recherche sur les Zones Arides.
- **MC2-R**: Melanocortin 2 receptor (récepteur à la mélanocortine type 2).
- **mg/j** : Milligramme/jour.
- **MI** : Millimètre.
- **N** : Surface nucléaire.
- **N/C** : Rapport nucléo-cytoplasmique.
- **NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
- **ng/ml** : Nanogramme/millimètre.
- **nmol/l** : Nanomol/litre.
- **P450scc** : P450 side chaîne clivage.
- **PC**: Phase claire.
- **PKA**: Protéine kinase A.
- **Pol II** : ARN Polymérase II.
- **POMC**: Pro-opio-mélano-cortine.
- **PR**: Récepteur à la progesterone.
- **PS**: Phase sombre.
- **r** : Coefficient de corrélation.
- **RA** : Récepteur aux androgènes.
- **REL** : Réticulum endoplasmique lisse.
- **RIA** : Dosage radioimmunologique / Radio-Immuno-Assay.
- **RN** : Récepteur nucléaire.
- **RNC** : Rapport nucléo-cytoplasmique.
- **SBP**: Sex Binding Protein.
- **SF-1**: Steroidogenic factor 1.
- **Sp1**: Specificity protein 1.
- **StAR**: Steroidogenic acute regulatory protein.
- **SULT2A1**: Sulfotransferase family 2A member 1.
- **TeBG**: Testosterone estradiol Binding Globulin.
- **ZF** : Zone fasciculée, **ZG** : Zone glomérulée, **ZR** : Zone réticulée.
- **μl** : Microlitre.

## Liste des figures :

<b>Figure</b>	<b>intitulée</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	(a) Location des glandes surrénales; (b) Les glandes surrénales consistent de la corticosurrénale et de la médullosurrénale	<b>02</b>
<b>02</b>	Les glandes surrénales avec leur approvisionnement en sang et relations anatomiques	<b>03</b>
<b>03</b>	Développement de la glande surrénale et des gonades	<b>04</b>
<b>04</b>	Zones histologiques du cortex surrénalien	<b>05</b>
<b>05</b>	Structure chimique de l'androstéedione	<b>06</b>
<b>06</b>	Schéma des interactions de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien	<b>09</b>
<b>07</b>	Action de l'ACTH sur la cellule corticosurrénalienne	<b>10</b>
<b>08</b>	Axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien	<b>10</b>
<b>09</b>	Voies potentielles de la synthèse d'androstéedione dans la glande surrénale humaine	<b>12</b>
<b>10</b>	Spécificité d'organe de biosynthèse d'androgènes	<b>14</b>
<b>11</b>	Enzymes stéroïdogéniques surrénaliennes et protéines associées qui effectuent la production stéroïde C19 avec leur modèle d'expression zonal surrénalien humain	<b>15</b>
<b>12</b>	Photographie représentant le Bélier D'Man à laine : couleur noire gardé en stabulation dans la station de recherche d'El-Méniaa.	<b>17</b>
<b>13</b>	Phylogénie des Ovins (Sous – famille des Caprinés)	<b>18</b>
<b>14</b>	Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa	<b>30</b>
<b>15</b>	Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>31</b>
<b>16</b>	Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>32</b>
<b>17</b>	Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>33</b>
<b>18</b>	Histogramme récapitulatif des variations de l'épaisseur : du cortex surrénalien, et des deux zones fasciculée et réticulée en phases claire et sombre au cours des différents équinoxes et solstices chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'EL-Méniaa.	<b>34</b>
<b>19</b>	Les variations saisonnières du pourcentage des zones du cortex (ZG, ZF, ZR) chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>35</b>
<b>20</b>	Variations nyctémérales moyennes de l'androstéedione plasmatique durant les équinoxes et les solstices, chez le bélier	<b>36</b>

	D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa.	
<b>21</b>	Variations saisonnières de l'androstéedione chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>37</b>
<b>22</b>	Corrélation entre les zones fasciculée et réticulée (a) et entre les concentrations plasmatiques de cortisol et d'androstéedione (b) au cours des équinoxes et solstices chez le bélier de race D'man élevé à El-Méniaa.	<b>38</b>
<b>23</b>	Etuve de séchage E28 BINDER (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>24</b>	Microtome SLEE CUT 6062 (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>25</b>	Plaque chauffante Leica HI 1210 (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>26</b>	Microscope Konus 5306 Campus (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>27</b>	Microscope Optika B352A (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>28</b>	Batterie de la coloration à l'Hémalun-Eosine (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>29</b>	Batterie de la coloration au Trichrome de Masson (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>30</b>	Batterie de la coloration à l'Azan modifié (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>31</b>	Flacons de calibrateurs avant (à droite) et après (à gauche) reconstitution (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>32</b>	Tubes en plastique recouverts d'anticorps anti-androstéedione (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>33</b>	Tubes à échantillons (photo originale)	<b>Annexes A</b>
<b>34</b>	Micropipette de précision (en haut) et pipette semi-automatique (en bas) (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>35</b>	Homogénéisation du plasma au moyen de l'agitateur de type vortex (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>36</b>	Tube à échantillon après agitation (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>37</b>	Flacons à calibrateurs, contrôles et traceur d'androstéedione-I 125 (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>38</b>	Bain- marie (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>39</b>	Système d'aspiration (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>40</b>	Compteur gamma calibré pour l'iode 125 (photo originale).	<b>Annexes A</b>
<b>41</b>	Principe d'un immunodosage par compétition	<b>Annexes A</b>

## Liste des tableaux :

<b>Tableau</b>	<b>Intitulée</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Les enzymes impliquées dans la biosynthèse des stéroïdes surrénaliens	<b>08</b>
<b>02</b>	Mode opératoire du dosage d'androsténone plasmatique par RIA	<b>24</b>
<b>03</b>	Tableau récapitulatif des moyennes des différentes épaisseurs de la ZR et la ZF au cours des saisons chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>28</b>
<b>04</b>	Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>05</b>	Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>06</b>	Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>07</b>	Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>08</b>	Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la corticosurrénale durant la phase claire chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>09</b>	Les significations statistiques des variations morphométrique saisonnières de la ZF durant la phase claire chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>10</b>	Les significations statistiques des variations morphométrique saisonnières de la ZR durant la phase claire chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>11</b>	Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la corticosurrénale durant la phase sombre chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>12</b>	Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la ZF durant la phase sombre chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>13</b>	Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la ZR durant la phase sombre chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>14</b>	Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones : fasciculée et réticulée en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>15</b>	Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones : fasciculée et réticulée en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>16</b>	Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones : fasciculée et réticulée en phases claire et sombre à	<b>ANNEXES B</b>

	l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	
<b>17</b>	Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones: fasciculée et réticulée en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.	<b>ANNEXES B</b>
<b>18</b>	Les variations saisonnières du pourcentage des zones du cortex (ZG, ZF, ZR) chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES C</b>
<b>19</b>	Etude statistique des variations nyctémérales en androstéedione plasmatique à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES C</b>
<b>20</b>	Etude statistique des variations nyctémérales en androstéedione plasmatique au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES C</b>
<b>21</b>	Etude statistique des variations nyctémérales en androstéedione plasmatique à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES C</b>
<b>22</b>	Etude statistique des variations nyctémérales en androstéedione plasmatique au solstice d'été chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES C</b>
<b>23</b>	Etude statistique des variations saisonnières en androstéedione plasmatique durant les quatre saisons chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.	<b>ANNEXES C</b>

# Sommaire :

	Pages
<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Liste des tableaux, Liste des figures , Liste des abréviations .</b>	
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Rappel bibliographique</b>	<b>02</b>
<b>1. La glande surrénale</b>	<b>02</b>
1.1. Anatomie	02
1.2. Embryologie	04
1.3. Histologie	04
<b>2. Les androgènes</b>	<b>06</b>
2.1. L'androsténone	06
2.2. Stéroïdogénèse	06
<b>3. Régulation de la synthèse des androgènes</b>	<b>08</b>
<b>4. Voies de synthèse des androgènes</b>	<b>11</b>
4.1. Exigences enzymatiques pour la synthèse d'androsténone	
4.2. Pertinence physiologique de la coexpression <i>cyt-b5</i> et $3\beta$ HSD	12
4.3. Voies de synthèse des hormones sexuelles d'origine gonadique et d'origine surrénalienne	13
<b>5. Mode d'action des androgènes</b>	<b>15</b>
5.1. Le récepteur des androgènes	15
5.2. Mode d'action génomique du récepteur des androgènes	15
5.3. Actions non génomiques du récepteur des androgènes	15
<b>6. Les effets biologiques des androgènes surrénaliens</b>	<b>16</b>
<b>7. Dégradation des androgènes</b>	<b>16</b>
<b>8. Les ovins en Algérie</b>	<b>16</b>
<b>Matériel et méthodes</b>	<b>17</b>
<b>I. Matériel biologique</b>	<b>17</b>
I.1. Le mouton	17
I.2. Position phylogénique du mouton	18
a) Systématique des ovins	18
b) Biotope	19
<b>II. Méthodes</b>	<b>19</b>
II.1. Prélèvement de sang et d'organes	19
II.2. Technique histologique	20

II.2.1. Fixation	20
II.2.2. Inclusion dans la paraffine	20
II.2.3. Confection des coupes	21
II.2.4. Etalement des coupes	21
II.2.5. Coloration	21
II.2.6. Montage	22
II.3. Etude morphométrique	22
II.4. Le dosage d'androstéedione plasmatique par la technique radioimmunologique (RIA)	23
II.5. Analyse statistique	26

## **Résultats** **29**

<b>I. Etude morphométrique de la corticosurrénale</b>	<b>29</b>
1. Variations morphométriques de la corticosurrénale en phases claire et sombre	29
A) Equinoxe d'automne	<b>30</b>
B) Solstice d'hiver	31
C) Equinoxe du printemps	32
D) Solstice d'été	33
2. Variations morphométriques de la corticosurrénale au cours des saisons	34
<b>II. Etude de l'activité sexocorticoïde par le dosage plasmatique en androstéedione (RIA)</b>	<b>36</b>
1. Variations nyctémérales de l'androstéedione plasmatique au cours des saisons	36
2. Variations saisonnières des teneurs plasmatiques en androstéedione	37
<b>III. Corrélation entre les deux zones fasciculée et réticulée et entre leurs productions respectives en cortisol et en androstéedione plasmatiques</b>	<b>38</b>

## **Discussion** **41**

## **Conclusion et perspectives** **46**

Références bibliographiques

Glossaire

Annexes

## Introduction

---

La rotation de la terre sur son axe, combinée avec la révolution annuelle de la terre autour du soleil, cause chacune des deux ; quotidiennes et saisonnières des fluctuations dans la photopériode, l'intensité de la lumière, la température, et la disponibilité de la nourriture (**Coomans et al., 2015**).

Pour leur survie, les espèces ont donc dû s'adapter à ces variations environnementales. Cette adaptation s'est faite notamment grâce à la mise en place d'une horloge capable de se synchroniser et de distribuer à tout l'organisme un message temporel permettant l'anticipation des changements du milieu. Ainsi, cette horloge contribue largement au fonctionnement harmonieux des organismes dans leur environnement (**Malek, 2007**).

La plupart des activités biologiques connaissent des variations cycliques qui leur permettent d'être au niveau le mieux adapté au moment de la journée (**Coomans et al., 2015**). Elles constituent les rythmes biologiques, synchronisés essentiellement sur la photopériode (**Bourdon et Buguet, 2004**). L'horloge interne est une adaptation à l'environnement, et elle augmente la probabilité de la survie de l'organisme (**DeCoursey et Krulas, 1998**).

La sécrétion circadienne des hormones stéroïdes par le cortex surrénalien est exigée pour maintenir l'homéostasie du corps entier et pour répondre adéquatement aux changements environnementaux (**Ota et al., 2012**). La mélatonine l'hormone pinéale est le message endocrinien principal employé pour retransmettre l'information photopériodique à l'axe reproducteur et corticosurrénalien (**Hazlerigg et Simonneaux, 2015**).

Peu d'études consacrées aux mammifères vivant en zones arides, pourtant ils constituent de bons modèles expérimentaux pour l'étude des mécanismes de l'adaptation aux conditions extrêmes de leur environnement.

Dans cette logique notre travail est basé essentiellement, sur l'étude de l'influence des facteurs externes à savoir : la lumière du jour et la photopériode saisonnière sur la structure et l'activité sexocorticoïde de la surrénale chez le bélier D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa.

D'abord, nous rappellerons la structure du cortex surrénalien ainsi que sa physiologie endocrinienne, en focalisant l'activité sexocorticoïde et sa régulation, après, nous passerons à la description du bélier D'man espèce bien adaptée au climat aride, ensuite, nous présenterons le matériel et les techniques utilisées, les résultats obtenus seront discutés à la lumière de la littérature et enfin une conclusion générale résumant les principaux résultats de cette étude ouvrant voies sur de nouvelles perspectives.



Le présent travail est réalisé au niveau du Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA), à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB). Dans le but d'étudier l'effet de la lumière journalière et saisonnière sur la fonction sexocorticoïde chez le bélier D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa. Deux techniques sont réalisées :

**1. L'étude histo-morphométrique du cortex surrénalien incluant :**

- Les épaisseurs du cortex surrénalien et celle des zones : fasciculée, glomérulée et réticulée.
- Les surfaces cellulaire et nucléaire permettant le calcul du rapport nucléo- cytoplasmique pour les zones fasciculée et réticulée.

**2. Le dosage radioimmunologique (RIA) d'androstédone plasmatique afin d'évaluer l'activité sexocorticoïde de la corticosurrénale.**

**I. Matériel biologique :**

**I.1. Le mouton :**

A cause de l'excellente résistance et adaptation aux conditions du milieu de steppe qui caractérisent les ovins, ces derniers ont été préférentiellement choisis pour la réalisation de cette étude.



**Figure 12 :** Photographie représentant le Bélier D'Man à laine : couleur noire gardé en stabulation dans la station de recherche d'El-Méniaa.

Les béliers D'man caractérisés par un poids moyen de 48 Kg, sont maintenus en stabulation, isolés des femelles et soumis aux conditions climatiques naturelles. Ils se nourrissent de fourrage et reçoivent en période d'hiver du complément à base d'orge et de foin.

I.2. Position phylogénique du mouton :

Le mouton domestique est Ovisaries. Il appartient à l'ordre des Artiodactyla, et au sous-ordre des Pecora. Il est de la famille des Bovidae, de la sous-famille des Caprinae, et du genre Ovis (Annyse, Clémence, Marie Desbois, 2008).



Figure 13 : Phylogénie des Ovins (Sous – famille des Caprinés) (Vivicorsi, 1998).

a. Systématique des ovins :

La classification systématique est la suivante :

- Embranchement : Vertèbres
- Classe : Mammifères
- Super ordre : Ongulés
- Ordre : Artiodactyles
- Famille : Bovidae
- Genre : Ovis
- Espèce : Ovis aries (Linnaeus, 1758).

$$\text{Formule dentaire} = \frac{O_i + O_c + 3P + 3m}{i + 1c + 3p + 3m}$$

♦ Noms usuels :

Fr : Mouton ; An : Domestic sheep ; Ar : كبش (LeBerre, 1990).

### **b. Biotope :**

#### ➤ **Situation géographique :**

Les béliers D'man de cette étude, proviennent de la région d'El-Méniaa (située 30° 34 Latitude Nord 02° 52 Longitude Est, Altitude 397m, Surface est 49 000 Km<sup>2</sup> wilaya de GHARDAIA). A l'ouest de cette grande palmeraie, le Grand Erg Occidental contourné par une multitude d'oasis qui forme une boucle. A l'est, le Grand Erg Oriental (**PETTER, 1961**).

#### ➤ **Végétation :**

Le couvert végétal est pauvre, la structure et la nature du sol ne sont pas favorables à l'existence d'une flore naturelle riche, la verdure est plutôt créée par l'Homme, cependant la région n'est pas dépourvue de végétation naturelle ; elle est concentrée dans les lits d'oueds (**Barkat et al., 2008**).

#### ➤ **Condition climatique :**

Le climat est de type aride avec des vents dominants de Nord et Nord-est, ceux venant de l'Est et du Sud-est, sont les plus dangereux car ils transportent des sables. Les périodes ventées sont novembre, décembre et mars. Les amplitudes entre les températures diurne et nocturne sont importantes, elles varient de 1 à 25°C en hiver et de 18 à 48°C en été (**Chellig, 1992**).

## **II. Méthodes :**

### **II.1. Prélèvement de sang et d'organes :**

Sur 24 béliers de race D'man adultes sont réalisés les prélèvements sanguins (un jour avant le sacrifice), chaque 15 à 30 minute pendant 25 heures, bien que les dosages d'androsténone sont réalisés sur les prélèvements de chaque 4 heures : 05h, 09h, 13h, 17h, 21h et 01h. A chaque prélèvement, on recueille par ponction au niveau de la veine jugulaire environ 5 ml de sang dans un vacutainer hépariné ; après centrifugation à 3000 tours/mn, les plasmas sont recueillis dans des tubes en plastique, aliquotés en fraction de 2ml environs et immédiatement congelés à -20 °C, puis ramenés à Alger dans de l'azote liquide.

Le sacrifice des béliers préalablement pesés a été effectué au cours des équinoxes (21 septembre, 21 mars) et solstices (21 juin, 21 décembre) à raison de 6 sacrifices par saison : 3 en phase claire (12h) et 3 en phase sombre (00h).

Les glandes surrénales ont été prélevées immédiatement après sacrifice, débarrassées de leurs tissus adipeux sur un lit de glace puis pesées séparément et coupées en fragments. Les fragments destinés à l'étude histologique, sont fixés immédiatement dans le fixateur Bouin-Aqueux.

### II.2. Technique histologique :

#### ➤ Principe :

La confection des coupes histologiques permet l'observation des tissus au microscope photonique après une coloration spécifique. Elle comporte plusieurs étapes, rapportées essentiellement dans MARTOJA (1967) et GABE (1968).

#### II.2.1. Fixation :

Cette étape a pour but d'immobiliser les structures en respectant dans la mesure du possible leur morphologie, de les conserver et permettre la confection de préparation permanente (Gabe, 1968). L'agent fixateur solidifie le gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire limitant le hyaloplasme et les organites.

Les organes sont plongés dans un volume (environ 60 fois supérieur à celui de l'organe) de Bouin-Hollande (fiche technique n° 1), pendant 48h. Après fixation, les organes subissent un lavage à l'eau courante renouvelée plusieurs fois, puis transférés dans un liquide conservateur (alcool 70°) jusqu'à l'étape suivante. Chaque pièce est accompagnée d'une étiquette portant toutes les indications utiles (crayon sur fiche cartonnée).

#### II.2.2. Inclusion dans la paraffine :

L'ensemble du processus d'inclusion comporte quatre étapes :

- **Déshydratation** :

La pièce est trempée successivement dans l'alcool à 70°, l'alcool à 96° et enfin dans l'alcool absolu en respectant les temps (fiche technique n° 2).

- **Eclaircissement** :

Il permet l'élimination complète des traces d'alcool et l'imprégnation par le butanol, solvant de la paraffine. La durée du premier bain est de 24 heures, le second bain est de durée illimitée.

- **Pénétration des pièces par la paraffine** :

Le but de cette étape est d'obtenir une imprégnation aussi complète que possible des pièces par la paraffine. La pièce est passée successivement dans 3 bains de paraffine à la

température de fusion de la paraffine (56 à 58°C) : le premier bain est formé d'un mélange de butanol et de la paraffine (v/v), d'une durée de 1 heure et deux autres de paraffine pure, le premier d'une durée de 4 heures et le deuxième d'une durée de 24 heures.

- **Confection des blocs de paraffine :**

Dans cette étape, ont été utilisés des moules de métal (tissus-TEK111) et des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrites les indications de la pièce traitée. La paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C. La pièce à inclure est orientée et disposée dans la paraffine; on dépose ensuite la cassette correspondante, sur le moule. Le bloc est refroidi rapidement dans un bain de glace. Environ 5 min plus tard, le bloc a complètement durci. Détaché du moule, il est prêt à être débité au microtome selon l'épaisseur désirée.

### **II.2.3. Confection des coupes :**

Après installation du bloc sur le microtome, le rabotage commence en ajustant l'échelle à 20 µm. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupe, on ramène l'échelle à 5 µm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans.

### **II.2.4. Etalement des coupes :**

Chaque coupe est déposée sur une lame couverte d'eau gélatinée ou d'eau bidistillée et placée sur une plaque chauffante chauffée à 40°C pour permettre un bon étalement. Les indications de l'organe sont inscrites sur une étiquette collée à la périphérie de la lame.

### **II.2.5. Coloration :**

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Ceci est obtenu à l'aide de trois colorations topographiques à l'Hémalun-éosine, l'Azan modifié et Trichrome de Masson.

Avant toute coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine et réhydratées. Le xylène est utilisé pour le déparaffinage (2 bains de 5 min). Le passage pendant 5 min dans les alcools de degré décroissant (absolu, 96° et 70°) permet la réhydratation.

L'Hémalun-éosine (fiche technique n°3) colore les noyaux en bleu noir et le cytoplasme acidophile en rose ; cette coloration a été utilisée à la fois pour l'étude morphométrique et la prise de photographies.

Le Trichrome de Masson (fiche technique n°4) met en évidence les éléments du tissu conjonctif en particulier le collagène en vert, le noyau en noir et le cytoplasme en rouge ; cette coloration a servi pour les prises de photographies.

L'Azan modifié (fiche technique n°5) colore les noyaux et certains cytoplasmes en rouge d'autres cytoplasmes en jaune ou gris. Le collagène est bleu. Les sécrétions peuvent être de différentes couleurs selon leur nature ; cette coloration a servi pour les prises de photographies.

### **II.2.6. Montage :**

Une fois colorées, les lames doivent passer dans des bains d'alcool de concentration croissante de façon à éliminer l'eau restante dans les coupes (70°, 96°, 100°) et enfin dans 3 bains de xylène.

Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une substance appropriée (Eukit) au colorant utilisé, tout de suite une lamelle en verre est déposée sur l'échantillon histologique.

Les lames sont ensuite séchées à l'aire libre, nettoyées au xylène et enfin observées au microscope photonique (Zeiss).

### **II.3. Etude morphométrique :**

Les mesures ont été réalisées sur les coupes histologiques des glandes surrénales, focalisant : les épaisseurs tissulaires, les surfaces cellulaires des différentes zones de la corticosurrénale (zones glomérulée, fasciculée et réticulée), à l'aide d'un logiciel d'analyse et de traitement d'images « Axio vision 4.6.3 ».

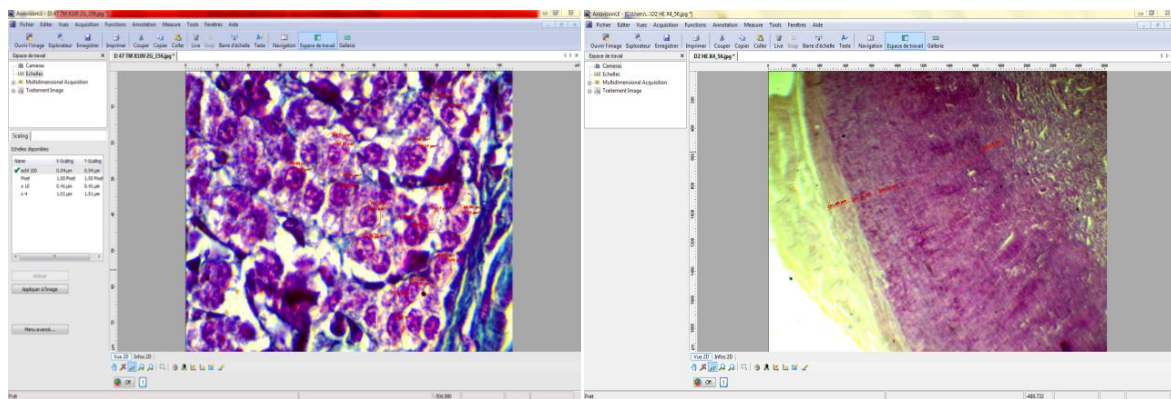
Concernant les épaisseurs tissulaires, les mesures sont faites sur dix coupes de surrénale en balayant toute la périphérie du cortex, tandis que les mesures cellulaires et nucléaires ont été réalisées sur 100 cellules randomisées au niveau de chaque zone du cortex surrénalien.

## Matériel et méthodes

Les variations du volume nucléaire peuvent s'apprécier également par rapport à la taille de la cellule par l'évaluation du rapport nucléo-cytoplasmique qui correspond au rapport du volume nucléaire / (volume cellulaire – volume nucléaire) (**Hertwig, 1903**). Plus une cellule est différenciée, plus son noyau est petit par rapport au cytoplasme et donc plus le rapport nucléo-cytoplasmique est faible.

**Le rapport nucléo-cytoplasmique est calculé de la façon suivante :**

$$(\text{Rapport nucléo – cytoplasmique}) = \frac{V \text{ noyau}}{V \text{ cytoplasme} - V \text{ noyau}}$$



(a)

(b)

**Figure 14 :** Mesures des surfaces cellulaires et nucléaires (a) et des épaisseurs tissulaires (b) à l'aide du logiciel Axio Vision.

Les photographies figurant dans ce mémoire ont été prises à l'aide d'un appareil photos numérique (KODAK) fixé sur microscope.

### II.4. Le dosage d'androstéedione plasmatique par la technique radioimmunologique (RIA) :

Les teneurs plasmatiques en androstéedione sont évaluées par la technique radioimmunologique sur kit RIA.

#### ➤ Principe de RIA :

Le dosage radioimmunologique est un dosage par compétition. La procédure suit le principe de base de l'immunodosage selon lequel des molécules radioactives (Ag\*) et non radioactives (Ag) entrent en compétition pour un nombre fixe de sites de liaison d'anticorps. Une concentration fixe d'androstéedione marquée à [I125] entre en compétition avec l'androstéedione à doser présente dans les échantillons pour une quantité limitée d'anticorps monoclonaux spécifiques immobilisés sur les parois des tubes. Après 1 heure d'incubation à la température ambiante, les antigènes libres et liés sont séparés par aspiration des tubes enduits d'anticorps, et la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie.

Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe (la quantité d'antigènes marqués liée aux anticorps est inversement proportionnelle à la concentration en antigènes non marqués présente dans les échantillons).

#### ➤ Réactifs fournis :

- Tubes en plastique recouverts d'anticorps anti-androstéedione.
- Traceur d'androstéedione marquée à l'Iode 125.
- Calibrateurs d'androstéedione : pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.
- Contrôles d'androstéedione.

#### Note :

Les flacons de calibrateurs et de contrôles nécessitent une étape de répartition dont ils doivent être reconstitués avec 0.5 ml d'eau distillée puis mélangés brièvement afin d'être prêts à l'emploi.

#### ➤ Matériel nécessaire : Annexes A.

#### ➤ Mode opératoire : (référence du Kit : DSL 3800)

A/ Tous les réactifs ont été équilibrés à la température du laboratoire avant leur utilisation.

### B/ Mesure d'androstéedione dans le plasma:

1. **Identification** des tubes revêtus, et un tube témoin non revêtu (CPM) utilisé pour la détermination de l'activité totale.
2. **Distribution** de 50 µl du plasma (préalablement homogénéisé au moyen d'un agitateur vortex) dans les tubes à anticorps anti-androstéedione respectifs.



## Matériel et méthodes

3. **Addition** de 50 µl de contrôle ou de calibrateur d'androsténedione, puis 500 µl de traceur d'androsténedione-I 125 (le contenu de chaque tube a été mélangé à l'aide de l'agitateur vortex pour que la réaction s'effectue).
4. **Incubation** des tubes dans le bain-marie pendant 1 heure à la température ambiante (37°C) (Le portoir des tubes a été bien recouvert par un papier aluminium).
5. **Aspiration** du contenu de chaque tube à l'exception du tube témoin (CPM) par un système d'aspiration pour terminer la réaction de compétition (les tubes doivent être vidés de toute trace de liquide afin d'obtenir des résultats fiables).
6. **Mesure** de la radioactivité liée aux tubes recouverts à l'aide d'un compteur gamma calibré pour l'iode 125 (les résultats sont affichés à l'écran puis imprimés).

**Tableau 2 :** Mode opératoire du dosage d'androsténedione plasmatique par RIA

	Calibrateur contrôle	et Plasma (Sx)	Tubes (totaux) (T)
1. Répartition : Dans des tubes recouverts d'anticorps, distribué :			
➤ Les calibrateurs, contrôle	50µl	-	-
➤ Le plasma	-	50µl	-
➤ Traceur	500µl	500µl	500µl
Agiter à l'aide d'un vortex			
2. Incubation : 1heure à 37C°.			
3. Comptage : calculer les B/Bo%.			

➤ **Expression des résultats :**

Pour chaque groupe de tubes faire la moyenne des comptages.

- Calculer les B/Bo% =  $\frac{\text{moyenne des cpm (échantillon)}}{\text{moyenne des cpm (CALO)}} \times 100$
- Construire la courbe d'étalonnage en exprimant les B/Bo des calibrateurs en fonction de leur concentration.
- Lire les valeurs des échantillons à partir de la courbe d'étalonnage.
- La conversion de ng/ml en nmol/l peut être calculée en utilisant la formule suivante :  
Androsténedione (nmol/l) = Androsténedione (ng/ml) x 3.45.

### ➤ Caractéristiques du dosage :

#### 1. Sensibilité:

**1.1 Sensibilité analytique:** 0,05 ng/ml.

**1.2 Sensibilité fonctionnelle:** 0,09 ng/ml.

#### 2. Spécificité :

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de l'androsténone. Des réactivités croisées basses (<1%) ont été obtenues vis à vis de quelques molécules proches (androstérone, 17-hydroxyprogestérone, cortisone etc.).

#### 3. Précision :

##### 3.1 Intra-essai :

Des échantillons sériques ont été dosés 25 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 7,5 %.

##### 3.2. Inter-essai :

Des échantillons sériques ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 11,3 %.

#### 4 Exactitude :

##### 4.1. Epreuve de dilutions :

Des échantillons sériques de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 81,6 % et 99,4 %.

##### 4.2. Epreuve de surcharge :

Des quantités connues d'androsténone ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 93,0 % et 111 %.

**5. Plage de mesure** (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé):  
0,05 à environ 10,0 ng/ml.

#### II.5. Analyse statistique :

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  ESM ; une analyse de variance par Excel 2007.

La comparaison de deux variables par le test « t » de Student et de plusieurs variables par le test « ANOVA » utilisant le logiciel Statistica 2010.

- **Moyenne arithmétique ( $\bar{x}$ ) des valeurs individuelles :**

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$\sum x_i$  : Somme des valeurs individuelles  
 $n$  : Nombre de valeurs

- **Erreur Standard à la Moyenne (ESM) :**

$$ESM = \frac{\delta}{\sqrt{n}} \quad \text{Avec} \quad \delta = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$\delta$  : Ecart type

$x_i$  : Valeurs individuelles

- **Coefficient de corrélation :**

$$r = \frac{p}{\delta x \delta y} \quad p = \frac{1}{n} \sum x_i y_i - \bar{x} \bar{y}$$

$$(\delta x)^2 = \frac{1}{n} \sum (x_i - \bar{x})^2 \quad (\delta y)^2 = \frac{1}{n} \sum (y_i - \bar{y})^2$$

$x_i$  et  $y_i$  : Valeurs individuelles comparées

$\bar{x}$  et  $\bar{y}$  : moyenne des valeurs individuelles comparées

- **Validité statistique :**

La signification statistique des différences est évaluée par le test " t " de Fisher-Student.

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}} \quad S^2 = \frac{\sum (x_1 - \bar{x}_1)^2 + (x_2 - \bar{x}_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité "p", lue en fonction du nombre de degrés de liberté ( $d.d.l = n_1 + n_2 - 2$ ) est égale ou inférieure à 5%.

## Matériel et méthodes

---

Si  $p > 0,05$  : la différence n'est pas significative.

Si  $0,01 < p < 0,05$  : elle est significative (\*).

Si  $0,001 < p < 0,01$  : elle est très significative (\*\*).

Si  $p < 0,001$  : elle est hautement significative (\*\*\*)).

↳ Pourcentage des zones du cortex :

L'épaisseur du cortex ( $\mu\text{m}$ )  $\longrightarrow$  100%

L'épaisseur de la zone ( $\mu\text{m}$ )  $\longrightarrow$  X%

$$X\% = \frac{\text{épaisseur de la zone } (\mu\text{m}) \times 100}{\text{épaisseur du cortex } (\mu\text{m})}$$

↳ Pourcentage de variation :

$$X\% = \frac{m2 - m1 \times 100}{m1}$$

## Discussion

---

Dans le but d'étudier les effets des facteurs externes (le cycle lumière/obscurité et la photopériode) sur l'activité corticosurrénalienne, des prélèvements nycthémeraux et saisonniers ont été réalisés chez le bélier de race D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa. Nos résultats seront brièvement rappelés puis discutés comparativement aux données bibliographiques.

Le cortex surrénal des mammifères consiste en trois zones concentriques, de l'extérieur vers l'intérieur, la zone glomérulée, la zone fasciculée, et la zone réticulée (**Mitani, 2014**). Les espèces diffèrent dans leurs modèles de zonation corticosurrénalienne (**Beuschlein et al., 2012**).

Chez le bélier D'man, la ZF est la plus volumineuse (54% à 66%), suivie par la ZR (19% à 25%), tandis que la ZG occupe la plus faible portion (11 % à 18%) du volume total du cortex. Mêmes résultats ont été retrouvés chez le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*) qui montre une ZF particulièrement développée chez le jeune et le prépubère alors que la zone réticulée (34%) est plus épaisse chez l'adulte (**Kandsi-Bouhadad et Hadj-Bekkouche, 2010**). Par contre, chez le chien immature la ZR présente le plus faible pourcentage ( $8.8 \pm 2.1$  %) de la hauteur totale du cortex (**Perez-Fernandez et al., 1987**), alors que chez le mâle adulte de la musaraigne (*Sorex araneus*), la ZR est la plus développée (**Siuda, 1964**).

**Les résultats morphométriques chez le bélier D'man adulte**, montrent que l'épaisseur du cortex est sujette aux variations saisonnières déterminées par des valeurs maximales en été (1694.52 $\mu$ m), suivie par le printemps (1362.58 $\mu$ m), et l'hiver (1216.49 $\mu$ m), et se trouve relativement faibles en automne (1075.67 $\mu$ m). Ces variations ont pour origine les variations de la ZF occupant le plus grand pourcentage de l'épaisseur corticale. Quant à la ZR, elle se montre légèrement plus épaisse en phase obscure (294.91 $\mu$ m) qu'en phase claire (275.58 $\mu$ m) au cours des équinoxes et solstices sauf pour l'équinoxe du printemps. Ceci dit, les variations de l'épaisseur de la ZR se trouvent rapprochée à celles de l'épaisseur fasciculaire. En effet, l'épaisseur maximale de la ZR est notée au solstice d'été (312.89 $\mu$ m) et la minimale au solstice d'hiver (252.85 $\mu$ m) et équinoxe d'automne.

Ces résultats sont similaires à ceux de la musaraigne (*Sorex araneus*), où le cortex montre des variations saisonnières nettes ; il s'épaissit de juin à septembre, et à partir du début d'octobre, il subit l'involution aux dépens de la ZF et la ZR, atteignant son minimum en janvier et février (**Siuda, 1964**). Ce qui nous laisse suggérer à une activité corticale plus intense au cours des saisons de longs jours que de celles de courts jours.

L'épaisseur du cortex varie en fonction de la saison en relation avec la durée du jour : elle est très développée en photopériode longue (été), et plus faible en photopériode courte (hiver), nos résultats sont similaires à ceux retrouvés chez le porc (**Becker et al., 1985**) et la chèvre (**Alila-Johanasson et al., 2003**). Et se trouvent opposés à ceux de Malpaux *et al.* (**1996**) qui rapportent que chez le bélier, l'épaisseur du cortex est développée en automne et faible au printemps.

En outre, Ribes *et al.*, (**1999**) ont trouvé que chez le viscacha *Lagostomus maximus maximus*, le cortex subit des variations saisonnières structurales très importantes. En effet, la zone fasciculée en période de repos sexuel, présente des cellules larges et un cytoplasme riche en vacuoles lipidiques alors qu'elles sont très réduites durant la période de reproduction.

**Chez le bélier D'man adulte, la variation de l'épaisseur de la ZR suit parfaitement celles des surfaces cellulaire et nucléaire, et qui serait due aux variations de l'activité réticulaire dans la production des androgènes.**

**Les niveaux de production des androgènes surrénaliens varient entre 0.01 et 0.4ng/ml**, ces concentrations sont différentes d'une espèce à une autre. D'après les résultats de Cutler *et al.*, (**1978**) sur les rongeurs et les animaux domestiques adultes, la concentration plasmatique en androsténedione était très élevée chez le chien (>0.8ng/ml), chez le cobaye (>0.5ng/ml), et chez le rat et la poule (>0.25ng/ml), et se trouve faible chez le porc, le hamster, le cheval et la vache, et très faible chez le mouton, la chèvre et le lapin.

Le cortex surrénalien des primates sécrète un taux élevé de stéroïdes en C19 : DHEA, DHEA sulfate et l'androsténedione (**Kandsi-Bouhadad et Hadj-Bekkouche, 2010**). Ces hormones subissent une nette augmentation pendant la période prépubertaire, avant l'augmentation des androgènes testiculaires comme c'est le cas chez l'homme (**Reiter et al., 1977**), le chimpanzé (**Cutler et al., 1978**), le hamster (**Pieper et Loboeki, 2000**) et le rat (**Pignatelli et al., 2006**). Chez le lapin, le développement de la zone réticulée et l'augmentation de la DHEA et de l'androsténedione plasmatiques ont été constatés pendant la période postpubertaire (**Schiebinger et al., 1981**).

Chez le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*), la concentration plasmatique en androsténedione est inférieure à celle du bélier D'man, dont elle est négligeable (0,060±0,01 ng/ml) chez le jeune, faible chez le prépubère (0,152±0,03 ng/ml) et atteint (0,263±0,03 ng/ml) chez l'adulte (**Kandsi-Bouhadad et Hadj-Bekkouche, 2010**).

## Discussion

---

Chez plusieurs espèces de primates, les teneurs plasmatiques en androsténone sont différentes :  $1.04 \pm 8$  ng/ml chez le gorille,  $0.44 \pm 4$  ng/ml chez Orangutan,  $3.32 \pm 94$  ng/ml chez le singe Colobus, et  $0.33 \pm 17$  ng/ml chez le baboon. Pour le singe rhésus de 0 à 3 ans, le taux est de  $1.07 \pm 9$  ng/ml, et 4.8 fois plus élevé chez le chimpanzé de même âge. Il est de  $1.06 \pm 10$  ng/ml chez les singes rhésus adulte (Cutler *et al.*, 1978), ces valeurs sont semblables à celles observées précédemment par Snipes *et al.*, (1969) ( $1.7 \pm 37$  ng/ml).

Chez l'Homme, Parker *et al.*, (1978) rapportent que les concentrations plasmatiques en androsténone, DHEA et DHEAS varient entre 0.84-1.22 ng/ml, 0.96-2.32 ng/ml et 0.76-1.66 µg/ml respectivement chez des enfants des deux sexes entre l'âge de 11 ans et 12 ans. Les niveaux plasmatiques en androsténone, DHEA, 17-OH progestérone et cortisol étaient de  $0.154 \pm 4.0$  ng/ml,  $0.038 \pm 1.1$  ng/ml,  $0.221 \pm 5.5$  ng/ml et  $0.065 \pm 1.1$  mcg/ml successivement, en réponse à l'ACTH chez des chiens immatures (Perez-Fernandez *et al.*, 1987).

**Chez le bélier D'man adulte, les teneurs plasmatiques en androsténone varient au cours du nyctémère**, elles sont augmentées en phase claire et faibles en phase sombre hormis le solstice d'hiver. Le même profil nyctéméral est rapporté pour le cortisol plasmatique retrouvé chez les mêmes béliers de notre étude, des teneurs plasmatiques en cortisol **élevées le matin** et **basses le soir** durant l'automne, le printemps et l'été, alors qu'en hiver, les concentrations du cortisol plasmatique montrent ses pics de sécrétion durant la phase sombre.

Nos résultats sont similaires à ceux de Amokrane (2005) qui rapporte des valeurs relativement plus élevées en phase claire qu'en phase sombre chez le bélier D'man, suggérant que la lumière agirait comme stimulateur et que l'obscurité inhiberait l'activité glucocorticoïde à différents moments de l'année.

L'étude du rythme nyctéméral de l'activité glucocorticoïde a été rapportée par plusieurs auteurs dont, les résultats de Mesbah (1978), nous informent que l'activité glucocorticoïde était soumise à d'importantes variations nyctémérales, caractérisées par des valeurs importantes en fin de matinée et en début d'après-midi et des valeurs plus basses la nuit, quelles que soient la saison (début de l'été ou fin de l'automne) et la race (Ouled Djellal, Tadmit ou croisement).

**Chez le bélier D'man adulte, les teneurs plasmatiques en androsténone varient aussi au cours de la saison**, et se caractérisent par des concentrations faibles en automne ( $0.13 \text{ ng/ml} \pm 0.04$ ), suivies par une légère élévation en hiver ( $0.16 \text{ ng/ml} \pm 0.05$ ), elles atteignent le pic saisonnier au printemps ( $0.30 \text{ ng/ml} \pm 0.04$ ), et diminuent légèrement en été

(0.28ng/ml±0.04). Ces variations sont jumelées avec celle du cortisol chez les mêmes béliers. Ces variations sont similaires à celles rapportées par Soltani (1988) chez le bélier D'man élevé à Tadjmount, montrant des teneurs importantes au printemps et en été, et faibles au cours de l'hiver et l'automne.

Nos résultats concordent avec ceux de Khammar (1977) qui rapporte que les mammifères des zones désertiques étudiés semblent présenter pour la plupart, des variations saisonnières de la fonction surrénalienne avec un minimum en automne-hiver et maximum au printemps-été.

Au contraire, plusieurs auteurs rapportent un rythme saisonnier inverse ; chez le Renne, les valeurs en glucocorticoïdes sont plus élevées en hiver qu'en été (Ringberg Lund-Larsen *et al.*, 1977), chez l'homme (Reinberg *et al.*, 1978), la chèvre (Alila-Johanasson *et al.*, 2003), le cerf à queue blanche (Bubenick *et al.*, 1975, 1983, 1984), le mérion (Bennani-Kabchi, 1988) et chez le rat des sables (Amirat, 1980) ; ces variations peuvent être dues aux variations des facteurs climatiques. Ceci consolide l'effet de la photopériode sur l'activité sécrétoire, où cette dernière diffère chez les espèces de différentes latitudes.

En effet, il paraît que ces variations peuvent être entraînées par la lumière et la photopériode chez la plus part des espèces vertébrés (Woodly *et al.*, 1973). Il est bien établi que, en fonction des saisons, les variations de l'ensoleillement sont capables de modifier le rythme de sécrétion des glucocorticoïdes (Cutalo *et al.*, 2005), et donc celui d'androsténone. L'influence de la photopériode sur le rythme corticosurrénalien a été rapportée par plusieurs travaux. En effet l'étude sur des souris aveugles montre que le rythme corticosurrénalien réagit plus aux modifications lumineuses de l'environnement (Crichlom *et al.*, 1963).

Aux équinoxes, de très bonnes corrélations positives entre les taux plasmatiques du cortisol et d'androsténone et aussi entre les épaisseurs de la ZF et la ZR. Excepté l'équinoxe du printemps, où l'on constate une corrélation négative entre les épaisseurs de la ZF et la ZR. Au contraire, durant les solstices, de parfaites corrélations négatives entre les hauteurs de la ZF et la ZR et entre les niveaux plasmatiques du cortisol et d'androsténone.

Ces résultats montrent que la ZF et la ZR ainsi que leurs modes de sécrétions suivent le même rythme, ce qui a été confirmé par Hedberg *et al.*, (2007) où ils ont rapporté que le traitement à ACTH a eu comme conséquence une augmentation significative des concentrations plasmatiques en cortisol, androsténone, progestérone et testostérone chez les juments, avec une plus grande quantité d'androsténone que de progestérone,



indiquant de ce fait fortement une source surrénale de ces hormones, illustrant une corrélation entre la rythmicité de sécrétion du cortisol et des androgènes surrénaliens (**Rosenfeld *et al.*, 1971**). Kolanouski *et al.*, (1987) ont montré également que DHEA, DHEA sulfate et l'androsténone sont produites *in vitro* après stimulation des cellules surrénaliennes de lapin par l'ACTH.

De plus, Siuda (1964) a rapporté qu'au cours de l'hiver, quand la glande hypophyse est moins active, les zones fasciculée et réticulée diminuent, confirmant de ce fait que ces deux zones dépendent de la glande hypophyse. De même, Delost (1955-56) a trouvé qu'au printemps, l'activité intensifiée de la glande hypophyse influence la stimulation et le développement des glandes surrénales. D'après Dehnel (1949), la régression du cortex peut être due aussi à l'involution du thymus, à la diminution du poids corporel, et à la réduction de la taille du crâne.

D'autres hormones jouent un rôle important dans les variations nyctémérales et saisonnières de l'androsténone. Par exemple, chez le lapin adulte, les androgènes testiculaires inhiberaient la production des androgènes au niveau de la glande surrénale, alors qu'en absence des androgènes testiculaires, la zone réticulée serait stimulée pour la synthèse de ces hormones (**Kandsi-Bouhadad et Hadj-Bekkouche, 2010**).

D'autres facteurs endogènes tels que : le système nerveux central, CRH, ACTH, système rénine-angiotensine, électrolytes sont susceptibles de modifier le fonctionnement corticosurrénalien (**Mesbah, 1978**).

Parmi les facteurs sociaux, le stress est un facteur ayant un effet puissant sur le rythme circadien du système hypophyso-surrénalien (**Redgate, 1976**).

Les résultats des effets de la lumière du jour et de la photopériode saisonnière sur l'activité sexocorticoïde, chez le bélier de race D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa sont présentés comme suit :

### **I. L'étude morphométrique :**

1. L'épaisseur de la : corticosurrénale, zone réticulée et zone fasciculée.
2. Les surfaces cellulaire (C) et nucléaire (N) des zones réticulée et fasciculée.
3. Le rapport nucléo-cytoplasmique (N /C) permettant l'appréciation de l'activité cellulaire.
4. L'estimation des pourcentages des zones corticosurréaliennes : Glomérulée, Fasciculée et Réticulée.

### **II. L'étude de l'activité sexocorticoïde :**

1. Les variations nycthémérales et saisonnières de l'androsténedione plasmatique.

### **III. La corrélation entre les zones réticulée et fasciculée, et entre les niveaux plasmatiques en androsténedione et cortisol.**

Les tableaux statistiques sont placés en annexes, les graphes et les histogrammes sont inclus dans le texte.

### **I. Etude morphométrique de la corticosurrénale :**

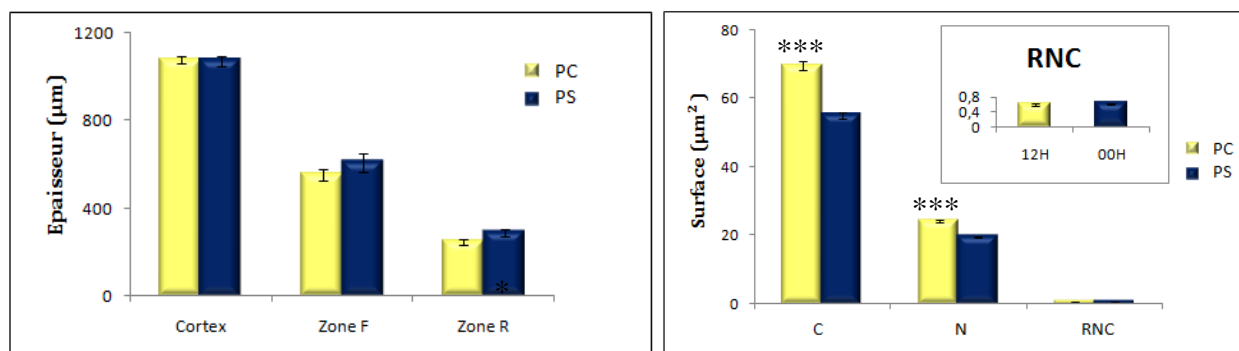
Dans cette partie, sont présentées les variations morphométriques de la corticosurrénale en phases claire et sombre au cours des équinoxes et solstices.

#### **1. Variations morphométriques de la corticosurrénale en phases claire et sombre :**

L'étude des variations morphométriques de la corticosurrénale en phases claire et sombre a été effectuée pour chaque saison séparément.

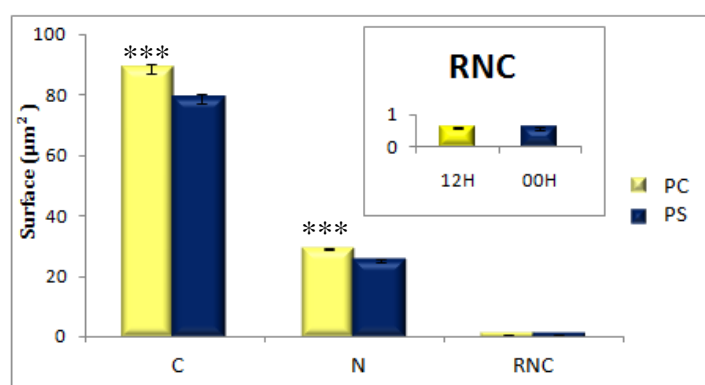
## Résultats

### A) Equinoxe d'automne



(a) Les épaisseurs du cortex et des zones réticulée et fasciculée.

(b) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZR et le rapport N/C.



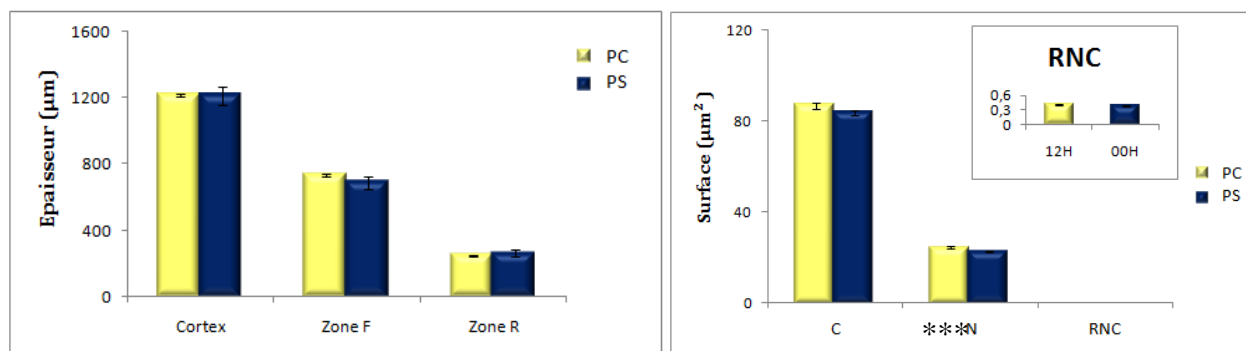
(c) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C.

**Figure 14:** Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

D'après la figure ci dessus, l'épaisseur du cortex ne montre aucune différence entre la phase claire et la phase sombre, ceci dit, les deux zones fasciculée et réticulée ( $p=0.03$ ) (17.44%) sont plus développées en phase sombre par rapport à la phase claire (a). Pourtant, les surfaces cellulaire (-20.68%) et nucléaire (-19.38%) de la ZR (b) ainsi que les surfaces cellulaire (-10.90%) et nucléaire (-13.40%) de la ZF (c) diminuent significativement ( $p=0.00001$ ) en phase sombre. Ce qui peut prédire que l'augmentation des deux zones en phase sombre serait due à une multiplication cellulaire.

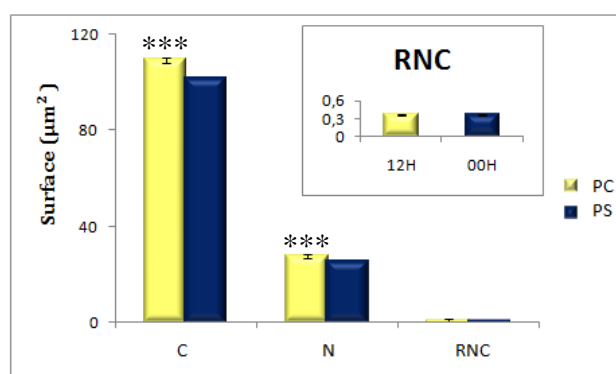
On note aussi que les cellules de la ZF sont plus larges que celles de la ZR au **solstice d'automne**.

### B) Solstice d'hiver



(a) Les épaisseurs du cortex et des zones réticulée et fasciculée.

(b) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZR et le rapport N/C.



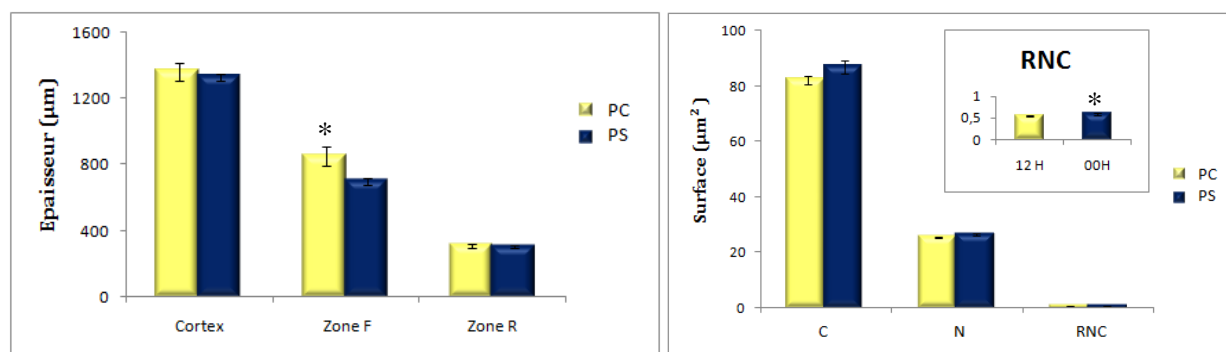
(c) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C.

**Figure 15:** Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

Comme déjà souligné à l'équinoxe de l'automne, **le solstice d'hiver** ne marque pas de variation dans l'épaisseur corticale entre les deux phases claire et sombre. Ceci est valable pour la ZF et la ZR, elles présentent approximativement les mêmes épaisseurs durant les deux phases lumineuses (a). Quoique, leurs surfaces cellulaires ( $p = 0.0009$  [-6.77%]) (c) et nucléaires diminuent ( $p < 0.0015$  [-8.003%]) (b) ( $p = 0.00007$  [-7.67%]) (c) significativement à la phase sombre.

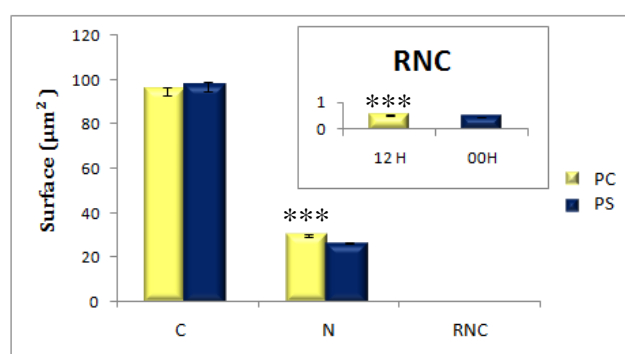
Les cellules de la ZF demeurent plus larges que celles de la ZR. On souligne comme même une augmentation apparente des surfaces cellulaires des deux zones durant ce solstice par rapport à l'équinoxe d'automne.

### C) Equinoxe du printemps



(a) Les épaisseurs du cortex et des zones réticulée et fasciculée.

(b) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZR et le rapport N/C.



(c) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C.

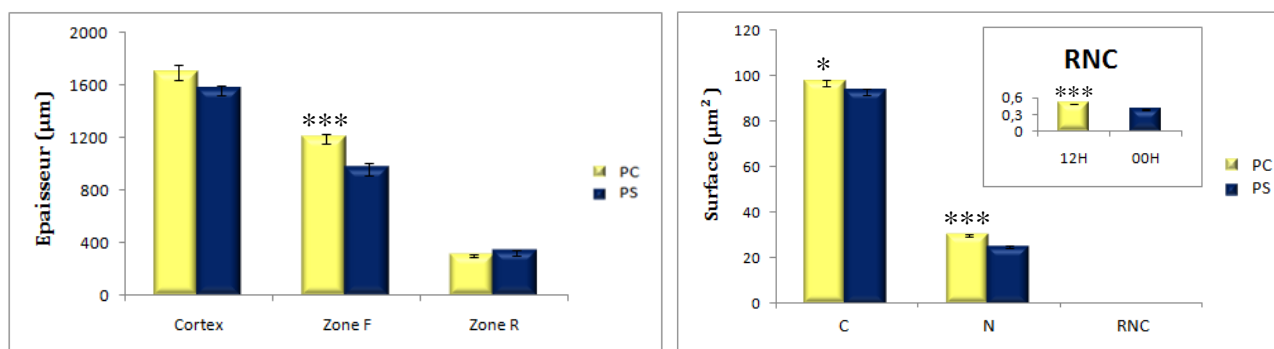
**Figure 16:** Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa.

D'après la figure ci-dessus, l'épaisseur du cortex diminue légèrement à la phase sombre, cette variation est due uniquement à la diminution (-18.27%) significative ( $p = 0.04$ ) de l'épaisseur de la ZF, alors que l'épaisseur de la ZR ne varie pas (a). Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZR, augmentent légèrement durant la phase sombre de l'équinoxe du printemps, déterminant une augmentation (9.26%) significative ( $p = 0.03$ ) du RNC (b) qui témoignerait la diminution de la sécrétion d'androstéedione en phase sombre.

D'autres parts, la surface nucléaire de la ZF diminue (-12.06%) significativement ( $p < 0.00$ ) en phase sombre, et mène à son tour à la diminution (-15.09%) hautement significative ( $p = 0.0001$ ) du RNC (c), ce qui laisse supposer à une augmentation dans l'activité sécrétoire (du cortisol) durant la phase claire.

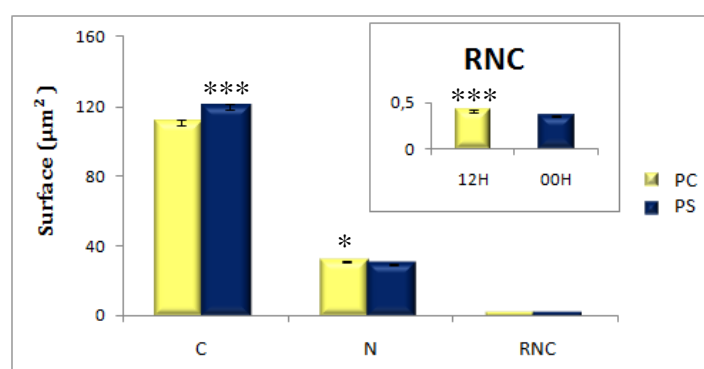
On note tout de même, une légère diminution dans les surfaces cellulaires des deux zones par rapport au solstice d'hiver.

### D) Solstice d'été



(a) Les épaisseurs du cortex et des zones réticulée et fasciculée.

(b) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZR et le rapport N/C.



(c) Les surfaces cellulaire et nucléaire de la ZF et le rapport N/C.

**Figure 17** : Les variations morphométriques du cortex surrénalien en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

Au solstice d'été, le cortex surrénalien est très développé par rapport aux autres saisons, due à la prolifération parallèles des ZF et ZR.

En phase sombre, on observe une diminution très significative ( $p=0.001$ ) de l'épaisseur corticale suite à la diminution (-19.91%) hautement significative ( $p<0.0002$ ) de l'épaisseur de sa zone fasciculée ( $958.14\mu\text{m}^2\pm 49.01$ ) (a). Cependant la surface cellulaire augmente (7.81%) significativement ( $p=0.00002$ ) durant cette phase et est jointe d'une diminution (-4.01%) significative ( $p<0.01$ ) des surfaces nucléaires et du RNC (c) (-14.63%,  $p=0.00$ ) qui se manifesterait par une augmentation dans l'activité sécrétoire du cortisol, cette augmentation de la surface cellulaire est due à l'hypertrophie du cytoplasme riche en vacuoles lipidiques essentielles pour la synthèse des hormones.

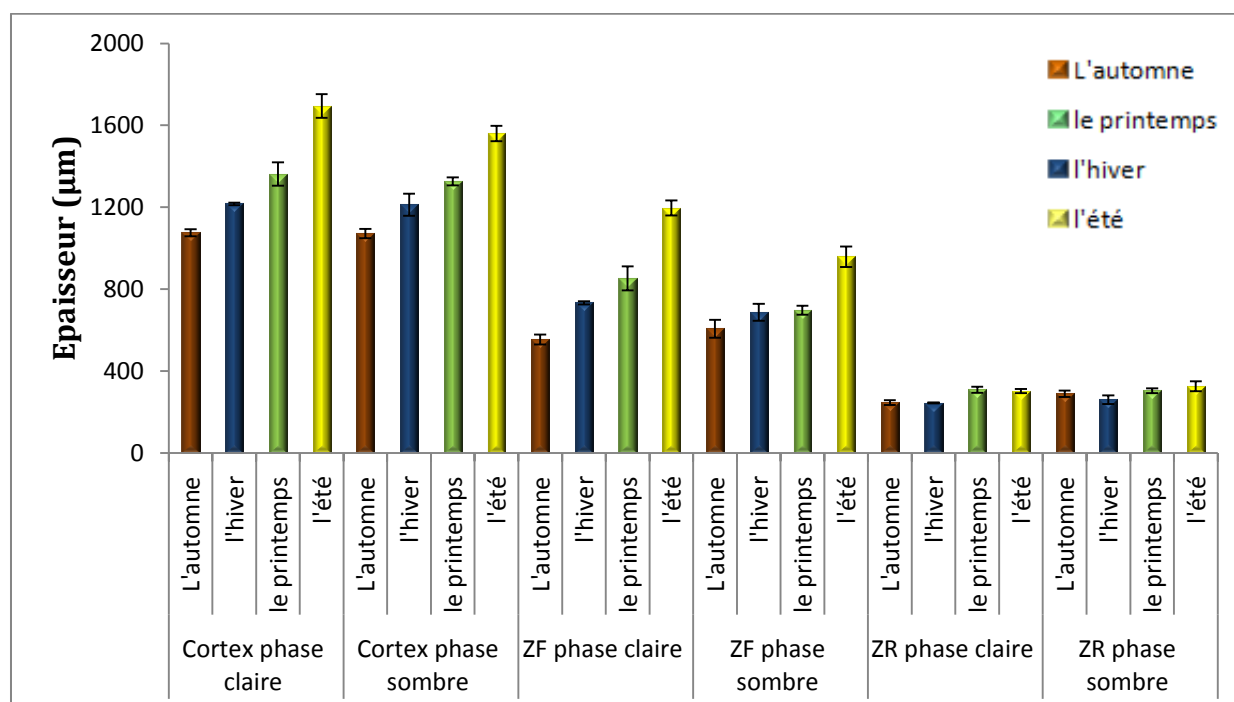
Quant à la ZR, qui paraît augmenter légèrement à la phase sombre (a), elle montre une diminution (-3.94%) significative de ses surfaces cellulaire ( $p=0.04$ ) et nucléaire ( $p=0.00$ ) et du RNC ( $p=0.00$ ) (-20.41%) (b) durant cette phase qui pourrait traduire une augmentation de l'activité sécrétoire d'androsténone.

## Résultats

Il est important de signaler à ce niveau, que les surfaces cellulaires des ZF et ZR sont plus larges par rapport aux saisons précédentes.

**Au cours de toutes les saisons étudiées, nous rapportons que les cellules de la ZF demeurent plus larges que celles de la ZR.**

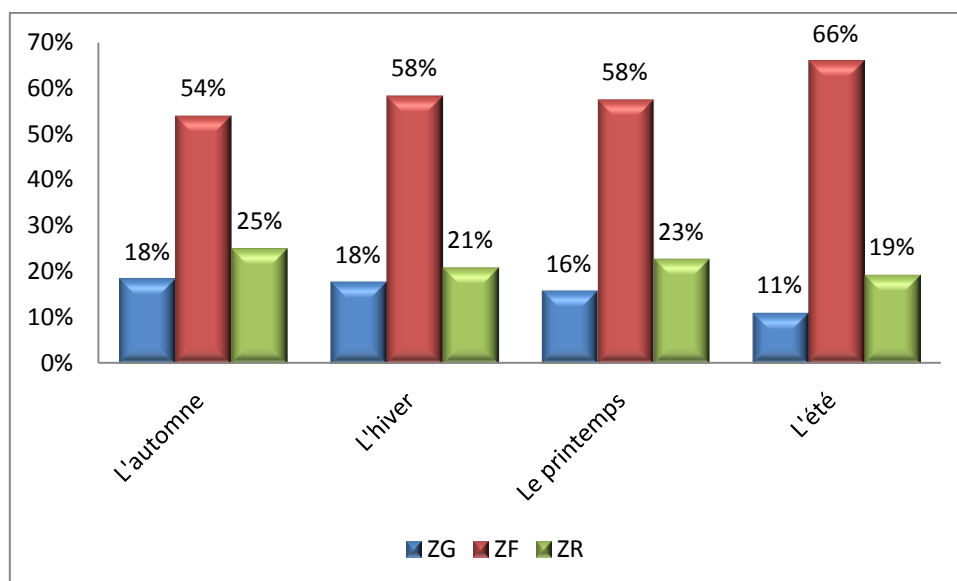
### 2. Variations morphométriques de la corticosurrénale au cours des saisons



**Figure 18:** Histogramme récapitulatif des variations de l'épaisseur : du cortex surrénalien, et des deux zones fasciculée et réticulée en phases claire et sombre au cours des différents équinoxes et solstices chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'EL-Méniaa.

La figure ci-dessus, montre clairement que l'épaisseur de la zone fasciculée suit parfaitement celle du cortex surrénalien au cours de toutes les saisons étudiées, témoignant leur intime dépendance ; l'augmentation de l'épaisseur de la zone fasciculée ( $p = 0.0001$ ) au solstice d'été est suivie par l'augmentation ( $p = 0.0001$ ) de l'épaisseur corticale. De même, la diminution de l'épaisseur de la zone fasciculée durant l'équinoxe d'automne est simultanée à la diminution de l'épaisseur du cortex surrénalien. Aussi bien pour la ZR, sa variation semble être jumelée à celle de la ZF et du cortex. Ceci dit, l'épaisseur des deux zones fasciculée et réticulée, se trouve maximale en printemps-été et diminue significativement (respectivement  $p = 0.003$  et  $p = 0.004$ ) en automne-hiver.

On note, que la ZF est plus développée en phase claire qu'en phase obscure sauf à l'équinoxe d'automne. Néanmoins pour la ZR, elle est légèrement plus développée en phase sombre à l'exception de l'équinoxe du printemps.



**Figure 19:** Les variations saisonnières du pourcentage des zones du cortex (ZG, ZF, ZR) chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

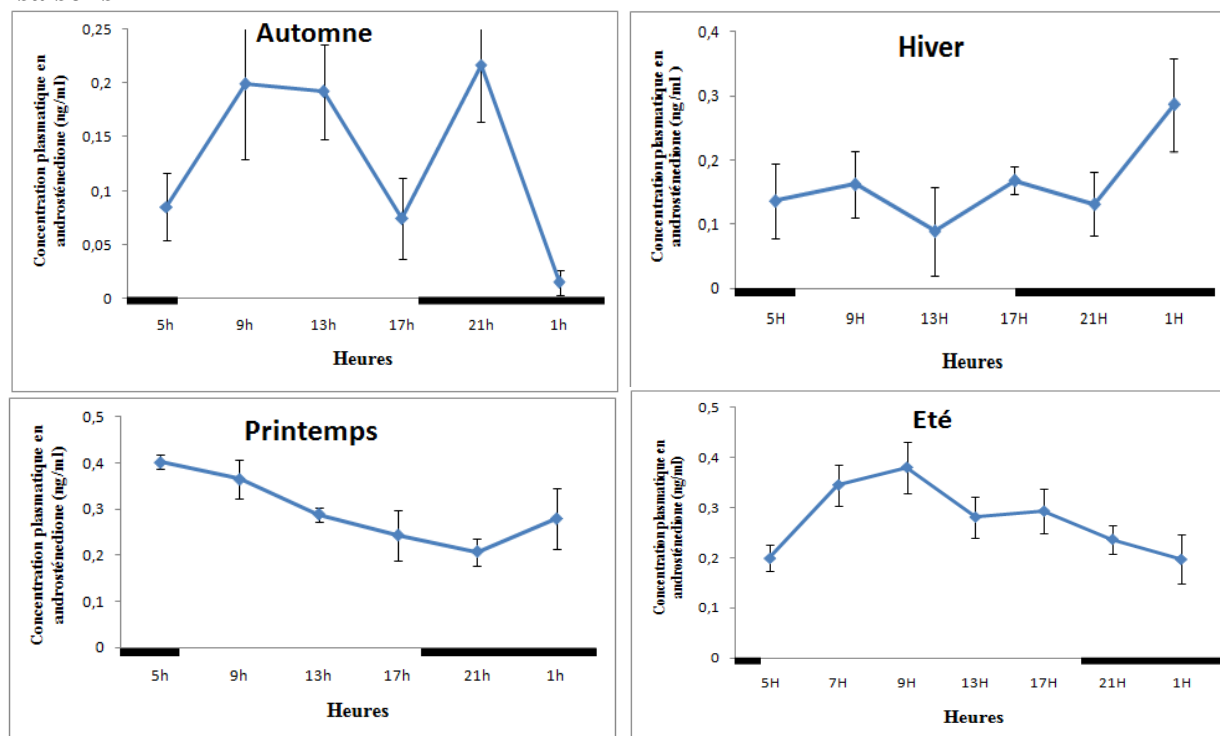
L'histogramme ci-dessus, présente les variations saisonnières en pourcentage des différentes zones du cortex surrénalien, qui consolident les données des variations morphométriques au cours des saisons. En effet, l'augmentation en pourcentage de la ZF est ajustée à l'augmentation de son épaisseur au cours des équinoxes et solstices. Alors que le pourcentage de la ZR, se trouve élevé pendant les équinoxes et plus faible durant les solstices, quant à son épaisseur est considérablement développée au solstice d'été (313.89  $\mu\text{m}$ ) est relativement faible en hiver (252.85  $\mu\text{m}$ ).

Chez le bélier D'man adulte, la ZF présente le pourcentage le plus élevé, suivie par la ZR pendant les quatre saisons. La ZG qui représente la première zone du cortex se trouve la dernière dans le classement en pourcentage.



### II. Etude de l'activité sexocorticoïde par le dosage plasmatique en androsténedione (RIA)

#### 1. Variations nycthémerales de l'androsténedione plasmatique au cours des saisons



**Figure 20:** Variations nycthémerales moyennes de l'androsténedione plasmatique durant les équinoxes et les solstices, chez le bélier D'man adulte élevé dans la région d'El-Méniaa.

A l'équinoxe d'automne, les teneurs plasmatiques en androsténedione varient entre  $0.015 \text{ ng/ml} \pm 0.012$  et  $0.217 \text{ ng/ml} \pm 0.053$  ; les concentrations les plus élevées sont décelées à la phase claire. Cependant, la concentration la plus élevée se rencontre à 21h du soir et pourrait correspondre au pic nycthémeral. Ce nycthémère détermine deux diminutions importantes coïncidant avec l'aube et le crépuscule. La diminution (-93.09%) la plus basse ( $p = 0.036$ ) est enregistrée à 1h du matin.

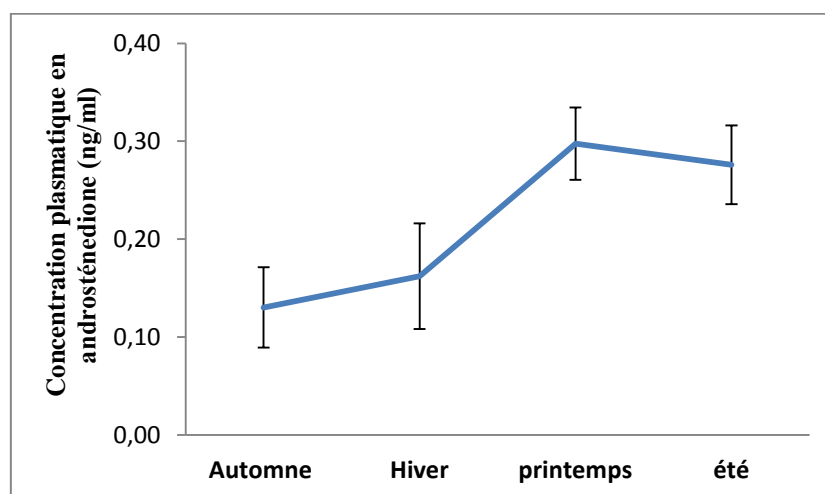
Au solstice d'hiver, une légère augmentation dans les concentrations par rapport à l'équinoxe d'automne, variant entre  $0.089 \text{ ng/ml} \pm 0.070$  et  $0.287 \text{ ng/ml} \pm 0.072$  et définissent un profil d'androsténedione plasmatique inverse par rapport aux autres saisons, dont la concentration la plus basse est retrouvée à la phase claire (13h) et la plus élevée à la phase sombre (1h) qui pourrait bien correspondre au pic nycthémeral.

## Résultats

A l'équinoxe du printemps, les concentrations plasmatiques en androsténone augmentent considérablement par rapport aux autres saisons. Ce nyctémère se distingue par un profil en androsténone plasmatique remarquable. En effet, la concentration la plus élevée ( $p = 0.02$ , +48.51%) est retrouvée juste avant l'aube et diminue par la suite graduellement pour atteindre la concentration la plus basse à la phase obscure (21h).

Au solstice d'été, les concentrations de l'androsténone plasmatique demeurent considérables, (entre  $0.197 \text{ ng/ml} \pm 0.049$  et  $0.380 \text{ ng/ml} \pm 0.052$ ). Ces taux sont franchement élevés en phase claire et basse en phase sombre ; indiquant un pic à 9h du matin et diminuent significativement ( $p = 0.049$ ) après le crépuscule en enregistrant la concentration la plus basse (-48.16%) à 1h du matin.

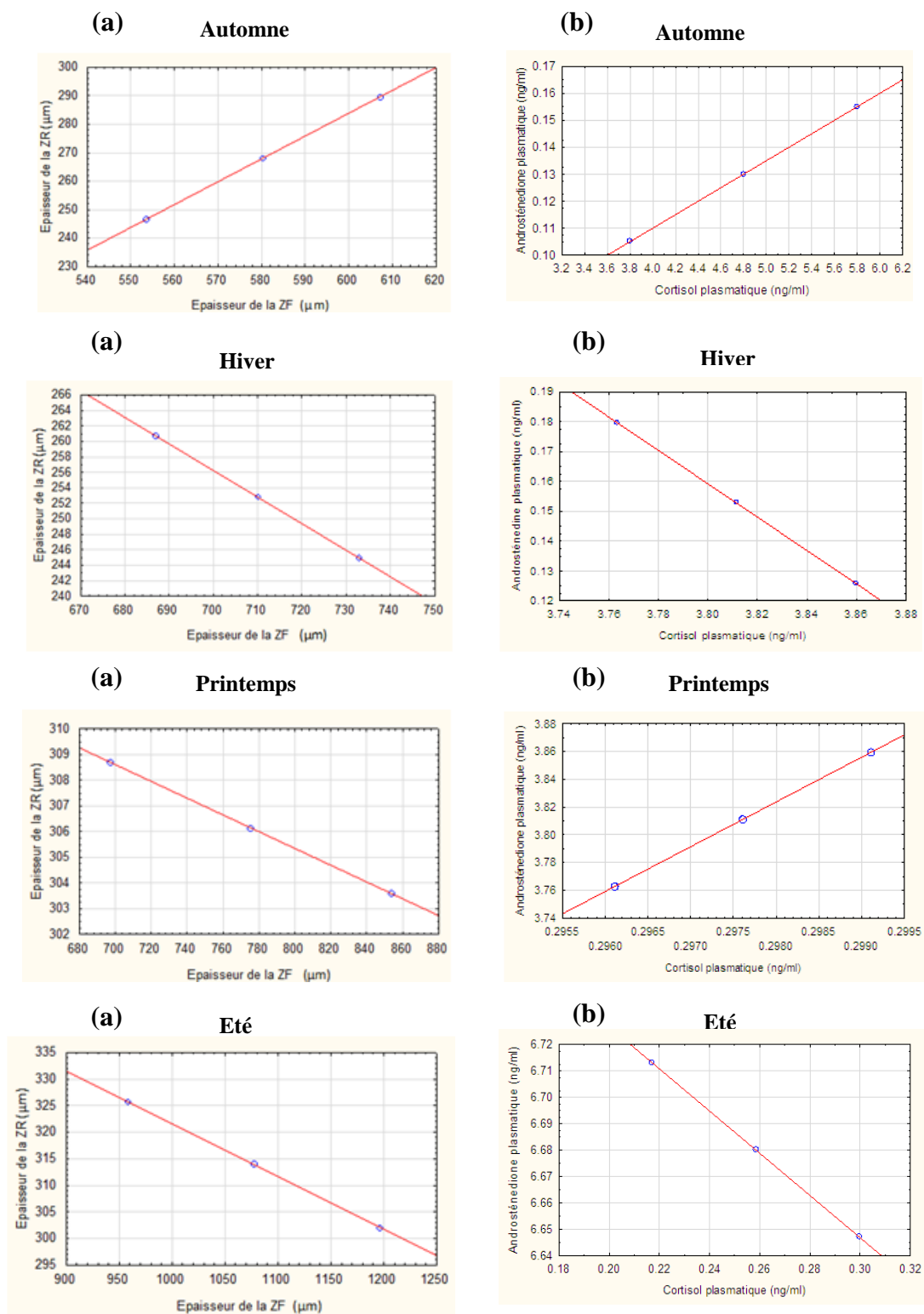
### 2. Variations saisonnières des teneurs plasmatiques en androsténone :



**Figure 21:** Variations saisonnières de l'androsténone chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

Chez le bélier D'man adulte, les teneurs plasmatiques en androsténone témoignent l'existence d'un rythme saisonnier de l'activité sexocorticoïde qui est maximale au printemps-été ( $p = 0.02$ ) (87.5%) et minimale en automne-hiver ( $p = 0.02$ ) (-115.38%).

### III. Corrélation entre les deux zones fasciculée et réticulée et entre leurs productions respectives en cortisol et en androsténone plasmatiques



**Figure 22:** Corrélation entre les zones fasciculée et réticulée (a) et entre les concentrations plasmatiques de cortisol et d'androsténone (b) au cours des équinoxes et solstices chez le bélier de race D'man élevé à El-Méniaa.

## *Résultats*

---

Aux équinoxes, d'excellentes corrélations linéaires positives ( $r=1$ ) entre les niveaux plasmatiques du cortisol et d'androsténone (b) et aussi entre les épaisseurs de la ZF et la ZR (a). Hormis l'équinoxe du printemps, où l'on observe une corrélation négative entre les épaisseurs de la ZF et la ZR.

Au contraire, au moment des solstices, de bonnes corrélations négatives ( $r= -1$ ) entre les épaisseurs de la ZF et la ZR (a), et entre les niveaux plasmatiques du cortisol et d'androsténone (b).

Ces résultats relativement similaires concernant la morphométrie des ZF et ZR ainsi que le profil hormonal du cortisol et d'androsténone plasmatiques sont dus probablement à un stimulateur commun : l'ACTH.

## Résultats

Tableau récapitulatif des moyennes des différentes épaisseurs de la ZR et la ZF au cours des saisons chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	Equinoxe d'automne			Solstice d'hiver			Equinoxe du printemps			Solstice d'été		
	PC	PS	MOY	PC	PS	MOY	PC	PS	MOY	PC	PS	MOY
<b>Epaisseur du Cortex (µm)</b>	1075.67	1070.93	1073.30	1216.49	1212.34	1214.41	1362.58	1326.79	1344.69	1694.52	1559.81	1627.16
<b>Epaisseur de la ZR (µm)</b>	246.58	289.59	268.09	244.98	260.72	252.85	308.68	303.61	306.15	302.08	325.70	313.89
<b>Surface cellulaire de la ZR (µm<sup>2</sup>)</b>	69.50	55.13	62.31	86.74	83.73	85.24	82.09	86.90	84.50	96.69	92.88	94.79
<b>Surface nucléaire de la ZR (µm<sup>2</sup>)</b>	24.15	19.47	21.81	24.49	22.53	23.51	25.43	26.42	25.93	29.90	24.74	27.32
<b>RNC de la ZR</b>	0.60	0.63	0.62	0.42	0.39	0.41	0.54	0.59	0.56	0.49	0.39	0.44
<b>Pourcentage de la ZR (%)</b>	22.92	27.04	24.98	20.14	21.51	20.82	22.65	22.88	22.77	17.83	20.88	19.35
<b>Androsténone plasmatisque (ng/ml)</b>	0.16	0.11	0.13	0.13	0.18	0.15	0.30	0.30	0.30	0.30	0.22	0.26
<b>Epaisseur de la ZF (µm)</b>	553.48	607.00	580.24	732.82	687.02	709.92	853.35	697.42	775.39	1196.26	958.14	1077.20
<b>Surface cellulaire de la ZF (µm<sup>2</sup>)</b>	88.59	78.93	83.76	109.22	101.83	105.53	94.95	96.94	95.94	110.82	119.47	115.15
<b>Surface nucléaire de la ZF (µm<sup>2</sup>)</b>	29.04	25.15	27.10	27.52	25.41	26.47	29.85	26.25	28.05	30.65	29.42	30.04
<b>RNC de la ZF</b>	0.58	0.58	0.58	0.36	0.36	0.36	0.53	0.45	0.49	0.41	0.35	0.38
<b>Pourcentage de la ZF (%)</b>	51.45	56.68	54.07	60.24	56.67	58.45	62.63	52.56	57.60	70.60	61.43	66.01
<b>Cortisol plasmatisque (ng/ml)</b>	16.21	10.31	13.26	10.65	10.38	10.51	15.13	15.50	15.32	18.34	18.52	18.43

## *Conclusion et perspectives*

---

Chez les ovins et la plupart des mammifères, les rythmes nycthémeral (jour/nuit) et saisonnier de la fonction corticosurrénaliennne sont contrôlés par des facteurs endogènes, dont le principal est le noyau suprachiasmatique SCN, ce dernier perçoit et code des changements de la photopériode et les traduit en changements dans l'activité corticosurrénaliennne.

Dans notre travail, l'influence des facteurs externes représentés essentiellement par le cycle lumière/obscurité et la photopériode saisonnière sur la fonction sexocorticoïde chez le bélier D'man adulte élevé à El-Méniaa nous a permis de conclure :

La morphométrie de la corticosurrénale révèle clairement des variations nycthémerales et saisonnières statistiquement significatives :

- La ZR se montre légèrement plus épaisse en phase obscure, excepté le printemps.
- Le cortex et la ZR présentent aussi une variation morphométrique, en relation avec la durée du jour ; caractérisée par: un maximum en été/printemps et un minimum en hiver/automne.

Ces variations morphométriques sont le résultat des variations des surfaces cellulaire et nucléaire entre les deux phases lumineuses, qui se répercute sur le rapport nucléocytoplasmique qui varie aussi, se traduisant par des changements de l'activité sécrétoire de la ZR.

Le profil de sécrétion de l'androsténedione se caractérise :

- Au cours des équinoxes et du solstice d'hiver, les pics d'androsténedione plasmatique sont observés en phase sombre, sauf pour le solstice d'été où l'on observe l'inverse. Ceci dit l'androsténedionémie est maximale en phase claire.
- Le rythme saisonnier de l'activité sexocorticoïde se caractérise par un maximum en jours longs (été/printemps) et un minimum en jours courts (hiver/automne), suivant parfaitement les variations saisonnières de la morphométrie réticulaire.

Enfin, de bonnes corrélations existent entre la structure et l'activité de la ZR et de la ZF confirmant un déterminisme endogène commun : l'ACTH.

Afin de bien éclaircir la régulation interne et externe de l'activité corticosurrénaliennne du bélier D'man, il serait intéressant de compléter cette recherche par :

- L'activité enzymatique des cellules de la ZR.
- Le dosage de DHEA et DHEA-S pour la ZR.
- L'étude immunohistochimique des récepteurs aux androgènes et à la mélatonine.

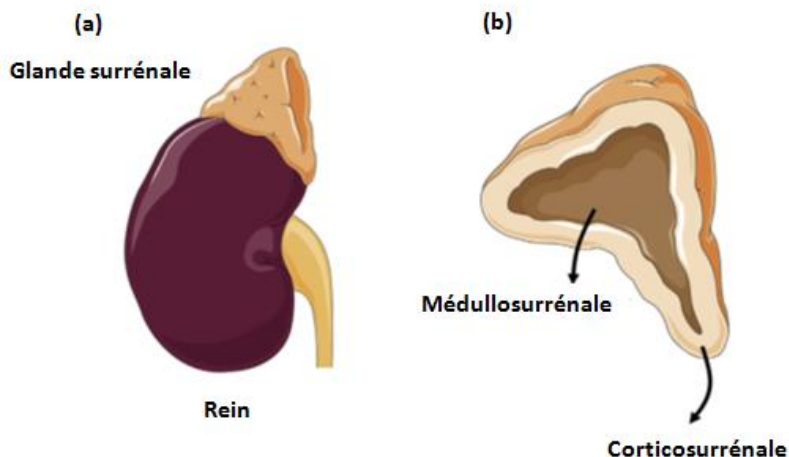
### 1. La glande surrénale :

#### 1.1. Anatomie :

Les surrénales sont au nombre de deux. L'une droite, l'autre gauche, elles sont situées à la partie supéromédiale du rein correspondant, dans l'espace rétropéritonéal, de part et d'autre du rachis.

Elles sont aplaties d'avant en arrière et sont de formes variées, mais classiquement elles forment un croissant ou une virgule dont la base repose sur le pédicule rénal, tandis que la pointe remonte jusqu'au pôle supérieur du rein. Elles présentent une face antérieure plane dans son ensemble avec un hile d'où sort la veine surrénalienne. La face postérieure est également plane ou convexe. Le bord médial est convexe et le bord latéral concave. L'extrémité inférieure est large et l'extrémité supérieure effilée. Leur volume est variable. En moyenne, elles mesurent 4 à 5 cm de longueur. Leur épaisseur est de 0,8 à 1 cm sur le bord latéral et de 0,3 à 0,4 cm sur le bord médial. Elles pèsent environ 6g chacune. À la coupe, le parenchyme se compose de deux parties, l'une périphérique, la corticosurrénale, et l'autre centrale, la médulosurrénale. La corticosurrénale est de couleur jaunâtre et de consistance ferme. La médulosurrénale est rouge sombre, mou et friable (**Rouvière et Delmas, 2002**).

La glande surrénale est couverte par une capsule fibreuse qui sert de structure de soutien et de réservoir des cellules souches progénitrices pour le cortex (**Simon et Hammer, 2012**).

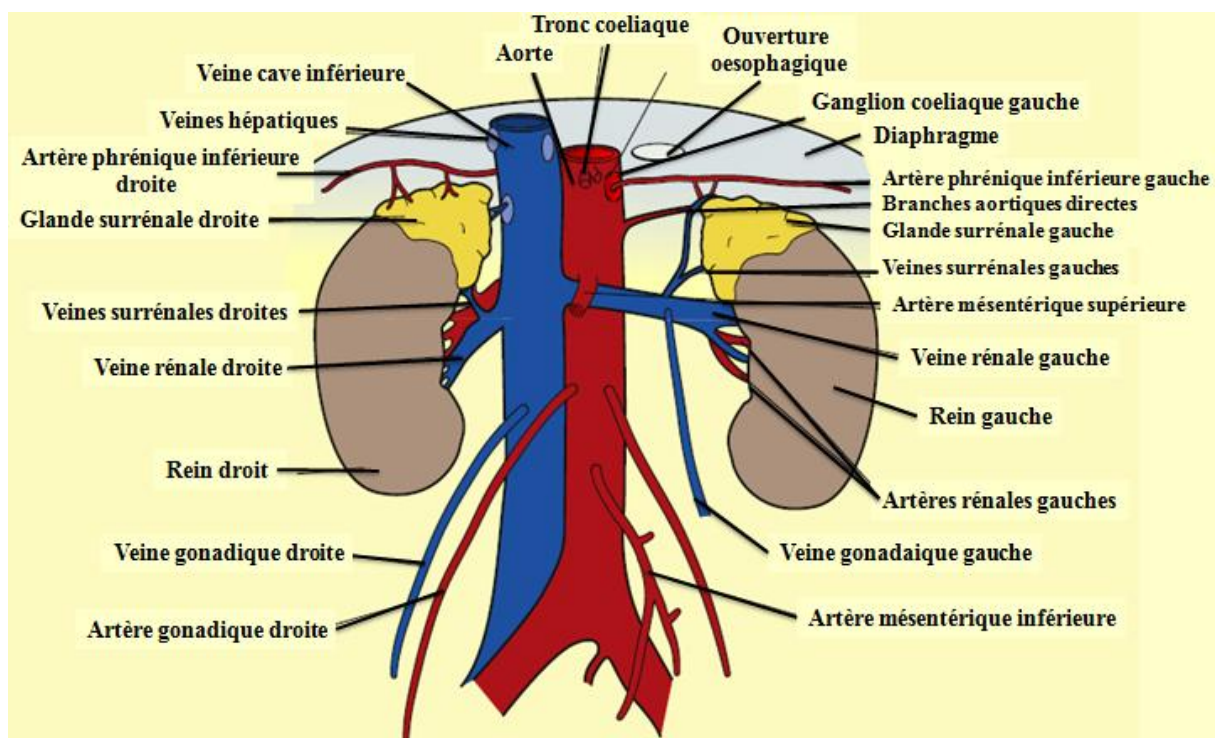


**Figure 1:** (a) Location des glandes surrénales; (b) Les glandes surrénales consistent de la corticosurrénale et de la médulosurrénale (**Nicolaidis et al., 2014**).

## Rappel bibliographique

La surrénale est irriguée par de nombreuses artères groupées en trois pédicules. Le pédicule supérieur, constant, est généralement formé de un à trois rameaux nés de l'artère phrénique supérieure, et descend vers l'extrémité supérieure de la glande. Le pédicule moyen, inconstant, naît de la face latérale de l'aorte et rejoint le bord médial de la surrénale. Le pédicule inférieur naît de l'artère rénale ou de ses branches et se dirige vers l'extrémité inférieure de la glande.

La circulation veineuse ne présente pas d'analogie avec le système artériel. Le drainage veineux de chaque glande est assuré par la veine centrale. Issue du hile surrénalien, elle se dirige à droite dans la veine cave inférieure et à gauche dans la veine rénale. Les veines accessoires ont un rôle mineur : le groupe supérieur rejoint les veines phréniques inférieures, le groupe inférieur gagne la veine cave inférieure à droite et la veine rénale à gauche (**Rouvière et Delmas, 2002**).

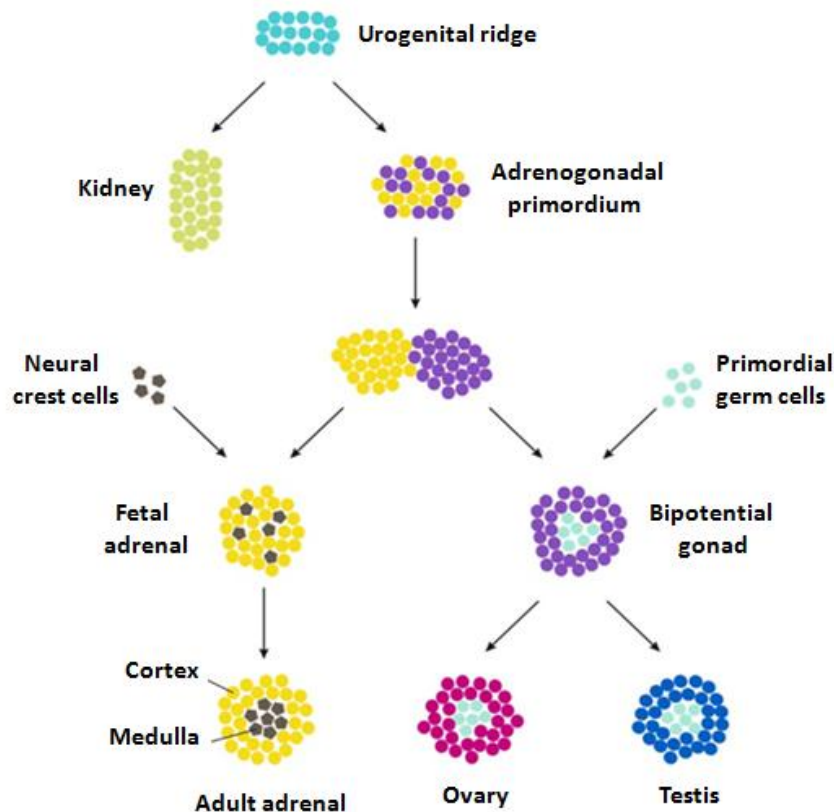


**Figure 2** : Les glandes surrénales avec leur approvisionnement en sang et relations anatomiques (**Ritchie et Balasubramanian, 2014**).



### 1.2. Embryologie :

La glande surrénale se compose de deux tissus avec des origines embryologiques distinctes. La plus interne médullaire est dérivée des cellules neuro-ectodermiques qui sécrètent des catécholamines, de coloration rougeâtre, composée de cellules chromaffines. Le cortex interne est dérivé du mésoderme intermédiaire et occupe 90% de la masse surrénalienne chez les humains adultes, de coloration jaune due à sa teneur élevée en lipides, sa fonction est de produire des corticostéroïdes, impliqués dans le contrôle de l'homéostasie de sodium et de l'eau, de la réponse du stress, de l'inflammation et du métabolisme (**Idelman et Verdeti, 2000 ; Stewart, 2003 ; Yates *et al.*, 2013**).



**Figure 3:** Développement de la glande surrénale et des gonades (**Pihlajoki *et al.*, 2015**).

### 1.3. Histologie :

Le cortex surrénalien contient trois couches cellulaires fonctionnellement distinctes : la zone glomérulée externe, la zone fasciculée intermédiaire, et la zone réticulée interne. La première zone produit l'aldostérone, la zone moyenne est responsable de la synthèse du cortisol, et la troisième zone est le site de production surrénalienne d'androgènes. Toutes les hormones stéroïdes surrénaliennes sont dérivées du cholestérol et représentent les produits finaux des réactions périodiques catalysées par des enzymes de la famille cytochrome P450.

## Rappel bibliographique

La synthèse du cortisol est principalement réglée par l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, tandis que la production d'aldostérone est sous le contrôle du système rénine-angiotensine et des concentrations circulantes du potassium. La sécrétion surrénalienne d'androgènes est commandée par l'hormone adrénocorticotrope et probablement autre, telle que: « l'hormone androgène-stimulante surrénalienne » hypothétique (Nicolaidis *et al.*, 2014).

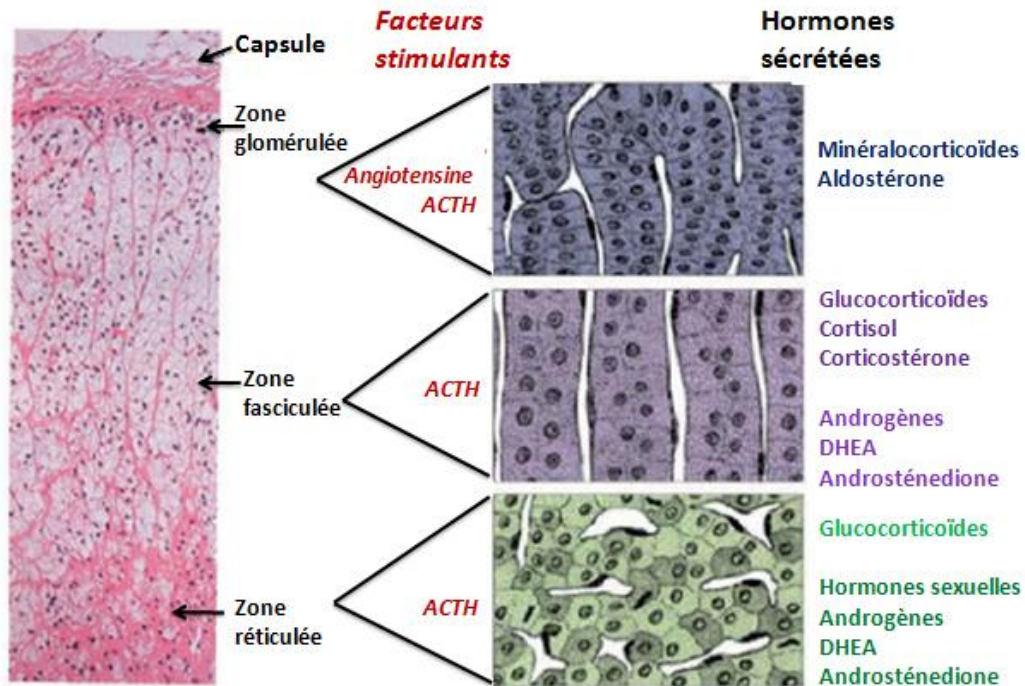


Figure 4: Zones histologiques du cortex surrénalien (Fulla *et al.*, 2009).

- **La zone réticulée :**

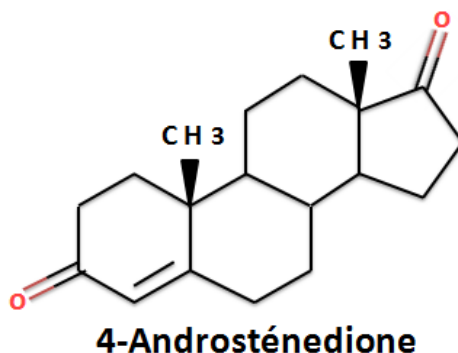
La zone réticulée est interne et située entre la zone fasciculée et la médullosurrénale. Elle s'organise en étroits cordons anastomosés entre eux sans orientation particulière et qui s'entourent de larges capillaires sanguins. Les cellules sont plus petites que celles des deux autres zones. Leurs cytoplasmes sont éosinophiles, granuleux, « compacts » ; ils contiennent de rares gouttelettes lipidiques, parfois du glycogène ou même, dans la région juxta-médullaire, du pigment lipofuchsinique. Leurs noyaux sont souvent denses et parfois pycnotiques. En microscopie électronique, le cytoplasme contient des mitochondries allongées et des granules de lipofuch sine. La réticulée représente 7 % du volume total de la surrénale (Junqueira, 2001). Les cellules de la ZR ressemblent à celles de la Zf mais contiennent moins de gouttelettes lipidiques et plus de lysosomes et de vacuoles (Nussdorfer, 1986).

### 2. Les androgènes surrénaliens :

Ils sont définis comme des membres de la famille des stéroïdes possédant une structure spécifique contenant 19 atomes de carbone. Les deux sources biologiques d'androgènes chez les mammifères mâles sont les cellules de Leydig des testicules produisant principalement la testostérone chez l'animal à maturité et les cellules corticales de la surrénale produisant principalement trois androgènes, la déhydroépiandrostérone (DHEA), son ester de sulfate (DHEA-S) et l'androsténedione ( $\Delta^4$ -androsténedione) ( $> 20 \text{ mg/j}$ ) (Odell et Parker, 1984; Labrie *et al.*, 1989 ; Sundaram et Kumar, 1996 ; Oudet, 2010). À la différence du testicule, qui est un producteur efficace d'androgènes, la glande surrénale joue seulement un rôle secondaire en androgènes actifs chez l'homme (Turcu *et al.*, 2014). Ce sont des androgènes dits faibles en raison de la modestie de leur action androgène (Sundaram et Kumar, 1996).

#### 2.1. L'androsténedione :

L'androsténedione appartient au groupe des stéroïdes androgéniques avec la testostérone, la dihydrotestostérone et le sulfate de déhydroépiandrostérone. L'androsténedione ne se lie pas à la *Sex Binding Protein* (SBP ou TeBG), ce qui fait que la clairance métabolique est stable (Nonnenmacher, 2003).



**Figure 5:** Structure chimique de l'androsténedione (Odell et Parker, 1984-85).

#### 2.2. Stéroïdogénèse :

Les hormones stéroïdes sont de petites molécules de structure lipidique dérivant toutes du cholestérol. Comme toutes les cellules spécialisées dans la synthèse des lipides, les cellules de la corticosurrénale ont en commun le développement important du réticulum endoplasmique lisse (REL), dépourvu de ribosomes accolés.

## Rappel bibliographique

---

Le cholestérol peut y être synthétisé *de novo* par une suite de réactions longues et complexes à partir d'unités en C2 (acétate, acétyl CoA). Toutefois, 80% du cholestérol nécessaire est extrait du sang, convoyé par des protéines, les lipoprotéines de faible densité circulantes (LDL). Il est stocké dans les corticosurrénales sous forme estérifiée, emmagasiné dans des gouttelettes lipidiques cytoplasmiques. De ce fait, toute malnutrition, malabsorption ou défaut de transport des lipides peut être à l'origine d'un défaut de synthèse d'hormones stéroïdes. Le noyau stéroïdien comporte 17 atomes de carbone, numérotés de 1 à 17. Les carbones supplémentaires ajoutés au cours de la stéroïdogénèse sont numérotés 18, 19, 21. La conversion du cholestérol en chacune des différentes hormones stéroïdes nécessite une succession de réactions qui sont pour l'essentiel des réactions d'hydroxylations. Toutes ces réactions sont catalysées par un faible nombre d'enzymes spécifiques (**Torok, 2013**).

✓ **Deux types d'enzymes assurent la stéroïdogénèse :**

• **Les Cytochromes P450 :**

Elles sont responsables de l'oxydation des substrats (réactions d'hydroxylations). Pour ce faire, certaines de ces enzymes reçoivent les électrons de la forme réduite d'un coenzyme soluble, le NADPH par l'intermédiaire d'un transfert d'électrons intra-mitochondrial. C'est le cas de la CYP11A1 (ou 11 $\alpha$ -hydroxylase ou enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol ou P450<sub>scc</sub> ou encore cholestérol desmolase), de la CYP11B1 (ou 11 $\beta$ -hydroxylase) et de la CYP11B2 (ou aldostérone synthase) qui sont localisées dans la membrane interne mitochondriale. D'autres enzymes reçoivent les électrons par l'intermédiaire d'une protéine membranaire, la P450 oxydoréductase. C'est le cas de la CYP17 (pourvue d'une activité 17-hydroxylase plus ou moins d'une activité 17, 20 lyase) et de la CYP21A2 (ou 21-hydroxylase) qui sont enchâssées dans la membrane du réticulum endoplasmique lisse. Dans la dénomination de ces enzymes CYP, les chiffres arabes correspondent à l'atome de carbone sur lequel la réaction s'opère. Par exemple, la CYP17 ou 17-hydroxylase possède une activité d'hydroxylation sur l'atome de carbone C17.

• **Les hydroxy-stéroïdes-déshydrogénases (HSD) :**

Leurs activités catalytiques sont oxydatives (réactions d'hydroxylations) ou réductrices (réductions d'un groupement hydroxyle en groupement céto). Elles sont enchâssées dans la membrane du réticulum endoplasmique lisse (**Orth et al., 1998 ; Payne et Hales, 2004 ; Feldman et Nelson, 2004**) (Tableau 1).

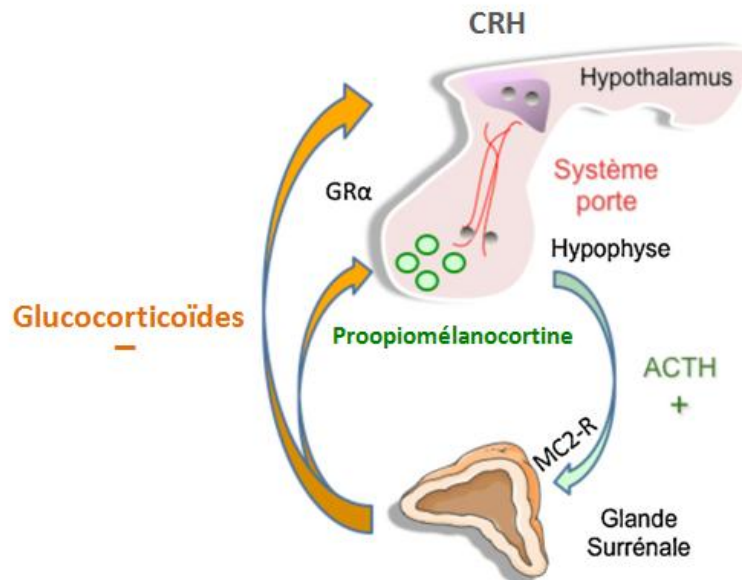
**Tableau 1 :** Les enzymes impliquées dans la biosynthèse des stéroïdes surrénaliens

Types	Activité enzymatique	Gène	Localisation
Cytochromes P450	20-22 hydroxylase, 20-22 desmolase ou scc (side chain cleavage) 11 $\beta$ -hydroxylase aldostérone synthase	<i>CYP11A1</i> <i>CYP11B1</i> <i>CYP11B2</i>	Mitochondrie
	17 $\alpha$ -hydroxylase/17-20 lyase 21-hydroxylase	<i>CYP17</i> <i>CYP21A2</i>	Réticulum endoplasmique
Désydrogénases	3 $\beta$ -désydrogénase type II 17-cétostéroïde réductase	<i>HSD3<math>\beta</math>2</i> <i>HSD17<math>\beta</math>3</i>	

(Mazzuco, 2005)

### 3. Régulation de la synthèse des androgènes :

La sécrétion des androgènes surrénaliens est stimulée par la corticotropine (ACTH) tout comme les glucocorticoïdes. Ceci explique que DHEA et  $\Delta$ 4-androsténone suivent un rythme nyctéméral parallèle à celui du cortisol. Le cycle nyctéméral survient en absence de variation de l'exposition lumineuse. Il nécessite l'intégrité des noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus (Oudet, 2010). Les neurones du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus secrètent la CRH qui est libérée au niveau du système porte hypothalamo-hypophysaire (Rhen et Cidlowski, 2005). Cette hormone hypothalamique va induire le relargage dans la circulation systémique de l'ACTH, produite à partir du clivage protéolytique de la POMC par les cellules corticotropes de l'antéhypophyse antérieure. L'ACTH se lie à son récepteur spécifique à la mélanocortine 2 (MC2R) qui est un récepteur couplé à la protéine G (GPCR) et stimule l'activité de l'adénylate cyclase (AC) et incite la production de l'AMPc comme un deuxième messenger (Stocco *et al.*, 2005).

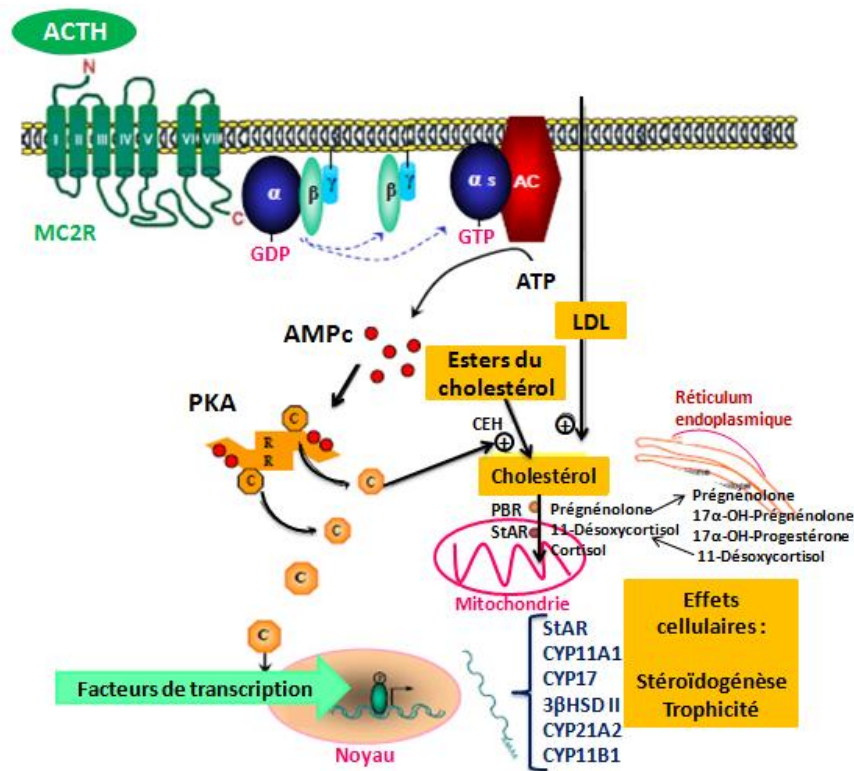


**Figure 6:** Schéma des interactions de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (**Besnier et al., 2014**).

Il est bien établi que l'ACTH exerce deux effets temporellement espacés sur la stéroïdogénèse du cortex surrénalien par l'intermédiaire de l'AMPc (**Kramer et al., 1984**). Le premier effet est à court terme. Le signal hormonal entraîne en quelques minutes une stimulation de la stéroïdogénèse (**DiBartolomeis et Jefcoate, 1984**). L'administration prolongée d'ACTH se traduit par une stimulation de la biosynthèse des enzymes de la stéroïdogénèse : c'est la réponse chronique (**Waterman et Bischof, 1997**).

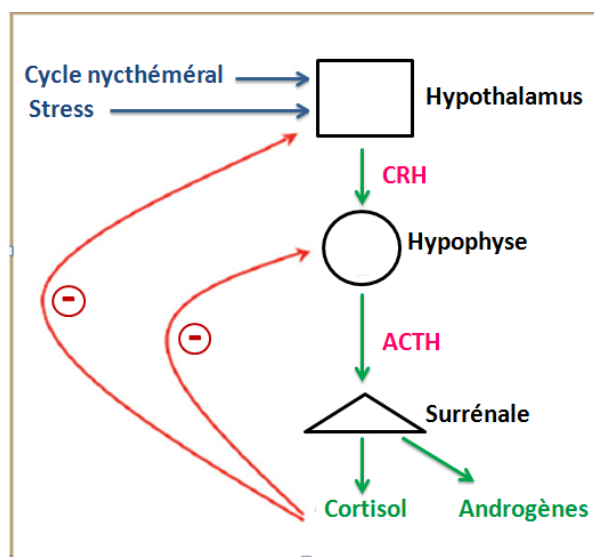
L'activation de la PKA par l'AMPc va conduire à la mobilisation immédiate du cholestérol du compartiment cytoplasmique jusqu'à la membrane interne de la mitochondrie, où est localisé le cytochrome p450<sub>scc</sub> qui catalyse la première étape de la stéroïdogénèse ou coupure de la chaîne latérale du cholestérol. Cet effet est médié par la protéine StAR (**Jefcoate et al., 1987 ; Clark et al., 1994**). La transcription du gène de StAR est activée de façon précoce (1 à 2 heures), comparée à celle des gènes codant pour les enzymes stéroïdogènes (15 à 36 heures) (**John et al., 1986**).

A long terme, l'activation du complexe AMPc/AC/PKA va aussi permettre aux sous-unités catalytiques (PKA) de phosphoryler des facteurs de transcriptions spécifiques, tels que SF-1, Sp1, CREB et ATF-1 capables de réguler la transcription de gènes codant pour les enzymes de la stéroïdogénèse (**Sewer et Waterman, 2003**). Le récepteur nucléaire orphelin SF-1 joue un rôle central dans l'expression et la régulation des enzymes de la stéroïdogénèse (**Mazzuco, 2005**).



**Figure 7:** Action de l'ACTH sur la cellule corticosurrénale (Mazzucco, 2005).  $\alpha$  et le complexe  $\beta\gamma$  représentent les sous-unités de la protéine Gs. R, sous-unité régulatrice de la PKA. C, sous-unité catalytique de la PKA.

Toutefois la régulation de la sécrétion des androgènes surrénaliens n'est pas similaire en tout point à la régulation de sécrétion des glucocorticoïdes, les androgènes n'exercent pas de rétrocontrôle négatif sur l'axe corticotrope comme le font les glucocorticoïdes (Orth *et al.*, 1998).



**Figure 8:** Axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (Fulla *et al.*, 2009).

### 4. Voies de synthèse des androgènes :

La biosynthèse des hormones stéroïdes débute dans chacune des zones de la corticosurrénale par le transport du cholestérol via la protéine StAR dans la mitochondrie où se déroule la transformation du cholestérol en prégnénolone (**Orth et al., 1998 ; Payne et Hales, 2004 ; Feldman et Nelson, 2004**).

La conversion du cholestérol en prégnénolone nécessite trois réactions séquentielles (deux réactions d'hydroxylations et une réaction de clivage de la chaîne latérale du cholestérol) qui se déroulent grâce à l'action d'une seule enzyme, la CYP11A1, exprimée dans les trois zones de la corticosurrénale. La prégnénolone quitte alors la mitochondrie pour rejoindre le réticulum endoplasmique lisse, siège des réactions suivantes (**Orth et al., 1998 ; Payne et Hales, 2004 ; Feldman et Nelson, 2004**). À partir de cette étape, chacune des trois zones de la corticosurrénale synthétise une classe d'hormone propre selon ses spécificités enzymatiques (**Torok, 2013**).

Dans la zone réticulée, grâce à l'activité supplémentaire 17,20 lyase de la CYP17, la 17-hydroxypregnenolone et la 17-hydroxyprogestérone peuvent être transformées respectivement en DHEA (voie  $\Delta 5$ ) et en androsténedione (voie  $\Delta 4$ ). La DHEA, précurseur au faible pouvoir androgène peut être sulfatée (DHEAS) ou non et transformée en androsténedione, androgène plus puissant, grâce à l'activité de la HSD3 $\beta$ 2 (**Flück et al., 2003 ; Nakamura et al., 2011**).

#### 4.1. Exigences enzymatiques pour la synthèse d'androsténedione :

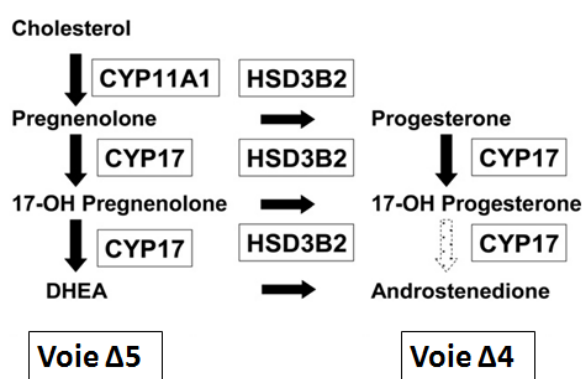
Le cyt-b5 est exprimé dans la zone réticulée, où il conduit à la synthèse des stéroïdes C19 par la régulation sélective de l'activité 17,20 lyase de CYP17A1 (**Rainey et al., 2002 ; Akhtar et al., 2005 ; Rainey et Nakamura, 2008 ; Oudet, 2010 ; Nakamura et al., 2011**). Chez les espèces comme l'humain, l'ovin, le caprin et le bovin, l'activité lyase de CYP17A1 est sélective pour 17-hydroxypregnenolone comme substrat, avec la conversion négligeable de 17OH-PROG en A4 (**Zuber et al., 1986 ; Swart et al., 1993 ; Katagiri et al., 1995 ; Swart et al., 2003 ; Storbeck et al., 2007**). La synthèse C19 stéroïde, donc, procède presque exclusivement par l'intermédiaire de la voie  $\Delta 5$  (**Storbeck et al., 2013**).



## Rappel bibliographique

La DHEA(S) est le stéroïde C19 prédominant produit par la surrénale humaine après l'adrenarche (Rainey et Nakamura, 2008). Il est donc non étonnant de voir que l'expression de CYP17A1 et cyt-b5 soit élevée et que celle de la 3 $\beta$ HSD est plus faible au niveau de la zone réticulée (Gell *et al.*, 1998 ; Rainey et Nakamura, 2008 ).

La coexpression de CYP17A1, 3 $\beta$ HSD et cytb5 est une force essentielle pour la physiologie humaine normale. Bien que les testicules et les ovaires contribuent aux niveaux circulants d'A4, la source primaire d'A4 chez les adultes mâles et femelles est vraisemblablement la corticosurrénale (Georgiadis *et al.*, 1992 ; Burger, 2002 ; Piltonen *et al.*, 2002).



**Figure 9:** Voies potentielles de la synthèse d'androsténone dans la glande surrénale humaine (Flück *et al.*, 2003).

### 4.2. Pertinence physiologique de la coexpression cyt-b5 et 3 $\beta$ HSD :

Utilisant la double immunocoloration, Nakamura *et al.*, (2011) ont démontré une population des cellules hybrides entre la ZF et la ZR des adultes mâles et femelles qui expriment 3 $\beta$ HSD et cyt-b5 en plus de CYP17A1. Les auteurs présument que ces cellules hybrides peuvent considérablement contribuer à la production d'A4 surrénalienne (Nakamura *et al.*, 2011). Tandis que cyt-b5 est essentiel pour assurer la 17,20 lyase, cette coexpression de 3 $\beta$ HSD et de cyt-b5 pourrait également assurer l'activité optimale de la 3 $\beta$ HSD dans des conditions physiologiques (Storbeck *et al.*, 2013).

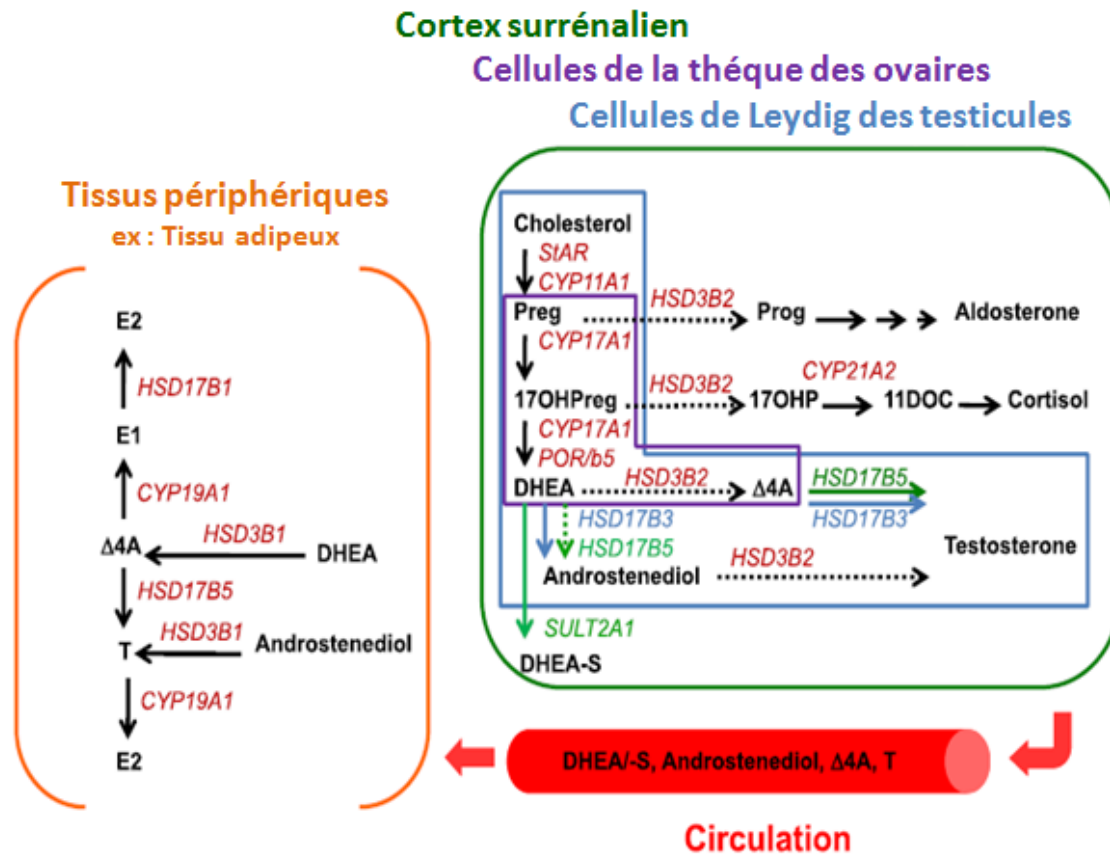
Le modèle de Nguyen *et al.*, (2011) suggère que bien que la production maximale de DHEA(S) se produit en absence de 3 $\beta$ HSD, alors que les niveaux bas de 3 $\beta$ HSD trouvés dans la zone réticulée couplés aux niveaux abondants de cytb5, qui assurerait l'activité optimale de la 3 $\beta$ HSD et la CYP17A 17,20 lyase, sont suffisants pour produire des taux importants d'A4.

Le model de Nguyen *et al.*, (2011) démontre également que des petits changements dans l'activité 3 $\beta$ HSD peuvent provoquer des changements majeurs au profil stéroïde du système, accentuant de ce fait la pertinence physiologique de l'augmentation de la 3 $\beta$ HSD par cyt-b5 (Storbeck *et al.*, 2013). En outre, des cellules corticosurréaliennes cultivées ont montré une diminution de production d'androsténedione après l'inhibition de l'expression de CYB5A ou blocage de 3 $\beta$ HSD2. Ces résultats suggèrent que la source possible de l'androsténedione dans les glandes surrénales humaines sont ces cellules corticales qui co-expriment CYB5A et 3 $\beta$ HSD2 (Nakamura *et al.*, 2011).

Ces androgènes peu actifs (DHEA, DHEAS, androsténedione) peuvent alors être convertis en androgènes plus puissants (testostérone) et en œstrogènes (œstrone, œstradiol), pour une très faible part dans la corticosurrénale et principalement par conversion périphérique. Leur conversion périphérique a lieu dans le foie, la peau, les follicules pileux, les organes génitaux externes et le tissu adipeux (Orth *et al.*, 1998 ; Nelson et Bulun, 2001 ; Payne et Hales, 2004 ; Feldman et Nelson, 2004).

### 4.3. Voies de synthèse des hormones sexuelles d'origine gonadique et d'origine surréaliennne :

Les voies de synthèse des hormones sexuelles d'origine gonadique et d'origine surréaliennne sont les mêmes. La 17-hydroxystéroïde déshydrogénase (17-HSD), enzyme soluble et microsomiale transforme l'androsténedione en testostérone, le plus puissant des androgènes (réduction en C17). Les œstrogènes proviennent de l'androsténedione et de la testostérone. L'œstrone est obtenue à partir de l'androsténedione sous l'action d'une hydroxylase pourvue également d'une activité aromatase, la CYP19 (aromatase). L'œstradiol est obtenu à partir d'œstrone sous l'action de la 17-HSD et à partir de la testostérone sous l'action de la CYP19 (Orth *et al.*, 1998 ; Payne et Hales, 2004 ; Nelson et Bulun, 2001 ; Feldman et Nelson, 2004).



**Figure 10:** Spécificité d'organe de biosynthèse d'androgènes (Udhane et Flück, 2016).

La voie classique de synthèse d'androgènes, comme établi dans le cortex surrénalien, le testicule et l'ovaire humains, et dans les tissus périphériques, tels que le tissu adipeux, est montré. Des caractéristiques spécifiques d'organe sont montrées en couleurs : vert, cortex surrénalien ; violet, cellule de thèque ovarienne ; bleu, cellule de Leydig du testicule ; rouge, tissu adipeux. Prog, progestérone ; Preg, prégnénolone ; DHEA, dehydroepiandrosterone ; DHEA-S, DHEA-sulfate ; 17OH Preg, 17 $\alpha$ -hydroxypregnenolone ; 17OHP, 17 $\alpha$ -hydroxypregesterone ; 11DOC, 11deoxycortisol ;  $\Delta$ 4A, androsténedione ; E1, estrone ; E2, estradiol ; T, testostérone.

- **HSD3 $\beta$  et gonades :**

En plus de son importance dans la production d' $\Delta$ 4 par le cortex surrénalien, la 3 $\beta$ HSD est essentielle pour la production des stéroïdes C19 dans les cellules de Leydig des testicules et dans les cellules de la thèque des ovaires (Nakamura *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2001). À la différence de la ZR dans le cortex surrénalien, où DHEA(S) est le produit de base, les cellules de Leydig et de la thèque produisent l' $\Delta$ 4A comme précurseur à la testostérone et aux œstrogènes respectivement. L'expression de la 3 $\beta$ HSD est donc haute dans ces cellules que dans la ZR. La coexpression avec le cyt-b5 peut plus loin assurer l'activité optimale de la 3 $\beta$ HSD assurant la production efficace d' $\Delta$ 4A pour la production suivante des androgènes et des œstrogènes (Storbeck *et al.*, 2013).



**Figure 11:** Enzymes stéroïdogéniques surrénaliennes et protéines associées qui effectuent la production stéroïde C19 avec leur modèle d'expression zonale surrénalien humain (Turcu *et al.*, 2014).

## 5. Mode d'action des androgènes :

### 5.1. Le récepteur des androgènes :

Le récepteur des androgènes appartient à la troisième classe des RNs constituant la famille des récepteurs aux hormones stéroïdes (Evans, 1988). Le RA joue un rôle primordial au cours du développement et dans le maintien des organes sexuels primaires et secondaires masculins (Nelson *et al.*, 2002).

### 5.2. Mode d'action génomique du récepteur des androgènes :

Le RA inactif est localisé dans le cytoplasme et séquestré par des protéines chaperonnes de type HSP. En effet, les HSP40, HSP70 et HSP90 permettent d'induire une conformation adéquate de la poche de liaison au ligand du RA, pour favoriser la liaison du ligand, les chaperonnes modifieraient en permanence la conformation du RA, rendant la poche de liaison au ligand toujours accessible (Cardozo *et al.*, 2003). Par ailleurs, le RA inactif est rapidement polyubiquitiné et dirigé vers le protéosome 26S où il est dégradé (Faus et Haendler, 2006).

### 5.3. Actions non génomiques du récepteur des androgènes :

Les actions non génomiques définissent une signalisation rapide et non nucléaire des RNs, se déroulent dans les minutes qui suivent la stimulation par le ligand. La signalisation rapide des récepteurs aux hormones stéroïdes décrite pour la première fois il y a trente ans et aujourd'hui est admise comme un mode d'action alternatif de presque tous les récepteurs stéroïdiens incluant le GR, le PR, les deux ER et le RA (Cancela *et al.*, 1988).

### 6. Les effets biologiques des androgènes surrénaliens :

Les androgènes surrénaliens ne possèdent que peu d'effets biologiques. Ce sont plutôt des précurseurs d'hormones sexuelles plus puissantes (testostérone, œstradiol, œstrone) (**Orth et al., 1998 ; Nelson et Bulun, 2001**).

Les hormones sexuelles agissent en assurant la différenciation, le développement et la maturation du tractus génital et des organes reproducteurs. Elles stimulent la gamétogenèse et participent à la régulation du cycle sexuel. Elles permettent le développement des caractères sexuels secondaires. Elles jouent un rôle important dans les comportements sexuels (de nombreux récepteurs sont présents dans le cerveau et permettent de déterminer le comportement sexuel de l'individu) et la lactation. Elles agissent sur le métabolisme ainsi que sur la peau et d'autres organes (**Nelson et Bulun, 2001 ; Scott et al., 1998 ; Frank, 2006**).

Ainsi, en situation pathologique où leur production est excessive, les hormones sexuelles sont donc susceptibles d'induire un syndrome de virilisation ou de féminisation, d'accélérer la maturation osseuse et d'autres symptômes (**Orth et al., 1998 ; Nelson et Bulun, 2001 ; Scott et al., 1998 ; Frank, 2006**).

### 7. Dégradation des androgènes :

La majorité des androgènes surrénaliens est éliminée sous forme de 17-cétostéroïdes. Les androgènes sont transformés dans le foie par une 5 $\beta$ -réductase et une 3 $\alpha$ -réductase. L'androstérone et l'étiocolanolone résultant de ces réactions sont ensuite sulfo- et glucurono-conjuguées par le foie avant d'être excrétées dans les urines. Certains androgènes surrénaliens sont transformés en estrogènes et suivent la voie de dégradation de l'œstradiol. Une faible proportion de l'androsténone est transformée en 11 $\beta$ -androsténone puis métabolisée en 17-hydroxystéroïdes, rejoignant ainsi la voie de dégradation du cortisol (**Oudet, 2010**).

### 8. Les ovins en Algérie :

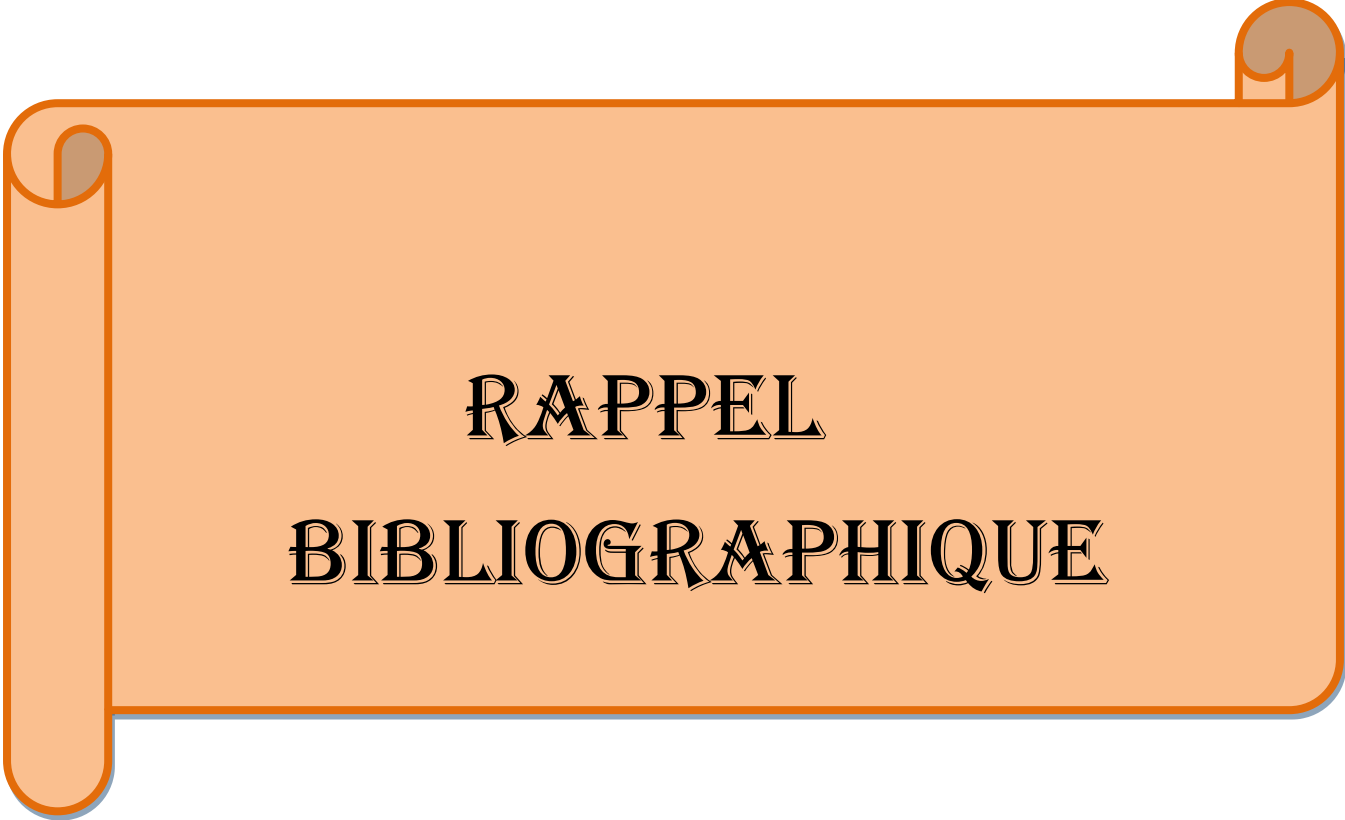
En Algérie, le mouton est une véritable richesse nationale qui peut être appréciée par le haut effectif qui dépasse 22 millions de tête, et la diversité des races qui constitue une bonne garantie pour l'avenir (**Allaoui et al., 2014**). En effet, l'élevage des moutons est concentré dans la steppe et le mouton est la viande la plus favorable (**Allaoui et al., 2014**).



# SOMMAIRE



**PRÉAMBULE**



**RAPPEL**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**



An orange scroll graphic with a dark orange border and rounded corners. The scroll is unrolled in the center, with the top and bottom edges curling inward. The text is centered on the unrolled portion.

# MATÉRIEL ET MÉTHODES



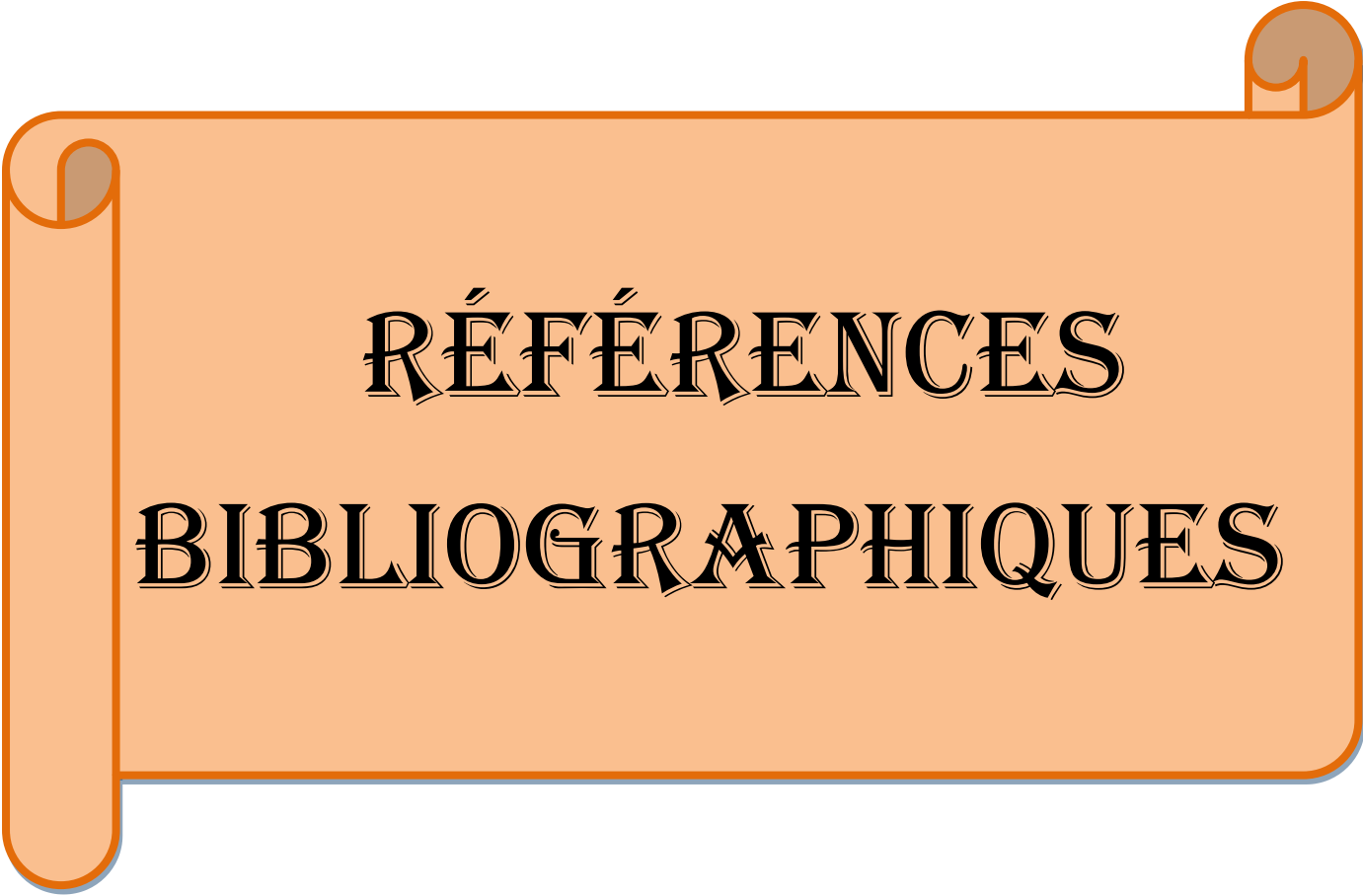
RÉSULTATS



# DISCUSSION

An orange scroll graphic with a dark orange border and three rolled-up corners. The text is centered on the scroll.

**CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES**

An orange scroll graphic with a dark orange border and rounded corners. The scroll is unrolled in the center, with the top and bottom edges curving upwards and downwards respectively. The text is centered on the unrolled portion.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**



# ANNEXES

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Akhtar, M.K., Kelly S.L., Kaderbhai, M.A. (2005).** Cytochrome b (5) modulation of 17 $\alpha$  hydroxylase and 17-20 lyase (CYP17) activities in steroidogenesis, *J. Endocrinol*, 187, 267–274.
  - ✚ **Alila-Johanasson, A., Erikson, L., Soveri, T., Laakso, M.L. (2003).** Serum Cortisol levels in goats exhibit seasonal but not daily rhythmicity. *Chronobiol Int*, 20, 65-79.
  - ✚ **Allaoui, A., Safsaf, B., Laghrour, W., Tlidjane, M. (2014).** Factors Affecting Scrotal Measurements and Weight of Ouled Djellal Rams in Eastern and South-Eastern Algeria. *APCBEE Procedia*, 8, 260-265.
  - ✚ **Allaoui, A., Tlidjane, M., Safsaf, B., Laghrour, W. (2014).** Comparative Study between Ovine Artificial Insemination and Free Mating in Ouled Djellal Breed. *APCBEE Procedia*, 8, 254-259.
  - ✚ **Amirate, Z., Khammar, F., Brudieux, R. (1980).** Seasonal changes in plasma and adrenal concentrations of cortisol, corticosterone, aldosterone and electrolytes in adult male sand rat (*Psammomys obesus*). *General and comparative endocrinology*, 40, 36-43.
  - ✚ **Amokrane, A. (2005).** Variations nyctémérales et saisonnières de l'activité Corticosurrénalienne chez le bélier de race D'man élevé à El-Méniaa. Thèse Magister. Alger, 145 p.
  - ✚ **Barkat, S., Hoffman, L., Boumezbeur, A. (2008).** Atlas des zones humides algériennes d'importance internationale, *Symbiose Communication Environnement RAMO M.*, 1-107.
  - ✚ **Becker, B.A., Nienaber, J.A., Christenson, R.K., Manak, R.C., Deshazer, J.A., Hahn, G.L. (1985).** Peripheral concentrations of cortisol as indicator of stress in the pig. *Am. J. Vet. Res.*, 46, 1034.
  - ✚ **Bennani-Kabchi, N. (1988).** Etude saisonnière, par radioimmunologie de la progesteronémie et par endoscopie, de l'activité ovarienne de la brebis D'Man. En Algérie, Thèse de Magister, INA, Alger, 131p.
  - ✚ **Besnier, E., Clavier, T., Castel, H., Gandolfo, P., Morin, F., Tonon, M.C., Marguerite, C., Veber, B., Dureuil, B., Compère, V. (2014).** Modulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien par l'utilisation des agents hypnotiques dans le contexte chirurgical. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 33, 256–265.
  - ✚ **Beuschlein, F., Galac, S., Wilson, D.B. (2012).** Animal models of adrenocortical tumorigenesis. *Mol Cell Endocrinol*, 351(1), 78-86.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Bonnet, F. (2004).** L'intensité de la douleur de l'accouchement varie au cours du nyctémère. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation* 6(8), 475.
  - ✚ **Bourbouze, A. et Donadieu, R. (1987).** L'élevage sur parcours en régions méditerranéennes. Institut Agronomique Méditerranéen de Montpellier, p104.
  - ✚ **Bourdon, L. et Buguet, A. (2004).** Bases de la chronobiologie: les rythmes nyctéméraux. *Journal Français d'Ophthalmologie*, 27, (1), 5–10.
  - ✚ **Bubenik, G.A., Bubenik, A.B., Brown, G.M., Trenkle, A., Wilson, D.I. (1975).** Growth hormone and cortisol levels in the annual cycle of whitetailed deer (*Odocoileus Cirginianus*). *Can. J. Physiol. Pharmac*, 53, 787-792.
  - ✚ **Burger, H.G. (2002).** Androgen production in women. *Fertil. Steril*, 77, 3–5.
  - ✚ **Cancela, L., Nemere, I., Norma, A.W. (1988).**  $1\alpha, 25(\text{OH})_2$  vitamin D<sub>3</sub>: A steroid hormone capable of producing pleiotropic receptor-mediated biological responses by both genomic and nongenomic mechanisms. *J. Steroid Biochem*, 30, 33-39.
  - ✚ **Cardozo, C.P, Michaud, C., Ost, M.C, Fliss, A.E, Yang, E., Patterson, C., Hall, S.J, Caplan, A.J. (2003).** C-terminal Hsp-interacting protein slows androgen receptor synthesis and reduces its rate of degradation. *Arch Biochem Biophys*, 410(1), 134-40.
  - ✚ **Chellig, R. (1992).** Les races ovines algériennes. O.P.U. Alger, 80 p.
  - ✚ **Clark, B.J, Wells, J., King, S.R, Stocco, D.M. (1994).** The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse Leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR). *J Biol Chem*, 269,14-22.
  - ✚ **Coomans, C.P, Ramkisoensing, A., Meijer, J.H. (2015).** The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 37, 29–42.
  - ✚ **Cutler, G., Glenn, M., Bush, M., Hodgen, G., Graham, C., Loriaux, L. (1978).** Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals and primates. *Endocrinology*, 103 (6), 2112–2118.
  - ✚ **De Peretti, E. et Forest, M.G. (1976).** Unconjugated dehydroepiandrosterone plasma levels in normal subjects from birth to adolescence in human: the use of a sensitive radioimmunoassay. *J Clin Endocrinol Metab*, 43, 982–91.
  - ✚ **DeCoursey, P.J. et Krulas, J.R. (1998).** Behavior of SCN-lesioned chipmunks in natural habitat: a pilot study. *J. Biol. Rhythms*, 13, 229–244.
  - ✚ **Dehnel, A. (1949).** Badania nad rodzajem *Sorex* L. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Sect. C*, 4, 2, 17-102.
-



## Références bibliographiques

---

- ✚ **Delost, P. (1955).** Nouvelles données sur la zone X surrénalienne. *J. Physiol.*, 47,164-170.
  - ✚ **Delost, P. (1956).** La fonction sexuelle de la corticosurrénale. *Récents Progrès en Physiologie*, 47-74.
  - ✚ **Delost, P. (1960).** Nutrition et cycle endocriniens chez les mammifères sauvages non hibernants. *Ann. Nutr. Aliment.*
  - ✚ **Dibartolomeis, M.J. et Jefcoate, C.R. (1984).** Characterization of the acute stimulation of steroidogenesis in primary bovine adrenal cortical cell cultures. *J Biol Chem*, 259, 59-67.
  - ✚ **Evans, R.M. (1988).** The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 240(4854), 889-95.
  - ✚ **Faus, H. et Haendler, B. (2006).** Post-translational modifications of steroid receptors. *Biomed Pharmacother*, 60(9), 520-8.
  - ✚ **Feldman, E.C. et Nelson, R.W. (2004).** Canine hyperadrenocorticism (Cushing's syndrome). *In: Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders*, 252-357.
  - ✚ **Flück, C.E, Miller, W.L, Auchus, R.J. (2003).** The 17, 20-lyase activity of cytochrome p450c17 from human fetal testis favors the delta5 steroidogenic pathway. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 88, 3762–3766.
  - ✚ **Folkard, S.I., Hume, K., Minors, D., Waterhouse, J.M., Watson, F. (1985).** Independence of the circadian rhythm in alertness from the sleep/wake cycle. *Nature* (313), 678-679.
  - ✚ **Frank, L.A. (2006).** Comparative dermatology - canine endocrine dermatoses. *Clin. Dermatol.*, 24, 317-325.
  - ✚ **Fulla, Y., Guignat, L., Dugué, M.A, Assié, G., Bertagna, X. (2009).** Exploration biologique de la fonction corticotrope. *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES*, 416, 35-48.
  - ✚ **Gabe, M. (1968).** Techniques histologiques. Masson (ed.), Paris, 1113p.
  - ✚ **Gell, J.S., Carr, B.R., Sasano, H., Atkins, B., Margraf, L., Mason, J.I., Rainey, W.E. (1998).** Adrenarche results from development of a 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase deficient adrenal reticularis. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 83, 3695-3701.
  - ✚ **Georgiadis, E., Matzoros, C., Aliferis, C., Batrinos, M. (1992).** Are adrenal and testicular androgen levels correlated? *Horm. Metab. Res*, 24, 488–491.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Hazlerigg, D. et Simonneaux, V. (2015).** Chapter 34 – Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 2, 575–1604.
  - ✚ **Hedberg, Y., Dalin, A.M., Forsberg, M., Lundeheim, N., Hoffmann, B., Ludwig, C., Kindahl, H. (2007).** Effect of ACTH (tetracosactide) on steroid hormone levels in the mare Part A: Effect in intact normal mares and mares with possible estrous related behavioral abnormalities. *Animal Reproduction Science*, 100, 73-91.
  - ✚ **Idelman, S. et Verdetti, J. (2000).** Chapitre 6: Les glandes surrénales. *Endocrinologie et communications cellulaires / ed. par E. Sciences. Grenoble*, p 584.
  - ✚ **ITLEVE. (2006).** Institut Technique des Elevages, Algérie.
  - ✚ **Jagla, M. (2007).** Etude de l'impact de mutations du domaine de liaison à l'ADN sur les fonctions du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg I.
  - ✚ **Jefcoate, C.R., Dibartolomeis, M.J., Williams, C.A., Mcnamara, B.C. (1987).** ACTH regulation of cholesterol movement in isolated adrenal cells. *J Steroid Biochem*, 27, 721-9.
  - ✚ **John, M.E., John, M.C., Boggaram, V., Simpson, E.R., Waterman, M.R. (1986).** Transcriptional regulation of steroid hydroxylase genes by corticotropin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83, 4715-9.
  - ✚ **Junqueira, L.C. (2001).** Surrénales, îlots de Langerhans, thyroïde, parathyroïdes et glande pinéale. In: *Histologie*. Padoue: Piccin Nuova Libraria, 9-391.
  - ✚ **Kandsi-Bouhadad, F. et Hadj-Bekkouche, F. (2010).** Evaluation du contenu surrénalien en androsténone et effets de la castration chez le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*). *Comptes Rendus Biologies*, 333, 591–596.
  - ✚ **Katagiri, M., Kagawa, N., Waterman, M.R. (1995).** The role of cytochrome b5 in the biosynthesis of androgens by human P450c17. *Arch. Biochem. Biophys*, 317, 343–347.
  - ✚ **Khammar, F. (1977).** Variation saisonnière de l'activité glucocorticoïde de la surrénale en rapport avec l'activité sexuelle chez le rat des sables. Thèse de 3ème cycle, USTHB, Alger.
  - ✚ **Kolanouski, J., Ortega, N., Crabbe, J. (1987).** Chronic treatment with corticotrophin increases the capacity of rabbit adrenocortical cells to convert pregnenolone into androgens, *J. Steroid Biochem*, 26 (2), 291–296.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Kramer, R.E., Rainey, W.E., Funkenstein, B., Dee, A., Simpson, E.R., Waterman, M.R. (1984).** Induction of synthesis of mitochondrial steroidogenic enzymes of bovine adrenocortical cells by analogs of cyclic AMP. *J Biol Chem*, 259, 13-707.
  - ✚ **Krieger, D.T. (1975).** Rythms of ACTH and corticostéroïdes secretion in health and disease, and their experimental modification. *J. Steroid. Biochem*, 6, 785- 793.
  - ✚ **Labrie, C., Simard, J., Zhao, H.U.I.F.E.N., Belanger, A., Pelletier, G., Labrie, F. (1989).** Stimulation of androgen-dependent gene expression by the adrenal precursors dehydroepiandrosterone and androstenedione in the rat ventral prostate. *Endocrinology*, 124, 2745–2754.
  - ✚ **Largo, R.H. (1993).** Catch-up growth during adolescence. *Horm Res*, 39 (3), 41–8.
  - ✚ **Le berre, M. (1990).** Faune du Sahara. Tome 2 : Mammifères. Le chevalier et Chabaud, Paris, p 360.
  - ✚ **Linnaeus, C. (1758).** Systema Naturae Regnum Animal. Londeres: British Museum (Natural History). Cité par Le Berre M (1990): Faune du Sahara. 2. Mammifères. Le Chevalier et Chabaud, 218-220.
  - ✚ **Malek, Z. (2007).** Régulation circadienne du tryptophane hydroxylase dans les neurones sérotoninergiques du raphé dorsal et médian chez le Rat. Thèse de Doctorat en neurosciences. Université Strasbourg I, faculté des sciences de la vie, 28p.
  - ✚ **Malpeaux, B., Vigui, C., Thiry, J.C., Chemineau, P. (1996).** Contrôle photopériodique de la reproduction. INRA Station de Physiologie de la Reproduction des Mammifères Domestiques 37380 Nouzilly, P15.
  - ✚ **Martoja, R. et Martoja, M. (1967).** Initiation aux techniques de l’histologie animale. *Masson (Eds)*, Paris, 345p.
  - ✚ **Mazzuco, T.L. (2005).** Contribution de l'expression anormale de récepteurs couplés aux protéines G à la tumorigenèse corticosurrénalienne. Life Sciences, Thèse de Doctorat, Université Joseph-Fourier - Grenoble I (French), Version 1.P.11.
  - ✚ **Mc Natty, K., Cashmore, M., Young, A. (1972).** Diurnal variation in plasma cortisol levels in sheep. *J. Endocrinol.*, 54, 361-362.
  - ✚ **Mesbah, S. (1978).** Variations nyctémérales comparent de l’activité corticosurrénalienne chez le rat et le bélier. Thèse 3eme cycle, p169.
  - ✚ **Meyer, C. (2009).** Dictionnaire des sciences animales. Montpellier, France, Cirad: <http:// dico-sciences-animales. Cirad.fr>.
  - ✚ **Migeon, H., Tyler, F.H., Mahoney, J.P., Florentin, A.A., Castle, H., Bliss, E.L., Samuels, J.T. (1956).** *J. clin. Endocr. Metah*, 16, 622-633.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Mitani, F. (2014).** Functional zonation of the rat adrenal cortex: the development and maintenance. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 90(5), 163–183.
  - ✚ **Morohashi, K. et Zubair, M. (2011).** The fetal and adult adrenal cortex. *Mol Cell Endocrinol*, 336(1–2), 7-193.
  - ✚ **Nakamura, Y., Xing, Y., Hui, X.G., Kurotaki, Y., Ono, K., Cohen, T., Sasano, H., Rainey, W.E. (2011).** Human adrenal cells that express both 3-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (HSD3B2) and cytochrome b5 (CYB5A) contribute to adrenal androstenedione production. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 123, 122-126.
  - ✚ **Nelson, L.R. et Bulun, S.E. (2001).** Estrogen production and action. *J.Am. Acad. Dermatol.*, 45, 116-124.
  - ✚ **Nelson, P.S., Clegg, N., Arnold, H., Ferguson, C., Bonham, M., White, J., Hood, L., Lin, B. (2002).** The program of androgen-responsive genes in neoplastic prostate epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(18), 11890-5.
  - ✚ **Nguyen, P.T.T., Lee, R.S.F., Conley, A.J., Sneyd, J., Soboleva, T.K. (2011).** Variation in  $\beta$ 3hydroxysteroid dehydrogenase activity and in pregnenolone supply rate can paradoxically alter androstenedione synthesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, 128, 12–20.
  - ✚ **Nicolaidis, N.C., Charmandari, E., Chrousos, G.P. (2014).** Adrenal Steroid Hormone Secretion: Physiologic and Endocrine Aspects. Reference Module in Biomedical Sciences, 3eme edition.
  - ✚ **Nicolaidis. (2004).** L'eau, hydratation et santé. *Danone Nutritoppics*, 31, 2-17.
  - ✚ **Nonnenmacher, L. (2003).** Informations Réactifs: androsténedione, dihydrotestosterone, estriol et estrone. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 18, 166–171.
  - ✚ **Nussdorfer, G.G. (1986).** Cytophysiology of the adrenal cortex. *Int Rev Cytol*, 98, 1–405.
  - ✚ **Odell, W.D. et Parker, L.N. (1984-85).** Control of adrenal androgen production. *Endocr. Res*, 10, 617–630.
  - ✚ **Orth, D.N., Kovacs, W.J., Debold, C.R. (1998).** The adrenal cortex. *In: WILSON JD, FOSTER DW, KRONENBERG H, LARSEN P, editors. Williams textbook of endocrinology. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders, 517-664.*
  - ✚ **Ota, T., Fustin, J.M., Yamada, H., Doi, M., Okamura, H. (2012).** Circadian clock signals in the adrenal cortex. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 349 (1), 30–37.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Oudet, B., Rigabert, J., Young, J., Raffin-Sanson, M.L. (2010).** Physiologie et exploration des sécrétions de cortisol et d'androgènes par la surrénale. *Endocrinologie-Nutrition*, 10-014-B-10.
  - ✚ **Parker, L.N. et Odell, W.D. (1980).** Control of adrenal androgen secretion. *Endocrine Reviews*, 1, 392–410.
  - ✚ **Parker, L.N., Sack, J., Fisher, D.A., Odell, W.D. (1978).** The Adrenarche: Prolactin, Gonadotropins, Adrenal Androgens, and Cortisol. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 46, 396-401.
  - ✚ **Payne, A.H. et Hales, D.B. (2004).** Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr. Rev.*, 25, 947-970.
  - ✚ **Perez-Fernandez, R., Facchinetti, F., Beiras, A., Lima, L., Juan Gaudiero, G., Genazzani, A.R., Devesa, J. (1987).** Morphological and functional stimulation of adrenal reticularis zone by dopaminergic blockade in dogs. *J. steroid Biochem*, 28, 465-470.
  - ✚ **Petter, F. (1961).** Répartition géographique et écologique des rongeurs désertiques (du Sahara occidental à l'Iran oriental). *Mammalia* 25 (N° spécial), 1-222.
  - ✚ **Pieper, D.R. et Lobocki, C.A. (2000).** Characterization of serum dehydroepiandrosterone secretion in Golden hamster, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 224, 278–284.
  - ✚ **Pignatelli, D., Xiao, F., Gouveira, A.M., Ferreira, J.G., Vinson, G.P. (2006).** Adrenarche in the rat. *J. Endocrinol*, 191, 301–308.
  - ✚ **Pihlajoki, M., Dorner, J., Cochran, R.S., Heikinheimo, M., Wilson, D.B. (2015).** Adrenocortical Zonation, Renewal, and Remodeling. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 6, 27.
  - ✚ **Pihlajoki, M., Heikinheimo, M., Wilson, D.B. (2013).** Never underestimate the complexity of remodeling. *Endocrinology*, 154(12), 4446–910.
  - ✚ **Piltonen, T., Koivunen, R., Morin-Papunen, L., Ruokonen, A., Huhtaniemi, I., Tapanainen, J. (2002).** Ovarian and adrenal steroid production: regulatory role of LH/HCG. *Human Reprod*, 17, 620–624.
  - ✚ **Queiroz, O. (1969).** Photopériodisme et activité enzymatique (PEP carboxylase et enzyme malique) dans les feuilles de *Kalanchoe blossfeldiana*. *Phytochemistry*8(9), 1655-1663.
  - ✚ **Rainey, W.E. et Nakamura, Y. (2008).** Regulation of the adrenal androgen biosynthesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, 108, 281–286.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Rainey, W.E., Carr, B.R., Sasano, H., Suzuki, T., Mason, J.I. (2002).** Dissecting human adrenal androgen production. *Trend Endocrinol. Metab*, 13, 234–239.
  - ✚ **Redgate, E.S. (1976).** Central nervous system mediation of pituitary adrenal rhythmicity. *Life Sciences*, 19, 137-146.
  - ✚ **Reiter, E., Fuldauer, V., Root, A. (1977).** Secretion of the adrenal androgen, DHAS, during normal infancy, childhood and adolescence in sick infants and in children with endocrinological abnormalities. *J. Pediatrics*, 90, 766–770.
  - ✚ **Revillard, J.P. (1998).** Principes des techniques immunologiques d'application courante en analyse médicale. *In: Immunologie. 3ème éd. Bruxelles: de Boeck*, 389-400.
  - ✚ **Rhen, T., Cidlowski, J.A. (2005).** Antiinflammatory action of glucocorticoids – new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med*, 353, 1711–23.
  - ✚ **Ribes, A.C., Mohamed, F., Dominguez, S., Delgado, M., Scardapane, L., Guzman, J., Piezzi, R. (1999).** Probable effect of photoperiod on seasonal variation in the nuclear volume of the adrenal cortex of Viscacha (*Lagostomus maximus maximus*). *Braz. J. Med. Biol. Res*, 32, 1115-1120.
  - ✚ **Ringberg Lund-Larsen, T., Kofstad, J., Aakvaag, A. (1978).** Seasonal changes in serum levels of aldosterone, Cortisol and inorganic ions in the reindeer (*RANGIFER TARANDUS*). *Compr. Biochem. Physiol*, 60A, 383-386.
  - ✚ **Ritchie, J.E. et Balasubramanian, S.P. (2014).** Anatomy of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. *Surgery*, 32, 499-503.
  - ✚ **Rosenfeld, R., Hellman, L., Roffwarg, H., Weitzman, E., Fukushima, D., Gallagher, T. (1971).** Dehydroisoandrosterone is secreted episodically and synchronously with cortisol by normal man. *J Clin Endocrinol Metab*, 33, 87.
  - ✚ **Rouvière, H. et Delmas A. (2002).** Glandes suprarénales. *Anatomie humaine: le tronc*. Paris: Masson, 50-545.
  - ✚ **Schiebinger, R.J., Alberton, B.D., Bornes, K.M., Cutler, G.B., Loriaux, D. (1981).** Developmental changes in rabbit and dog adrenal function: a possible homologue of adrenarche in the dog, *Am. J. Physiol. Endocrinol*, 240 (6), 694–699.
  - ✚ **Scott, D.W., Miller, W.H., Griffin, C.E. (1998).** Endocrine and metabolic diseases. *In: Muller and Kirk's Small animal dermatology. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders*, 780-886.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ Sewer, M.B. et Waterman, M.R. (2003). ACTH modulation of transcription factors responsible for steroid hydroxylase gene expression in the adrenal cortex. *Microsc Res Tech*, 61, 300-7.
  - ✚ Simon, D.P. et Hammer, G.D. (2012). Adrenocortical stem and progenitor cells: implications for adrenocortical carcinoma. *Mol Cell Endocrinol*, 351(1), 2–11.
  - ✚ Siuda, S. (1964). Morphology of the Adrenal Cortex of *Sorex araneus* Linnaeus, 1758 During the Life Cycle. *Acta Theriologica*, 7, 115-124.
  - ✚ Snipes, C.A., Forest, M.G., Migeon, C.J. (1969). Plasma androgen concentrations in several species of old and new world monkeys, *Endocrinology*, 85, 941.
  - ✚ Stewart, P.M. (2003). Chapter 14: The Adrenal Cortex. *Williams Textbook of Endocrinology* / ed. par P. R. Larsen *et al.* 10th ed. Philadelphia, p 1927.
  - ✚ Stocco, D.M., Wang, X., Jo, Y., Manna, P.R. (2005). Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: more complicated than we thought. *Mol. Endocrinol*, 19, 2647–2659.
  - ✚ Storbeck, K.H., Swart, A.C., Goosen, P., Swart, P. (2013). Cytochrome b5: Novel roles in steroidogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 371, 87-99.
  - ✚ Storbeck, K.H., Swart, A.C., Slabbert, J.T., Swart, P. (2007). The identification of two CYP17 alleles in the South African Angora goat. *Drug Metab. Rev*, 39, 467–480.
  - ✚ Sundaram, K. et Kumar, N. (1996). Metabolism of testosterone in Leydig cells and peripheral tissues. In: Payne AH, Hardy MP, Russell LD, eds. *The Leydig cell*. Vienne: Cache River Press, 287-306.
  - ✚ Swart, P., Lombard, N., Swart, A.C., Van der Merwe, T., Murry, B.A., Nicol, M., Mason, J.I. (2003). Ovine steroid 17 $\alpha$ -hydroxylase cytochrome P450: characteristics of the hydroxylase and lyase activities of the adrenal cortex enzyme. *Arch. Biochem. Biophys*, 409, 145–152.
  - ✚ Swart, P., Swart, A.C., Waterman, M.R., Estabrook, R.W., Mason, J.I. (1993). Progesterone 16 alpha-hydroxylase activity is catalyzed by human cytochrome P450 17 alpha-hydroxylase. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 77, 98–102.
  - ✚ Thomas, et Merlin P. (2000). Comment sont définis les solstices. Emmanuelle Cecchi.
  - ✚ Torok, S. (2013). Sécrétions en excès d'hormones sexuelles et de précurseurs stéroïdes par les corticosurrénales. Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine de Créteil, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
-

## Références bibliographiques

---

- ✚ **Turcu, A., Smith, J.M., Auchus, R., Rainey, W.E. (2014).** Adrenal androgens and androgen precursors: definition, synthesis, regulation and physiologic actions. *Compr Physiol*, 4(4), 1369-1381.
  - ✚ **Udhane, S.S. et Flück, C.E. (2016).** Regulation of human (adrenal) androgen biosynthesis—New insights from novel throughput technology studies. *Biochemical Pharmacology*, 102, 20–33.
  - ✚ **Vivicorsi, M.P. (1998).** Contribution à l'étude de la sauvegarde des races domestiques menacées de disparition, l'exemple de la chèvre du rove, Lyon (France).
  - ✚ **Voutilainen, R., Perheentupa, J., Apter, D. (1983).** Benign premature adrenarche: clinical features and serum steroid levels. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 72, 707–711.
  - ✚ **Wang, W., Yang, L., Suwa, T., Casson, P.R., Hornsby, P.J. (2001).** Differentially expressed genes in zona reticularis cells of the human adrenal cortex, *Mol. Cell. Endocrinol*, 173, 127–134.
  - ✚ **Waterman, M.R. et Bischof, L.J. (1997).** Cytochromes P450 12: diversity of ACTH (cAMP)-dependent transcription of bovine steroid hydroxylase genes. *Faseb J*, 11, 419-27.
  - ✚ **Woodley, S.K., Painter, D.L., Moore, M.C., Wikelski, M., Romero, L.M. (2003).** Effect of tidal cycle and food intake on the baseline plasma corticosterone rhythm in intertidally foraging marine iguanas. *Gen. Com. Endocrinol*, 132, 216-222.
  - ✚ **Yates, F.E. et Urquhart, J. (1962).** *Physiol. Rev*, 42, 359-429.
  - ✚ **Yates, F.E., Russell, S.M., Maran, J.W. (1971).** *A. Rev. Physiol*, 33, 393-444.
  - ✚ **Yates, R., Katugampola, H., Cavlan, D., Cogger, K., Meimaridou, E., Hughes, C. (2013).** Adrenocortical development, maintenance, and disease. *Curr. Top. Dev. Biol*, 106, 239–312.
  - ✚ **Yousef, M.K., Cameron, R.D., Luck, J.R. (1971).** Seasonal changes in hydrocortisone secretion rate of reindeer (*Rangifer Tarandus*). *Comp. Biochem. Physiol*, 40A, 495 501.
  - ✚ **Zuber, M.X., Simpson, E.R., Waterman, M.R. (1986).** Expression of bovine 17 alpha hydroxylase cytochrome P-450 cDNA in non steroidogenic (COS 1) cells. *Science (New York, NY)*, 234, 1258–1261.
-



1. Technique histologique :

- Appareillage :



**Figure 23:** Etuve de séchage E28 BINDER (photo originale).



**Figure 24:** Microtome SLEE CUT 6062 (photo originale).



**Figure 25 :** Plaque chauffante Leica HI 1210 (photo originale).



**Figure 26:** Microscope Konus 5306 Campus (photo originale).



**Figure 27:** Microscope Optika B352A (photo originale).

---

## Annexes A

---

- **Réactifs :**

### **Fiche technique n°1 :**

**Fixateur topographique :** Liquide de **Bouin-Holland**

- o Eau distillée ..... 100 ml
- o Acétate de cuivre ..... 2.5 ml
- o Formol du commerce ..... 10 ml
- o Acide acétique ..... 1 ml
- o Acide picrique ..... 4g

### **Fiche technique n°2 :**

**Déshydratation :**

- o Un bain d'eau.
- o Un bain d'alcool 70° de 30minutes.
- o Un bain d'alcool 96° jusqu'au lendemain.
- o Un bain d'alcool 96° de 30minutes.
- o Deux bains d'alcool 100° de 30minutes pour chacun.
- o Un bain d'alcool 100° jusqu'au lendemain.

**Fiche technique n°3 :** Coloration Topographique à l'**Hémalun-Eosine**

#### **1. Réactifs :**

**1.1. Hématoxyline de Groat :**

- o Acide sulfurique concentré ..... 0.8 ml
- o Alun de fer..... 1g
- o Eau distillée ..... 50 ml
- o Hématoxyline ..... 0.5g
- o Alcool 95° ..... 50ml

Laisser reposer pendant une heure et filtrer

*(Se conserve pendant trois mois environ)*

**1.2. Eosine :**

- o Eosine (Y, G ou J) ..... 1g
- o Eau distillée ..... 100ml

*(Se conserve indéfiniment)*

#### **2. Mode opératoire :**

- o Déparaffiner, hydrater.
  - o Colorer par l'Hématoxyline de Groat 5min.
  - o Laver à l'eau courante pendant 5 min.
-

- o Colorer par l'Eosine 30 s.
- o Rincer à l'eau.
- o Déshydrater, monter.



**Figure 28** : Batterie de la coloration à l'Hémalun-Eosine (photo originale).

### 3. Résultats :

Les noyaux sont colorés en bleu-noire (en marron si l'hématoxyline est épuisée), les cytoplasmes acidophiles en rose. Certaines sécrétions restent incolores.

#### Fiche technique n°4 : Coloration Topographique au *Trichrome de Masson*

##### 1. Réactifs :

**1.1. Hématoxyline de Groat** : (fiche technique n°3)

**1.2. Fuchsine acide-ponceau** :

- o Fuchsine acide ..... 0.1 g
- o Ponceau ..... 0.2 g
- o Eau distillée ..... 300 ml

Après dissolution, ajouter :

- o Acide acétique ..... 0.6 ml

(Se conserve indéfiniment)

**1.3. Orange G phosphomolybdique** :

- o Orange G ..... 2g
- o Acide phosphomolybdique ..... 1g
- o Eau distillée ..... 100 ml

(Se conserve indéfiniment)

---

## Annexes A

---

### 1.4. Vert lumière acétique :

- o Vert lumière ..... 0.1g
- o Eau distillée ..... 100ml

Ajouter après dissolution :

- o Acide acétique ..... 2ml

(Se conserve indéfiniment)

### 2. Mode opératoire :

- o Déparaffiner, hydrater.
- o Colorer par l'Hématoxyline de Groat 3 min.
- o Laver à l'eau courante pendant 5 min.
- o Colorer par le mélange fuchsine ponceau pendant 5 min environ.
- o Rincer à l'eau acétique à 1%.
- o Colorer par l'orange G phosphomolybdique (passage).
- o Rincer à l'eau acétique à 1%.
- o Colorer par le vert lumière pendant 9 min environ.
- o Rincer à l'eau acétique à 1%.
- o Déshydrater et monter.



Figure 29 : Batterie de la coloration au Trichrome de Masson (photo originale).

### 3. Résultats :

Les noyaux sont noirs, les cytoplasmes en rouge et le tissu conjonctif en vert ou bleu.

#### Fiche technique n°5 : Coloration à l'Azan modifié

##### 1. Réactifs:

##### 1.1. Rouge nucléaire:

- o Rouge nucléaire (*Nuclear fast red ou Kernechtrot*) ..... 0.1g
  - o Sulfate d'aluminium ..... 5g
  - o Eau distillée ..... 100ml
-

## Annexes A

---

Porter à ébullition, laisser refroidir, filtrer.

*(Se conserve plusieurs semaines à +4°C)*

### **1.2. Bleu d'aniline :**

#### **Solution mère :**

- o Bleu d'aniline ..... 0.5 g
- o Eau distillée ..... 100ml

Porter à ébullition, laisser refroidir, filtrer, ajouter :

- o Acide acétique ..... 8ml

*(La solution mère se conserve indéfiniment)*

#### **Solution de travail :**

Au moment de l'emploi, diluer :

- o Solution mère ..... 1 volume
- o Eau distillée ..... 2 volumes

*(La solution de travail se conserve plusieurs mois)*

### **1.3. Orange G phosphomolybdique :** (fiche technique n°4)

#### **2. Mode opératoire :**

- o Déparaffiner, hydrater
- o Colorer par le rouge nucléaire (30 min)
- o Rincer à l'eau courante
- o Colorer par l'orange G phosphomolybdique (40 min)
- o Rincer à l'eau courante
- o Colorer par le bleu d'aniline (10 min)
- o Rincer à l'eau distillée (pour éliminer du bleu)
- o Déshydrater et montrer.



**Figure 30 :** Batterie de la coloration à l'Azan modifié (photo originale).

---

### 3. Résultats :

Les noyaux et certains cytoplasmes sont rouges, d'autres cytoplasmes sont jaunes ou gris. Le collagène est bleu. Les sécrétions peuvent être de différentes couleurs selon leur nature.

#### 2. Technique radioimmunologique (RIA) :

- **Dosage de l'androstéedione :**

**1. Tubes revêtus d'anticorps anti-androstéedione: 2x 50 tubes** (prêts à l'emploi) : tubes en plastique, avec des immunoglobulines de lapin anti-androstéedione immobilisées sur la paroi interne de chaque tube.

**2. Traceur androstéedione marqué à l'iode 125: 1 flacon de 55 ml** (prêt à l'emploi) : le flacon contient 185 kBq (<5 µCi), en début de lot, d'androstéedione marquée à l'iode 125 dans un tampon à base de protéine avec d'azide de sodium (<0,1%, voir § Précautions).

**3. Calibrateurs: 1 flacon marqué 0 + 5 flacons, marqués 1-5** (lyophilisées) : les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à environ 10,0 ng/ml (0 à environ 34,5 nmol/l) d'androstéedione dans du sérum humain avec de l'azide de sodium (<0,1%, voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur chaque flacon. Reconstituer le contenu des flacons avec d'eau désionisée, le volume est indiqué sur les étiquettes. Après reconstitution, entreposer entre 2-8 °C jusqu'à 3 semaines ou à -20 °C ou plus bas jusqu'à la date de péremption de la trousse. Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence.

**4. Contrôles: 2 flacons, marqués 1, 2** (lyophilisées) : les flacons contiennent d'androstéedione, dans du sérum humain avec de l'azide de sodium (<0,1%, voir § Précautions). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur le supplément. Reconstituer le contenu des flacons avec d'eau désionisée, le volume est indiqué sur les étiquettes. Après reconstitution, entreposer entre 2-8 °C jusqu'à 3 semaines ou à -20 °C ou plus bas jusqu'à la date de péremption de la trousse.

- **Matériel nécessaire :**

- ♦ Micropipette de précision (50 µl).
  - ♦ Pipette semi-automatique (500 µl).
  - ♦ Système d'aspiration.
  - ♦ Agitateur de type Vortex.
  - ♦ Compteur gamma calibré à l'iode 125.
  - ♦ Bain-marie.
  - ♦ Eau distillée.
-



**Figure 31:** Flacons de calibreurs avant (à droite) et après (à gauche) reconstitution  
(photo originale).



**Figure 32:** Tubes en plastique recouverts d'anticorps anti-androsténedione (photo originale).

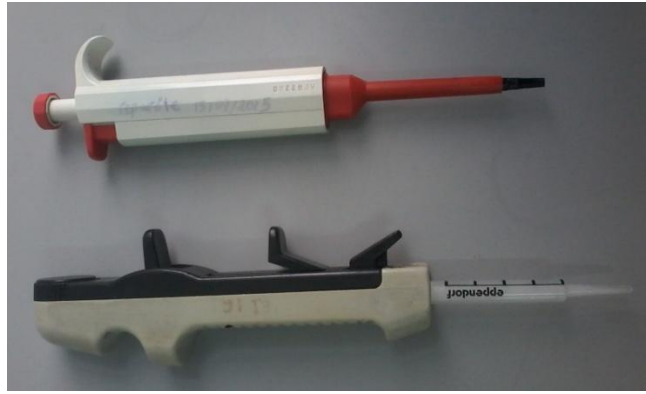


**Figure 33:** Tubes à échantillons (photo originale).

---

## Annexes A

---



**Figure 34:** Micropipette de précision (en haut) et pipette semi-automatique (en bas) (**photo originale**).



**Figure 35:** Homogénéisation du plasma au moyen de l'agitateur de type vortex (**photo originale**).

**Figure 36 :** Tube à échantillon après agitation (**photo originale**).



**Figure 37:** Flacons à calibrateurs, contrôles et traceur d'androsténone-I 125 (**photo originale**).

---

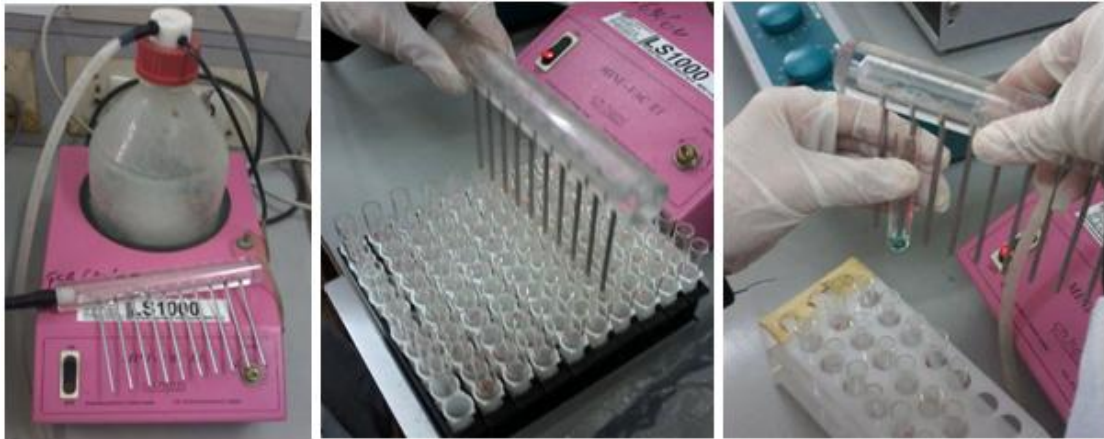


## Annexes A

---



**Figure 38 :** Bain- marie (photo originale).



**Figure 39:** Système d'aspiration (photo originale).



Figure 40 : Compteur gamma calibré pour l'iode 125 (photo originale).

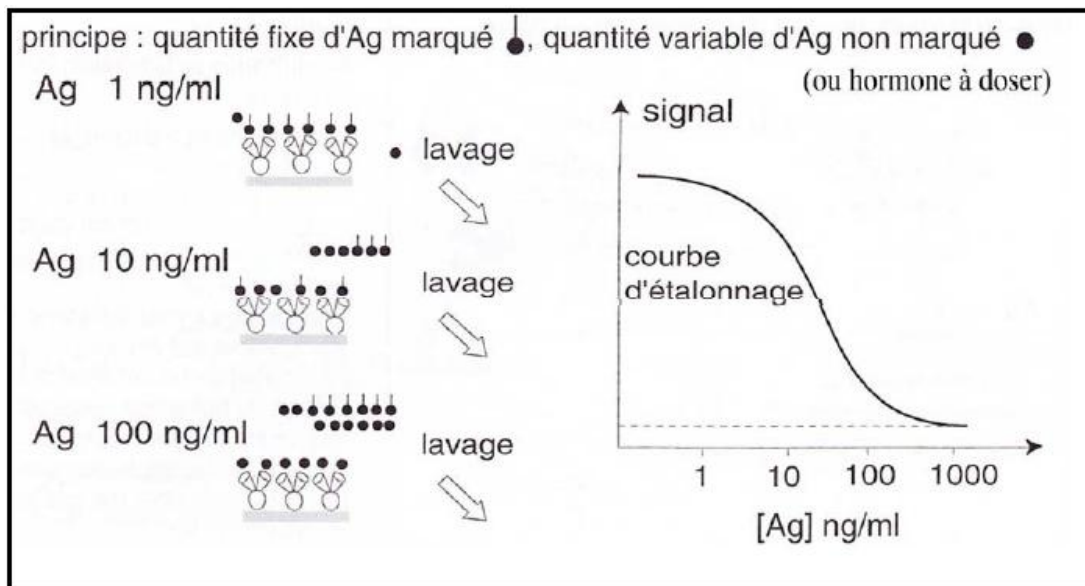


Figure 41: Principe d'un immunodosage par compétition (Revillard, 1998).

## Annexes B

- **Résultats morphométriques de la corticosurrénale :**
- **Significativité statistique :**

**Tableau 4:** Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
Cortex	0.169743	0.865803	différence est NS
ZF	-1.08685	0.281597	différence est NS
ZR	-2.20843	0.03118	Différence est significative

**Tableau 5:** Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
Cortex	0.073698	0.941504	Différence est NS
ZF	0.950715	0.345694	Différence est NS
ZR	-0.709377	0.480933	Différence est NS

**Tableau 6:** Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
Cortex	0.497635	0.621014	Différence est NS
ZF	2.104746	0.040574	Différence est significative
ZR	0.236215	0.814271	Différence est NS

**Tableau 7:** Les significations statistiques des résultats morphométriques du : cortex, ZF et ZR en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
Cortex	1.982625	0.052153	
ZF	3.893592	0.000258	Différence est hautement significative
ZR	-0.924765	0.35892	Différence est NS

**Tableau 8:** Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la corticosurrénale durant la phase claire chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

les saisons	L'automne	le printemps	L'hiver	L'été
L'automne				
le printemps	0.000158			
L'hiver	0.089594	0.072774		
L'été	0.000137	0.000137	0.000137	

## Annexes B

---

**Tableau 9:** Les significations statistiques des variations morphométrique saisonnières de la ZF durant la phase claire chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

les saisons	L'automne	le printemps	L'hiver	L'été
L'automne				
le printemps	0.000137			
L'hiver	0.006916	0.123592		
L'été	0.000137	0.000137	0.000137	

**Tableau 10 :** Les significations statistiques des variations morphométrique saisonnières de la ZR durant la phase claire chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

les saisons	L'automne	le printemps	L'hiver	L'été
L'automne				
le printemps	0.001299			
L'hiver	0.999705	0.000946		
L'été	0.00484	0.977203	0.003541	

**Tableau 11:** Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la corticosurrénale durant la phase sombre chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

les saisons	L'automne	le printemps	L'hiver	L'été
L'automne				
le printemps	0.000264			
L'hiver	0.036745	0.203422		
L'été	0.000138	0.000723	0.000138	

**Tableau 12 :** Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la ZF durant la phase sombre chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

les saisons	L'automne	le printemps	L'hiver	L'été
L'automne				
le printemps	0.511572			
L'hiver	0.520766	0.998613		
L'été	0.000138	0.000794	0.000188	

**Tableau 13 :** Les significations statistiques des variations morphométriques saisonnières de la ZR durant la phase sombre chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

les saisons	L'automne	le printemps	L'hiver	L'été
L'automne				
le printemps	0.96562			
L'hiver	0.701423	0.479196		
L'été	0.531788	0.880688	0.076869	

---

## Annexes B

**Tableau 14:** Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones : fasciculée et réticulée en phases claire et sombre à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

<b>ZFX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	4.430986	0.000011	Différence est hautement significative
la surface nucléaire	6.63651	0	Différence est hautement significative
RNC	-0.047972	0.961754	Différence est NS
<b>ZRX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	8.560451	0	Différence est hautement significative
la surface nucléaire	8.652282	0	Différence est hautement significative
RNC	-0.745643	0.456176	Différence est NS

**Tableau 15 :** Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones : fasciculée et réticulée en phases claire et sombre au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

<b>ZFX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	3.317462	0.000964	Différence est hautement significative
la surface nucléaire	3.994752	0.000073	Différence est hautement significative
RNC	-0.299189	0.7649	Différence est NS
<b>ZRX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	1.712064	0.087403	Différence est NS
la surface nucléaire	3.172333	0.00159	
RNC	1.856842	0.063825	Différence est NS

**Tableau 16 :** Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones : fasciculée et réticulée en phases claire et sombre à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

<b>ZFX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	-0.625267	0.532082	Différence est NS
la surface nucléaire	5.936537	0	Différence est hautement significative
RNC	3.886471	0.000115	Différence est hautement significative
<b>ZRX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	-1.5176	0.129749	Différence est NS
la surface nucléaire	-1.63687	0.102289	Différence est NS
RNC	-2.16691	0.030715	Différence est significative

## Annexes B

---

**Tableau 17 :** Etude statistique des surfaces cellulaire et nucléaire et le RNC des zones: fasciculée et réticulée en phases claire et sombre au solstice d'été chez le bélier D'man élevé à El-Méniaa.

<b>ZFX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	-4.28788	0.000021	Différence est hautement significative
la surface nucléaire	9.038791	0	Différence est hautement significative
RNC	8.123799	0	Différence est hautement significative
<b>ZRX100</b>	t-value	P	LES RESULTATS STATISTIQUES
La surface cellulaire	-6.54718	0	Différence est hautement significative
la surface nucléaire	-6.11754	0	Différence est hautement significative
RNC	2.680738	0.00759	Différence est très significative

**Tableau 18 :** Les variations saisonnières du pourcentage des zones du cortex (ZG, ZF, ZR) chez le bélier de race D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	L'automne	L'hiver	Le printemps	L'été
<b>ZG</b>	18%	18%	16%	11%
<b>ZF</b>	54%	58%	58%	66%
<b>ZR</b>	25%	21%	23%	19%

---

## Annexes C

➤ **Résultats du dosage d'androstéedione :**

• **Significativité statistique :**

**Tableau 19 :** Etude statistique des variations nyctémérales en androstéedione plasmatique à l'équinoxe d'automne chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	5H	9H	13H	17H	21H	1H
5H						
9H	0.47629					
13H	0.545729	0.999997				
17H	0.999985	0.383496	0.448051			
21H	0.321258	0.999766	0.998728	0.247393		
1H	0.879308	0.068136	0.086947	0.934064	0.036281	

**Tableau 20 :** Etude statistique des variations nyctémérales en androstéedione plasmatique au solstice d'hiver chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	5H	9H	13H	17H	21H	1H
5H						
9H	0.999977					
13H	0.999712	0.999997				
17H	0.993739	0.999013	0.999848			
21H	0.999999	0.999999	0.999953	0.997324		
1H	0.365534	0.464504	0.536073	0.694118	0.415521	

**Tableau 21:** Etude statistique des variations nyctémérales en androstéedione plasmatique à l'équinoxe du printemps chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

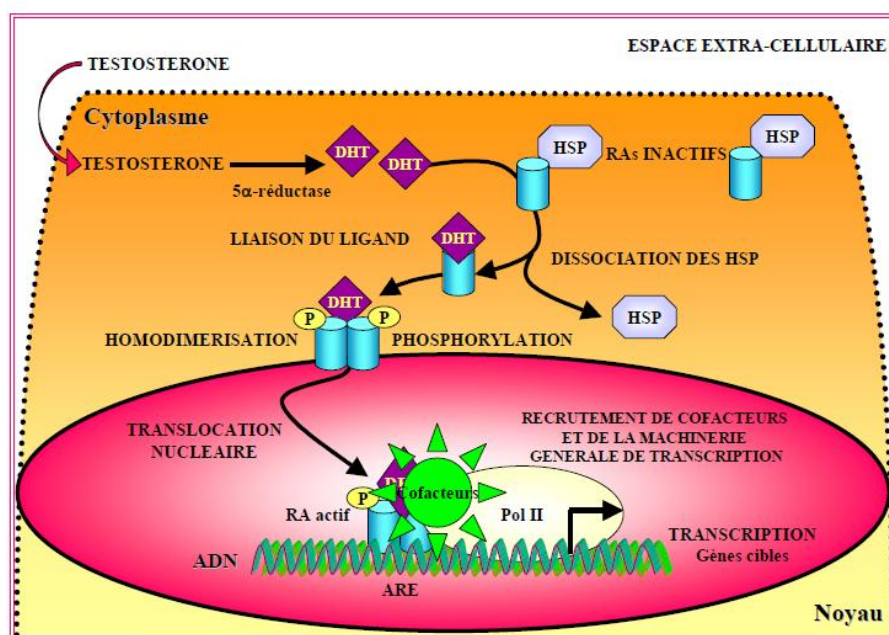
	5H	9H	13H	17H	21H	1H
5H						
9H	0.987971					
13H	0.408499	0.785707				
17H	0.102706	0.323418	0.967602			
21H	0.025839	0.105746	0.725532	0.989148		
1H	0.319175	0.690264	0.999981	0.988688	0.816385	

**Tableau 22:** Etude statistique des variations nycthémérales en androsténedione plasmatique au solstice d'été chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

	7H	5H	9H	13H	17H	21H	1H
7H							
5H	0.189451						
9H	0.996582	0.053429					
13H	0.921406	0.800991	0.618175				
17H	0.971257	0.677444	0.749234	0.999991			
21H	0.519852	0.99475	0.207463	0.988148	0.958272		
1H	0.177453	1	0.049298	0.782734	0.656092	0.99305	

**Tableau 23:** Etude statistique des variations saisonnières en androsténedione plasmatique durant les quatre saisons chez le bélier D'man élevé dans la région d'El-Méniaa.

les saisons	L'automne	L'hiver	le printemps	L'été
L'automne				
L'hiver	0.875916			
le printemps	0.0043	0.022241		
L'été	0.023588	0.107648	0.864054	



**Figure 42 :** Mode d'action génomique du récepteur des androgènes (Jagla, 2007).



# GLOSSAIRE :

\***Equinoxe** : époque de l'année (20 ou 21 mars, 22 ou 23 septembre) où le soleil se trouve dans le plan équatorial (moment où les rayons du soleil arrivent perpendiculairement sur l'axe de rotation de la terre, les rayons du soleil sont donc parallèles à l'équateur), cela a pour conséquence que la durée du jour et de la nuit sont égales partout sur la terre (**Thomas et Merlin, 2000**).

\***Solstice** : époque de l'année (20 ou 21 juin, 21 ou 22 décembre) où le soleil est le plus éloigné dans le plan équatorial), cela a pour conséquence le jour est le plus long de l'année et la nuit est la plus courte pour le solstice d'été et le contraire pour le solstice d'hiver (**Thomas et Merlin, 2000**).

\***Nycthémère** : un cycle biologique de 24 heures comprenant une période de veille et une période de sommeil correspondant respectivement à un jour et une nuit pour les espèces diurnes, et à l'inverse pour les espèces strictement nocturnes (**Bonnet, 2004**).

\***Photopériodisme** : la propriété, qu'ont certaines plantes ou certains animaux d'avoir leur développement ou leur fonctionnement soumis à l'influence de la durée des jours et des nuits, plus précisément à la durée du temps d'éclairement et de l'obscurité (**Queiroz, 1969**).

\***Pâturage** : surface couverte d'herbe, prairie artificielle ou naturelle, où l'on fait paître des herbivores (**Meyer, 2009**).

\***P450** : (pigment 450) le composé responsable du pic d'absorbance à 45 nm qui apparaît quand on sature en monoxyde de carbone (**Nicolaidis, 2004**).

\***Circadien** : du latin= cira : environ, dia : jour. Est un type de rythme biologique d'une durée de 24 h (**Folkard et al., 1985**).

\***Steppe** : est une formation végétale, primaire ou secondaire ; basse et ouverte dans sa physionomie typique et inféodée aux étages bioclimatiques arides et désertiques dont elle est l'expression naturelle (**Bourbouze et Donadieu, 1987**).

\***Adrenarche** : l'adrenarche peut être définie comme plus grande production d'androgènes surrénaliens entre l'âge de 6 et 8 ans (**de Peretti et Forest, 1976 ; Largo, 1993**). L'adrenarche humaine est généralement caractérisée par l'apparition des cheveux axillaires, du pubarche et d'une accélération passagère de croissance et de maturation linéaires d'os (**Parker et al., 1980 ; Voutilainen et al., 1983**).