

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Blida-1-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie et physiologie cellulaire



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
Option : Bio-signalisation Cellulaire et Moléculaire, Immunologie (BCMI)

THEME



Étude structurale et immunolocalisation du récepteur aux œstrogènes ER α au niveau de la corticosurrénal, chez la chèvre bédouine "Capra hircus" au cours du cycle sexuel



Présenté par :
Melle SELHI NARIMANE

Soutenu le 20/09/2015 devant le jury composé de :

Présidente	Mme ZATRA Y.	MAA	UB 1
Examinatrice	Mme MATAOUI H.	MCB	UB 1
Promotrice	Mme CHAKHMA A.	MAA	UB 1

Promotion 2014-2015

Remerciement

Je remercie tout d'abord le bon Dieu de m'avoir donné la force et le courage d'affronter toutes les difficultés.

Mes plus sincères remerciements vont à Mme **CHAKHMA A.** ma promotrice, qui mon encadré et pris en charge pour la réalisation de ce mémoire, et pour ces conseils et les fructueuses discussions. Ses encouragements et sa gentillesse.

Je tiens également à exprimer mon remerciements a :

- Mme **KHAMMAR.F**, professeur à la faculté des sciences biologiques (USTHB), pour avoir accepté de m'accueillir dans son laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA).
- la présidente **Mme ZATRA Y.** D'avoir bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury.
- L'examinatrice **Mme MATAOUI H.** pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Et sans oublier de remercier vivement tous mes enseignants du département de Biologie de l'U.S.D.B et l'équipe du laboratoire de recherches sur les zones arides (LRZA).

Je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin afin de réaliser ce travail.

Dédicace

A la mémoire de mes grands-parents

A mes chers parents

A toute ma famille et tous mes amis qui se reconnaîtront

Narimane

Résumé

Dans le but de voir la structure cortico-surrénalienne au cours de la saison de reproduction, chez la chèvre bédouine *Capra hircus* femelle cyclique, au cours du cycle sexuel, vivant en semi captivité au niveau de la station expérimentale de Béni-Abbès W. de Béchar, on a réalisé une étude structural et immunohistochimique de récepteur aux œstrogènes au niveau de la surrénale.

Les prélèvements des glandes surrénales ont été effectués sur 10 femelles, qui sont récoltées au moment de l'abattage au niveau de l'abattoir municipal de Béni-Abbès et d'Abbadla. Les glandes sont pesées et dégraissées puis rapidement plongées dans du fixateur le Formol à 10%. Les surrénales de 5 femelles en œstrus saisonnier prélevées en mois de Novembre et 5 femelles en anœstrus prélevées en mois de Mai, ont fait l'objet d'une étude histologique et morphométrique, utilisant une coloration de Trichrome de Masson. Concernant l'étude immunohistochimique, a été effectuée sur 3 femelles pour chaque saison.

L'ensemble des résultats de l'histologie de la surrénale montre une structure similaire à celles des autres espèces des mammifères. Les résultats morphométrique montrent qu'en période de repos sexuel, il y a une augmentation de l'épaisseur des différentes zones du cortex (cortex : 32,5% ; capsule : 36% ; Zone Glomérulée : 12% ; Zone Fasciculée : 35% ; Zone Réticulée : 39%), associée à une hypertrophie des surfaces cellulaire comparées à celles en période d'activité sexuelle (Zone Glomérulée : 11% ; Zone Fasciculée : 12% ; Zone Réticulée : 8%). Concernant les résultats immunohistochimique, on note une expression de récepteur aux œstrogènes au niveau de la zone fasciculée (repos : 56,3% ; activité : 69,9%) plus que la zone glomérulée (repos : 60% ; activité : 65,5%) et réticulée (repos : 63,5% ; activité : 64,9%). Nos résultats plaident en faveur de l'existence d'un effet positif des œstrogènes ovariens sur la fonction surrénalienne.

Mots clés : chèvre bédouine, surrénale, cycle sexuel, structure, immunohistochimie, récepteur œstrogénique α .

Abstract

In order to see the adrenocortical structure during the breeding season, at the Bedouin goat *Capra hircus* cyclical female, during sexual cycle, living in semi captivity at the experimental station of Beni Abbes Bechar W., was carried a structural and immunohistochemical study of estrogen receptor in the adrenal gland.

Levies of the adrenal glands were performed on 10 females, which are harvested at the time of slaughter at the municipal slaughterhouse of Beni Abbes and Abbadla. The glands were weighed and degreased and then quickly dipped in the fixer formalin 10%. The Adrenals of 5 females in estrus seasonal and 5 females in anoestrus have been subject to histological and morphometric study, using a Masson's Trichrome staining. Concerning the immunohistochemical study was performed on 3 females for every season.

All the results of the adrenal histology show a structure similar to those of other species of mammals. The morphometric results show that in period of sexual rest, there is an increase in the thickness of different areas of the cortex (cortex: 32.5%; capsule: 36%; Zona glomerulosa: 12%; Zona fasciculata: 35%; Zona reticularis : 39%), associated with hypertrophy of the cell surface compared to those during the period of sexual activity (Zona glomerulosa: 11%; Zona fasciculata: 12%; Zona reticularis: 8%). Concerning the immunohistochemical results, there is an estrogen receptor expression at the zona fasciculata (Rest: 56, 3% Activity: 69.9%) more than the zona glomerulosa (Rest: 60% Activity: 65.5 %) and reticularis (rest: 63.5% activity: 64.9%). Our results support the existence of a positive effect of ovarian estrogen on adrenal function.

Keywords: Bedouin goat, adrenal, sexual cycle, structure, immunohistochemistry, estrogen receptor α .

الملخص

من اجل أن نرى بنية القشرة الكظرية خلال موسم التكاثر, عند الماعز البدوي, إناث دورية, التي تعيش في المنطقة التجريبية لبني عباس ولاية بشار. قد أجرينا دراسة هيكلية و الوسم المناعي على مستقبلات هرمون الاستروجين في الغدة الكظرية.

أجرينا عينات من الغدة الكظرية على 10 من الإناث, التي تم حصادها في وقت الذبح في المسلخ البلدي لبني عباس و عبادلة. تم وزن الغدد و نزع الدهون منها ثم وضعها بسرعة في محلول للتثبيت الفورمول 10 %.

الغدد الكظرية ل 5 إناث في مرحلة النشاط الجنسي نزلت في شهر نوفمبر و 5 إناث في مرحلة الراحة الجنسية نزلت في شهر ماي استخدمت لدراسة نتيجة , مظهرية و ذلك باستخدام الملون ثلاثي كرومات لى ماسون. أما بشأن دراسة الوسم المناعي أجريت على 3 إناث في كل موسم.

كل النتائج لدراسة الأنسجة للغدة الكظرية تظهر بنية مماثلة لتلك التي عند الأنواع الأخرى من الثدييات . أظهرت النتائج المظهرية انفى فترة الراحة الجنسية , هناك زيادة في سمك مختلف المناطق من القشرة (قشرة , 32,5% كبسولة 36%, المنطقة الحبيبية 12%, المنطقة الحزمية % 35, المنطقة الشبكية 39%). و يرتبط ذلك مع تضخم سطح الخلية مقارنة بتلك خلال فترة النشاط الجنسي (المنطقة الحبيبية 11%, المنطقة الحزمية 12% , المنطقة الشبكية 8%). بخصوص نتائج الوسم المناعي, هناك تعبير مستقبلات هرمون الاستروجين في المنطقة الحزمية (الراحة 56,3%, النشاط الجنسي 69,9%) أكثر من المنطقة الحبيبية (الراحة 60%, النشاط الجنسي 65,5%) والمنطقة الشبكية (الراحة 63,5%, النشاط الجنسي 64,9%) نتائجنا تدعم وجود تأثير ايجابي للاستروجين المبيضي على وظيفة الغدة الكظرية.

الكلمات المفتاح: ماعز البدوي, الغدة الكظرية, دورة جنسية, هيكل, الوسم المناعي, مستقبلات هرمون الاستروجين α .

LISTE DES FIGURES

Figure	titre	page
01	Mode d'action d'œstrogène par différentes voies de signalisation intracellulaires	04
02	Présentation schématique de l'axe Hypothalamus-Hypophyse-surrénalien	07
03	Chèvres bédouines élevées à la station expérimentale de Béni-Abbès	09
04	Variation de la hauteur tissulaire des différentes zones du cortex surrénalien au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine	22
05	Variation de la surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine	23
06	Variation de la surface cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine.	23
07	Variation de la surface cellulaire et nucléaire de la zone réticulée au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine	24

LISTES DES PLANCHES

Figure	Titre	Page
01	coupe histologique transversale au niveau de la surrénal chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction	25
02	coupe histologique transversale au niveau de la surrénal (ZG) chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction	26
03	coupe histologique transversale au niveau de la surrénal (ZF) chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction	27
04	coupe histologique transversale au niveau de la surrénal (ZR) chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction	28
05	Immunolocalisation de récepteur aux œstrogènes au niveau de l'utérus d'une souris	32
06	Immunolocalisation de récepteur aux œstrogènes au niveau de la zone glomérulée de la surrénal chez la chèvre bédouine	33
07	Immunolocalisation de récepteur aux œstrogènes au niveau de la zone fasciculée de la surrénal chez la chèvre bédouine	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre
I	Variation de la hauteur tissulaire de la surrénale chez la chèvre bédouine au cours des deux saisons
II	Différences en pourcentage et signification statistique des épaisseurs tissulaire du cortex surrénal chez la chèvre bédouine
III	Variation des surfaces cellulaire et nucléaire des trois zones du cortex surrénal chez la chèvre bédouine au cours des deux saisons
IV	Différence en pourcentage et signification statistique des trois zones du cortex surrénal chez la chèvre bédouine
V	Pourcentage du marquage de récepteur aux œstrogènes au niveau de la corticosurrénale chez la chèvre bédouine au cours du cycle sexuel.

LISTE DES ABREVIATIONS

CRF	Corticolibérine.
ACTH	Adrèno-corticotrophe.
LH	Hormone lutéinisante.
FSH	Hormone Folliculo-Stimulante.
GnRH	Gonadolibérine.
ERE	Elément de réponse à œstrogène.
ER	Récepteur a l'œstrogène
HSP	Protéines de choc thermique
E2	Œstradiol
MAPK	Protéine Kinase Mitogène-Activée
HHS	Axe Hypothalamo-Hypophyso-Surrénalien
HHG	Axe Hypothalamo-Hypophyso-Gonadique
SNC	Système Nerveux Central
AVP	Vasopressine
OT	Ocytocine
CORT	Corticostérone
PVN	Noyau Paraventriculaire
C	Cortex
ZG	Zone Glomerulée
ZF	Zone Fasciculée
ZR	Zone Réticulée
DAB	3,3'-Diaminobenzidine
PBS	Tampon Phosphate Salin
H ₂ O ₂	Peroxyde d'Hydrogène
Ac	Anticorps
RNC	Rapport Nucléo-Cytoplasmique

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
I- FONCTION SURRENALIENNE.....	2
1-Rappels anatomo-physiologiques.....	2
1-1-La médullosurrénale.....	2
1-2-La corticosurrénale.....	2
1-2-1-La zone glomerulée.....	2
1-2-2-La zone fasciculée.....	2
1-2-3-La zone réticulée.....	2
2-Regulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.....	2
3-Régulation hormonale du cycle sexuel.....	3
4-Effets des estrogènes.....	3
5-Mécanisme d'action des œstrogènes.....	5
6-Les différents types de récepteurs et leurs modes d'action.....	5
7-Interactions entre l'axe HHS-HHG.....	6
MATERIEL ET METHODES	
I- MATERIEL.....	8
1-Matériel non biologique.....	8
2-Matériel biologique.....	8
2-1-Classification Systématique.....	8
2-2-Biotope.....	9
2-3-Caractéristique biologiques générales.....	10
2-4-Caractéristiques de la reproduction de l'espèce caprine.....	10
2-5-Saison sexuelle.....	10
II- METHODES.....	11
1-Prélèvements d'organes.....	11
2-Technique histologique.....	11
3-Etude morphométrique.....	14
4-Technique immunohistochimique.....	15
5-Analyse statistique.....	17

RESULTATS

I.	STRUCTURE DU CORTEX SURRENAL AU COURS DE CYCLESEXUEL CHEZ LA CHEVRE BEDOUINE.....	20
	1-En période d'activité sexuelle.....	20
	2-En période de repos sexuelle.....	21
II.	IMMUNOLOCALISATION DE RECEPTEUR AUX ŒSTROGENES α AU NIVEAU DE LA SURRENAL CHEZ LA CHEVRE BEDOUINE AU COURS DES DEUX SAISONS DE REPRODUCTION.....	30
	1-En période de repos sexuelle.....	30
	2-En période d'activité sexuelle.....	30
	DISCUSSION	35
	CONCLUSION	39
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	41
	ANNEXES	

Chez les mammifères sahariens en particulier, l'adaptation à la vie désertique sèche et chaude se manifeste par une activité sexuelle limitée avec une période de l'année permettant la naissance des petits au moment le plus favorable (**Baddouri et al., 1985**).

Les régulations endocrino-métabolique semblent être les mécanismes clés de l'adaptation écophysiologiques adoptés par ces mammifères sahariens afin d'assurer leurs survie et pérennité dans les conditions extrêmes de leur environnement.

Le laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA) axe ses activités essentiellement sur l'écophysiologie endocrinienne et métabolique, permettant l'adaptation des mammifères vivants dans ces zones. Pour ces raisons on a choisi la chèvre bédouine vivant en zones arides comme modèle animale car c'est une espèce qui s'adapte bien aux conditions défavorables du milieu aride et présente un cycle de reproduction saisonnier. Son activité sexuelle débute au milieu d'été (juillet) jusqu'au fin de l'hiver (février). Le cycle sexuel d'une chèvre se caractérise par des modifications importantes au niveau ovarien et comportemental (**Charallah et al., 1993**).

Cette adaptation nécessite des régulations métaboliques importantes impliquant les glandes endocrines régulatrices, notamment la surrénale. Toutefois, les mécanismes moléculaires et physiologiques impliqués dans ces régulations sont loin d'être tous élucidés. Le cortex surrénal intervient en majeure partie pour assurer à la fois l'équilibre hydrominéral et le métabolisme-énergétique. Par ailleurs, les taux des hormones corticosurrénales présentent des variations saisonnières qui sont nettement corrélées avec le cycle de reproduction établi chez ces espèces. En effet, une interaction réciproque entre l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (**Rivier et al., 1986; Viau, 2002 ; Handa and Weiser, 2013**) où les hormones sexuelles agissent directement sur la surrénale (**HdbergAlm et al., 2009**).

Pour mieux comprendre, l'un des mécanismes endocriniens régulant les fonctions cortico-surrénalienne et ovariennes, nous avons procédé à une étude histologique, morphométrique complétée par une étude immunohistochimique de récepteur aux œstrogènes au niveau de la surrénale chez la chèvre bédouine *Capra hircus* au cours du cycle sexuel.

Après de brefs rappels sur les fonctions surrénalienne et ovarienne ainsi que leurs mécanismes et facteurs intervenant dans leurs régulation. Nous présenterons le matériel et technique utilisées ; Les résultats obtenus seront discutés à la lumière de la littérature et enfin une conclusion générale clôturera ce mémoire.

I. FONCTION SURRENALIENNE

1- Rappels anatomo-physiologiques

C'est une glande constituée de deux parties qui se distinguent par leur structure, leur origine embryonnaire et leurs fonctions, la médullosurrénale centrale et la corticosurrénale périphérique (**Folligan et al., 2005**).

1.1- Médullosurrénale : cette région d'origine neuro-ectoblastique est formée de cellules chromafines considérées comme neurone post-ganglionnaire du système nerveux sympathique. Ces cellules chromafines sont responsables de la synthèse des catécholamines, en particulier l'adrénaline et la noradrénaline, dans les conditions de stress physique. Les catécholamines jouent un rôle important dans la physiologie du système cardiovasculaire et dans le métabolisme des glucides et des lipides.

1.2- Corticosurrénale : est issue du mésoderme. Les trois zones qui constituent la corticosurrénale sont de la plus externe à la plus interne (**Rainey, 1999**) :

1.2.1- Zone glomérulée : constituée de petites cellules disposées en amas sphériques séparés par un fin réseau conjonctif. Ces cellules sécrètent les minéralo-corticoïdes (aldostérone et désoxy-corticostérone) qui jouent un rôle important dans la régulation du métabolisme hydrominéral.

1.2.2- Zone fasciculée : la plus épaisse du cortex, est formée par de grandes cellules à noyau rond et des nucléoles bien visibles. Organisées en long cordons parallèles. Elle est responsable de la synthèse des glucocorticoïdes notamment le cortisol et la corticostérone qui régulent le métabolisme énergétique.

1.2.3- Zone réticulée : ses cellules sécrètent les stéroïdes sexuels.

2- Régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien

Les neurones parvocellulaires de l'hypothalamus sécrètent la corticolibérine (CRF) (**Vale et al., 1981**). La CRF constitue le premier élément de l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Elle stimule la synthèse et la libération de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) de l'hypophyse antérieure (**Rivier et al., 1983 ; Abou-Samra et al., 1987**). L'ACTH active le cortex surrénalien et stimule ainsi la synthèse et la libération des glucocorticoïdes, soit la corticostérone chez le rat. Les glucocorticoïdes circulants régulent l'utilisation de l'énergie et inhibent la libération de CRF et d'ACTH par une rétroaction négative (Figure01) (**Dallman et al., 1994**). La corticostérone peut être utilisée comme un biomarqueur de stress,

puisque'il est bien connu que le stress active l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (**Herman et al., 1996; Sawchenko et al., 2000**).

3- Régulation hormonale du cycle sexuel

La production des œstrogènes par les ovaires est contrôlée par les hormones hypophysaires LH et FSH, sous contrôle de la GnRH libérée par l'hypothalamus. La LH va augmenter la synthèse des œstrogènes à partir du cholestérol, lors de la phase lutéale du cycle ovarien, via la stimulation de l'expression des enzymes responsables de la conversion du cholestérol en progestérone et androstenedione. Par ailleurs, la FSH agit sur les cellules folliculaires granulaires, en y augmentant l'aromatation des androgènes en œstrogènes (**Poutanen et al., 1995; Simpson et al., 2000**).

4- Effets des œstrogènes

Les œstrogènes se fixent sur des récepteurs nucléaires spécifiques α et β des cellules des organes cibles, induisant une importante action sur l'organisme :

- ❖ ils sont responsables, au cours du cycle ovarien, du comportement d'œstrus et induisent la prolifération de la muqueuse vaginale, l'endomètre et les mamelles.
- ❖ lorsque les concentrations plasmatiques d'œstradiol atteignent un certain seuil, ils exercent un rétrocontrôle positif sur l'hypophyse et l'hypothalamus, qui est responsable du pic pré ovulation de LH induisant l'ovulation.
- ❖ Leurs actions métaboliques s'exercent principalement sur la température (hypothermisants) sur l'os avec rétention importante de calcium et sur le rein : rétention d'eau et de sodium (**Gayrard, 2007**).
- ❖ maintien des caractères physiques féminins.

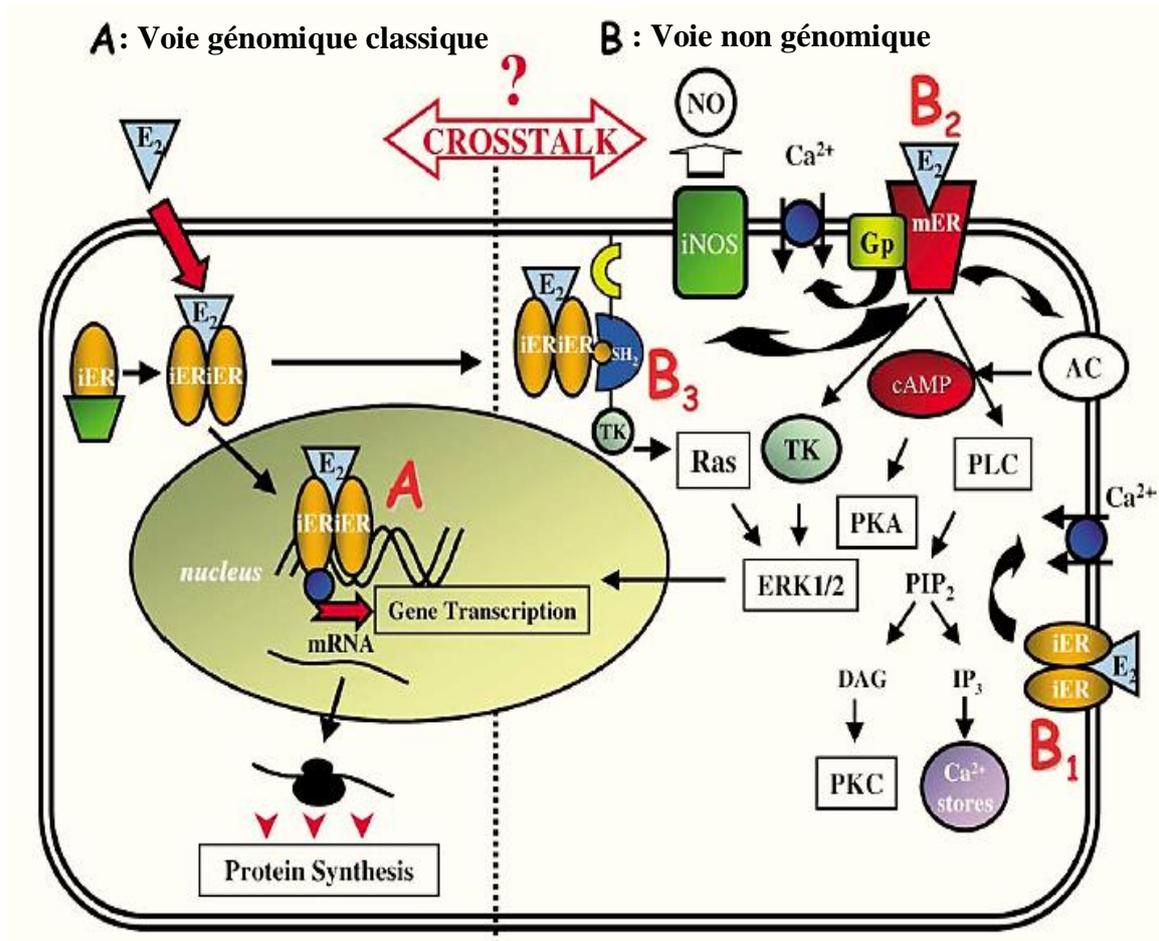


Figure 01 : mode d'action d'œstrogène par différentes voies de signalisation intracellulaires (Luconi et al., 2002)

E2 : estrogens;

mER : membrane ER;

iNOS : inducible nitric oxide synthase;

TK : tyrosine kinases;

SH2: Src homology domain;

PKA : protein kinase A;

IP3: inositol 3-phosphate;

cAMP: cyclic adenosine monophosphate;

iER : classical cytosolic/nuclear ER;

Gp : G protein;

NO : nitric oxide;

AC: adenylate cyclase;

PLC: phospholipase C;

DAG: diacylglycerol;

PKC: protein kinase C;

PIP2: phosphatidylinositol bisphosphate;

5- Mécanisme d'action des œstrogènes

Les récepteurs aux œstrogènes peuvent agir selon deux mécanismes différents. Le premier permet de réguler la transcription des gènes cibles par le biais de fixation du récepteur intracellulaire a son élément de réponse aux œstrogènes [ERE] au sein du promoteur de gène cible, ou par des interactions protéines-protéines. Le second mécanisme est non-génomique.

Les stéroïdes, agissent par l'intermédiaire de récepteur membranaires, entraînent une cascade de réaction dont des phosphorylations et modulent des fonctions physiologiques rapide telle que la régulation du flux calcique (**Simoncini et al., 2000**) (figure01).

Voie A : est la voie de signalisation génomique classique, les propriétés lipophiles des œstrogènes leur permettent de traverser la membrane plasmique des cellules, les œstrogènes se lient aux ERs, modifient leur conformation par phosphorylation et libèrent ainsi les HSP (**Wiegel, 1996**). Cette liaison du ligand révèle un domaine d'adressage nucléaire sur le récepteur et le complexe est alors transloqué dans le noyau. Après dimérisation avec un autre complexe, il va pouvoir se fixer sur une séquence consensus palindromique (AGGTCA nnn TGACCT) d'ADN située au niveau du promoteur de certains gènes œstrogéno-dépendants au ligand.

Voie B : est la voie de signalisation non génomique de l'E2, elle a été rapportées dans différentes lignées cellulaires et font intervenir notamment un changement de concentration intracellulaire en Ca^{++} (B_2) (**Lieberherr et al., 1993 ; Doolan et Harvey, 2003**) puis une cascade de phosphorylation au niveau du cytoplasme par voie des enzymes de type Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK) (B_3) (**Falkenstein et al., 2000**). La voie **B₁** sera médiée par un récepteur membranaire.

6- Les différents types de récepteurs et leurs modes d'action

Les récepteurs des œstrogènes ER α et ER β sont exprimés au niveau des glandes mammaires, des os, de l'utérus, des poumons, des testicules, de la prostate, de l'épididyme et des organes des systèmes nerveux et cardiaque (**Couse et al., 1999; Nilsson et al., 2001**).

Les récepteurs des œstrogènes ER α et ER β sont des récepteurs stéroïdiens (**Tsai et al., 1994**). Plus globalement, ces récepteurs sont des récepteurs nucléaires : des facteurs de transcription dont l'activité est sous la dépendance d'un ligand.

L'œstrogène traverse la membrane plasmique et se lie au récepteur ER α ou ER β , provoquant un changement de conformation de ce récepteur. Ce dernier lié à l'hormone, est libéré du complexe inhibiteur, dimérise et va lier son élément de réponse en amont de ses gènes cibles. (**Adaptee de Boghoget *al.*, 2007**).

7- Interactions entre l'axe HHS-HHG

Interactions bidirectionnelles entre l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) et hypothalamo-hypophyso-gonadique (HHG) (**Rivier *et al.*, 1986; Viau, 2002; Handa and Weiser, 2013**).

Il est bien établi que le stress active l'axe HHS et inhibe la fonction de l'axe HHG. Une grande littérature traitant de divers facteurs de stress qui régulent l'hormone de libération des gonadotrophines (GnRH) dans une variété d'espèces (y compris les primates non humains, les moutons et les rats) fournit la preuve que le stress module la sécrétion de GnRH en activant la libération de corticotrophine (CRF). Différents facteurs de stress peuvent supprimer l'axe HHG en activant ou en inhibant différentes voies dans le SNC.

Plusieurs études ont rapporté l'implication de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) dans le contrôle de l'équilibre homéostatique hydrominéral et l'influence des œstrogènes sur la modulation de ce système.

On suggèrent que E2 a un rôle important dans la modulation de réponses comportementales et neuroendocriniennes impliqués dans le maintien de l'homéostasie du fluide corporel (**Almeida-Pereira *et al.*, 2013**).

Plusieurs études ont montré que l'E2 a un effet stimulant sur la sécrétion d'AVP et l'OT (**brunette et Leclerc, 2001**).

En parallèle avec l'hypersécrétion de la corticostérone (CORT), l'œstradiol augmente la sécrétion d'ACTH et l'expression de l'ARNm de la CRF dans le PVN (**Viau et Meaney, 1991 ; Silva *et al.*, 2010**) (Figure 02).

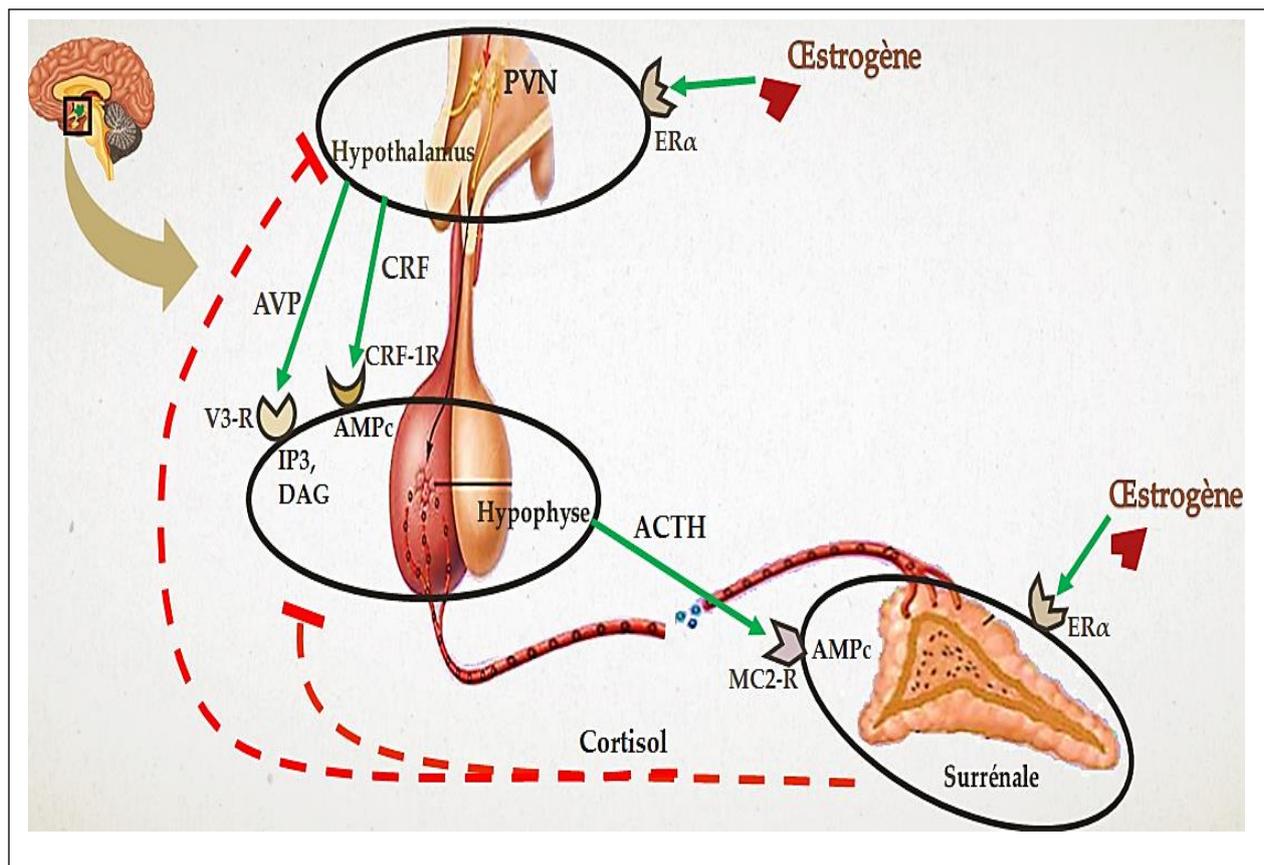


Figure 02 : Présentation schématique de l'effet des œstrogènes sur l'axe Hypothalamo-Hypophysaire-surrénalien (**Panagiotakopoulos L., et Neigh 2014**) (modifié)

Un signal initial à partir des noyaux hypothalamiques descend via le flux sanguin portant à l'hypophyse antérieure et stimulent la production et la sécrétion d'ACTH. À son tour, l'ACTH provoque la production de cortisol de la zone fasciculée. Rétroaction négative de cortisol exercée aux niveaux des corticotropes de l'hypophyse antérieure et des noyaux hypothalamiques.

Les signaux stimulateurs sont représentés par des **flèches vertes** et les signaux inhibiteurs de **lignes rouges en pointillés**. **CRF**:corticolibérine, **AVP**: vasopressine; **CRF-1R**:corticolibérineReceptor 1; **V3-R**: La vasopressine Receptor 3; **MC2-R**:MelanocortinReceptor 2.

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA) à Alger sur une période étalée sur 06 mois (de mars au mois de septembre 2015). L'ensemble des échantillons utilisés (glandes surrénale) ont été récupérés au niveau des l'abattoir municipale de Béni Abbès et Abadla, depuis 2011 et 2013, sur des chèvres bédouines cycliques et étudiés par techniques histologique, morphométrique et immunohistochimique.

L'intérêt de notre travail est de voir la structure cortico-surrénalienne au cours des deux saisons de reproduction (œstrus saisonnier et anœstrus), par une étude structurale et morphométrique de la cortico-surrénale et l'évaluation des variations de l'expression du récepteur aux œstrogènes α (ER α) par immuno-histochimie au niveau de la surrénale **Holmes-Pegler (1966), Babo (2000) et Fantazi, (2004).**

II.1- MATERIEL

II.1.1-Matériel non biologique

L'ensemble du matériel non biologique utilisé dans ce travail est présenté en annexe (1)

II.1.2-Matériel biologique

Notre étude a été réalisée sur 10glandes surrénales récupérées sur des chèvres bédouine (figure 03), cycliques adultes dont 5 en œstrus saisonnier prélevées au mois se novembre et 5 en anœstrus prélevées en mois de mai. Ces chèvres ont été sacrifiées au niveau de l'abattoir municipale de Béni-Abbès et Abadla (90 km au sud-ouest de Béchar et 150 km au nord-ouest de Béni Abbès, Superficie: 2 870 km²)

1.2.1 Classification Systématique :

Selon la chèvre bédouine dont le nom scientifique *Capra hircus* appartient à :



Figure 03 : Chèvres bédouines élevées à la station expérimentale de Béni-Abbès(**Chakhma, 2013**)

- **L'embranchement** des vertèbres du règne animal.
- **Classe** : Mammifères.
- **Sous classe** : Placentaires.
- **Super ordre** : Ongulés.
- **Ordre** : Artiodactyles. (Ruminants et Porcins)
- **Sous ordre** : Ruminants.
- **Famille** : Bovidae.
- **Sous famille** : Caprinés.
- **Genre** : Capra.
- **Espèce** : *Capra hircus*.

Synonyme et nom usuel de l'espèce saharienne (**in Le Berre, 1990**) : Capra aegagrus Erxleben, 1777; Chèvre bédouine.

1.2.2 Biotope

La région de Béni-Abbès se situe à 240km au sud-ouest de Béchar, (30°7'N, 2°10' O; 498m d'altitude). Elle regroupe différents paysages typiquement sahariens : l'Erg, la Hamada et l'oued. C'est une région caractérisée par un climat aride de type désertique chaud (**Petter, 1961**) (précipitations moyennes inférieures à 25 mm/an et températures extrêmes), la température moyenne annuelle avoisine 22°C ; le mois le plus froid est janvier et les mois les plus chauds sont juillet et août. Le degré hygrométrique de l'air ou d'humidité est également faible (16 à 22% en été, 40 à 60% en hiver). La photopériode longue est égale 14 heures d'éclairement en été (juin) et à 10 heures en hiver (décembre).

La végétation de Béni-Abbès est qualifiée de saharo-méditerranéenne. Elle est dans l'ensemble très lâche, caractérisée par la pauvreté du nombre d'espèces qui ne dépasse pas 250 (**BENHOUGHOU et SAADOUN, 1986**). Cette végétation est confirmée par **CHARALLA (2002)**.

1.2.3 Caractéristique biologiques générales

La chèvre, premier ruminant domestiqué, constitue en raison de sa rusticité, le troupeau dominant des bédouins et des nomades. **Le Berre en 1990**, en rapporte les caractéristiques générales dans un ouvrage traitant de la Faune du Sahara.

De petite taille, son poids varie de 15 à 30 kg chez la femelle et 20 à 50 Kg chez le mâle. La tête porte des cornes recourbées en arrière et enroulées en spirales lâches; la queue est courte et souvent dressée, les oreilles généralement tombantes, et le corps est revêtu de long poils dont la couleur est souvent noire, parfois tachée de blanc ou de marron. Le dimorphisme sexuel réside dans les cornes plus développées chez le mâle que la femelle. Espèce herbivore, elle consomme toutes les parties accessibles et

disponibles des végétaux aussi bien frais que secs. Les capacités d'assimilation des végétaux peu nutritifs (riches en fibres et pauvres en glucides et protides), en l'absence d'eau, en font un des mammifères les mieux adaptés aux conditions désertiques. La chèvre peut rester deux à trois jours sans boire, ce qui lui permet d'exploiter des pâturages inaccessibles aux bovins et aux ovins. La taille adulte est atteinte vers l'âge de huit mois et la maturité sexuelle à deux ans. En bergerie expérimentale, dans la région de Béni-Abbès, la puberté serait plus précoce chez le mâle que chez la femelle (**Mouffok, 1998**). La durée de la gestation est en moyenne de cinq mois (142 à 162 j) avec un à deux chevreaux par portée; la longévité est de l'ordre d'une vingtaine d'années (*in* **Le Berre, 1990**).

1.2.4 Caractéristiques de la reproduction de l'espèce caprine

La chèvre présente des spécificités propres, tant sur le plan du déroulement des cycles sexuels que sur le plan de l'endocrinologie. La physiologie de la reproduction de la chèvre représente toujours le bon modèle expérimental chez les ruminants (**Beckers et al., 2001**).

1.2.5 Saison sexuelle

Dans les régions tempérées, la chèvre est une espèce polyœstrienne saisonnière. Le moment et la durée de la saison sexuelle dépendent de plusieurs facteurs : la race, l'état physiologique et la présence du mâle (**Beckers et al., 2001**). La période d'activité sexuelle débute en septembre, atteint son intensité maximum vers la mi-October et se poursuit jusqu'à la fin Décembre (**Dérivaux, 1971**). Chez notre espèce, l'activité sexuelle femelle est ainsi caractérisée par un anœstrus saisonnier d'une durée moyenne de 143 jours, qui s'étale de la fin de l'hiver au milieu de l'été où s'observe la reprise des cycles ovariens d'une durée moyenne de 21 jours, avec une activité intense en automne (**Charallah, 1994**); le cycle de reproduction de la femelle est superposé à celui du mâle où l'activité endocrine du testicule, corrélée au volume testiculaire et au poids corporel, est maximum en été-automne et minimale en hiver-printemps (**Lakhdari, 2001**).

II.2- METHODES

II.2.1- Prélèvements d'organes

Les prélèvements des glandes surrénales ont été effectués sur un lot de 10 femelles cycliques, 5 femelles en œstrus saisonnier et 5 femelles en anœstrus qui sont récoltées au moment de l'abattage. Juste après le sacrifice, les glandes surrénales sont rapidement prélevées, débarrassées du tissu adipeux et pesées séparément, puis

rapidement plongées dans le fixateur para formaldéhyde à 10% en vue d'une étude histologique, morphométrique et immunohistochimique.

II.2.2- Technique histologique

La confection des coupes histologiques, permet l'observation des tissus au microscope photonique après une coloration spécifique. Elles comportent plusieurs étapes, rapportées essentiellement dans **Martoja et Martoja (1967) et Gabe (1968)**.

II.2.2.1- Fixation

C'est une étape primordiale, elle permet d'immobiliser et conserver les structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible du vivant. L'agent fixateur solidifie le gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire limitant le hyaloplasme et les organites. Elle est une étape importante dans la réalisation des techniques de préparation des échantillons histologiques et immunohistochimique.

Les organes ou le fragment tissulaire sont plongés dans un volume de formaldéhyde environ 60 fois supérieur à celui de l'organe, pendant 24 heures. Après fixation, sont transférés dans un liquide conservateur (Alcool 70°) jusqu'à l'étape suivante. Chaque pièce est accompagnée d'une étiquette portant toutes les indications utiles.

II.2.2-2-Inclusion

L'inclusion a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières.

II.2.2.2.1- Déshydratation

La déshydratation a pour but d'éliminer l'eau des tissus à fin d'être remplacée par la paraffine car ce dernier est hydrophobe. Les cassettes contenant le fragment tissulaire à étudier sont mises dans cinq bains successifs d'éthanol de degrés croissants, jusqu'à l'absolu : 70° (1bain), 96° (2bains), 100° (2bains) pendant 30 minutes pour chacun. La paraffine étant insoluble dans l'eau et soluble dans les hydrocarbures benzéniques, benzène, toluène, xylène ou butanol.

II.2.2.2.2- Eclaircissement

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

II.2.2.2.3- Imprégnation à la paraffine

Cette étape consiste à éliminer le butanol et le remplacer par la paraffine. Les fragments tissulaires sont placés successivement dans trois bains dans l'étuve à 58°C :

- le premier bain est composé de butanol-paraffine (v/v) pendant 1 heure,
- les deux autres bains composés de paraffine pure (La durée du premier bain est de 4 heures, le second bain reste une nuit).

II.2.2.2.4- Mise en bloc de paraffine

Dans cette étape, on a utilisé des moules en 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 sur une plaque réfrigérée. Environ 15 min plus tard, le bloc est complètement durci. Détaché du moule, il est prêt à être débité au microtome selon l'épaisseur désirée.

II.2.2.3-Confection des coupes

D'abord, on installe le bloc sur le microtome réglé préalablement à 20µm, à fin d'éliminer le surplus de paraffine, et on commence le rabotage. Lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupes, on ajuste l'échelle à 5µm pour obtenir des coupes fines sous forme de rubans.

II.2.2.4- Etalement des coupes

À l'aide d'un crayon, les indications de l'organe sont écrites sur la lame correspondante. On dépose les rubans obtenus sur des lames contenant de l'eau distillée à l'aide d'aiguilles, sur plaque chauffante chauffée à 40°C. Après étalement des coupes, les lames sont mises dans l'étuve à 37°C pendant une nuit pour augmenter l'adhérence des coupes.

II.2.2.5- Coloration

Elle a pour but d'établir le contraste naturel des coupes et de rendre les différents constituants cellulaires et tissulaires plus évidents. La coloration topographique effectuée est Trichrome de Masson.

Avant la coloration, on doit enlever la paraffine et réhydrater les coupes. On utilise le toluène pour le déparaffinage (2 bains de 5 min). Le passage dans les alcools de degré décroissant (100° 2 bains, 96° 1 bain et 70° 1 bain) pendant 5 min chacun permet la réhydratation.

Le Trichrome de Masson (fiche technique - Annexe 1) met en évidence les éléments du tissu conjonctif en particulier le collagène en vert, le noyau en noir et le cytoplasme en rouge.

II.2.2.6- Montage et observation

Une fois colorées, les lames doivent passer dans des bains d'alcool de concentration croissante (70°,96°,100°), un bain chacun pendant 5min, de façon à éliminer l'eau restante dans les coupes et enfin dans 2 bains de toluène pendant 5min. Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une substance appropriée (Eukitt) au colorant utilisé, une lamelle de verre sur l'échantillon histologique. Nettoyées au toluène et enfin observées au microscope photonique Optika. Les photographies, figurant dans ce mémoire, sont prises à l'aide d'un photomicroscope de marque Première MA88-500, à différents grossissements.

II.2.3- Etude morphométrique

Pour estimer l'état physiologique du cortex surrénal nous avons conçu des paramètres. Grâce à un logiciel d'analyse et de traitement d'image Axio vision Rel 4.8 développées par la société Cal Zeiss. Ce système d'analyse d'image est étalonné à l'aide d'une lame micrométrique graduée au micromètre (μm) afin d'obtenir des mesures concernant :

- les hauteurs tissulaires du cortex entier et les différentes zones (C, ZG, ZF, ZR).
- surface cellulaire, surface nucléaire et rapport nucléo-cytoplasmique des zones corticosurrénales. Le rapport nucléo-cytoplasmique calculé de la façon suivante :

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

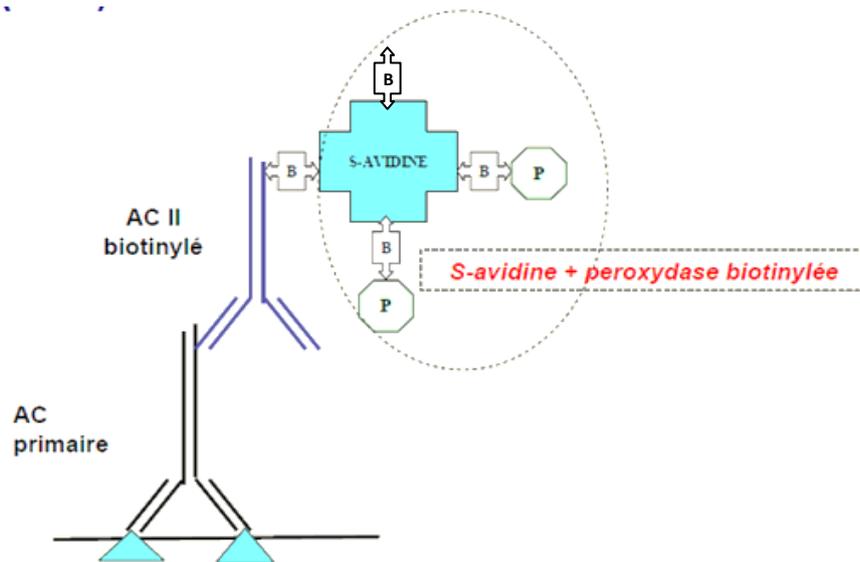
II.2.4- Technique immunohistochimique

II.2.4.1- But

C'est une technique d'analyse permettant de détecter et localiser une protéine en utilisant un anticorps spécifique contre un antigène que l'on veut étudier. La révélation se fait en générale par méthode colorimétrique, l'intensité de la coloration étant proportionnelle au niveau d'expression de la protéine, c'est une technique qualitative.

II.2.4.2- Principe

Nous avons utilisés une méthode indirecte, complexe Avidine-Biotine-Peroxydase qui consiste à amplifier le marquage par un système de révélation composé d'un anticorps secondaire biotinylé lié à une molécule porteuse d'une enzyme qui est l'Avidine peroxydase qui peut lier deux molécules de chromogène diabenzidine (DAB) ce qui donne une coloration brunâtre.



II.2.4.3- Protocole

- ① Préparation des lames par la technique histologique (voir technique d'histologie jusqu'au séchage des lames dans l'étuve).
- ② Avant de commencer l'immuno-réaction, on doit déparaffiner et hydrater les coupes dans des bains d'alcools décroissant, puis rincées au PBS.

Pour le test positif, on a utilisé un utérus d'une souris pour confirmer la spécificité de l'anticorps anti ER α .

Les différentes étapes sont les suivantes :

- ❖ Pour démasquer les sites antigéniques : immerger les coupes dans une solution tampon citratée (PH=6), et incuber sous pression (chaleur) dans une cocotte-minute pendant 1min (**photo 1**)
- ❖ Rinçage au PBS pendant 5min.
- ❖ Blocage des peroxydases endogènes en incubant les coupes dans un mélange PBS + peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ 3%) pendant 30 min (**photo 2**)
- ❖ Rinçage au PBS (x2) pendant 3min.
- ❖ Les coupes sont entourées avec une résine hydrophobe (Dakopen) et placées dans une chambre humide.
- ❖ Blocage des sites non spécifiques en ajoutant le sérum à cheval (kit Vectastain), et incuber pendant 60min à température ambiante avec faible agitation (**photo 4**)
- ❖ Blocage des biotines endogènes par le kit de blocage (Avidine/ Biotin Blocking Kit) pendant 40min.

-
- ❖ Appliquer sur les coupes (le témoin positif et le test positif) l'anticorps primaire anti récepteur aux œstrogènes monoclonal (ER α C-311 : sc-787, Santa Cruz), produit chez la souris, dilué au 1/50 dans le PBS, et incuber pendant une nuit en chambre humide à 4°C (**photo 6**). Sur les coupes qui sont utilisées comme témoins négatifs, l'anticorps primaire est remplacé par le PBS.
 - ❖ Rinçage au PBS (x2) pendant 5min (**photo 7**).
 - ❖ Application de l'anticorps secondaire anti-lapin biotinylé (kit Vectastain), produit chez le cheval, et incuber pendant 60 min à température ambiante avec faible agitation (**photo 8**).
 - ❖ Rinçage au PBS (x2) pendant 5min.
 - ❖ L'ajout du complexe Avidine-Peroxydase (kit Vectastain), et incuber pendant 30min à température ambiante (**photo 9**).
 - ❖ Rinçage au PBS (x2) pendant 5min (**photo 10**).
 - ❖ Le chromogène utilisé DAB (3,3 diamino-Benzidine). Le mélange tampon (DAB Substrate-Roche) + DAB est ajouté sur les coupes, laissé de 1 à 3min selon le contrôle de l'immunomarquage observé sous microscope optique.
 - ❖ Rinçage au PBS pendant 3min.
 - ❖ Contre coloration à l'hématoxyline de Mayer pendant 1min (**photo 11**).
 - ❖ Rinçage à l'eau du robinet pendant 2min.
 - ❖ Déshydratation des coupes dans des bains d'alcool à concentration croissante (70°, 96°, 100°) un bain chacun pendant 5min, et éclaircissement dans 2 bains de toluène pendant 5min.
 - ❖ Montage des lames avec lamelles par l'Eukitt (**photo 12**).
 - ❖ Après le séchage des lames à l'air, sont observées au microscope Optika (**photo 13**).



Photo 1 : Démasquage antigénique.

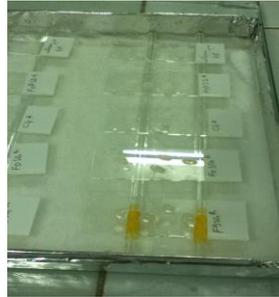


Photo 2 : Blocage de peroxydase endogène par H₂O₂.



Photo 3 : Agitation

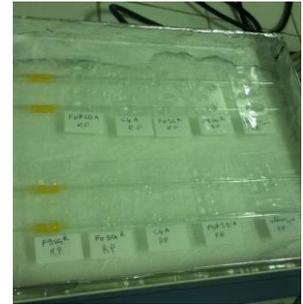


Photo 4 : Blocage des sites non spécifique par sérum à cheval.



Photo 5 : Préparation de l'Ac Iair.

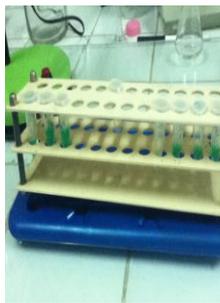


Photo 6 : l'ajout de l'Ac Iair.



Photo 8 : l'ajout de l'Ac II air.



Photo 9 : l'ajout de l'Avidine-Peroxydase.



Photo 11 : Contre coloration à l'hématoxyline.



Photo 12: Montage des lames.



Photo 13 : Observation au microscope Optika.

II.2.4.4- Quantification des cellules marquées

On a pris 10 champs (Gr X400) dans chaque zone corticale, ont été analysés et évalués séparément dans chaque section, on mesurant 100 cellules (marquées + non marquées) qui présente 100%.

Totalité des cellules —————> 100%

Cellules marquées —————> % du marquage.

On a établi un score comme suite (**Benmouloud et al., 2014**) :

- Marquage négatif (-), si aucune cellule est marquée.
- Marquage faiblement positif (+), si <25% des cellules sont marquées.
- Marquage modéré (++), si >25% des cellules sont marquées.
- Marquage intense (+++), si >50% des cellules sont marquées.

II.2.5- Analyse statistique

Pour chaque saison (œstrus et anœstrus) nous avons calculée la moyenne arithmétique (\bar{X}) des valeurs individuelles et l'erreur standard à la moyenne (\bar{X}) \pm **ESM**.

II.2.5.1- Moyenne arithmétique (\bar{X}) des valeurs individuelles

$$\bar{X} = \frac{\sum xi}{N}$$

$\sum xi$: somme des valeurs individuelles.

N : nombre de valeurs.

II.2.5.2- Erreur standard à la moyenne (ESM)

$$ESM = \frac{\delta}{\sqrt{N}} \quad \text{Avec écart type } (\delta) = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{X})^2}{N}}$$

xi : valeurs individuelles.

N : nombre de valeurs.

\bar{X} : moyenne des valeurs individuelles.

II.2.5.3- Validité statistique

Sachant que notre échantillon est non apparié (indépendant), la validité statistique des différences entre deux moyennes est calculée par le test t de Fisher-Student en utilisant le logiciel Statistica.

$$\text{Variance totale : } S^2 = \frac{(N_1 \times \delta^2_1) + (N_2 \times \delta^2_2)}{(N_1 + N_2) - 2}$$

δ : écart type ; N : nombre de valeurs.

$$\text{Test de Student : } t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{S \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}}$$

\bar{X}_1 et \bar{X}_2 sont les moyennes à comparer.

N : nombre de valeurs pour chaque moyenne.

S : écart type.

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 inférieur à 5%.

Si $p > 0,05$: la différence n'est pas significative (ns)

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 (***)

II.2.5.4- Différence en pourcentage entre les zones du cortex

Différence en % = ((repos-activité) / activité) x 100

II.2.5.5- Pourcentage des zones du cortex

Épaisseur du cortex surrénalien (μm) \longrightarrow 100 %

Épaisseur de la zone corticale (μm) \longrightarrow X %

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

Les résultats obtenus dans ce travail concernant l'étude de la structure cortico-surrénalienne au cours des deux saisons de reproduction chez la chèvre bédouine (*Capra hircus*) femelle adulte. Ces résultats seront présentés en deux parties, la première rapporte l'histologie et la morphométrie du cortex en période d'œstrus saisonnier et en période d'anœstrus ; la deuxième sur l'immunolocalisation des récepteurs aux œstrogènes (ER α) au niveau de la surrénal.

Les tableaux des valeurs individuelles sont insérés dans le chapitre Annexe (tableau I - IV). Alors que les valeurs moyennes sont présentées dans des tableaux récapitulatifs et inclus dans le texte de ce chapitre.

I. STRUCTURE DU CORTEX SURRENAL AU COURS DE CYCLE SEXUEL CHEZ LA CHEVRE BEDOUINE

1. Période d'activité sexuelle (œstrus saisonnier)

En coupe histologique, la glande surrénal de la chèvre bédouine apparaît de forme allongée entourée d'une capsule conjonctive; et est constituée de deux parties bien distinctes, une médulla centrale et un cortex périphérique, ce dernier est de $1339,74\mu\text{m} \pm 27,4$ d'épaisseur et est subdivisé en trois couches sous jacentes. On note la présence de nombreux noyaux apoptotique qui apparaissent sombres et déformés.

-Capsule conjonctive : composée de fibres de collagènes, son épaisseur est de $71,1\mu\text{m} \pm 3,29$, elle est richement vascularisée, envoyant des prolongements dans le parenchyme glandulaire.

-Zone glomérulée: cette région est basophile, son épaisseur est de $190,5\mu\text{m} \pm 4,87$ (planche 01, Tableau I, II, Figure 04), avec un pourcentage de 14,22% par rapport à la totalité du cortex. Les cellules sont de forme pyramidale parfois allongée regroupées en nids donnant l'aspect d'un cordon arciforme nettement délimité par le tissu conjonctif. Le fort grossissement révèle que ces cellules sont de petite taille par rapport à celles des autres zones. La surface cellulaire est de $54,5\mu\text{m}^2 \pm 0,72$. Les noyaux sont claires avec un à deux nucléoles, d'une surface de $21,12\mu\text{m}^2 \pm 0,29$ et le RNC est de $0,68 \pm 0,01$ (Tableau III, IV, Figure 05, planche 02 C).

-Zone fasciculée: C'est la région la plus développée du cortex surrénal, son épaisseur est de $928,38\mu\text{m} \pm 24,34$ avec un pourcentage de 69,30% (Tableau I, II, Figure 04). Les cellules sont de taille $59,64\mu\text{m}^2 \pm 0,81$, rectangulaire et disposées en cordons parallèles présentant des noyaux plus ou moins arrondis très claires, mesurant $20,91\mu\text{m}^2 \pm 0,26$ et le RNC $0,58 \pm 0,008$. En revanche, Le cytoplasme est acidophile avec absence de l'aspect spongiocytaire (Tableau III, IV, Figure 06, planche 03 E).

-Zone réticulée: C'est la région adjacente à la médulla, son épaisseur est très irrégulière 224, 38 $\mu\text{m} \pm 5,51$ avec un pourcentage de 16,75% (Tableau I, II, Figure 04). Les cellules réticulaires sont de taille 55,78 $\mu\text{m}^2 \pm 0,85$, disposées en cordon anastomosés infiltrés du tissu conjonctif, leur forme est arrondie. Les noyaux sont clairs mesurant 19,8 $\mu\text{m}^2 \pm 0,26$ de surface avec présence de un à deux nucléoles ; le RNC 0,6 $\pm 0,008$ (Tableau III, IV, Figure 07, planche 04 G).

2. Période de repos sexuel (anœstrus saisonnier)

L'organisation structurale globale du cortex surrénal, en repos sexuel, est identique à celle de l'activité, avec 1775,89 $\mu\text{m} \pm 66,3$ d'épaisseur. Le cortex est plus développé comparé à celui d'activité sexuel avec une différence hautement significative (+32,6%, $p < 0,001$) (Tableau I, II, Figure E 04). En effet, on note une variation morphométrique en faveur de la période de repos sexuel.

- **Capsule conjonctive** : est très significativement augmentée par rapport à celles d'activité (+36,08%, $p = 0,004$), avec 96,76 $\mu\text{m} \pm 7,92$ d'épaisseur.

- **Zone glomérulée** : est significativement hypertrophiée par rapport à celles d'activité (+11,8%, $p = 0,002$), avec 212,97 $\mu\text{m} \pm 5,31$ d'épaisseur et 11,99% de pourcentage. Possédant également des cellules de grande taille, par rapport à celles d'activité, de forme allongée ; avec 60,64 $\mu\text{m}^2 \pm 0,88$ de surface et une différence hautement significative à celle d'activité (+11,81%, $p < 0,001$), les noyaux sont clairs avec une surface de 22,83 $\mu\text{m}^2 \pm 0,23$ et une différence de +8,08% ($p < 0,001$) par rapport à celles d'activité. Le RNC est de 0,7 $\pm 0,01$ et présente une différence non significative avec celui de l'activité (+4,05% ; $p = 0,1$) (Tableau I - IV, Figure 04,05, planche 02 D).

- **Zone fasciculée** : au niveau de la zone fasciculée, on remarque une hauteur tissulaire très développée par rapport à l'activité avec 1254,5 $\mu\text{m} \pm 58,04$ d'épaisseur et une différence hautement significative par rapport à la période d'activité (+35,13%, $p < 0,001$) et un pourcentage de 70,64% par rapport au cortex. Les cellules sont hypertrophiées avec une surface de 66,92 $\mu\text{m}^2 \pm 0,8$ comparées à celle d'activité avec une différence hautement significative (+12,22% ; $p < 0,001$). Les noyaux sont clairs, présentant un à deux nucléoles, avec une taille de 21,55 $\mu\text{m}^2 \pm 0,21$. En effet, la différence de surface des noyaux entre les deux périodes n'est pas significative (+3,09%, $p = 0,05$). Le RNC est de 0,5 $\pm 0,08$ et la différence est hautement significative (-10% ; $p < 0,001$) (Tableau I-IV, Figure 04, 06, planche 03 F).

- **Zone réticulée:** L'épaisseur de cette zone est de $311,03\mu\text{m} \pm 12,59$ et 17,51% de pourcentage par rapport à l'épaisseur du cortex. La hauteur de cette zone est également développée par rapport à celle d'activité avec une différence hautement significative (+38,61%, $p < 0,001$). Toutefois, la surface des cellules et des noyaux réticulaire sont respectivement $60,3\mu\text{m}^2 \pm 0,73$, $22,13\mu\text{m}^2 \pm 0,24$. Ces derniers sont hypertrophiées par rapport à celle d'activité (+8,12%, +11,76%, $p < 0,001$). Le RNC est de $0,64 \pm 0,01$ avec une différence très significative +7,55% ; $p = 0,0013$ (Tableau I - IV) (Figure 04,07, planche 04 H).

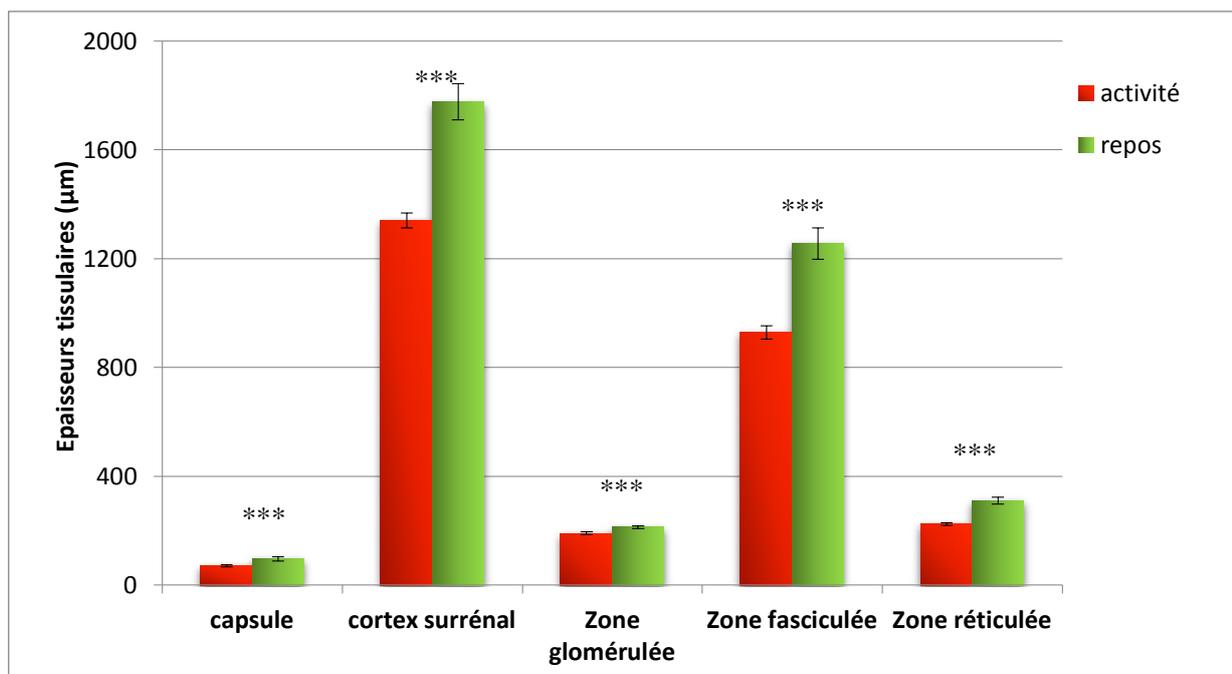
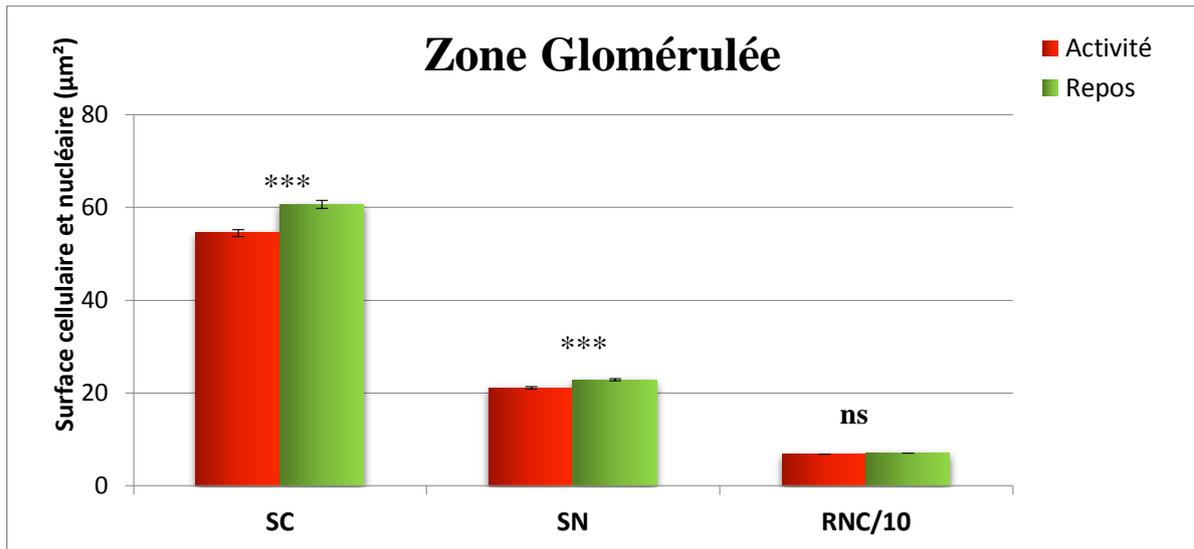


Figure 04 : variation de la hauteur tissulaire des différentes zones du cortex surrénalien au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine.

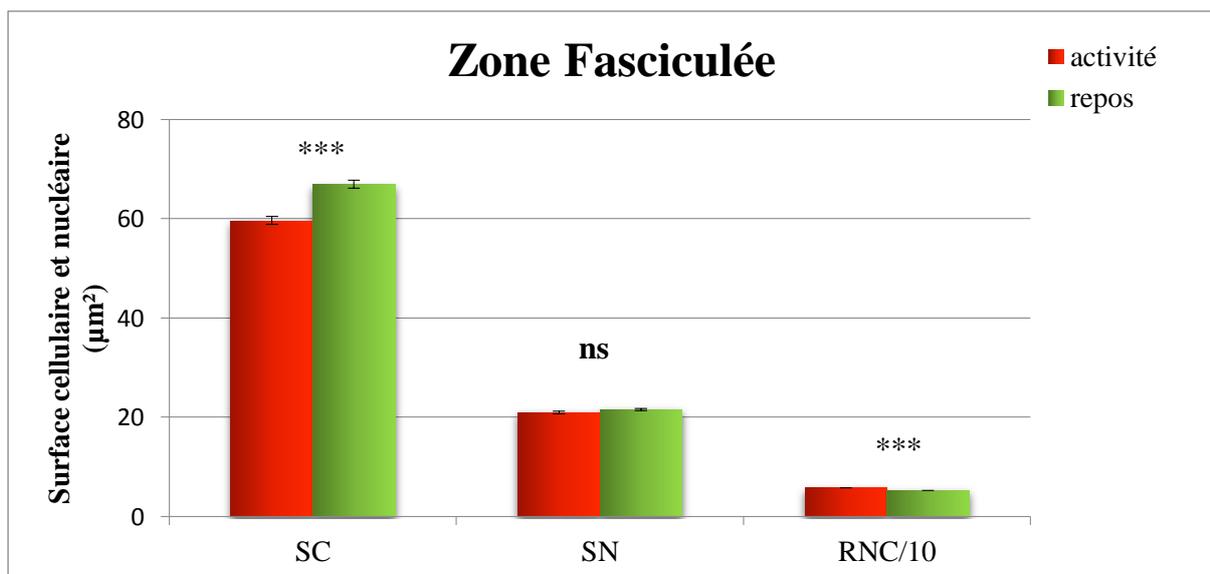
Conclusion : On note une augmentation du cortex surrénalien en période de repos par rapport à l'activité. La capsule et la zone glomérulée augmente légèrement. La zone réticulée et fasciculée augmentent très significativement, et cette dernière est plus importante en repos comparée à l'activité sexuelle.



SC : Surface cellulaire ; SN : Surface nucléaire ; RNC : Rapport nucléo-cytoplasmique ; ns : différence n'est pas significative.

Figure 05 : variation de la surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine.

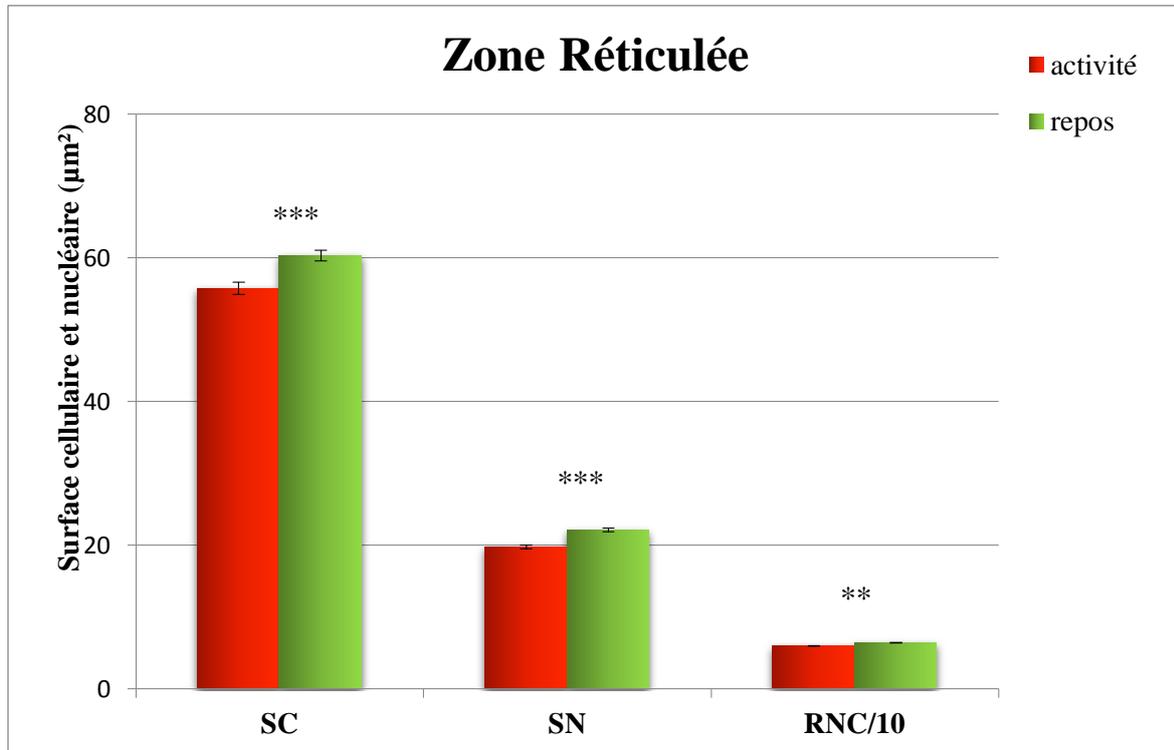
Conclusion : augmentation hautement significative de la surface cellulaire en période de repos sexuel par rapport à l'activité. Une légère augmentation du noyau en repos sexuel comparé à l'activité. Le RNC ne présente aucune différence.



SC : Surface cellulaire ; SN : Surface nucléaire ; RNC : Rapport nucléo-cytoplasmique

Figure 06 : variation de la surface cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine.

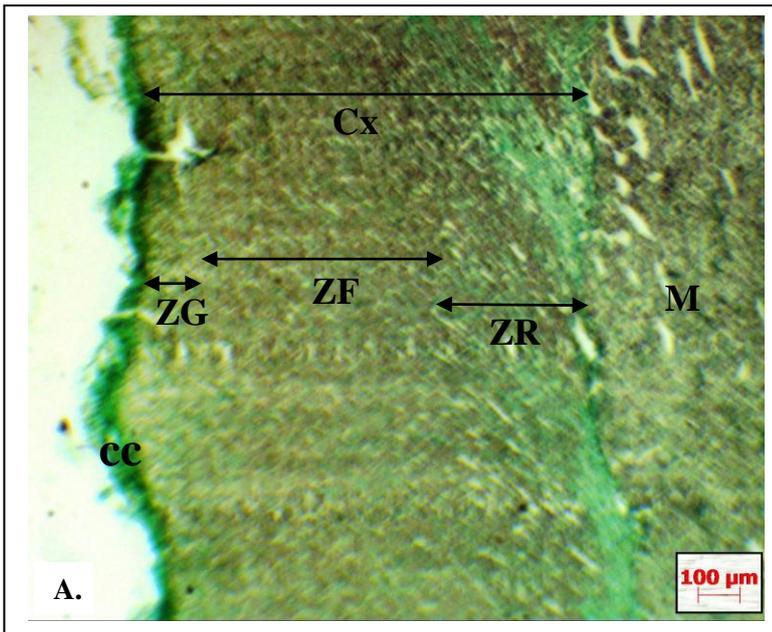
Conclusion : augmentation hautement significative de la surface cellulaire en période de repos sexuel par rapport à l'activité. La différence entre les noyaux n'est pas significative, et les RNC en repos sexuel comparés à l'activité est très significative.



SC : Surface cellulaire ; SN : Surface nucléaire ; RNC : Rapport nucléo-cytoplasmique

Figure 07: Variation de la surface cellulaire et nucléaire de la zone réticulée au cours du cycle sexuel chez la chèvre bédouine.

Conclusion : augmentation hautement significative de la surface cellulaire en période de repos sexuel par rapport à l'activité. La différence entre les noyaux en repos sexuel comparés à ceux d'activité est hautement significative, et le RNC est très significatif entre repos et activité sexuelle.



A : activité sexuelle ; B: repos sexuel ;
 CC : Capsule conjonctive ; Cx:
 Cortex ; ZG: Zone Glomérulée ; ZF:
 Zone Fasciculée ; ZR: Zone Réticulée ;
 M: médulla.

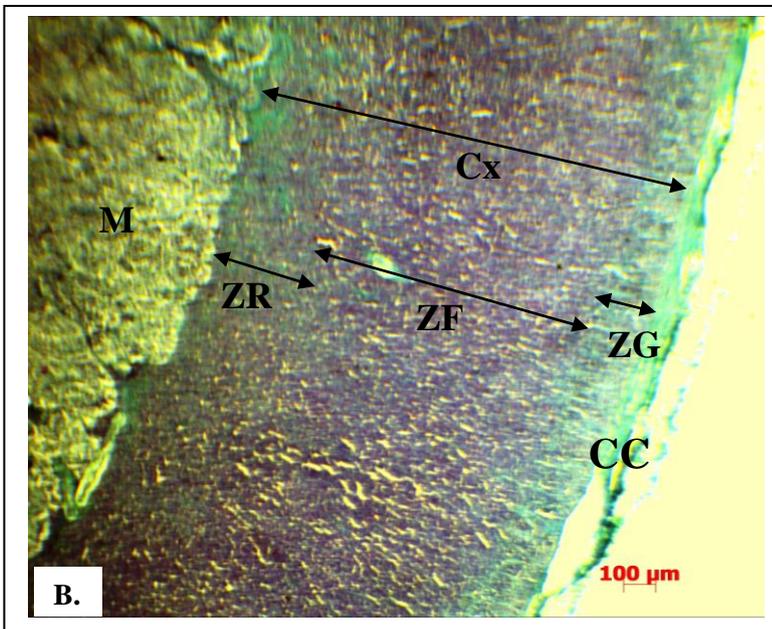


Planche 01 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénal chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction.

Coloration au Trichrome de Masson, Gr x40.

Au faible grossissement (X40), la surrénale apparaît constituée d'un cortex et d'une médullaire interne faiblement colorée. Une capsule fibreuse, enveloppe la glande et fournit un support externe qui soutient les cellules sécrétoires.

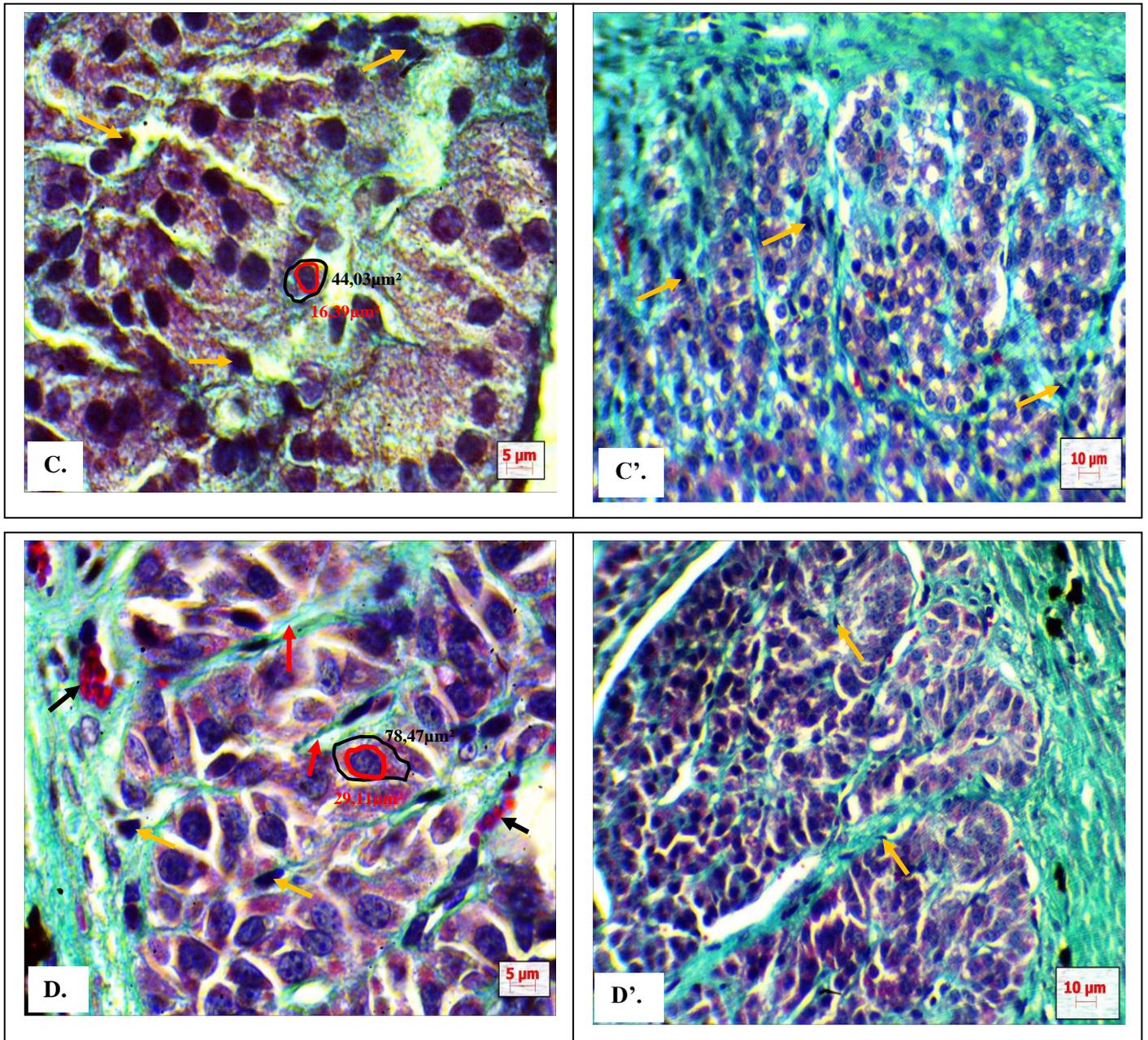


Planche 02 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénal (ZG) chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction. Coloration au Trichrome de Masson.

Contour noir : surface cellulaire ; Contour rouge : surface nucléaire ; flèches noire : Capillaires ; flèches rouge : Travées conjonctifs ; flèches jaune : noyau apoptotique ; C : activité sexuelle X1000 ; C' : activité sexuelle X400 ; D : repos sexuel X1000 ; D' : repos sexuel X400.

Au fort grossissement, on peut voir la zone glomérulée, située sous la capsule, est constituée de cellules groupées en amas arrondis.

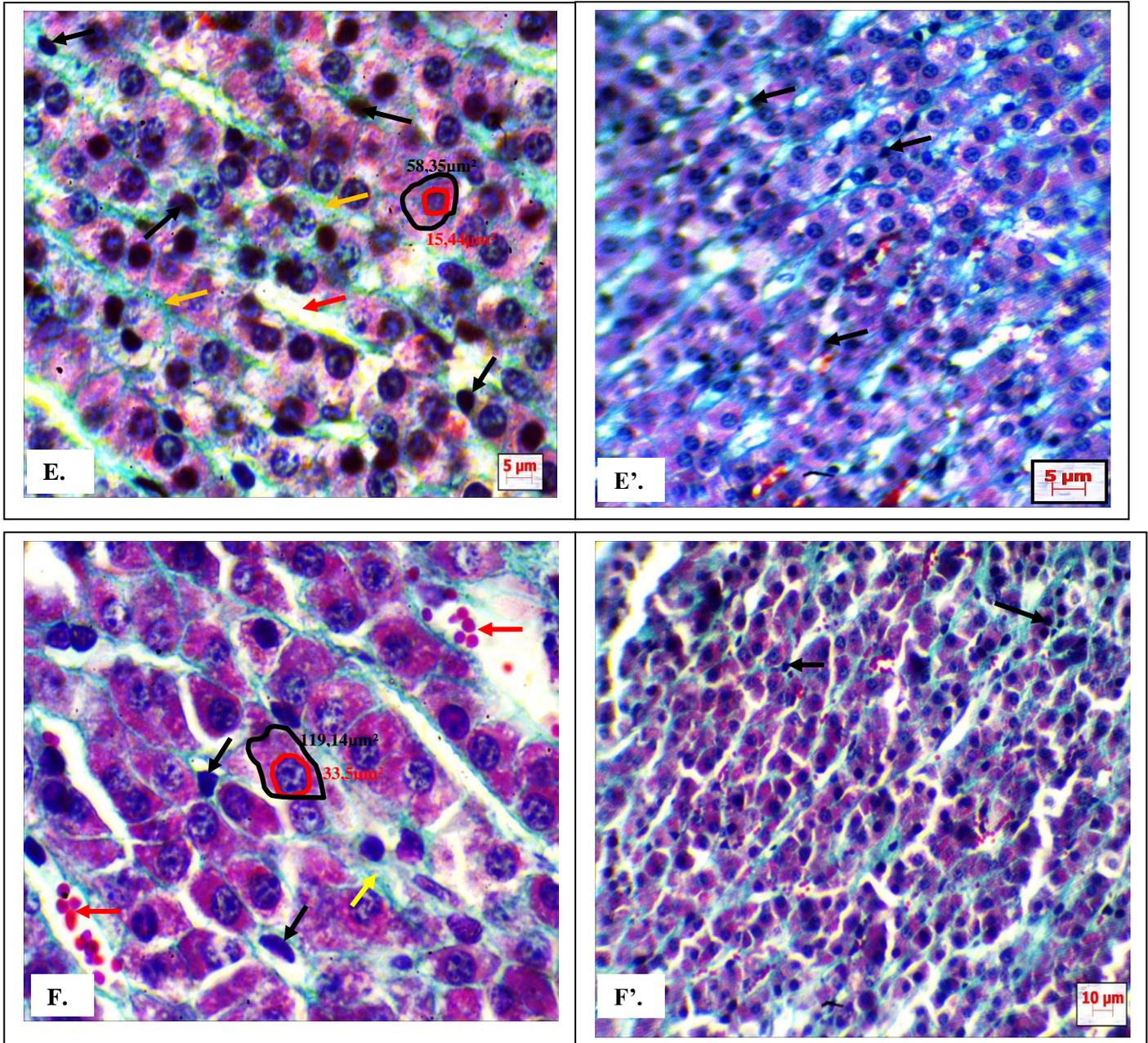


Planche 03 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénal (ZF) chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction. Coloration topographique au Trichrome de Masson.

Contour noir : surface cellulaire ; Contour rouge : surface nucléaire ; flèches jaune : Travées conjonctifs ; flèches rouge : Capillaires ; flèches noire : noyau apoptotique ; E: activité sexuelle X1000 ; E' : activité sexuelle X400 ; F : repos sexuel X1000 ; F' : repos sexuel X'400

Au fort grossissement, la zone fasciculée est organisée en cordons parallèles des cellules glandulaires disposées perpendiculairement à la capsule.

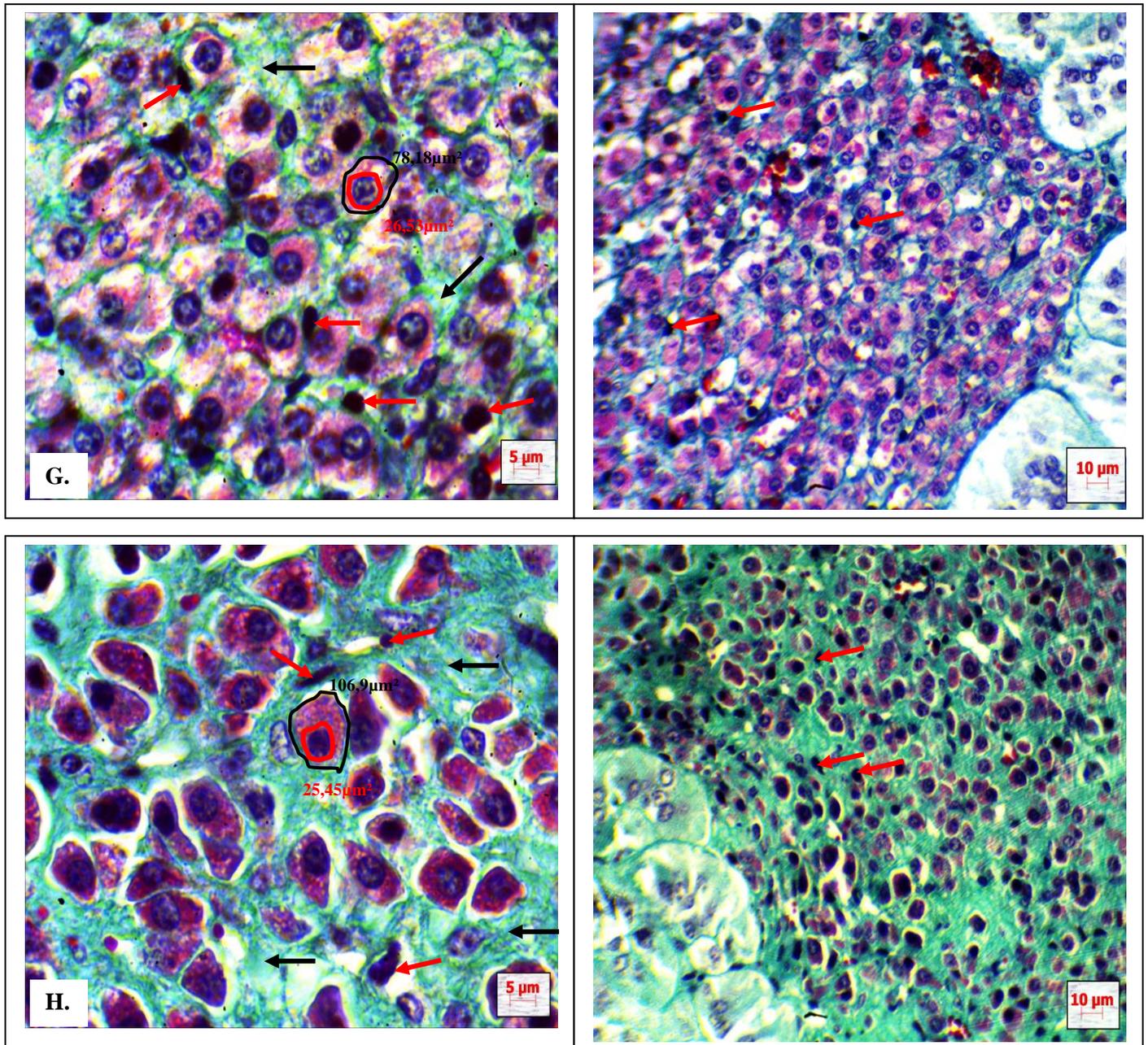


Planche 04 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénal (ZR) chez la chèvre bédouine femelle adulte au cours des deux saisons de reproduction. Coloration topographique au Trichrome de Masson.

Contour noir : surface cellulaire ; Contour rouge : surface nucléaire ; flèches noire : tissus conjonctif ; flèches rouge : noyau apoptotique ; G : activité sexuelle X1000 ; G' : activité sexuelle X400 ; H : repos sexuel X1000 ; H' : repos sexuel X400

Au fort grossissement, la zone réticulée, est faite de nombreuses cellules tassées, formant des réseaux irréguliers.

II. IMMUNOLOCALISATION DU RECEPTEUR AUX ŒSTROGENES α AU NIVEAU DE LA SURRENAL CHEZ LA CHEVRE BEDOINE AU COURS DES DEUX SAISONS DE REPRODUCTION

L'anticorps monoclonal, anti-récepteur aux œstrogènes α , produit chez la souris anti- acide aminé 495-595 du récepteur œstrogénique origine bovin C-311 (sc-787, santa Cruz). La dilution à 1/50 donne une réaction positive sur des coupes du surrénal de la chèvre bédouine *Capra hircus* femelle. En effet, l'immunomarquage de récepteur aux œstrogènes est observé au niveau des trois zones corticale (ZG; ZF; ZR). L'intensité du marquage varie d'un type cellulaire à un autre et d'un animal à l'autre.

II.1. en période de repos sexuel : chez la chèvre bédouine en repos, au niveau des cellules du témoin négatif on note une absence de marquage, noyau apparait en bleu (hématoxyline) (planche 06 A), par ailleurs, on observe, au niveau de l'échantillon un immunomarquage abondant dans les noyaux des trois zones corticale (ZG; ZF; ZR), (planche 06 C ; 07 E ; 08 G), cela indique la présence de récepteur aux œstrogènes de type α .

En revanche, on a réalisé une étude quantitative approximative, afin d'estimer la différence de la quantité du marquage entre les deux saisons ; 10 champs dans chaque zone corticale ont été analysés et évalués séparément dans chaque section (cellules marquées+ cellules non marquées), les résultats sont exprimés en pourcentage (Tableau A).

- **Zone glomérulée :** au fort grossissement (x400), on observe un immunomarquage nucléaire au niveau de notre échantillon, avec un pourcentage de 60,07% par rapport à la totalité des cellules (marquées+non marquées).

- **Zone fasciculée :** on remarque un immunomarquage nucléaire abondant au niveau d'échantillon avec un pourcentage de 56,33%.

- **Zone réticulée :** on observe un immunomarquage nucléaire abondant avec un pourcentage de 63,47% par rapport à la totalité des cellules.

II. 2. En période d'activité sexuelle :

Comparée à celles de repos, l'intensité du marquage est aussi importante. On observe, au niveau d'échantillon, un immunomarquage intense dans les noyaux des trois zones corticale (ZG; ZF; ZR) (planche 06 D ; 07 F ; 08 H).

Au niveau de la zone glomérulée, le pourcentage du marquage (65,53%) est élevé par rapport à la période de repos sexuel. Le marquage au niveau de la zone fasciculée est plus important comparé à celle en repos avec un pourcentage de 69,87% par rapport à la totalité des cellules. La zone réticulée présent aussi l'aspect des autres zones avec un

immunomarquage abondant et un pourcentage de marquage élevé (64,93%) comparé à celle en repos sexuel.

Tableau V- pourcentage du marquage de récepteur aux œstrogènes au niveau de la corticosurrénale chez la chèvre bédouine au cours du cycle sexuel.

A

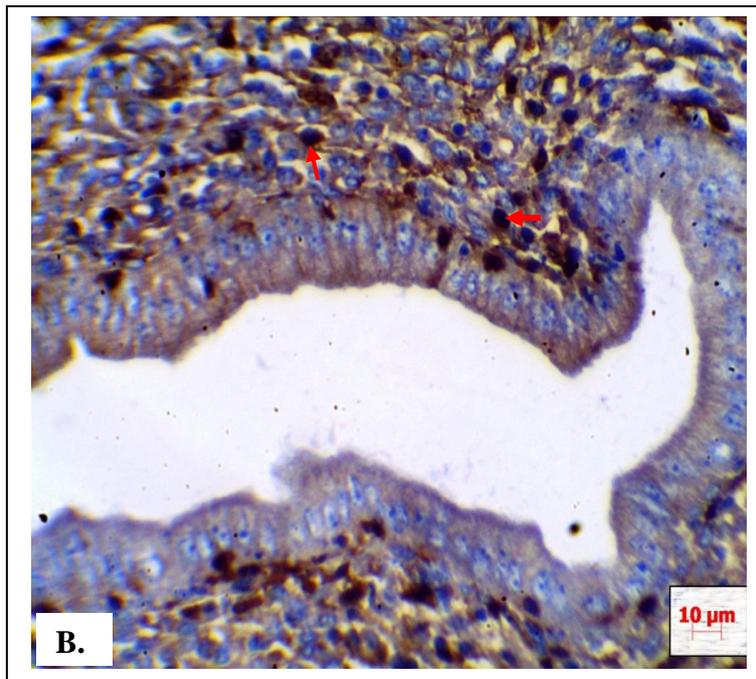
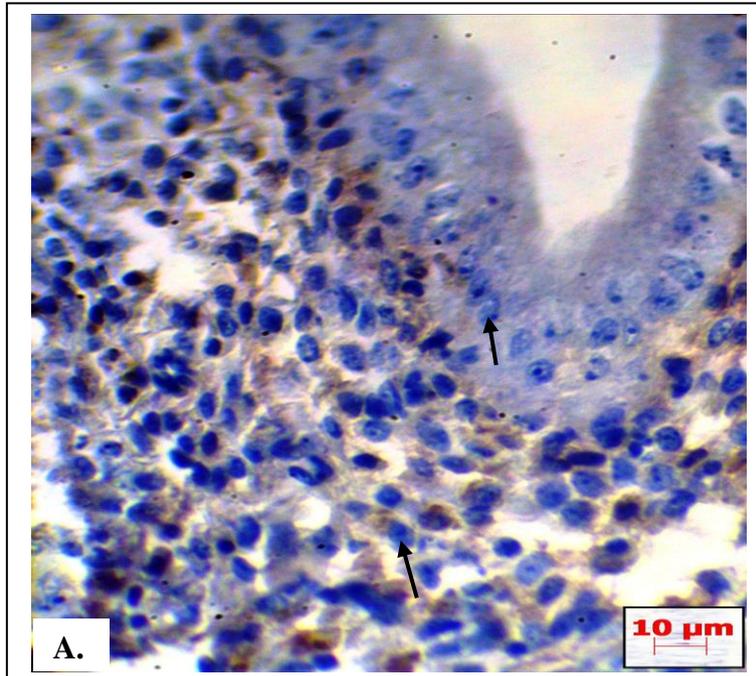
		ZG	score	ZF	score	ZR	score
Repos	CM	60,07%	+++	56,33%	+++	63,47%	+++
	CNM	39,93%	/	43,67%	/	36,53%	/

B

		ZG	score	ZF	score	ZR	score
Activité	CM	65,53%	+++	69,87%	+++	64,93%	+++
	CNM	34,47%	/	30,13%	/	35,07%	/

CM : cellules marquées ; CNM : cellules non marquées ; ZG : zone glomérulée ; ZF : zone fasciculée ; ZR : zone réticulée.

Test positif : On a utilisé un utérus d'une souris pour confirmer la spécificité de l'anticorps anti ER α . Le témoin négatif apparait en bleu (hématoxyline), et au niveau de l'échantillon (présence l'anticorps), on observe un marquage nucléaire important (planche 05).



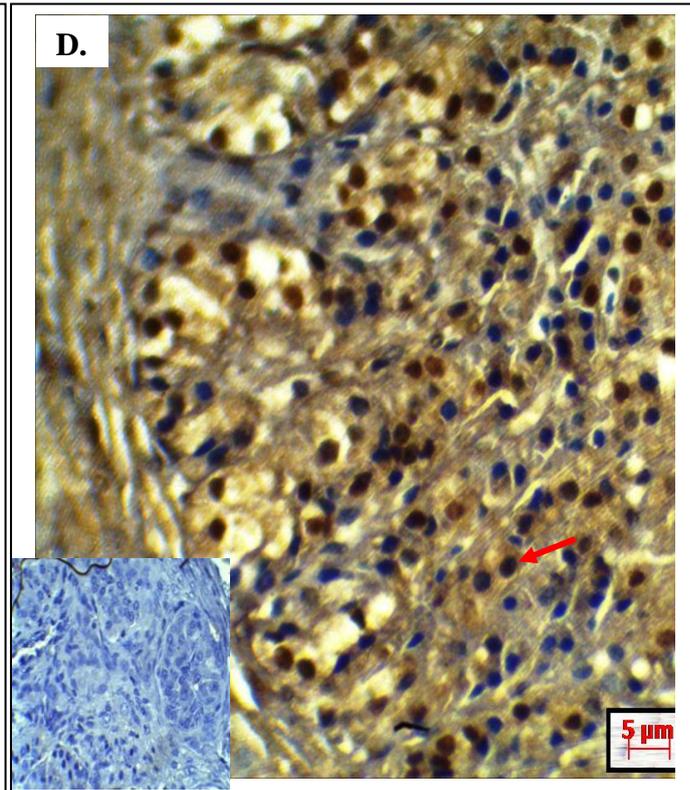
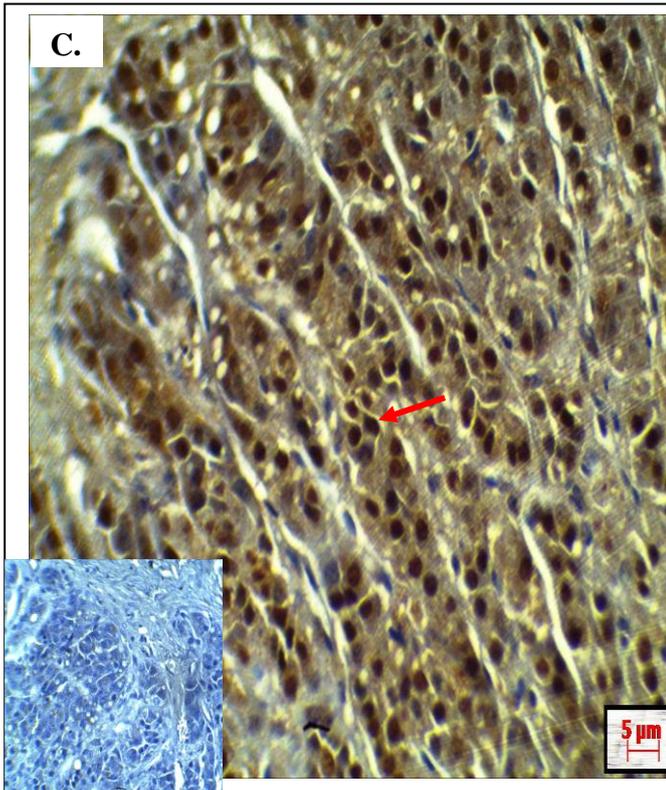
A : témoin négatif ;
B : échantillon marqué ;

Flèches noir : noyaux non marqués ;
Flèches rouge : cellules marquées ;

Planche 05 : Immunolocalisation du récepteur aux œstrogènes au niveau de l'utérus d'une souris, Gr x400.

Repos

Activité



ZG

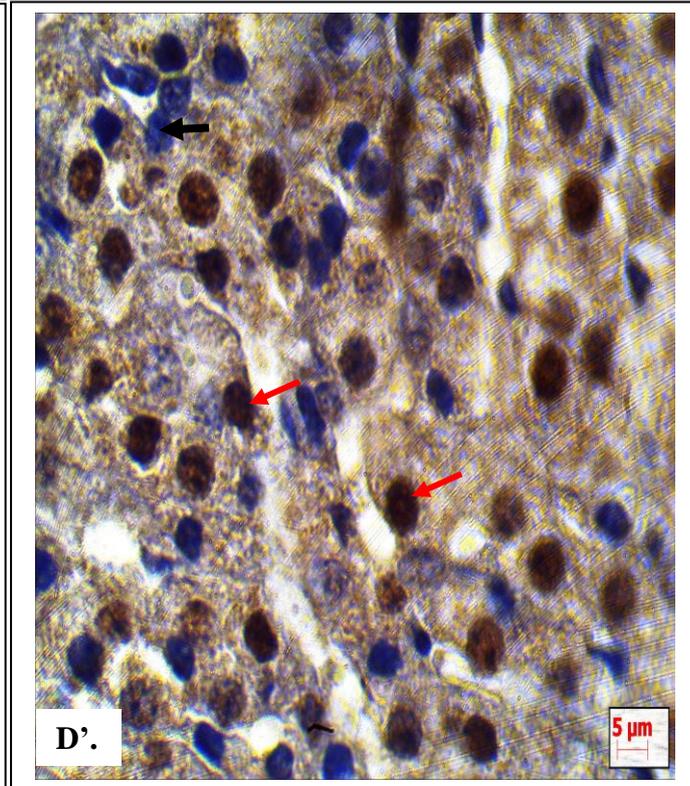
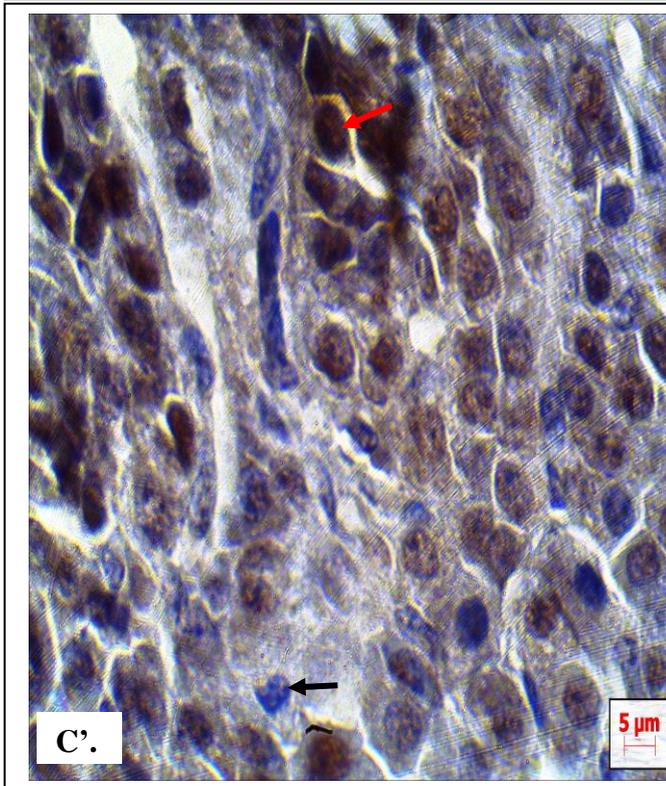


Planche 06 : Immunolocalisation de récepteur aux œstrogène au niveau de la zone glomérulée de la surrénal chez la chèvre bédouine. Gr x400 (C, D) ; Gr X1000 (C', D')
 Flèches noir : absence de marquage ; Flèches rouge : présence de marquage ;

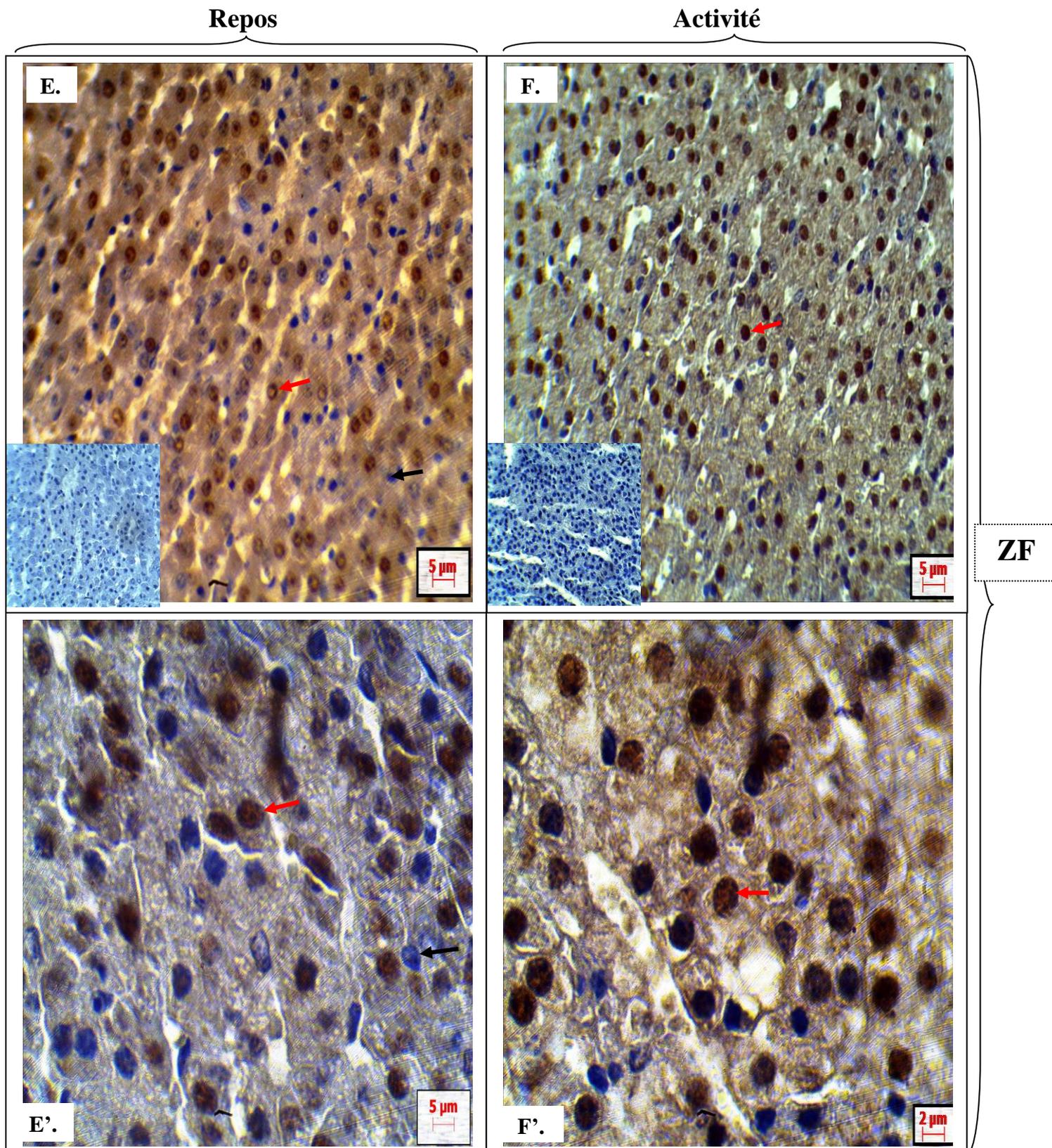
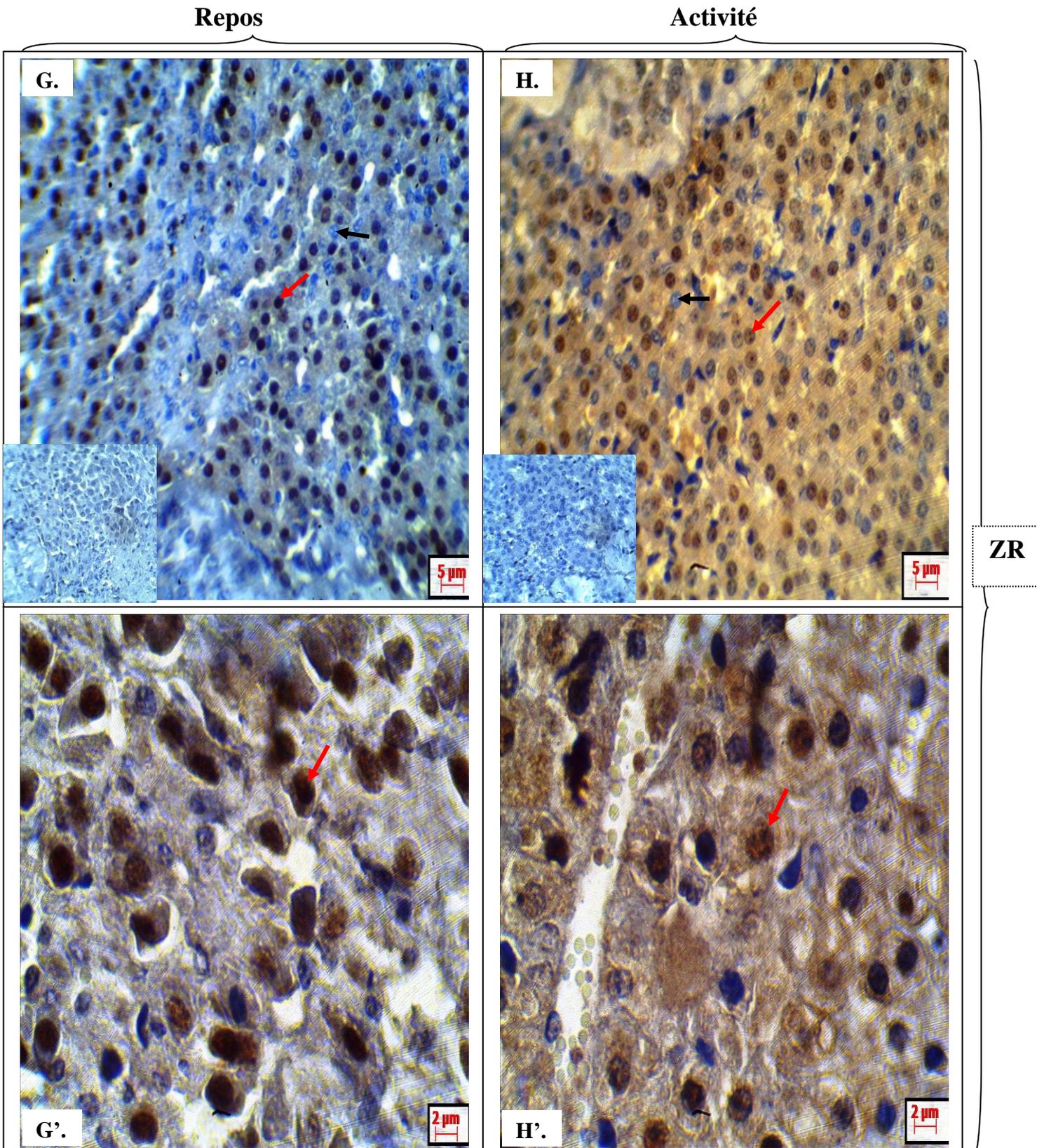


Planche 07 : l'immunolocalisation de récepteur aux œstrogènes au niveau de la zone fasciculée de la surrénal chez la chèvre bédouine au cours des deux saisons de reproduction. Gr x400 (E, F); Gr X1000 (E', F')
Flèches noir : absence de marquage ; Flèches rouge : présence de marquage.



ZR

Planche 08 : l'immunolocalisation de récepteur aux œstrogènes au niveau de la zone réticulée de la surrénal chez la chèvre bédouine au cours des deux saisons de reproduction. Gr x400 (G, H); Gr X1000 (G', H')
Flèches noir : absence de marquage ; Flèches rouge : présence de marquage ;

Les résultats obtenus dans ce travail concernant l'étude de la structure cortico-surrénalienne au cours des deux saisons de reproduction chez la chèvre bédouine (*Capra hircus*), révèlent d'importantes modifications histologique et morphométrique d'une part, et d'autre part, d'importante expression de récepteur aux œstrogènes (ER α), au niveau du cortex. Rappelons que la chèvre bédouine est une espèce à reproduction saisonnière ; la femelle présente une période de repos sexuel ou anœstrus saisonnier s'étalant de la mi-février à la mi-juillet avec décalage possible d'une année à l'autre (**Charallah, 1994**). Comparé aux autres mammifères, il y'a peu de travaux concernant l'étude des variations histologique au cours du cycle sexuel. En effet, La structure topographique de la surrénale de la chèvre bédouine présente quelques particularités, comparée à celle du dromadaire (**Benamara, 2012**), le bélier D'man (**Hamzaoui et Sahnoun, 2010**) et le bélier de Ouled Djellal (**Rais-Lain, 2011**), vivant dans les mêmes régions désertiques. Nous avons enregistré quelque différences au niveau de la glomérulée, chez la chèvre bédouine, les cellules sont de forme pyramidale avec cytoplasme basophile et noyau généralement basal, ainsi que les acini sont de forme plus au moins arrondis, en activité sexuelle, et de forme allongée, en période de repos, tandis que chez le dromadaire (**Benamara, 2012**) les cellules sont de forme irrégulière à arrondie avec cytoplasme acidophile et noyau central. Au niveau de la fasciculée, chez la chèvre bédouine, la forme des cellules est comparable à celle du dromadaire, bélier d'Man et bélier de Ouled Djellal. Chez la chèvre bédouine on remarque une absence de l'aspect spongieux des cellules fasciculaires, tandis qu'il est présent chez le dromadaire, bélier d'Man et bélier de Ouled Djellal.

Cependant, très peu d'études qui ont été réalisé sur la morphométrie de tissu surrénalien en relation avec la saison de reproduction. En effet, les mesures morphométrique ont montrés des différences très significatives entre les chèvres en activité sexuelle et celles en période de repos sexuel. On note que, l'épaisseur du cortex varie en fonction de la saison en relation avec la durée du jour. Elle est intense quand la photopériode est longue (été) alors qu'elle est plus faible quand la photopériode est courte, comme retrouvé chez la chèvre (**Alila-Johanasson et al., 2003**). Le cortex surrénalien est très développé chez les chèvres en période de repos sexuel comparé à celles en activité. Ces résultats sont contradictoire à ceux de **River et al., 1999** qui a montré que chez viscacha *Lagostomus maximus maximus*, le cortex surrénal subit également des modifications structurales importantes en fonction de l'activité sexuelle. En fait, le volume nucléaire est très important en période de reproduction tandis qu'il est très réduit durant la période de repos sexuel. En outre, nous avons trouvé que l'épaisseur de la zone glomérulée augment en période de repos sexuel, cette hypertrophie

glomérulaire constatée en période de repos sexuel peut s'expliquer par le besoin accru en eau et électrolytes au moment où les conditions du milieu sont défavorable. L'épaisseur de la zone fasciculée en activité sexuelle est réduite par rapport à celle en repos sexuel, ceci peut être dû probablement à une éventuelle activité apoptotique des cellules fasciculaires, vue la présence des noyaux sombres et déformés. En outre, l'hypertrophie des cellules fasciculaires, en repos sexuel par rapport à celle d'activité, est due probablement à la synthèse et stockage du cholestérol. Chez notre espèce, à reproduction saisonnière, il y a une production importante de cholestérol en période d'œstrus comparée à la période d'œstrus (**Lettreuche A., 2014**). Ceci est rapporté aussi par **Singh et al. (1983)** ; **Singh et Singh (2006)**, qui ont expliqué cela par la conversion du cholestérol en hormones stéroïdiennes notamment en cortisol durant la période d'activité sexuelle. Le besoin en cholestérol se manifeste par une hypertrophie des cellules fasciculaires des béliers de race Ouled Djellal et race d'Man en saison d'été (**Npland et al., 1980** ; **Capponi, 2004** ; **Bollag et al., 2008** ; **Ogishima et al., 2008**) (**Ras-lain ; 2010**). L'hypertrophie des cellules réticulaires en faveur du repos peut suggérer une activité mitotique de ces cellules. Ces résultats sont contradictoires avec les résultats de **Nerkar, 2009**, chez la chauve-souris, où il a noté une augmentation de la largeur des zones fasciculée et glomérulée durant l'œstrus comparée aux autres phases de reproduction. Par ailleurs, on a trouvé que l'épaisseur de la zone réticulée est augmentée en faveur du période de repos sexuel, chez le rat (**Malendowicz, 1974**) cette hypertrophie pourrait être dû à l'augmentation du volume cytoplasmique, mais aussi à l'augmentation de l'activité mitotique et à la prolifération cellulaire de la zone réticulée (**Kasprzak et al., 1986**). Chez la chatte, la zone réticulée est développée en œstrus et est réduite en anœstrus (**Lobban, 1952**). Cependant, chez le mérion *Meriones libycus* mâle, pas de variations observés dans la structure du cortex surrénalien entre la saison de repos et la saison d'activité sexuelle (**Aknoun, 2009**).

Toutefois, les modifications constatées suite à l'étude immunohistochimique dans les deux périodes ne confirment pas les effets des œstrogènes, mais plutôt l'existence du récepteur ER α au niveau de la surrénale. Nos résultats sont similaires à **Hadberg Alm et al., 2009** qui ont identifiés l'existence des récepteurs aux œstrogènes dans la surrénale de jument, Rat, mouton et le singe. Chien (**Chobanian et al., 1968**) bovin, Homme (**Martin et al., 1977**), et la souris (**Muller and Wotiz, 1978**). Le récepteur d'œstrogène a été trouvé dans les reins, le foie, les poumons, testicules et les muscles, mais seulement dans la surrénale à la capacité de liaison relativement élevée par rapport à l'utérus (**weiss and xu, 1990**).

En effet, l'immunolocalisation de récepteur aux œstrogènes montre une expression intense de ce dernier au niveau des trois zones corticales de la chèvre pendant les deux périodes, mais il y a une différence de pourcentage du marquage entre la période de repos et celle d'activité, on constate que le marquage dans la zone fasciculée en activité sexuelle est plus important à celle en repos comparée aux autres zones, glomérulée et réticulée. Donc la relation négative entre la taille de la fasciculée et l'expression du récepteur ER α au cours du période de repos nous laisse suggérée que la diminution de l'épaisseur de la fasciculée est dû probablement à la stimulation des œstrogènes la biosynthèse et la libération du cortisol. Cependant, on suggère que l'œstrogène influence sur la sensibilité cortico-surrénalienne à l'ACTH (Atkinson *et al.*, 1997 ; Lo *et al.*, 2000), et/ou augmente la disponibilité du précurseur stéroïdien (cholestérol), en affectant la régulation stéroïdogénique de la protéine StAR (Townson *et al.*, 1996 ; Stocco *et al.*, 2001), et/ou ils ont un effet stimulant sur l'induction de l'enzymes, dans la synthèse des glucocorticoïdes (Perry *et al.*, 1992).

La littérature apporte de nombreux travaux mettant en évidence une étroite relation entre l'activité cortico-surrénalienne et l'activité gonadique, ceci tant pour leur origine embryologique commun. Car l'œstradiol intensifié généralement la réponse au stress chez les femelles (Viau and Meaney, 1991 ; Redei *et al.*, 1994 ; Carey *et al.*, 1995 ; Young *et al.*, 2001 ; McCormick *et al.*, 2002). L'ACTH est plus élevé dans la phase de pro-œstrus du cycle sexuel, lorsque la concentration sérique d'œstrogène est plus élevée (Viau and Meaney, 1991). Ainsi, d'autres études ont montrées que, les sécrétions pulsatiles de la corticostérone, aussi bien à l'état basal que celles induites par l'effet du stress, sont nettement plus élevées chez les rongeurs femelles par rapport aux mâles. Ceci peut être dû aux variations physiologiques de taux d'œstradiol au moment de l'œstrus (Viau and Meaney, 1991 ; Rhodes *et al.*, 2004 ; Iwasaki-Sekino *et al.*, 2009). également, les pics de cortisol se produisent pendant l'ovulation (Wolfram *et al.*, 2011) lorsque les niveaux d'œstrogène sont aussi maximale (Owen, 1975).

En outre, Chakhma, 2007 a rapportée chez la chèvre bédouine une sécrétion du cortisol plus importante en période d'activité sexuelle (œstrus saisonnier) par rapport à la période de repos sexuel (anœstrus). Ainsi chez le bouc de même race, la cortisolémie est élevée pendant l'activité testiculaire et elle est basse lorsque la testostéronémie diminue (Lakhdari, 1993 ; Lakhdari, 2001) alors que Chergui (2000) a rapportée une activité glucocorticoïde maximale en été et en hiver, et minimale en printemps chez le mâle de la même espèce. Cependant, chez le bélier de race D'Man, un cycle de production des

glucocorticoïdes est opposé à celui de la testostérone (**Amokrane, 2005 et Anane 2005**). Les œstrogènes peuvent agir au niveau de l'hypothalamus et l'hypophyse pour moduler l'activité corticosurrénal (**Patchev and Almeida 1998; Handa and Weiser 2014**). chez le rat femelle, L'activité de l'axe HHS peut varier selon le cycle œstral, dû à l'influences des œstrogènes sur la libération de CRF et AVP du PVN (**Bohler et al., 1990; Greer et al., 1986**). Ce qui suggère que l'œstrogène augmente la synthèse et la sécrétion de CRF et AVP (**Cutler et al., 1978 ; Haas and George, 1988;; Burgess et al., 1992 ; Handa et al., 1994 ; Young et al., 1995 ; Charles et al., 2001**), En présence des œstrogènes, des éléments de réponse aux œstrogènes (ERE) augmentent la transcription, dans la région du promoteur du gène de CRF dans les neurones hypothalamiques, (**Vamvakopoulos and Chrousos, 1993**). D'autre part, l'action inhibitrice de l'œstrogène sur l'effet de rétrocontrôle des glucocorticoïdes est conférée indirectement via la stimulation des récepteurs GABA des neurones péri-PVN de l'hypothalamus (**Weiser and Handa, 2009**). De plus, On suggère que, les œstrogènes plus probablement affectent la stéroïdogénèse directement au niveau du cortex surrénalien, chez la jument (**Hdberg et al., 2009**) ; la vache (**Hollenstein et al., 2006**) ; la ratte (**Kitay, 1961 ; Kitay, 1963 ; Kitay, 1965; Kitay et al., 1970 ; Colby et al., 1974 ; Katay, 1975**) ; la brebis (**Leir et al., 2003**). L'œstradiol augmente la concentration de la corticostérone dans le cortex surrénal du rat femelle (**Malendowicz and Mlynarczyk, 1982**). Toutefois les études de signalisation des stéroïdes gonadiques (œstrogène) liée à l'axe HHC ne sont pas encore élucidées (**Chaban et al., 2011; Kelly and Ronnekleiv, 2012**).

Au terme de ce travail portant sur l'effet de la saison de reproduction sur la structure, la morphométrie et la distribution de récepteur aux œstrogènes au niveau de la surrénal, chez la chèvre bédouine (*Capra hircus*) en période de reproduction, nous avons fait ressortir les résultats suivants :

- L'histologie de la surrénale chez la chèvre bédouine a révélée des particularités comparée aux autres espèces, on note :
 - La zone glomérulée présente un aspect clair (cytoplasme basophile).
 - Absence de l'aspect spongieux dans la zone fasciculée. En effet, les cellules glandulaires spongieuses de la zone fasciculée élaborent des hormones stéroïdes, à partir de cholestérol stocké dans des inclusions, Lors de l'inclusion dans la paraffine, ces lipides sont dissous donnant à la cellule un aspect d'éponge.

Variations structural en fonction du cycle de reproduction :

- Modifications aux niveaux des acinis glomérulaires, qui sont de forme plus au moins arrondis en activité sexuelle et allongés en repos sexuel.
 - Pour l'étude morphométrique, on note d'importants changements structuraux :
 - Une augmentation hautement significative de l'épaisseur tissulaire, en période de repos sexuel comparé à l'activité sexuelle. Cet accroissement est dû essentiellement à l'hypertrophie de la zone fasciculée et la zone réticulée, de plus il y a une hypertrophie des surfaces cellulaires.
 - Les surfaces nucléaires présentes une différence hautement significative, en faveur de la période de repos, dans les zones glomérulée et réticulée, par contre la zone fasciculée ne présente aucune différence.
 - Le RNC ne présente pas de modification au niveau des zones glomérulée et réticulée au cours des deux périodes, par contre au niveau de la zone fasciculée il diminue significativement en période de repos comparé à celle d'activité.
 - Pour l'immunolocalisation de récepteur aux œstrogènes α , on note :
 - Un marquage nucléaire intense, au niveau des trois zones, associé à une expression du récepteur aux œstrogènes α , pendant les deux périodes.
 - Le marquage est plus important au niveau de la zone fasciculée par rapport à la zone glomérulée et réticulée en période d'activité sexuelle. En repos sexuel le marquage est important au niveau de la glomérulée et réticulée et par rapport à la fasciculée.

Il ressort que la fasciculée en période d'activité présente une forte expression du récepteur à l'œstrogène par rapport au repos.

Pour approfondir cette étude il semble intéressant de faire une évaluation du taux des œstrogènes plasmatique pour voir évolution du profil en parallèle avec le profil du cortisol.

1. **Abou-Samra AB, Harwood JP, Catt KJ, Aguilera G. 1987** - Mechanisms of action of CRH and other regulators of ACTH release in pituitary corticotrophs. *Ann N Y Acad Sci*, **512**:67-84.
2. **Aknoun-sail N., 2009** - Répercussions histophysiologiques de la castration sur la surrénale chez un Gerbillidé saharien, *Meriones libycus* .Mémoire de magister, Alger, 129p.
3. **Alila-Johanasson A., Erikson L., Soveri T and Laakso M. L., 2003-** Serum cortisol levels in goats exhibit seasonal but not daily *rhythmicity*. *Chronobiol Int.*, **20** :65-79.
4. **Amokrane A., 2005** -Variations nyctémérales et saisonnières de l'activité endocrine surrénalienne chez le bélier de race D'man élevé à El Menéaa. Mémoire de Magister, Alger, 149p.
5. **Atkinson HC,Waddell BJ., 1997** -Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: sexual dimorphism and changes across the estrous cycle. *Endocrinology*, **138**:3842–8.
6. **Babo D., 2000.** Races ovines et caprines françaises. Editions France agricole, 1e édition, p : 249-302.
7. **Beckers J.F., Zarrouk A., Souilem O., Drion P.V. 2001.** Caractéristiques de la reproduction de l'espèce caprine. *Ann. Méd. Vét.*, **145**, 98-105.
8. **Benamara R.R., 2012.** -Etude biochimique et histologique de la réponse surrénalienne et osmoionique à la déshydratation chez le dromadaire *camelus dromedarius* élevé dans la région d'Ouargla. Mémoire de magister, 120p.
9. **Benmouloud A., Amirat Z., Khammar F. Patchev A.V., Exbrayat J.M., Almeida O.F.X., 2014.** Androgen receptor-mediated regulation of adrenocortical activity in the sand rat, *Psammomys obesus*. *J Comp Physiol B*. **184**: 1055–1063.
10. **Bohler Jr., H.C., Zoeller, R.T., King, J.C., Rubin, B.S., Weber, R., Merriam, G.R., 1990.** Corticotropin releasing hormone mRNA is elevated on the afternoon of proestrus in the parvocellular paraventricular nuclei of the female rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **8**, 259–262.
11. **Bollag W., Kent P., White S., Wilson M.V., Isales C.M and Calle R.A., 2008** – Photobol ester increases mitochondrial cholesterol content in NCI H295R cells. *Molecular and cellular Endocrinology*, **296**: 53-57.
12. **Burgess LH, Handa RJ. 1992** -Chronic estrogen-induced alterations in adrenocorticotropin and corticosterone secretion, and glucocorticoid receptor-mediated functions in female rats. *Endocrinology*, **131**:1261–9.

13. **Burgess LH, Handa RJ. 1993** -Estrogen-induced alterations in the regulation of mineralocorticoid and glucocorticoid receptor messenger RNA expression in the female rat anterior pituitary gland and brain. *Mol Cell Neurosci*, **4**:191–8.
14. **Capponi A.M., 2004** –The control by angiotensin II of cholesterol supply for aldosterone biosynthesis. *Molecular and cellular endocrinology*. **217**: 113-118.
15. **Carey M.P., Deterd C.H., Koning de J., Helmerhorst F., Kloet de E.R., 1995** -The influence of ovarian steroids on hypothalamic–pituitary–adrenal regulation in the female rat, *J. Endocrinol.* **144**, 311–321.
16. **Chaban, V., Li, J., McDonald, J.S., Rapkin, A., Micevych, P., 2011.** Estradiol attenuates the adenosine triphosphate-induced increase of intracellular calcium through group II metabotropic glutamate receptors in rat dorsal root ganglion neurons. *J. Neurosci. Res.* **89**, 1707–1710.
17. **Chakhma, 2007-** Activité corticosurrenaliennne chez la chevre bedouine (*capra hircus*) cyclique, gestante et lactante. *Thèse de Magister, USTHB, Alger, 57p.*
18. **Charallah S., 1994** – Variations saisonnières de la fonction de reproduction chez la chèvre bédouine femelle *Capra hircus*. *Thèse de Magister, USTHB, Alger, 90p.*
19. **Charallah S., Lakhdari Y., Amirat Z., Khammar F. et Sempere A., 1993** - Bulletin de la Société d'Ecophysiologie, Fascicule 1 et 2, Tome XVIII, p.67-70.
20. **Charles E. Wood, Christine J. Saoud, Timothy A. Stoner, Maureen Keller-Wood, 2001-** estrogen and androgen influence hypothalamic AVP and CRF concentration in fetal and adult sheep, *Regulatory Peptides*, **98**, 63-68.
21. **Chergui N., 2000-** étude de l'activité glucocorticoïde basal et stimulé chez la chèvre bédouine (*Capra hircus*) mâle. Effet de l'âge et de la saison. *Thèse de magister, USTHB, P 39.*
22. **Chobanian A. V., Brecher P. I., Lillie R. D. and Wotiz H. W., 1968-** Metabolism of sex hormones in the aortic wall. *J. Lipid Res.* **9**, 701-706.
23. **Colby H. D. and Kitay J. I., 1974** - Interaction of estradiol and ACTH in the regulation of adrenal corticosterone production in the rat. *Srroids*, **24**, 527-536.
24. **Couse, J. F., et al. 1999-** "Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us?" *Endocrine Reviews* **20** (3): 358-417.
25. **Cutler Jr GB, Barnes KM, Sauer MA, Loriaux DL. 1978** -Estrogen receptor in rat adrenal gland. *Endocrinology*; **102**:252–7.

26. **Dallman MF, Akana SF, Levin N, Walker CD, Bradbury MJ, Suemaru S, Scribner KS., 1994** -Corticosteroids and the control of function in the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Ann N Y Acad Sci*; 746:22-31; discussion -2. 64-7.
27. **Dérivaux J., 1971.**- Reproduction chez les animaux domestiques. T1, 2ème édition Déronaux, Liège.
28. **Doolan C.M., Harvey B.J., 2003**- AG alphas protein-coupled membrane receptor, distinct from the classical oestrogen receptor, transduces rapid effects of oestradiol on (Ca²⁺) in female rat distal colon. *Mol Cell Endocrinol* **199**, 87-103.
29. **Falkenstein E., Tillmann H.C., Christ, M., Feuring, M., Wehling, M., 2000**- Multiple actions of steroid hormones-a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev.* **52**, 513-556.
30. **Fantazi K., 2004.** Contribution à l'étude du polymorphisme génétique des caprins d'Algérie. Cas de la vallée d'OuedRigh (Touggourt). *Thèse de Magister I.N.A.* (Alger), 145 p.
31. **Folligan K., Bouvier R., Targe F., Morel Y., et Trouillas J., 2005**- Development of the human adrenal glands. *Ann. Endocrine.*, **66** (44): 325-332.
32. **Gabe M. ,1968.**- technique histologiques. Masson (*eds*), Paris, 1113p.
33. **Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA., 1992**- Identification of programmed cell death in situ: a specific labelling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*, 119:493–501.
34. **Gayrard V., 2007**- Physiologie de la reproduction des mammifères. *E nat vétér*, Toulouse, 198p.
35. **Greer, E.R., Caldwell, J.D., Johnson, M.F., Prange Jr., A.J., Pedersen, C.A., 1986.** Variations in concentration of oxytocin and vasopressin in the paraventricular nucleus of the hypothalamus during the estrous cycle in rats. *Life Sci.* **38**, 2311–2318.
36. **Haas DA, George SR., 1988** -Gonadal regulation of corticotropin-releasing factor immunoreactivity in hypothalamus. *Brain Res Bull*; **20**: 361–7.
37. **Hafez E.S.E., 1974** - Reproduction in farms animals. 1, 3ed édition Philadelphia.
38. **Hamzaoui K ., Sahnoun S., 2010**- Etude histologie de la corticosurrénale en phase Claire et sombre chez le bélier de race d'man élevé dans la région d'El-Menia. *Thèse de DES (USDB)*, 69 p.
39. **Handa RJ, Burgess LH, Kerr JE, O'Keefe JA. 1994** -Gonadal steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo–pituitary–adrenal axis. *Horm Behav*, **28**:464–76.

-
40. **Handa RJ, Weiser MJ., 2014-** Gonadal steroid hormones and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Front Neuroendocrinol* **35**:197–220
 41. **Handa, R.J., Weiser, M.J., 2013.** Gonadal steroid hormones and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Front. Neuroendocrinol.*
 42. **Havelock, J. C., et al., 2004.** "Ovarian granulosa cell lines." *Mol Cell Endocrinol*, **228** (1-2): 67-78.
 43. **HdbergAlm H., Sukjumlong S., Kindahl H., Dalin A. M., 2009.-** Steroid hormone receptors ER α and PR characterized by immunohistochemistry in the mare adrenal gland. *Acta. Vet. Scand.*, **51**: 31.
 44. **HdbergAlm H., Sukjumlong S., Kindahl H., Dalin A. M., 2009.-** Steroid hormone receptors ER α and PR characterized by immunohistochemistry in the mare adrenal gland. *Acta. Vet. Scand.*, **51**: 31.
 45. **Herman JP, Prewitt CM, Cullinan WE., 1996 -** Neuronal circuit regulation of the hypothalamopituitary- adrenocortical stress axis. *Crit RevNeurobiol*; **10-3-4**:371-94.
 46. **Hollenstein, Janett F., Bleul U., Hassig M., 2006** –influence of estradiol on adrenal activity in ovariectomized cows during acute stress, *Animal Reproduction Science*, **93**, 292-302.
 47. **Holmes Pegler H. S., 1966.** The book of the goat. Ninth edition, “The bazaar, Exchange and Mart” LTD, 255p.
 48. **Iwasaki-Sekino A., Mano-Otagiri A., Ohata H., Yamauchi N., et Shibasaki T., 2009** -Gender Differences in corticotropin and corticosterone secretion and corticotropin-Releasing Factor mRNA Expression in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus and the central Nucleus of th Amygdala in Response to Footshock Stress or Psychological Stress in Rats. *Psychoneuroendocrinol.*, **34** (2) :226-37.
 49. **Kasprzak A., Lésniewska B. et Malendowicz L., K., 1986** –sex Differences in Adrenocortical structure and function. XXI. The Effects of Gonadectomy and Testosterone or Estradiol Replacement on Mitotic Activity of the Rat Adrenal Cortex *Experim. Clin. Endocrinol.*, **87** (1) : 26-30.
 50. **Katay J. I., 1975-** Effects of various hormones on the pituitary-adrenal axis. *Adr. exp. Med. Biol.* **54**, 155-163.
 51. **Keller-Wood, M.E., Dallman, M.F., 1984.** Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr. Rev.* **5**, 1–24.

-
52. **Kelly, M.J., Ronnekleiv, O.K., 2012.** Membrane-initiated actions of estradiol that regulate reproduction, energy balance and body temperature. *Front. Neuroendocrinol.* **33**, 376–387.
53. **Khaldoun A., Bellah F., Amrani M., Djennadi F., 2001.** Actes de l'atelier national sur la stratégie de développement des cultures fourragères en Algérie. ITGC., Alger, p45.
54. **Khammar F., Amirat Z., Lakhdari Y., 2002.** Systèmes d'élevage et caractéristiques de la reproduction chez la chèvre bédouine (*Capra hircus*). *Renc. Rech. Ruminants.*, **9** : p154.
55. **Kitay J. I. Coyne M. D. and Swygert N., 1970-** Influence of gonadectomy and replaament with estradiol or testosterone on formation of Si-reduad metabolite of corticosterone by the adrenal gland of the rat. *Endocrinology*, **87**, 1257- 1265.
56. **Kitay JI, 1965** -Coyne MD, Newsom W, Nelson R. Relation of the ovary to adrenal corticosterone production and adrenal enzyme activity in the rat. *Endocrinology*, **77**:902–8.
57. **Kitay JI. 1961** -Sex differences in adrenal cortical secretion in the rat. *Endocrinology*, **68**:818–24.
58. **Kitay JI. 1963a** - Effects of estradiol on pituitary–adrenal function in male and female rats. *Endocrinology*; **72**:947–54.
59. **Lakhdari Y., 2001-** Cycle annuel de la production de glucocorticoïdes surrénaliens chez la chèvre bédouine mâle *Capra hircus*. *Mémoire de Magister*, Alger, 90p.
60. **Lakhdari Y., Amirat Z., Charallah S. et Khammar F., 1993.** - Cycle annuel de la production des glucocorticoïdes surrénaliens chez la chèvre bédouine mâle *Capra hircus*. *Soc. Alg. Endocrnol. Métab.*, 14-15, Avril, Alger.
61. **Leir van E., Meikle A., Bielli A., Akerberg S. Forsberg M., Sahlin L., 2003-** Sex differences in oestrogen receptor levels in adrenal glands of sheep during the breeding season, *Domestic Animal Endocrinology*; **25**, 373-387.
62. **Lettreuche A. 2014-** Etude biochimique et histologique de la surrénale chez la chèvre bédouine « *Capra hircus* » au cours de cycle sexuel, *Mémoire de master*, p43.
63. **Lieberherr M., Grosse B., Kachkache M., Balsan S., 1993** - Cell signaling and estrogens in female rat osteoblasts: a possible involvement of unconventional mononuclear receptors. *J Bone Miner Res.* **8**, 1465-1376.
64. **Lo M-J, Chang L-L, Wang PS. 2000** -Effect of estradiol on corticosterone secretion in ovariectomized rats. *J Cell Biochem*, **77**:560–8.

-
65. **Lobban M. C., 1952** -Structural variations in the adrenal cortex of the adult cat. *J. Physiol.*, **118**: 565-574.
66. **Luconi M., Forti G., Baldi E., 2002**- Genomic and nongenomic effects of estrogen: molecular mechanisms of action and clinical implication for male reproduction, Italy Pieraccini 6, I-50139 Florence (369-381).
67. **Malendowicz L. K., 1974**- sex Différences in Adrenocortical structure and function. II.The effect of postpubertal gonadectomy and gonadal hormone replacement on the Rat Adrenal Cortex evaluated by Stereology at the light Microscope Level. *Cell. Tiss. Res.*, **151** (4): 537-47.
68. **Malendowicz, L.K., Mlynarczyk, W., 1982**. Sex differences in adrenocortical structure and function. X. Lipid and corticosterone in the rat adrenal as affected by gonadectomy and testosterone or estradiol replacement. *Endocrinologie* **79**, 292–300.
69. **Martin P. M., Cochet C., Rolland P. H. and Chambaz E. M., 1977**- Mise en evidence d'une liaison de haute affinité de l'oestradiol dans le tissu corticosurrénalien. *C.R. Acad. Sci., Paris* **284**, 1305-1307.
70. **Martoja R., Martoja M., 1967**. -Initiation aux techniques de l'histologie animal. *Masson(Eds)*, Paris, 345p.
71. **McCormick C.M., Linkroum W., Sallinen B.J., Miller N.W., 2002**. Peripheral and central sex steroids have differential effects on the HPA axis of male and female rats, *Stress* **5**, 235–247.
72. **Miiller R. E. and Wotiz H. H., 1978**- Estrogen-binding protein in mouse and rat adrenal glands. *J. biol. Chem.* **253**, 740-745.
73. **Nerkar A. A., 2009**. - Histoarchitectural alterations in the adrenal gland of the female emballonurid bat, *taphozous longimanus* (hardwicke) during the reproductive cycle. *Journal of Cell and Tissue Research*, **9(3)**: 2005-2011.
74. **Nilsson, S., et al., 2001**. "Mechanisms of estrogen action." *Physiol Rev.* **81**(4): 1535-1565.
75. **Ogishima T., Mitan F., Suematsu M., 2008** –Cytochrome P-45017 in cells of rat pancreas and its local steroidogenesis. *Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* **111**:80-86.
76. **Owen Jr., J.A., 1975**. Physiology of the menstrual cycle. *Am. J. Clin. Nutr.* **28**, 333–338.
77. **Patchev VK, Almeida OFX, 1998**- Gender specificity in the neural regulation of the response to stress: new leads from classical paradigms. *Mol Neurobiol* **16**:63–77.

-
78. **Perry JE, Stalvey JRD. 1992** -Gonadal steroids modulate adrenal fasciculata 3_β-hydroxysteroid dehydrogenase isomerase activity in mice. *Biol Reprod*, **46**:73–82.
79. **Petter F., 1961**- Répartition géographique et écologie des Rongeurs désertiques (du Sahara occidental à l’Iran oriental). *Mammalia.*, **25** : 1-22.
80. **Poutanen M., 1995.** "Regulation of oestrogen action: role of 17β-hydroxysteroid dehydrogenases." *Annals of Medicine* **27**(6): 675-682.
81. **Rainey W.E., 1999**- Adrenal zonation: clues from 11β-hydroxylase and aldosterone synthase. *Mol.Cell. Endocrinol.*, **151** (1-2): 151-160;
82. **Rais-Lain K., 2011** -Etude comparative de l’histologie de la corticosurrénale en phase Claire et sombre au cours des saisons chez deux races ovines d’man et Oued Djatal élevées dans la région d’El-Menia. *Mémoire de master II* (USDB), 84p.
83. **Redei E., Li L., Halasz I., McGivern R.F., Aird F., 1994**- Fast glucocorticoid feedback inhibition of ACTH secretion in the ovariectomized rat: effect of chronic estrogen and progesterone, *Neuroendocrinology*. **60**, 113–123.
84. **Rhodes M. E., Kennell J.S., Belz E.E., Czambel R. K. et Rubin R.T.,2004**- Rat Estrous Cycle Influences the Sexual Diergism of HPA Axis Stimulation by Nicotine. *Brain. Research. Bulletin.*, **64**(3) :205-13.
85. **Ribes A. C., Mohamed F., Dominguez S., Delgado M., Scardapane L., Guzman J., et Piezzi R., 1999** –Probable effect of Photoperiod on seasonal Variation in the Nuclear Volume of the Adrenal Cprtex of Viscacha (*Langostomus maximus maximus*), Brazil. *J. Medic. Biol. Resear. Revis. Brazil. Pesquis. Médica Biol.*, **32** (9): 1115-20
86. **Rivier J, Spiess J, Vale W., 1983.** Characterization of rat hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Proc Natl Acad Sci USA*: **80**-15:4851-5.
87. **Rivier, C.L., Plotsky, P.M., 1986.** Mediation by corticotropin releasing factor (CRF) of adenohipophysial hormone secretion. *Annu. Rev. Physiol.* **48**, 475–494.
88. **Sawchenko PE, Li HY, Ericsson A. 2000**- Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a taie of two paradigms. *Prog Brain Res*; **122**:61-78.
89. **Silva, L.E., Castro, M., Amaral, F.C., Antunes-Rodrigues, J., Elias, L.L., 2010.** Estradiol-induced hypophagia is associated with the differential mRNA expression of hypothalamic neuropeptides. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **43** (8), 759–766.
90. **Simoncini T., Hafezi-Moghadam A., Brazil D.P., Ley K., Chin W.W., Liao J.K., 2000**- Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of the distribution

- of adipose tissue in the rat: II. The effect of ovariectomy and of feeding thyroxine. *J. biol. Chem.* **96** : 313-323.
91. **Simpson E., 2000.** "The role of local estrogen biosynthesis in males and females." *Trends in Endocrinology and Metabolism* **11**(5): 184-188.
 92. **Stocco DM. 2001** -StAR protein and the regulation of steroid hormone biosynthesis. *Annu Rev Physiol*, **63**:193–213.
 93. **Townson DH, Wang XJ, Keyes PL, Kostyo JL, Stocco DM. 1996** -Expression of the steroidogenic acute regulatory protein in the corpus luteum of the rabbit: dependence upon the luteotropic hormone, estradiol-17 β . *Biol Reprod*, **55**: 868–74.
 94. **Tsai, M. J., et al., 1994.** "Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members." *Annu Rev Biochem* **63**: 451-486.
 95. **Vaissaire J.P., 1977.-** Sexualité et reproduction des Mammifères domestiques et de laboratoire. Edité par Maloine SA Paris.
 96. **Vale, W., Spiess, J., Rivier, C., Rivier, J., 1981.** Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and betaendorphin. *Science* **213**- 4514: 1394–1397.
 97. **Vamvakopoulos, N.C., Chrousos, G.P., 1993.** Evidence of direct estrogenic regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression. Potential implications for the sexual dimorphism of the stress response and immune/inflammatory reaction. *J. Clin. Invest.* **92**, 1896–1902.
 98. **Viau V. et Meaney M. J., 1991-** Variations in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress during the estrus cycle in the rat. *Endocrinol.* **129**:2503-2511.
 99. **Viau, V., 2002.** Functional cross-talk between the hypothalamic–pituitary–gonadal and adrenal axes. *J. Neuroendocrinol.* **14**, 506–513.
 100. **Viau, V., Meaney, M.J., 1991.** Variations in the hypothalamic–pituitary–adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* **129**, 2503–2511.
 101. **Viau, V., Meaney, M.J., 1991.** Variations in the hypothalamic–pituitary–adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* **129**, 2503–2511.
 102. **Weigel N. L. 1996-** Steroid hormone receptors and their regulation by phosphorylation. *Biochem J.* **319**, 657-667.
 103. **Weiser, M.J., Handa, R.J., 2009.** Estrogen impairs glucocorticoid dependent negative feedback on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis via estrogen receptor alpha within the hypothalamus. *Neuroscience*, **159**, 883–895.

104. **Weiss and xu, 1990-** Estrogen receptors in the adrenal cortex of the Possum (*Trichosurus vulpecula*), *Comp. Biochem. Physiol.* **96B**, 2, 375-380.
105. **Wolfram, M., Bellingrath, S., Kudielka, B.M., 2011.** The cortisol awakening response (CAR) across the female menstrual cycle. *Psycho-neuroendocrinology* **36**, 905– 912.
106. **Young E.A., Altemus M., Parkison V., Shastry S., 2001-** Effects of estrogen antagonists and agonists on the ACTH response to restraint stress in female rats, *Neuropsychopharmacology.* **25**, 881–891.
107. **Young EA. 1995** -The role of gonadal steroids in hypothalamic–pituitary–adrenal axis regulation. *Crit Rev Neurobiol*, **9**:371–81.

FICHE TECHNIQUE : Coloration topographique au trichrome de MASSON**1- Réactifs:****1.1- Hématoxyline de Groat:** (préparation à froid)

Acide sulfurique concentré.....	0,8 ml
Alun de fer.....	1 g
Eau distillée	50 ml
Hématoxyline	0,5 g
Alcool 95°	50 ml

Laisser reposer pendant une heure et filtrer (conservation pendant trois mois environ)

1.2- Fuchsine acide-Ponceau: (préparation à froid) (Conservation illimitée)

Fuchsine acide	0.1g
Ponceau	0.2g
Eau distillée	300 ml

Après reconstitution et dissolution, ajouter :

Acide acétique	0.6ml
----------------------	-------

1.3- Orange G acide phosphomolybdique: (préparation à froid) (Conservation illimitée.)

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

1.4 - Vert lumière acétique: (Préparation à froid) (Conservation illimitée)

Vert lumière	0.1g
Eau distillée	100 ml

Ajouter après dissolution:

Acide acétique	2 ml
----------------------	------

2 - Mode opératoire:

-Hydrater.

-Colorer par Hématoxyline de Goat pendant 5min.

-Laver à l'eau courante pendant 5min.

-Colorer par le mélange fuchsine Ponceau pendant 4min environ.

-Rincer à l'eau acétifiée à 1% pendant 3min.

-Colorer par l'orange G acide phosphomolybdique pendant 1min.

-Rincer à l'eau acétifiée à 1% pendant 3min.

-Colorer par vert lumière pendant 10 min environ.

-Laver à l'eau acétifiée à 1% pendant 3min.

-Déshydrater et monter à l'Eukitt, puis observation.

3 - Résultat: les noyaux sont colorés en noir, le cytoplasme en rouge le tissu conjonctif en vert.

Matériel requis pour l'histologie



**Etuve de séchage à 58°
de marque Binder**



**Plaque chauffante de
marque Leica**



**Collage des cassettes en
Plastique sur les moules
de métal de marque
tissus –TEK111**



**Microtome de
type SLEE**



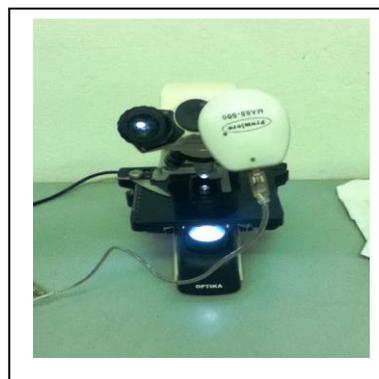
**Bains d'alcool pour la
(ré) et (dés) hydratation**



**Coloration
topographique au
Trichrome de Masson**



**Microscope photonique
de marque Optika**



**Photo-microscope
Premiere MA88-500**

Matériel requis pour IHC

Réactifs :



Chromogène DAB



Kit de révélation
Vectastain



Anticorps primaire
spécifiques du RE

Tampons :



Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)



Solution de démasquage
Tris EDTA, Tris HCl

Matériel



Chambre humide



Cocotte-minute



Micropipettes

Tableau I : variation de la hauteur tissulaire de la surrénale chez la chèvre bédouine au cours des deux saisons

lots expérimentaux	Capsule (µm)	Cortex surrénal (µm)	Zone glomérulée (µm)	Zone fasciculée (µm)	Zone réticulée (µm)
Activité sexuelle	71,1±3,3	1339,74±27,4	190,5±4,87	928,4±24,34	224,4±5,5
Repos sexuel	96,8±7,9	1775,9±66,3	212,97±5,3	1254,5±58,04	311,03±12,6

Tableau II - Différence en pourcentage et signification statistiques des épaisseurs tissulaires du cortex surrénal chez la chèvre bédouine.

	Capsule		Cortex Surrénal		Z. Glomérulée		Z. Fasciculée		Z. Réticulée	
	D%	S	D%	S	D%	S	D%	S	D%	S
Repos/Activité	+36,1	p<0,01	+32,6	p<0,001	+11,8	p<0,01	+35,1	p<0,001	+38,6	p<0,001

Z: zone; D: différence en pourcentage(%); S : signification statistique.

Tableau III- Variation des surfaces cellulaires et nucléaires des trois zones du cortex surrénale chez la chèvre bédouine au cours des deux saisons.

	Zone Glomérulée			Zone Fasciculée			Zone Réticulée		
	SC (µm ²)	SN (µm ²)	RNC	SC (µm ²)	SN (µm ²)	RNC	SC (µm ²)	SN (µm ²)	RNC
Activité	54,5±0,7	21,1±0,3	0,7±0,01	59,6±0,8	20,9±0,3	0,6±0,01	55,8±0,9	19,9±0,3	0,6±0,01
Repos	60,6±0,9	22,8±0,2	0,7±0,01	66,9±0,8	21,6±0,2	0,5±0,01	60,3±0,7	22,1±0,2	0,6±0,01

SC : Surface cellulaire ; SN : Surface nucléaire

Tableau IV- Différence en pourcentage et signification statistiques des trois zones du cortex surrénal chez la chèvre bédouine

	Zone Glomérulée				Zone Fasciculée				Zone Réticulée			
	SC		SN		SC		SN		SC		SN	
	D(%)	S	D(%)	S	D(%)	S	D(%)	S	D(%)	S	D(%)	S
Repos/ Activité	11,3	p<0,001 (***)	8,08	p<0,001 (***)	12,2	p<0,001 (***)	3,1	p=0,06 (***)	8,1	p<0,001 (***)	11,8	p<0,001 (***)

SC : Surface cellulaire ; SN : Surface nucléaire ; D: différence en pourcentage(%) ; S : signification statistique.

Données bibliographiques

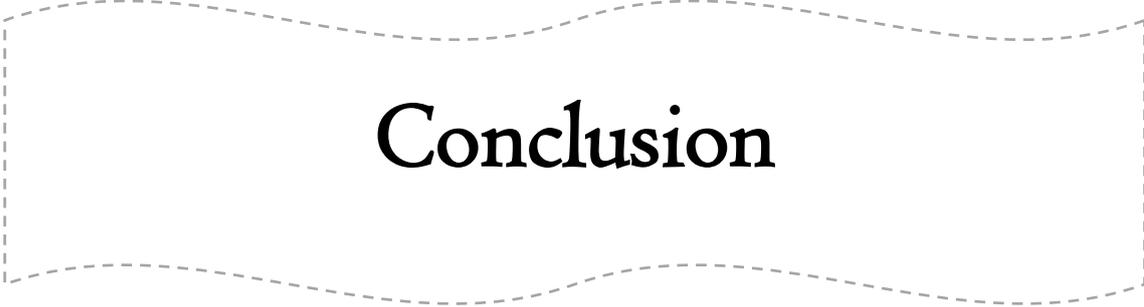
Matériel et méthodes



Résultats



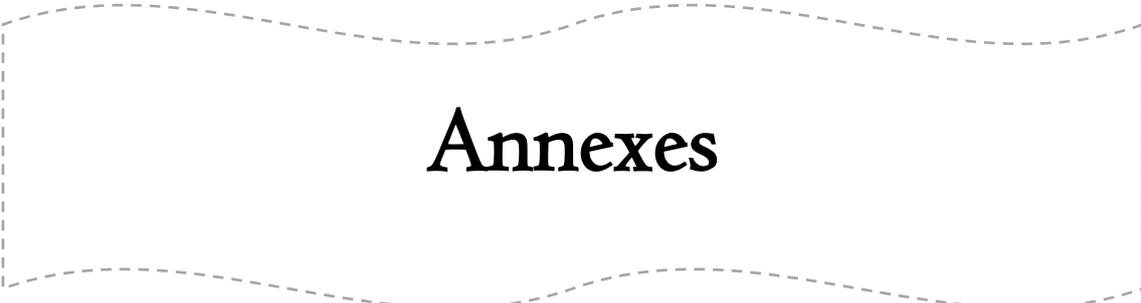
Discussion



Conclusion



Références bibliographiques



Annexes