



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi
Faculté Des Sciences Exactes et Des Science De La Nature et de la Vie
Département Des Science De La Nature et de La Vie

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de « **Doctorat en sciences** »

Option : **Biologie animale**

Thème

**Etude des effets de l'extrait chloro- éthanolique des racines de
Bunium incrassatum sur les modifications histophysiologiques
de la glande surrénale de la lapine gestante**

Préparée par : HAMMOUDI Naoual.

Jury d'évaluation:

Président:

Mr. OULDJAOUI Abedallah Pr Université Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi.

Directrice de thèse :

Mme BOULAHBEL Souad Pr Université Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi.

Examineurs:

Mr. KHELILI Kamel Pr Université Badji Mokhtar Annaba.

Mme. KHIEL Saida MCA. Université Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi.

Mlle. BARHOUCHE Badra MCA. Centre de Recherche en Sciences
Pharmaceutiques, Constantine.

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Au terme de cette recherche, je suis heureuse de pouvoir remercier tous ceux et celles qui m'ont accompagnée et soutenue tout le long de ce travail.

Tout d'abord, Je tiens à remercier DIEU le tout puissant qui m'a donné, durant toutes ces années, le courage et la foi de mener à terme ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance à mon encadreur, Mme BOULEHBEL Souad, professeur à l'université d'Oum El Bouaghi, pour son encouragement, son motivation, son dévouement et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail. Je tiens à lui adresser ma plus profonde gratitude.

Je tiens également à remercier Mr. OULDJAOUI Abedallah, Professeur à l'université Larbi Ben M'Hidi, d'Oum El Bouaghi, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de la thèse, mon profond respect.

Je tiens à adresser mes très sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury : Mr. KHELILI Kamel , professeur à l'université Badji Mokhtar, Mlle. BARHOUCHE Barda, maître de conférences classe A, Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques, Mr. de et Mme. KHIEL Saida, maître de conférences classe A, Université Larbi Ben M'Hidi, Oum El Bouaghi, pour avoir accepté d'examiner cette thèse.

Un grand remerciement à mes amis CHENTOUH Sana et DJEBAILI Hind qui m'ont beaucoup soutenu et aidé à réaliser la partie pratique de ce travail de thèse, je leur dis merci pour les bons moments.

Merci à ma mère qui a toujours présent dans les moments les plus difficiles pour m'aider et pour m'encourager

Dédicaces

Je dédie ce travail à

Ma chère mère pour sa présence et ses encouragements

À mon mari

À mon fils « Ali » et ma fille « Meriem »

*À mes collègues et mes sœurs BOUTALEB Hinda et DJEBAILI Assia
pour leurs soutiens et leurs encouragements*

À mes frères et sœurs et leurs petites familles

À ma belle famille

Que dieu les protèges.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Anatomie de l'appareil reproducteur de la lapine.	09
02	Schéma récapitulatif du contrôle génétique des étapes de la différenciation sexuelle.	10
03	Différenciation des gonades femelles chez plusieurs espèces de mammifères.	12
04	Formation des follicules ovariens.	13
05	Schématisation du déroulement de la folliculogénèse chez la lapine.	15
06	Les différents stades de fécondation.	17
07	Œuf de lapine fécondé.	18
08	Représentation temporelle du coït à l'implantation du blastocyste.	18
09	Migration des embryons dans les cornes puis nidation dans l'endomètre chez la lapine.	19
10	Blastocyste de lapin.	19
11	Évolution de la forme du corps des fœtus de lapin en fonction du temps de gestation.	20
12	Les grandes étapes du développement des membres de fœtus de lapin.	20
13	Développement céphalique de fœtus de lapin.	21
14	Évolution du poids du jeune lapereau au cours de la gestation.	22
15	Coupe transversale d'un sac embryonnaire de lapin au 8 ^{ème} jour de gestation (grossissement x 7,5).	23
16	Circulation dans le placenta de lapin.	23
17	Fœtus, membranes fœtales et placenta à 26 jours de gestation.	24
18	Évolution du taux de 17- β -œstradiol et d'œstrone dans le plasma sanguin au cours de la gestation.	25
19	Structures histologiques de la glande surrénale.	28
20	Anatomie de la glande surrénale.	29
21	La racine de la plante Talghouda « <i>Bunium incrassatum</i> ».	34
22	Protocole de préparation de l'extrait organique	35
23	La poudre et l'extrait organique de <i>B. incrassatum</i> .	36
24	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	38
25	Schéma des étapes de l'immunohistochimie	47
26	Schéma de la révélation par la diaminobenzidine	49
27	Schéma de la technique EN VISION	49
28	Taux d'évolution pondérale des lapines gestante après traitement avec de l'extrait organique des racines de <i>B. incrassatum</i>	54
29	Les cornes utérines d'une lapine au 29j de gestation.	54
30	Les embryons au 29j de gestation.	55
31	Taux de changement des poids embryonnaires.	56
32	Le poids des reins des lapines gestante après traitement avec de l'extrait organique des racines de <i>B. incrassatum</i>	57
33	Effet de l'extrait organique des racines de <i>B. incrassatum</i> sur la cholestérolémie au dernier tiers de gestation des lapines.	58
34	Taux de changement de cholestérolémie chez les animaux expérimentaux	58
35	Effet de l'extrait organique des racines de <i>B. incrassatum</i> sur le niveau sanguin de triglycéride au dernier tiers de gestation des lapines.	59
36	Taux de changement de triglycéride chez les animaux expérimentaux.	59

37	Effet de l'extrait organique des racines de <i>B. incrassatum</i> sur la glycémie au dernier tiers de gestation des lapines.	60
38	Taux de changement de glycémie chez les animaux expérimentaux.	60
39	Les indices érythrocytaires chez les lapines gravides au derniers tiers de gestation traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	63
40	Evolution de CCMH au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	63
41	Evolution des leucocytes au dernier tiers de gestation des lapines traités avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	64
42	Le taux des granulocytes (polynucléaires) chez les lapines gravides au derniers tiers de gestation traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	64
43	Evolution de taux des lymphocytes au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	65
44	Evolution de taux des monocytes au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	65
45	Evolution de taux des plaquettes au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	65
46	Effet de l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> " sur la cortisolémie au dernier tiers de gestation des lapines.	67
47	Taux de changement de cortisol chez les animaux expérimentaux.	67
48	Effet de l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> " sur le taux de progestérone au dernier tiers de gestation des lapines.	68
49	Taux de changement de progestérone chez les animaux expérimentaux.	68
50	Effet de l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> " sur le taux d'œstradiol au dernier tiers de gestation des lapines.	69
51	Taux de changement de l'œstradiol chez les animaux expérimentaux.	69
52	Position de la glande surrénale chez la lapine.	70
53	Taux de changement des poids relatifs des glandes surrénales.	71
54	Taux de changement des poids relatifs des glandes surrénales droite et gauche.	72
55	Taux de changement de l'épaisseur du cortex surrénalien chez les animaux expérimentaux.	73
56	Evolution de l'épaisseur des couches corticales au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	75
57	Taux de changement de l'épaisseur des couches corticales chez les animaux expérimentaux.	75
58	Vue d'ensemble du tissu adipeux et de la capsule entourant la glande surrénale chez la lapine gestante.	77
59	Vue d'ensemble de la glande surrénale chez la lapine gestante témoin.	78
60	La zone glomérule chez les lapines gestantes témoins et traitées.	79
61	La zone fasciculée chez les lapines gestantes témoins et traitées.	80
62	La zone réticulée chez les lapines gestantes témoins et traitées.	82
63	La zone médullaire chez les lapines gestantes témoins et traitées.	83
64	ER Glandes surrénales au dernier tiers de gestation de lapines traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	87
65	Immunolocalisation des ER au niveau de chaque couche de la glande surrénale.	91

66	PR Glande surrénale au dernier tiers de gestation de lapines traitées avec l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> ".	93
67	Immunolocalisation des PR au niveau de chaque couche de la glande surrénale.	97

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Durée du développement folliculaire (en jours) chez différents mammifères.	14
02	Dates d'apparition des différents organes et principaux faits marquants en fonction du stade de gestation chez la lapine.	21
03	L'effet de l'extrait organique des racines du " <i>B. incrassatum</i> " sur l'évolution pondérale des lapines gestantes au troisième tiers de gestation.	53
04	L'effet de l'extrait organique des racines du " <i>B. incrassatum</i> " sur les poids embryonnaires	56
05	L'effet de l'extrait organique des racines de " <i>B. incrassatum</i> " sur les paramètres hématologique FNS des lapines gestantes.	62
06	Les indices de pronostiques et de diagnostiques de la prééclampsie.	66
07	L'effet de l'extrait organique des racines du " <i>B. incrassatum</i> " sur les poids relatifs des glandes surrénales au troisième tiers de gestation.	71
08	Histomorphométrie du cortex surrénalien.	73
09	Histomorphométrie des zones corticales.	74
10	La concentration de la coloration IHC DAB (ER α) dans chaque zone de la glande surrénale.	84
11	Le pourcentage de la surface colorée par IHC DAB (ER α) dans chaque zone de la glande surrénale.	84
12	La concentration IHC DAB (PR) dans chaque zone de la glande surrénale.	92
13	Le pourcentage de la surface colorée par IHC DAB (PR) dans chaque zone de la glande surrénale.	92

Liste des abréviations

AC	L'anticorps secondaire
ACAT	Acyl-Coenzyme A- Cholesterol AcylTransférase
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMH	Hormone anti-müllérienne
CCMH	Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
CHOL	Cholestérol
BCP	β -Caryophyllène
DAB	Diaminobenzidine
DAX1	DNA Sequence Driving Adrenal Cortical Cell-Specific Expression
DEC	Cholestérol alimentaire enrichi
DI	Indice de déformabilité
EDTA	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
ELIFA	Enzyme Linked Immunofluorescent Assay
FSH	Hormone folliculostimulante ou folliculine
GB	Globules blancs
GR	Globules rouges
HCT	Hématocrite
HGB	Hémoglobine
HMG-CoA	HydroxyMéthylGlutary-CoA
Ig	Agantigènes
IHC	Immunohistochimie
Jpc	Jours post-conception
LH	Hormone lutéinisante ou lutéotropines

PLT	Plaquettes
ER	Récepteurs d'œstrogènes
PR	Récepteurs de progestérone
RQ	Solution de blocage des enzymes endogènes
SF1	Steroidogenic Factor 1
SHRSP	Modèle du rat spontanément hypertendu
SOX9	Facteur de transcription dont le gène est porté par le chromosome 17
SRY	Sex-determining Region of Y chromosome
TBS	Tris Buffered Saline
TCMH	Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
TDF	Testis Determining Factor
TG	Triglycérides
VGM	Volume globulaire moyen
WT 1	Wilms Tumor 1

Sommaire

Introduction.....	3
Chapitre I.....	7
Synthèse bibliographique.....	7
Première partie	8
La reproduction chez la lapine	8
1. La maturité sexuelle	8
2. L'appareil reproducteur de la lapine	8
3. La différenciation sexuelle	9
4. Mise en place du stock folliculaire :	11
5. L'activité ovarienne chez la lapine	12
6. Cyclicité de la reproduction chez la lapine	15
7. La gestation chez la lapine	16
8. Les étapes de la gestation.....	16
9. Profil hormonal au cours de gestation	24
9.1. Les œstrogènes.....	24
9.2. La progestérone.....	25
Deuxième partie.....	26
La glande surrénale	26
1. Définition	26
2. Historique.....	26
3. Développement embryonnaire.....	26
4. Rappel histophysiologique.....	27
a. Le cortex :.....	27
b. La médullo-surrénale :.....	28
5. Particularités de la glande surrénale chez le lapin.....	29
6. Développement prénatal et postnatal de la glande surrénale	29
Chapitre II.....	32
Matériels et méthodes	32
1. Matière biologique	33
1.1. Matériel végétal.....	33
a) La famille des Apiacées.....	33
b) Genre <i>Bunium</i>.....	33
c) Description de la plante « <i>Bunium incrassatum</i> ».....	34

d) Constituants chimiques de la <i>Bunium incrassatum</i>	34
e) Récolte de la plante	34
f) Extrait organique	35
1.2. Matériel animal	36
2. Méthodes de traitement	37
3. Sacrifice.....	37
4. Prise du sang	37
5. Analyse des paramètres hématologique	39
5.1. L'hémogramme FNS.....	39
5.2. Paramètres biochimiques.....	39
5.3. Paramètres hormonal	41
6. Études histologiques et immunohistochimie.....	43
6.1. Technique histologique.....	43
6.1.1. Préparation des tissus	43
6.1.2. Les coupes du bloc de paraffine	45
6.1.3. Coloration et montage pour l'étude histologique	45
6.1.4. La lecture histologique	45
6.2. La technique immunohistochimique	46
6.2.1. Déparaffinage ou réhydratation :	47
6.2.2. Blocage des peroxydases endogènes.....	48
6.2.3. Application de l'anticorps primaire.....	48
6.2.4. Application de l'anticorps secondaire	48
6.2.5. La révélation par la diaminobenzidine (DAB)	48
6.2.6. La contre-coloration.....	49
6.2.7. Le montage	50
6.2.8. La lecture	50
7. Logiciel ImageJ.....	50
8. Etude statistique	50
Chapitre III	52
Résultats et discussion	52
1. L'effet du traitement sur le déroulement de la gestation	53
2. L'effet du traitement sur l'évolution pondérale des lapines gestantes	53
3. L'effet du traitement sur les lapereaux	54
4. L'effet du traitement sur le poids des lapereaux	56
5. L'effet du traitement sur le poids des reins	57
6. L'effet du traitement sur les paramètres hématologiques :.....	58

6.1.	L'effet du traitement sur les paramètres biochimiques	58
6.2.	L'effet du traitement sur l'hémogramme des lapines gestantes	61
6.2.1.	L'effet du traitement sur les indices érythrocytaires	63
6.2.2.	L'effet du traitement sur les leucocytes (les globules blancs)	64
6.2.3.	L'effet du traitement sur les plaquettes.....	65
6.3.	L'effet du traitement sur les paramètres hormonaux	67
6.3.1.	Cortisol	67
6.3.2.	Progestérone	68
6.3.3.	Œstradiol	69
7.	L'effet du traitement sur la glande surrénale	70
7.1.	Anatomie de la glande surrénale.....	70
7.2.	L'effet du traitement sur les poids relatifs de la glande surrénale :.....	71
7.3.	L'effet du traitement sur l'histomorphométrie du cortex surrénalien.....	73
8.	L'effet du traitement sur l'histomorphométrie des zones corticales	74
9.	L'effet du traitement sur l'histologie de la glande surrénale.....	76
9.1.	L'effet du traitement sur la couche glomérulée.....	79
9.2.	L'effet du traitement sur la couche fasciculée	80
9.3.	L'effet du traitement sur la couche réticulée.....	82
9.4.	L'effet du traitement sur la couche médullaire.....	83
10.	L'étude immuno-histochimique de la glande surrénale	84
10.1.	L'effet du traitement sur l'immunomarquage et l'immunoexpression des ER au niveau de la glande surrénale	84
10.2.	L'effet du traitement sur l'immunolocalisation des ER au niveau de la glande surrénale	86
10.3.	L'effet du traitement sur l'immunomarquage et l'immunoexpression des PR au niveau de la glande surrénale	92
10.4.	L'effet du traitement sur l'immunolocalisation des PR au niveau de la glande surrénale	93
	Discussion	98
	Conclusion et Perspective	108
	Références bibliographiques	111

Introduction

Introduction

Bunium est un genre de plantes de la famille des Apiacées comprenant 48 espèces. Il est présent surtout en Asie tempérée, en Europe et en Afrique du Nord. Les tubercules de certaines espèces sont comestibles (Chauvet Michel., 1948-), Jassbi *et al* (2005) ont signalé que les espèces du genre *Bunium L* sont des plantes aromatiques ayant des propriétés médicinales. Leurs huiles essentielles ainsi que leurs graines sont souvent utilisées dans l'alimentation et la médecine.

Bunium incrassatum, connue localement sous le nom de «Talgouda», ou gland de terre, est une plante médicinale économiquement importante qui pousse dans le nord de l'Algérie. Les racines de cette plante sont assez nutritives et sont généralement consommées comme des pommes de terre.

Cette espèce est largement utilisée, elle évoque pour certains une source alimentaire remarquable mais pour d'autres elle est un symbole de misère qui rappelle la famine (1866-1868) des années de disette en particulier au cours et durant les années de la deuxième guerre mondiale et aussi durant la période de révolution nationale (1954-1962). De nos jours, elle est évoquée par de rares collecteurs mais elle est souvent présente chez les herboristes pour son intérêt et l'usage thérapeutique. Cette plante cache une qualité nutritive exceptionnelle et peut avoir un double intérêt pour sa valorisation. Elle peut être considérée comme une culture bien adaptée pour les régions de montagnes et constitue un trésor à exploiter pour le traitement du goitre et le dysfonctionnement de la thyroïde (Boumediou et Addoun, 2017).

Dans le système de médecine indigène, les tubercules séchés et réduits en poudre sont considérés comme astringents et anti diarrhéiques et s'avèrent utiles contre les hémorroïdes inflammatoires. En outre, cette plante est utilisée pour le traitement des bronchites et de la toux (Bousetla *et al*; 2011). Selon les tradipraticiens de notre région (nord-est algérien), *B. incrassatum* est utilisé également dans le but d'augmenter le poids et la sécrétion laitière de quelques animaux d'élevage. L'étude de la composition chimique des graines de *B. incrassatum* a permis de mettre en évidence la présence de coumarines scopoletin, de Beta-Sitostérol, de saccharose et d'acide oléique (Bousetla *et al*; 2015). Des études phytochimiques antérieures de cette espèce ont montré que cette plante accumule plus de 45 composés qui entrent dans la composition chimique de l'huile essentielle (Bousetla *et al*; 2014).

Sur la base des usages tradithérapeutes, de nombreux auteurs ont essayé d'approfondir les connaissances sur les plantes médicinales et leur impact sur les paramètres biologiques y

compris les paramètres de reproduction (Diel P *et al* ; 2002, Magee et Rowland ; 2004, Balé Bayala *et al* ; 2006).

C'est dans ce cadre que notre équipe de recherche du Laboratoire des Biomolécules Végétales et Amélioration des Plantes a entrepris depuis 2012 des recherches sur l'impact de l'extrait organique de cette plante médicinale sur les paramètres de reproduction chez les mammifères en général et spécialement chez le lapin, qui représente une espèce considérée à la fois comme animal domestique, animal de compagnie et un modèle de recherche. Chentouh *et al* ; (2017) ont démontré que les composants de *B. incrassatum* peuvent, à des doses spécifiques, avoir un effet positif sur certains troubles hématologiques et paramètres de reproduction et un effet négatif à des doses élevées. Cependant, dans la limite de nos connaissances à ce jour, nous ne disposons d'aucune recherche relative à l'impact de cette plante chez la lapine gestante. Ce phénomène est un stade physiologique normal qui affecte considérablement la fonction de plusieurs organes y compris la surrénale, en modifiant leur métabolisme, en raison de l'augmentation de leurs besoins. La glande surrénale représente la cible privilégiée de multiples stimuli qui lui permettent de donner à chaque situation physiologique ou pathologique une réponse neurohormonale. De par sa position et son fonctionnement au carrefour des voies nerveuses et vasculaires, elle a la propriété d'intervenir directement dans le maintien de l'homéostasie des grandes fonctions. Hussein (2005) a écrit que les glandes surrénales sont considérées comme les glandes endocrines les plus importantes en raison de leur implication dans les principales fonctions biologiques chez les animaux. Chez les mammifères cette glande est composée de deux parties bien distinctes du triple point de vue embryologique, histologique et physiologique. La partie externe est le cortex surrénal d'origine mésodermique qui entoure la partie profonde, la médullosurrénale d'origine ectodermique. Ces deux parties se sont combinées au sein d'une capsule de tissu conjonctif commune au cours du développement embryonnaire (Dellmann ; 1993, Raviola ; 1994, Junqueira et Carneiro ; 2005). La structure de cette glande dépend de l'espèce, de l'âge, du sexe, de la saison et de l'état de l'organisme (Boshier et Holloway ; 1989, Nagral *et al* ; 1991). L'adaptation endocrinienne à la gestation implique des changements dans les activités comme l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et rénine-angiotensine-aldostérone qui sont indispensables au bon déroulement de la gestation. Les troubles de la glande surrénale peuvent impliquer la sécrétion d'une quantité trop faible ou trop importante des hormones.

Au cours de ces dernières années de nombreuses études se sont intéressées aux différentes perturbations, qui peuvent menacer l'organisme et que les réponses aux agressions sont très variables.

De ce qui précède, nous nous sommes posé quelques questions qui ont orienté notre recherche. On voudrait savoir si cette plante peut affecter le développement embryonnaire et les modifications physiologiques de la lapine gestante. Pour atteindre cet objectif, nous allons étudier de façon spécifique, les effets de l'extrait organique de cette plante sur quelques paramètres hématologiques, biochimiques, hormonaux et, spécifiquement, les changements histophysiologiques de la glande surrénale des lapines gestante de la population locale.

Cette thèse se compose de trois chapitres. Le premier chapitre est réservé à la partie bibliographique. Dans le deuxième chapitre, nous présentons le matériel et les méthodes utilisées. Dans le troisième chapitre, nous présentons les résultats avec une discussion et nous finirons par une conclusion générale.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Première partie

La reproduction chez la lapine

La préservation des espèces est assurée par la reproduction. Chez les mammifères cette fonction comprend différents processus : un développement folliculaire qui se termine par l'ovulation chez la femelle et de la spermatogenèse chez le male puis de la fécondation à l'implantation, à la mise bas et enfin la lactation. Toutes ces activités sont assurées par une maturité morphophysiological de l'axe hypothalamo hypophysaire gonade. L'âge de la mise en reproduction correspond à l'âge de la maturité sexuelle.

1. La maturité sexuelle

La maturité sexuelle est une étape, au cours de laquelle l'organisme acquiert la capacité de se reproduire. Chez les lapins, l'âge de la mise en reproduction varie en fonction du sexe, des races, du poids des animaux. Lebas *et al* (2006) ont rapporté que la mise en reproduction des lapines s'effectue lorsqu'elles atteignent 3/4 de leur poids adulte. Elles peuvent accepter l'accouplement pour la première fois à l'âge de 10-12 semaines. Cependant, cela ne correspond pas réellement à la maturité sexuelle ou puberté car en général il n'y pas ovulation. En effet, on définit par maturité sexuelle chez la lapine, le moment où elle aura la capacité d'ovuler en réponse à l'accouplement pour la première fois. Zerrouki-Daoudi (2006) a signalé que la mise en reproduction des lapines dépend de leur poids, lui-même lie au mode d'alimentation et que la fertilité féminine est marquée la différenciation gonadique ainsi que la maturité de l'axe hypothalamo-hypophysaire-ovaire.

2. L'appareil reproducteur de la lapine

Du point de vue anatomique l'appareil reproducteur de la lapine (figure 01) est composé de deux ovaires ovoïdes de 1 à 1.5 cm de longueur qui ont un double rôle : la production d'ovules et la biosynthèse des stéroïdes (Fromont et Tanaguy ; 2001). L'utérus chez la lapine est duplexe qui est représenté par deux cornes de longueur de 7cm pour chacun et débouchant sur le vagin par un conduit cervical, les cornes sont réunies en un seul corps. Mais, elles ne sont pas en communication entre elles donc, deux cols distincts de 2cm pour chacun (Boussit ; 1989).

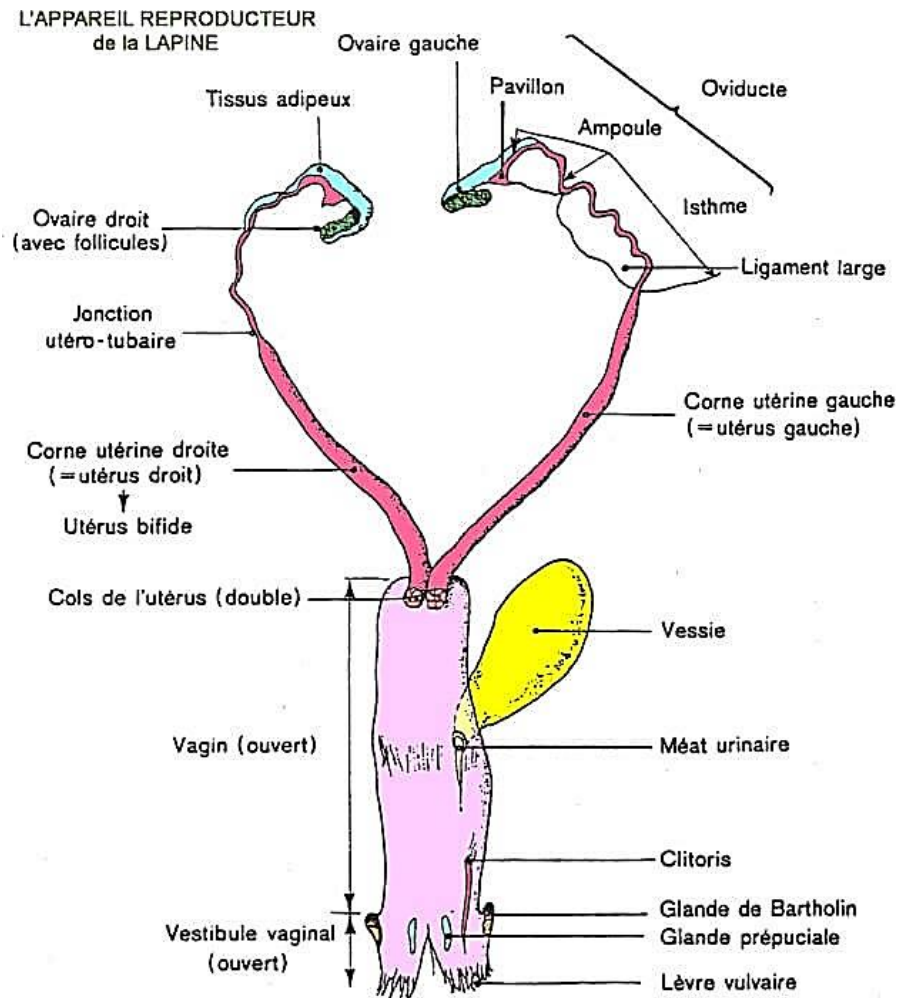


Figure 01 : Anatomie de l'appareil reproducteur de la lapine (Lebas ; 2000)

L'appareil génital décrit précédemment se met en place grâce à de nombreuses évolutions. La première étape, commune aux mâles et aux femelles, est la différenciation sexuelle.

3. La différenciation sexuelle

La différenciation sexuelle est l'ensemble des mécanismes qui conduit à la formation définitive de tous les organes de l'appareil. La première phase de cette différenciation est l'établissement du sexe gonadique ; qui est sous contrôle génétique et dépend de la présence ou l'absence du SRY. Suite à l'action de ce gène une cascade d'autres gènes sont impliqués (figure 02).

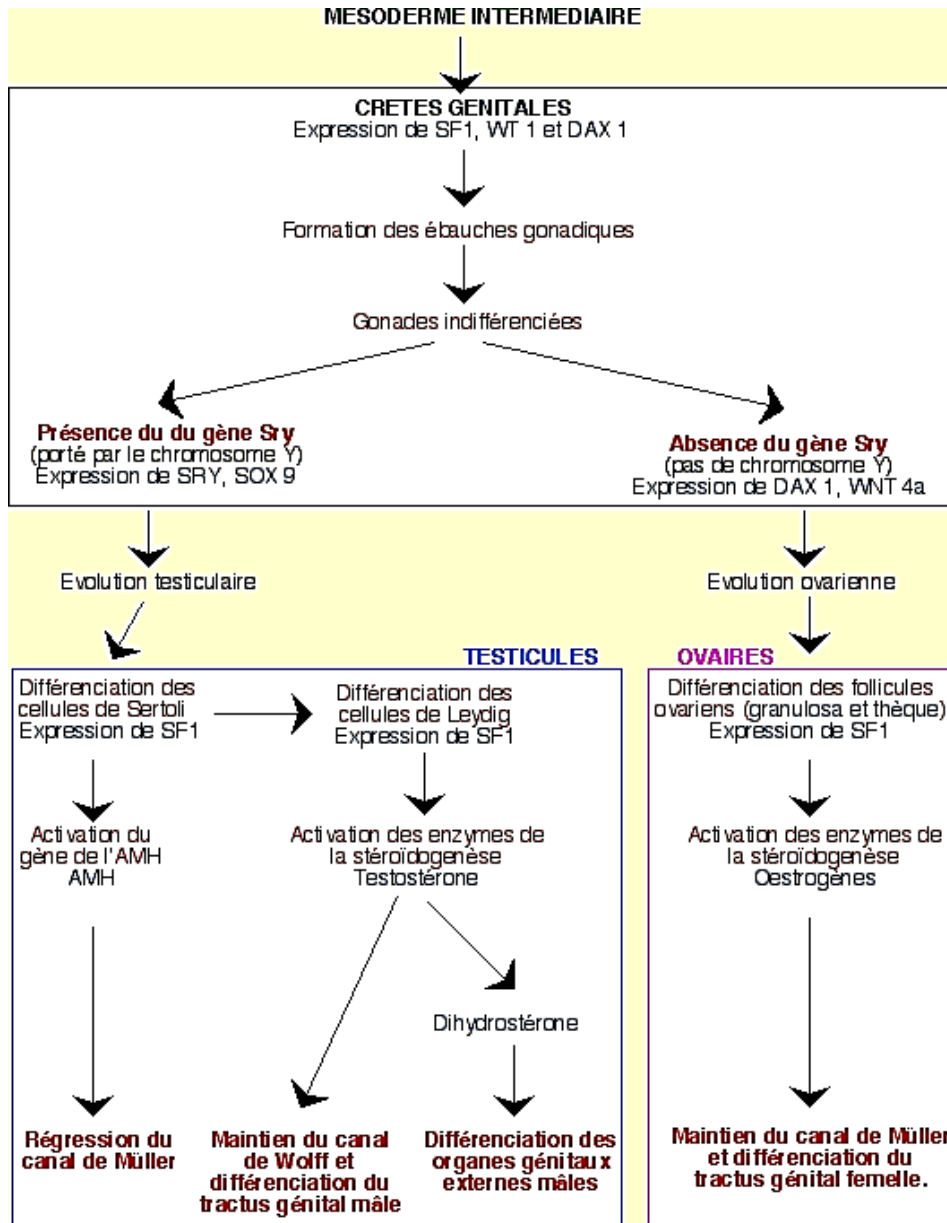


Figure 02. Schéma récapitulatif du contrôle génétique des étapes de la différenciation sexuelle (Furelaud *et al* ; 2010)

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMH : Hormone anti-müllerienne

DAX1 : DNA Sequence Driving Adrenal Cortical Cell-Specific Expression

HMG : High Mobility Group

SF1 : Steroidogenic Factor 1

SOX9 : Facteur de transcription dont le gène est porté par le chromosome 17

SRY : Sex-determining Region of Y chromosome

TDF : Testis Determining Factor

WT 1 : Wilms Tumor 1

La deuxième phase est l'établissement du tractus qui a commencée au cours de la vie fœtale, et se termine à la puberté. Chez la lapine, la différenciation des gonades commence le 16^{ème} jour suivant la fécondation. Au cours de la vie intra-utérine, les gonades indifférenciées sont composées de deux lignées cellulaires somatiques différentes plus les cellules de la lignée germinale. Les cellules somatiques au niveau du gonade présentent un double potentialité, et ce sont les gènes impliqués dans la détermination du sexe qui vont orienter ces lignées cellulaires vers une voie de différenciation donnée. On distingue ainsi :

- ✓ Les cellules de soutien, qui est à l'origine des cellules de Sertoli chez le mâle et des cellules folliculaires (granulosa) chez la femelle. Ces cellules sont dites de soutien car elles vont permettre la croissance et la maturation des cellules germinales.
- ✓ Les cellules stéroïdogènes, qui évoluera en cellules de Leydig chez le mâle et en cellules des thèques chez la femelle (Capel ; 2000).

4. Mise en place du stock folliculaire :

Chez tous les mammifères, la formation des follicules primordiaux commence pendant la période intra utérine .Chez la lapine, les premières divisions ovogoniales sont observées 10 jours avant la naissance (Figure 03). Contrairement à la plupart des mammifères (brebis, vache...). Salvetti (2008) a démontré que le stock de follicules primordiaux chez la lapine n'est pas déterminé pendant la vie fœtale mais s'établit pendant la période néonatale, lors des jours qui suivent la naissance. L'importance du stock folliculaire ainsi constitué dépend de l'espèce de la race, de l'individu, de l'âge, du niveau hormonal ou du statut de reproduction (Driancourt *et al* (1991a). Cette réserve folliculaire décline progressivement au cours de la vie de l'animal.

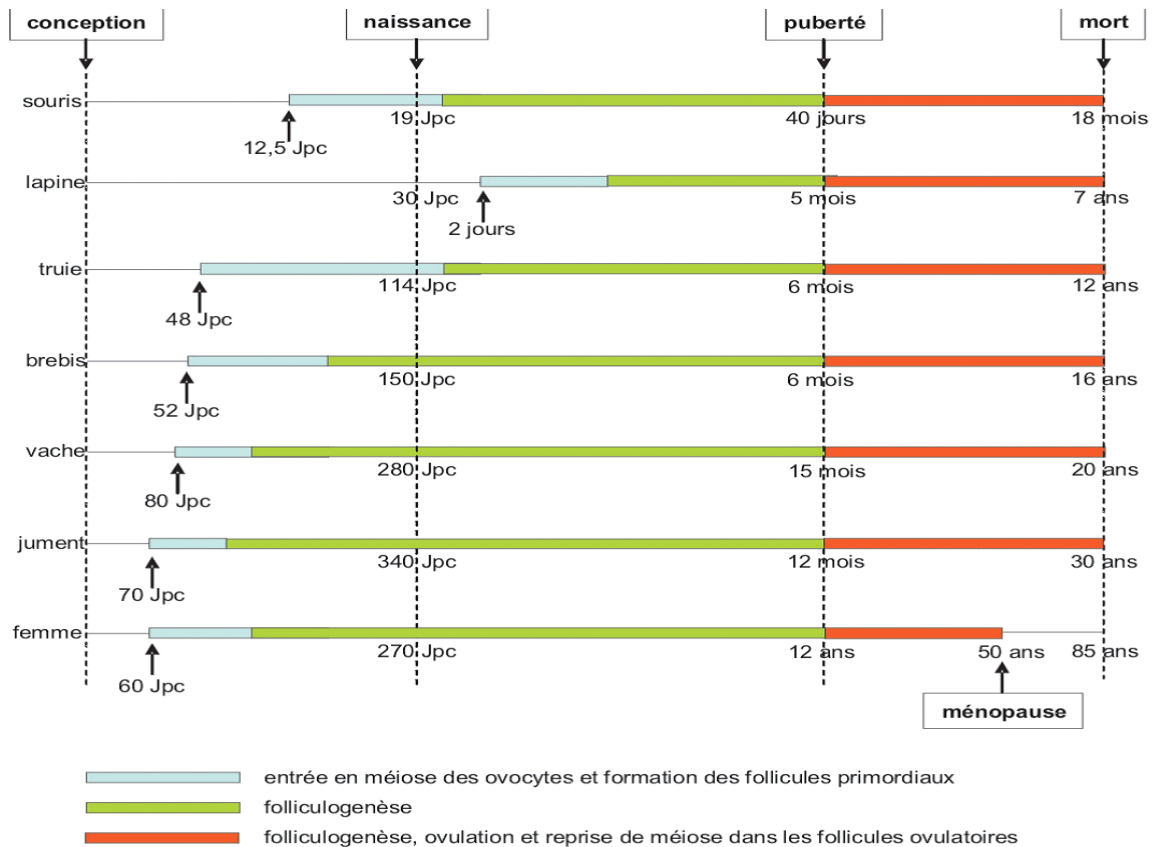


Figure 03. Ovogenèse et folliculogénèse au cours de la vie chez différents mammifères. (Mauléon 1969, Monniaux *et al* ; 1997).

Jpc : Jours post-conception.

5. L'activité ovarienne chez la lapine

A. Croissance folliculaire chez la lapine

Le follicule ovarien représente l'unité fonctionnelle ovarienne, il est constitué de la cellule sexuelle féminine l'ovocyte, entourée par cellules épithéliales : les cellules folliculaires puis de cellules issues du stroma ovarien : les thèques. Entre les cellules folliculaires et le stroma s'installe une lame basale appelée membrane de Slavjanski.

Le follicule et l'ovocyte entretiennent de liens étroits. Le follicule apporte à l'ovocyte un microenvironnement nécessaire à sa croissance ainsi qu'à l'acquisition de sa compétence à la fécondation et au développement embryonnaire (Gordon ; 2003). À l'inverse, l'ovocyte joue un rôle important dans le développement folliculaire, Knight et Glister (2006) montrent ainsi les liens indissociables entre ovogenèse et folliculogénèse (Monniaux *et al* ; 2009).

B. La formation des follicules ovariens

La formation des follicules résulte de la fragmentation des cordons ovigères qui débute à l'interface de la médulla et du cortex puis remonte vers l'épithélium de surface de l'ovaire (figure 04). Cette période de régression des cordons ovigères et de formation des follicules est aussi associée à une atresie massive des cellules germinales, toutes celles n'étant pas suffisamment entourées de cellules somatiques vont dégénérer (Jameson *et al*; 2012). Les follicules primordiaux ainsi formés constituent le stock de follicules disponibles tout au long de la vie de reproduction de la femelle

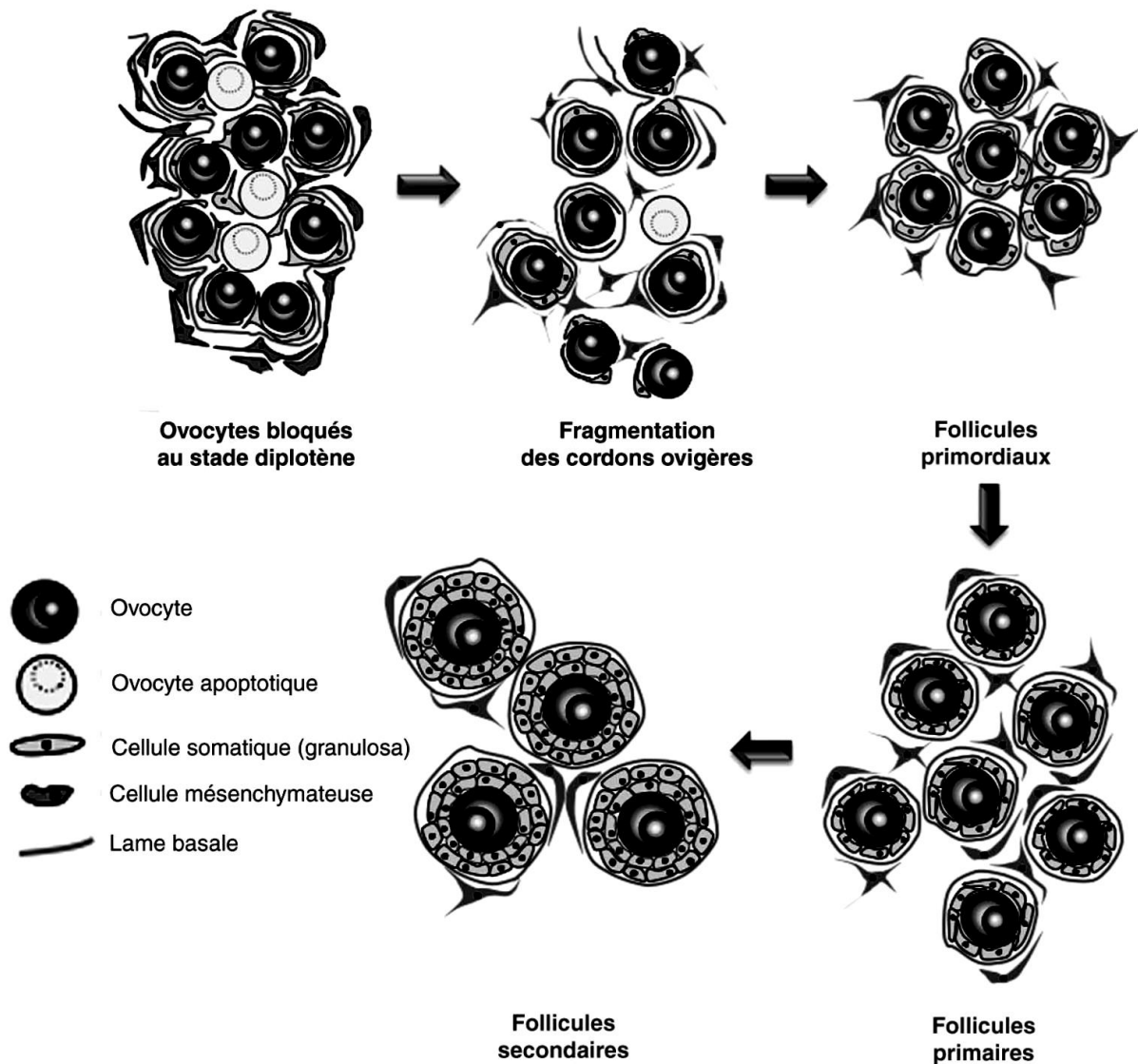


Figure 04. Formation des follicules ovariens (Pailhoux *et al* ; 2014)

C. Le développement folliculaire

Le développement folliculaire ou folliculogénèse est un processus continu qui débute au stade fœtal par le démarrage de la croissance du follicule primordial et se termine après la puberté par l'ovulation pour une très faible proportion de follicule stockées car plus de 99% des follicules en croissance vont dégénérer (atrésie). Chez la lapine, la durée totale de la croissance folliculaire a été estimée à 2 mois (Monniaux *et al* ; 1996) (Tableau 01).

Tableau 01. Durée du développement folliculaire (en jours) chez différents mammifères. (Monniaux *et al* ; 2009).

Espèce	Durée totale du développement folliculaire	Durée du développement des follicules à antrum
Souris, Rate, Hamster	19 à 22	3 à 4
Lapine	97	10
Brebis	180	44
Vache	ND	22 à 42
Jument	120	35
Femme	>200	50

Cette croissance folliculaire se déroulerait en deux phases avec une première phase où le développement des follicules est lent (les follicules passeraient de 100 à 200 μm en 76 jours) et une deuxième phase au cours de laquelle la croissance s'accélère lorsque les follicules se creusent d'une cavité antrale pour arriver au stade préovulatoire (durée de 21 jours) (Salveti ; 2008), les premiers follicules à antrum vers 65-70 jours. En parallèle de ces évolutions cellulaires, la croissance des organes sexuels se poursuit, mais nettement moins vite que celle du reste du corps : les ovaires notamment ne commencent significativement à se développer qu'à partir de 50 à 60 jours.

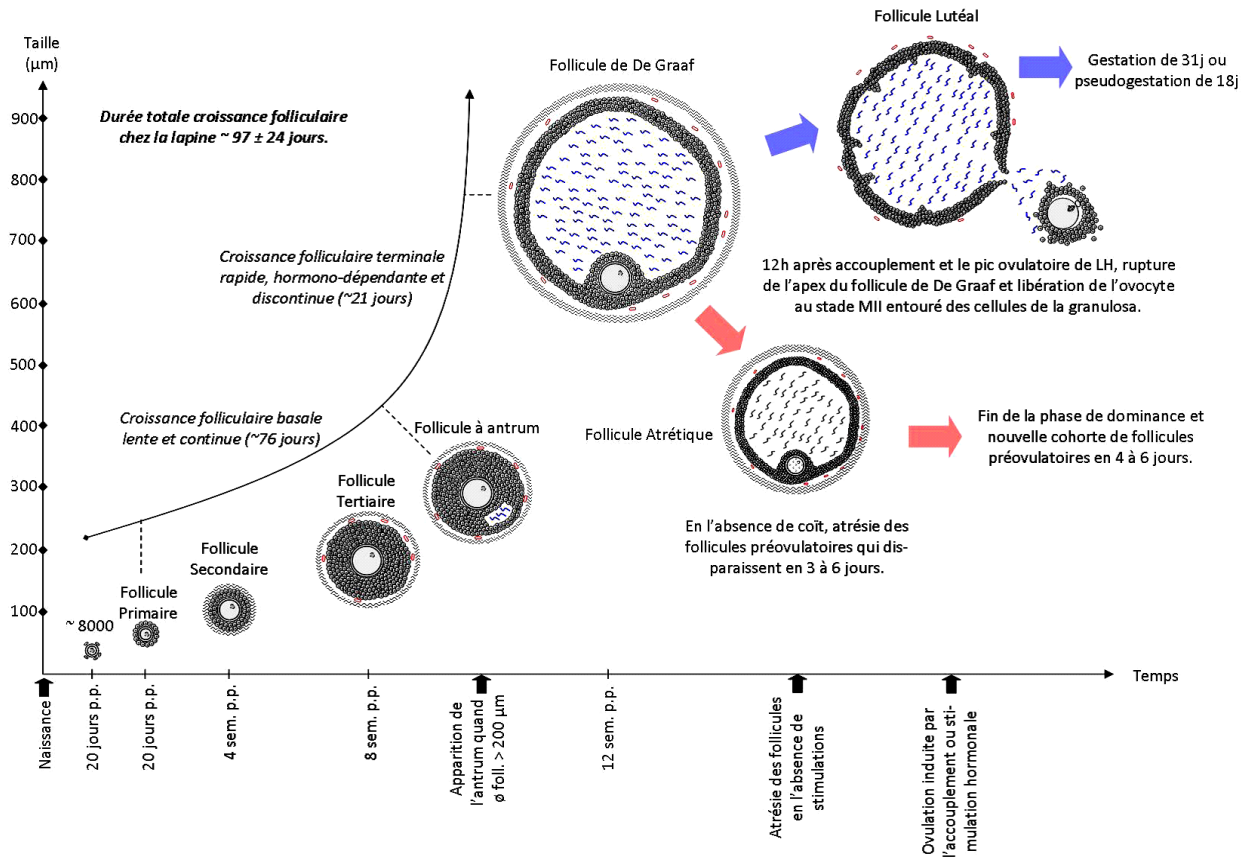


Figure 05. Schématisation du déroulement de la folliculogénèse chez la lapine (Salvetti ; 2008)

6. Cyclicité de la reproduction chez la lapine

Les lapines, comme les chattes, ne présentent pas de cycle œstral net. On n'observe pas l'apparition de chaleurs à intervalle de temps régulier, au cours desquelles l'ovulation a lieu spontanément. Chez elles, l'ovulation est provoquée par des stimuli nerveux et hormonaux lors de l'accouplement. Elles sont donc considérées en œstrus quasi-permanent, c'est-à-dire sexuellement réceptives en quasi-permanence. Cependant il existe une certaine variation de la réceptivité sexuelle de la lapine. En effet, elle présente des courtes phases où elle refuse l'accouplement : on parle alors de phase de diœstrus et la lapine est dite « non-réceptive ». (Donnelly ; 2004)

a) L'accouplement

Les femelles acceptent l'accouplement vers l'âge de 10 ou 12 semaines sans arriver à être véritablement fécondées et conduire à une gestation ; Parez(1994), Lebas *et al* (1996) ont bien déterminé que selon la race et la taille ; les lapines peuvent être vraiment fécondées à partir de 16 à 32 semaines.

b) L'ovulation :

L'ovulation chez la lapine est une ovulation provoquée. Contrairement à la plupart des mammifères domestiques chez lesquels l'ovulation a lieu spontanément à des intervalles réguliers au cours de la période d'œstrus (ou communément appelé Chaleurs), la lapine ne présente pas de cycle estrien. Elle est considérée en œstrus plus ou moins permanent, et l'ovulation ne se produit que lors ce qu'il y a un accouplement (Parez ; 1994). Elle est induite par les stimuli associés au coït (Lebas ; 1996).

7. La gestation chez la lapine

La durée de gestation chez la lapine est généralement de 30-33 jours. Cette durée varie selon l'effectif de la portée (Lebas, 2018). Elle est parfois prolongée à (33-34 jours) quand il n'y a que 1 à 3 lapereaux, et souvent des morts nés (Lebas ; 1994, Lebas ; 2002). Selon Marai *et al* (2004) et Tuma *et al* (2010), la durée de gestation pourrait être affectée par la parité de la lapine dans la mesure où entre la quatrième et la cinquième mise bas, la durée de gestation est en moyenne de 31 jours. Xiccato *et al* (2004) quant à eux, ont observé qu'à la troisième parité ; la durée de gestation est, tout de même, plus longue en comparaison avec la première ou la deuxième parturition mais que l'effet est non significatif. Ainsi la relation déjà existante entre la période de gestation et l'ordre de parité pourrait être étendue à la taille de portée. Plus la lapine avance dans l'âge, plus la taille de la portée augmente, avec des corrélations négatives élevées (Tuma *et al* ; 2010). Au cours de la gestation, les femelles reproductrices subissent de grandes variations dans la composition corporelle, les dépôts de tissus de réserve et d'énergie.

8. Les étapes de la gestation

a) La fécondation

La fécondation est un phénomène essentiel qui crée un nouvel organisme et lui confère ses caractéristiques (Anne *et al*; 1967).

A la rupture des follicules, le pavillon de l'oviducte entoure l'ovaire afin de favoriser la récupération des ovocytes libérés. La viscosité du cumulus entourant les ovocytes, associés à une activité sécrétoire maximale de l'épithélium de l'oviducte autour de l'ovulation, permet la progression du complexe cumulus-ovocyte vers le lieu de la fécondation, c'est-à-dire vers la partie distale de l'ampoule, près de l'isthme.

En parallèle, les spermatozoïdes sont déposés dans la partie supérieure du vagin, près de l'entrée des cols utérins. Ils doivent remonter ensuite le long de l'utérus en passant les obstacles du col utérin et de la jonction utéro-tubulaire au cours desquels seulement 1% des spermatozoïdes de départ survivent et ils subissent alors la phase de maturation appelée capacitation, qui les rend aptes à féconder les ovocytes. Ensuite seulement une vingtaine par ovocyte atteint rapidement l'ampoule, en général 1 heure 30 à 2 heures après l'émission des ovocytes. La pénétration d'un spermatozoïde entraînant le durcissement de la zone pellucide, aucune pénétration polyspermiq ue n'est possible (Salissard ; 2013).

L'heure de l'ovulation a été estimée en moyenne à 10^h30 après l'accouplement. Dans la fécondation retardée in vivo chez la lapine, l'âge de l'œuf au moment de la fécondation a été déterminé en admettant que la durée de maturation des spermatozoïdes était le seul facteur à considérer, le transport des spermatozoïdes demandant un temps inférieur à celui de la « capacitation ». Ce temps de maturation a été arbitrairement fixé à 10 heures. (Anne *et al*, 1967).

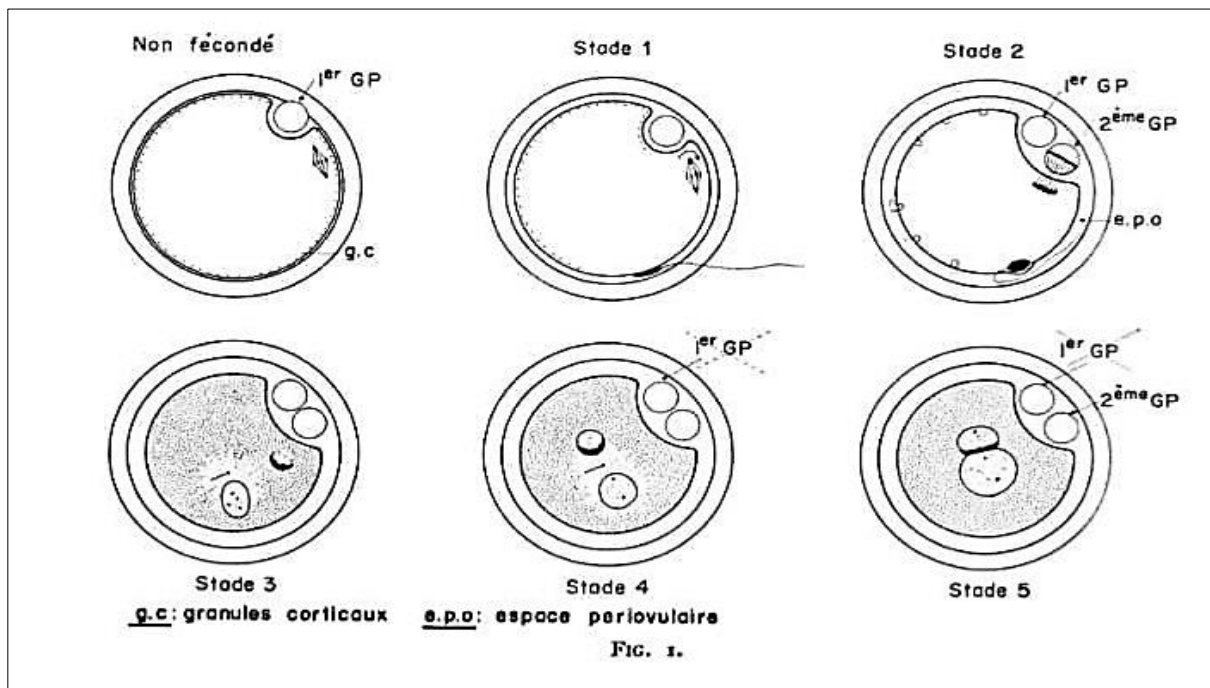


Figure 06. Les différents stades de fécondation (Fléchon et Thibault ; 1964).

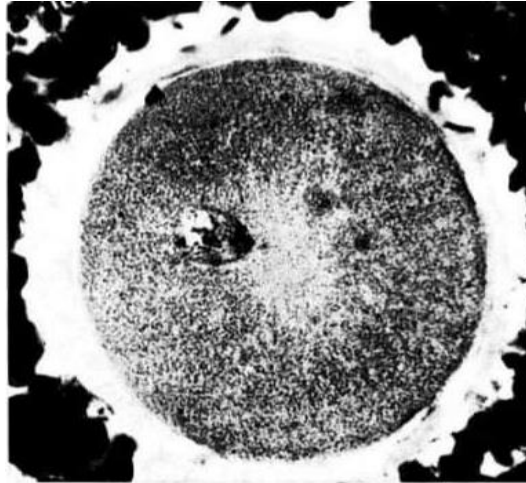


Figure 07. Œuf de lapine fécondé (Anne *et al* ; 1967).

b) La segmentation

Après la fécondation, l'ovocyte qui commence à se diviser pendant la traversée de l'oviducte, arrive dans l'utérus 48 à 50 heures après : il est alors un amas cellulaire indifférencié appelé morula (Lebas ; 2002) (figure 08).

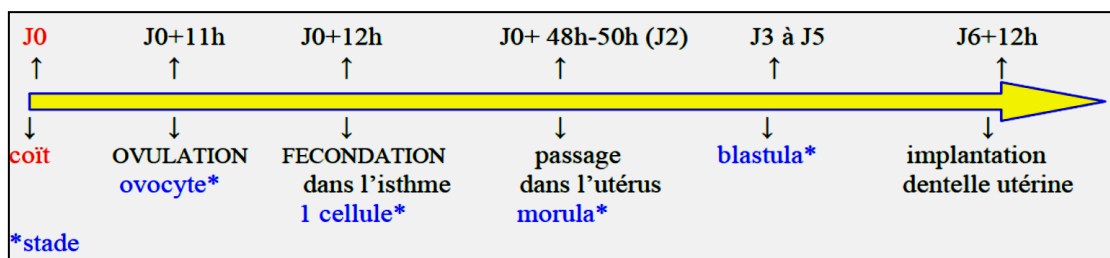


Figure 08. Représentation temporelle du coït à l'implantation du blastocyste, d'après les communications personnelles de Chesne P (Thibault, 1967).

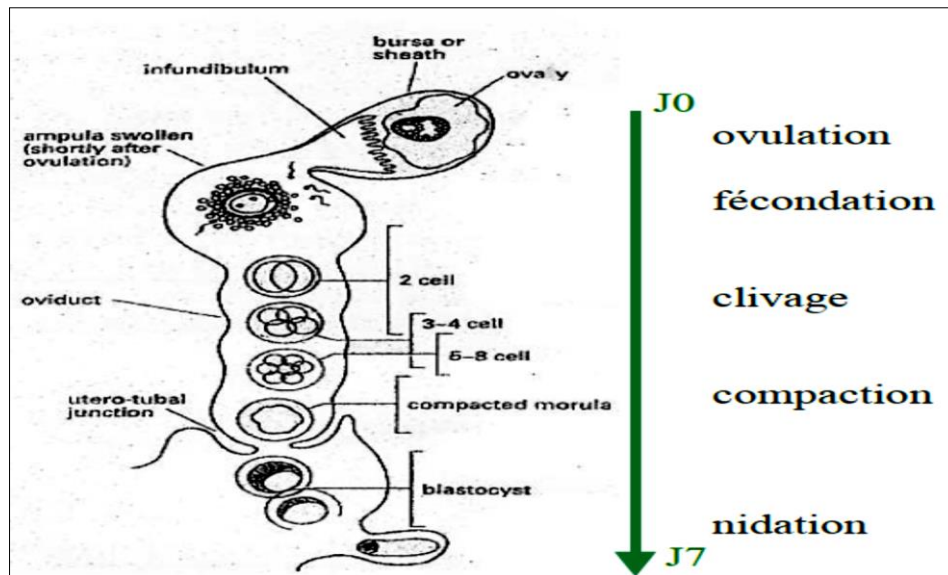


Figure 09. Migration des embryons dans les cornes puis nidation dans l'endomètre chez la lapine (Lefrancois et Tiret, 2000).

Ces cellules commencent à sécréter un liquide qui s'accumule au centre et constitue une cavité, le blastocœle (figure 09 et 10). Ces blastocystes sont formés d'une cavité, le cœlome ou sac vitellin, et d'un disque embryonnaire situé à un pôle. L'ensemble est entouré d'une couche de cellules formant le trophoblaste ou trophoctoderme et le tout est enveloppé par une zone pellucide acellulaire. L'ensemble est parfois recouvert d'une sorte de sécrétion albumineuse produite par le tractus femelle (Lebas ; 2002).

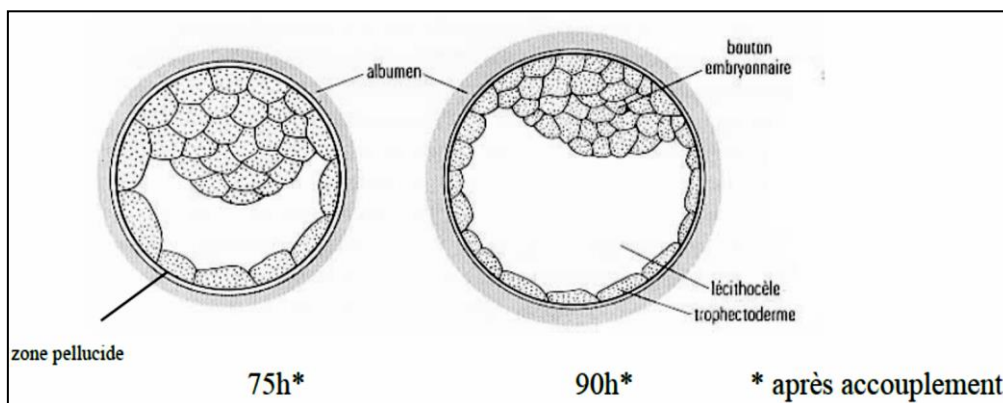
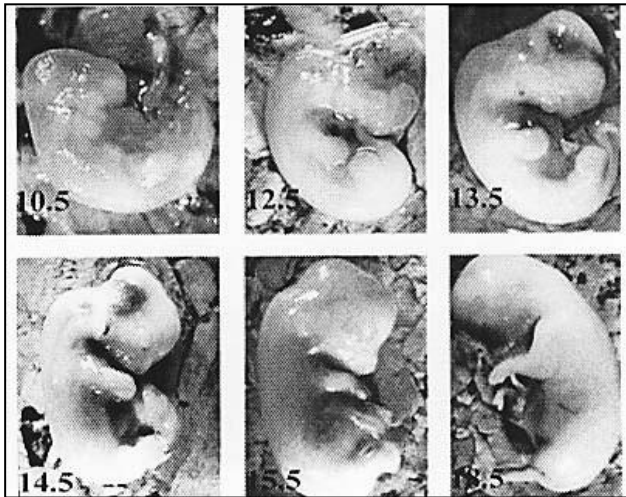


Figure 10. Blastocyste de lapin (Houillon ; 1967).

c) Développement embryonnaire

L'embryon commence à s'allonger dès le 8^{ème} jour de gestation ; puis au 11^{ème} jour, la tête devient dominante en taille et les membres s'allongent. A partir du 19^{ème} jour (fin de

l'organogénèse), les membres sont bien formés et le museau s'allonge : on passe alors de l'embryon au fœtus. Le fœtus commence à ressembler à un lapereau entre le 19 et 22^{ème} jour (Beaudoin *et al* ; 2003) (figure 11).

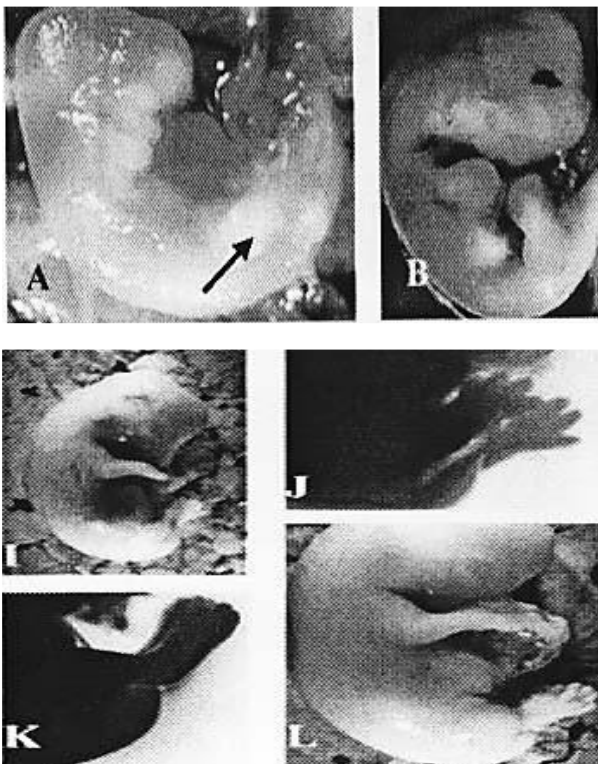


De J 10,5 à J 13,5 :
L'incurvation dorsale augmente.

De J 15,5 à J 18,5 :
Allongement du corps.

À J 18,5 :
Le cou est visible

Figure 11. Évolution de la forme du corps de fœtus de lapin en fonction du temps de gestation (Beaudoin *et al* ; 2003).



A : Bourgeon des membres pelviens à J 10,5

B : Bourgeon des membres à J 12,5

I : Membres à J 16,5

J : Détails des doigts des membres thoraciques.

K : Membres pelviens à J 17,5

L : Embryon à J 17,5

Figure 12. Les grandes étapes du développement des membres de fœtus de lapin (Beaudoin *et al* ; 2003).

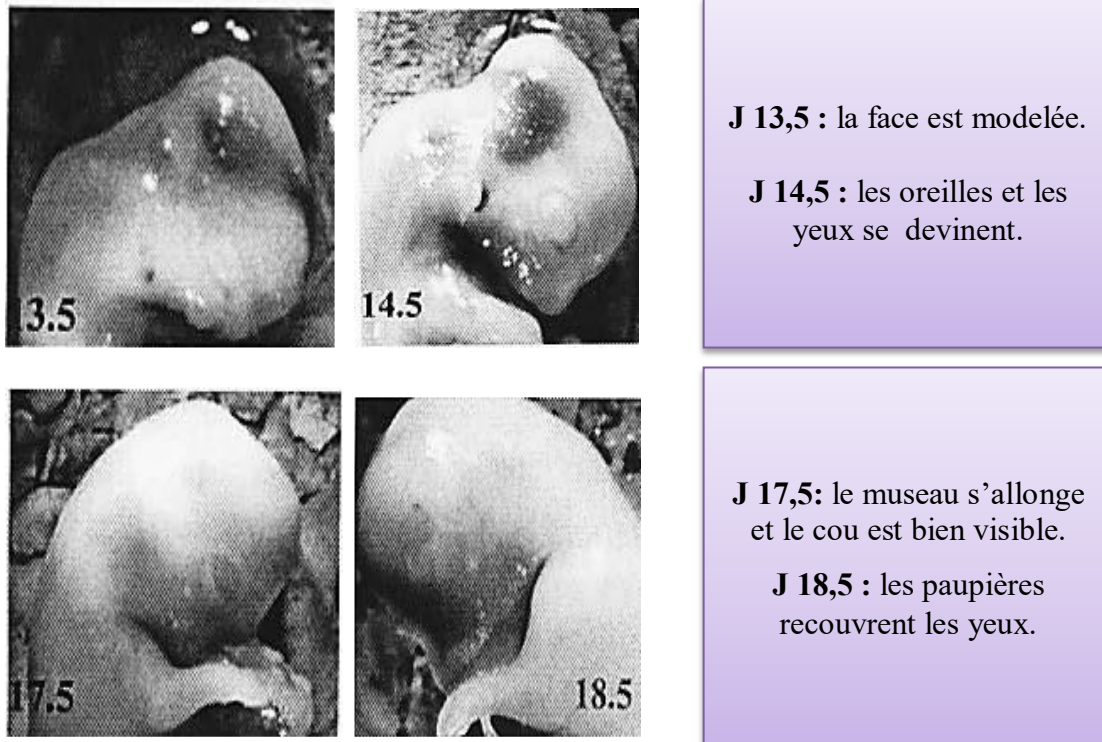


Figure 13. Développement céphalique de fœtus de lapin (Beaudouin *et al* ; 2003).

Tableau 02. Dates d'apparition des différents organes et principaux faits marquants en fonction du stade de gestation chez la lapine (Caron *et al* ; 2012).

Jours	Déroulement de la gestation
6	Premières vésicules embryonnaire
7	Trophoblaste et placenta
8	Placenta bilobé
9	Embryon cœur
11	Cordon ombilical Allantoïde Tube neural Tête et corps de même longueur
13	Tête bien délimité, plus courte que le corps amnios
14	Bourgeon caudal Moelle épinière Embryon aussi long que le placenta Cordon ombilical nettement distinguable
15	Bourgeons des membres bien visibles Vésicules optique Embryon plus long que placenta
17	Les membres sont formés (doigts visibles) Foie, poumons, estomac, poumons moins échogène que le foie.

18	Bourgeon génital Début de l'ossification des côtes et des os du crane
21	Apparition de l'ombre des côtés et des os du crane Début de l'ossification du squelette appendiculaire antérieur et des vertèbres cervicales
22	Poumons légèrement plus échogènes que le foie
23	Trois points d'ossification de la colonne vertébrale
24	Tous les os ont un cône d'ombre Intestins
26	Reins

d) Évolution du poids des lapereaux

Au cours de la gestation, le poids des lapereaux n'évolue guère jusqu'au 16^{ème} jour (le lapereau multiplie son poids). Puis, le poids augmente très rapidement entre le 24^{ème} jour et le 31^{ème} jour. Le poids individuel des lapereaux à la naissance est assez variable (coefficient de variation de 15 à 20%). Cette variabilité est principalement la conséquence de la position des lapereaux le long des cornes utérines. Ainsi, le premier lapereau côté ovarien est pratiquement toujours le plus lourd en raison d'une meilleure irrigation sanguine de cette partie du tractus génital. A l'inverse, les derniers lapereaux côté vaginal ont un poids nettement plus réduit (-20 %). L'amplitude de la variation s'accroît avec le nombre de lapereaux par corne (Lebas ; 2002). La figure 14 illustre l'évolution du poids des lapereaux au cours de la gestation.

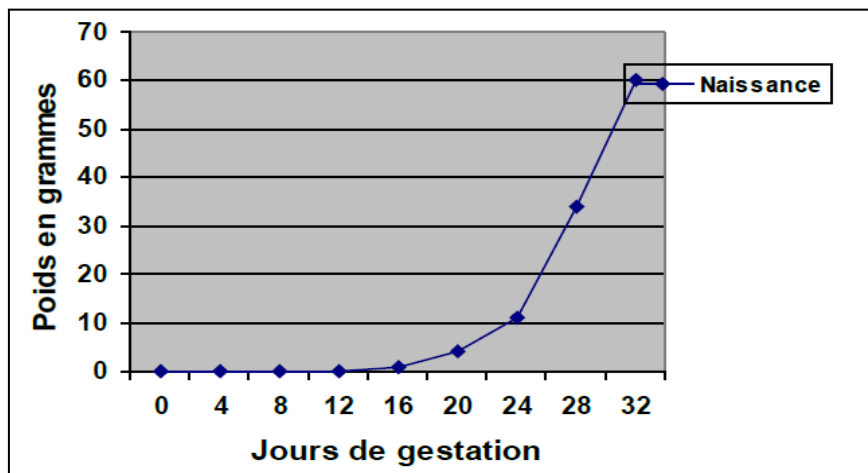


Figure 14. Évolution du poids du jeune lapereau au cours de la gestation (Lebas ; 2002).

e) Le développement placentaire

Parallèlement à la croissance fœtale, un placenta discoïde se développe à chaque point de contact entre le fœtus et la paroi utérine (Saber ; 1993). Il est formé de deux cotylédons séparés par un sillon inter cotylédonaire (Parkes ; 1950).

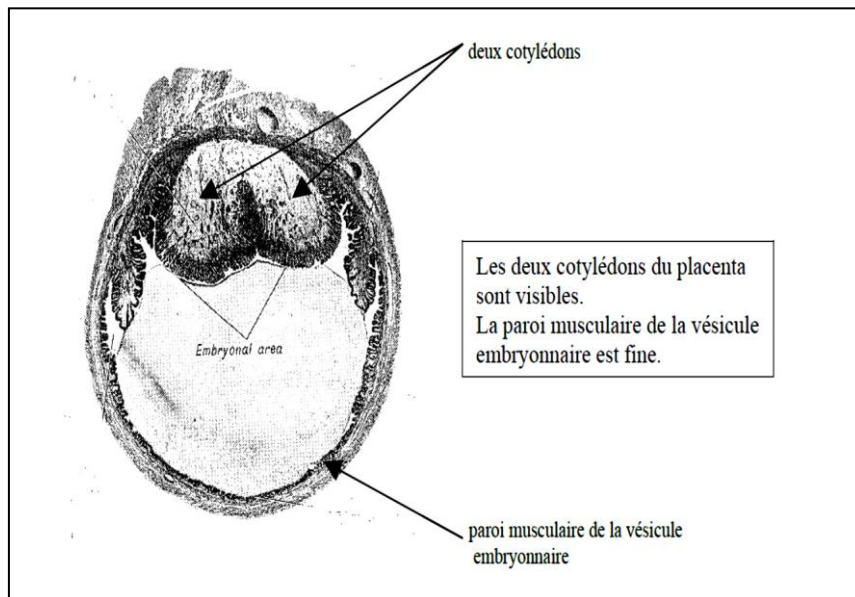


Figure 15. Coupe transversale d'un sac embryonnaire de lapin au 8^{ème} jour de gestation (grossissement x 7,5) (Parkes, 1950).

Ce placenta est de type hémochorial car une seule couche de cellules sépare le sang fœtal du sang maternel donc, comparable à celui de la femme (Nessman-Emanuelli ; 1983). Il s'agit d'un organe transitoire mettant en relation de contigüité le sang maternel et le sang fœtal afin de faciliter les échanges nutritionnels et gazeux entre la mère et le fœtus.

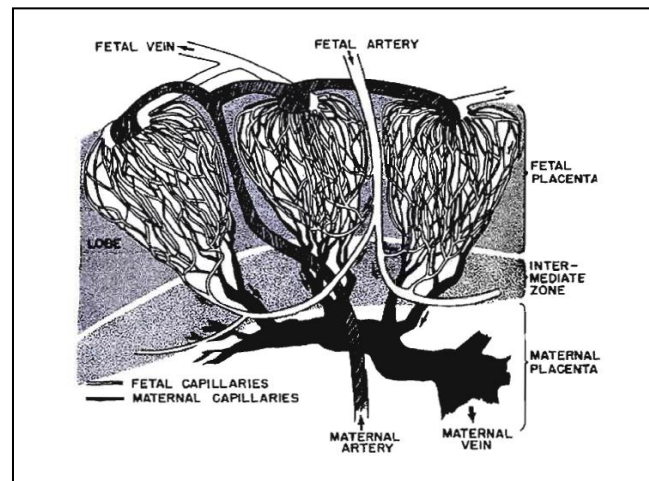


Figure 16. Circulation dans le placenta de lapin (tiré de <http://medicine.ucsd.edu/CPA/rabbit.html>).

Le placenta provient essentiellement pour sa partie fœtale du blastocyste. Mais, la muqueuse utérine contribue également à sa formation et constitue le placenta maternel. L'ensemble placenta fœtal issu du blastocyste et placenta maternel provenant de la muqueuse utérine,

représente le placenta proprement dit. Le syncytium chorial, issu de la partie la plus externe du trophoblaste, prend une grande extension et détruit non seulement l'épithélium utérin, mais également l'endothélium des capillaires utérins. Les vaisseaux sanguins maternels dilates forment des lacunes dans lesquelles baignent les villosités choriales (Houillon ; 1967).

A partir du 19^{ème} jour les membres sont bien formés et le museau s'allonge : on passe alors de l'embryon au fœtus. Le fœtus commence à ressembler à un lapereau entre le 19 et 22^{ème} jours (Barone ; 1973).

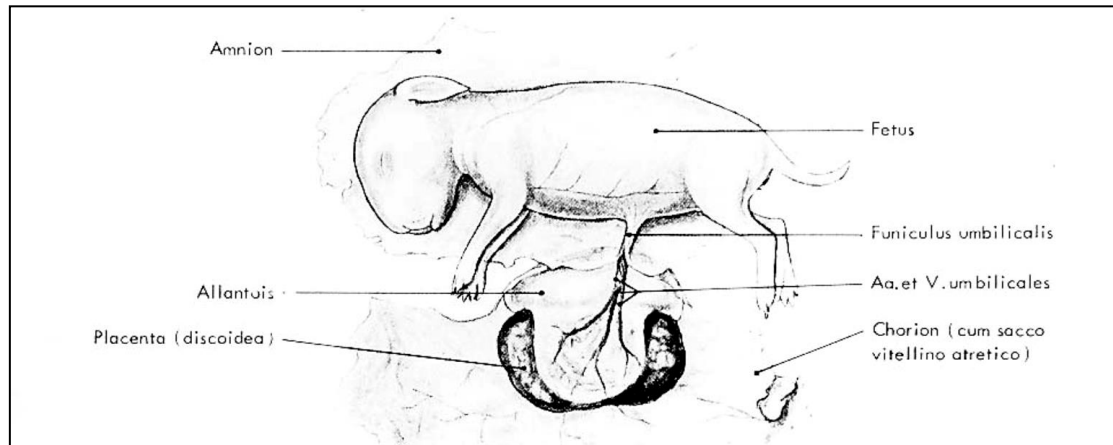


Figure 17. Fœtus, membranes fœtales et placenta à 26 jours de gestation (Barone, 1973)

9. Profil hormonal au cours de gestation

En générale, l'état gestatif est caractérisé par des modifications importantes comme la sécrétion hormonale. Au niveau de l'ovaire, le cycle œstrien est interrompu, et le corps jaune, au lieu d'involuer en corpus albicans, se développe en un corps jaune de gestation (ou corps jaune gravidique) qui persiste durant la durée de celle-ci, en assurant la production des stéroïdes les oestrogènes et la progestérone.

Les œstrogènes et la progestérone sont des stéroïdes synthétisés à partir du cholestérol et sécrétés par les ovaires et le placenta suite à une stimulation par les gonadotrophines, FSH et LH (Monniaux *et al* ; 2009). Ils interviennent dans la régulation de la fonction reproductrice durant toute la vie de la femelle (Thibault et Levasseur ; 2001).

9.1. Les œstrogènes

Sont des stéroïdes sécrétés principalement par les cellules de la thèque interne des follicules ovariens sous forme de 17- β œstradiol et œstrone et œstriol (Lebas ; 2016). Ils possèdent deux types de récepteurs ER α et ER β qui sont exprimés au niveau des glandes mammaires et de l'utérus (Couse et Korach ; 1999, Nilsson *et al* ; 2001). Les ovaires et l'hypophyse, ne

contiennent que le récepteur des œstrogènes ER α (Couse et Korach ; 1999). Un taux élevé d'œstrogènes semble nécessaire pour le déclenchement du comportement d'œstrus : acceptation de l'accouplement (Lebas ; 2016).

9.2. La progestérone

La progestérone est une hormone stéroïdienne principalement sécrétée par les cellules du corps jaune des ovaires et par le placenta. Les récepteurs de la progestérone existent aussi sous deux formes PR α et PR β qui se lient avec la progestérone de manière similaire (Fujimoto *et al* ; 1998) et stimule la différenciation cellulaire de l'épithélium utérin, provoquant l'apparition de la dentelle utérine et le développement de la glande mammaire en interaction avec les œstrogènes en fin de gestation. (Theau-clément ; 2009), a mentionné que le taux de progestérone ne cesse d'augmenter (multiplication par 4) entre le 3^{ème} et 15^{ème} jour de gestation, passant de 5 ng/ml à 19 ng/ml, puis reste relativement stationnaire pour enfin diminuer rapidement dans les jours précédant la mise bas. Cette sécrétion est principalement réalisée par les corps jaunes ovariens qui perdurent tout au long de la gestation, afin d'assurer son maintien. Le même auteur a rapporté que le taux d'œstrogènes subit des modifications de moindre ampleur. En effet, une part (17- β œstradiol et œstrone) continue d'être produit dans les ovaires par la nouvelle vague folliculaire alors qu'une seconde (œstriol) est alors sécrétée par le placenta.

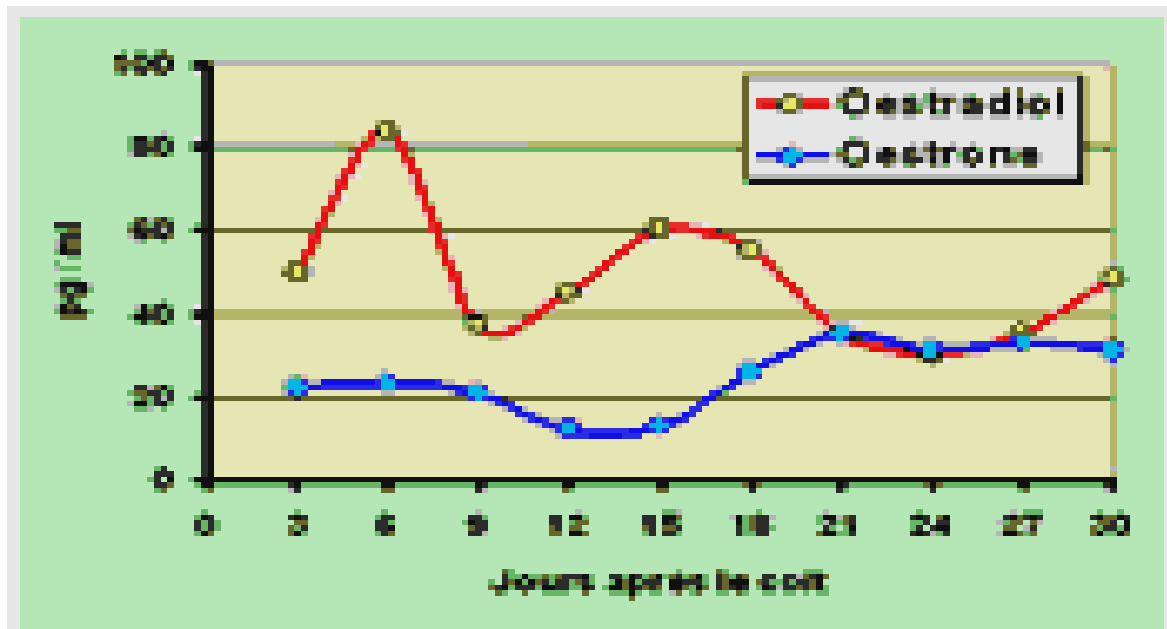


Figure 18. Évolution du taux de 17- β -œstradiol et d'œstrone dans le plasma sanguin au cours de la gestation (Challis *et al* ; 1973).

Deuxième partie

La glande surrénale

La gestation est un état physiologique normal, se caractérise par une sécrétion intense des molécules sous forme des interleukines, de facteurs de croissance et des hormones. La sécrétion hormonale est assurée par différents types de glandes endocrines à savoir l'hypothalamus, hypophyse et surrénale. Au cours de la gestation, la glande surrénale à côté des autres subissent des changements considérables dans le but est d'assurer un environnement convenable pour le bon développement du fœtus.

1. Définition

Les surrénales sont des glandes endocrines, au nombre de deux, que l'on retrouve chez tous les mammifères, de forme variable selon les espèces. Elles sont situées au niveau ou à proximité du crâne pôle des reins. Les glandes surrénales possèdent la particularité d'être formées de deux entités morphologiquement et physiologiquement distinctes: la partie externe, le cortex surrénal, qui entoure la partie profonde, la médullosurrénale (Williams et Larsen ; 2003).

Cette glande occupe une place primordiale dans les phénomènes de maturation fœtale et de contrôle du stress fœtal (Lagercrantz ; 1996).

2. Historique

Les glandes surrénales ont été découvertes pour la première fois en 1563 par l'anatomiste Italien Eustachius. Les trois zones concentriques du cortex surrénal ont ensuite été nommées : glomerulosa, fasciculata et réticularis par le physiologiste Allemand Arnold (Arnold, 1866 cite par Fanny Béland ; 2016). Par la suite, plusieurs études ont permis de différencier le cortex de la médullaire (Schoenwetter ; 1968), soient deux glandes endocrines de la surrénale ayant des fonctions très distinctes.

3. Développement embryonnaire

Du point de vue moléculaire ; plusieurs gènes sont impliqués dans la mise en place de la glande surrénale, Saco Sonia (2016) a écrit que le développement embryonnaire de la glande commence par la prolifération de l'épithélium cœlomique face au mésonéphros ventral au 9^{ème} jour du développement chez la souris et aux 4 semaines chez l'Homme. Le résultat est la

formation du primordium adrénogonadique (Bland *et al* ; 2003, Hu *et al* ; 1999), L'expression du facteur de transcription **SF1A** aide à identifier les cellules du primordium adrénogonadique dans le tractus urogénital. Ce primordium va se différencier en 2 structures : le primordium gonadique et le primordium adrénalien. (Tevosian *et al* ; 2015) a rapporté que l'expression du gène **Gata4** est nécessaire à l'expression des gènes **SF1 et Lhx9** Cette séparation s'effectuera à 8 semaines chez l'Homme soit 10 jours chez la souris et elle est dépendante de l'expression du gène **Gata4** lui-même nécessaire à l'expression des gènes **SF1 et Lhx9**.

L'expression de SF1 est ensuite maintenue dans le primordium adrénalien grâce aux facteurs de transcription WT1 et CITED2 (Val *et al* ; 2007). Plus tard à 12 jours, le primordium adrénalien est envahi par des cellules issues de la crête neurale ectoblastique qui seront à l'origine de la médullosurrénale (Anderson *et al* ; 1991). Cette invasion est suivie par l'encapsulation de la glande par des cellules du mésenchyme entourant le primordium adrénalien. Le facteur de transcription WT1 ne sera alors plus exprimé que dans les cellules de la capsule. En effet, l'arrêt de l'expression de Wt1 est nécessaire à la différenciation des cellules stéroïdogéniques (Bandiera *et al* ; 2013).

4. Rappel histophysiologique

Du point de vue histologique, la glande surrénale chez les Mammifères, est composée de deux parties anatomiquement, physiologiquement, histologiquement et fonctionnellement distinctes : le cortex et la médulla (figure 19), l'ensemble constitue un organe compact protégé par une capsule conjonctive, faite de fibroblastes et de fibres de collagène.

a. **Le cortex** : ou la corticosurrénale représente la partie externe de la glande surrénale et son volume est environ 90% du volume total de l'organe. Cette partie assure la synthèse de stéroïdes dérivant du cholestérol et elle se compose de trois zones ; ses différentes zones distinctes à la fois par l'organisation, le type cellulaire mais aussi par leur fonction.

Du plus externe vers le plus interne, on retrouve :

- ✓ **La zone glomérulaire** (ou glomérulée), origine de l'hormone minéral corticoïde : l'aldostérone.
- ✓ **La zone fasciculée**, composée de travées de cellules très riches en lipides.
- ✓ **La zone réticulée** : les cellules sont organisées en travées autour des capillaires plexiformes.

Les zones fasciculée et réticulée sécrètent les hormones glucocorticoïdes (cortisol, corticostérone...). Les hormones androgènes seraient élaborées soit par la zone réticulée ou soit par les deux zones fasciculée et réticulée.

b. La médullo-surrénale :

Comme son nom l'indique, la médullo-surrénale est située au centre de la glande surrénale. Elle a pour fonction la synthèse des catécholamines telles que l'adrénaline et la noradrénaline en réponse à une stimulation du système nerveux sympathique. Elle est constituée de cordons richement vascularisés, au sein desquels on observe deux types de cellules : cellules à noradrénaline et cellules à adrénaline Schwann Léon *et al* (1992) ont rapporté que les chromoblastes sont les précurseurs des cellules noradrénergiques présentes dans la glande mature. De plus, l'arrangement des cellules chromaffines noradrénergiques sous forme de groupes de cellules homotypiques tout au long de l'histogenèse de la médullosurrénale est probablement une conséquence directe de la co-expression exclusive de NCAM et de L1 par cette sous-population de cellules chromaffines en maturation. .

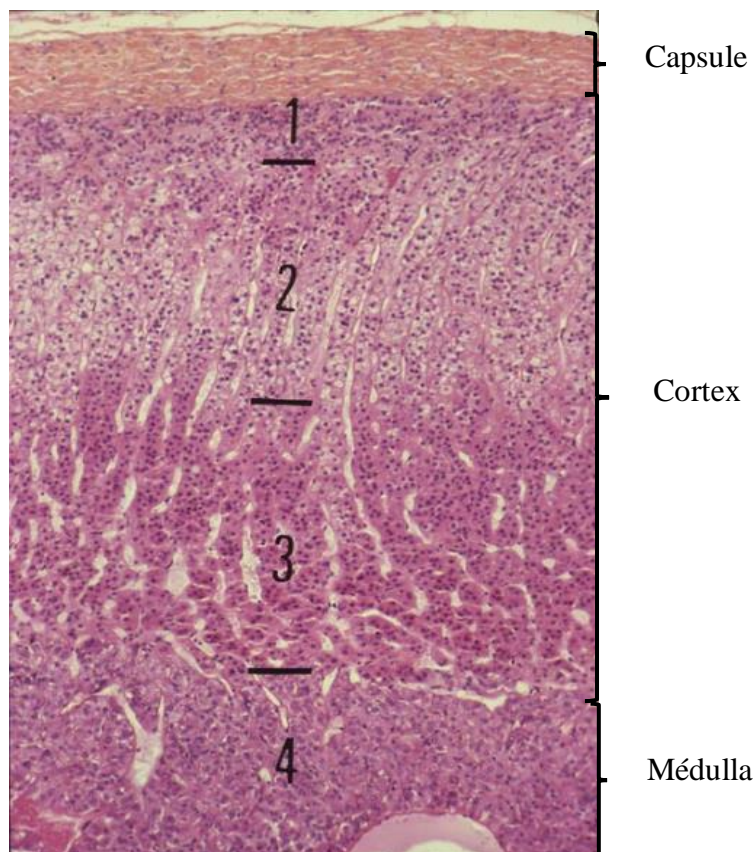


Figure 19. Structures histologiques de la glande surrénale (atlas d'histologie humaine et animale)

(1) Zone glomérule, (2) zone fasciculée, (3) zone réticulée, (4) zone médullaire.

5. Particularités de la glande surrénale chez le lapin

Du point de vue anatomique (figure 20), les deux glandes sont de couleur blanche à crème positionnée rétro péritonéale et enchâssée dans une masse de graisse. La forme de la glande surrénale gauche est apparue en croissant tandis que la glande droite est de forme ovale. La distance entre la glande surrénale droite et son rein droit est moindre que la distance présente entre la glande gauche et le rein gauche (Farhan ; 2013). L'histologie de cette glande révèle que la zone fasciculée forme 60 % ou 70,9 % du cortex chez le lapin, alors que la médullosurrénale représente environ le quart de la glande.

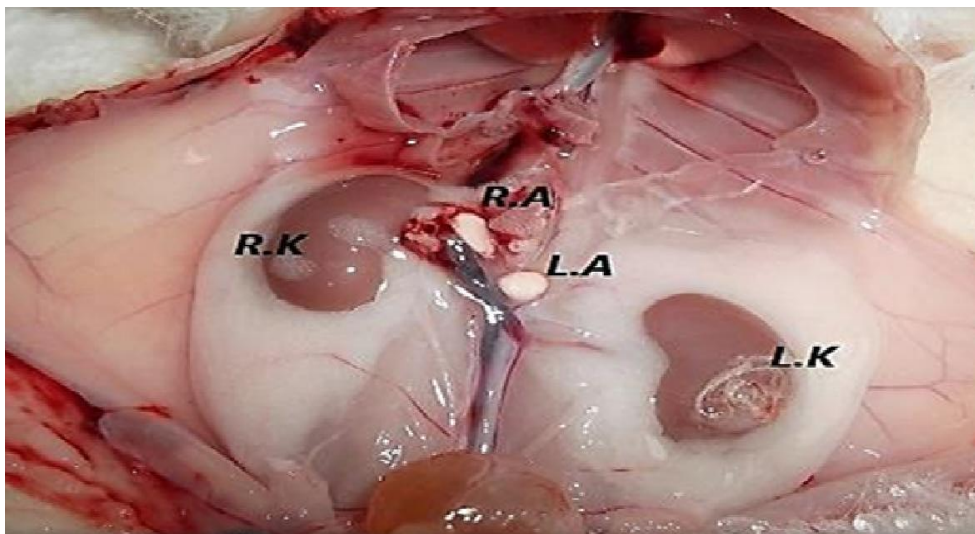


Figure 20. Anatomie de la glande surrénale

6. Développement prénatal et postnatal de la glande surrénale

Le développement prénatal de la glande surrénale chez le lapin commence dès le quatorzième jour de gestation par la mise en place de deux structures surrénaliennes situées de part et d'autre de l'aorte. Elles se développent pour donner des formations ovoïdes blanchâtres indépendantes des reins. Leur différenciation exacte commence entre vingt-deux et vingt-quatre jours de la gestation en tant que cortex surrénalien et médulla et qu'elle est relativement terminée sur le plan histologique à l'âge de douze jours après la naissance.

La glande surrénale des fœtus de lapin de 24 à 26 jours de gestation est apparue comme une démarcation claire entre le cortex et la médulla mais une différenciation incomplète du zona glomérulaire, et la zone fasciculée est toujours mélangée au zone réticulaire, cette structure est entourée par une fine capsule de tissu conjonctif et qui renferme des cellules épithéloïdes. La médullosurrénale est apparue plus petite que le cortex contenant des cellules

mésenchymateuses indifférenciées et une veine centrale visible, ainsi que des cellules médullaires à ce stade qui se consolident au centre de la glande.

Vers la fin de gestation, le cortex surrénalien devient plus différencié avec les trois zones ; sa capsule est plus épaisse qu'au stade précédent, elle contient des capillaires sanguins avec une ligne de démarcation visible entre le cortex surrénalien et la médulla. Le cortex surrénalien peut être distingué en deux zones, la première une zone étroite située à la périphérie de la glande surrénale connue sous le nom de la zone glomérule en tant que groupes cellulaires plus clairs et de forme arquée et la deuxième zone large appelée zone fascicule et d'autres zones d'environ la même épaisseur que le fascicule et de cellules similaires dans des directions différentes mais à cette période il n'y avait pas de démarcation entre la zone fascicule et la zone réticulaire. Histologiquement, la capsule surrénale définissait sa forme et se composait de cellules fusiformes allongées en forme de tissu conjonctif avec des noyaux allongés et sombres. Le cortex surrénalien composé de zona glomerulosa, zona fasciculata et enfin zona reticularis.

La zone réticulaire commence à se différencier de la zone fasciculée chez les lapins nouveau-nés âgés de quatre jours. Zona glomerulosa présentait de petites cellules avec peu de vacuoles et progressivement les cellules s'organisaient et se différenciaient en petites boules et arcs soutenus par des trabécules de tissu conjonctif, tandis que zona fasciculata commençait à se séparer de zona reticularis à ce stade et se composait de cellules sombres et claires, et les globules lipidiques étaient extrêmement moins nombreux que zona glomerulosa, la médullosurrénale est apparue définitive contenant des cellules claires et foncées.

Le cortex surrénalien est divisé en trois zones claires sur la base de la différence d'arrangement des cellules parenchymateuses qui sont :

- ✓ **Zona glomerulosa** : composé de groupes de cellules qui étaient petits et disposés en rangées colonnaires rayonnantes situées sous la capsule formant de petites arcs et soutenus par des trabécules de tissu conjonctif s'étendent de la capsule vers le moelle. Entre les groupes cellulaires, il y avait des vaisseaux sanguins capillaires et peu vacuoles lipidiques de différentes tailles.
- ✓ **Zona fasciculata** : intermédiaire et plus large des trois zones du cortex surrénalien et présentait des groupes cellulaires irréguliers de longues cellules cuboïdes ou colomnaires disposées en cordons étroits séparés par du tissu conjonctif brin contenant des sinusoides capillaires et cette couche est caractérisée par apparence mousseuse.

- ✓ **Zona réticularis** : la zone la plus interne du cortex surrénalien situé entre zona fasciculata et la médullosurrénale. Il est composé d'un réseau irrégulier de cordons et des touffes de cellules avec de nombreuses sinusoides capillaires larges et les cellules avaient les noyaux pycnotiques sphériques de coloration foncée et le cytoplasme acidophile avaient peu de lipides vacuolaires.
- ✓ **La médullosurrénale** : la partie centrale de la glande surrénale composée de groupes ovoïdes de cellules légères. La moelle contient également des cellules ganglionnaires sympathiques vu dispersés seul ou en groupes. (Farhan, 2013).

Chapitre II
Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Dans ce chapitre nous allons présenter le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de cette investigation. Nos expériences ont été réalisées sur des lapines gestantes de la race locale, au niveau du laboratoire de recherche “biomolécules végétal et amélioration des plantes” à l’université Larbi Ben M’hidi , au laboratoire des analyses médicale Ibn Sina et au laboratoire d’anatomie pathologique du centre hospitalier militaire de Constantine.

1. Matière biologique

1.1. Matériel végétal

La plante *Bunium incrassatum* « Talghouda »

Bunium incrassatum est une espèce appartient à la famille des Apiacées

a) La famille des Apiacées

La famille des Apiacées ou Ombellifères est une grande famille de plantes. Cette famille contient de nombreuses espèces environ 3700 (Morillo, 2006) qui ont des propriétés pharmacologiques utilisées en médecine traditionnelle, en raison de la présence des métabolites secondaires bioactifs tels que : les huiles essentielles, les polyphénols, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines (Furanoet Pyranocoumarins), les alcaloïdes et les polyacétylènes (Merzoughi ,2009).

La position systématique de la famille selon la classification de CRONQUIST (1981) est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Apiales

b) Genre *Bunium*

Le genre *Bunium* comprend sept espèces de la flore algérienne, dont quatre sont endémiques (Quezel et Santa, 1963).Ce genre est proche du genre *Carum*. Le *Bunium* et le *Carum* sont les deux plus importantes plantes aromatiques et médicinales, dont les graines et

les huiles essentielles sont utilisées dans l'alimentation et la médecine partout dans le monde depuis si longtemps (Jassbi et *al* ; 2005).

c) Description de la plante « *Bunium incrassatum* »

Plante vivace, herbacée à racine renflée en tubercule arrondie peu odorante. Tiges grêles de 10-50 cm de hauteur, robustes, feuilles à divisions linéaires, fruits non reliés au sommet (Benziane et Yousfi ; 2001)



Figure 21. la racine de la plante Talghouda « *Bunium incrassatum* »
(photo original)

d) Constituants chimiques de la *Bunium incrassatum*

Selon l'étude menée par Bousetla *et al* (2011 ; 2014 ; 2015), la composition chimique des racines de cette plante contient du Saccharose ; Acide Oléique ; Scopolétine ; Scopearone et le β -sitostérol et d'autres composés tel que le β -Caryophyllène dans ses huiles essentielles.

e) Récolte de la plante

Le *B.incrassatum* a été collecté en septembre 2015 de la région de Bir Rogaa, Oum El Bouaghi. Il a été identifié par un expert en botanique du laboratoire de recherche des biomolécules végétales et amélioration des plantes de l'Université Larbi Ben Moudi Oum El Bouaghi. Les plantes ont été soigneusement lavées à l'eau ; les racines ont été séparées des parties aériennes de la plante, séchées à la température ambiante et à l'ombre pendant quelques jours, puis broyées en une poudre fine.

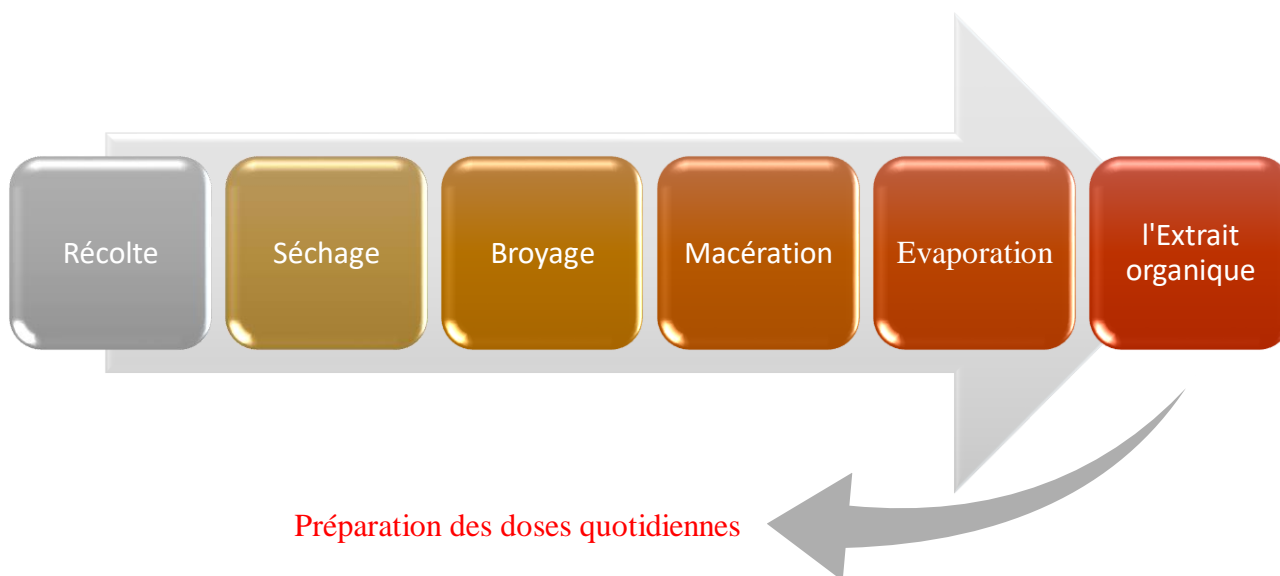


Figure 22. Protocole de préparation de l'extrait chloro-éthanolique des racines de *B. incrassatum*

f) Extrait organique

L'extraction des plantes a été réalisée selon le protocole de l'étude de Boussetla *et al* (2015). On a fait macérer 100 g de poudre de plante dans 200 ml des solvants éthanol / chloroforme (1: 1, v / v) pendant 24h à l'ombre. L'homogénat obtenu est filtré sur papier Wattman (3MM). Les solvants ont été principalement récupérés du filtrat par évaporation dans un évaporateur rotatif BUCHI®, à 60 ° C suivie par su séchage à l'étuve (60 °C) et séchage à l'air libre. 3 ml d'un liquide pâteux brun a été obtenus, ils représentent l'extrait organique brut des racines de *B. incrassatum*.

On peut calculer le rendement d'une extraction par le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la matière première végétale traitée : rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R \% = (ME/MVS) \times 100.$$

R : Rendement de l'extraction en pourcentage%.

ME : masse de l'extrait en gramme(g).

M VS : masse de la matière végétale séchée en gramme (g) (Boukhatem *et al*, 2010).

Le liquide obtenu a été récupéré dans des flacons en verre hermétiquement fermé et conservé à -2°C pour protéger ses caractéristiques physicochimiques (Nene *et al*, 2008).



Figure 23. Poudre et extrait organique de *B.incrassatum* (photo originale)

1.2. Matériel animal

Cette étude a été réalisée en automne 2016 à l'Institut Technique de l'Élevage, Hamma Bouziane, Constantine, sur 24 lapines multipares de race locale (*Oryctolagus cuniculus*) pesant entre 2,66 et 3,66 kg

Nous avons choisi comme modèle animal le lapin, nous avons voulu étudier une espèce animale dont le système sympatho-adrénergique est proche de celui de l'Homme dans sa maturation et son fonctionnement (Coupland 1970, Padbury 1981). Son fœtus possède également une chronologie de croissance comparable à celle du fœtus humain, en particulier pour les processus de développement, maturation et croissance cérébraux (Barrada 1980). L'approbation de l'éthique animale a été obtenue du Comité de protection des animaux du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) et était conforme aux directives du Comité International de Bioéthique, de l'Institut Européen de Bioéthique et de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale.

Les animaux nourris à volonté avec un aliment granulé fournis par l'Office National de l'Alimentation Animale **O.N.A.B** et à l'eau, dans des conditions naturelles (température, photopériode et humidité).

Les lapines ont été placées individuellement dans une cage avec un mâle pour l'accouplement. Après 12 jours de la saillie, la grossesse a été confirmée par une douce palpation de l'abdomen des lapines.

2. Méthodes de traitement

Les lapines gravides ont été divisées en 4 groupes égaux (n = 6) traitées avec l'extrait organique des racines de la plante par gavage pendant 10 jours (du 18 au 28 jour de gestation), les groupes traités (G1, G2 et G3) ont reçu 50, 100, 200 mg / kg / jour d'extrait respectivement, tandis que le groupe témoin (C) a reçu de l'eau distillée. Pour maintenir les mêmes conditions expérimentales pour tous les animaux.

Les doses ont été obtenues par dilution avec de l'eau distillée et le mélange est homogénéisé par agitation. Le volume de solution à administrer aux animaux a été calculé par la formule ci-après :

$$V = (D \times P) / C$$

V = volume de solution à administrer (mL)

D = dose (mg/kg)

P = poids de l'animal (kg)

C = concentration de la solution à administrer (mg/mL)

3. Sacrifice

Au 28^{ème} jour, entre 9h30 et 10h00, les lapines ont été sacrifiées par décapitation cervicale rapide pour ne pas les stressées. La période du sacrifice et du prélèvement du sang sont très importants pour la détermination du cortisol dans le sang, est afin de limiter les variations dues au cycle nycthémeral. (Omari *et al* ; 2011)

4. Prise du sang

Après la décapitation, le sang a été recueilli dans des tubes EDTA et des tubes en polyéthylène contenant de l'héparine, prélevés immédiatement pour l'analyse de divers paramètres FNS, hormonal (cortisol, progestérone et œstradiol) et biochimiques (cholestérol, triglycérides, glycémie). Les analyses ont été effectuées dans le laboratoire d'Ibn Sina, Constantine.

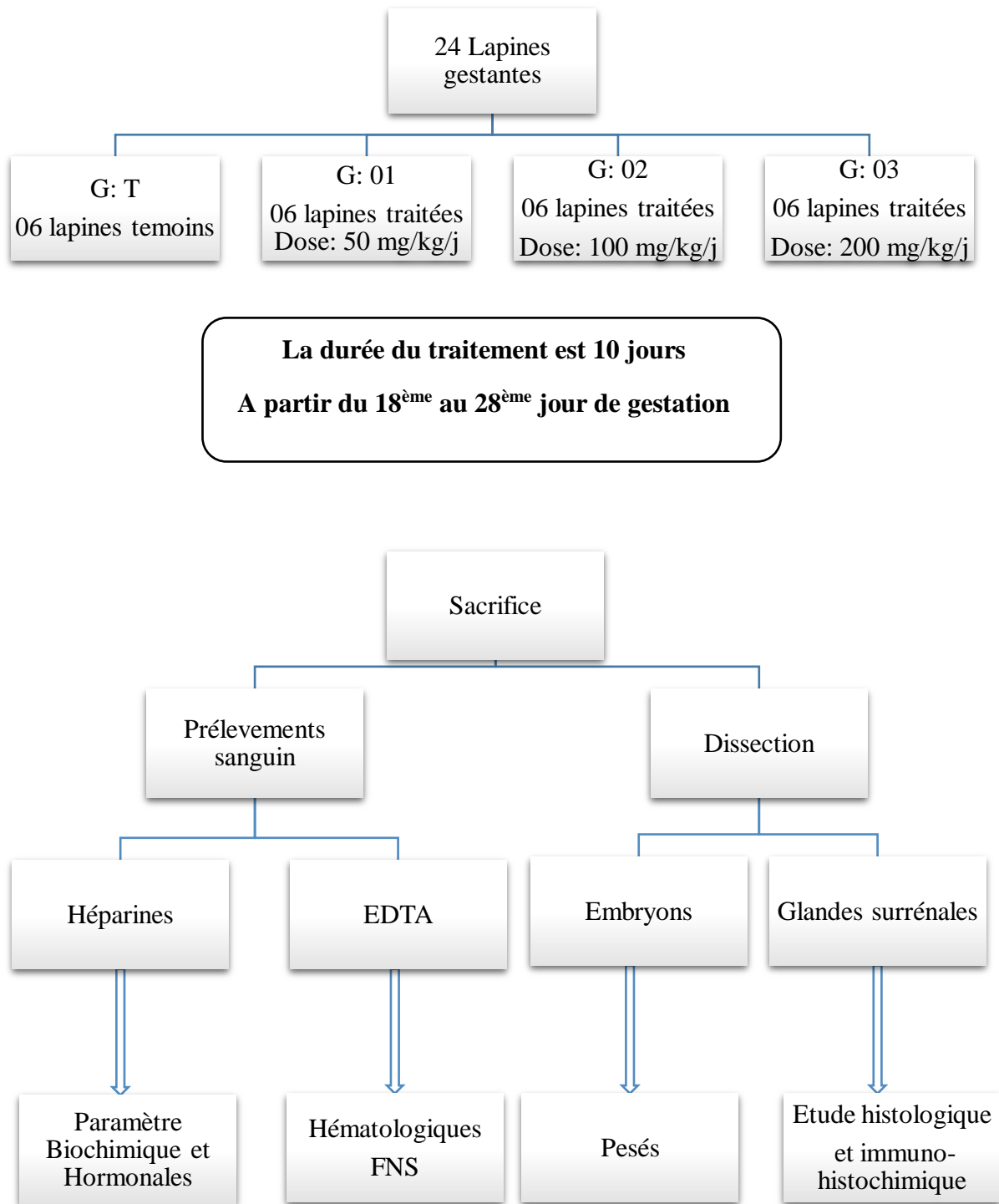


Figure 24. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

5. Analyse des paramètres hématologique

Les concentrations sériques des hormones sont mesurées à l'aide du Mini Vidas, Biomerieux Diagnostic, Analyseur d'immuno-analyse automatisé. Les paramètres biochimiques ont été estimés par l'Analyseur de chimie entièrement automatique BIOBASE BK200. Les tests ont été effectués conformément au protocole standard du fabricant.

5.1. L'hémogramme FNS

L'hémogramme est réalisé sur du sang total prélevé sur citrate trisodique (EDTA) à l'aide d'un automate qui donne directement les valeurs des huit paramètres suivants :

GR (Globules rouges), GB (Globules blancs), HGB (Hémoglobine), HCT (Hématocrite), VGM (Volume globulaire moyen), TCMH (Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine), CCMH (Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine), PLT (Plaquettes). C'est un appareil qui donne les résultats en 86 secondes après aspiration de l'échantillon.

5.2. Paramètres biochimiques

La mesure des paramètres biochimiques a été réalisée par le spectrophotomètre et chaque paramètre a une méthode de dosage spécifique et sa valeur est liée au spectrophotomètre.

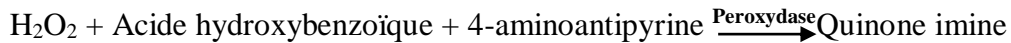
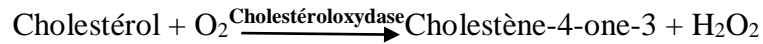
Les paramètres biochimiques mesurés sont les suivants : **CHOL** (Cholestérol g/l), **TG** (Triglycérides g/l), **glycémie** (g/l).

a) Cholestérol total (g/l)

Le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique (réaction de Trinder) par un spectrophotomètre en utilisant le Kit de réactif du cholestérol (Spinreact).

Principe : Les esters de cholestérol sont hydrolysés enzymatiquement par la cholestérol estérase qui les décomposent en cholestérol et en acides gras libres. Le cholestérol libre, y compris celui initialement présent, est ensuite oxydé par le cholestérol oxydase pour former du cholestène-4-one-3 et du peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène se combine avec de l'acide hydroxybenzoïque (HBA) et de la 4-aminoantipyrine pour former un chromophore (quinoneimine) quantifié à 500 nm.



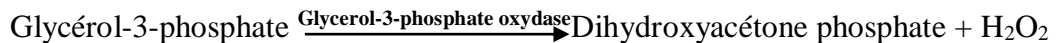


L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présent dans l'échantillon du sérum (Kaplan *et al* ; 1984, Meiattini *et al* ; 1978).

b) Triglycérides (g/L)

Le dosage des triglycérides a été effectué par le même spectrophotomètre suivant une méthode colorimétrique enzymatique des triglycérides (Glycérol phosphate oxydase) en utilisant le Kit de réactif des glycérides (Spinreact).

Principe : Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement par la lipase afin de libérer les acides gras et le glycérol. Le glycérol est phosphorylé par l'adénosine triphosphate (ATP) et le glycérol Kinase (GK) pour produire du Glycérol-3-phosphate et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le Glycérol-3-phosphate est oxydé en Dihydroxyacétone phosphate (DAP) par le glycérol phosphateoxydase (GPO) en produisant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Lors d'une réaction colorécatalysée par la peroxydase, le H₂O₂ réagit avec le 4-aminoantipyrine (4-AAP) et le 4-chlorophénol (4-CP).

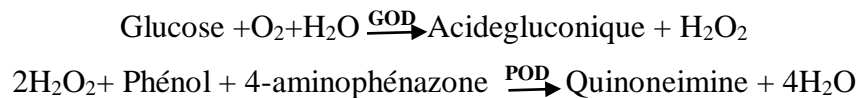


L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité des triglycérides dans l'échantillon du sérum (Bucco *et al* ; 1973, Fossali *et al* ; 1982, Kaplan *et al* ; 1984).

c) Glycémie (g/l)

Le dosage de la glycémie a été effectué par spectrophotomètre suivant une méthode colorimétrique enzymatique de glucose en quinone utilisant le Kit des réactifs de glucose (Spinreact).

Principe : la concentration du glucose dans le sang est dosée par la méthode enzymatique colorimétrique de Trinder (1969). Cette méthode est basée sur la détection d'une couleur rose ou rouge suite à la transformation du glucose en quinone. La réaction se déroule en deux étapes où dans un premier temps le glucose est transformé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sous l'action du glucose oxydase (GOD). Dans un deuxième temps le peroxyde d'hydrogène est transformé en présence du phénol et de 4-aminophénazone en quinone imine sous l'action de peroxydase (POD) selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration de la quinone imine mesurée à 505 nm est directement proportionnelle à la quantité du glucose dans l'échantillon du sérum (Kaplan *et al* ; 1984, Trinder ; 1969).

5.3. Paramètres hormonal

Les paramètres hormonaux mesurés sont les suivants : cortisol, progestérone, et œstradiol. Nous avons utilisé le mini VIDAS (bio Mérieux, Chemin de l'Orme 69280 Marcy-l'Etoile-France). Avec la technique ELIFA (Enzyme Linked Immuno Fluorescent Assay), le même principe que la méthode ÉLISA, sauf que pour la lecture, l'ELIFA repose sur l'intensité de la fluorescence.

a) Cortisol

L'analyse est faite avec le Kit VIDAS®Cortisol S, c'est un test quantitatif automatisé à utiliser sur les instruments de la famille VIDAS, qui permet de mesurer directement quantitativement le cortisol dans le sérum ou le plasma, en utilisant la technique ELIFA.

Le principe du test combine la méthode de compétition immuno-enzymatique avec une détection finale par fluorescence (ELIFA). Toutes les étapes du test sont effectuées automatiquement par l'instrument. Le milieu réactionnel est cyclé dans et hors du SPR (Solid

Phase Receptacle) plusieurs fois. L'échantillon est transféré dans le puits contenant le conjugué : dérivé de cortisol marqué à la phosphatase alcaline. Le cortisol dans l'échantillon entrera en compétition avec le dérivé de cortisol dans le conjugué pour les sites sur l'anticorps anticortisol spécifique qui est fixé à l'intérieur du SPR. Au cours de l'étape de détection finale, le substrat (4-méthyl-umbelliféryl phosphate) est cyclé dans et hors du SPR. L'enzyme conjuguée catalyse l'hydrolyse de ce substrat en un produit fluorescent (4-méthyl-umbellifénone) dont la fluorescence est mesurée à 450 nm.

Les résultats sont automatiquement calculés par l'instrument par rapport à la courbe d'étalonnage stockée en mémoire.

b) Progestérone

L'analyse est faite avec le kit utilisé est biomérieux SA VIDAS Progestérone. Ce dernier permet une mesure quantitative de la progestérone dans le plasma par la technique ELIFA.

Le principe de dosage associe la méthode immuno-enzymatique à une détection finale en fluorescence (ELIFA). Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'appareil (automate mini VIDAS). Dans un premier temps, après dilution de l'échantillon, la progestérone contenue dans l'échantillon va se lier à l'anticorps fixé sur le cône. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés. Dans un second temps, le cône vient prélever le conjugué. Il se produit une saturation des sites restés libres de l'anticorps par le conjugué. La progestérone retenue est révélée par le conjugué qui est une progestérone marquée à la phosphatase alcaline. Le conjugué non fixé est éliminé par le lavage.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône. L'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliferone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450nm.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée.

c) Œstradiol

Le Kit utilisé dans cette étude est le bio Mérieux SA VIDAS Œstradiol II. Ce Kit permet une mesure quantitative de 17 β -Œstradiol total dans le sérum ou le plasma par la technique ELIFA.

Le principe du dosage associe la méthode par compétition à une détection finale en fluorescence (ELIFA). Le cône (SPR®) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage.

Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et prérépartis dans la cartouche. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. L'échantillon est transféré dans le puits contenant le conjugué qui est un dérivé estradiol marqué à la phosphatase alcaline. Il s'effectue une compétition entre l'estradiol présent dans le sérum et le dérivé estradiol du conjugué vis à vis des sites de l'anticorps spécifique antiestradiol fixé sur le cône. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés. Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthylombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthylombellifère) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimés.

6. Études histologiques et immunohistochimie

6.1. Technique histologique

Les glandes surrénales ont été disséquées, nettoyées de la graisse adhérente et pesées.

Le poids relatif des glandes a été déterminé par l'équation suivante :

$$\text{Poids relatif de l'organe} = \frac{\text{Poids absolu de l'organe (g)} \times 100}{\text{Poids corporel de l'animal le jour du sacrifice (g)}}$$

Après cela, les glandes ont été fixées dans le formol (10%), déshydratées dans de l'alcool éthylique, clarifiées dans le xylène puis incluses dans la paraffine. Des coupes de 5 µm d'épaisseur ont été colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Les lames ont été observées et photographiées au microscope optique (B-150 OPTIKA) ® connecté à un appareil photo numérique.

L'étude histologique passe par plusieurs étapes qui a pour objectif l'obtention de tissus très minces pour l'observation microscopique.

Ces étapes sont indispensables pour l'étude histologique et immunohistochimie.

6.1.1. Préparation des tissus

Les étapes sont :

A. La macroscopie : Mesure de la taille et description des pièces

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude: la pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée.

A l'aide d'un bistouri, on réalise des coupes qui vont être déposées par la suite dans des cassettes portant le numéro de la pièce. Ces dernières seront plongées dans des flacons contenant du formol dilué à 10% dans le but de fixer les antigènes et de s'opposer à la déshydratation prématurée des cellules et surtout à la putréfaction des tissus.

La fixation est une étape très importante pour : Préserver l'aspect structural du tissu et immobiliser les antigènes in situ.

La durée de fixation : préférer une sur fixation à une sous fixation

- Sous fixation : non conservation des épitopes.
- Sur fixation : réticulation très importante du tissu, possible d'y remédier en adaptant le démasquage.

B. La déshydratation

Les prélèvements ayant achevé leur fixation, on les dépose dans des cassettes, puis on les met dans un appareil de déshydratation appelé Technicom par le passage dans 12 bacs dont :

7 bacs : contenant l'éthanol (les trois premiers bacs respectivement à 70% 80% 90% (**10h**) et le reste avec l'éthanol pur 100%, (**1h**)

3 bacs : contenant le xylène (**1h x 3**)

2 bacs : remplis de paraffine liquide à 56 °C (**1h x 2**)

C. L'inclusion en paraffine chauffée

L'inclusion est manuelle, on réoriente convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe dans un moule de paraffine qui a pour but de permettre la réalisation des coupes fines et régulières.

Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine, on immerge notre échantillon dans un moule contenant de la paraffine liquide fondue par chauffage, qui infiltre alors toute la pièce.

Une fois l'échantillon est bien immerger on le laisse refroidir dans un congélateur pour obtenir un bloc de paraffine dure à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.

6.1.2. Les coupes du bloc de paraffine

A l'aide d'un microtome réglé à 25 μm qui sert à éliminer l'excès de paraffine jusqu'à ce que notre fragment devienne visible puis on le règle de 2 à 5 μm afin d'obtenir des tranches de section (coupes) de 5 μm d'épaisseur et de préférence de 2.5 à 3 μm pour l'immuno-histochimie. A l'aide d'une aiguille on dépose le ruban obtenu dans un bain marie afin d'éliminer ces plis pour qu'il soit par la suite étalé et séché sur une lame. Afin d'assurer une bonne adhésion à la lame des tissus.

Enfin, on regroupe nos lames dans un portoir afin de les transférer vers l'étuve réglée à 65°C pendant 2h de temps dans le but de déparaffiner et éliminer toute trace de paraffine pour faciliter la coloration.

6.1.3. Coloration et montage pour l'étude histologique

➤ La coloration

Les colorations de routine utilisent l'Hématéine Eosine (H.E.). L'hématéine colore les noyaux en violet et l'éosine colore les cytoplasmes en rose. Les colorations réalisées sur lames. Comme les colorants sont en solution aqueux, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation :

- 2 bains d'alcool 2min.
- Rinçage avec l'eau distillée pendant 2 à 3 min.

La coloration :

- L'hématéine une minute.
- On rince les lames à l'eau distillée.
- L'éosine pendant une minute.

On pratique une déshydratation des lames pour éliminer l'excès des colorants dans 2 bains d'éthanol. Après séchage, on immerge les lames dans 3 bains de xylène pendant 4 minutes. A la fin, on obtient des lames avec coloration rose violet.

➤ Le montage

Après avoir subi une déshydratation, les coupes colorées sont montées entre lames et lamelles avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre.

6.1.4. La lecture histologique

L'analyse morphométrique a été réalisée à l'aide du logiciel ImageG. L'épaisseur du tissu a été mesurée avec un objectif 10x parmi les 24 sections surrenaliennes. Sur la base de l'étude réalisée par Aknoun-Sail *et al* ; 2017, huit mesures ont été prises autour de chaque section

surrénalienne, d'abord pour l'épaisseur corticale entière, puis pour l'épaisseur de chaque zone. Les mesures ont été moyennées pour chaque animal.

6.2. La technique immunohistochimique

Dans le but d'évaluer l'effet de l'extrait organique de la *B. incrassatum* sur l'immunoexpression des récepteurs de progestérone et d'œstrogène dans la glande surrénale des lapines gestantes, on a procédé à la technique immuno-histochimique, où on a utilisé les anticorps monoclonaux de souris pour déterminer la présence du récepteur de l'œstrogène (ER) et du récepteur de progestérone (PR) dans la glande surrénale des lapines.

L'étude immunohistochimique a été réalisée, selon la technique " En Vision : polymère de dextran conjugué à des anticorps secondaires et à des molécules de dextran", avec le kit " Dako", au Service d'anatomo-pathologique de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine « Abdelali Benbâatouche ».

L'immunohistochimie est une méthode de localisation de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu, par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps ou la liaison Ag-Ac est révélée par un traceur (fluorescent, enzyme). L'immunohistochimie exploite le fait qu'un anticorps se lie spécifiquement à des antigènes dans les tissus biologiques. Les anticorps peuvent être d'origine polyclonale ou monoclonale.

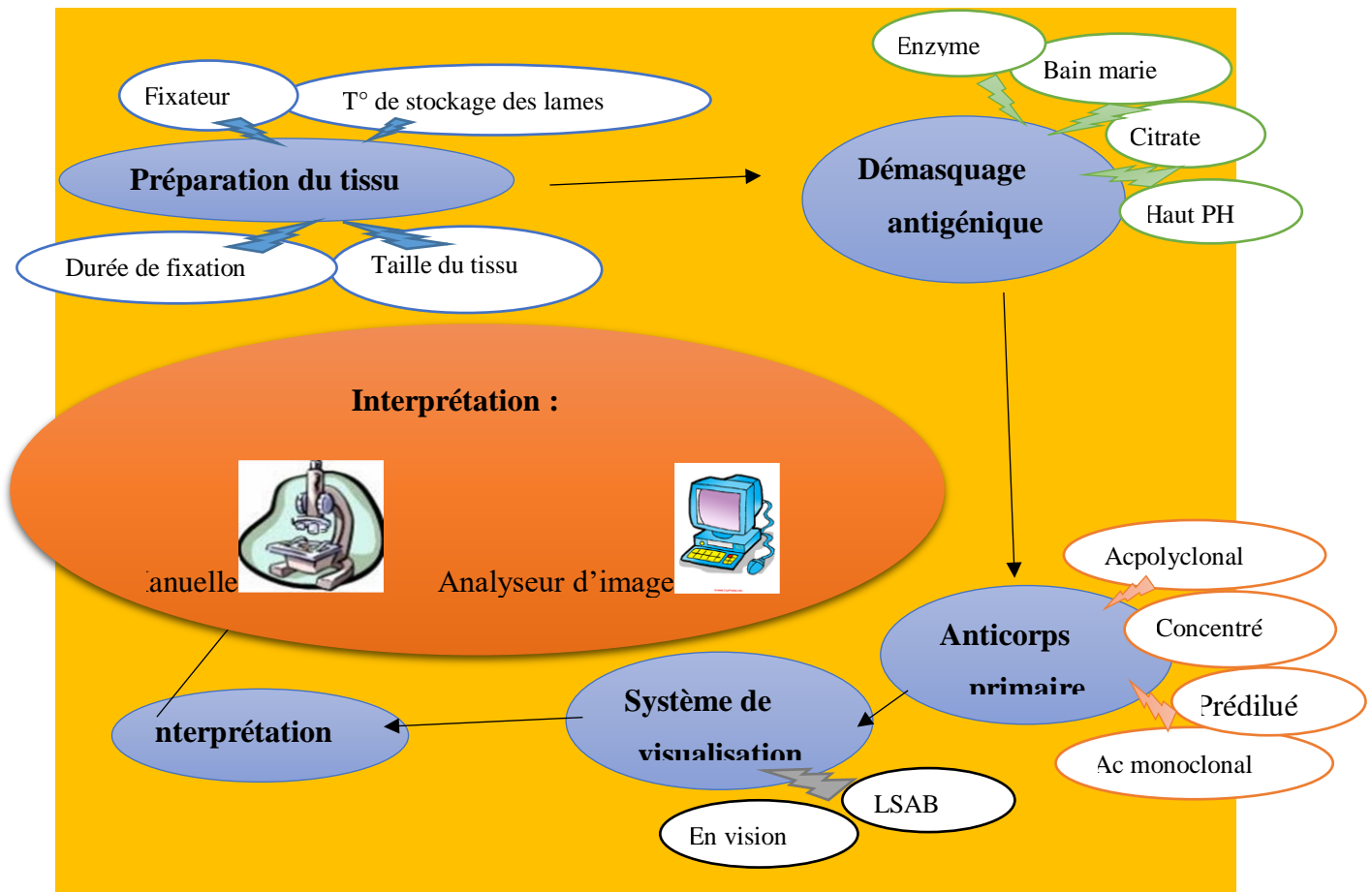


Figure 25. Schéma des étapes de l'immunohistochimie (guide IHC DAKO)

Après la préparation des coupes et les déparaffiner, on termine la technique immunohistochimique par:

6.2.1. Déparaffinage ou réhydratation :

Après séchage, les lames seront par la suite transférées dans :

- 2 bacs de xylène ;10 min
- 1 bac d'alcool 100° ; 10 min
- 1 bac d'alcool 90° ; 10 min
- 1 bac d'alcool 70° ; 10 min
- 1 bac d'alcool 50° ; 10 min
- Eau distillée ; 5min

A. Le démasquage des antigènes :

La réticulation associée à la fixation du tissu empêche la bonne diffusion des réactifs, plus le tissu est fixé, moins les anticorps seront accessibles, il est souvent de démasquage antigénique.

La solution de démasquage ou de restauration des épitopes utilisé : DakoCytomation Target Retrieval Solution Citrate, diluée 1/10. Dans un bain marie à 95°C.

- Préparer les bacs avec solution pH6, les déposer dans le panier de lames 40-45 min (1 h en cas de sur fixation).
- Refroidir les bacs en les déposants dans un bain d'eau du robinet.
- Rinçages de 2 à 3 fois dans le TBS.

A partir de cette étape la technique se réalise dans un milieu humide, c'est pour ça, on dispose les lames dans un milieu humide, un plateau avec des gazes humidifiées en dessous.

6.2.2. Blocage des peroxydases endogènes

On encercle l'échantillon à l'aide d'un Dako Pen ; crayon hydrophobe pour éviter son écoulement.

On ajoute deux gouttes de l'oxygéné (Peroxydase Bloking Reagent), puis, on laisse les lames incuber 10 minutes, on effectue deux rinçages de TBS de 05 minutes des lames (TBS diluée 1/10). Ensuite, on applique deux gouttes de la solution de Protéine Blok pour recouvrir le fragment. Puis, on laisse les lames incuber 05 minutes. Finalement, on effectue deux rinçages des lames avec le TBS diluée 1/10 pendant 05 minutes.

6.2.3. Application de l'anticorps primaire

- On dépose l'anticorps primaire; anti protéine ER Estrogen Receptor et PR Progesterone Receptor (de la marque Dako) 100 µl ; le temps de pause 30min
- On pratique un lavage 2 fois pendant 5 minutes dans le TBS.

6.2.4. Application de l'anticorps secondaire

- On dépose deux gouttes de l'anticorps secondaires ; le temps de pause : 30min.
- On pratique un lavage 2 fois pendant 5 minutes dans le TBS.
- On dépose deux gouttes de la polymer ; le temps de pause : 30min.
- On pratique un lavage 2 fois pendant 5 minutes dans le TBS.

6.2.5. La révélation par la diaminobenzidine (DAB)

L'anticorps secondaire est couplé à une peroxydase, qui transforme le DAB en un produit coloré avec la relation suivante :

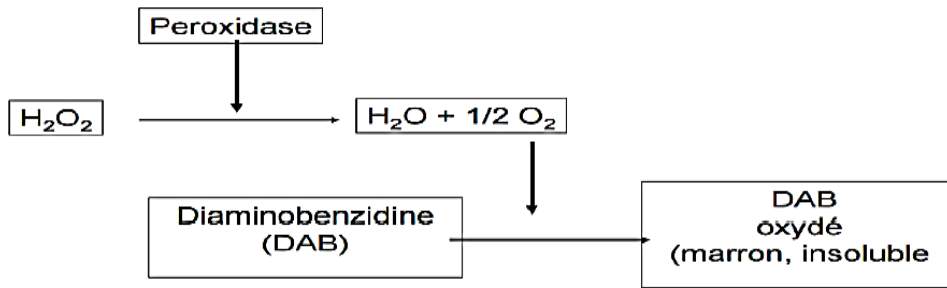


Figure 26. Schéma de la révélation par la diaminobenzidine

La révélation par la diaminobenzidine est basée sur la technique En Vision : polymère de dextran conjugué à des anticorps secondaires et à des molécules de dextran.

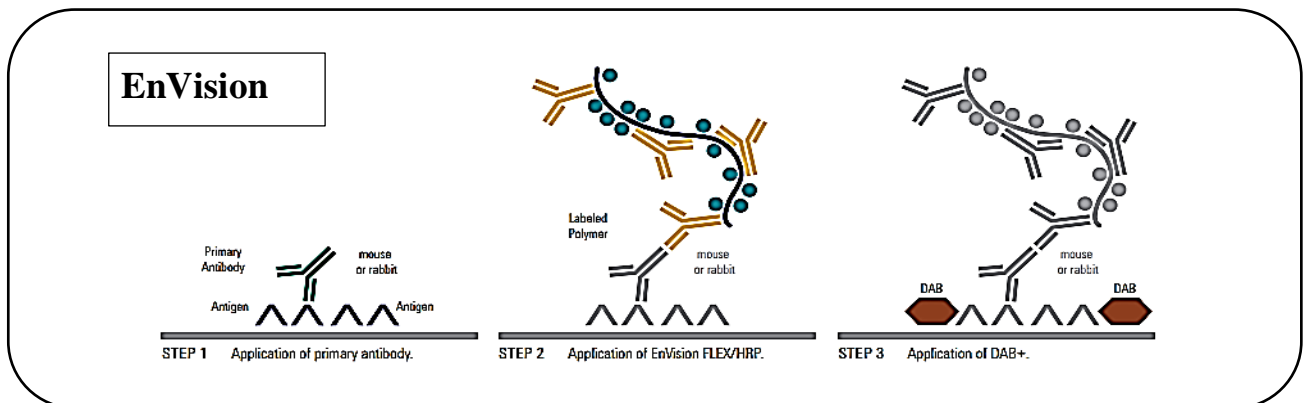


Figure 27. Schéma de la technique EN VISION (Guide IHC DAKO)

Préparation de la solution DAB : 50 μ l DAB Chromogène+ 1ml DAB Sustarete Buffer (pour une période de 5J)

- On applique 200 μ l de la solution de DAB dosée pour recouvrir l'échantillon
- On laisse incuber pendant 03 minutes.
- On effectue un rinçage 03 fois pendant 05 minutes.

6.2.6. La contre-coloration

Le marqueur visuel le plus couramment employé en IHC est le DAB (3,3'-Diaminobenzidine) qui produit un marquage marron, optionnellement, un contre marquage peut être réalisé avec une teinte contrastante afin de souligner les composants du tissu non marqués par le marqueur principal. Généralement, ce contre marquage est réalisé avec de l'hématoxyline.

On immerge les lames dans un bain d'hématoxyline. La durée de l'incubation dépend de la concentration de l'hématoxyline utilisée, puis, on les rince soigneusement à l'eau distillée.

6.2.7. Le montage

Pour un montage aqueux, on a utilisé des milieux de montage tels que le Dako Glycergel™ Mounting Medium (C0563) ou le Faramount Aqueous Mounting Medium (S3025) ou on pratique une déshydratation des lames dans 2 bains d'éthanol puis dans 3 bains de xylène pendant 4 minutes et on fait le montage avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre Eukit.

6.2.8. La lecture

L'interprétation qualitative des données IHC est couramment utilisée parmi les scientifiques. La description des paramètres évalués est généralement basée sur l'intensité et la qualité du marquage et sur le pourcentage des cellules positives (Hanna *et al* ; 2007). Cinq images ont été prises par lame représentant les champs qui seront analysés pour l'étude IHC. Toutes les images acquises ont été enregistrées sous forme JPEG (Taylor et Levenson ; 2006).

La lecture immunohistochimique a été effectuée aussi à l'aide de logiciel ImageJ Fuji avec l'option IHC Profiler.

7. Logiciel ImageJ

ImageJ est un logiciel de traitement et d'analyse d'images 2D adapté aux applications en biologie, développé par les National Institutes of Health (NIH).

C'est un logiciel de traitement et d'analyse d'images particulièrement adapté aux applications en biologie et en médecine. Les images numériques obtenues au laboratoire contiennent des informations qualitatives et quantitatives sur les objets biologiques étudiés (organismes, tissus, cellules ou molécules). Ces informations quantitatives peuvent aussi être extraites de ces images à l'aide de ce logiciel d'analyse. Les informations, devenues des données, peuvent alors être manipulées, stockées et comparées avec les résultats d'autres expériences.

8. Etude statistique

Les calculs et les analyses ont été réalisés à l'aide du logiciel XLSTAT, version 2014 et Excel 2016. Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (moyenne \pm écart type). Les moyennes ont été analysées à l'aide d'une ANOVA, suivie d'un test de Student permettant de comparer la différence entre le contrôle et les valeurs traitées. L'évaluation statistique pour l'œstradiol a été réalisée par le test non paramétrique Mann Whitney.

Selon la probabilité (p), la comparaison ou corrélation est considérée comme suit : non significatif si $p > 0,05$, significatif (*) si $p < 0,05$, hautement significatif (**) si $p < 0,01$, très hautement significatif (***) si $p < 0,001$.

Chapitre III

Résultats et discussion

RESULTATS

Nous allons présenter dans ce chapitre les résultats de notre travail sur l'effet de l'extrait organique des racines du *B. incrassatum* chez les lapines gravides pendant le troisième tiers de gestation, L'exposition des lapines au traitement se faisait par gavage.

1. L'effet du traitement sur le déroulement de la gestation

Tout au long de la période expérimentale, les animaux ont montré un comportement normal soit dans les lots témoins, soit traités. L'étude a permis de montrer à première vue, qu'aucun signe évident de toxicité n'a été observé.

2. L'effet du traitement sur l'évolution pondérale des lapines gestantes

Avant leur sacrifice, les animaux ont été pesés et le pourcentage d'évolution pondérale est calculé selon la formule suivante :

$$E\% = \frac{PJ30 - PJ0}{PJ0}$$

E%=pourcentage d'évolution pondérale.

PJ0=poids de l'animal le premier jour du traitement.

PJ10= poids de l'animal le jour10.

Les résultats obtenus après 10 jours de traitement par les différentes doses sur les poids corporels sont indiqués dans le tableau n°3.

Tableau 3. L'effet de l'extrait organique des racines du *B. incrassatum* sur l'évolution pondérale des lapines gestantes au troisième tiers de gestation.

	Paramètre	Groupes				P
		C	G1	G2	G3	
Progression pondérale	Poids initial (Kg)	3,35±0.389	3,39±0.410	3,00±0.332	2,95±0.273	
	Poids final (Kg)	3,55±0.421	3,56±0.343	3,14±0.355	3,20±0.398	
	Gain de poids (Kg)	0,2±0.120	0,17±0.067 ^{NS}	0,14±0.060 ^{NS}	0,25±0.134 ^{NS}	0.64

GS : glande surrénale, NS : non-significative, C : témoin, G1 : groupe 1, G2 : groupe 2, G3 : groupe 3.

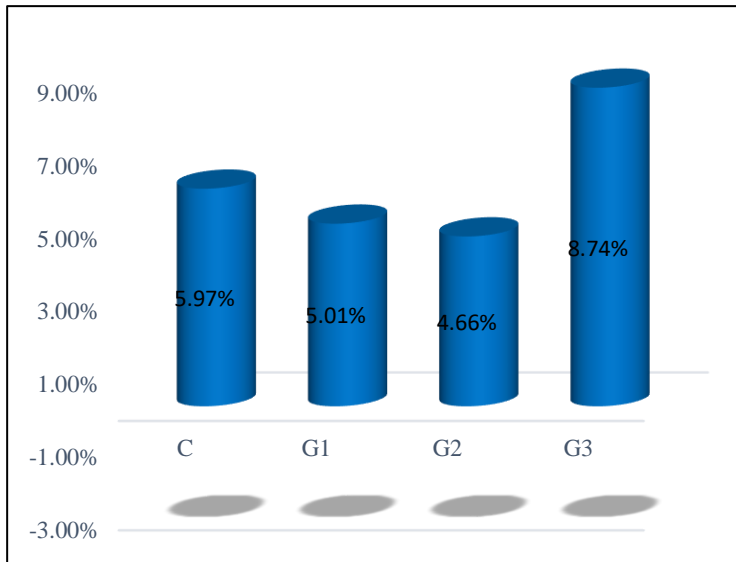


Figure 28. Taux d'évolution pondérale des lapines gestante après traitement avec de l'extrait organique des racines de *B. incrassatum*

Nous avons enregistré une augmentation importante du taux d'évolution pondérale de l'ordre de **(8,74%)** chez le groupe traité par 200 mg/kg/J par rapport au groupe témoin qui a connu une élévation de l'ordre de **(5,97 %.)** et une petite augmentation, inférieure à celle du groupe témoin T, du taux d'évolution pondérale de l'ordre de **(5,01% et 4,66%)** chez le groupe traité par 50 et 100 mg/kg/J respectivement.

3. L'effet du traitement sur les lapereaux

Le prélèvement de l'appareil génital de tous les animaux expérimentaux démontre la présence des lapereaux dans les deux cornes utérines (**figure 29**) cela indique que le traitement n'a pas causé ni avortement ni mortalité embryonnaire.

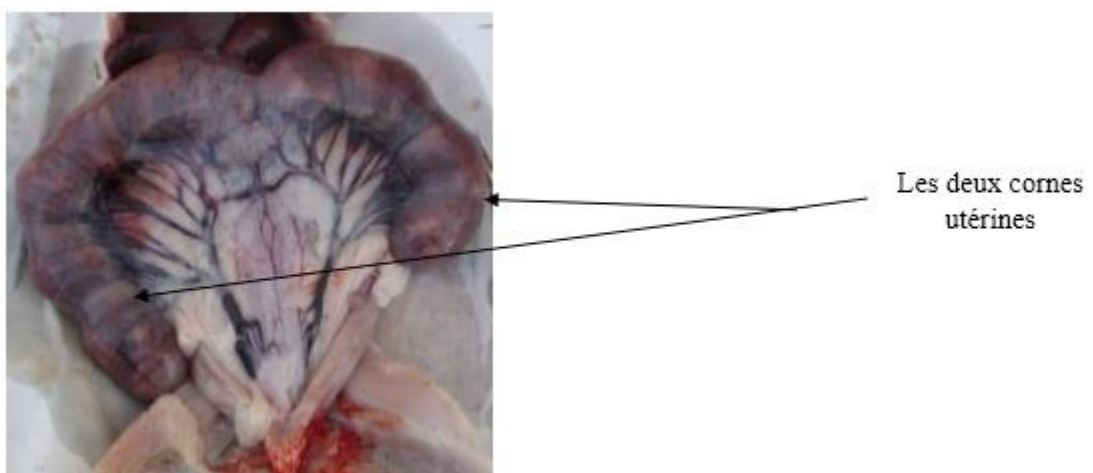


Figure 29. Les cornes utérines d'une lapine gravide témoin au 29j de gestation

Figure 30 illustre qu'aucune mal formation embryonnaire n'a été enregistrée chez les lapereaux issus des lapines traitées ou témoin, les lapereaux sont bien entouré par l'amnios et le placenta est normal et bien développé qui a assuré leur croissance et leurs protection.



Figure 30. Les embryons au 29j de gestation

4. L'effet du traitement sur le poids des lapereaux

Nos résultats démontrent que le traitement par la dose 50mg/kg/j a provoqué une augmentation du taux d'évolution pondérale des lapereaux par rapport au groupe témoin avec un pourcentage de l'ordre de +7.33% (38.66 g par rapport au témoin 36.0 g), et une réduction du taux d'évolution pondérale de l'ordre de -0.3% et de -7.44% (figure 31) avec les doses 100 et 200 mg/kg/j où le poids des lapereaux arrive à 35.89 g, 33.32 g respectivement (tableau 4).

Tableau4 : L'effet de l'extraits organiques des racines du *B. incrassatum* sur les poids des lapereaux.

Paramètre	Groupes				P
	C	G1	G2	G3	
Poids embryonnaire(g)	36.00±2.79	38.66±1.12 ^{NS}	35.89±4.14 ^{NS}	33.32±1.82 ^{NS}	0.64

GS : glande surrénale, NS : non-significative, C : témoin, G1 : groupe 1, G2 : groupe 2, G3 : groupe 3.

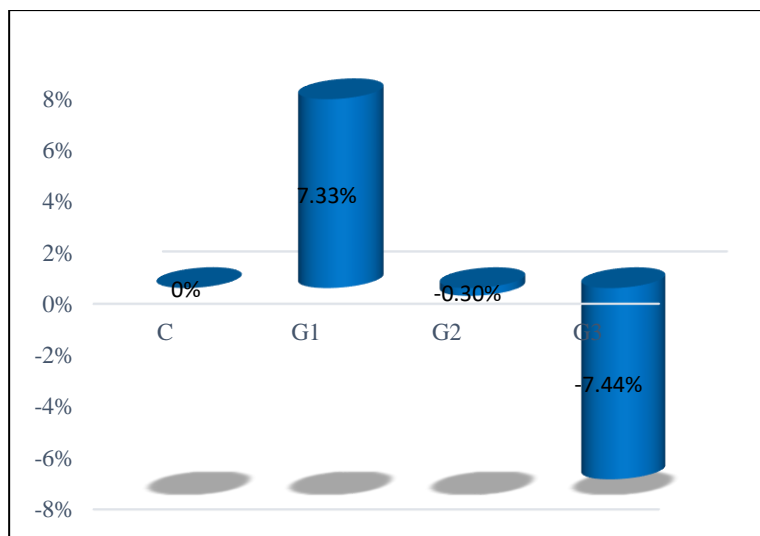


Figure 31. Taux de changement des poids des lapereaux.

5. L'effet du traitement sur le poids des reins

L'extrait organique des racines du *B.incrassatum* n'a aucun effet significatif sur le poids des reins. La valeur du poids des reins est 7.74g, 7.87g, 7,50g et 7.76g pour le groupe témoin et les groupes traités G1, G2 et G3 respectivement.

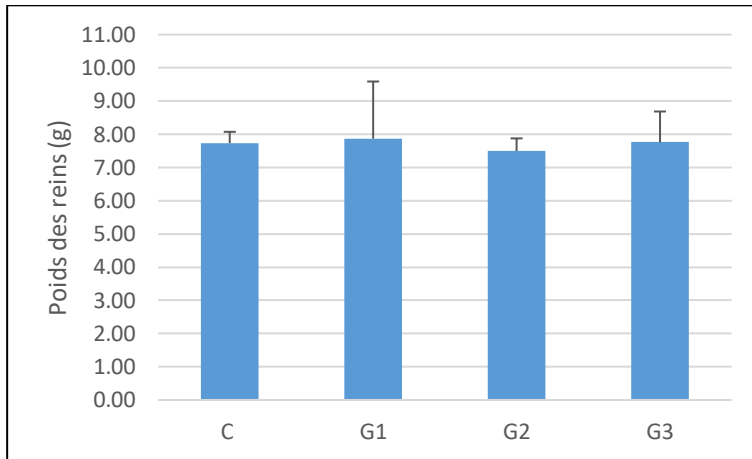


Figure 32. Le poids des reins des lapines gestantes après traitement avec de l'extrait organique des racines de *B. incrassatum*

6. L'effet du traitement sur les paramètres hématologiques :

6.1.L'effet du traitement sur les paramètres biochimiques

Dans notre expérience, les paramètres biochimiques examinés sont le cholestérol, le triglycéride et la glycémie.

a) Le cholestérol

Les résultats concernant Le cholestérol indiquent une augmentation très hautement significative dans le taux de cholestérol ($p = 0,0001$) où il atteint un niveau maximal avec le traitement de 200 mg/kg/jour avec un taux de 0,301 g/l de l'ordre de 267,07%, comparé au groupe témoin avec 0,082 g/l. (Figure 33 et 34)

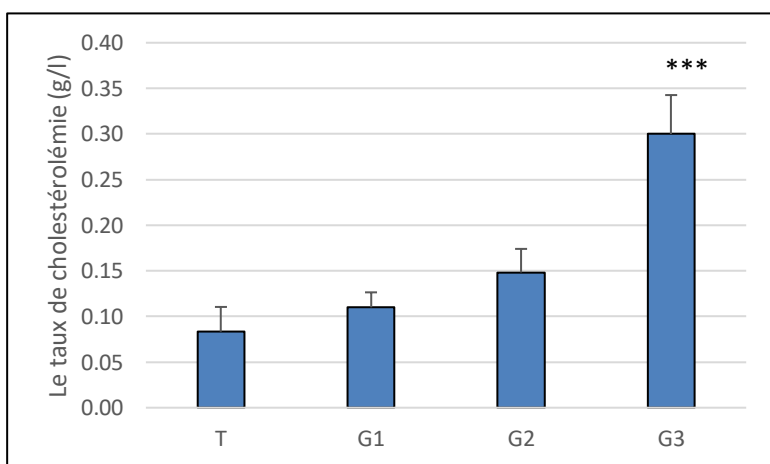


Figure 33. Effet des extraits organiques des racines de *B. incrassatum* sur la cholestérolémie au dernier tiers de gestation des lapines.

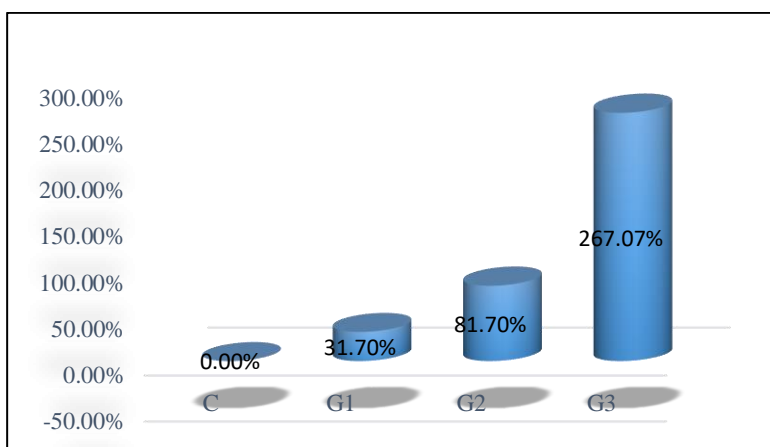


Figure 34. Taux de changement de cholestérolémie chez les animaux expérimentaux

b) Le triglycéride

L'analyse des résultats du taux de triglycéride montre une diminution non significative qui s'est étendue à 0,542 g/l, 0,539 g/l, 0,526 g/l de l'ordre de -15,70%, -16,17%, -18,19% dans les groupes G1, G2, G3 respectivement, par rapport au groupe témoin avec 0,643 g/l (Figure 35 et 36).

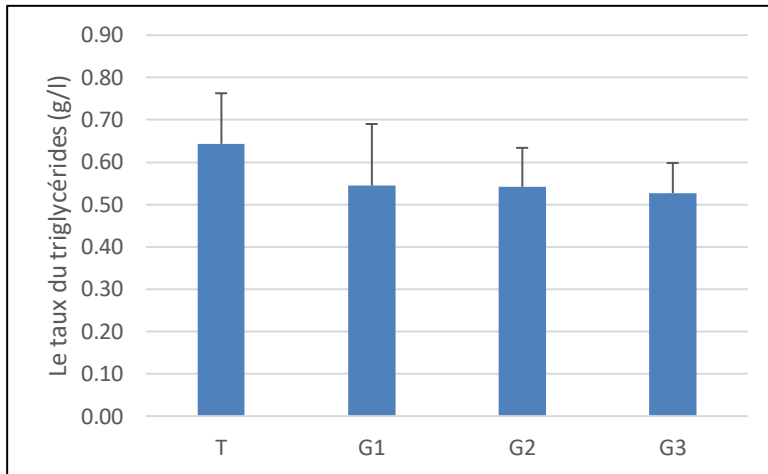


Figure 35. Effet des extraits organiques des racines de *B. incrassatum* sur le niveau sanguin de triglycéride au dernier tiers de gestation des lapines.

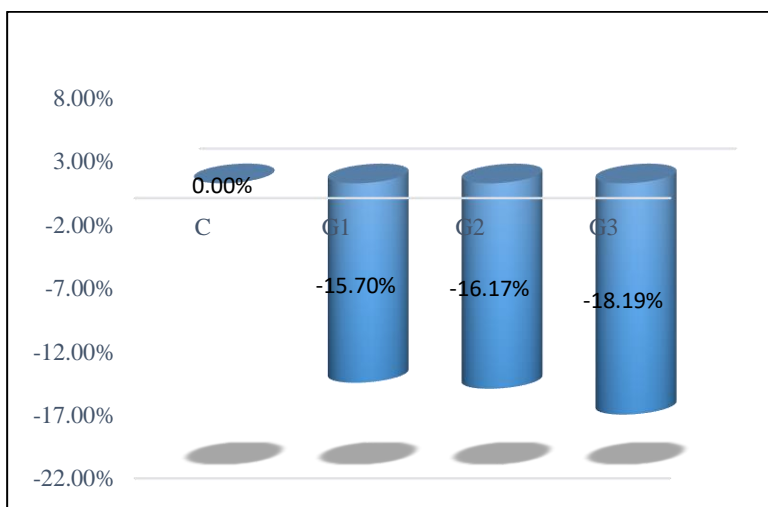


Figure 36. Taux de changement de triglycéride chez les animaux expérimentaux.

c) La glycémie

Le niveau de glycémie a eu une diminution significative de l'ordre de -14,84% où il atteint 0,998g/l chez le deuxième groupe (G2) et une diminution très significative de l'ordre de -26,45% où il atteint son niveau le plus bas avec 0,862g/l chez le troisième groupe (G3) par rapport au groupe témoin avec 1,172g/l (Figure 37 et 38).

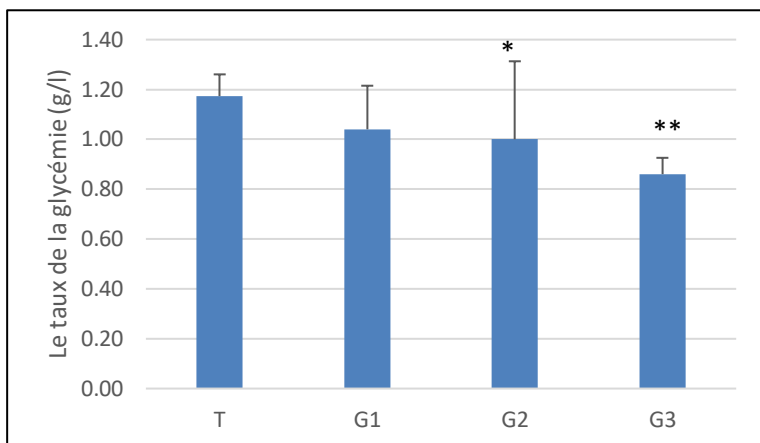


Figure 37. Effet des extraits organiques des racines de *B. incrasatum* sur la glycémie au dernier tiers de gestation des lapines.

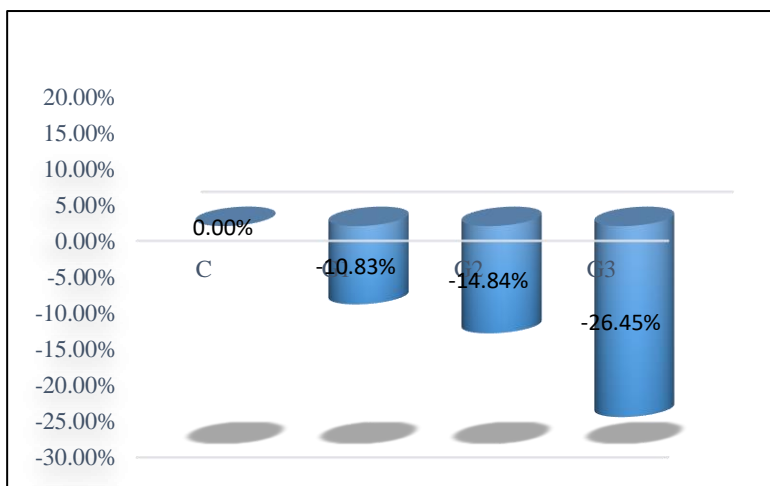


Figure 38. Taux de changement de glycémie chez les animaux expérimentaux

6.2.L'effet du traitement sur l'hémogramme des lapines gestantes

Les résultats d'un hémogramme: (Numération de la Formule Sanguine FNS) varient en fonction du sexe, de l'âge et de l'ethnie, les normes varient aussi selon un état physiologique comme la gestation.

L'hémogramme ,consignés dans le tableau 5, montre qu'il n'y a aucune variation significative ($P > 0.05$) dans le taux d'Hématies, d'Hémoglobine, d'Hématocrite, de VGM et de TCMH aussi dans le taux des leucocytes, des granulocytes et des monocytes dans tous les groupes traités.

Aussi, nos résultats montrent qu'il y a une diminution significative ($P < 0.05$) de **CCMH** chez le groupe traité avec la dose 200 mg/kg/J. Une autre diminution hautement significative ($P < 0.01$) dans le taux des **lymphocytes** et des **plaquettes** avec la dose 200 mg/kg/j toujours.

La lecture globale du tableau et à l'aide des graphes on peut obtenir les résultats suivants : Pour les **indices érythrocytaires**, une augmentation non significative remarquable avec les traitements 50 et 100 mg/kg/j, mais avec la dose 200 mg/kg/j, on remarque une diminution significative dans le taux du CCMH accompagnée par une diminution non significative dans le taux des hématies et d'hémoglobine (Figure 39 et 40).

Une perturbation dans le taux des **leucocytes** ou elle commence avec une augmentation importante de l'ordre de +31,36% avec la dose de 50mg/kg/j. une diminution de l'ordre de -1.76% avec la dose 100mg/kg/j et elle termine par une autre augmentation de l'ordre de +17.92% avec la dose 200 mg/kg/j ou elle atteint $5.33 (10^3/\mu\text{l})$ par rapport au témoin $4.52 (10^3/\mu\text{l})$ (Figure. 41).

Une augmentation irrégulière remarquable, non significative, atteint le taux des **granulocytes** avec toutes les doses (Figure. 42).

Une augmentation non significative dans le taux des **lymphocytes** avec le traitement 50mg/kg/j où elle atteint son niveau maximal de $3.72 (10^3/\mu\text{l})$. Une diminution très significative avec le traitement de 200 mg/kg/j ou elle atteint $1.46 (10^3/\mu\text{l})$ par rapport au témoin avec $2.51 (10^3/\mu\text{l})$ (Figure. 43) .

Une diminution non significative dans le taux des **monocytes** (figure 44) avec les doses 50 et 100 mg/kg/j ou il atteint $0.30 (10^3/\mu\text{l})$, $0.25 (10^3/\mu\text{l})$ respectivement par rapport au témoin avec $0.39(10^3/\mu\text{l})$.

Une augmentation très significative dans le taux des **plaquettes** dans le groupe G3 avec le traitement 200 mg/kg/j ou il atteint un niveau maximal de 320 (Figure. 45).

Tableau 5 : l'effet des extraits organiques des racines de *B. incrassatum* sur les paramètres hématologique FNS des lapines gestantes.

Paramètres		Témoin M±SD	G1 M±SD	G2 M±SD	G3 M±SD
Leucocytes (10³/μl)		4.52 ± 1.08	5.95 ± 1.95^{NS} (+ 31.36%)	4.44 ± 0.45^{NS} (- 1.76%)	5.33 ± 3.23^{NS} (+17.92%)
Granulocytes	Neutrophiles (10³/μl)	1.63 ± 0.81	1.74 ± 0.46 ^{NS} (+ 6.74%)	1.67 ± 0.3 ^{NS} (+ 2.54%)	3.34 ± 2.88 ^{NS} (+ 104.9%)
	Eosinophiles (10³/μl)	0.002 ± 0.004	0.007 ± 0.01 ^{NS} (+ 250%)	0.036 ± 0.07 ^{NS} (+ 1700%)	0.017 ± 0.026 ^{NS} (+ 750%)
	Basophiles (10³/μl)	0.11 ± 0.06	0.18 ± 0.17 ^{NS} (+ 63.63%)	0.08 ± 0.03 ^{NS} (- 27.27%)	0.13 ± 0.08 ^{NS} (+ 18.18%)
Lymphocytes (10³/μl)		2.51 ± 0.42	3.72 ± 1.93 ^{NS} (+ 48.20%)	2.39 ± 0.5 ^{NS} (- 4.78%)	1.46 ± 0.5 ^{**} (- 41.83%)
Monocytes (10³/μl)		0.39 ± 0.14	0.3 ± 0.17 ^{NS} (- 23.07%)	0.25 ± 0.11 ^{NS} (- 35.89%)	0.39 ± 0.35 ^{NS} (+ 0%)
Plaquettes (10³/μl)		194.66 ± 101.67	157.33 ± 25.88 ^{NS} (- 19.17%)	214.66 ± 86.09 ^{NS} (+ 10.27%)	320.00 ± 61.78 ^{**} (+ 64.38%)
Hématies (10⁶/μl)		6.39 ± 0.41	6.69 ± 0.54^{NS} (+ 4.96%)	6.68 ± 0.75^{NS} (+ 4.53%)	6.28 ± 0.51^{NS} (- 1.72%)
Hémoglobine (g/dl)		13.66 ± 1.03	14.36 ± 0.44^{NS} (+ 5.12%)	14.5 ± 1.15^{NS} (+ 6.14%)	13.4 ± 1.29^{NS} (- 1.9%)
Hématocrite (%)		43.08 ± 4.86	44.8 ± 3.16^{NS} (+ 3.99%)	45.64 ± 4.61^{NS} (+ 5.94%)	44.66 ± 5.78^{NS} (+ 3.66%)
Les indices érythrocytaires	VGM (fl)	67.23 ± 3.98	67 ± 3.98^{NS} (- 0.34%)	68.42 ± 2.33^{NS} (+ 1.77%)	71.16 ± 7.73^{NS} (+ 5.84%)
	TCMH (pg)	21.36 ± 0.72	21.53 ± 1.14^{NS} (+ 0.79%)	21.8 ± 1.06^{NS} (+ 2.05%)	21.36 ± 1.84^{NS} (+ 0%)
	CCMH (g/dl)	31.83 ± 1.43	32.13 ± 1.4^{NS} (+ 0.94%)	31.86 ± 1.45^{NS} (+ 0.094%)	30.13 ± 0.98[*] (- 5.34%)

VGM le volume globulaire moyen ; TCMH la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; CCMH la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine.

6.2.1. L'effet du traitement sur les indices érythrocytaires

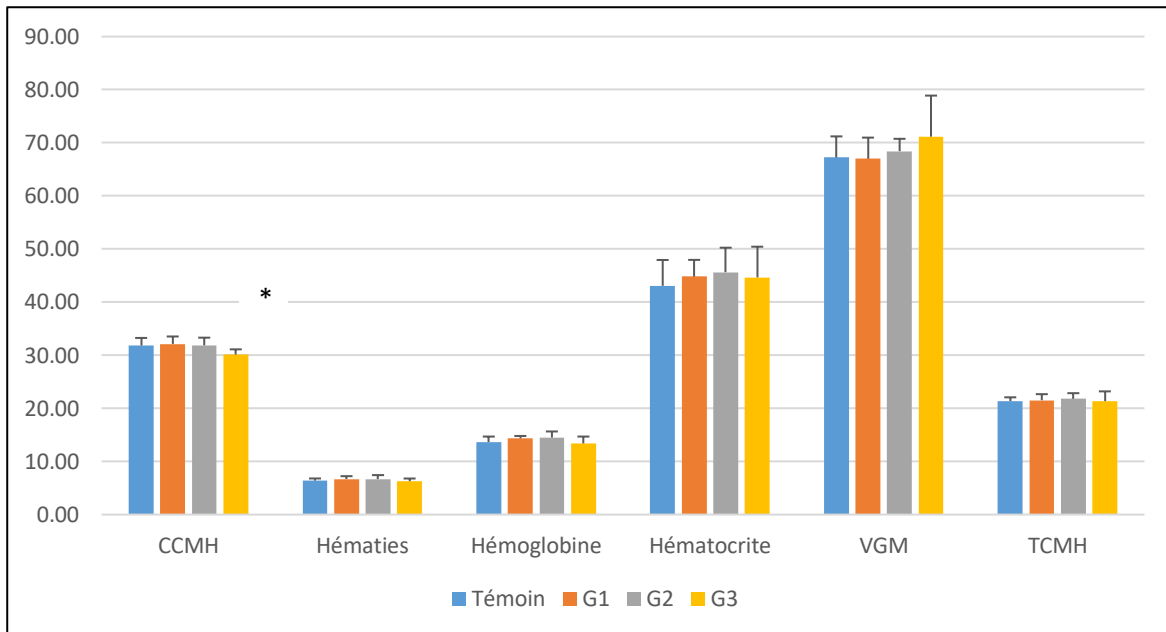


Figure 39. Les indices érythrocytaires chez les lapines gravides au derniers tiers de gestation traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*".

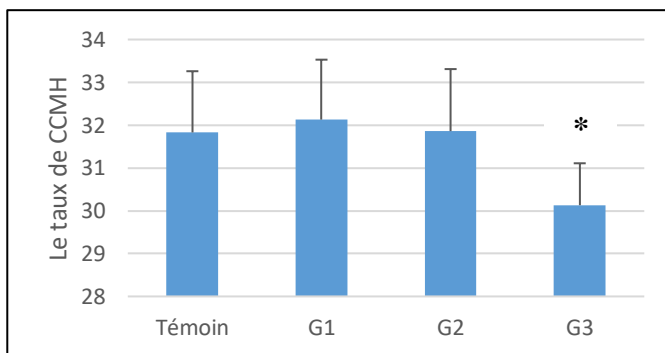


Figure 40. Evolution de CCMH au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*".

6.2.2. L'effet du traitement sur les leucocytes (les globules blancs)

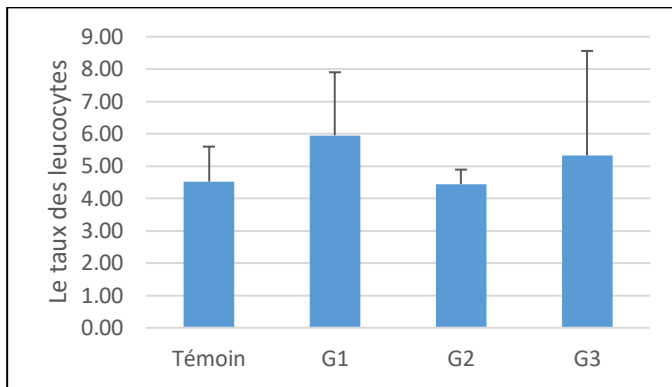


Figure 41. Evolution des leucocytes au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*".

a) L'effet du traitement sur les granulocytes

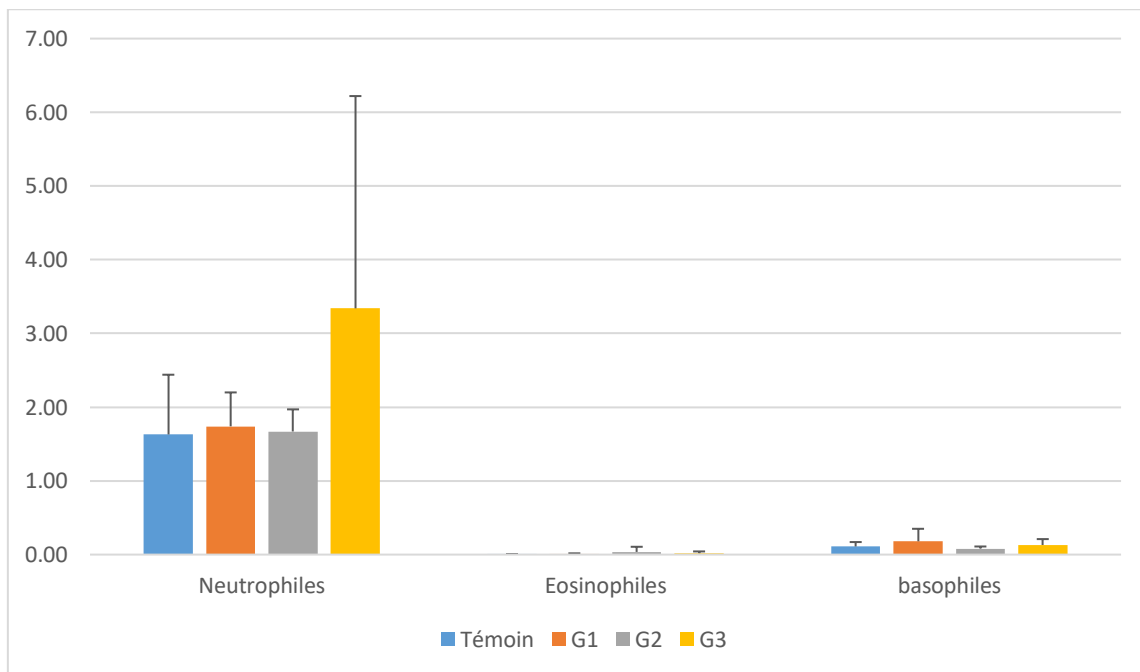


Figure 42. Taux des granulocytes (polynucléaires) chez les lapines gravides au derniers tiers de gestation traitées avec l'extrait organique des racines de "*B.incrassatum*".

b) L'effet du traitement sur les lymphocytes

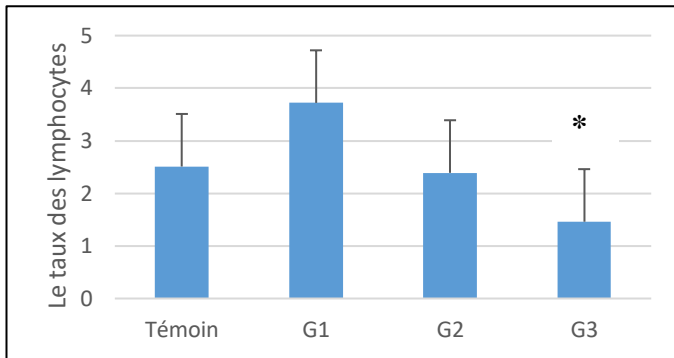


Figure 43. Evolution de taux des **lymphocytes** au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*".

c) L'effet du traitement sur les monocytes

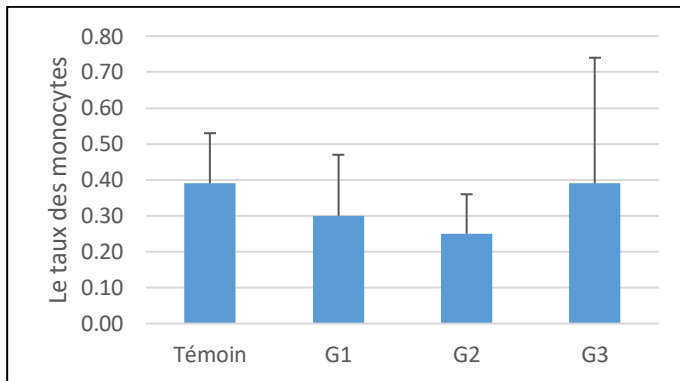


Figure 44. Evolution de taux des **monocytes** au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*".

6.2.3. L'effet du traitement sur les plaquettes

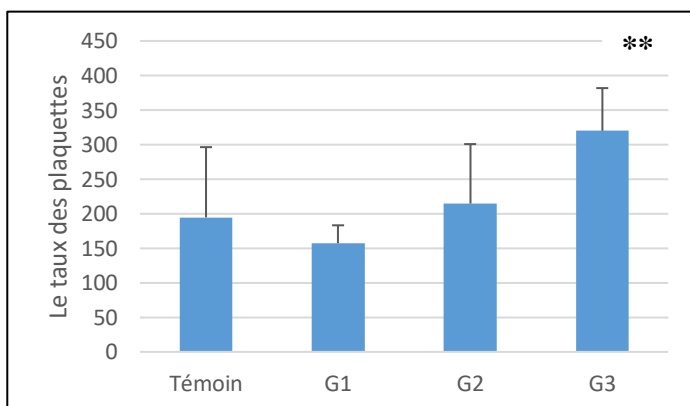


Figure 45. Evolution de taux des **plaquettes** au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*".

Tableau 06. Les indices de pronostiques et de diagnostiques de la prééclampsie :

	Témoin	G1	G2	G3
Neutrophiles	1,63	1,74	1,67	3,34
Plaquettes	194,66	157,33	214,66	320,00
Lymphocytes	2,51	3,72	2,39	1,46
NLR	0,65	0,47	0,70	2,29
PLR	77,55	42,29	89,82	219,18

NLR= neutrophiles/ lymphocytes

PLR= Plaquettes/lymphocytes

6.3. L'effet du traitement sur les paramètres hormonaux

Nous voulons par le dosage hormonal d'évaluer l'effet du traitement par l'extrait organique des racines du *B. incrassatum* sur la gestation.

6.3.1. Cortisol

Nous avons trouvé une augmentation très significative dans le taux de cortisol ($p = 0,009$) de l'ordre de 244.88% (figure 47) où il atteint un niveau maximal avec le traitement de 200 mg/kg/jour avec un taux de 21,50 $\mu\text{g/dl}$, comparé au groupe témoin avec 6,23 $\mu\text{g/dl}$ (figure 46).

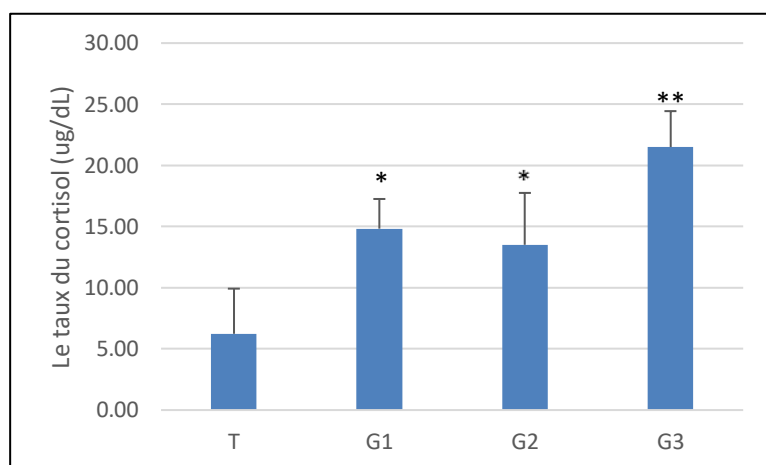


Figure 46. Effet des extraits organiques des racines de *B. incrassatum* sur la cortisolémie au dernier tiers de gestation des lapines.

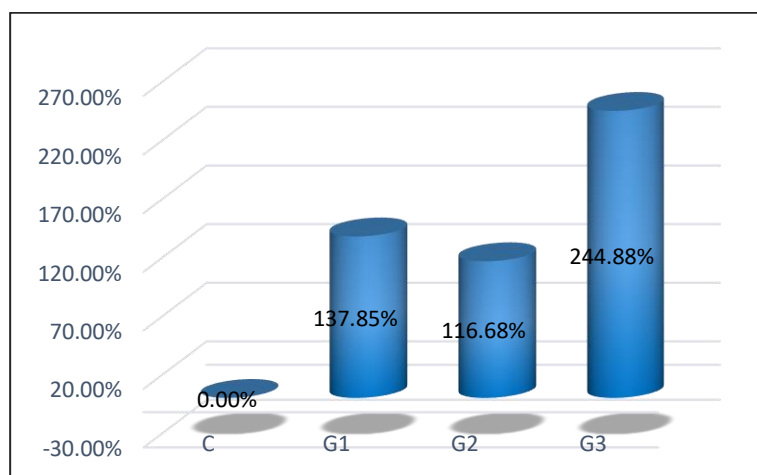


Figure 47. Taux de changement de cortisol chez les animaux expérimentaux

6.3.2. Progestérogène

Une augmentation significative dans le taux de progestérogène de l'ordre de 50,91% et 47,78% (figure 49) chez les groupes G2 et G3 ou elle atteint 15.33 Pg/dl, 15.01 Pg/dl respectivement par rapport au témoin avec 10.16 Pg/dl (figure 48).

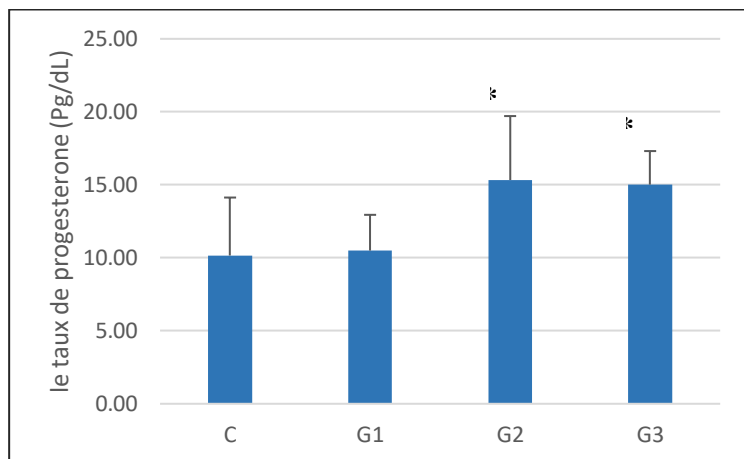


Figure 48. Effet des extraits organiques des racines de *B. incrassatum* sur le taux de progestérogène au dernier tiers de gestation des lapines.

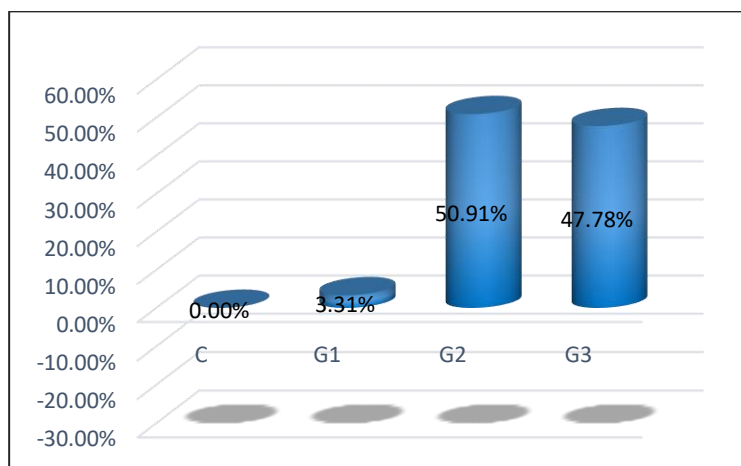


Figure 49. Taux de changement de progestérogène chez les animaux expérimentaux

6.3.3. Œstradiol

L'extrait organique des racines de *B. incrassatum* a un effet non significatif sur le taux d'œstradiol. Mais on remarque une perturbation dans le taux ou il a eu une augmentation avec la dose 50 mg/kg/j ou il atteint. 14.82 Pg/dl et une diminution avec la dose 200 mg/kg/j ou il atteint. 8.57 Pg/dl. (Figure 50)

Le pourcentage de changement a connu une augmentation de l'ordre de 25,80% chez le groupe traité par 50mg/kg/j et une diminution de l'ordre - 2,20% et - 27 ,24% chez les groupes traités par 100 et 200mg/kg/j respectivement en comparaison au groupe témoin . (Figure 51)

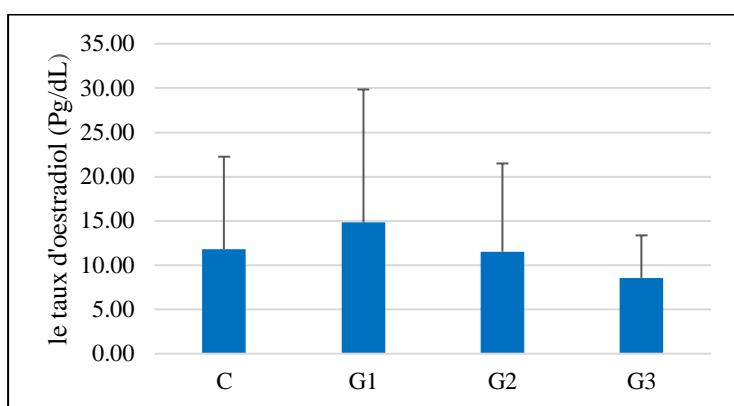


Figure 50. Effet des extraits organiques des racines de *B. incrassatum* sur le taux d'œstradiol au dernier tiers de gestation des lapines.

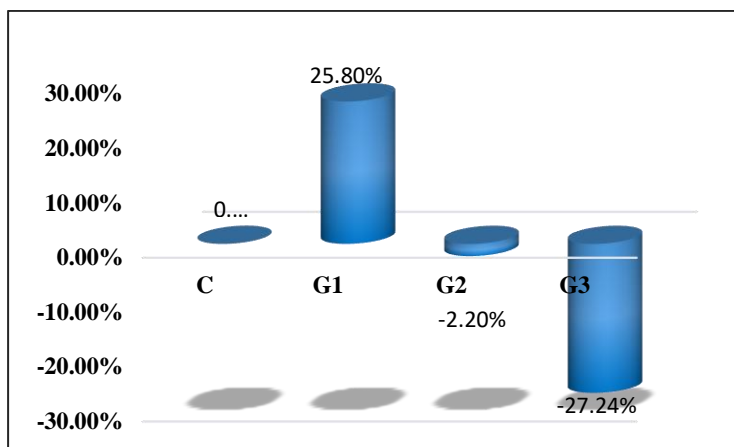


Figure 51. Taux de changement de l'œstradiol chez les animaux expérimentaux

7. L'effet du traitement sur la glande surrénale

7.1. Anatomie de la glande surrénale

Du point de vue anatomique, les surrénales droite et gauche situées dans la cavité abdominale crânienne au pôle crânien du rein. Les deux glandes sont de couleur blanche à crème positionnée rétro péritonéale et incrustée dans une masse de graisse.

La figure 52 illustre la position de la glande surrénale, elles sont nettement séparées des reins et plus médiales.

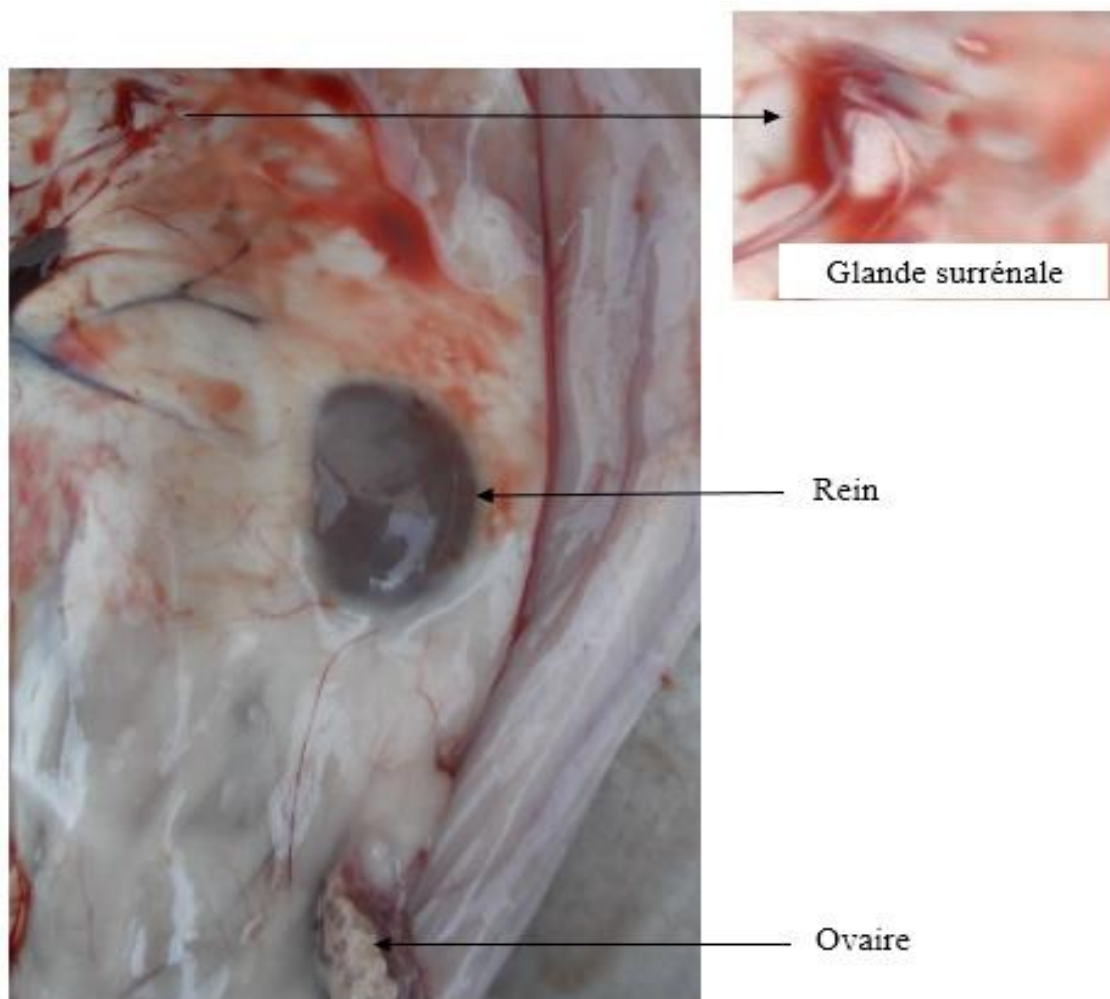


Figure 52. Position de la glande surrénale chez la lapine

7.2. L'effet du traitement sur les poids relatifs de la glande surrénale :

Les résultats présentés dans le tableau 7 révèlent les poids relatifs des glandes surrénales des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de *B. incrassatum* au troisième tiers de gestation.

Tableau 7 : L'effet de l'extrait organique des racines du *B. incrassatum* sur les poids relatifs de la glande surrénale au troisième tiers de gestation.

Paramètre	Groupes				P
	C	G1	G2	G3	
Poids relative de la GS	0.0061±0.0015	0.0066±0.001 ^{NS}	0.0049±0.0005 ^{NS}	0.0047±0.001 ^{NS}	0.62
Poids relative de la GS droite	0.0061±0.0015	0.0071±0.001 ^{NS}	0.0049±0.005 ^{NS}	0.0043±0.001 ^{NS}	0.47
Poids relative de la GS gauche	0.006±0.002	0.006±0.001 ^{NS}	0.005±0.0005 ^{NS}	0.0051±0.001 ^{NS}	0.75

GS : glande surrénale, NS : non-significative, C : témoin, G1 : groupe 1, G2 : groupe 2, G3 : groupe 3.

Le tableau 7 montre que l'administration quotidienne de l'extrait organique des racines du *B. incrassatum* au troisième tiers de gestation n'a aucun effet significatif sur les poids relatifs des glandes surrénales. Mais on peut noter qu'il y a une diminution dans les poids relatifs dans les groupes traités avec les doses 100 et 200 mg/kg/j de l'ordre de -16.66% ou ils ont atteint 0.0049 et 0.0047 respectivement par rapport au témoin avec 0.0061. On remarque aussi que cette diminution atteint les glandes surrénales droite, de l'ordre de -16.66%, -33.33% ou ils ont atteint 0.0049 et 0.0043 respectivement, au temps que les glandes surrénales gauche, la diminution est de l'ordre de -16.66% pour les deux groupes G2 et G3 ou ils ont atteint 0.005 et 0.0051 respectivement (Figure 53 et 54).

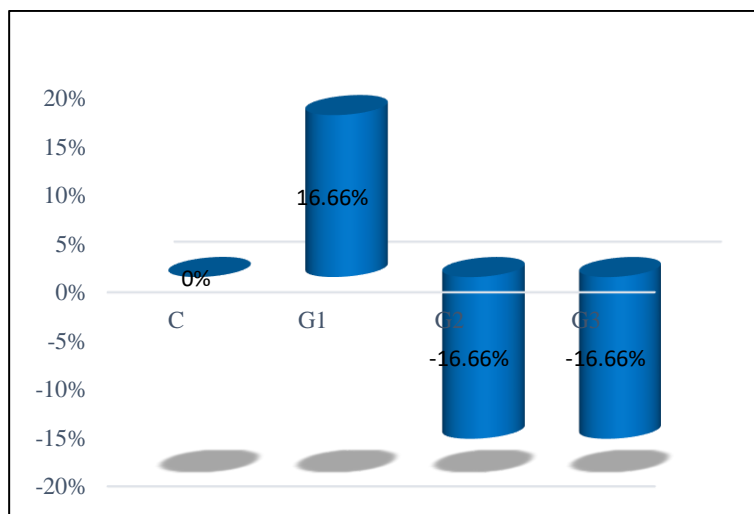


Figure 53 .Taux de changement des poids relatifs des glandes surrénales

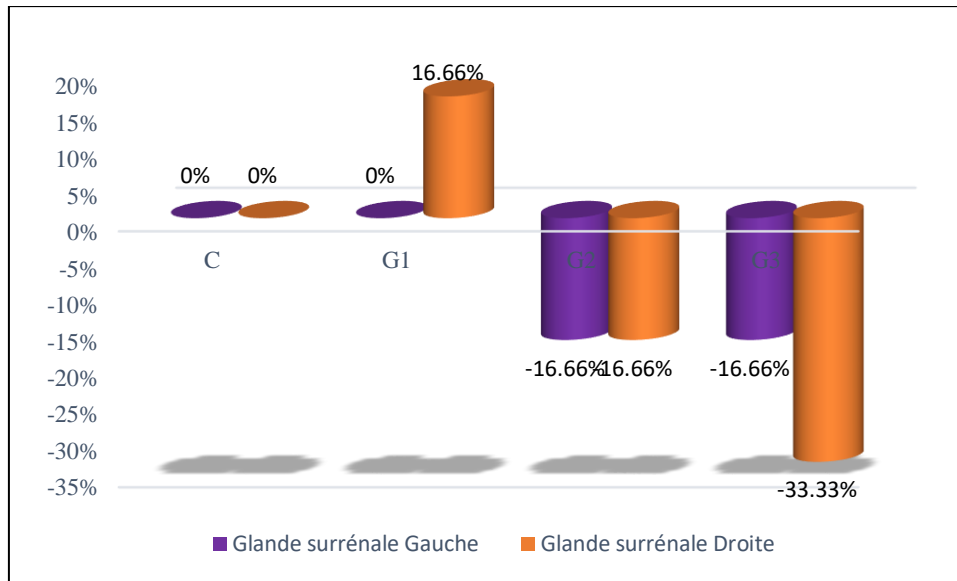


Figure 54. Taux de changement des poids relatifs des glandes surrénales droite et gauche

7.3. L'effet du traitement sur l'histomorphométrie du cortex surrénalien

Les mesures des couches histologiques de la glande surrénale ont montré que l'épaisseur générale de la zone corticale a eu une augmentation non significative avec les différentes doses, l'augmentation est de l'ordre de +1.64% avec la dose 50 mg/kg/j, +7.58% avec la dose 100 mg/kg/j et +8.68% avec la dose 200 mg/kg/j, alors que les mesures de l'épaisseur correspondent à 0.82 μ m, 0.87 μ m et 0.88 μ m respectivement, en comparaisant au témoin avec 0.81 μ m. (tableau 8, figure 55)

Tableau 8 : Histomorphométrie du cortex surrénalien

	C	G1	G2	G3	P
Cortex (μm)	0.81 \pm 0.09	0.82 \pm 0.03 ^{NS}	0.87 \pm 0.03 ^{NS}	0.88 \pm 0.05 ^{NS}	0.1

(NS = non-significative, *significative, **très significative, ***très hautement significative)

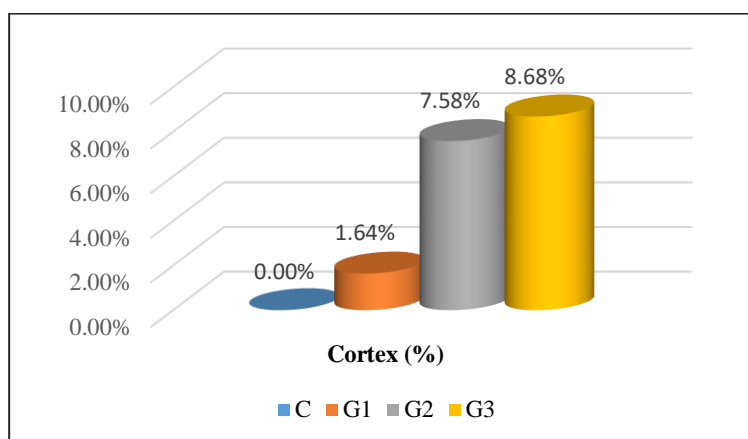


Figure 55. Taux de changement de l'épaisseur du cortex surrénalien chez les animaux expérimentaux.

8. L'effet du traitement sur l'histomorphométrie des zones corticales

La couche glomérule a eu une diminution non significative de -8.37 % (0.16 μ m) avec le traitement de 50 mg/kg/j, les doses 100 et 200 mg/kg/j induits une augmentation non significative de +3.87 % et +6.09 % avec 0.182 μ m et 0.186 μ m respectivement par rapport au témoin avec 0.175 μ m.

La couche fasciculée est en augmentation progressive ou elle commence non significative avec la dose 50mg/kg/j avec 0.38 μ m (+14.69%) et termine très hautement significative avec les doses de 100 et 200 mg/kg/j ou elle atteint 0.49 μ m (+46.75%) et de 0.50 μ m (+49.34%) respectivement par rapport au témoin avec 0.33 μ m.

Cette augmentation de la couche fasciculée est accompagnée d'une diminution dans la couche réticulaire, qui commence non significative avec -7.03% avec la dose 50 mg/kg/j (0.28 μ m par rapport au témoin avec 0.30 μ m), et continu significative avec la dose 100 et 200 mg/kg/j avec -33.9% (0.199 μ m) et -35.16% (0.195 μ m) respectivement. (Tableau 9 figure 56 et 57)

Tableau 9 : Histomorphométrie des zones corticales

	C	G1	G2	G3	P
Glomerulosa (μm)	0.17 \pm 0.03	0.16 \pm 0.04 ^{NS}	0.18 \pm 0.01 ^{NS}	0.18 \pm 0.04 ^{NS}	0.57
Fasciculata (μm)	0.33 \pm 0.05	0.38 \pm 0.03*	0.49 \pm 0.06***	0.50 \pm 0.03***	0.0001
Reticularis(μm)	0.30 \pm 0.09	0.28 \pm 0.05 ^{NS}	0.19 \pm 0.08*	0.19 \pm 0.06*	0.04

(NS = non-significative, *significative, **très significative, ***très hautement significative)

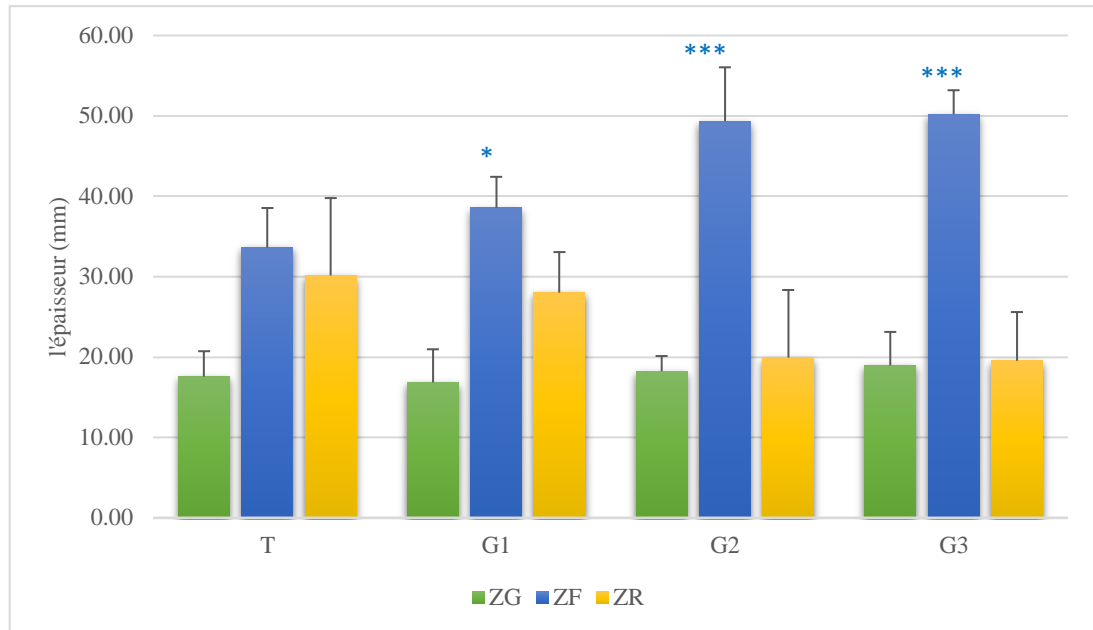


Figure 56. Evolution de l'épaisseur des couches corticales au dernier tiers de gestation des lapines traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*".

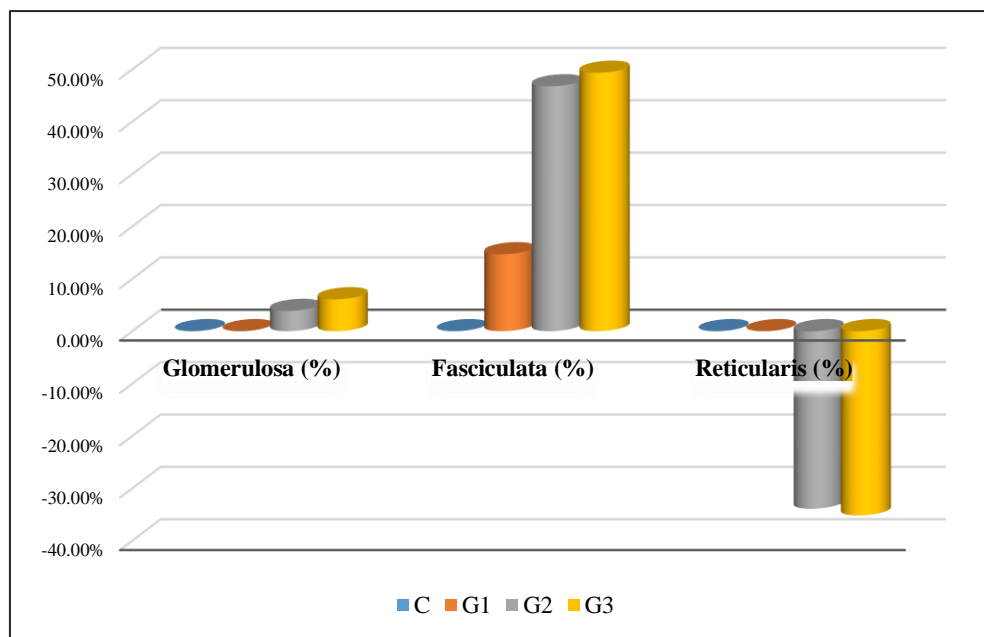


Figure 57. Taux de changement de l'épaisseur des couches corticales chez les animaux expérimentaux.

9. L'effet du traitement sur l'histologie de la glande surrénale

L'étude histologique de la glande surrénale des lapines témoins et traitées, a permis de confirmer les résultats obtenus par l'étude hématologique et biochimique. Les résultats de cette investigation sont présentés par les figures suivantes :

Les coupes histologiques réalisées démontrent que les glandes surrénales sont entourées par : Un tissu adipeux ,les noyaux des adipocytes n'ont pas toujours bien visibles, ils sont écrasés à la périphérie de la cellule . Le cytoplasme des cellules est presque entièrement occupé par une volumineuse goutte lipidique qui refoule le noyau, les adipocytes prennent un aspect vide, Les adipocytes sont entourés de quelques fibres réticulées et de vaisseaux sanguins qui irriguent le tissu. Et une capsule conjonctive formée par des fibres de collagène, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins richement vascularisées entourant un parenchyme glandulaire.

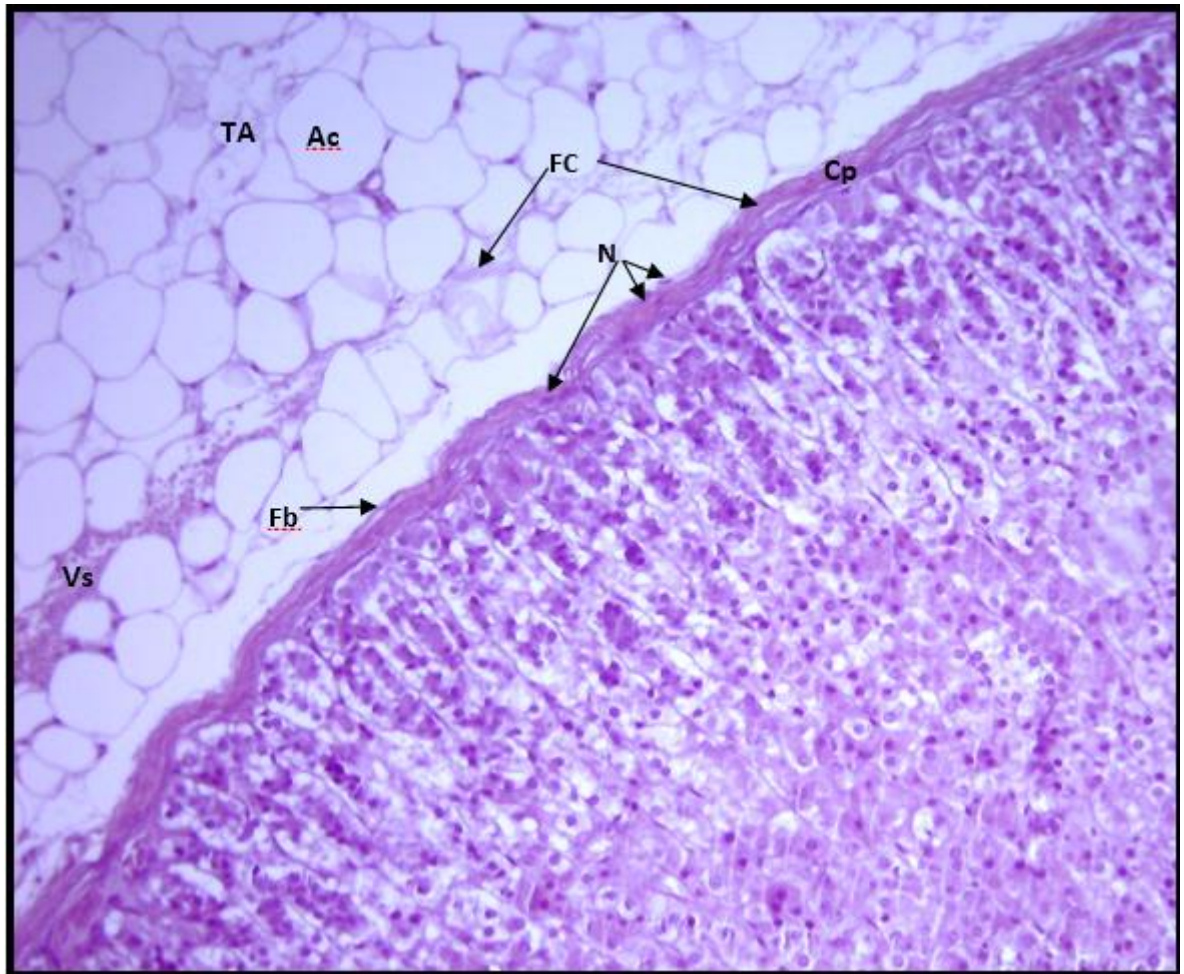


Figure 58. Vue d'ensemble du tissu adipeux et de la capsule entourant la glande surrénale chez la lapine gestante (x40).

TA (tissu adipeux), Ac (adipocyte), Cp (capsule), Fb (fibroblastes), N (noyaux), FC (fibre de collagène), Vs (vaisseau sanguin).

Au faible grossissement (image A), la glande surrénale apparaît constituée d'un cortex (C) et d'une médulla (M) et entourée d'une capsule (Cp) conjonctive enveloppe la glande.

Les images B et C le cortex apparaît constitué de trois zones :

La zone glomérulée (ZG) : située sous la capsule, est constituée de cellules groupées en amas plus ou moins ovoïdes.

La zone fasciculée (ZF) : ces cellules sont organisées en cordon parallèles disposés perpendiculairement à la capsule.

La zone réticulée (ZR) : adjacente à la médullaire, est faite de nombreuses cellules de petite taille formant des cordons anastomosés.

En C, la médullosurrénale (M) est constituée par des amas serrés de cellules sécrétoires ayant pour support un fin réseau de tissu conjonctif.

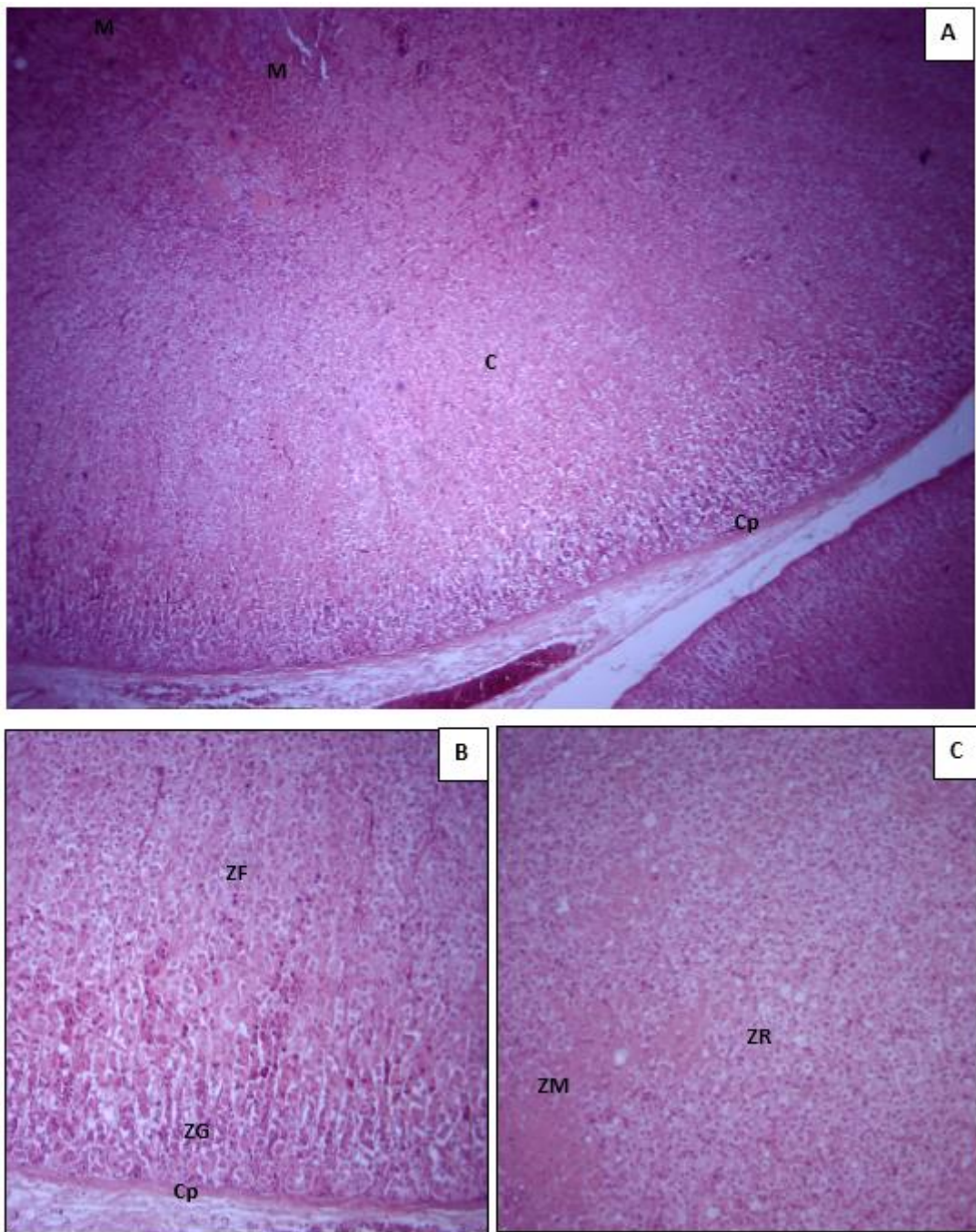


Figure 59. Vue d'ensemble de la glande surrénale chez la lapine gestante témoin (Ax4, B et C x10).

(C) cortex, (M) médulla, (Cp) capsule, (ZG) zone glomérulée, (ZF) zone fasciculée, (ZR) zone réticulée.

9.1. L'effet du traitement sur la couche glomérulée

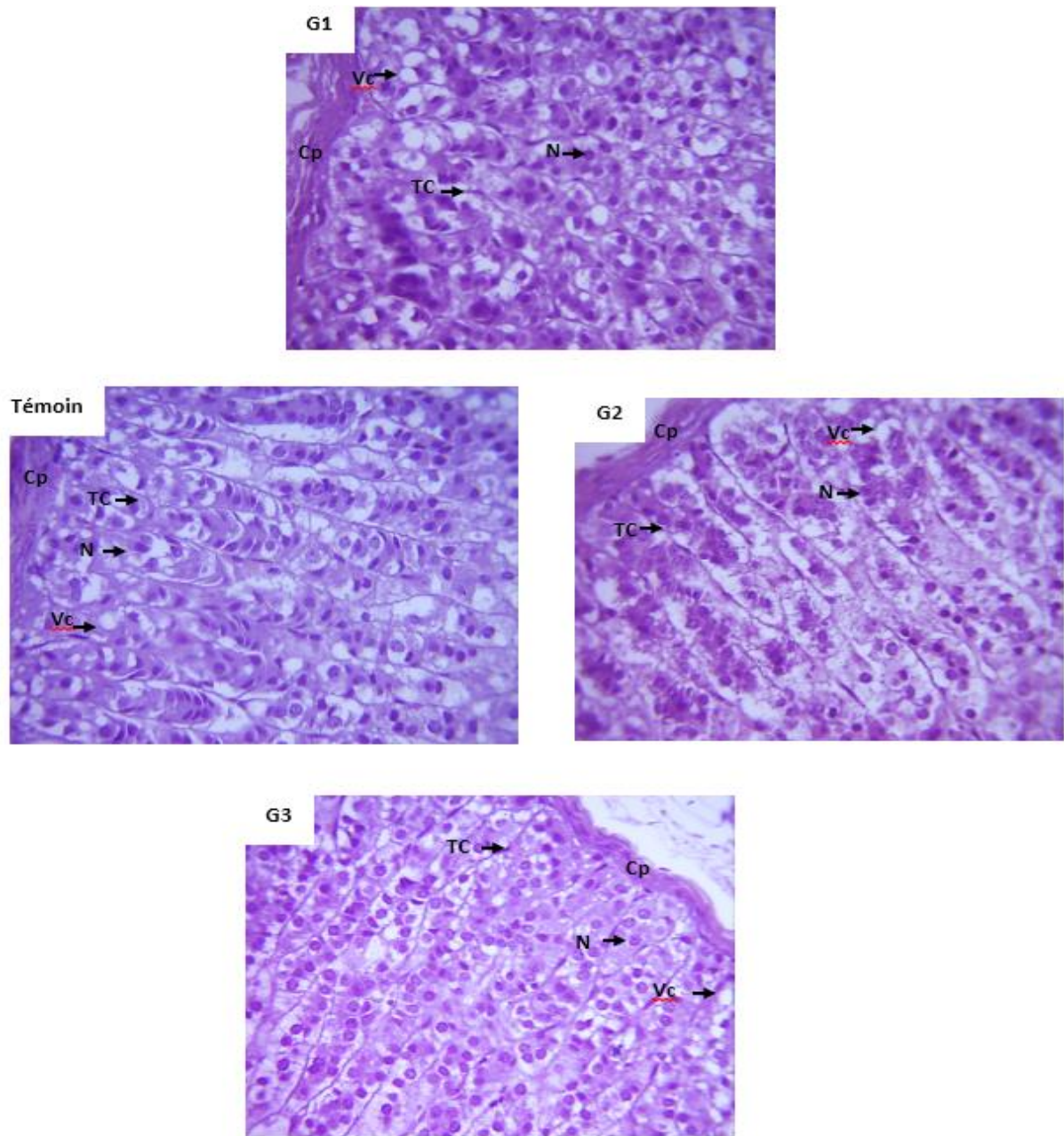


Figure 60. La zone glomérulée chez les lapines gestantes témoins et traitées (x40).

(Cp) capsule, (TC) tissue conjonctif, (Vc) vacuole, (N) noyau.

La zone glomérulée forme une couche mince sous la capsule, les cellules sont assemblées en petit amas plus ou moins ovoïdes, à noyau arrondi plus ou moins clair avec un nucléole peuvent être identifiés, séparés par des fines travées conjonctives. Certaine d'aspect

sombre et les autres présentent un cytoplasme vacuolaire. Cette dernière est très remarquable avec les traitements 100 et 200 mg/kg/J, aucune anomalie n'a été observée.

9.2. L'effet du traitement sur la couche fasciculée

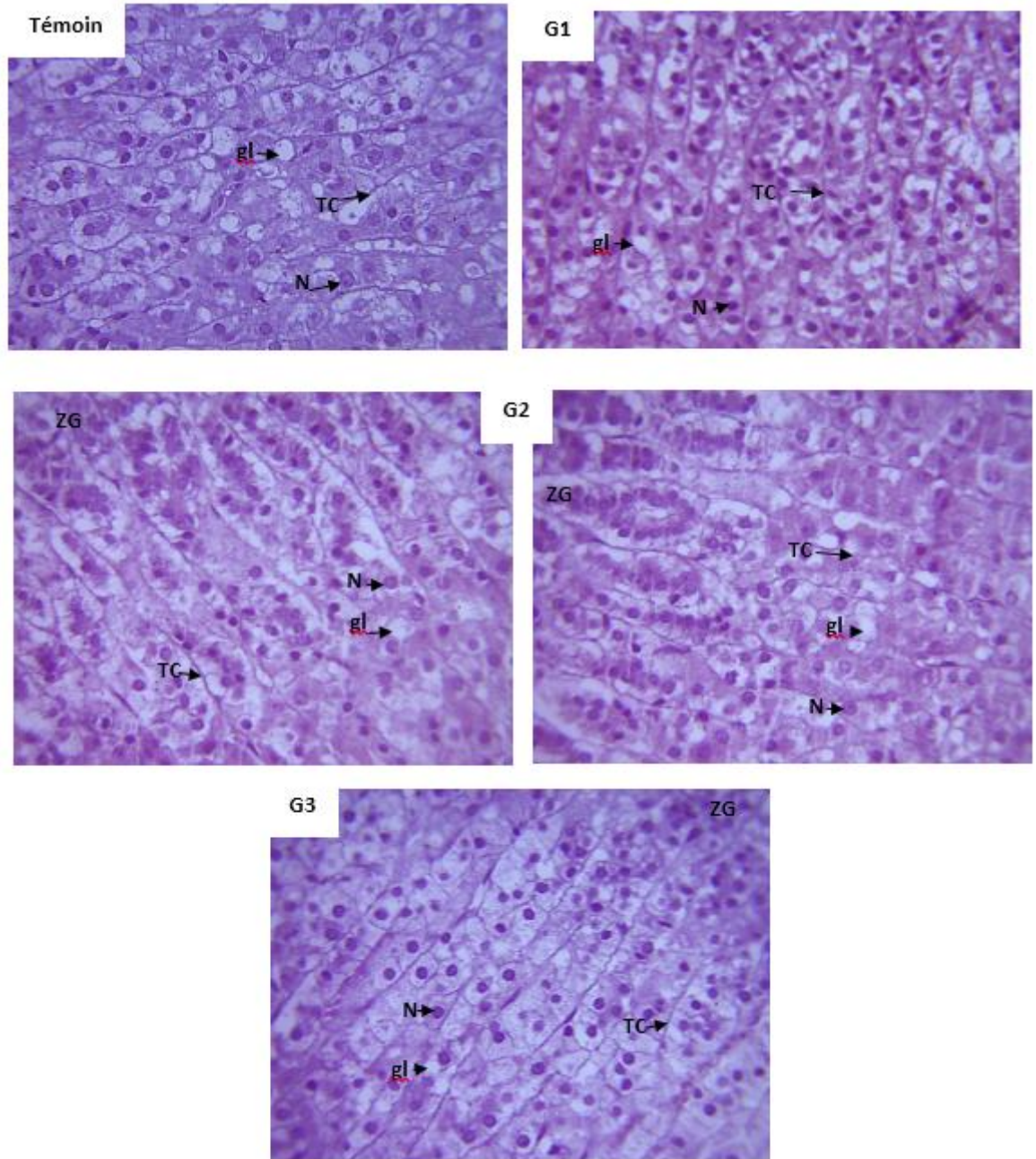


Figure 61. La zone fasciculée chez les lapines gestantes témoins et traitées (x40)
(TC) tissu conjonctif, (N) noyau, (gl) gouttelette lipidiques.

Les cellules de la zone fasciculée sont agencées en cordons rectilignes, disposés parallèlement entre eux et perpendiculairement à la capsule. Ces cordons cellulaires sont séparés par de fines travées de tissu conjonctif contenant des capillaires sinusoides très étroites.

Les cellules sont cubiques est plus volumineuses que celles de la zone glomérulée. Elles ont un cytoplasme abondant riche en gouttelettes lipidiques. Leur noyau, bien arrondi ; de position centrale, et d'aspect clair, contient un nucléole proéminent.

L'aspect des cellules en cordon trabéculaire est bien conservé avec toutes les doses.

On peut remarquer l'installation des vacuoles avec tous les traitements, cette augmentation de nombre des vacuoles est très remarquable où les cellules montrent un cytoplasme riche en gouttelettes lipidiques, elle donne un aspect d'une zone claire avec les doses 100 et 200 mg/kg/j.

Nos observations microscopiques ne révèlent aucune anomalie (fibrose ou cancer) touchant le tissu.

9.3. L'effet du traitement sur la couche réticulée

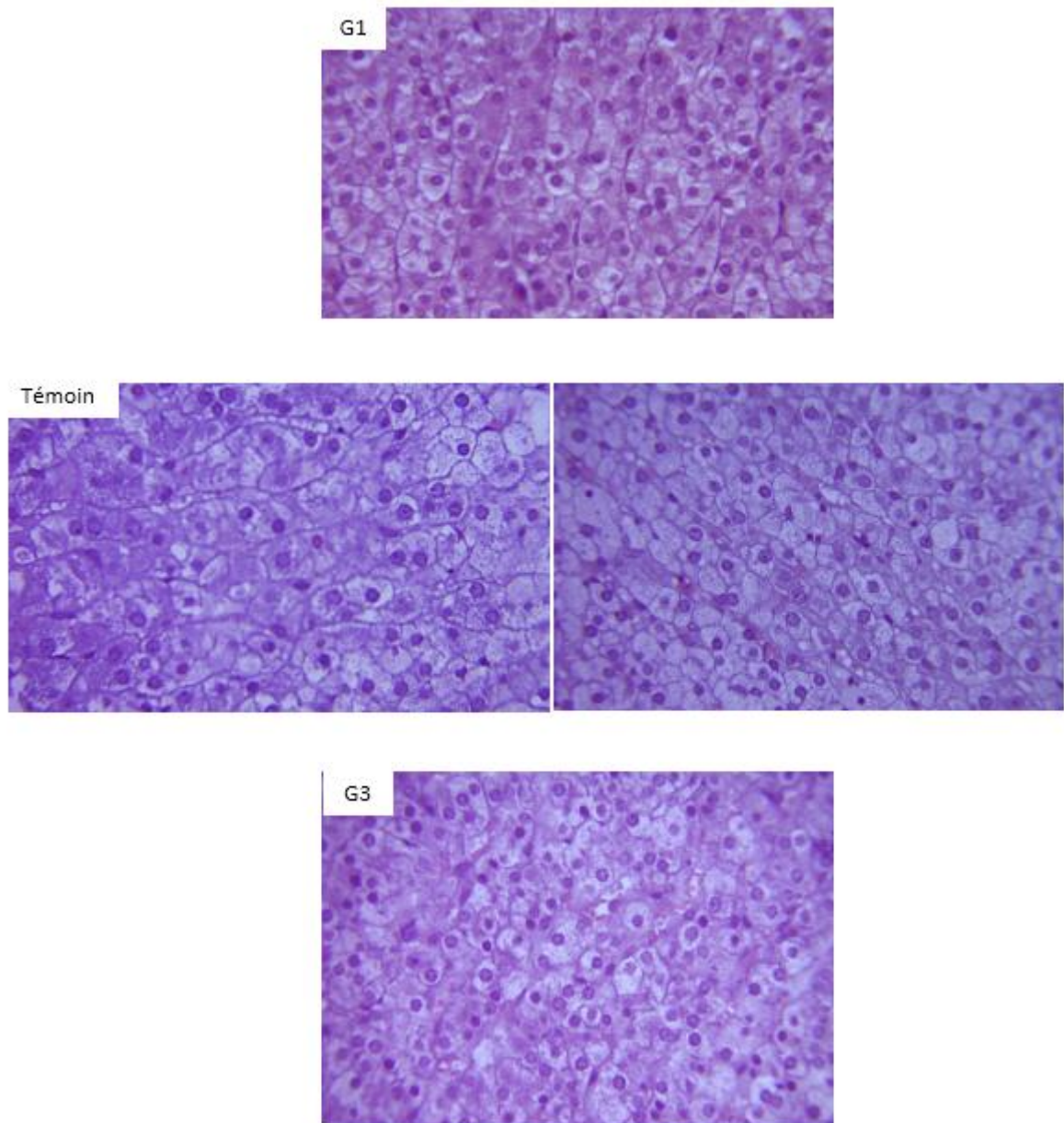


Figure 62. La zone réticulée chez les lapines gestantes témoins et traitées (x40)

Un cytoplasme dépourvu de gouttelettes lipidiques. Rares sont les cellules qui contiennent quelques petites gouttelettes lipidiques, les noyaux sont d'aspect un peu clair à nucléole à peine visibles. Les espaces sinusoides sont relativement larges et la trame conjonctive est très apparente.

9.4. L'effet du traitement sur la couche médullaire

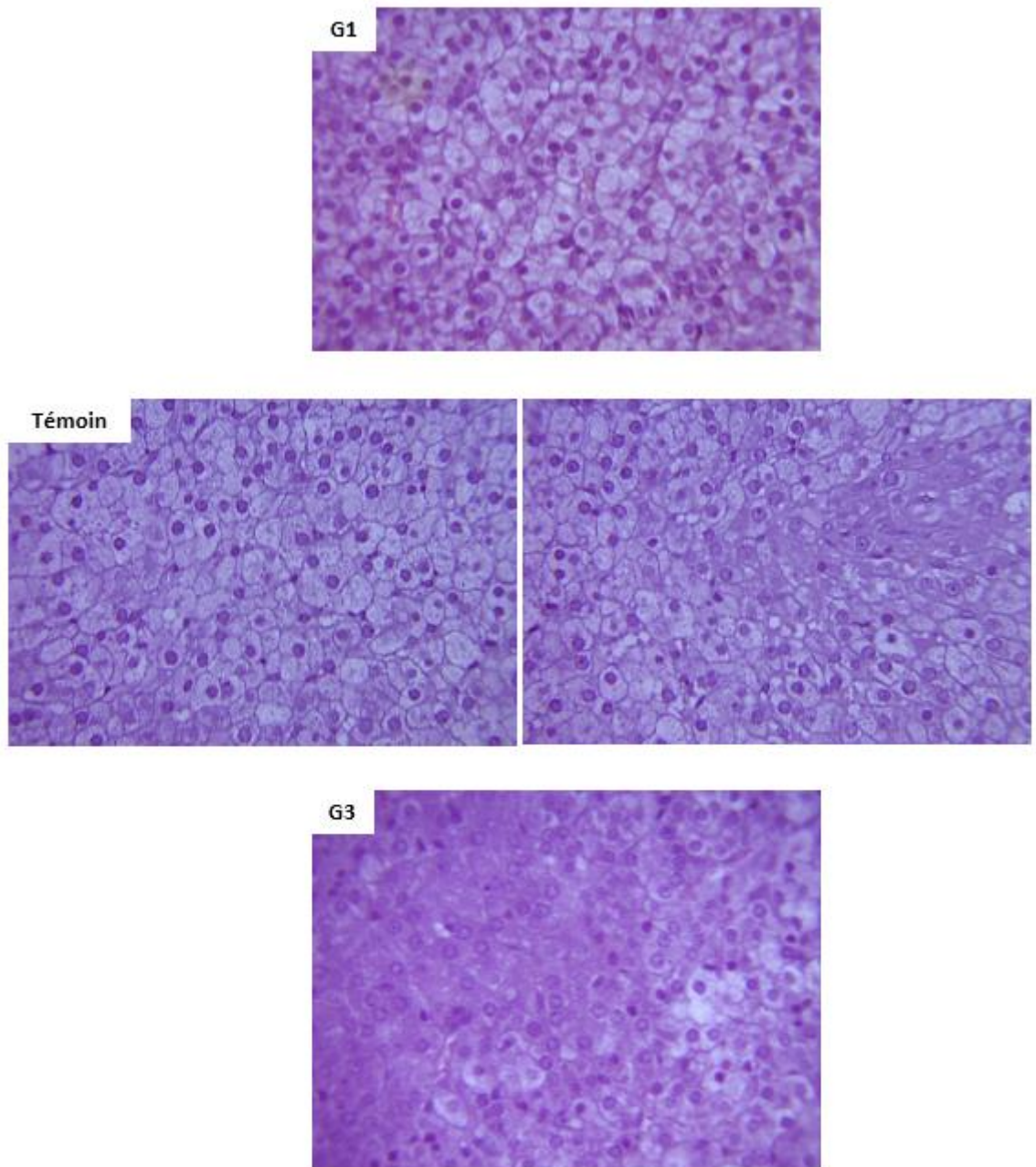


Figure 63. La zone médullaire chez les lapines gestantes témoins et traitées (x40)

La médullosurrénales est la partie centrale des glandes surrénales. Elle est constituée par des amas serrés de cellules moins volumineuses que celles de la zone réticulée, leur cytoplasme finement granuleux, séparés par des fin réseaux de tissu conjonctif renfermant des capillaires sinusoïdes. Bien que l'architecture de cette zone soit bien conservée avec toutes les doses mais une coloration foncée pourpre est apparue dans cette zone.

10. L'étude immuno-histochimique de la glande surrénale

Nous voulons par l'étude immunohistochimique évaluer l'effet du traitement des lapines gravides pendant le dernier tiers de gestation au niveau cellulaire spécialement au niveau des récepteurs à l'œstrogène et à la progestérone. L'analyse des résultats de cette étude est divisée en deux parties, la première concerne l'effet de traitement sur l'immunomarquage et l'immunoexpression des ER et des PR au niveau de la glande surrénale de la population locale et la deuxième est réservée à l'immunolocalisation de ces récepteurs

10.1. L'effet du traitement sur l'immunomarquage et l'immunoexpression des ER au niveau de la glande surrénale

Tableau 10. La concentration de la coloration IHC DAB (ER α) dans chaque zone de la glande surrénale

	Témoin	G1	G2	G3
Glomérule	++	++	+	+
Fasciculée	+	+	+	0
Réticulé	++	+++	++	0
Médulla	++	+++	++	+

Très positive (3+), positive (2+), moins positive (1+), négative (0+)

Tableau 11. Le pourcentage de la surface colorée par IHC DAB (ER α) (image x40) dans chaque zone de la glande surrénale

	Témoin	G1	G2	G3
Glomérule	14,80%	22,99%	16,73%	27,50%
Fasciculée	3,74%	9,19%	14,01%	0,66%
Réticulé	51,92%	42,96%	58,22%	5,30%
Médulla	40,89%	70,28%	78,01%	3,37%

Une coloration immunohistochimique du récepteur des œstrogènes a été réalisée pour détecter la distribution du récepteur des œstrogènes dans la glande surrénale des quatre groupes. La

réaction immuno-positif est apparue sous forme de points bruns foncés. Le groupe témoin a montré une coloration brune légèrement positive avec une répartition uniforme de l'activité dans le cortex et la zone médullaire à la fois. Dans les glandes surrénales des lapines gestantes traitées par l'extrait organique du *B. incrassatum* par la dose 50 et 100 mg/kg/j, la coloration brunâtre était apparemment augmentée par rapport au témoin, en indiquant une activité accrue d'œstradiol dans le cortex surrénalien, alors que, dans les glandes surrénales du groupe traité par 200 mg/kg/j, la coloration brunâtre était apparemment diminuée (Tableaux 10 et 11).

10.2. L'effet du traitement sur l'immunolocalisation des ER au niveau de la glande surrénale

L'immunolocalisation des récepteurs d'œstrogène est sur la membrane cellulaire et cytoplasmique (Figures 64 et 65).



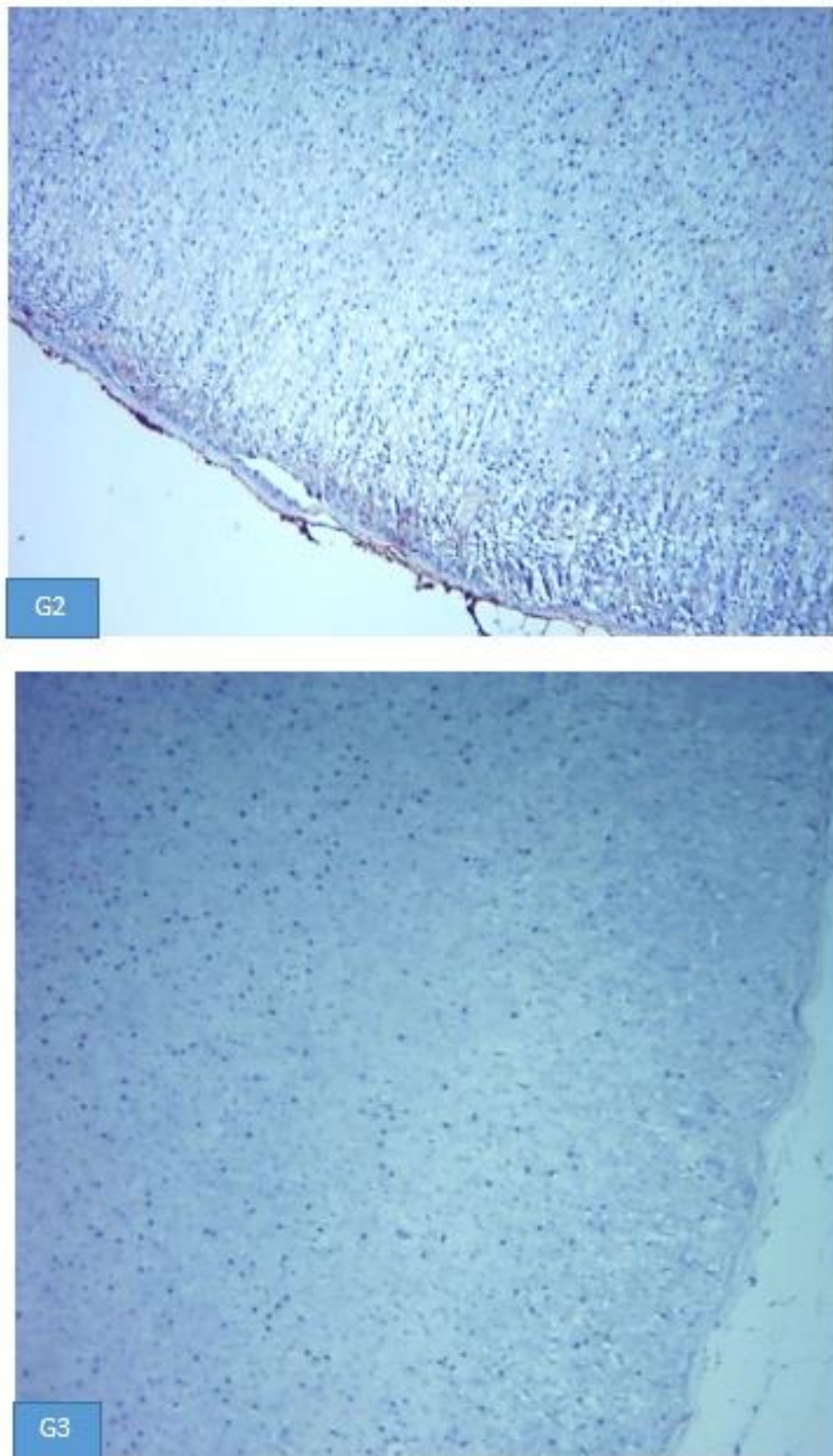


Figure 64. ER Glandes surrénales au dernier tiers de gestation de lapines traitées avec l'extrait organique des racines de "*B. incrassatum*" (x10).

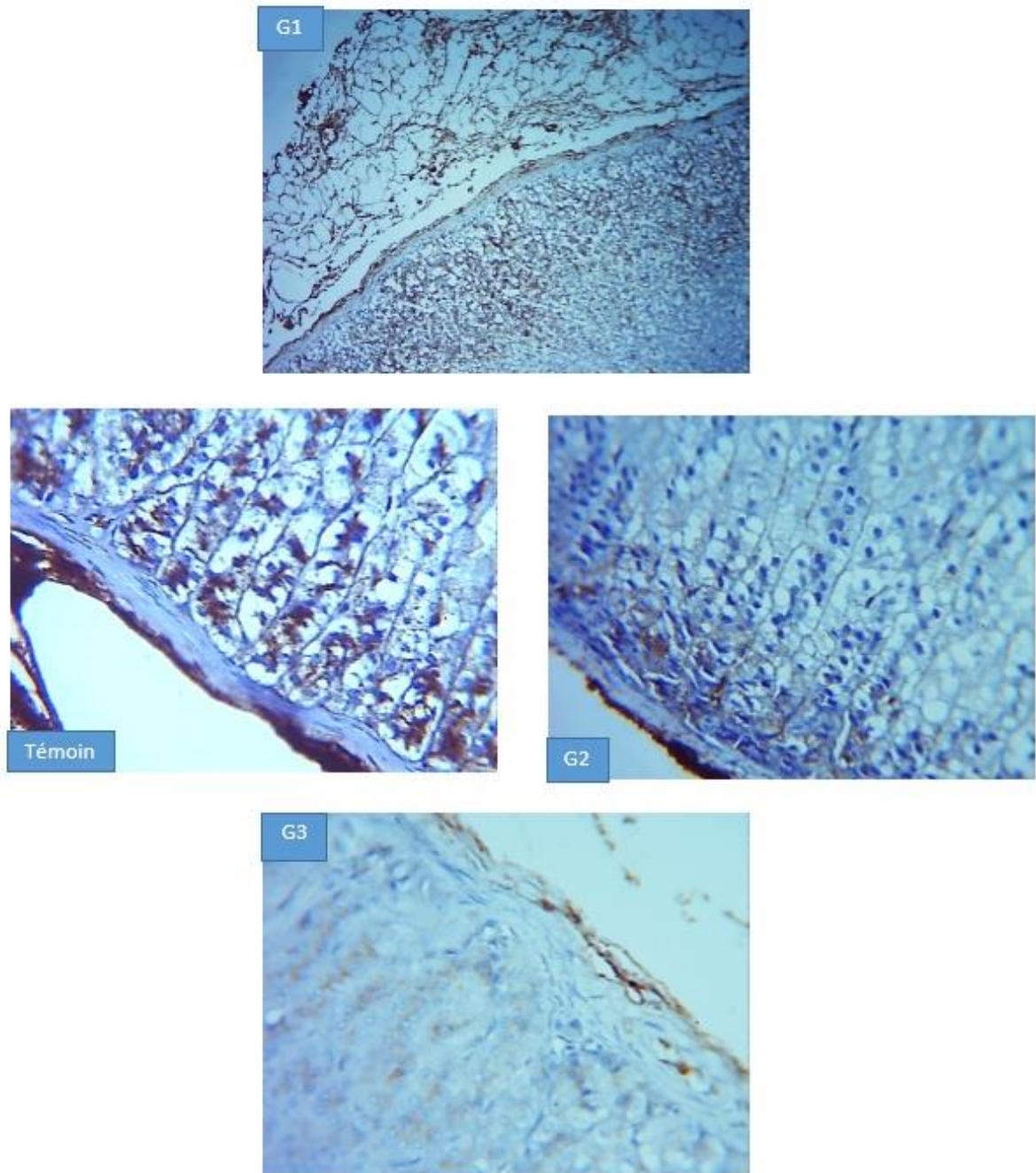


Figure 65 A. ER Zona Glomeruloza (x40)

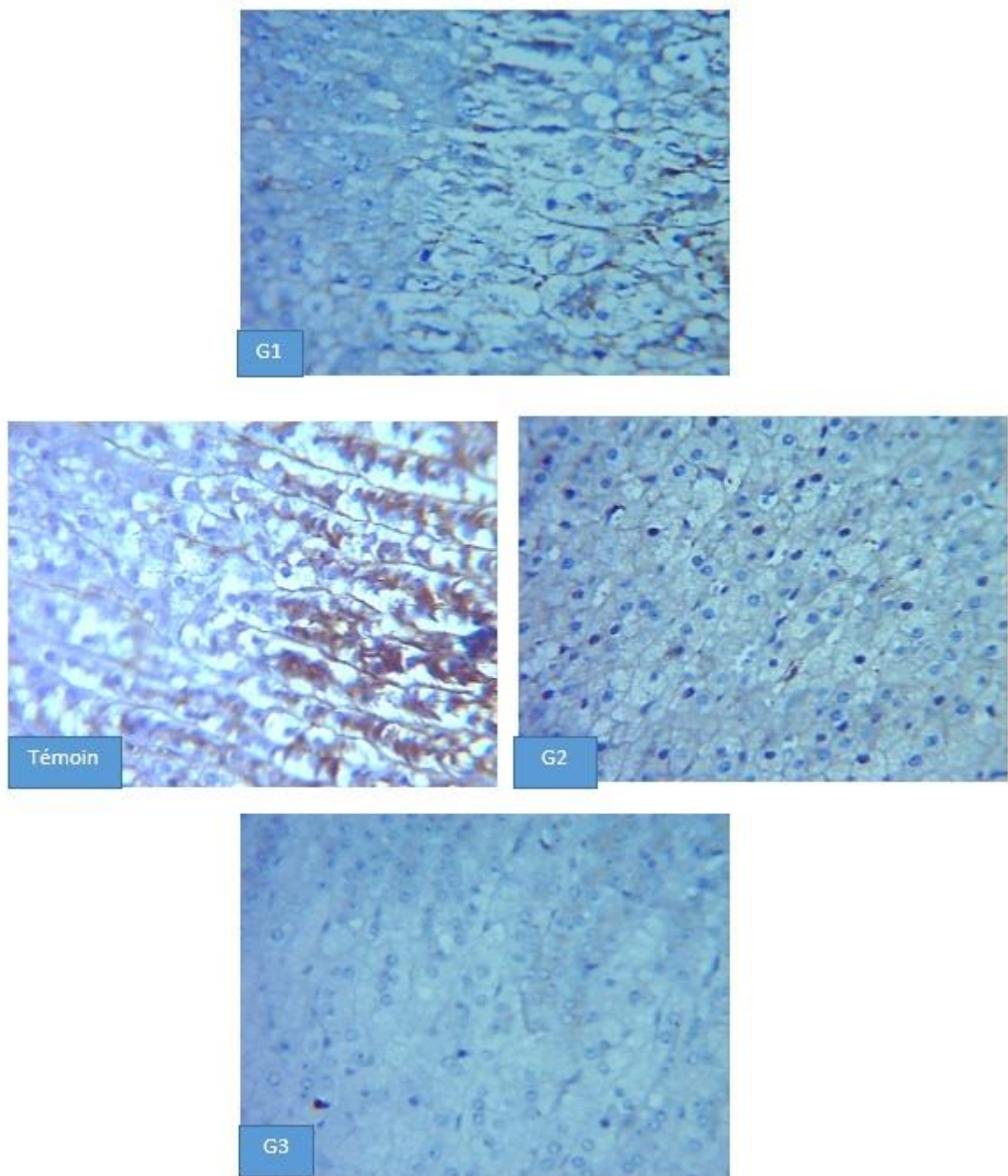


Figure 65 B. ER Zona Fasciculata (x40)

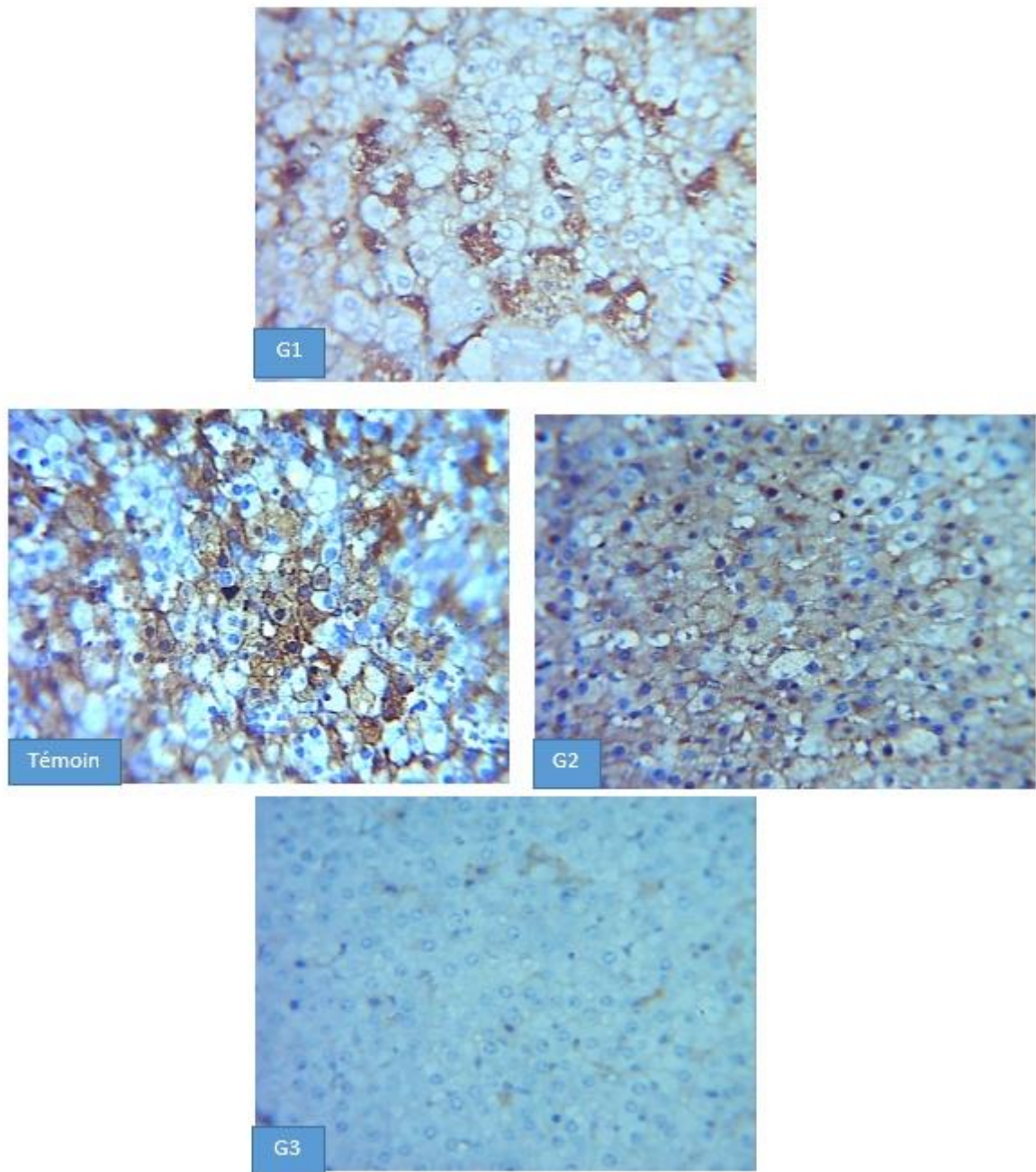


Figure 65 C. ER Zona Reticularis (x40)

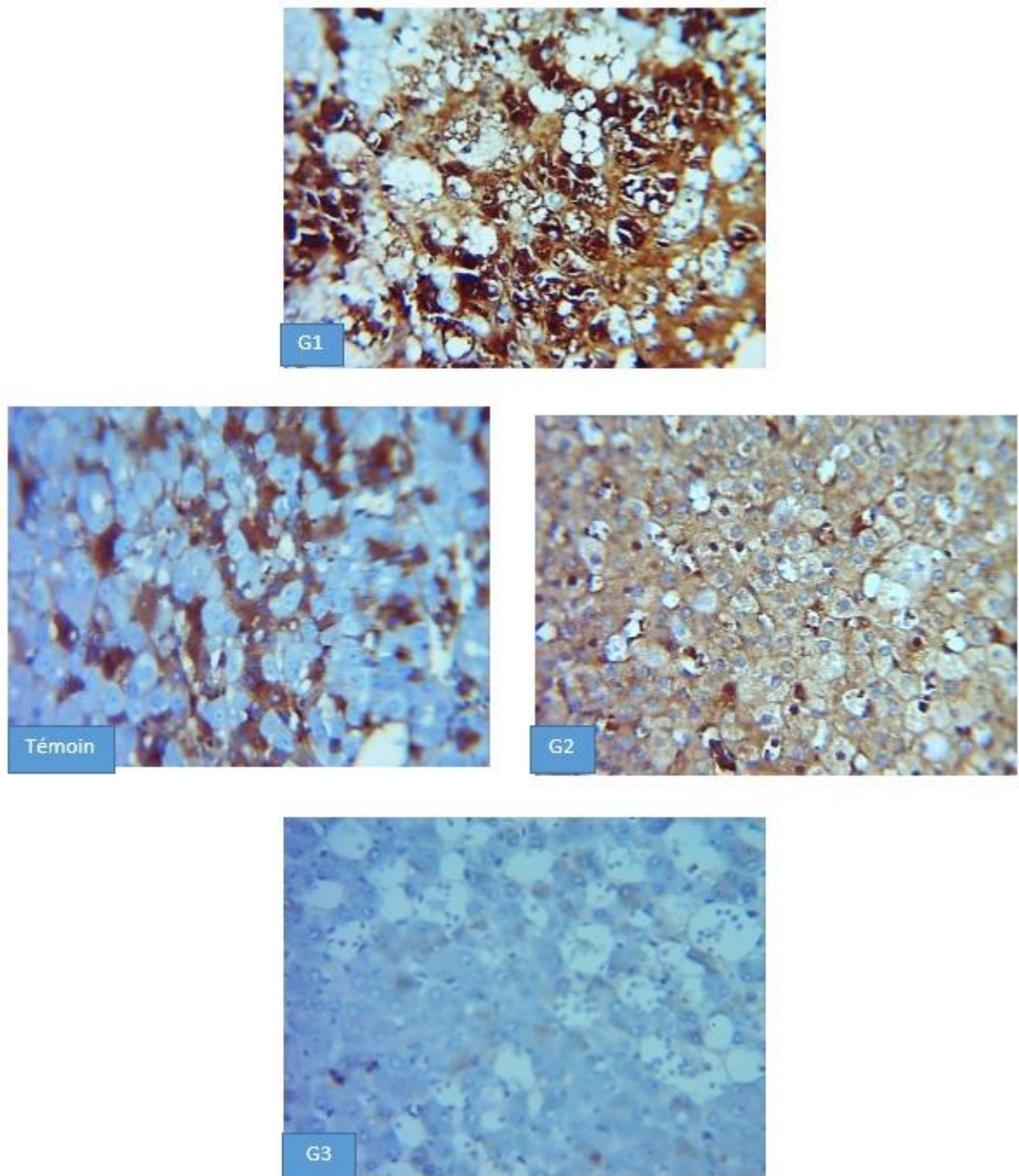


Figure 65 D. ER Médulla (x40)

Figure 65. Immunolocalisation des ER au niveau de chaque couche de la glande surrénale

10.3. L'effet du traitement sur l'immunomarquage et l'immunoexpression des PR au niveau de la glande surrénale

Tableau 12 la concentration IHC DAB (PR) dans chaque zone de la glande surrénale

	Témoin	G1	G2	G3
Glomérule	+++	+++	+++	+
Fasciculée	+	++	++	+
Réticulé	+	++	++	+
Médulla	++	+++	+++	+

Très positive (3+), positive (2+), moins positive (1+), négative (0+)

Tableau 13 Le pourcentage de la surface colorée par IHC DAB (PR) (**image x40**) dans chaque zone de la glande surrénale

	Témoin	G1	G2	G3
Glomérule	83,89%	64,29%	64,94%	71,4%
Fasciculée	61,37%	67,54%	68,18%	76,94%
Réticulé	59,11%	74,93%	68,01%	64,11%
Médulla	58,72%	47,66%	28,04%	67,79%

Une coloration immunohistochimique du récepteur de progestérone a été réalisée pour détecter la distribution des récepteurs de progestérone dans la glande surrénale des quatre groupes. La réaction immuno-positive est apparue sous forme de points brun foncé. Le groupe témoin a montré une coloration brune légèrement positive dans le cortex et la zone médullaire à la fois mais avec une très faible concentration surtout dans la couche fasciculée et réticulée. Dans les glandes surrénales des lapines gestantes traitées par l'extrait organique du *B. incrassatum*, une diminution dans la surface colorée immuno-positive de la zone glomérulée est détectée avec tous les traitements, par contre une augmentation dans la surface colorée immuno-positive des deux zones fasciculée et réticulé avec tous les traitements. On a remarqué aussi une forte concentration de la couleur du DAB avec les deux traitements 50 et 100 mg/kg/j (Tableaux 11 et 12).

10.4. L'effet du traitement sur l'immunolocalisation des PR au niveau de la glande surrénale

L'immunolocalisation des récepteurs de progestérone est sur la membrane cellulaire et cytoplasmique. (Figures 66 et 67)

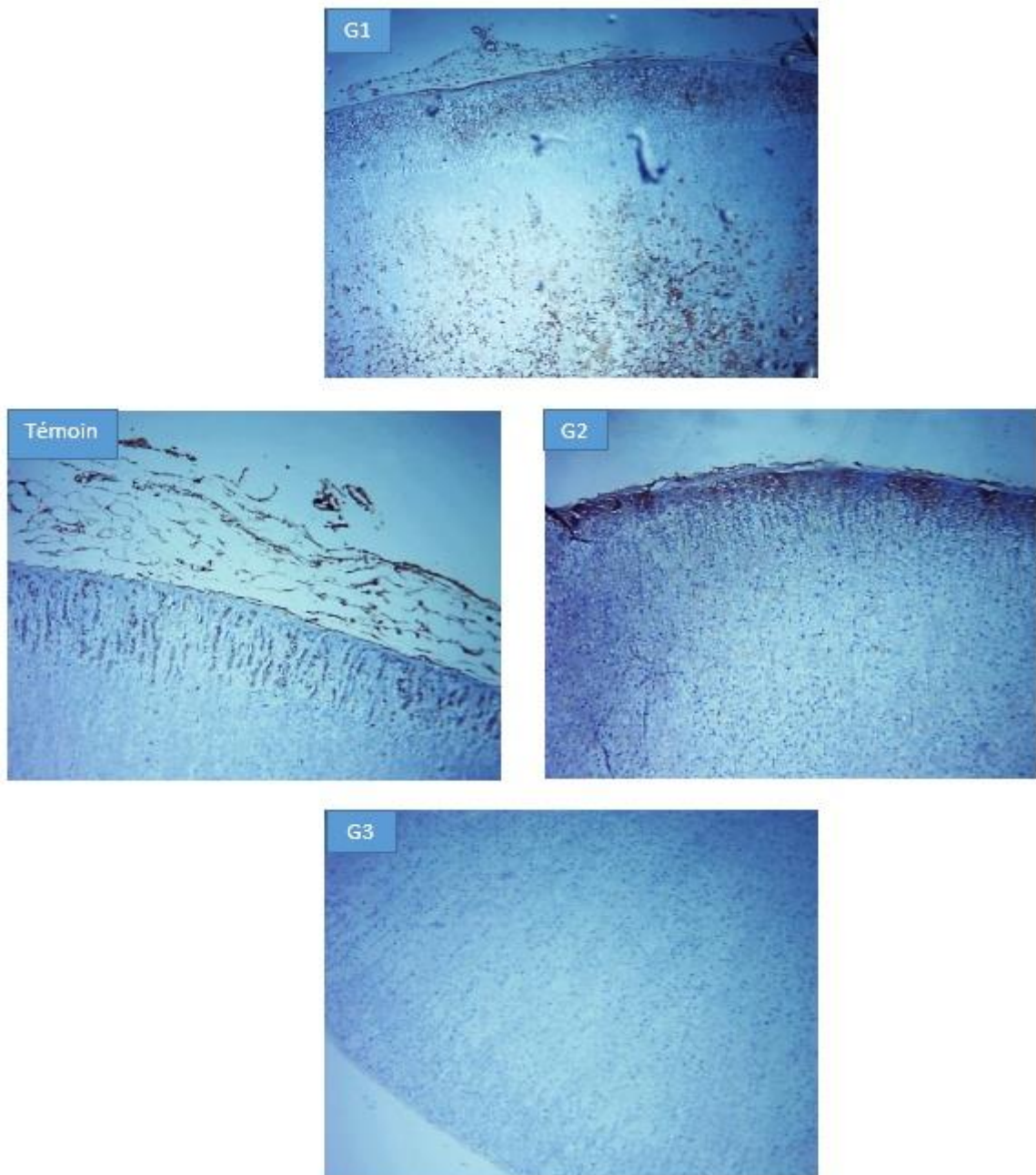


Figure 66. PR Glande surrénale au dernier tiers de gestation de la lapines traitées avec l'extrait organique des racines de *B. incrassatum* (x10)

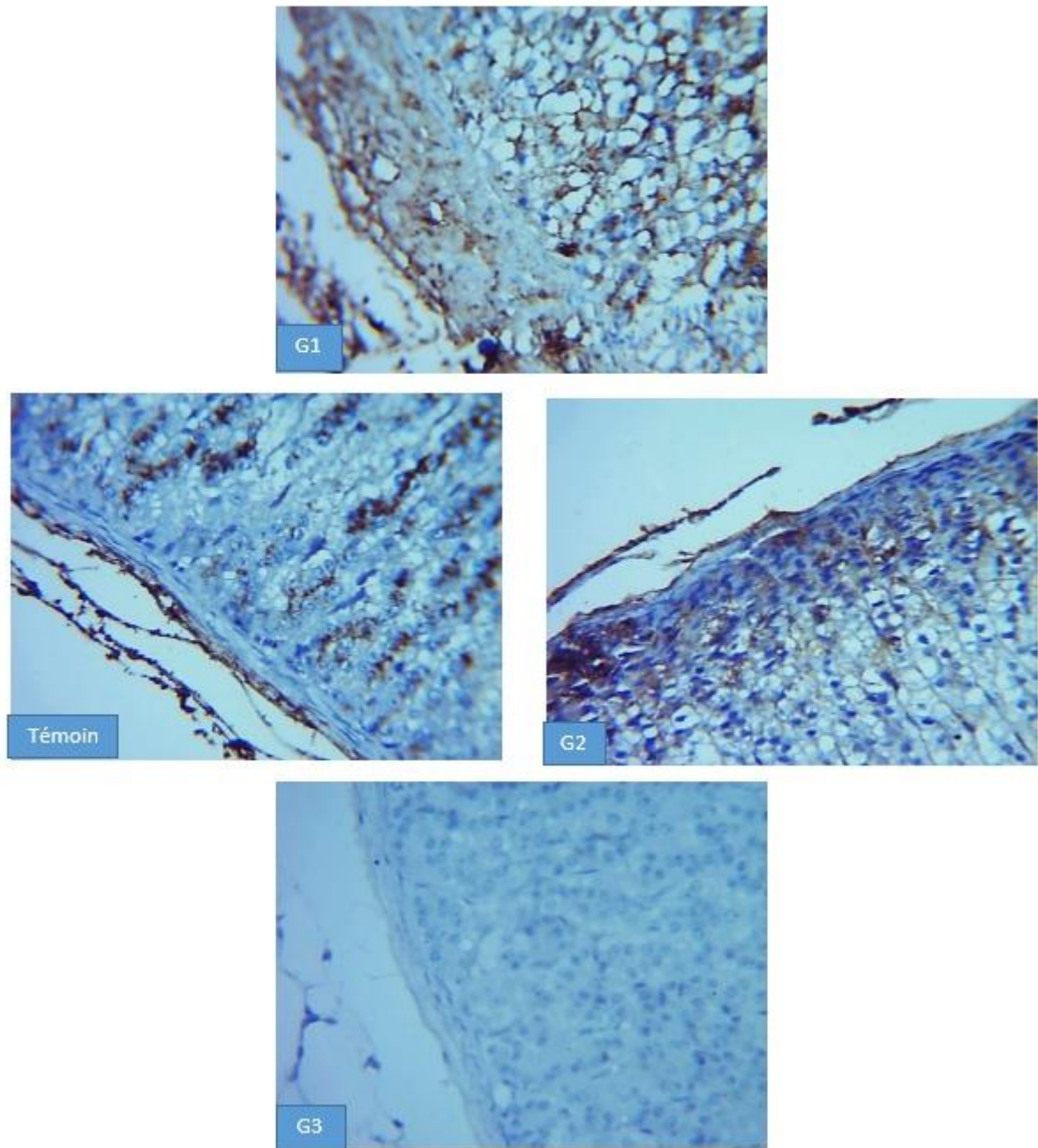


Figure 67 A. PR Zona Glomeruloza (x40)

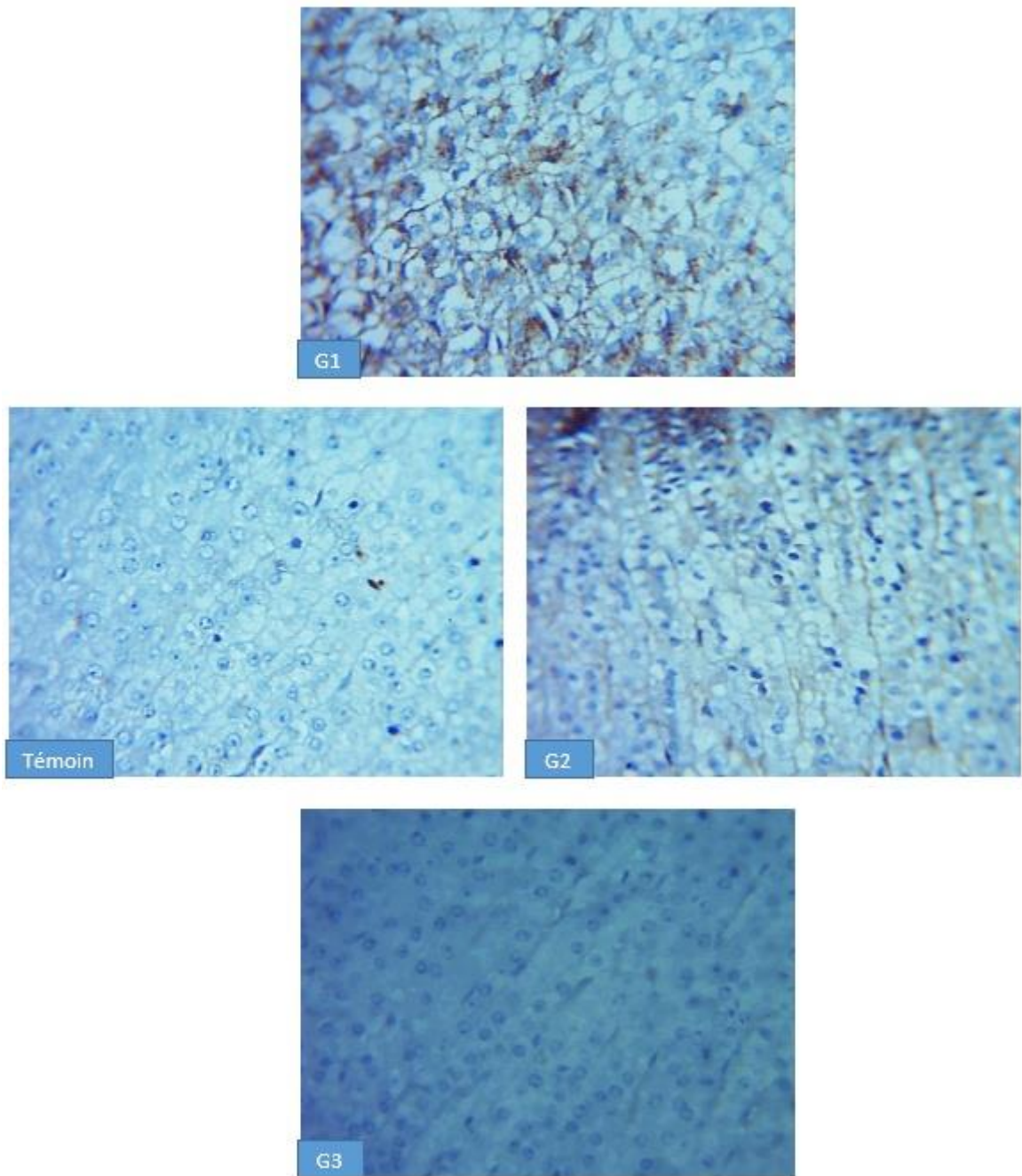


Figure 67 B. PR Zona Fasciculata (x40)

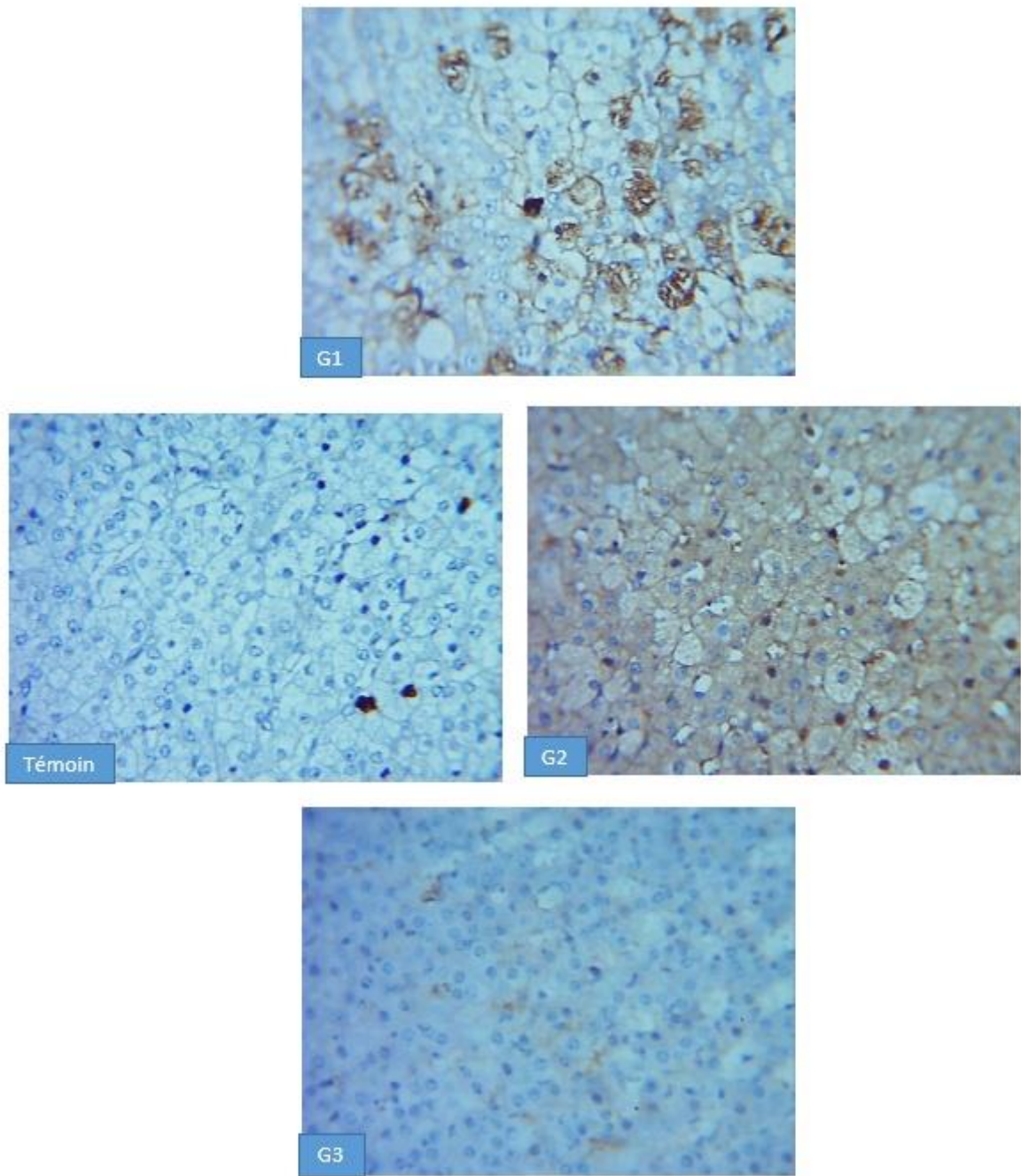


Figure 67 C. PR Zona Reticularis (x40)

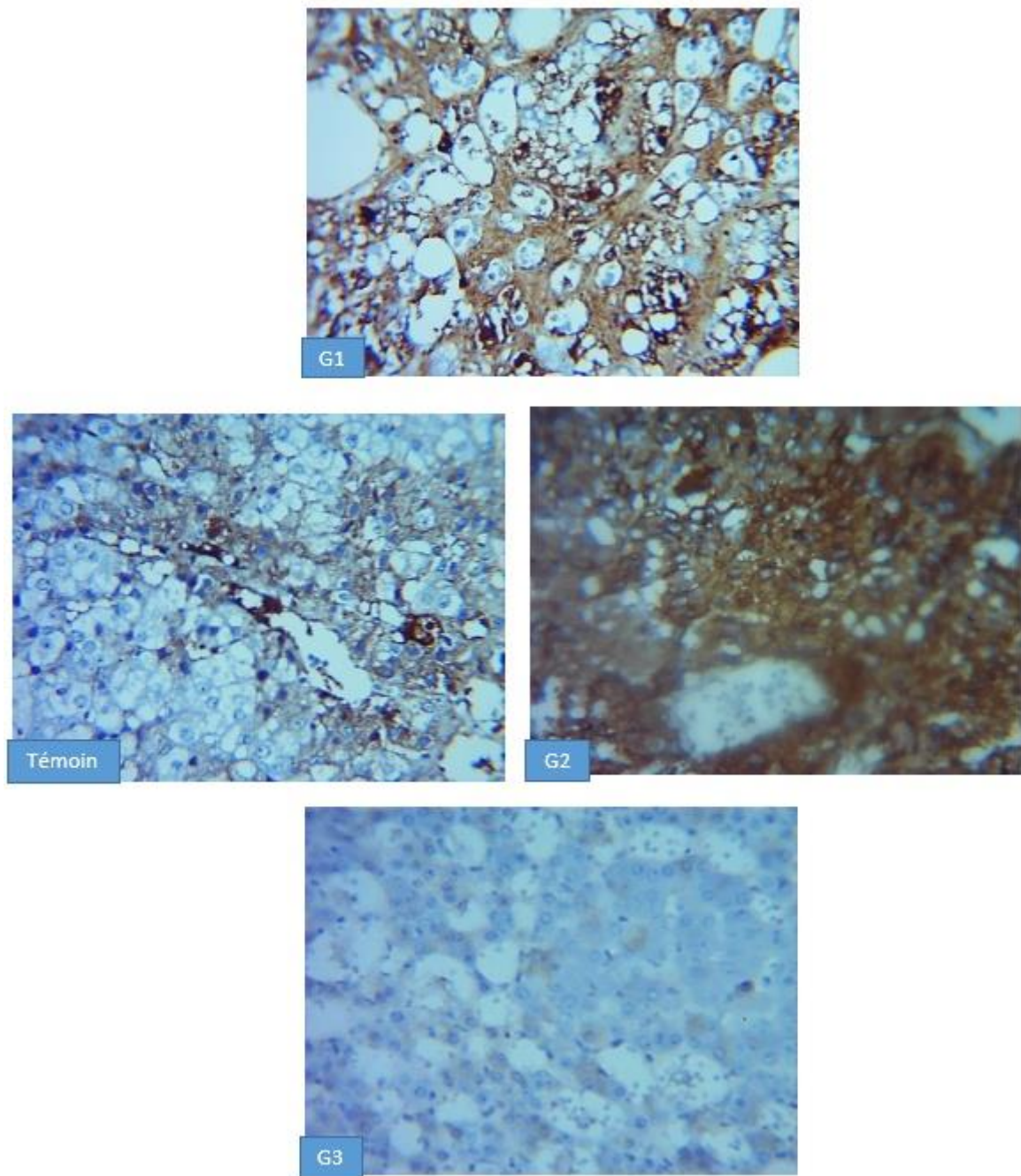


Figure 67 D. PR Medulla (x40)

Figure 67. Immunolocalisation des PR au niveau de chaque couche de la glande surrénale

Discussion

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet du traitement par l'extrait organique des racines de *B. incrassatum* sur des lapines gestantes. Il ressort de notre étude que l'administration orale, pendant dix jours, de l'extrait chez des lapines gestantes de population locale donne des effets sur l'évolution pondérale, le changement de poids des organes, les paramètres hématologiques, hormonaux ainsi que la structure de la glande surrénale

Dans nos conditions expérimentales, durant les 10 jours de traitement aucun signe clinique de toxicité ou d'avortement n'a été remarqué.

Les résultats concernant le poids corporel final des lapines gravides par rapport à leur poids initial indiquent une augmentation statistiquement non significative chez les groupes G1 et G2 traités par 50 et 100 mg/kg/j respectivement par rapport au groupe témoin, mais le poids chez le groupe G3 traité par 200 mg/kg/j a connu une augmentation très remarquable. Cette amélioration du poids est probablement due au *B* sitostérol présent dans l'extrait. Il a déjà été démontré que le β -sitostérol pouvait réguler le métabolisme des lipides, augmenter la capacité antioxydante et améliorer la réponse inflammatoire (Basha et Sankaranarayanan ; 2015, Sander *et al* ; 2000, Stern *et al* ; 1973), ce qui pourrait affecter positivement l'état de santé des animaux. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par Dhandapani *et al* (2002), dans lesquels ils ont rapporté un gain de poids après l'utilisation de *Bunium persicum*, ceci peut être expliqué par le fait que les deux plantes appartiennent à la même famille.

Lors de la dissection, aucune mal formation n'a été enregistré, nous avons remarqué que les lapereaux sont bien entourés par l'annios et que le placenta est bien développé pour assurer la protection et la croissance des fœtus. Ceci indique que les métabolites secondaires issus du métabolisme de l'extrait organique des racines du *B. incrassatum* n'ont pas affecté le développement embryonnaire. Plusieurs études ont prouvé que le poids à la naissance est le meilleur indicateur de la croissance fœtale et de la santé du nouveau-né (Dantola *et al* ; 2018). Nos résultats, concernant le poids des lapereaux à la naissance, indiquent une réduction du poids de la progéniture issue des lapines de G2 et G3 traitées par 100 et 200 mg/kg/j. Cette baisse est de l'ordre de -0.3% et -7.44% où le poids embryonnaire arrive à 35.89 g et 33.32 g respectivement par rapport au groupe témoin (36.0 g), ceci peut être lié à la forte augmentation du taux de cortisol maternel et à la réduction du métabolisme du glucose, sachant que le glucose représente pour le fœtus une source d'énergie et un facteur de croissance.

Paramètres biochimiques

En ce qui concerne l'interprétation des résultats des paramètres sanguins .Il est connu que le stress aigu ou chronique cause une élévation des lipides, et puisque le cortisol est parmi les hormones qui augmentent pendant la gestation. Ce qui fait que l'augmentation du cortisol a conduit probablement au changement du taux de lipides et des lipoprotéines, (Schwertner *et al* ; 1984, Troxler *et al* ; 1977, Dimsdale *et al* 1982).

Les données bibliographiques indiquent que le cholestérol est essentiel à la synthèse de la progestérone et du 17 β -estradiol, hormones participent activement au maintien de la gestation .Othmani & Benazzoug (2005) ont constaté que la gestation chez la lapine provoque une diminution progressive de la concentration du cholestérol jusqu'aux niveaux non détectables à terme. La présente étude révèle que l'administration orale de l'extrait organique des racines de *B. incrassatum* au cours du dernier stade de la gestation entraîne une augmentation non significative du taux du cholestérol chez les groupes traités par 50 et 100 mg/kg/j ; et une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) chez le groupe traité par 200 mg/kg/j où il atteint un niveau maximal de 0.30 g/L par rapport au témoin avec 0.08 g/L. De plus, nous avons observé une diminution non significative dans le taux de triglycérides chez tous les groupes traités par rapport au groupe témoin.

Les mêmes résultats ont été trouvés par Montoudis *et al* (2004) qui ont rapporté que le traitement de la lapine gestante par le cholestérol alimentaire enrichi (DEC) augmente les taux de cholestérol et d'acides gras libres dans le plasma maternel par rapport aux lapines non traités. La HMG-CoA réductase (hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase) est une enzyme limitant la vitesse de la synthèse du mévalonate et du cholestérol. Montoudis *et al* (2003) ont rapporté que pendant la gestation chez la lapine, l'activité hépatique de la HMG-CoA-réductase et celle de la cholestérol-7 α -hydroxylase sont réduites par la DEC, alors que l'activité ACAT n'est pas affectée, mais réduite par la gestation. Nos résultats peuvent être interprétés par la présence du β -sitostérol dont la structure est similaire à celle du cholestérol.

Le glucose joue un rôle clé dans le développement intra-utérin du fœtus (Battaglia & Meschia; 1978, Takata & Hirano; 1997). En effet, il représente pour le fœtus une source d'énergie et un facteur de croissance et couvre en fin de grossesse 80% des besoins oxydatifs foeto -placentaires (Aldoretta & Hay ; 1995). Othmani & Benazzoug (2005) ont rapporté qu'au cours de la première semaine de gestation chez la lapine, une diminution de la glycémie a été enregistrée, puis devient significative à J30 ($P \leq 0,01$). Néanmoins, nos résultats ont montré qu'après traitement par 50, 100 et 200 mg/kg/jour par l'extrait organique des racines de *B. incrassatum* au cours du dernier tiers de gestation, une baisse non significative dans le taux de

glycémie chez G1 (1,04 g/l), une diminution significative chez G2 (1,00g/l) et une diminution très significative chez le G3 (0,86g/l) par rapport au témoin (1,17g/l). Ceci peut être expliqué par la présence de deux composés dans l'extrait à savoir le β -caryophyllène (BCP) et le β -sitostérol. Rafeek Hiday *et al* (2015) ont remarqué que l'administration orale de BCP augmentait l'insuline avec une diminution concomitante du taux de glucose chez les rats diabétiques. Une augmentation des taux d'insuline plasmatique chez les rats traités par BCP implique sa propriété tropique à l'insuline. Il a été démontré que le β -sitostérol avait des effets antidiabétiques et antioxydants chez les modèles animaux, la concentration basale de glucose dans le plasma maternel a tendance à diminuer avec la progression de la gestation, même en présence d'une augmentation en double du taux d'insuline (Leturque *et al* ; 1986, Catalano *et al* ; 1991). Nous pouvons expliquer ceci par la présence de β -sitostérol dans l'extrait qui inhibe l'enzyme glucosidase présente dans l'épithélium de l'intestin grêle, qui agit pour faciliter l'absorption du glucose par l'intestin grêle.

Paramètres hématopoïétiques

Le système hématopoïétique représente l'un des cibles les plus sensibles aux substances endogènes ou exogènes. Il est un marqueur important de l'état physiologique et pathologique de l'Homme et de l'animal. C'est pour cela que, tout changement dans les paramètres hématologiques a une valeur prédictive (Mukinda & Syce, 2007). L'effet des phytostérols sur l'hémogramme durant la gestation reste très peu étudié.

Nos résultats indiquent une similarité, avec les résultats obtenus par Chentouh *et al*(2018), qui ont prouvé que le traitement par l'extrait organique du *B. incrassatum* a conduit à une diminution significative chez les femelles non gestantes traitées par 50 mg/kg/j et augmentation significative avec les traitements 100 et 200 mg/kg/j, par contre chez la lapine gestante traité par 50 mg/kg/j a connu une réduction non significative et très significative chez les lapines gestantes traitées par 200 mg/kg/j. Yasmoto (2010) a remarqué que les paramètres liés à la coagulation sanguine au cours des derniers stades de la gestation chez la lapine néo-zélandais tels que les plaquettes ont augmenté progressivement ou elle atteint un niveau maximal à la fin de la gestation. Il a suggéré que ces changements semblent être des réponses physiologiques en préparation pour la protection contre une hémorragie excessive ou une hémostase à la parturition. On peut interpréter ces résultats que la gestation et l'extrait organique du *B.incrassatum* ont provoqué simultanément l'augmentation du taux plaquettaire. Concernant les lymphocytes, Chentouh *et al* (2018) ont trouvé que le traitement par 100 et 200 mg/kg/j a provoqué une augmentation non significative lymphocytaires chez femelles pubères

par contre, chez les femelles gestantes, ces doses ont provoqué une diminution non significative avec la dose 100 mg/kg/j et significative avec la dose 200 mg/kg/j, ceci peut être expliqué par l'impact de la gestation. Il est bien documenté que la gestation est un état physiologique normal qui se caractérise par la production de diverses hormones progestérone, œstrogènes, cortisol, prostaglandines, somatomammotropine chorionique, de facteurs de croissance et de protéines diverses. Parmi ces dernières, elles se trouvent les protéines et glycoprotéines qui sont impliqués dans de nombreux processus biologiques, dont l'immunotolérance du conceptus (Sousa *et al.*, 2002). L'un des nombreux mécanismes impliqués dans cette activité est la suppression locale non spécifique de certaines sous-populations de lymphocytes. Cette inhibition serait le résultat de l'action des facteurs produits par des lymphocytes T suppresseurs et d'un mécanisme d'apoptose des lymphocytes T maternels activés présents au niveau de l'interface materno-fœtal (Sanyal *et al* ; 1989). Runic *et al* (1996) ont montré que les cellules du cytotrophoblastes humains exprimaient une molécule de nature cytotoxique appelée "Fasligant" (FasL). Le FasL est un membre de la famille des facteurs nécrosants des tumeurs (TNF) qui induit l'apoptose après son interaction avec le récepteur spécifique, le FasR, présent en grande quantité au niveau des cellules hématopoïétiques telles que les lymphocytes T. Ce mécanisme expliquerait, en partie, le processus complexe de la destruction des lymphocytes maternels activés se dirigeant vers l'interface materno- fœtal. Ainsi que le rôle immuno-dépresseur exercé par la progestérone. Beer & Billingham (1979), ont constaté qu'à certain concentration, la progestérone empêche le développement de la culture mixte des lymphocytes. Les travaux de Szekeres-Bartho *et al*, (1990) ont montré notamment qu'à des concentrations physiologiques de progestérone, les lymphocytes alloactivés sécrètent un facteur immuno-dépresseur appelé PIBF (Progesterone Induced Blocking Factor), qui agit en bloquant la lyse médiée par les cellules NK. Selon ces auteurs, l'utilisation d'un agent bloquant les récepteurs de progestérone a pour conséquence une incapacité de produire le PIBF, résultant en un avortement d'origine immune. En plus, les œstrogènes induisent une diminution de la formation des lymphocytes B chez la souris gestante (Medina *et al* ; 1993) et les concentrations élevées d'œstrogènes, en particulier celles du bêta-œstradiol, semblent être impliquées dans le processus de suppression de l'activité des cellules NK observé pendant la gestation (Gabilovac *et al* ; 1988).

Yasumoto M; 2010 a remarqué que le nombre de globules rouges, l'hémoglobine et l'hématocrite ont commencé à diminuer au cours de l'organogenèse et ont continué jusqu'à la fin de la gestation chez la lapine néo-zélandais. Alors que dans notre étude, l'extrait organique

de *B.incrassatum* a provoqué une augmentation dans tous les paramètres érythrocytaires, le nombre des hématies, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite sauf avec le traitement de 200 mg/kg/j ou on a remarqué une diminution non significative dans le nombre des hématies, dans le taux d'hémoglobine et dans le CCMH. L'étude de Takeo Y *et al* (2021) montre le risque accru d'hémolyse sous stress si la membrane érythrocytaire est chargée de stérols végétaux. Par contre, le cholestérol empêche l'hémolyse et le détachement des protéines du cytosquelette de la bicouche dans la membrane érythrocytaire humaine dans les conditions de stress. Ratnayake *et al* (2000) a montré aussi que l'alimentation de rats SHRSP avec des régimes enrichis en phytostérols a entraîné des altérations significatives du profil de stérols de divers tissus. Et qu'il y avait une grande incorporation de phytostérols, en particulier le campestérol et le ^{NL}-sitostérol, dans les globules rouges, le plasma, le foie et les reins. Ces changements dans les profils de stérols tissulaires étaient associés à des taux de survie plus courts. Une intégrité de la membrane cellulaire des globules rouges est plus faible, comme le montre l'indice de déformabilité. Les faibles valeurs de DI observées dans cette étude pour les rats SHRSP nourris avec des régimes enrichis en phytostérols suggèrent que les phytostérols rendent la membrane cellulaire plus rigide et moins flexible. L'augmentation de la rigidité de la membrane a été attribuée au remplacement partiel du cholestérol des microsomes hépatiques par le ^{NL}-sitostérol et le campestérol. Une déformabilité cellulaire altérée peut entraîner une réduction de la survie cellulaire car les membranes inextensibles se rompent facilement lors d'un stress physique (Weed ; 1970). On peut interpréter nos résultats qu'il y avait une incorporation de phytostérols, le β -sitostérol dans les membranes des érythrocytes avec le traitement 200 mg/kg/j. cette intégration a probablement provoqué une altération ou une déformation qui en provoquant finalement une hémolyse.

Les causes de prééclampsie soient totalement inconnues, l'un des mécanismes responsables serait l'activation des systèmes inflammatoires avec une implication prédominante des cytokines et des chimiokines (Reslan et Khalil ; 2010, Lamarca ; 2010). Les mécanismes de suppression non spécifique au niveau placentaire, il est remarquable qu'une production préférentielle de cytokines anti-inflammatoires au détriment de la production de cytokines pro-inflammatoires (Lala *et al* ; 1988). L'inflammation systémique peut être mesurée en utilisant une variété de marqueurs biochimiques et hématologiques. Des découvertes récentes indiquent que la mesure des rapports de sous-types de cellules sanguines, tels que les rapports neutrophil/lymphocytes (NLR) et plaquettes/lymphocytes (PLR), pourrait fournir des indices pronostiques et diagnostiques pour les maladies liées à une inflammation chronique de bas

grade (Kirbas *et al* ; 2014, Fowler AJ *et al* ; 2013, Guthrie GJ *et al* ; 2013). Les états inflammatoires de la prééclampsie ont été évalués à l'aide de plusieurs biomarqueurs tels que la protéine C-réactive (CRP) et le volume plaquettaire moyen (MPV). Mais récemment, le rapport neutrophiles/lymphocytes (NLR) et le rapport plaquettes/lymphocytes (PLR), qui peuvent être dérivés de la formule sanguine complète (CBC), ont été étudiés comme nouveaux marqueurs de pronostic chez les patients atteints de la preeclampsie (Dogan *et al* ; 2015, Han *et al* ; 2014). Il y a eu de nombreuses recherches sur la pathogenèse de la preeclampsie, l'une des plus reconnues, la stimulation inflammatoire qui entraîne une réponse immunitaire anormale et induit un dysfonctionnement endothélial vasculaire qui conduit à l'hypertension. (Rever *et al* ; 2007, Laresgoiti-Servitjeet *al* ; 2010) Ceci peut nous conduire que la dose 200 mg/kg/j a probablement provoqué une preeclampsie.

Paramètres hormonaux

La présente recherche a révélé une variation au niveau de la sécrétion des hormones étudiées le cortisol, la progestérone et l'œstradiol. Il est bien établi que la glande surrénale est connue pour être l'un des principaux organes qui accumulent le P-sitostérol (Sander *et al* ; 2000). Le métabolite du β -sitostérol dans la surrénale de porc d'élevage est le cortisol (King *et al* ; 2000). Ces études suggèrent que le P-sitostérol est métabolisé de la même manière que le cholestérol, ce qui conduit que le squelette du stérol à entrer dans les voies de biotransformation du cholestérol. De nombreuses études ont démontré que les taux de cortisol circulant augmentent nettement pour atteindre environ trois fois les niveaux au troisième trimestre de la gestation (Knopet *al* ; 1973). Cette augmentation des taux de cortisol libre est en partie due à la stimulation de la globuline liant les corticostéroïdes (corticostéroïd-binding globulin) avec les œstrogènes (Mark *et al* ; 1984, Boshier *et al* ; 1984). Nos résultats ont montré que les valeurs de cortisol chez les animaux témoins étaient significativement inférieures aux valeurs de ceux traités par l'extrait de *B. incrassatum* et l'augmentation de la sécrétion de cortisol est importante dans tous les groupes traités. Le cortisol est bien connu pour ses effets lipogéniques et plusieurs études ont montré une association entre les concentrations de cortisol et les concentrations de cholestérol (Schwertner *et al* ; 1984, Troxler *et al* ; 1977, Adlersberg ; 1957, Stem *et al* ; 1973). Au cours de la gestation, le placenta est la première source de production d'œstrogènes (Morel *et al* ; 2016) et le taux de production augmente continuellement pour atteindre en fin de gestation, son niveau maximal (Pasqualini ; 2005). Dans notre étude, nous avons montré que l'administration quotidienne des extraits organiques des racines du *B. incrassatum* a provoqué un changement non significatif dans le taux d'œstradiol, ceci est due au présence du β -

sitostérol, où il a connu une augmentation de l'ordre de 25,80% chez le groupe traité par 50 mg/kg/j et une diminution de l'ordre de 2,20% et 27,24% chez les groupes traités par 100 et 200mg/kg/j, respectivement, en comparaison avec le groupe témoin. Plusieurs recherches ont démontré que le traitement par le β -sitostérol induit une diminution des stéroïdes en circulation (Moghadasian ; 2000). Maclatchy & Vanderkraak(1995) ont démontré que les injections intrapéritonéales de β -sitostérol ont significativement diminué les niveaux de testostérone et de la 11-cétotestostérone chez les mâles et les niveaux de testostérone et de 17 β -œstradiol chez les poissons rouges femelles. De même Ils ont signalé que les niveaux de prégnénolone étaient considérablement réduits par rapport au β -sitostérol. Les mêmes chercheurs (Maclatchy & Vanderkraak ; 1995) ont démontré que le poisson exposé aux β -sitostérols a montré une diminution des niveaux de stéroïdes en circulation. Cette chute est due à l'inhibition de l'enzyme P450 aromatasase par le scopoletin qui se trouve dans l'extrait. Cette action inhibitrice est renforcée par le β -sitostérol (Balunas *et al* ; 2008). L'aromatase des androgènes en œstrogènes se fait grâce à cette enzyme clé, localisée dans le réticulum endoplasmique dans divers tissus, dont le cortex surrénalien (Conley *et al* ; 1996) .En outre Shutt (1976), Hodek *et al* (2002), Magee & Rowland (2004) ont démontré que les phytoestrogènes, lorsqu'ils sont administrés à forte dose, ils peuvent provoquer un déséquilibre hormonal pouvant même entrer en compétition avec l'œstrogène et se comporter comme des anti-œstrogènes. Nous pouvons expliquer que la perturbation non significative remarquée dans le niveau d'œstradiol enregistrée dans nos résultats par la présence de β -caryophyllène (BCP) dans l'extrait organique de cette plante qui a corrigé l'effet négatif du β -sitostérol sur la sécrétion des stéroïdes. Selon les études menées par Fiorenzani *et al* (2014), l'administration du BCP seul augmente le taux de la testostérone et de l'œstradiol.

Chez tous les mammifères, la progestérone est nécessaire au maintien de la gestation. Au début de la gestation, le corps jaune représente la source principale de cette hormone, au fur et à mesure que la gestation progresse ;la sécrétion progestéronique ovarienne est suppléée par le placenta (Sousa *et al.*, 2002). La concentration sérique de progestérone chez la lapine gestante de la race neo zélandaise a atteint un niveau maximal au 13^{ème} jour de gestation, après, le taux a diminué au 18^{ème} jour de gestation et il s'est maintenu au même niveau jusqu'au 28^{ème} jour de gestation (Yasumoto *et al* ;2010).Mustonen *et al* (2014) ont étudié l'effet d'un phytoestrogènes (trèfle rouge) sur les performances des brebis lors de leur première saison de reproduction et ils ont trouvé que les taux de progestérone est significativement très faible dans toute la période d'étude. ORA Kaplanski *et al* (1980) ont montré aussi que le traitement des cellules isolées de la granulosa bovine *in vitro* par des phytoestrogènes (la biochanine A et la génistéine)ont

provoqué un effet bi-phasique lié à la dose, ou les phytoestrogènes a augmenté la synthèse de progestérone de 40-50% lorsqu'elles étaient ajoutées à des concentrations plus élevées jusqu'à certaine dose (176 nmol/l pour la biochanine a et 1850 nmol/l pour la génistéine) et à des concentrations supérieures la synthèse de progestérone a diminué et significativement inhibée . C'est pour ça, le traitement avec l'extrait organique de *B.incrassatum* a diminué significativement le taux de progestérone sérique chez la lapine pubère (Chentouh *et al* ; 2019). Au temps qu'il augmenté significativement le taux de progestérone chez la femelle gestante surtout avec les deux traitements 100 et 200 mg/kg/j.

La glande surrénale

Du point de vue histologique, nous avons observé que l'épaisseur générale de la zone corticale a eu une augmentation non significative avec les différentes doses. Alors que la couche fasciculée, responsable de la sécrétion de cortisol, a eu une progression avec tous les traitements, très hautement significative avec la dose 200mg/kg/j, ce qui conduit rationnellement à une augmentation dans les taux de cortisol. Cette augmentation est accompagnée par une diminution significative de la couche réticulaire. Ces changements histomorpho-métriques dans les différentes couches de la glande surrénale reflètent la relation étroite avec le taux du cortisol. Un changement transformatif simultané probable des cellules réticulaires en cellules fasciculaires en réponse à la stimulation par l'extrait pour faire face à la demande accrue de glucocorticoïde pourrait avoir été responsable de l'augmentation de l'épaisseur de la zone fasciculée.

Il est bien connu que l'activité corticosurrénale chez les mammifères est sensible aux androgènes et aux œstrogènes (Malendowicz & Cytophysiology; 1994, Kime *et al* ; 1979, Goel *et al* ; 2014) en subissant des changements minimes de poids et de taille. Nos résultats indiquent une augmentation du taux de changement de l'épaisseur de la zone corticale des lapines traitées par rapport au groupe témoin. Cette augmentation est de l'ordre de 1,64%, 7,88% et 8,68% chez les animaux traités par 50 ,100 et 200 mg/kg/j, respectivement. Nous remarquons également que l'épaisseur de la zone glomérule a augmenté de 3,87% et 6,09% dans les groupes G1 et G2, respectivement, par rapport à celle du groupe témoin. L'épaisseur de la zone fascicule a augmenté de 14,69% 46,75% et 49,43% chez les groupes G1, G2 et G3, respectivement. Au contraire, l'épaisseur de la zone réticule a diminué de 33,90%, 31,10% dans les groupes G2 et G3 en comparaison avec le groupe témoin et G1. Ces résultats concordent avec ceux de Zatra (2008), qui a trouvé chez le Gerbilus, une nette hypertrophie du cortex due essentiellement à la zone fasciculaire. Ces modifications morphométriques peuvent être expliquées par la présence

du β -sitostérol dans l'extrait de cette plante. Ce composant appartient à la famille des stérols végétaux ou phytostérols (Brown *et al* ; 2014). Il est bien documenté que les phytoestrogènes sont des produits chimiques naturels qui peuvent interférer directement avec la biosynthèse des stéroïdes, la signalisation intracellulaire, la prolifération cellulaire et l'expression génique (Giraldi *et al* ; 2010). De même Rosol *et al* (2001) ont signalé que les stéroïdes exogènes peuvent perturber la fonction et la structure normale du cortex surrénalien. Les mêmes auteurs ont remarqué que les agonistes exogènes induisent une rétro-inhibition négative de la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse et entraînent une atrophie de la zone fasciculée et réticulaire, tandis que les antagonistes stéroïdiens exogènes bloquent l'action des hormones stéroïdiennes, entraînent une augmentation de la sécrétion d'ACTH et une hyperplasie diffuse du cortex.

Les résultats de l'étude immunohistochimique de la glande surrénale des lapines gestantes traitées par l'extrait organique de *B. incrassatum* et témoin, nous a permis d'accumuler des données utilisables en recherche pour démontrer l'immunolocalisation des récepteurs aux œstrogènes et aux progestérones et l'intensité de marquage de biomarqueurs dans les différentes zones de la glande surrénale.

L'activité cortico-surrénalienne chez diverses espèces est sensible aux androgènes et aux œstrogènes. Ils peuvent affecter la croissance et le fonctionnement du cortex surrénalien soit par des voies centrales (CRH et ACTH) soit directement, via des récepteurs spécifiques exprimés dans le cortex et/ou en interférant avec des enzymes cortico-surréaliennes, parmi lesquelles celles impliquées dans la stéroïdogénèse (Marcin *et al* ; 2015). Nos résultats concernant les récepteurs aux œstrogènes et aux progestérones, indiquent que l'immunolocalisation des récepteurs aux œstrogènes et aux progestérones ont été détectée dans les cellules graisseuses, les fibroblastes du tissu conjonctif ainsi que les cellules de la couche glomérulaire, fasciculaire et réticulaire et de la zone médullaire. Les résultats de cette étude sont cohérents avec ceux réalisés sur d'autres espèces. La coloration ER a été trouvée dans toutes les zones du cortex surrénalien chez les rongeurs et les primates (Calandra *et al* ; 1980) ; les singes rhésus (Goelet *et al* ; 2014) les juments (Ylvaet *et al* ; 2009) et les moutons (ER α) (Henley & Korach, 2010). Ce qui indique un effet direct des stéroïdes sexuels sur la fonction de la glande surrénale, la variabilité de l'expression des récepteurs aux œstrogènes observée dans nos résultats est due aux différents composants de *B. incrassatum* tels que le β -sitostérol, le saccharose et l'acide oléique. Nous pouvons expliquer cette baisse de la concentration en ER chez les lapines par la diminution des niveaux d'œstradiol. Il est bien connu qu'il existe une relation inverse entre l'abondance des récepteurs de stéroïdes sexuels et les niveaux d'hormones circulantes (Watts, 2020). Cela a été prouvé par Van Lier *et al* (2003) qui ont démontré que la

gonadectomie chez les ovins des deux sexes augmentait l'ER surrénale observée par rapport à leurs homologues intacts, confirmant que la régulation de la glande surrénale est sous le contrôle des stéroïdes sexuels. Même les études d'Ylva *et al*(2009) ont prouvé nos résultats. Ils ont détectée une coloration ER α dans la zone surrénalienne glomérule, fasciculée et réticulaire de tous les groupes de juments, et que l'ovariectomie a augmenté l'intensité de la coloration corticale ER α , et que chez les juments ovariectomies et une jument intacte, la coloration ER α positive a été détectée dans les cellules médullaires surrénaliennes. Gaya *et al*(2018) ont prouvé par des études sur de petits animaux que la consommation de saccharose est suffisante pour induire des changements métaboliques dans l'organisme qui entraînent des conséquences délétères et induisent une diminution significative de l'expression d'ER α . Pour les PR, nos résultats se diffèrent avec celles d'Ylva *et al* (2009) qui ont démontré une coloration PR de faible intensité, qu'elle était présente dans une faible proportion de cellules de la zone fasciculée et réticulaire de tous les groupes de juments et une faible coloration PR dans une grande proportion de cellules médullaires surrénaliennes.

Nos résultats montrent aussi que les récepteurs des œstrogènes et de progestérones ER α et PR dans les couches glomérulée, fasciculée et réticulée sont cytoplasmique et la plus part de cellules médullaires ont une coloration immunohistochimique positive dont quelque la coloration non seulement cytoplasmique mais aussi nucléaire. Contrairement aux résultats obtenus par Ylva *et al* (2009), la coloration pour ER α et PR dans le cortex surrénalien est toujours située dans les noyaux cellulaires mais dans la zone médullaire la coloration n'a été observée que dans le cytoplasme cellulaire. On peut interpréter nos résultats que les récepteurs ER et PR dans la glande surrénale comme un organe cible est non seulement nucléaire mais aussi cytoplasmique. Les extraits bruts des végétaux peuvent interférer avec les œstrogènes et/ou les progestérones naturelles *in vivo* en se liant aux récepteurs stéroïdiens. L'ordre d'efficacité de la compétition pour le récepteur de la progestérone était différent de celui de l'œstrogène et leurs affinités relatives étaient bien inférieures à celles de l'œstradiol ou de la progestérone (Benie & Thiulant ; 2003). En plus de stimuler la transcription des gènes, les stéroïdes sexuels déclenchent des réponses rapides et non génomiques dans le compartiment extranucléaire des cellules cibles. Les récepteurs de stéroïdes sexuels classiques localisés dans le compartiment extra-nucléaire ou à proximité des membranes des cellules cibles favorisent la progression du cycle cellulaire, empêchent l'apoptose, entraînent des modifications épigénétiques et augmente la migration cellulaire par des modifications du cytosquelette(Giraldi *et al.*, 2010).

Conclusion et Perspective

Conclusion

Notre étude est réalisée dont le but d'évaluer l'effet du traitement par la matière organique de l'extrait chloro-ethanolique des racines de *Bunium incrassatum* (Talghouda) sur

les paramètres hématologiques et histologiques de la glande surrénale au cours du dernier tiers de la période de gestation chez la lapine de la race locale.

Les résultats indiquent que les composants de cette plante médicinale peuvent, à des doses spécifiques, avoir un effet positif sur certains paramètres de reproduction comme l'augmentation des taux de cortisol, progestérogène, poids des lapereaux et augmente les indices érythrocytaires. Aussi, elle a diminué les taux de glycémie et on peut l'utiliser sans danger jusqu'à 100 mg/kg /jour. Mais lorsqu'on a administré à des doses plus élevées (200 mg/kg/j), elle a des effets néfastes, la diminution de poids de la progéniture, les taux trop élevés de cholestérols qui va conduits peut être vers d'autres maladies, la diminution très importante dans les taux de glycémie et dans les indices érythrocytaires, qu'il va affecte le développement de fœtus et il va probablement provoquer une anémie chez les femelles gravides.

L'extrait organique des racines de *B. incrassatum* modifie non seulement les sécrétions hormonales de la glande surrénale mais affecte aussi la construction histologique en modifiant l'épaisseur des couches.

Nos résultats montrent aussi la présence des récepteurs aux œstrogènes et aux progestérogènes dans le cortex surrénalien, ce qui nous indique que les stéroïdes sexuels ont un effet direct sur la fonction surrénalienne chez les lapines gestantes. De même, les composants de l'extrait chloro-ethanolique des racines de *B. incrassatum* ont modifiant l'immunoexpression de ces récepteurs.

Perspective :

L'étude de la femme gestante est une étude très intéressante en raison des complexités et des interférences physiologiques qu'elle contient (la mère, le placenta et les embryons). Aussi

le fonctionnement de la glande surrénale durant cette période sensible. Alors, Il est souhaitable d'approfondir la recherche dans ces deux axes.

Pour cela, les perspectives sont la réalisation des points suivants :

- 1) Etudier le fonctionnement, le rôle et les modifications affectant de la glande surrénale durant la gestation chez les mammifères et entre les saisons.
- 2) Étudier la relation entre les sécrétions hormonales de la glande surrénale (cortisol) et le développement fœtal (les poumons).
- 3) Etudier l'effet des phytostéroïdes comme un perturbateur endocrinien sur d'autres glandes endocrines durant la gestation sur la femelle et le fœtus.
- 4) Faire une synthèse sur tous les résultats obtenus par notre équipe de recherche, sur les effets de *Bunium incrassatum*, dans une revue.

Références bibliographiques

1. **Abdelmannan, D., & Aron, D. C. (2011).** Adrenal disorders in pregnancy. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 40(4), 779–794. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2011.09.001>
2. **Aboud, S. A. E. H., El Sayed, H. A. E., & Ibrahim, H. A. F. (2019).** Knowledge, Attitude and Practice Regarding Prevention of Iron Deficiency Anemia among Pregnant Women in Tabuk Region. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 8(2), 87-97.
3. **Adlersberg (1957).** Hormonal influences on the serum lipids. *The American Journal of Medicine*. 23 769-789.
4. **Agric, A. J., & Article, O. (2021).** Investigation of antioxidant and anti-hemolytic properties of Algerian Bunium incrassatum tubers and their effects as diet on histological and biochemical parameters of normal Wistar rats. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 2022(Online First), 1–10. <https://doi.org/10.35495/ajab.2020.07.391>
5. **Akinloye, O., Obikoya, O. ., Jegede, A. ., Oparinde, D. ., & Arowojolu, A. . (2013).** Cortisol plays central role in biochemical changes during pregnancy. *International Journal of Medicine and Biomedical Research*, 2(1), 3–12. <https://doi.org/10.14194/ijmbr.212>
6. **Aknoun-Sail, N., Zatra, Y., Kheddache, A., Moudilou, E., Khammar, F., Exbrayat, J. M., & Amirat, Z. (2017).** Pituitary adrenal axis activity in the male Libyan jird, *Meriones libycus*: Seasonal effects and androgen mediated regulation. *Folia Biologica (Kraków)*, 65(2), 95-105.
7. **Aldoretta, P. W., & Hay, W. W. (1995).** Metabolic substrates for fetal energy metabolism and growth. *Clinics in perinatology*, 22(1), 15-36.
8. **Alm, Y. H., Sukjumlong, S., Kindahl, H., & Dalin, A. M. (2009).** Steroid hormone receptors ER α and PR characterised by immunohistochemistry in the mare adrenal gland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1), 1-9.
9. **Al-Sadek, D., Azeem, W. A., & Balah, A. (n.d.).** HISTOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDIES ON ADRENAL CORTEX OF EGYPTIAN BALADI GOATS. In *ҚазҰУ Хабаршысы. Биология сериясы (Issue 47)*.
10. **AL-Shakhshir, S. M., Sulaiman, S. A. S., Alhaddad, M. S., & Ismail, M. P. (2019).** Assessment of the Effectiveness of a Pharmacist-Led Digital Educational Program on Knowledge, Perception, and Practice of Pregnant Women at a Tertiary Care Teaching Hospital. *Archives of Pharmacy Practice*, 10(1), 5-11.
11. **Al-Sharoot, H. A. (2014).** Histological Study of the Adrenal gland in Guinea Pig (*Cavia porcellus*). In *International Journal of Advanced Research (Vol. 2, Issue 9)*. <http://www.journalijar.com>

12. **Anderson, D.J., Carnahan, J.F., Michelsohn, A., and Patterson, P.H. (1991).** Antibody markers identify a common progenitor to sympathetic neurons and chromaffin cells in vivo and reveal the timing of commitment to neuronal differentiation in the sympathoadrenal lineage. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 11, 3507–3519.
13. **Anderson, J. A., & Henck, J. W. (1994).** Toxicity and safety testing. In *The biology of the laboratory rabbit* (pp. 449-466). Academic Press.
14. **Arlt, W., & Stewart, P. M. (2005).** Adrenal corticosteroid biosynthesis, metabolism, and action. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 34(2), 293-313.
15. **Arnold J (1866).** Ein beitrag zu der feineren structur und dem chemismus der nebennieren. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol* 39:64–117.
16. **Avsar, E. (2021).** Comment on “Are neutrophil/lymphocyte ratio (NLR), platelet/lymphocyte ratio (PLR), and/or mean platelet volume (MPV) clinically useful as predictive parameters for preeclampsia?” *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 34(11), 1843–1843. <https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1645111>
17. **Baba Aissa. Bouchène and Ad. Diwan (1991).** Medicinal plants in Algeria.
18. **Bakiri, N., Bezzi, M., Khelifi, L., & Khelifi-Slaoui, M. (2016).** enquete ethnobotanique d'une plante medicinale peganum harmala L. dans la region de M'sila. *Revue Agriculture*, 1, 38-42.
19. **Balunas, M. J., Su, B., Brueggemeier, R. W., & Kinghorn, A. D. (2008).** Natural products as aromatase inhibitors. *AntiCancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 8(6), 646-682. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3074486/>
20. **Bandiera, R., Sacco, S., Vidal, V.P.I., Chaboissier, M.-C., and Schedl, A. (2015).** Steroidogenic organ development and homeostasis: A WT1-centric view. *Mol. Cell. Endocrinol.* 408, 145–155.
21. **Barone. R, 1973.** Atlas d’anatomie du lapin. 2nded. Masson, 91-95
22. **Barrada M.I., Blomquist C.B., Kotts C (1980).** The effects of betamethasone on fetal development in rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136, 234 - 238.
23. **Basha, R. H., & Sankaranarayanan, C. (2015).** Protective role of β -caryophyllene, a sesquiterpene lactone on plasma and tissue glycoprotein components in streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Journal of Acute Medicine*, 5(1), 9-14.
24. **Battaglia, F. C., & Meschia, G. (1978).** Principal substrates of fetal metabolism. *Physiological Reviews*, 58(2), 499-527.

25. **Bayala, B., Tamboura, H. H., Pellicer, M. T. R., Zongo, D., Traoré, A., Ouédraogo, L & Sawadogo, L. (2006).** Effets œstrogéniques du macéré aqueux des feuilles de *Holarrhenafloribunda* (G. Don) Dur & Schinz chez la rate ovariectomisée. *BASE*. 10(3), 173-180. <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=997>
26. **Beaudoin et al, 2003.** Développement stages in the rabbit embryo : guidelines to choose an appropriate experimental model, fetal diagnosis, 18, 422-427.
27. **Beer A.E., Billingham R.E (1979).** Maternal immunological recognition mechanisms during pregnancy. In: *Maternal recognition of pregnancy (CIBA Fndn Symp. N°64 (New Series))*. Elsevier: North-Holland, Amsterdam. 293-309.
28. **Ben Ziane A. et Yousfi I.** (Page consulté le 14 Janvier 2018). *Bunium incrassatum* (Boiss) Batt et Trab, [site web] ([en ligne]), URL : <https://sites.google.com/site/pastoraldz/plantesmedicinales/enquete-ethnobotanique/resultats/bunium-incrassatum-boiss-batt-et-trab>.
29. **Benie, T., & Thieulant, M. L. (2003).** Interaction of some traditional plant extracts with uterine oestrogen or progestin receptors. *Phytotherapy Research*, 17(7), 756–760. <https://doi.org/10.1002/PTR.1208>
30. **Bhattacharyya, A. K., & Lopez, L. A. (1979).** ABSORBABILITY OF PLANT STEROLS AND THEIR DISTRIBUTION RABBIT TISSUES *. In *Biochimica et Biophysica Acta* (Vol. 5)
31. **Bland, M.L., Desclozeaux, M., and Ingraham, H.A. (2003).** Tissue growth and remodeling of the embryonic and adult adrenal gland. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 995, 59–72.
32. **Boshier DP, Holloway H, Liggins GC (1980).** Growth and cytodifferentiation of the fetal lamb adrenal cortex prior to parturition. *J Anat.* Jan;130(Pt 1):97–111.
33. **Boshier DP, Holloway H, Liggins GC (1981).** Effects of cortisol and ACTH on adrenocortical growth and cytodifferentiation in the hypophysectomized fetal sheep. *J Dev Physiol.* Dec;3(6):355–373.
34. **Boshier, D. P., & Holloway, H. (1989).** Morphometric analyses of adrenal gland growth in fetal and neonatal sheep. I. The adrenal cortex. *Journal of anatomy*, 167, 1.
35. **Boubekri, A., Gernigon-Spychalowicz, T., Khammar, F., & Exbrayat, J. M. (2007).** Histological and immunohistological aspects of the ovarian cycle of the algerian wild sand rat, *Psammomys obesus* Cretzschmar, 1828. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 45(SUPPL. 1), 41–49. <https://doi.org/10.2478/4487>
36. **Boubekri, A., Gernigon, T., Khammar, F., & Exbrayat, J. M. (2004).** Approche immunohistochimique de l'ovaire du rat des sables, du sud ouest algérien, en période de reproduction. *Revue française d'histotechnologie (Amboise)*, 17(1), 21-29.

37. **Boudhene Mohamed Amir. (2016).** Profil endocrinien de la lapine suivant la réceptivité sexuelle [Institut des Sciences Vétérinaires]. <https://bu.umc.edu.dz/theses/veterinaire/BOU6965.pdf>
38. **Boukenaoui, N., Moudilou, E., Chevalier, C., Amirat, Z., Exbrayat, J. M., & Khammar, F. (2012).** Postnatal changes in testicular development and androgen receptors immunolocalization in D'Man ram lambs. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 50(1), 38–45. <https://doi.org/10.5603/FHC.2012.0005>
39. **Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., & Hakim, Y. (2010).** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, (3), 37.
40. **Boumediou, A. et Addoun, S., 2017.** thèse de doctorat Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen 67p.
41. **Bousetla A., Zellagui A., Derouiche K., & Rhouati S., (2011).** Constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. King Saud University., *Arabian Journal of Chemistry*.
42. **Bousetla, A., Kurkcuglu, M., Konuklugil, B., Baser, K. H. C., & Rhouati. S. (2014).** Composition of Essential Oil from *Bunium incrassatum* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*. 50(4), 753-755. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10600-014-1074x>
43. **Bousetla, A., Zellagui, A., Derouiche, K., & Rhouati, S. (2015).** Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 313-316. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535211000268>
44. **Boussit F., (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture. Rambouillet: Association française de cuniculture; 46-82.
45. **Brown, A. C., Stevenson, L. M., Leonard, H. M., NievesPuigdoller, K., & Clotfelter, E. D. (2014).** Phytoestrogens β sitosterol and genistein have limited effects on reproductive endpoints in a female fish, *Betta splendens*. *BioMed Research International*. Article ID 681396, 7 pages. doi: 10.1155/2014/681396, <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/681396/>
46. **Calandra, R. S., Lüthy, I., Finocchiaro, L., & Cheb Terrab, R. (1980).** Influence of sex and gonadectomy on sex steroid receptors in rat adrenal gland. *Journal of Steroid Biochemistry*, 13(11), 1331-1335. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022473180900941>
47. **Capel B (2000).** The battle of the sexes. *Mech Dev* ; 92 : 89-103.

48. **Caron M., Bencharif D., Briand L., & Tainturier D., (2012).** Diagnostic et suivi de la gestation chez la lapine par échographie avec une sonde de 12,5 MHz., 314pp.
49. **Ceyhan, T., Beyan, C., Başer, İ., Kaptan, K., Güngör, S., & Ifran, A. (2006).** The effect of pre-eclampsia on complete blood count, platelet count and mean platelet volume. *Annals of Hematology*, 85(5), 320–322.
50. **Challis, J. R., Davies, I. J., & Ryan, K. J. (1973).** The Concentrations of Progesterone, Estrone and Estradiol-17 β in the Plasma of Pregnant Rabbits. *Endocrinology*, 93(4), 971-976.
51. **Chauvet, Michel (1948-....), Jousson, Jacky., Mansion, Dominique (1952-....) et Curiace, Gismonde (1960-....),** Encyclopédie des plantes alimentaires, Paris, Belin
52. **Chentouh, S, Boulahbel, S., Adjal, F., Tolba, M., Alloua, N., & Y, M. Y. B. (2018).** Effets des extraits organiques de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres hématologiques chez les lapines de population la race locale. *Revue Des BioRessources*, 8(2), 34–42.
53. **Chentouh, S, Boulahbel, S., Ouldjaoui, A., Hammoudi, N., Djebaili, H., & Adjal, F. (2017).** Effect of organic extracts of *Bunium incrassatum* on the hematological, ovarian and uterine parameters of mature female rabbit. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(3), 1618.
54. **Chentouh, Sana. (2019).** Effets de l'administration orale de l'extrait organique de *Bunium incrassatum* (boiss.) Sur les niveaux sériques des hormones gonadotrophines (FSH, LH) et gonadiques (progesterone, et oestradiol) chez des lapines matures (*Oryctolagus cuniculus* Linné, 1958). *Revue Des BioRessources*.
55. **Child, P., & Kuksis, A. (1982).** Differential uptake of cholesterol and plant sterols by rat erythrocytes in vitro. *Lipids*, 17(10), 748–754. <https://doi.org/10.1007/BF02534662>
56. **Conley, A. J., Corbin, C. J., Hinshelwood, M. M., Liu, Z., Simpson, E. R., Ford, J. J., & Harada, N. (1996).** Functional aromatase expression in porcine adrenal gland and testis. *Biology of Reproduction*, 54(2), 497-505. <https://academic.oup.com/biolreprod/article/54/2/497/2761972>
57. **Coupland, R. E., & Weakley, B. S. (1970).** Electron microscopic observation on the adrenal medulla and extra-adrenal chromaffin tissue of the postnatal rabbit. *Journal of Anatomy*, 106(Pt 2), 213.
58. **Couse, J. F., & Korach, K. S. (1999).** Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us?. *Endocrine reviews*, 20(3), 358-417.
59. **Dellmann, H.-D., (1993).** Endocrine system. In: *Textbook of Veterina Histology*, 4th edn (H.-D. Dellmanned). Philadelphia: Lea and Fabiger pp. 270– 284.

60. **Dhandapani, S., Subramanian, V. R., Rajagopal, S., & Namasivayam, N. (2002).** Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan-induced diabetic rats. *Pharmacological research*, 46(3), 251-255.
61. **Diel, P., Olf, S., Schmidt, S., & Michna, H. (2002).** Effects of the environmental estrogens bisphenol A, o, p'-DDT, p-tert-octylphenol and coumestrol on apoptosis induction, cell proliferation and the expression of estrogen sensitive molecular parameters in the human breast cancer cell line MCF-7. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 80(1), 61-70.
62. **Dimsdale, J. Herd (1982).** Variability of plasma lipids in response to emotional arousal. *Psychosomatic Medicine*. 44 413-430.
63. **Doğan, K., Guraslan, H., Senturk, M. B., Helvacioğlu, C., İdil, S., & Ekin, M. (2015).** Can platelet count and platelet indices predict the risk and the prognosis of preeclampsia?. *Hypertension in pregnancy*, 34(4), 4
64. **DONNELLY TM (2004).** Rabbit: Basic Anatomy, Physiology and Husbandry. In *Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. 2nd edition. Philadelphia : Saunders, p. 136-146.
65. **Driancourt, M. A., Thatcher, W. W., Terqui, M., & Andrieu, D. (1991).** Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. *Domestic Animal Endocrinology*, 8(2), 209-221.
66. **Dubest, C., & Pugeat, M. (2005).** Gonadotropic pituitary hormones: Physiology and functional test. *EMC - Endocrinologie*, 2(4), 231-240. <https://doi.org/10.1016/j.emcend.2005.09.001>
67. **Dumontet, T., Sahut-Barnola, I., Septier, A., Montanier, N., Plotton, I., Roucher-Boulez, F., Ducros, V., LefrançoisMartinez, A. M., Pointud, J. C., Zubair, M., & Morohashi, K. I. (2018).** PKA signaling drives reticularis differentiation and sexually dimorphic adrenal cortex renewal. *JCI Insight*, 3(2), e98394. doi:10.1172/jci.insight.98394.
68. **Elyebdri, N., Boumediou, A., & Addoun, S. (2017).** Ethnobotanical study on the usage of toxic plants in traditional medicine in the city center of Tlemcen, Algeria. *International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 11(11), 642-646.
69. **Eren, E. C., & Basım, P. (2022).** Role of peripheral inflammatory biomarkers, transforming growth factor-beta and interleukin 6 in predicting peritoneal adhesions following repeat cesarean delivery. *Irish Journal of Medical Science (1971 -)*. <https://doi.org/10.1007/s11845-021-02878-8>
70. **Eric Pailhoux, Maëlle Pannetier, Béatrice Mandon-Pepin (2014).** La différenciation sexuelle des gonades et de l'appareil génital. *La reproduction animale et humaine*, Editions Quae, 751 p., Synthèses (Quae), 978-2-7592-2208-7.

71. **Essiet, G. Akuodor, D. Aja, M. Nwokike, D. Eke, A. Chukwumobi AN (2018).** Effects of *Salacia lehmbachii* ethanol root bark extract on estrous cycle and sex hormones of female albino rats. *Asian Pac J Reprod*, 7:274-9.
72. **Evans, K., & Laker, M. F. (1995).** Intra-individual factors affecting lipid, lipoprotein and apolipoprotein measurement: a review. In Review Article *Ann Clin Biochem* (Vol. 32).
73. **Fiorenzani, P., Lamponi, S., Magnani, A., Ceccarelli, I., & Aloisi, A. M. (2014).** In vitro and in vivo characterization of the new analgesic combination beta-caryophyllene and docosahexaenoic acid. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
74. **Flechon, J. E., & Thibault, C. (1964).** Modifications ultrastructurales de l'ovocyte de la lapine au cours de l'activation. *J. Microsc*, Paris, 3, 34-41.
75. **Fowler AJ, Agha RA (2013).** Neutrophil/lymphocyte ratio is related to the severity of coronary artery disease and clinical outcome in patients undergoing angiography-the growing versatility of NLR. *Atherosclerosis*. 228:44-45.
76. **Fromont A., & Tanguy M., (2011).** L'élevage de lapins. Tom1. Educagri Editions, Dijon,
77. **Fujimoto, J., Hirose, R., Ichigo, S., Sakaguchi, H., Li, Y., & Tamaya, T. (1998).** Expression of progesterone receptor form A and B mRNAs in uterine leiomyoma. *Tumor biology*, 19(2), 126-131.
78. **Gabrilovac, J., Zadjelović, J., Osmak, M., Suchanek, E., Županović, Ž., & Boranić, M. (1988).** NK cell activity and estrogen hormone levels during normal human pregnancy. *Gynecologic and obstetric investigation*, 25(3), 165-172.
79. **Gannon, A. L., O'hara, L., Mason, J. I., Jørgensen, A., Frederiksen, H., Milne, L., Smith, S., Mitchell, R. T., & Smith, L. B. (2019).** Androgen receptor signalling in the male adrenal facilitates X-zone regression, cell turnover and protects against adrenal degeneration during ageing. *Scientific Reports*, 9(1), 1-16.
80. **Catalano, P. M., Tyzbir, E. D., Roman, N. M., Amini, S. B., & Sims, E. A. (1991).** Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *American journal of obstetrics and gynecology*, 165(6), 1667-1672.
81. **Gaya, P., Sánchez-Jiménez, A., Peirotén, Á., Medina, M., & Landete, J. M. (2018).** Incomplete metabolism of phytoestrogens by gut microbiota from children under the age of three. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 69(3), 334-343. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28728453/>
82. **Gezer, C., Ekin, A., Ertas, I. E., Ozeren, M., Solmaz, U., Mat, E., & Taner, C. E. (2016).** High first-trimester neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-

- lymphocyte ratios are indicators for early diagnosis of preeclampsia. *Ginekologia Polska*, 87(6), 431–435. <https://doi.org/10.5603/GP.2016.0021>
83. **Gilbert, J.W., Hay, R., Johnson, F., Battaglia (1984).** Some aspects of maternal metabolism throughout pregnancy in the conscious rabbit. *Pediatric Research*. 18 854-859
84. **Gionbelli, T. R. S., Rotta, P. P., Veloso, C. M., Valadares Filho, S. C., Carvalho, B. C., Marcondes, M. I., Ferreira, M. F. L., Souza, J. V. F., Santos, J. S. A. A., Lacerda, L. C., Duarte, M. S., & Gionbelli, M. P. (2017).** Intestinal development of bovine foetuses during gestation is affected by foetal sex and maternal nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(3), 493–501.
85. **Giraldi, T., Giovannelli, P., Di Donato, M., Castoria, G., Migliaccio, A., & Auricchio, F. (2010).** Steroid signaling activation and intracellular localization of sex steroid receptors. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 4(4), 161-172. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21234121/>
86. **Goel, N., Workman, J. L., Lee, T. T., Innala, L., & Viau, V. (2014).** Sex differences in the HPA axis. *Comprehensive Physiology*, 4(3), 1121-1155. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24944032>
87. **Gogoi, P., Sinha, P., Gupta, B., Firmal, P., & Rajaram, S. (2019).** Neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet indices in pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 144(1), 16–20. <https://doi.org/10.1002/ijgo.12701>
88. **Gordon, I. (2003).** Laboratory production of cattle embryos (Vol. 27). Cabi.
89. **Guillaume Gauchotte. (2014).** Prolifération cellulaire et protéine hur dans les méningiomes [Haye-Faculté de Médecine]. http://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC_T_2014_0032_GAUCHOTTE.pdf
90. **Guthrie, G. J., Charles, K. A., Roxburgh, C. S., Horgan, P. G., McMillan, D. C., & Clarke, S. J. (2013).** The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*, 88(1), 218-230.
91. **Hadia Moindjie. (2016).** Rôles du Facteur PréImplantatoire (PIF) dans le placenta humain normal et pathologique. [Université Paris Saclay (COMUE)]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01508483/document>
92. **Han, L., Liu, X., Li, H., Zou, J., Yang, Z., Han, J., Huang, W., Yu, L., Zheng, Y., & Li, L. (2014).** Blood coagulation parameters and platelet indices: Changes in normal and preeclamptic pregnancies and predictive values for preeclampsia. *PLoS ONE*, 9(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0114488>
93. **Hanna, W., O'malley, F. P., Barnes, P., Berendt, R., Gaboury, L., Magliocco, A., ... & Thomson, T. (2007).** Updated recommendations from the Canadian National Consensus Meeting on HER2/neu testing in breast cancer. *Current oncology*, 14(4), 149-153.

94. **Hayet, E. K., Hocine, L., & Meriem, E. K. (2017).** Chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *Bunium incrassatum* and *Bunium alpinum* from algeria. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 62(1), 3335–3341. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072017000100006>
95. **Henley, D. V., & Korach, K. S. (2010).** Physiological effects and mechanisms of action of endocrine disrupting chemicals that alter estrogen signaling. *Hormones*, 9(3), 191-205. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4782146/>
96. **Hevor, T., & Mucci, P. (n.d.).** Effets ergogéniques, métaboliques et hormonaux des glucocorticoïdes chez l’homme et l’animal. université d’Orléans
97. **Hodek, P., Trefil, P., & Stiborová, M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-biological interactions*, 139(1), 1-21.
98. **Hossain, A. O. (n.d.).** Morphometric & Histological Study of the Adrenal Gland of the Adult female Rabbit (*Oryctolagus Cuniculus*). In *Al-Qadisiyah journal For pure science* (Vol. 23).
99. **Houillon C., 1967.** Embryologie, Hermann, Paris, 183 p
100. **Houmani. Z (1999)** CIHEAM Cahiers Options Méditerranéennes, Profil de l’Algérie. 38 101113
101. **Hu, M.C., Chou, S.J., Huang, Y.Y., Hsu, N.C., Li, H., and Chung, B.C. (1999).** Tissue-specific, hormonal, and developmental regulation of SCC-LacZ expression in transgenic mice leads to adrenocortical zone characterization. *Endocrinology* 140, 5609–5618.
102. **Hua, H., Zhang, H., Kong, Q., & Jiang, Y. (2018).** Mechanisms for estrogen receptor expression in human cancer. *Experimental Hematology & Oncology*, 7(1), 24. doi:10.1186/s40164018-0116-7
103. **Hussein, A. A. (2015).** Histomorphological developmental study of the adrenal gland of the local rabbit at one- and fifteen day’s age. *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*, 14(2), 47-54. <https://www.iasj.net/iasj/article/109541>
104. **Italiano, G., Acute, G., Leukemia, M., & Group, S. (2016).** Sitosterolemia : platelets on high-sterol diet HO-1 and CO : fighters vs sickle. 122(15), 2534–2536.
105. **Ito, T., Hoshi-o, T., & Sawauchi, K. (1964).** HISTOLOGICAL STUDIES OF INFLUENCES OF PREGNANCY AND LACTATION ON THE ADRENAL CORTEX IN MICE. In *Zeitschrift für Zellforschung* (Vol. 61).
106. **Jameson, S. A., Natarajan, A., Cool, J., DeFalco, T., Maatouk, D. M., Mork, L., ... & Capel, B. (2012).** Temporal transcriptional profiling of somatic and germ

cells reveals biased lineage priming of sexual fate in the fetal mouse gonad. *PLoS genetics*, 8(3), e1002575.

107. **Jassbi, M. Mehrdad, M. Soleimani, M. Mirzaeian, A. Sonboli (2005).** Chemical composition of the essential oils of *Bunium elegans and Bunium caroides*. *Chemistry of Natural Compounds*. 41 415-417.
108. **Junqueira, L. C., and J. Carneiro, (2005).** In: *Basic Histology: Textbook, and Atlas*, 10th edn (in Croatian, Z ˇ. Bradamante and Lj. Kostovic ´-Knez ˇevic ´eds). Zagreb: S ˇ kolskajniga.
109. **Kain, D. P., Ouattara, A., Zamané, H., Kiemtoré, S., Ouédraogo, I., Sawadogo, Y. A., ... & Thiéba, B. (2018).** Low Birth Weight at Term: Risk Factors and Perinatal Prognosis in the Teaching Hospital Yalgado Ouédraogo, Burkina Faso. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, 8(14), 1510.
110. **Kakis G, Kuksis A, Breckenridge WC (1988).** Redistribution of cholesterol and beta-sitosterol between intralipid and rat plasma lipoproteins and red blood cells in vivo. *Biochem Cell Biol. Dec*; 66(12):1312-21. doi: 10.1139/o88-152.
111. **Kaplanski, O., Shemesh, M., & Berman, A. (1981).** Effects of phyto-oestrogens on progesterone synthesis by isolated bovine granulosa cells. *Journal of Endocrinology*, 89(3), 343–348.
112. **Kholeif, A. E., Khamis, M. Y., Eltabakh, S., Swilam, R. S., Elhabashy, A., & EISherif, R. (2020).** Prediction of severity of preeclampsia in Egyptian patients: Role of neutrophil/lymphocyte ratio, platelet/lymphocyte ratio and C-reactive protein. *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology*, 47(2), 183–188. https://doi.org/10.31083/J.CEOG.2020.02.5229/0390-6663-47-2-183/IMG_1.JPG
113. **Kim, M. H., Rosenfield, R. L., Hosseinian, A. H., & Schneir, H. G. (1979).** Ovarian hyperandrogenism with normal and abnormal histologic findings of the ovaries. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 134(4), 445-452.
114. **King, R. Pendlington, V. Baker, P. Hepburn (2000).** Metabolism of phytosterols by pig adrenal tissue slices *Toxicology*. 148 75-75
115. **Kirbas A, Biberoglu E, Daglar K, et al (2014).** Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a diagnostic marker of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 180:12-15.
116. **Kirbas, A. (2015).** Prediction of Preeclampsia By First Trimester Combined Test and Simple Complete Blood Count Parameters. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*, 9(11), QC20. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/15397.6833>
117. **Klinge C. M. (2016).** Part III: Steroid Hormone Receptors and Signal Transduction Processes. In: Belfiore A., LeRoith D. (eds) *Principles of*

- Endocrinology and Hormone Action. Endocrinology. Springer, Cham. pp 1-47.
doi:10.1007/9783-319-27318-1_9-1
118. **Knight, P. G., & Glistler, C. (2006).** TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*, 132(2), 191-206.
 119. **Knopp, R. H., Saudek, C. D., Arky, R. A., & O'sullivan, J. B. (1973).** Two phases of adipose tissue metabolism in pregnancy: maternal adaptations for fetal growth. *Endocrinology*, 92(4), 984-988.
 120. **Kuiper, G. G., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S., & Gustafsson, J. A. (1996).** Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(12), 5925-5930.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC39164/>
 121. **Lagercrantz, U., & Lydiat, D. J. (1996).** Comparative genome mapping in Brassica. *Genetics*, 144(4), 1903-1910.
<https://doi.org/10.1093/genetics/144.4.1903Research.70>, 0165-3806,
[https://doi.org/10.1016/0165-3806\(92\)90109-A](https://doi.org/10.1016/0165-3806(92)90109-A).
 122. **Lala, P. K., Kennedy, T. G., & Parhar, R. S. (1988).** Suppression of lymphocyte alloreactivity by early gestational human decidua: II. Characterization of the suppressor mechanisms. *Cellular immunology*, 116(2), 411-422.
 123. **LaMarca, B. (2010).** The role of immune activation in contributing to vascular dysfunction and the pathophysiology of hypertension during preeclampsia. *Minerva ginecologica*, 62(2), 105.
 124. **Langmuir (2022)** monolayers studies on the relationship between the content of cholesterol in model erythrocyte membranes and the influence of β -sitosterol. | Sigma-Aldrich. (n.d.). <https://www.sigmaaldrich.com/DZ/fr/tech-docs/paper/1354819>
 125. **Laresgoiti-Servitje, E., Gómez-López, N., & Olson, D. M. (2010).** An immunological insight into the origins of pre-eclampsia. *Human reproduction update*, 16(5), 510-524.
 126. **Lebas F., Coudert P. H., de Rochambeau R.G., & Thébault., (1996)** .Le Lapin élevage et pathologie. Organisation des nations unies pour l'alimentation et L'agriculture. nouvelle version révisée. Rome, Italie. 52-53, 54,55.
 127. **Lebas. F, (2002).** Le jeune : de la conception au servage. *Cuniculture*, n°165, 29(3), 102110.
 128. **Lecomte, S., Demay, F., Ferrière, F., & Pakdel, F. (2017).** Phytochemicals Targeting Estrogen Receptors: Beneficial Rather Than Adverse Effects?. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1381.
doi:10.3390/ijms18071381

129. **Lee, Y. H., & Song, G. G. (2018).** Neutrophil-to-lymphocyte ratio, mean platelet volume and platelet-to-lymphocyte ratio in Behçet's disease and their correlation with disease activity: A meta-analysis. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 21(12), 2180–2187. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13404>
130. **Lekarev, O., & New, M. I. (2011).** Adrenal disease in pregnancy. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 25(6), 959–973. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2011.08.004>
131. **Leon, C., Grant, N. J., Aunis, D., & Langley, K. (1992).** Expression of cell adhesion molecules and catecholamine synthesizing enzymes in the developing rat adrenal gland. *Developmental brain research*, 70(1), 109-121.
132. **Leturque, P. Ferre, A. Burnol, J. Kande, P. Maulard, J. Girard (1986).** Glucose utilization rates and insulin sensitivity in vivo in tissues of virgin and pregnant rats. *Diabetes*. 35 172-177.
133. **Lindsay, J. R., & Nieman, L. K. (2005).** The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in pregnancy: Challenges in disease detection and treatment. In *Endocrine Reviews* (Vol. 26, Issue 6, pp. 775–799). <https://doi.org/10.1210/er.2004-0025>
134. **Liu, F., Chen, J., Shi, F., Wang, T., Watanabe, G., & Taya, K. (2012).** Phytosterol additive boosts adrenal response to ACTH in male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Endocrine*, 41(2), 338–341. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9590-y>
135. **Maclatchy, D. L & Vanderkraak, G. J. (1995).** The phytoestrogen β -sitosterol alters the reproductive endocrine status of goldfish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 134(2), 305-312. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041008X85711969>
136. **Magee, P. J., & Rowland, I. R. (2004).** Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *British Journal of Nutrition*, 91(4), 513–531. <https://doi.org/10.1079/BJN20031075>
137. **Malak, H. W. A., & Amin, M. A. (2018).** Original Article Protective Role of L-arginine on the Suprarenal Gland of Adult Male Albino Rats Subjected to Recurrent Acute Restraint Stress: A Histological and Immunohistochemical Study. *The Egyptian Journal of Anatomy*, 41(1), 156–171. <https://doi.org/10.21608/EJANA.2019.32651>
138. **Malendowicz LK (1994).** *Cytophysiology of the Mammalian Adrenal Cortex as Related to Sex, Gonadectomy and Gonadal Hormones*. PTPN Press, Poznan, pp1-23.
139. **Mannaerts, D., Heyvaert, S., De Cordt, C., Macken, C., Loos, C., & Jacquemyn, Y. (2019).** Are neutrophil/lymphocyte ratio (NLR),

platelet/lymphocyte ratio (PLR), and/or mean platelet volume (MPV) clinically useful as predictive parameters for preeclampsia? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 32(9), 1412–1419. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1410701>

140. **Marai, I. F. M., Habeeb, A. M., & Gad, A. E. (2004).** Reproductive traits of female rabbits as affected by heat stress and lighting regime under subtropical conditions of Egypt. *Animal Science*, 78(1), 119-127.
141. **Mauléon P (1969).** Oogenesis and folliculogenesis. In: *Reprod. Domest. Anim.*, Cole H.H., Cupps P.T., (Ed), Academic Press, New York, 187-215.
142. **Medina K.L., Smithson G., Kincade P.W (1993).** Suppression of B lymphopoiesis during normal pre- gnancy. *J. Exp. Med.*, , 178, 1507-1515.
143. **Meemak, T., Daduang, J., & Boonsiri, P. (2016).** Equol: a Phytoestrogen from Soy Bean: Its Roles in Health. *Ramathibodi Medical Journal*, 39(2), 132-141. <https://he02.tcithaijo.org/index.php/ramajournal/article/view/57629>
144. **Menad, R., Smaï, S., Bonnet, X., Gernigon-Spychalowicz, T., Moudilou, E., Khammar, F., & Exbrayat, J. M. (2017).** Seasonal variations of aromatase and estrogen receptors expression in the testis of free-ranging sand rats. *Acta Histochemica*, 119(4), 382–391. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2017.03.008>
145. **Miller, W. L., Flück, C. E., Breault, D. T., & Feldman, B. J. (2021).** The adrenal cortex and its disorders. *Sperling Pediatric Endocrinology (Fifth Edition)*. Pages 425-490. doi:10.1016/B978-0-323-62520-3.00014-2.
146. **Mizoguchi, Y., Matsuoka, T., Mizuguchi, H., Endoh, T., Kamata, R., Fukuda, K., Ishikawa, T., & Asano, Y. (2010).** Changes in blood parameters in New Zealand White rabbits during pregnancy. *Laboratory Animals*, 44(1), 33–39. <https://doi.org/10.1258/la.2009.008002>
147. **Moghadasian, M. H. (2000).** Pharmacological properties of plant sterols: in vivo and in vitro observations. *Life Sciences*, 67(6), 605-615. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12659166/>
148. **Monniaux D., Caraty A., Dalbies-Tran R., Dupont J., Fabre S., Mermillod P., & Monget P., (2009).** Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *Inra Prod. Anim.* 22, 59-76.
149. **Monniaux D., Huet C., Besnard N., Clément F., Bosc M., Pisselet C., Monget P., & Mariana, J.C., (1997).** Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, 51, 3-23.
150. **Monniaux, D., Caraty, A., Clément, F., Dalbiès-Tran, R., Dupont, J., Fabre, S., Gérard, N., Mermillod, P., Monget, P., & Uzbekova, S. (2009).** Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *Productions Animales*, 22(2), 59–76. <https://doi.org/10.20870/PRODUCTIONS-ANIMALES.2009.22.2.3335>

151. **Montoudis, A., Boileau, S., Simoneau, L., & Lafond, J. (2003).** Impact of an enriched-cholesterol diet on enzymatic cholesterol metabolism during rabbit gestation. *Life Sciences*, 73(11), 1463-1477
152. **Montoudis, A., Simoneau, L., & Lafond, J. (2004).** Influence of a maternal cholesterol-enriched diet on [1-14C]-linoleic acid and L-[4, 5-3H]-leucine entry in plasma of rabbit offspring. *Life sciences*, 74(14), 1751-1762.
153. **Morel, Y., Roucher, F., Plotton, I., Goursaud, C., Tardy, V., & Mallet, D. (2016).** Evolution of steroids during pregnancy: Maternal, placental and fetal synthesis. In *Annales d'endocrinologie* (Vol. 77, No. 2, pp. 82-89). Elsevier Masson.
154. **Morillo, E. (2006).** Origine de la diversité de plantes domestiquées par la reproduction végétative en Amérique du Sud: reproduction sexuée résiduelle et introgression d'espèces sauvages éloignées. Exemples de l'arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Banc., Apiaceae) et du manioc (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) (Doctoral dissertation, École nationale supérieure agronomique (Montpellier)).
155. **Mukinda, J. T., & Syce, J. A. (2007).** Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of ethnopharmacology*, 112(1), 138-144.
156. **Murad, N. A., & Al Abdula, M. A. H. (2012).** Histological study of the adrenal gland in the adult Iraqi local male rabbits. In *Journal of Vet.Med.Sci.* (Vol. 5, Issue 21).
157. **Mustonen, E., Taponen, S., Andersson, M., Sukura, A., Katila, T., & Taponen, J. (2014).** Fertility and growth of nulliparous ewes after feeding red clover silage with high phyto-oestrogen concentrations. *Animal*, 8(10), 1699–1705. <https://doi.org/10.1017/S175173111400161X>
158. **Nessman-emanuelli, C, 1983.** Development and structure of the placenta. *Archive d'anatomie et de cytologie pathologique* 31(2), 70-72, Europe PMC is an archive of life science journal literature.
159. **Nilsson, S., Makela, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G., ... & Gustafsson, J. Å. (2001).** Mechanisms of estrogen action. *Physiological reviews*, 81(4), 1535-1565.
160. **Oğlak, S. C., Tunç, Ş., & Ölmez, F. (2021).** First Trimester Mean Platelet Volume, Neutrophil to Lymphocyte Ratio, and Platelet to Lymphocyte Ratio Values Are Useful Markers for Predicting Preeclampsia. *Ochsner Journal*, 21(4), 364–370. <https://doi.org/10.31486/toj.21.0026>
161. **Omary, N., Akli, Y. D. A., Labrousse, F., & Bekkouche, F. H. (2011).** Influence de la streptozotocine sur l'axe corticotrope du rat Wistar (*Rattus*

- norvegicus) Influence of the streptozotocin on the corticotrope axis of the Wistar rat (*Rattus norvegicus*). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.
162. **Othmani-Mecif, K., & Benazzoug, Y. (2005).** Caractérisation de certains paramètres biochimiques plasmatiques et histologiques (tractus génital femelle) chez la population locale de lapin (*Oryctolagus cuniculus*) non gestante et au cours de la gestation. Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, 91-96.
 163. **Padbury J.F., Diakomanolis E.S., Lam R W., et al (1981).** Ontogenesis oftissue catecholamines in fetal and neonatal rabbits. *J. Dev. Physiol.*3 ,297 - 303.
 164. **Paniagua-Pérez, R., Madrigal-Bujaidar, E., Reyes-Cadena, S., Álvarez-González, I., Sánchez-Chapul, L., Pérez-Gallaga, J., Hernández, N., Flores-Mondragón, G., & Velasco, O. (2008).** Cell protection induced by beta-sitosterol: Inhibition of genotoxic damage, stimulation of lymphocyte production, and determination of its antioxidant capacity. *Archives of Toxicology*, 82(9), 615–622. <https://doi.org/10.1007/s00204-007-0277-3>
 165. **Parez. V, 1994.** Reproduction chez la lapine BULL G.T.V, n°4, 43-46. Parkes ; 1950).
 166. **Parkes, A.S, 1958.** Marshall's physiology of reproduction. Vol 2. London : longmans, Green & Co, p880.
 167. **Pasqualini, J. R. (2005).** Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 97(5), 401-415.
 168. **Pereira, S. S., Carvalho, L., Costa, M. M., Melo, A., Ferreira, I. M., Gomez-Sanchez, C. E., Monteiro, M. P., Vinson, G. & Pignatelli, D. (2021).** Mineralocorticoid Receptor Antagonists Eplerenone and Spironolactone Modify Adrenal Cortex Morphology and Physiology. *Biomedicines*, 9(4), 441. doi:10.3390/biomedicines9040441
 169. **Pignatti, E., & Flück, C. E. (2021).** Adrenal cortex development and related disorders leading to adrenal insufficiency. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 527, 111206. doi:10.1016/j.mce.2021.111206.
 170. **Poluzzi E, Piccinni C, Raschi E, Rampa A, Recanatini M, & De Ponti F (2014).** Phytoestrogens in postmenopause: the state of the art from a chemical, pharmacological and regulatory perspective. *Current Medicinal Chemistry*. 21(4), 417-436. doi:10.2174/09298673113206660297.
 171. **Professeur, S. A.-B. (2013).** Mémoire Par : M elle Samira AOUICHAT rongeur déserticole Gerbillus tarabuli.
 172. **Quezel, S. Santa. (1962)..**Centre National de la Recherche Scientifique Paris, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales,

173. **Ratnayake, W. M. N., L'Abbé, M. R., Mueller, R., Hayward, S., Plouffe, L., Hollywood, R., & Trick, K. (2000).** Vegetable oils high in phytosterols make erythrocytes less deformable and shorten the life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Journal of Nutrition*, 130(5), 1166–1178. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1166>
174. **Raviola, E., (1994).** Adrenal gland. In: Bloom and Fawcett, a Textbook of Histology (D. W. Fawcett ed). New York, London:Chapman& Hall, pp. 503–515.
175. **Reslan OM, Khalil RA, 2010.** Molecular And Vascular Targets in The Pathogenesis and Management of The Hypertension Associated With Preeclampsia. *Cardiovascular Hematol Agents Med Chem.* 8(4): 204–226.
176. **Romeo, R. D., Bellani, R., & McEwen, B. S. (2005).** Stress-induced progesterone secretion and progesterone receptor immunoreactivity in the paraventricular nucleus are modulated by pubertal development in male rats. *Stress*, 8(4), 265–271. <https://doi.org/10.1080/10253890500489320>
177. **Rosol, T. J., Yarrington, J. T., Latendresse, J & Capen, C. C. (2001).** Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. *Toxicologic Pathology*, 29(1), 41-48.
178. **Rovere-Querini P, Castiglioni MT, Sabbadini MG, et al (2007).** Signals of cell death and tissue turnover during physiological pregnancy, pre-eclampsia, and autoimmunity. *Autoimmunity* .40:290–4.
179. **Rugină, C., Mărginean, C. O., Meliț, L. E., Huțanu, A., Ghiga, D. V., Modi, V., & Mărginean, C. (2021).** Gestational obesity and subclinical inflammation. *Medicine*, 100(20), e26055. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000026055>
180. **RUNIC C., LOCKWOOD C.J., MAY., DIPASQUALE B (1996).** GULLER S. Expression of Fas ligant by human cytotro- phoblasts : implications in placentation and fetal survi- val. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 3119-3122.
181. **Russell AL, Grimes JM, Larco DO, Cruthirds DF, Westerfield J, Wooten L, Keil M, Weiser MJ, Landauer MR, & Handa RJ, Wu TJ. (2017).** The interaction of dietary isoflavones and estradiol replacement on behavior and brain-derived neurotrophic factor in the ovariectomized rat. *Neuroscience letters*, 640, 53-59. doi:10.1016/j.neulet.2017.01.011
182. **Saber A.S.M, 1993.** Anatomical and histological on the placenta of rabbit. *Assuit Vet.Med. J*, 28(56), 314.
183. **Sacco, S. (2016).** Rôle de la signalisation Rspodin dans le développement et l'homéostasie de la glande surrénale (Doctoral dissertation, Université Côte d'Azur).
184. **Salissard, M. (2013).** La lapine, une espèce à ovulation provoquée. Mécanismes et dysfonctionnement associé: la pseudo-gestation (Doctoral dissertation). 34-442.

185. **SALVETTI P (2008)** Production des embryons et cryoconservation des ovocytes chez la lapine : Application à la gestion des ressources génétiques. Thèse Universitaire Interdisciplinaire Sciences Sante, Claude Bernard Lyon 1, 179 p
186. **Sanders, H. Minter, D. Howes, P. Hepburn (2000)**. Safety Evaluation of Phytosterol Esters, Part 6. The Comparative Absorption and Tissue Distribution of Phytosterols in the Rat. *Food and Chemical Toxicology*. 38 485-491.
187. **Santiago, J. R., Nollo, M. S., Kinzler, W., & Santiago, T. V. (2001)**. Sleep and sleep disorders in pregnancy. In *Annals of Internal Medicine* (Vol. 134, Issue 5, pp. 396–408). American College of Physicians. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-134-5-200103060-00012>
188. **Sanyal M.K., Bami C.J., Bischof P., Simmons E., Barnea E.R., Dwyer J.M., Naftolin F (1989)**. Immunoregulatory activity in supernatants from cultures of normal human trophoblast cells of the first trimester. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 161, 446-453.
189. **Schoenwetter HP. (1968)**. Zur Vorgeschichte der Endokrinologie, Zuercher, Medizingeschichtliche Abhandlungen. 61.
190. **Schwertner, H. A., Torres, L., Jackson, W. G., Maldonado, H. A., Whitson, J. D., & Troxler, R. G. (1987)**. Cortisol and the hypercholesterolemia of pregnancy and labor. In *Atherosclerosis*.
191. **Schwertner, H. A., Troxler, R. G., Uhl, G. S., & Jackson, W. G. (1984)**. Relationship between cortisol and cholesterol in men with coronary artery disease and type A behavior. *Arteriosclerosis: An Official Journal of the American Heart Association, Inc.*, 4(1), 59-64.
192. **Scientific, E., Company, P., Brons, C., & Olieman, C. (1983)**. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam - CHROM. 15,553 Printed in The Netherlands. *Journal of Chromatography*, 259, 0–7.
193. **Shi, C., Liu, J., Wu, F., Zhu, X. M., Yew, D. T., & Xu, J. (2011)**. β -Sitosterol inhibits high cholesterol-induced platelet β -amyloid release. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 43(6), 691–697. <https://doi.org/10.1007/s10863-011-9383-2>
194. **Shutt, D. A., & Cox, R. I. (1972)**. Steroid and phyto-oestrogen binding to sheep uterine receptors in vitro. *The Journal of Endocrinology*, 52(2), 299–310. <https://doi.org/10.1677/JOE.0.0520299>
195. **Sousa, N. M., Figueiredo, J. R., El Amiri, B., Banga-Mboko, H., & Beckers, J. F. (2002)**. Influence potentielle des hormones et protéines synthétisées au cours de la gestation sur l'état immunitaire de la mère. *Annales de Medecine Veterinaire*, 146(2), 71–83.
196. **Stern, O. Kolterman, J. Fries, H. McDevitt, G. Reaven (1973)**. *Archives of Internal Medicine*.

197. **St-Jean, M., Bourdeau, I., & Lacroix, A. (2020).** Adrenal Cortex and Medulla Physiology during Pregnancy, Labor, and Puerperium. In *Maternal-Fetal and Neonatal Endocrinology*. Academic Press. 101-116
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128148235000088>
198. **Szekeres-Bartho J., Chaouat G., Kinsky R. A (1990a).** progesterone-induced blocking factor corrects high resorption rates in mice treated with antiprogestosterone. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, , 163, 1320-1322.
199. **Szekeres-Bartho J., Kinsky R., Chaouat G (1990b).** The effect of a progesterone-induced immunologic blocking factor on NK-mediated resorption. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 24, 105-107.
200. **Takata, H. Hirano (1997).** *Microscopy Research and Technique*. 38 145-152.
201. Taylor, C. R., & Levenson, R. M. (2006). Quantification of immunohistochemistry—issues concerning methods, utility and semiquantitative assessment II. *Histopathology*, 49(4), 411-424.
202. **Tevosian, S.G., Jiménez, E., Hatch, H.M., Jiang, T., Morse, D.A., Fox, S.C., and Padua, M.B. (2015).** Adrenal Development in Mice Requires GATA4 and GATA6 Transcription Factors. *Endocrinology* 156, 2503–2517.
203. **Thibault, C., & Levasseur, M. C. (2001).** *Reproduction in mammals and man*. INRA Editions.
204. **THIBAUT, C., ESCAFFRE, A.-M., GÉRARD, M., CORNU, C., & FONTAUBERT, Y. de. (1967).** Analyse comparée de la fécondation et de ses anomalies chez la brebis, la vache et la lapine. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*, 7(1), 5–23. <https://doi.org/10.1051/RND:19670101>
205. **Thibault. C ; Anne marie. E et al, 1967.** Analyse comparé de la fécondation et ses anomalies chez la brebis la vache et la lapine. *Annales de biologie animale biochimie. Biophysique*. 7(1) 5-23.
206. **TIRET L and LE FRANCOIS T. 2001.** *Physiologie de l'appareil reproducteur*. Polycopié. Ecole National Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie et Thérapeutique. 88p.
207. **Toptas, M., Asik, H., Kalyoncuoglu, M., Can, E., & Can, M. M. (2016).** Are Neutrophil/Lymphocyte Ratio and Platelet/Lymphocyte Ratio Predictors for Severity of Preeclampsia? *Journal of Clinical Gynecology and Obstetrics*, 5(1), 27–31. <https://doi.org/10.14740/JCGO.V5I1.389>
208. **Toyohira, Y., Ueno, S., Tsutsui, M., Itoh, H., Sakai, N., Saito, N., Takahashi, K., & Yanagihara, N. (2010).** Stimulatory effects of the soy phytoestrogen genistein on noradrenaline transporter and serotonin transporter activity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(4), 516-524.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20087855/>

209. **Trejter, M., Hochol, A., Tyczewska, M., Ziolkowska, A., Jopek, K., Szyszka, M., ... & Rucinski, M. (2015).** Sex-related gene expression profiles in the adrenal cortex in the mature rat: microarray analysis with emphasis on genes involved in steroidogenesis. *International journal of molecular medicine*, 35(3), 702-714.
210. **Trejter, M., Jopek, K., Celichowski, P., Tyczewska, M., Malendowicz, L. K., & Rucinski, M. (2015).** Expression of estrogen, estrogen related and androgen receptors in adrenal cortex of intact adult male and female rats. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 53(2), 133-144. <https://doi.org/10.5603/FHC.a2015.0012>
211. **Trinder P (1969).** Determination of blood glucose using an oxidase peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J Clin Pathol.* 22:158e161.
212. **Troxler, R. G., Sprague, E. A., Albanese, R. A., Fuchs, R., & Thompson, A. J. (1977).** The association of elevated plasma cortisol and early atherosclerosis as demonstrated by coronary angiography. *Atherosclerosis*, 26(2), 151-162.
213. **Tůma, J., Tůmová, E., & Valášek, V. (2010).** The effect of season and parity order on fertility of rabbit does and kit growth. *Czech Journal of Animal Science*, 55(8), 330-336.
214. **Val, P., Martinez-Barbera, J. P., & Swain, A. (2007).** Adrenal development is initiated by Cited2 and Wt1 through modulation of Sf-1 dosage.
215. **Van Lier, E., Meikle, A., Bielli, A., Åkerberg, 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(4), 373-387. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14652137/>
216. **Van Pelt, R. E., Gavin, K. M., & Kohrt, W. M. (2015).** Regulation of Body Composition and Bioenergetics by Estrogens. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 44(3), 663-676. doi:10.1016/j.ecl.2015.05.011
217. **Watts, H. E. (2020).** Seasonal regulation of behaviour: what role do hormone receptors play? *Proceedings. Biological sciences.* 287(1930), 20200722. doi:10.1098/rspb.2020.0722. Yaşar, P., Ayaz, G., User, S. D., Güpür, G., & Muyan, M. (2016). Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. *Reproductive Medicine and Biology*, 16(1), 4-20. doi:10.1002/rmb2.12006 Zatra, Y. (2008). Influence de la castration en période de reproduction sur l'activité du cortex surrénal chez la gerbille mâle (Doctoral dissertation), *usthb, Alger Algérie.* <https://repository.usthb.dz/handle/123456789/3018>
218. **Weed, R. I. (1970).** The importance of erythrocyte deformability. *Am. J. Med.* 49: 147-150.
219. **Xiccato, G., Trocino, A., Sartori, A., & Queaque, P. I. (2004).** Effect of parity order and litter weaning age on the performance and body energy balance of rabbit does. *Livestock Production Science*, 85(2-3), 239-251.

220. **Yamaguchi, T., Manaka, C., Ogura, A., & Nagadome, S. (2021)**. Importance of Cholesterol Side Chain in the Membrane Stability of Human Erythrocytes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 44(6), 888-893.
221. **Yavuzcan, A., Caglar, M., Ustun, Y., Dilbaz, S., Yidiz, E., Ozbilgec, S., Kumru, S., & Ozdemir, I. (2014)**. Mean Platelet Volume, Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Platelet-Lymphocyte Ratio in Severe Preeclampsia. *Polish Gynaecology*, 85(3), 197–203. <https://doi.org/10.17772/gp/1713>
222. **Zatra, Y. (2008)**. Influence de la castration, en période de reproduction, sur l'activité du cortex surrénal chez la gerbille male (Doctoral dissertation, Alger).
223. **Zerrouki, N., Kadi, S. A., Berchiche, M., & Bolet, G. (2005)**. Evaluation de la productivité des lapines d'une population locale algérienne, en station expérimentale et dans des élevages. In 11èmes Journées de la Recherche Cunicole.

En ligne :

Rose Thibaut, Grégoire Vincke, Eric Depiereux, Martine Raes Atlas d'histologie humaine et animale. <http://webapps.unamur.be/umdb/histohuma>

Gilles Furelaud, Nabila Devos, Amélie Sabouret (2010) Editeur(s) : BioMedia-UPMC université paris –VI. <http://medicine.ucsd.edu/CPA/rabbit.html>

FURELAUD G, CALVINO B. Rappel : l'axe hypothalamo-hypophysaire <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/cybernetique/03homme>

Lebas F, Biologie de lapin <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm>

Theau-Clément M et Coisne F (2009). Reproduction et physiologie de la reproduction : Maîtrise de la reproduction de la lapine. In Journée d'étude ASFC « Vérone - Ombres & Lumières » Nantes. <http://www.asfc-lapin.com/Docs/Activite/Ombres&lumi-01.htm#verone>

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet de l'extrait organique des racines de *Bunium incrassatum* sur quelques paramètres sanguins et histomorphométriques de la glande surrénale ainsi que l'immuno expression des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone.

Le travail a été effectué sur vingt-quatre lapines de la population locale pendant le dernier tiers de la gestation. Les animaux ont été divisés en quatre groupes :

- G1, G2 et G3 qui ont reçu, quotidiennement et respectivement les doses 50, 100 et 200 mg/kg/jour.
- G4 avec dose 0 mg/kg/jour a été pris comme témoin C.

Après traitement, les lapines ont été sacrifiées, les surrénales ont été prélevées, fixées dans le formol à 10 % et colorées à hématoxyline éosine. Pour l'étude immuno histo chimique, des anticorps monoclonaux de souris ont été utilisés pour déterminer la présence et l'immuno expression des récepteurs ER et PR au niveau de la glande surrénale. Le sang a été recueilli dans des tubes héparines et EDTA pour le dosage des paramètres sanguins.

Les résultats obtenus, ont montré des différences significatives entre les variations des concentrations plasmatiques : cortisol, progestérone, œstradiol, glucose, cholestérol, les lymphocytes, les hématies, l'hémoglobine et le CCMH entre les groupes traités et le groupe témoin. L'étude histologique a démontré des changements dans la structure et l'épaisseur des différentes zones corticosurrénaliennes. L'étude immunohisto chimique indique une plus forte expression immunitaire des récepteurs ER et PR chez les groupes traités avec 50 et 100 mg/kg/jour par rapport au groupe traité avec 200 mg/kg/jour et groupe témoin.

En conclusion, les composants du *B. incrassatum* peuvent, à des doses spécifiques, avoir un effet positif sur certains paramètres sanguins à savoir le cortisol, la progestérone, la glycémie et les indices érythrocytaires. Mais à des doses plus élevées (200 mg/kg/j), elle a des effets délétères. L'extrait organique des racines de *B. incrassatum* a affecté aussi la construction histologique de la glande surrénale, en modifiant l'épaisseur des couches. La présence des récepteurs ER et PR dans le cortex surrénalien, indique que les stéroïdes sexuels ont un effet direct sur la fonction surrénalienne chez les lapines gestantes.

Mots clés : Lapine, Glande surrénale, *Bunium incrassatum*, Gestation, Paramètres sanguins, Zone Fasciculée, Réticulée, Récepteurs ER et PR.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير المستخلص العضوي لجذور التالغودة *Bunium incrassatum* على بعض معايير الدم وهيستومورفومترية الغدة الكظرية، أيضا على الهستوكيمياء المناعية لمستقبلات هرموني الاستروجين والبروجسترون. تم تنفيذ العمل على أربعة وعشرين أرنباً من السلالة المحلية، خلال الثلث الأخير من الحمل. تم تقسيم الحيوانات إلى أربع مجموعات:

G1 و G2 و G3 الذين تلقوا جرعات 50 و 100 و 200 ملغم / كجم / يوم على التوالي يومياً.

تم أخذ G4 بالجرعة 0 ملغم / كجم / يوم كشاهد C.

بعد العلاج، بعد ذبح الأرانب، تمت إزالة الغدة الكظرية، وتثبيتها في فورمالين 10٪ وتلوينها بالهيماتوكسيلين والأيوزين. بالنسبة لدراسة الهستوكيمياء المناعية، تم استخدام الأجسام المضادة وحيدة النسيلة للفأر لتحديد وجود المستقبلات المناعية لـ

ER و PR في الغدة الكظرية. تم جمع الدم في أنابيب هيبارين و EDTA لفحص المعايير الدموية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود فروق معنوية بين مختلف التركيزات البلازمية: الكورتيزول، البروجسترون، الاستراديول، الجلوكوز، الكوليسترول، الخلايا الليمفاوية، خلايا الدم الحمراء، الهيموجلوبين و CCMH بين المجموعات المعالجة والمجموعة الشاهد. أظهرت الدراسة النسيجية تغيرات في بنية وسمك طبقات قشرة الغدة الكظرية المختلفة. تشير دراسة الهستوكيمياء المناعية إلى وجود تعبير مناعي أقوى لمستقبلات ER و PR في المجموعات المعالجة بـ 50 و 100 مجم / كجم / يوم مقارنة بالمجموعة المعالجة بـ 200 مجم / كجم / يوم والمجموعة الشاهد.

ومنه نستنتج انه يمكن لمكونات *B. incrassatum* بجرعات معينة، أن يكون لها تأثير إيجابي على بعض معايير الدم، مثل الكورتيزول والبروجسترون وسكر الدم ومؤشرات كرات الدم الحمراء. ولكن بجرعات أعلى (200 مجم / كجم / يوم) يكون لها تأثيرات ضارة. أثر أيضاً المستخلص العضوي لجذور *B. incrassatum* على التركيب النسيجي للغدة الكظرية، مما أدى إلى تغيير سمك الطبقات. يشير وجود مستقبلات ER و PR في قشرة الغدة الكظرية إلى أن الهرمونات الجنسية لها تأثير مباشر على وظيفة الغدة الكظرية للأرانب في فترة الحمل.

الكلمات المفتاحية: أرنب، الغدة الكظرية، *B. incrassatum*، حمل، معايير الدم، منطقة الحزمية، الشبكية، مستقبلات

ER و PR.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the effect of the organic extract of *Bunium incrassatum* roots on some blood and histomorphometric parameters of the adrenal gland as well as the immunoexpression of estrogen and progesterone receptors.

The work was carried out on twenty-four rabbits from the local population during the last third of gestation. The animals were divided into four groups:

- G1, G2 and G3 who received doses of 50, 100 and 200 mg/kg/day respectively.
- G4 with dose 0 mg/kg/day was taken as control C.

After treatment, the rabbits were sacrificed; the adrenal glands were removed, fixed in formalin 10% and stained with hematoxylin eosin. For the immunohistochemical study, mouse monoclonal antibodies were used to determine the presence and immunoexpression of ER and PR in the adrenal gland. The blood was collected in heparin and EDTA tubes for the dosage of blood parameters.

The results obtained showed significant differences between the various plasma concentrations: cortisol, progesterone, estradiol, glucose, cholesterol, lymphocytes, red blood cells, hemoglobin and CCMH between the treated groups and the control group. The histological study demonstrated changes in the structure and thickness of the different adrenocortical zones. The immunohistochemical study indicates a stronger immune expression of the ER and PR receptors in the groups treated with 50 and 100 mg/kg/day compared to the group treated with 200 mg/kg/day and the control group.

In conclusion, the components of *B. incrassatum* can have, at specific doses, a positive effect on certain blood parameters, namely cortisol, progesterone, blood sugar and erythrocyte indices. But at higher doses (200 mg/kg/d), they have deleterious effects. The organic extract from the roots of *B. incrassatum* also affected the histological construction of the adrenal gland, modifying the thickness of the layers. The presence of ER and PR receptors in the adrenal cortex indicates that sex steroids have a direct effect on adrenal function in pregnant rabbits.

Key words: Rabbit, Adrenal gland, *Bunium incrassatum*, pregnant, Blood parameters, Fasciculate Zone, Reticulate, ER and PR receptors.