

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de

Master en Sciences Biologiques

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

THEME

**Impact du Voliam Targo® sur les aspects
structuro-fonctionnels
de la glande surrénale chez le lapin.
Etude histo-morphométrique.**

Réalisé par :

IRID Kahina

LARBI Sadia

Membres du jury :

Mr KHEDDACHE A.

Maître de conférences B

Président

Mme BENABDESSELAM R.

Professeur

Promotrice

Melle BENAMARA L.

Doctorante

Co-promotrice

Mme GUENDOUZI S.

Maître assistante A

Examinatrice

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre reconnaissance et gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à élaborer ce modeste travail.

Tout d'abord, nous remercions profondément et sincèrement notre promotrice **Mme BENABDESSELAM R.** qui nous a honorées d'avoir accepté de diriger ce travail, de nous avoir enrichi de son savoir, ses conseils et surtout sa sagesse, et grâce à qui on a pu aboutir à ce travail.

Nous tenons à remercier tout particulièrement notre co-promotrice **Melle BENAMARA L.** pour sa grande disponibilité et son aide tout au long de ce travail.

On remercie également les membres du jury :

Mr KHEDDACHE A. de nous avoir fait l'honneur de présider le jury et pour l'intérêt et la considération qu'il a apporté à notre travail.

Mme GUENDOUI S. d'avoir accepté de faire partie de notre jury et de participer à l'évaluation de notre travail.

Nous exprimons aussi notre gratitude à **Mr BOUHADOUNE** de nous avoir reçu dans son élevage cunicole à Tigzirt, de nous avoir permis de réaliser notre expérimentation.

Un merci sincère et particulier à tout le personnel du **laboratoire d'anatomopathologique du CHU** de Tizi Ouzou, de nous avoir soutenus et surtout de nous avoir facilité la réalisation de notre travail, particulièrement **Meriem** et **Dr HADADIN.**

Nous voulons aussi remercier les doctorantes de l'USTHB pour leur aide, **Ikram** et **Zineb** et toute personne qui a pu nous orienter.

Dédicaces

***Je dédie ce travail tout d'abord à mon père et
à toute personne qui a pu m'aider,
m'encouragé, soutenu d'une manière ou d'une
autre pendant toute cette période.***

Les vrais vont se reconnaître toujours.

***Et enfin à moi-même d'avoir fini ce mini
parcours.***

Work Hard, Stay Humble.

AHLEM L.S.

Dédicaces

Je dédie set humble travail tout d'abord à mes parents, pour la qualité de l'éducation qu'ils m'ont conférée et les vertus qu'ils ont cherché à développer en moi. Je leur exprime ici toute mon affection, tout mon amour et toute ma gratitude pour m'avoir encouragé et soutenu tout au long de mes études, et aujourd'hui encore. Qu'ils voient en ce travail l'aboutissement de leurs efforts.

A mes sœurs, pour leurs présences, leurs soutiens, et tous les instants inoubliables passés ensemble.

A mes frères pour tous les moments de bonheur qu'ils nous apportent.

A tous mes amis, particulièrement pour les instants de joie partagés en leur compagnie, leur gentillesse et tous les sentiments qu'ils me témoignent. Qu'ils soient assurés de toute ma reconnaissance et de mon amitié la plus sincère.

Et enfin à tous ceux qui m'ont entourée tout au long de ces études et sans qui mon parcours n'aurait pas été le même.

Kahina.I

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer la toxicité sub-chronique d'un pesticide sur les glandes surrénales des lapins. Le Voliam Targo 063SCe ®, l'insecticide est utilisé pour le traitement des lapins. C'est un produit nouvellement introduit en Algérie, composé de deux principes actifs qui agissent en synergie : le chlorantraniliprole et l'abamectine.

21 lapins mâles adultes de souche synthétique (INRA2666) provenant de l'élevage cunicole « Algérie Lapins » à Tizirt, ont été répartis en deux lots : témoins et traités. On a administré 1ml d'eau distillée aux témoins, et les traités ont reçu une dose de 4mg/kg/pc du VT® dilué dans 1ml d'eau distillée par voie orale, pendant une durée de 92 jours. Les animaux ont été sacrifiés par saignée, ensuite on a prélevé les organes qui ont été fixés au formol 4% et traités pour réaliser des coupes histologiques traitées par le logiciel Axio Vision Rel. 4.8 pour une étude histo-morphométrique.

L'évaluation du poids corporel et celui des organes, ainsi que leurs mensurations n'a révélé aucun changement due au traitement. Sur le plan histo-morphométrique, seule l'épaisseur de la zone glomérulée de la surrénale gauche a diminué chez les traités. Concernant les surfaces cellulaire et nucléaire de la zone réticulée, les valeurs ont diminué chez les traités. Par contre ces paramètres n'ont pas été altéré dans les zones glomérulée et fasciculée. Des changements structuraux aussi ont été révélés, dont une vacuolisation cytoplasmique et dégénérescence cellulaire dans la zone glomérulée, rétrécissement cellulaire et nucléaire au niveau de la zone fasciculée. La médullosurrénale a manifesté une hypertrophie des cellules et une dilatation capillaire. D'autres lésions ont été observées : une hémorragie nécrotique, une invasion médullaire et une invasion capsulaire.

Mots clés : glande surrénale, Voliam Targo®, abamectine, chlorantraniliprole, histo-morphométrie, lapins, souche synthétique.

Abstract

The objective of our study is to evaluate the subchronic toxicity of a pesticide on the adrenal glands of rabbits. Voliam Targo 063SCe ® is the insecticide used for the treatment of rabbits. It is a new product introduced in Algeria, composed of two active ingredients which act in synergy: chlorantraniliprole and abamectin.

21 adult male rabbits of synthetic strain (INRA2666) coming from the rabbit farm "Algerie Lapin" in Tizirt, were divided into two batches: controls and treated. Controls were administered with 1 ml of distilled water, and the treated received a dose of 4 mg / kg / bw of VT® diluted in 1 ml of distilled water orally, for a period of 92 days. The animals were sacrificed by bleeding, then on a sample of the organs which were fixed with 4% formalin and treated to make histological sections transformed by the Axio Vision Rel software. 4.8 for a histo-morphometric study.

Evaluation of body and organ weights, as well as their measurements, did not reveal any changes due to treatment.

Histo-morphometrically, only the thickness of the glomerular zone of the left adrenal gland decreased in the treated. Concerning the cellular and nuclear surfaces of the reticulated zone, the values decreased in the treated. On the other hand, these parameters were not altered in the glomerular and fasciculated areas. Structural changes were also revealed, including cytoplasmic vacuolation and cell degeneration in the glomerular area, cellular and nuclear narrowing in the fasciculate area. The adrenal medulla has been defined as cell enlargement and capillary dilation. Other lesions were observed: necrotic hemorrhage, medullary and capsular invasion.

Key words: Adrenal glands, Voliam Targo®, abamectin, chlorantraniliprole, rabbit, synthetic strain, histo-morphometry.

Listes des figures

Figure 1 : Structure de l'abamectine.....	06
Figure 2 : Mécanisme d'action des avermectines.	08
Figure 3 : Structure chimique de la chlorantraniliprole	10
Figure 4 : Mécanisme d'action du chlorantraniliprole	11
Figure 5 : Zonation du cortex surrénalien.....	12
Figure 6 : L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.....	14
Figure 7 : Schéma de la stéroïdogénèse du cortex surrénalien adulte humain	15
Figure 8 : Diagramme schématique démontrant l'interaction réciproque entre les axes HHC et HHG.....	16
Figure 9 : Image d'un lapin de souche synthétique.....	18
Figure 10 : Lapin après dépouillement	20
Figure 11 : Ouverture de l'abdomen.....	20
Figure 12 : Position des glandes surrénales	21
Figure 13 : Les glandes surrénales droite et gauche après.....	21
Figure 14 : La surrénale gauche après fixation par le formol.....	22
Figure 15 : Appareil circulatoire de déshydratation et imprégnation Leica....	23
Figure 16 : L'enrobage par la paraffine des glandes.....	23
Figure 17 : Mise en place du tissu sur une lame.....	24
Figure 18 : Etuve pour le déparaffinage.....	24
Figure 19 : Dispositif Leica de réhydratation et coloration.....	25
Figure 20 : Poids corporels moyens des deux lots.	28
Figure 21 : Poids des glandes surrénales gauches et droites prélevées de lapins témoins et ceux traités au Voliam Targo®	29
Figure 22 : Poids des glandes surrénales des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux lapins témoins.	29

Figure 23 : Mensurations de la glande surrénale des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	30
Figure 24 : L'épaisseur de la capsule de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	32
Figure 25 : L'épaisseur de la capsule (Moyenne des deux côtés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins	32
Figure 26: L'épaisseur du cortex et médulla droite et gauche chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	33
Figure 27 : Epaisseurs du cortex et médulla de la surrénale droite et gauche chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	34
Figure 28 : L'épaisseur du cortex et de la médulla des surrénales droite et gauche chez les lapins témoins et traités au Voliam Targo®.....	34
Figure 29 : L'épaisseur de la zone glomérulée de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	35
Figure 30 : Epaisseur de la zone glomérulée (Moyenne des deux côtés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	35
Figure 31 : L'épaisseur de la zone fasciculée de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	36
Figure 32 : Epaisseur de la zone fasciculée (Moyenne des deux côtés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	36
Figure 33 : L'épaisseur de la zone réticulée de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	37
Figure 34 : Epaisseur de la zone réticulée (Moyenne des deux cotés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	37
Figure 35 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	39
Figure 36 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	40
Figure 37 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	40
Figure 38 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	41

Figure 39 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	41
Figure 40 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	42
Figure 41 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	42
Figure 42 : Le rapport nucléo-cytoplasmique de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	43
Figure 43 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	43
Figure 44 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	45
Figure 45 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	46
Figure 46 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	46
Figure 47 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	47
Figure 48 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	47
Figure 49 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	48
Figure 50 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	48

Figure 51 : Le rapport nucléo-cytoplasmique de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	49
Figure 52 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	49
Figure 53 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone réticulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	51
Figure 54 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	52
Figure 55 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	53
Figure 56 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	53
Figure 57 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	54
Figure 58 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	54
Figure 59 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.	55
Figure 60 : Le rapport nucléo-cytoplasmique de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	55
Figure 61 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.....	56

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des pesticides selon la famille chimique et la cible.....	04
Tableau 2 : Matériel du sacrifice et matériels histologiques.....	19
Tableau 3 : Les valeurs moyennes des zones corticales et médullaires de la surrénale droite et gauche.	32

Listes des planches

Planche 1 : Histologie de la glande surrénale chez les lapins mâles témoins (A) et traités (B) par le Voliam Targo®.....	31
Planche 2 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez les lapins mâles adultes témoins (a, b, c) et traités (a', b', c') par le Voliam Targo®	38
Planche 3 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez les lapins mâles adultes témoins (a, b, c) et traités (a', b', c') par le Voliam Targo®.....	44
Planche 4 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez les lapins mâles adultes témoins (a, b, c) et traités (a', b', c') par le Voliam Targo®.....	50
Planche 5 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles témoins et traités par le Voliam Targo ® montrant <i>une section d'un nodule</i> accessoire surrénalien.....	58
Planche 6 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles traités montrant une désorganisation tissulaire et un tissu nécrotique	59
Planche 7 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant une invasion capsulaire	60
Planche 8 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant une invasion	62
Planche 9 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant une dégénérescence vacuolaire.....	63
Planche 10 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant un tissu nécro-hémorragique.....	64

Liste des abréviations

ACTH: hormone corticotrope hypophysaire ou adrénocorticotrophine

AVP: Vasopressine

CRH: Cortico Releasing Hormone

DHEA: déhydroépiandrostérone

DHEAS: déhydroépiandrostérone sulfate

FXR : Récepteur farnésoïde

Gaba : l'acide gamma amino butyrique

GnRH: Gonado Releasing Hormone

HHS: Hypothalamo-hpophyso-surrénalien

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

P.c: Poids corporel

PE: Perturbateur endocrinien

P-gp : Glycoprotéine de perméabilité

RNC : Rapport nucléocytoplasmique

RyR: Recepteurs à Ryanodine

VT: Voliam Targo®

ZF: Zone fasciculée

ZG: Zone Glomérulée

ZR: Zone réticulée

Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures et tableaux et planches	
Sommaire	

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Introduction	01
I. Les pesticides	03
1. Définition	03
2. Utilisation	03
3. Classes des pesticides	03
4. Exposition et effets des pesticides	03
4.1. Exposition	03
4.2. Effets	04
5. Toxicité	05
5.1. Toxicité aiguë	05
5.2. Toxicité chronique	05
6. Perturbateurs endocrinien	05
II. Le Voliam Targo®	06
1. Définition	06
2. Utilisation	06
3. Abamectine	06
3.1. Caractéristiques et structure	06
3.2. Toxicocinétique	07
3.3. Mode d'action	07
3.4. Toxicité	08
3.5. Devenir dans l'environnement	09
4. Chlorantraniliprole	09
4.1. Structure	09
4.2. Toxicocinétique	10
4.3. Mode d'action	10
4.4. Toxicité	11
4.5. Devenir dans l'environnement	11
III. Les glandes surrénales	11
1. Embryogenèse	11
2. Anatomie	12
2.1. Vascularisation et innervation	12

3. Histologie	12
4. Physiologie.....	13
4.1. Axe corticotrope.....	13
4.2. Biochimie des hormones corticosurrénales.....	14
4.3. Interaction de la glande surrénale avec la reproduction.....	15

Chapitre II : Etude expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	17
1. Matériel.....	17
1.1. Matériel biologique.....	17
1.1.1. Modèle animal.....	17
1.2. Matériel non biologique.....	18
2. Protocole expérimental.....	18
2.1. Traitement des animaux.....	18
2.2. Prélèvement de l'organe.....	19
3. Technique histologique.....	21
3.1. Fixation des échantillons.....	22
3.2. Déshydratation, éclaircissement et imprégnation.....	22
3.3. Enrobage des échantillons.....	23
3.4. Réalisation des coupes histologiques.....	24
3.5. Déparaffinage.....	24
3.6. Réhydratation et coloration des coupes.....	25
3.7. Montage de lamelles.....	26
3.8. Observation des lames.....	26
4. Etude histo-morphométrique.....	26
5. Etude statistique.....	26
II. Résultats	28
1. Résultats macroscopiques.....	28
1.1. Poids corporel des lapins au sacrifice.....	28
1.2. Poids des glandes surrénales.....	28
1.3. Mensurations des surrénales.....	29
2. Résultats microscopiques : Paramètres histo-morphométriques...30	
2.1. Histologie de la glande surrénale	30
2.2. Epaisseurs des différentes zones de la surrénale.....	30
2.2.1. Epaisseur de la capsule.....	30
2.2.2. Epaisseur de la corticale et médullaire.....	32
2.2.3. Epaisseur des zones corticales.....	34

2.2.3.1.	La zone glomérulée.....	34
2.2.3.2.	La zone fasciculée.....	35
2.2.3.3.	La zone réticulée.....	36
2.3.	Caractéristiques histologiques et cytologiques des différentes zones avant et après le traitement avec le Voliam Targo®...37	
2.3.1.	Zone glomérulée.....	37
2.3.1.1.	Aspect histologique de la zone glomérulée des lapins témoins et traités avec le VoliamTargo®....	37
2.3.1.2.	Données morphométriques.....	39
2.3.2.	Zone fasciculée.....	43
2.3.2.1.	Aspect histologique de la zone fasciculée des lapins témoins et traités avec le Voliam Targo®...43	
2.3.2.2.	Données morphométriques	45
2.3.3.	Zone réticulée.....	49
2.3.3.1.	Aspect histologique de la zone réticulée des lapins témoins et traités avec le Voliam Targo®.....	49
2.3.3.2.	Données morphométriques.....	51
2.4.	Lésions surrenaliennes à caractère « pathologique ».....	56
2.4.1.	Les nodules corticaux accessoires surrenaliens chez les témoins et traités au VT	56
2.4.2.	Lésions histologiques de la surrenale chez les traités au VT	56
2.4.2.1.	Désorganisation de la structure du cortex surrenalien.....	57
2.4.2.2.	Invasion capsulaire.....	57
2.4.2.3.	Hyperplasie médullaire.....	61
2.4.2.4.	Dégénérescence vacuolaire.....	61
2.4.2.5.	Hémorragie et nécrose tissulaire.....	61

III. Discussion	65
------------------------------	-----------

Conclusion	71
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Introduction

Introduction

L'utilisation intensive des pesticides conduit à leur dissémination dans tous les milieux de l'environnement. Parmi ces pesticides, nombreux sont non dégradables, ils persistent dans le sol, s'infiltrant dans les eaux souterraines et de surface et contaminent les aliments. De plus, en fonction de leurs propriétés chimiques, les pesticides sont susceptibles d'être progressivement bio-accumulés tout au long de la chaîne alimentaire, voir même dans différentes matrices biologiques animales et humaines : sang, liquide céphalorachidien, urine ; jusqu'à atteindre les organes dits nobles et vitaux pour l'organisme (Ali *et al.*, 2000 ; Rubersam *et al.* 2013. Zheng *et al.*, 2020).

Les pesticides n'ont pas tous le même degré de nuisance. Une forte exposition à un pesticide de très faible toxicité n'a généralement que peu de conséquences nocives pour l'organisme (Samuel et Saint-Laurent, 2001). Par contre, une exposition à de nombreux pesticides, utilisés ensemble ou séparément au fil du temps, peuvent entraîner des conséquences inopinées pour la santé des populations animales et humaine. La connaissance de la façon dont les molécules peuvent interagir entre elles et produire des effets sur les fonctions d'un organisme est nécessaire afin d'évaluer scientifiquement les risques des pesticides pour lesquels les expositions cumulatives sont probables (Moser *et al.*, 2006).

Au cours de ces dernières années, des preuves scientifiques ont établi des liens entre l'exposition aux pesticides et les troubles de certaines fonctions : neurologique, hépatique, rénale, respiratoire, de reproduction (Pereira *et al.*, 2015 ; Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016 ; Kalyabina *et al.*, 2021)

Le Voliam Targo 063SCe ® (VT) est un nouvel insecticide et acaricide, à large spectre, commercialisé en Algérie depuis 2011 (ACTA, 2013). Il est composé d'un mélange de deux pesticides, abamectine et chlorantraniliprole, appartenant à deux familles chimiques différentes : les avermectines et les chlorantraniliprole, respectivement. La synergie de deux principes actifs offre une meilleure efficacité au VT chez les insecticides en agissant sur les récepteurs de la ryanodine et les canaux chlorures. Le VT est efficace sur plusieurs insectes et acariens nuisibles des fruits et légumes, comme la tomate, le pommier...etc (Diao-Fleischer *et al.*, 2016).

Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude dont l'objectif est d'évaluer l'effet subchronique et cumulatif des deux composants du Voliam Targo® sur la glande surrénale des lapins mâles d'une souche synthétique.

Les glandes surrénales sont les organes à fonction endocrine. Elles sont impliquées dans plusieurs processus physiologiques et produisent diverses hormones stéroïdiennes, dont les glucocorticoïdes, les minéralocorticoïdes, ainsi que les androgènes qui interviennent dans le développement sexuel et la reproduction en général. Les deux axes : hypothalamo-antéhypophyso-surrénalien et hypothalamo-antéhypophyso-gonadique, présentent de ce fait des interactions.

Afin d'examiner et d'estimer l'impact d'un apport subchronique de VT sur la fonction des surrénales, nous avons abordé notre présente étude par une approche histo-morphométrique.

Notre manuscrit est composé de deux chapitres : un premier où sont présentées les données de la littérature sur les pesticides, tout particulièrement, le Voliam Targo® et sur les glandes surrénales, leur fonction, et leurs liens avec la reproduction ; le second chapitre est consacré à l'étude expérimentale.

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I/ Les pesticides

1. Définition

Selon l'OMS (2018), un pesticide est défini comme toute substance ou association de substances chimiques ou biologiques qui est destinés à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles ou à être utilisée comme régulateur de croissances des plantes.

Il est bien établi que certains pesticides sont plus dangereux que d'autres. En effets, cela se reflète dans la Classification recommandée par l'OMS des pesticides par danger, publiée pour la première fois en 1975.

Parce que les pesticides sont des substances chimiques toxiques et donc dangereuses, l'ordre publique exige que la loi détermine des procédures d'approbation.

En Algérie, la promulgation de la loi n°87-17 du 01/08/1889, relative à la protection phytosanitaire a permis d'établir (édicter) les mesures relatives à la fabrication, l'étiquetage, l'entreposage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des produits phytosanitaires à usage agricole.

2. Utilisation

Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activités pour lutter contre des organismes vivants nuisibles. La disponibilité et l'utilisation des pesticides sont encadrées par des réglementations, la question du risque demeure présente (Baldi et al., 2013).

Réglementairement, on distingue quatre types de pesticides selon l'utilisation : les produits phytopharmaceutiques pour la production et la conservation des cultures agricoles, les biocides pour la conservation de matériaux et la désinfection des locaux contre les moisissures, les médicaments et produits à usage humain, ainsi que ceux à usage vétérinaire pour la lutte contre les parasites et les vecteurs de maladies (Ayad-Moukhtari, 2012).

3. Classes de pesticides

Il existe plusieurs classifications des pesticides. Ces derniers sont classés soit en fonction de l'organisme vivant visé (insecticides, herbicides, fongicides, raticides, acaricides, larvicides etc.), de la nature chimique de la substance (tableau 1), du domaine d'utilisation ou du danger et la gravité des risques engendrés sur la santé ainsi que sur l'environnement.

4. Exposition et effets des pesticides

4.1. Exposition

L'utilisation des pesticides engendre des risques de contaminations chimiques de l'air, de l'eau et du sol qui peuvent avoir des conséquences toxicologiques pour l'homme et écotoxicologiques pour les organismes vivants autres que l'homme (Mamy L. et al., 2008).

Il peut s'agir d'expositions professionnelles ou environnementales, les substances pénètrent dans l'organisme selon trois voies : la voie cutanée, la voie digestive (ou orale) et la voie respiratoire (Baldi *et al.*, 2013).

Tableau 1 : Classification des pesticides selon la famille chimique et la cible. (Boland *et al.*, 2004).

Famille chimique	Exemples de molécules	Classement selon cible
Organochlorés	DDT, Chlordane, Lindane, Dieldrine, Heptachlore	Insecticides
Organophosphorés	Malathion, Paathion, Chlorpyrifosa, Diazinon.	Insecticides
Carbamates	Aldicarbe, Carbaryl, Carbofuran, Méthomy.	Insecticides
	Asulame, Diallate, Terbucarbe, Triallate.	Herbicides
	Benthivalicarbe	Fongicides
Pyréthrinoïdes	Perméthrine	Insecticides
Lactones macrocycliques	Abamectine, Doramectine, Ivermectine.	Insecticides
Anthranilamides	Chlorantraniliprole, Rynaxypyr...	Insecticides

4.2. Effets

Les risques de nuisance d'un pesticide ou de leurs métabolites dépendent de plusieurs facteurs comme leurs propriétés toxiques à court ou long terme, leur persistance et mobilité dans les systèmes et leur aptitude à former certaines combinaisons toxiques avec les autres substances chimiques. Aussi, on doit tenir compte des autres propriétés, comme la volatilité, la possibilité d'accumulation, la dégradation, et la potentialité catalytique des pesticides (Vettorazzi et Radaelli-Benbenuti, 1982).

Parmi d'autres facteurs : le mode de pénétration, la nature de la formulation (solide, liquide ou gaz), les moyens d'applications et d'emploi (pulvérisation, dispersion, etc.) (Periquet, 1986).

D'une part, l'exposition aux pesticides affecte négativement le système cardiovasculaire, le système nerveux ; certains pesticides couramment utilisés ont été associé à un neuro-développement anormal chez les enfants et que les facteurs environnementaux peuvent contribuer fortement à ce risque (Bouchard *et al.*, 2011 ; Janie Shelton *et al.*, 2014), le système respiratoire et une fonction pulmonaire réduite, ainsi que des maladies de la peau (George et Shukla, 2011).

D'autre part, plusieurs pesticides sont avérés des perturbateurs endocriniens (PE) ou fortement suspectés, le fœtus et le jeune enfant sont les plus menacés par ces substances (Génération Futures, 2014).

5. Toxicité

Des pesticides peuvent être considérés comme extrêmement dangereux s'ils présentent des niveaux particulièrement élevés de risques aigus ou chroniques pour la santé humaine ou pour l'environnement (OMS, 2018).

Le risque d'intoxication pour l'homme résulte à la fois du danger lié à la toxicité de la substance active (toxicité aiguë et chronique), et de l'exposition au pesticide (dose journalière absorbée). Donc on détermine deux types de toxicité (Batsch D., 2011).

5.1. Toxicité aiguë

Elle se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps après une exposition ponctuelle ou de courte durée (Bencheikh, 2010).

La sévérité de l'intoxication aiguë varie en fonction de la dose absorbée et de la toxicité intrinsèque du pesticide. En effet, en plus de l'ingrédient actif, certaines substances inertes présentes dans les formulations commerciales peuvent contribuer à moduler le niveau de risque d'intoxication (Samuel et Saint-Laurent, 2001).

5.2. Toxicité chronique

Elle est le résultat de l'exposition répétée à plus ou moins faible dose à un produit toxique dont les effets néfastes ne se feront sentir que quelques mois à quelques années voire dizaines d'années plus tard. Ce qui rend difficile à établir un lien entre l'exposition chronique aux pesticides et les symptômes observés (Batsch, 2011).

6. Perturbateurs endocriniens

Selon l'OMS : « les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle étrangères à l'organisme qui peuvent interférer avec le fonctionnement des systèmes endocriniens et induire ainsi des effets délétères sur cet organisme ou sur ses descendants ». Les principaux sont : les bisphénols, les phtalates, les parabens, les composés perfluorés et téflon, le triclosan, les pesticides ...etc.

Ces substances présentant des propriétés hormonales appelés xéno-hormones, ou capables d'interférer avec la synthèse, le métabolisme, le transport et l'action des hormones. Les pesticides, possédant ce type de propriétés, largement utilisés tant dans un contexte professionnel que domestique, ont retenu fortement l'attention (Baldi I., *et al.*, 2013). Ces pesticides peuvent toucher tout le système endocrinien et ses organes qui le composent : thyroïde, ovaires, testicules, ainsi que les glandes surrénales qui sont le sujet de notre travail.

II/ Voliam Targo ®

1. Définition

Le Voliam Targo® est un nouveau produit phyto-pharmaceutique, insecticide, composé de deux principes actifs appartenant à deux familles chimiques différentes : le chlorantraniliprole (50 g/l) et l'abamectine (18g/l).

L'efficacité du Voliam Targo® est due à la synergie entre les deux principes actifs, en agissant sur deux sites d'action différents : le chlorantraniliprole agit sur les récepteurs Ryanodine présents dans les fibres musculaires, alors que l'abamectine agit par activation des canaux chlorhydriques (Valent *et al.*, 2012 ; Boels *et al.*, 2012).

2. Utilisation

Le Voliam Targo® a été utilisé pour le traitement des fruits et légumes : tomates, pommiers, poiriers, courgettes et chou. Cet insecticide lutte contre différents insectes ravageurs et acariens, adultes ou au stade larvaire ; principalement *Tuta Absoluta*.

3. Abamectine

3.1. Caractéristiques et structure

L'abamectine appartient à la famille des avermectines. Elle est utilisée pour le traitement des arbres fruitiers, légumes et cultures environnementales, ainsi qu'en médecine vétérinaire.

L'abamectine que l'on trouve dans le commerce est un mélange de deux avermectines : avermectine B1a (>80%) et avermectine B1b (< 20%), qui sont des lactones macrocycliques naturelles issues de la fermentation d'un actinomycète du sol (*Streptomyces avermitilis*). Les deux composants ont les mêmes propriétés biologiques et toxicologiques. L'abamectine est chimiquement proche de l'ivermectine. Ce dernier présentant une liaison simple entre les carbones 22 et 23 au lieu de liaison double pour l'abamectine (figure 1). Aussi, du point de vue toxicité, l'abamectine est plus toxique, que l'ivermectine (Lankas, 1989).

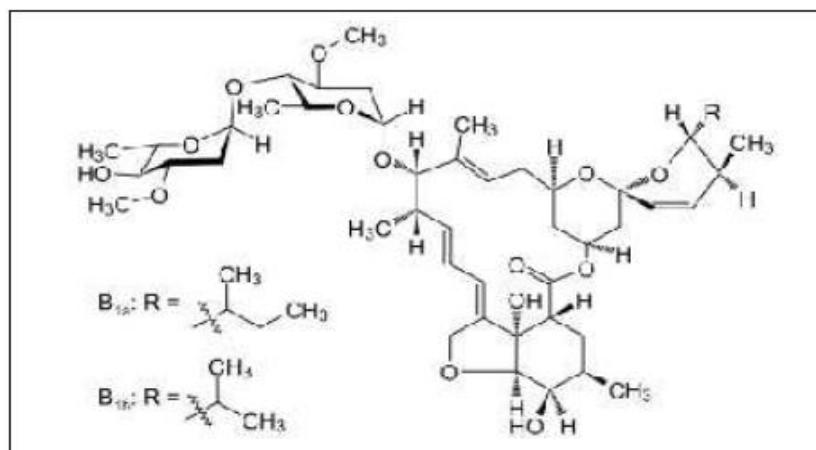


Figure 1: Structure de l'abamectine (INRS, 2016).

Elle est dotée de propriétés acaricides, insecticides et nématicides. Elle agit par contact et ingestion. Elle pénètre dans la feuille sur laquelle elle a été appliquée ; elle y reste stockée et la protège contre les ravageurs piqueurs et broyeurs, ce qui confère au produit une longue durée d'action. Par contre, les résidus de surface se dégradent rapidement sous l'action de la lumière.

L'abamectine manifeste, à doses réduites, une efficacité, spécialement contre les thrips, les araignées et les larves des mouches mineuses. L'activité contre les pucerons est en général moindre, car ceux-ci prélèvent la sève directement dans les vaisseaux du phloème. L'abamectine est active à tous les stades où le ravageur se nourrit ; elle prévient ou stoppe la formation de galeries par les larves des mouches mineuses. Une nette réduction de la fécondité et de la ponte a été observée chez les femelles entrées en contact avec le produit (Boels, 2012).

3.2. Toxicocinétique

L'ivermectine B est absorbée rapidement par voie orale et largement distribuée dans tout l'organisme. Elle est rapidement et presque exclusivement excrétée par les fèces après métabolisation hépatique (INSR, 2013).

Son métabolisme chez l'homme n'est pas connu. Cependant, ses paramètres seraient proches de ceux de l'ivermectine, appartenant à la même famille chimique, utilisée comme antiparasitaire en thérapeutique humaine : absorption digestive de 20 à 30 % de la dose ingérée, fixation aux protéines plasmatiques d'environ 10 %, large volume de distribution (5 l/kg), faible passage à travers la barrière hémato-méningée, métabolisme hépatique avec excrétion fécale des métabolites, demi-vie d'élimination de 41 heures (INSR, 2013).

3.3. Mode d'action

L'abamectine est neurotoxique. Elle empêche la transmission de l'influx nerveux des nerfs aux muscles. Les ravageurs sont rapidement paralysés, cessent de se nourrir et meurent après 3 à 4 jours. Elle a un double mécanisme d'action. Les avermectines, agissent en stimulant la production d'acide aminobutyrique, neurotransmetteur inhibiteur GABAergique responsable de l'arrêt de la transmission nerveuse. Contrairement au fipronil, l'ivermectine active le canal chlore induisant un effet inhibiteur responsable d'un blocage de l'influx nerveux ce qui provoque par la suite la mort du parasite (Figure 2) (Boels, 2012).

Chez les vertébrés, l'acide gamma amino butyrique (GABA) ainsi que la glycine sont connus pour bloquer l'activité électrique des cellules nerveuses et musculaires en augmentant la conductance des ions chlorure (Arena et al., 1995). L'acide gamma amino butyrique est un neuromédiateur présent dans tout l'organisme des invertébrés, mais aussi dans le système nerveux central des vertébrés. L'interférence entre les avermectines et ces canaux contribue donc à la paralysie du parasite mais elle est également à l'origine

des effets secondaires et la toxicité chez l'hôte, par interférence sur la transmission nerveuse (Omura, 2008).

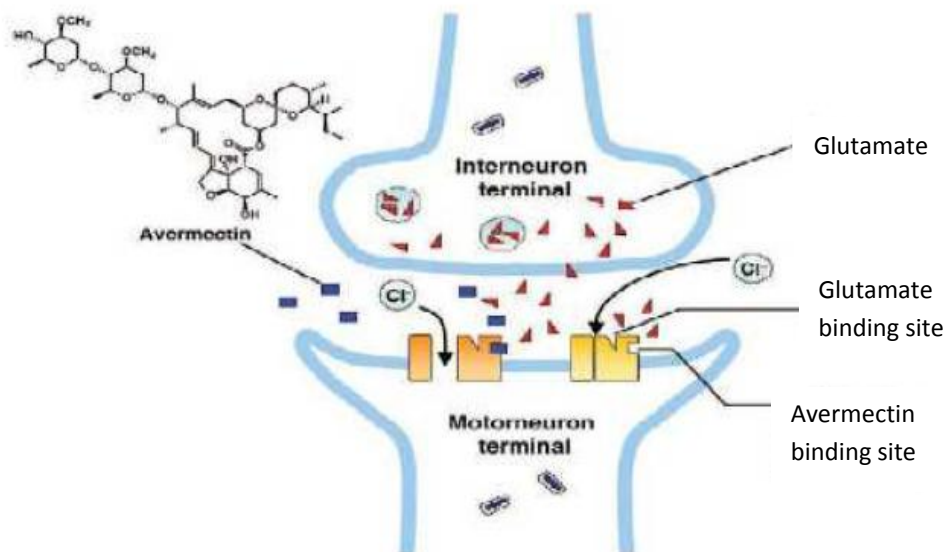


Figure 2 : Mécanisme d'action des avermectines (Omura, 2008).

Les avermectines (abamectine, eprinomectine, doramectine, sélamectine) affichent une forte affinité pour la P-gp, relativement plus importante comparée à la moxidectine, médicament de la famille des milbémycines (Lespine et *al.*, 2007). Ainsi, l'affinité pour la P-gp de ces molécules pourrait conditionner leur devenir dans l'organisme. Ce transporteur, codé par le gène *abcb1a* (*mdr-1*), est principalement exprimé dans l'intestin, le foie, la barrière hémato-encéphalique, le placenta et les reins.

3.4. Toxicité

L'abamectine est très toxique par voie orale chez le rat. La DL50 obtenue par administration dans de l'huile de sésame est de 8,7 et 12,8 mg/kg chez le mâle et la femelle respectivement. Dans un véhicule aqueux, l'abamectine est moins toxique avec une DL50 de l'ordre de 200 mg/kg. Dans une étude de neurotoxicité aiguë chez le rat, l'administration d'abamectine par gavage (doses testées 0 - 0,5 - 1,5 et 6 mg/kg) induit des troubles neuromusculaires aux deux plus fortes doses ainsi qu'une baisse de l'activité motrice à la plus forte dose. La dose sans effet néfaste observé fixée dans la même étude est de 0,5 mg/kg (INSR, 2013).

Dans des études d'exploration menées chez des souris CF-1 au génotype connu concernant le gène *abcb1a* codant pour l'expression de la P-gp, la DL50 de l'abamectine par voie orale est de 28 mg/kg pour les souris homozygotes (*abcb1a* +/+), 14 mg/kg chez les hétérozygotes (*abcb1a* +/-) et de 0,3-0,4 mg/kg chez les homozygotes déficientes (*abcb1a* -/-). Les mêmes

signes de neurotoxicité sont observés quel que soit le génotype mais à des doses plus élevées en fonction de l'expression de la P-gp (INSR, 2013).

Quelle que soit la voie d'exposition, des troubles neurologiques (tremblements et ataxie) sont observés. Par inhalation, le système respiratoire est également touché.

Dans les études expérimentales relatives à la toxicité sub-chronique et chronique de l'abamectine, le système nerveux est le principal organe cible chez toutes les espèces testées. Les relations dose-réponse observées présentent une forte pente (i.e. une faible augmentation de la dose provoque des effets importants).

Même si aucune donnée sur les effets chroniques, génotoxiques, cancérogènes ou sur la reproduction n'est disponible actuellement, il a été noté que l'exposition aiguë aux préparations commerciales à base d'abamectine entraîne de fortes réactions d'irritation de la peau et des muqueuses ainsi qu'une dépression du système nerveux, probablement liée à une intoxication aux solvants de la préparation. Des effets toxiques sont observés chez les jeunes durant la lactation, comme l'augmentation de la mortalité postnatale, la diminution du gain de poids corporel et la baisse de l'indice de lactation (INSR, 2013).

Le gavage de 0 - 0,4 - 0,8 et 1,6 mg/kg/j d'abamectine chez le rat, du 6^{ème} au 19^{ème} jour de gestation entraîne une toxicité foétale en absence de toxicité maternelle, observée à la plus forte dose testée (Boels et al., 2012).

3.5. Devenir dans l'environnement

L'abamectine est faiblement à modérément persistante dans le sol en conditions d'aérobie (demi-vie 14 à 60 jours). Elle est faiblement persistante dans l'eau (demi-vie = 4 jours) et dans les sédiments (demi-vie = 14 à 28 jours). La principale voie de dégradation dans l'eau semble être la photo-dégradation avec des demi-vies variant de 3,5 à 12 heures. L'abamectine est stable à l'hydrolyse pour des pH de 5 à 9.

Dans les plantes, l'abamectine subit une dégradation par photolyse (Pulce et Hermouet, 2012).

4. Chlorantraniliprole

4.1. Caractéristiques et structure

C'est un nouvel insecticide anthranilique diamide (Figure 3), efficace pour lutter contre les insectes nuisibles lépidoptères, ainsi que certaines espèces dans l'ordre Coleoptera, Diptera et Hemiptera (Haning et al., 2009). Il possède un nouveau mode d'action, une activité biologique élevée, une très faible toxicité pour les mammifères et une sélectivité pour les arthropodes non ciblés (Bassi et al., 2009). En activant les récepteurs de la Ryanodine des insectes, il stimule la libération et l'épuisement des réserves de calcium intracellulaire du réticulum sarcoplasmique des cellules musculaires, causant une altération de la régulation, de la paralysie et finalement de la mort des espèces sensibles (Cordova et al., 2006).

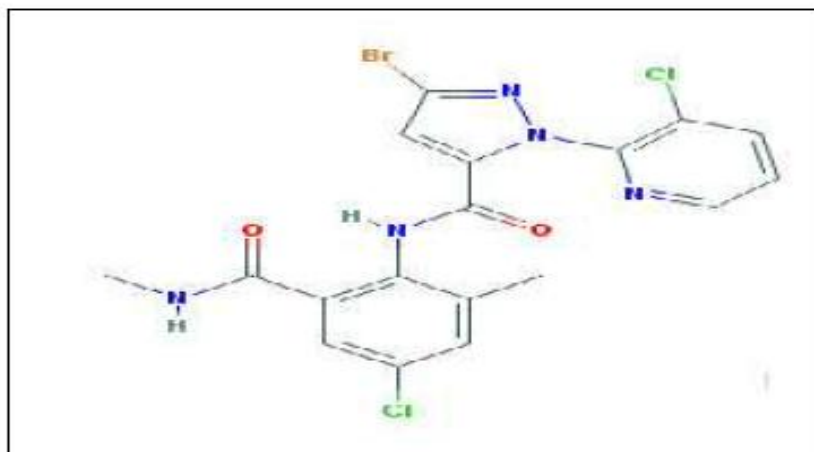


Figure 3 : Structure chimique de chlorantraniliprole (PubChem, 2018).

4.2. Toxicocinétique

L'absorption de la matière est rapide avec un pic de concentration plasmatique survenant 5 à 12 heures après son administration chez les rats. L'élimination est faite principalement par voie fécale, dans les 48h à 72h qui suivent, et une petite quantité est éliminée par les urines.

Les demi-vies d'élimination plasmatique étaient plus courtes chez les mâles (38-43h) que chez les femelles (78-82h) (Bentley et al., 2010).

4.3. Mode d'action

Le chlorantraniliprole cible les récepteurs de la Ryanodine (RyR), qui régulent le flux de calcium pour contrôler la contraction musculaire. Les diamides anthraniliques se lient aux RyR, ce qui les maintient ouverts, et stimule la libération du calcium à partir des réserves internes des muscles lisse et strié, causant une altération de la régulation des muscles (Figure 4), la paralysie, et finalement la mort des insectes (Haning et al., 2009). La principale voie d'exposition est l'ingestion (Lahm et al., 2007 ; Yu et al., 2015).

Le chlorantraniliprole (Acelepryn®, Syngenta, Greensboro, Caroline du Nord, Etats-unis) est le premier diamide anthranilique homologué pour être utilisé sur les plantes ornementales de gazon et de paysage (Redmond et Potter, 2017). Le chlorantraniliprole présente une excellente sélectivité différentielle vis-à-vis des récepteurs de la ryanodine des insectes par rapport aux récepteurs mammaliens. Le chlorantraniliprole est essentiellement non toxique pour les mammifères, les oiseaux et les poissons parce que les RyR des vertébrés sont 400 à 3000 fois moins sensibles que les RyR des insectes sensibles (Cordova et al., 2006 ; Wang et al., 2010).

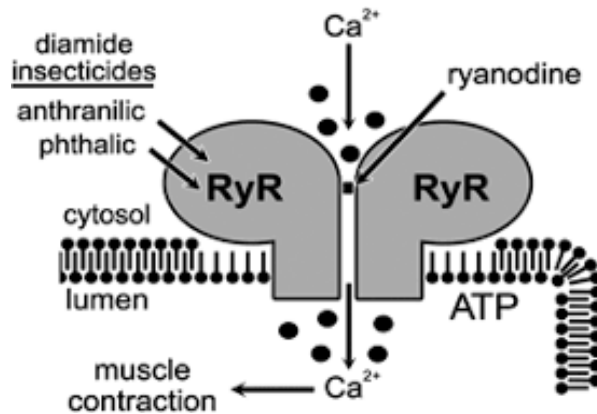


Figure 4 : Mécanisme d'action du chlorantraniliprole (Isaacs et al., 2012).

4.4. Toxicité

Le chlorantraniliprole possède une faible toxicité aiguë quel que soit la voie d'exposition. Il est peu ou pas irritant pour la peau et les yeux. Chez les animaux exposés à des doses répétées de la chlorantraniliprole, les effets sur la santé visaient notamment le foie et la glande surrénale (Bentley et al., 2010). Il s'agissait principalement d'effets de nature adaptative ou observés à la dose limite des essais ou à une valeur proche de celle-ci. Aucun signe de cancérogénicité, de toxicité pour la reproduction, de neurotoxicité ou d'immunotoxicité n'a été constaté chez la souris ou le rat, à des doses proches de la dose limite de 1000 mg/kg p.c/j ou en la dépassant. Lorsque le chlorantraniliprole a été administré à des animaux gravides, rien n'indiquait qu'il nuisait au fœtus en développement (Bentley et al., 2010 ; Pmra, 2014).

4.5. Devenir dans l'environnement

La matière active, le chlorantraniliprole, n'est pas biodégradable et est modérément mobile dans le sol (FTSS, 2016).

III/ Les glandes surrénales

1. Embryogénèse

Le développement de la glande surrénale commence tôt au cours de l'embryogénèse et continue jusqu'à l'âge adulte.

Le cortex surrénalien fœtal dérive d'un précurseur de la lignée adrénogonadique commun, le mésoblaste, qui permet également le développement des cellules des gonades sécrétant des stéroïdes.

Par contre, les cellules chromaffines provenant de la crête neurale migrent à travers le cortex fœtal pour former la future médulla-surrénalienne (Labaune, 2002).

Vers la fin de la sixième semaine, les ébauches corticales et médullosurrénales s'entremêlent pour former l'ébauche surrénale. Le cortex définitif se forme en couvrant le cortex fœtal vers le troisième mois. C'est là que vont se différencier les différentes zones : glomérulée et fasciculée, la réticulée n'apparaissant qu'après la naissance (El Kasmi, 2012).

2. Anatomie

Chez le lapin, les glandes surrénales sont de forme ovoïdes blanchâtres indépendantes des reins, au nombre de deux qui sont placées au-dessus des reins, situés profondément dans l'abdomen proche de la paroi lombaire de chaque côté de la colonne vertébrale (Labaune, 2002).

Les surrénales ont deux parties distinctes : la corticosurrénale et la médullo-surrénale.

2.1. Vascularisation et innervation

Les artéριοles, issues en général de l'aorte et de l'artère rénale, constituent un réseau péricapsulaire d'où vont partir :

- des vaisseaux courts, qui se capillarisent dans le cortex ;
- des vaisseaux perforants, qui irriguent la médullo-surrénale.

Les capillaires veineux confluent en une veine centrale pourvue de dispositifs musculaires qui permettraient les décharges brutales des hormones médullo-surréniennes.

La veine surrénale se jette dans la veine cave inférieure à droite, dans la veine rénale à gauche. L'innervation de la glande surrénale est constituée exclusivement par des fibres préganglionnaires destinées à la médulla. Mais le contrôle de la sécrétion du cortex n'est pas indépendant de toute stimulation nerveuse (terminaisons cholinergiques) (Verdati et Idelman, 2000).

3. Histologie

L'organisation histologique des surrénales de l'extérieur vers l'intérieur :

- Une capsule conjonctive, faite de fibroblastes et de fibres de collagène.
- Le cortex, comprenant trois zones centriques : la glomérulée, la fasciculée et la réticulée (Figure 5).

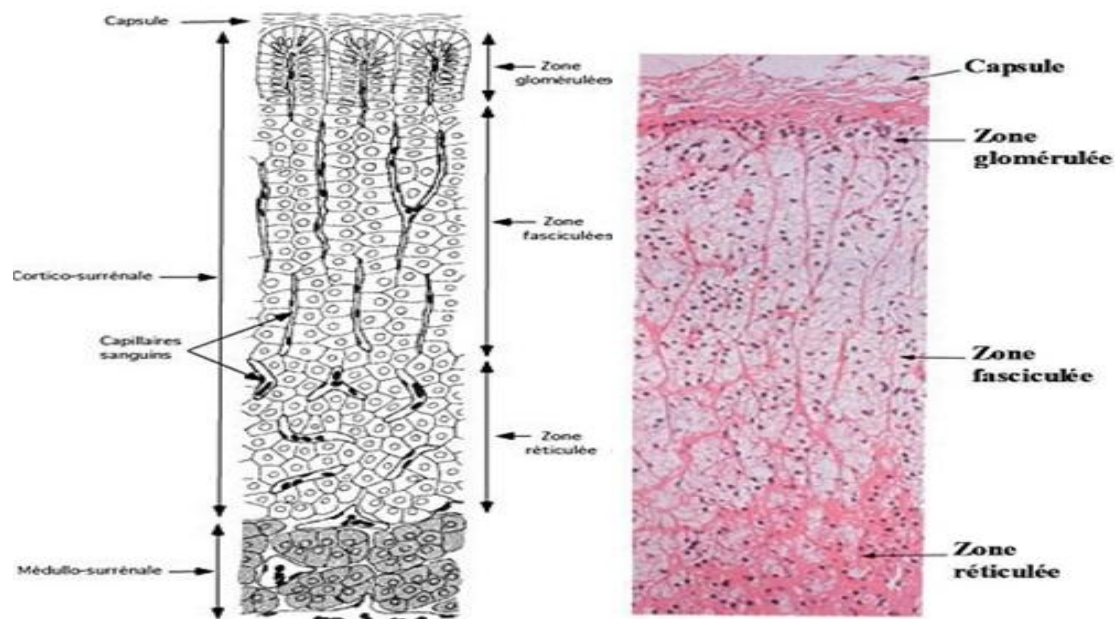


Figure 5 : Zonation du cortex surrénalien (modifié de Fullaet al., 2009).

– La zone glomérulaire (ou glomérulée) la plus externe et sous capsulaire. Les cellules glandulaires groupées en amas arrondis ou en cordons incurvés en formes d'arceaux =zone arciforme

– La zone fasciculée est composée de travées de cellules très riches en lipides. Après inclusion dans la paraffine, les gouttelettes lipidiques sont dissoutes, donnant aux cellules un aspect spongieux (spongiocytes). Les cellules se disposent en faisceaux parallèles, perpendiculaires à la capsule, séparées par des capillaires sinusoides.

–La zone réticulée : est la zone la plus mince et la plus interne du cortex, faite de cellules organisées en réseaux irréguliers anastomosés, avec dépôt brunâtre de lipofuscine (in Le Dudal, 2016 ; Stevens et Lowe, 2000).

- La médulla, chez le lapin, se caractérise par un tissu chromaffine abondant (Coupland 1968 ; Padbury, 1981), est constituée de cordons richement vascularisés, au sein desquels on observe deux types de cellules :

- Cellules rhagiochromes : sont globuleuses à cytoplasme chromophile contenant des granulations brunâtres, à noyau vésiculaire peu colorable.

- Cellules hyalochromes : sont prismatiques à cytoplasme chlorophylle à noyau hyper colorable homogène.

4. Physiologie

- La zone glomérulée : origine de l'hormone minéralocorticoïde : l'aldostérone qui joue un rôle important dans l'homéostasie du sodium et de l'eau dans les cas d'insuffisance cardiaque et l'hypertension artérielle. (Waeber B., 2006).

- La zone fasciculée secrète les glucocorticoïdes (cortisol, hydrocortisone, corticostérone) qui agissent sur le métabolisme de base (hyperglycémie, hyperlipémie etc..). Ils sont des anti-inflammatoires et jouent un rôle essentiel dans l'équilibre du glucose sanguin et la libération de sucre à partir des réserves de l'organisme en réponse à une demande accentuée en énergie. Le cortisol intervient aussi dans le métabolisme des graisses et des protéines.

- La zone réticulée secrète les glucocorticoïdes et des stéroïdes sexuels (androgènes).

- La médullaire : est responsable de la sécrétion des catécholamines. Les cellules rhagiochrome à noradrénaline et les cellules à hyalochrome à adrénaline.

4.1. Axe corticotrope

La sécrétion des hormones surrénaliennes est sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HHS) (figure 6). La synthèse des glucocorticoïdes, sécrétés par la corticosurrénale, est stimulée par l'antéhypophyse, par le biais de l'hormone corticotrope, l'ACTH, sous le contrôle de l'hypothalamus par le biais du peptide hypothalamique la corticolibérine CRH.

Un des stimulateurs de l'hypothalamus est le stress qui provoque la sécrétion de la CRH, ainsi que de faibles quantités de la vasopressine (AVP) qui vont agir tous les deux sur l'hypophyse et entraîner la sécrétion d'ACTH.

Le cortisol exerce un rétrocontrôle négatif sur les hormones hypothalamo-hypophysaires (Fulla et al., 2009).

La sécrétion nyctémérale des hormones corticales est caractérisée par une sécrétion pulsatile en 10 à 20 pics quotidiens sous le contrôle de l'ACTH en réponse aux pulses de CRH, avec un maximum le matin et un minimum à minuit.

La sécrétion de l'aldostérone est induite par une hyperkaliémie qui dépolarise la membrane des cellules glomérulaires pour augmenter la concentration du calcium intracellulaire qui provoque sa sécrétion (Gallo-Payet, 1993), mais elle est aussi contrôlée par l'ACTH (Harding et al., 1979).

La sécrétion des catécholamines est sous la dépendance du système nerveux sympathique. (Koué Folligan, 2010).

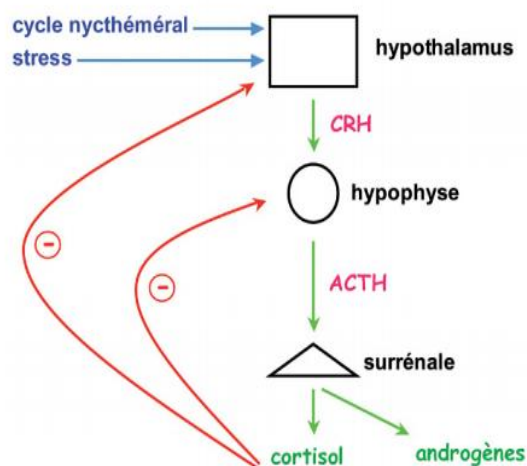


Figure 6 : L'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (Fulla et al., 2009).

4.2. Biochimie des hormones corticosurréaliennes

La synthèse de chacune de ces hormones stéroïdiennes se fait à partir d'un précurseur commun : le cholestérol qui a une origine exogène (Figure 7) (Williams et al., 2000, Folligan K., 2010).

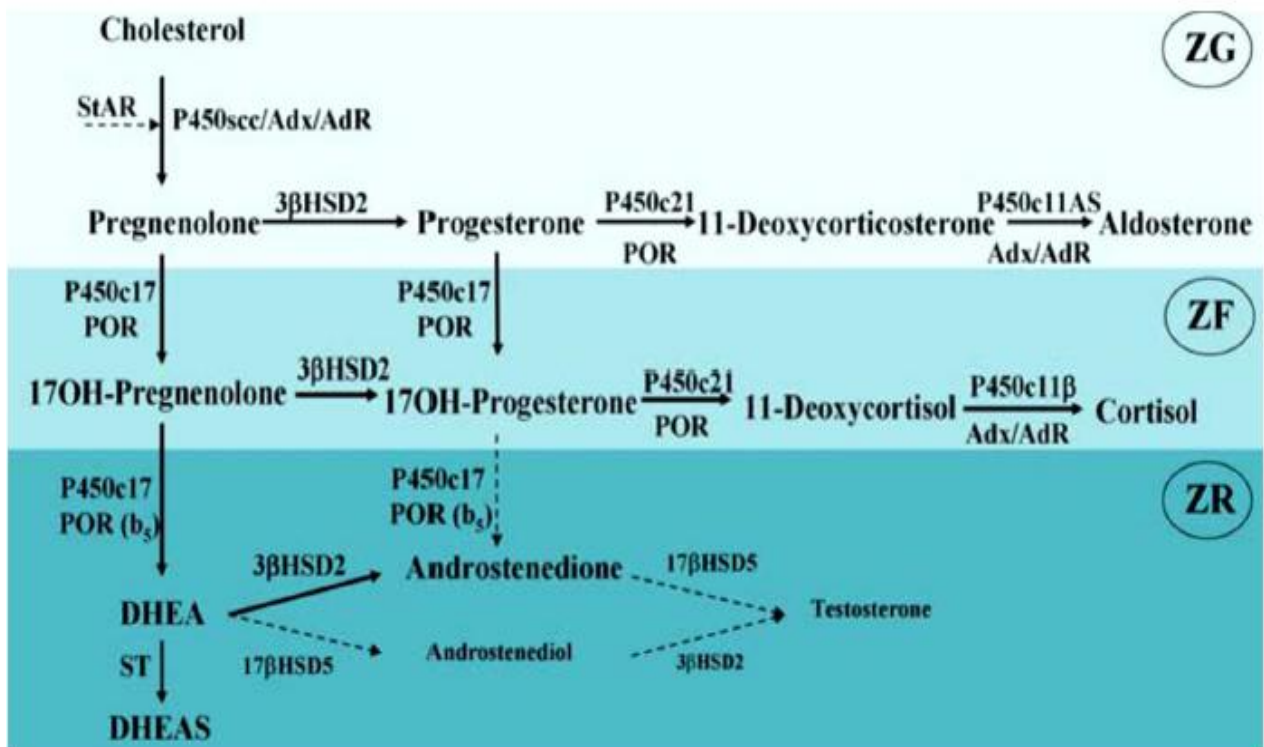


Figure 7 : Schéma de la stéroïdogénèse du cortex surrénalien adulte humain (Kempna et Fluck, 2008).

4.3. Interaction de la glande surrénale avec la reproduction

Le cortex surrénal et les gonades ont une origine embryonnaire commune, qui est le mésoblaste, ainsi que la même nature biochimique de leurs sécrétions, des stéroïdes.

Il a été constaté chez de nombreuses espèces, que les concentrations des glucocorticoïdes (GC) sont variables selon la saison. Elles ont donc des rythmes saisonniers, tout comme la reproduction. Une évolution synchrone de ces fonctions a été signalée également chez plusieurs rongeurs sauvages des régions désertiques, contrairement aux cobayes qui présentent une activité inverse (Planel, 1963).

Le cortex surrénalien des primates sécrète un taux élevé de stéroïdes en C19 : DHEA, DHEA sulfate (sDHEA) et l'androstènedione. Ces hormones, appelées androgènes surrénaliens, ont une faible activité androgénique, mais sont considérés comme des précurseurs des estrogènes et des androgènes. Chez l'homme, peu avant la puberté, la DHEA et le sDHEA sont produites par la zone réticulée en quantité importante. Chez l'adulte, les androgènes testiculaires inhiberaient la production des androgènes au niveau de la glande surrénale (Kandsi-Bouhadad et Hadj-Bekkouche, 2010).

Les hormones de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique (HHG) sont impliquées dans la régulation de l'axe HHC à différents niveaux et vice versa (Figure 8).

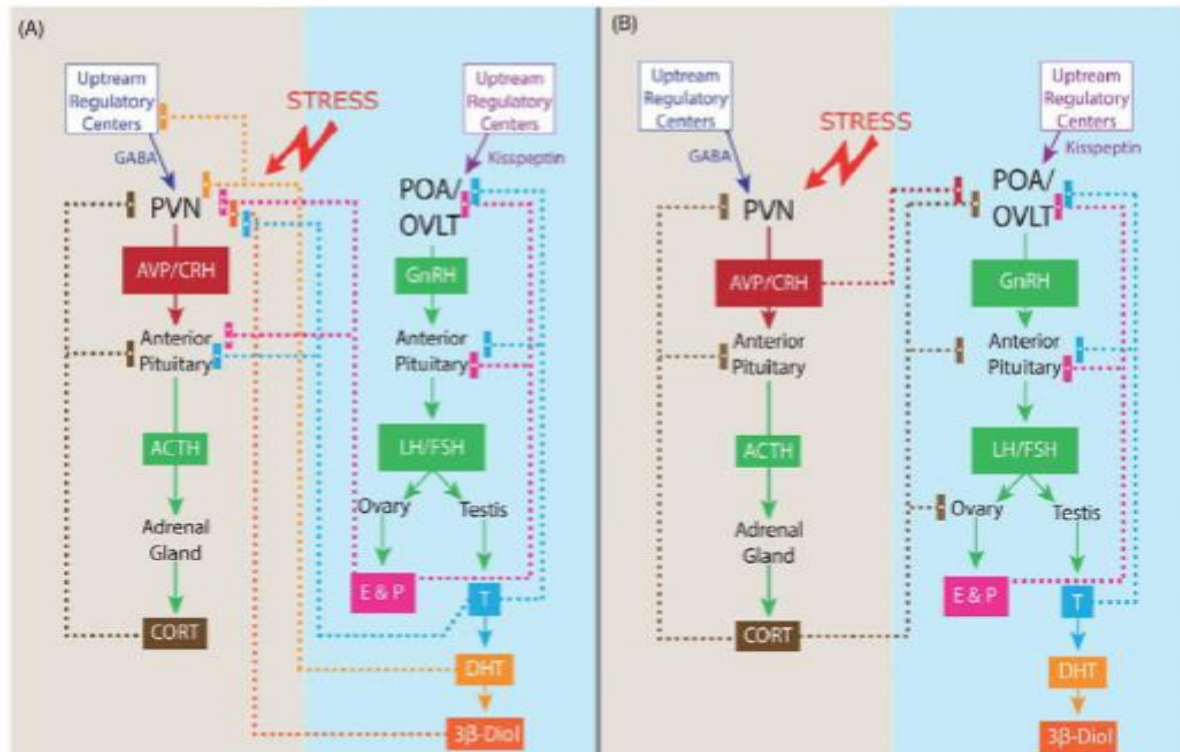


Figure 8 : Diagramme schématique démontrant l'interaction réciproque entre les axes HHC et HHG (Oyola et Handa, 2017).

L'effet « anti-reproducteur » des glucocorticoïdes se traduit chez le mâle par une inhibition de la biosynthèse testiculaire de la testostérone, principal stéroïde sexuel. Le contact prolongé des glucocorticoïdes (le cortisol chez l'homme, ou la corticostérone chez les rongeurs) avec les cellules de Leydig peut induire le phénomène d'apoptose de ces cellules (Soltani, 2008).

Un traitement par testostérone augmente les taux de DHEA chez le macaque et diminue ceux de l'androsténone chez le rat.

L'existence d'une interaction testicule-corticosurrénale a été mise en évidence par différentes modifications constatées après une castration bilatérale chez le rat de sable : une augmentation pondérale des surrénales ; histologiquement, il y a eu une augmentation nette du volume du cortex, due à l'augmentation de celui de la ZR (hypertrophie du parenchyme et augmentation de la taille cellulaire) ; une augmentation des teneurs surrénales en GC totaux et cortisol alors que les concentrations plasmatiques sont diminuées ; une augmentation des concentrations plasmatiques du cholestérol, triglycérides et lipides et diminution des protéines (Benmouloud et al., 2006).

Chapitre II : Etude expérimentale

I/ Matériel et méthodes

II/ Résultats

III/ Discussion

I/ Matériel et méthodes :

Dans le présent travail, nous avons évalué les effets de l'administration sub-chronique d'un insecticide, commercialisé sous le nom du « Voliam Targo® », sur les aspects morpho-structuraux des glandes surrénales chez des lapins mâles de souche synthétique.

L'expérimentation a été rendue possible grâce à la collaboration de la Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques avec :

- L'élevage cunicole « ALGERIE LAPIN » localisé à Tigzirt, où le traitement des lapins, leurs sacrifices et le prélèvement des échantillons d'organes ont été réalisés.
- Le laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, où la confection des coupes histologiques et leurs colorations ont été faites.

1. Matériel :**1.1. Matériel biologique :****1.1.1. Modèle animal :**

Le modèle animal choisi pour cette étude est le lapin de souche synthétique (*Oryctolagus cuniculus*) provenant de l'élevage cunicole « ALGERIE LAPIN » localisé à Tigzirt, wilaya de Tizi-Ouzou, où s'est déroulé l'expérimentation.

Ces lapins, dits synthétiques, sont issus d'un croisement par insémination artificielle, entre des mâles (semences) d'une souche française (INRA2666), réputée pour sa prolificité et son poids adulte meilleur, et des femelles de la race locale blanche (Zerrouki et al., 2007).

Taxonomie :

La position taxonomique du lapin (Figure 9) (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante (Garreau et al., 2015. Lebas et al., 1984) :

- **Règne** : animal.
- **Embranchement** : vertébrés.
- **Classe** : Mammifères.
- **Super Ordre** : Glires.
- **Ordre** : Lagomorphes.
- **Famille** : Léporides (lièvre et lapin).
- **Sous-famille** : *Leporinae*.
- **Genre** : *Oryctolagus*.
- **Espèce** : *Oryctolagus cuniculus*.



Figure 9 : Image d'un lapin de souche synthétique (Originale).

1.2. Matériel non biologique :

Le pesticide utilisé est le Voliam Targo®, un insecticide composé de deux principes actifs synergiques : l'abamectine et le chlorantraniliprole.

Quant au matériel non biologique utilisé, il est décrit dans le tableau 2 :

2. Protocole expérimental :

2.1. Traitement des animaux :

L'étude a été effectuée sur 21 lapins mâles adultes de la souche synthétique, âgés d'environ 8 mois et ayant un poids moyen de 3,5 kg au début du traitement. Les animaux ont été logés individuellement dans des cages métalliques, équipées d'un abreuvoir et une trémie d'alimentation. Ils recevaient l'eau et l'aliment ad libitum.

Tableau n° 2 : Matériel du sacrifice et matériels histologiques

Matériel du sacrifice et de dissection	Matériel d'histologie	
	Appareils et consommable	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> - Planche à dissection - Différents ciseaux - Scalpel - Des pinces - Couteau. - Clamps 	<ul style="list-style-type: none"> - Automate de déshydratation - Appareil à inclusion - Plaque refroidissante - Microtome - Bain marie - Etuve - Automate de coloration - Microscope optique + Tablette - Lames et lamelles - Cassettes 	<ul style="list-style-type: none"> - Ethanol - Formol à 4% - Xylène - Hématoxyline - Eosine - Paraffine - Eukitt® - Eau distillée. - Carbonate de lithium

Pendant la période expérimentale, ces lapins recevaient du Voliam Targo® (VT) par voie orale (gavage), pendant une durée de 92 jours.

Après homogénéisation du poids, les lapins ont été répartis en 2 lots : celui des témoins et des traités au VT (Début du traitement : le 27/11/20).

- Lot Témoins (7 lapins) : 1ml/jour d'eau.
- Lot Traités (14 lapins) : 1ml/jour du VT dilué à raison de 4 mg/kg.

2.2. Prélèvement de l'organe :

Le sacrifice a été fait par saignée le : 27 et 28 février 2021.

Afin de prélever les organes, nous avons procédé comme suit :

- Retrait de la peau afin de faciliter la dissection (Figure 10).



Figure 10 : Lapin après dépouillement (Originale, 2021).

- Incision de la partie abdominale en suivant une ligne médiane. Pour atteindre les surrénales, nous avons enlevé le tube digestif (Figure 11).

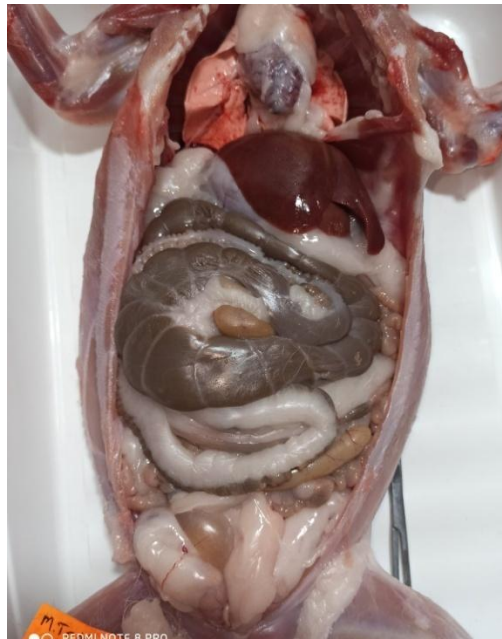


Figure 11 : Ouverture de l'abdomen (Originale, 2021).

- L'appareil uro-génital est plaqué contre la voute lombaire, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Les glandes surrénales sont indépendantes des reins (Figure 12).

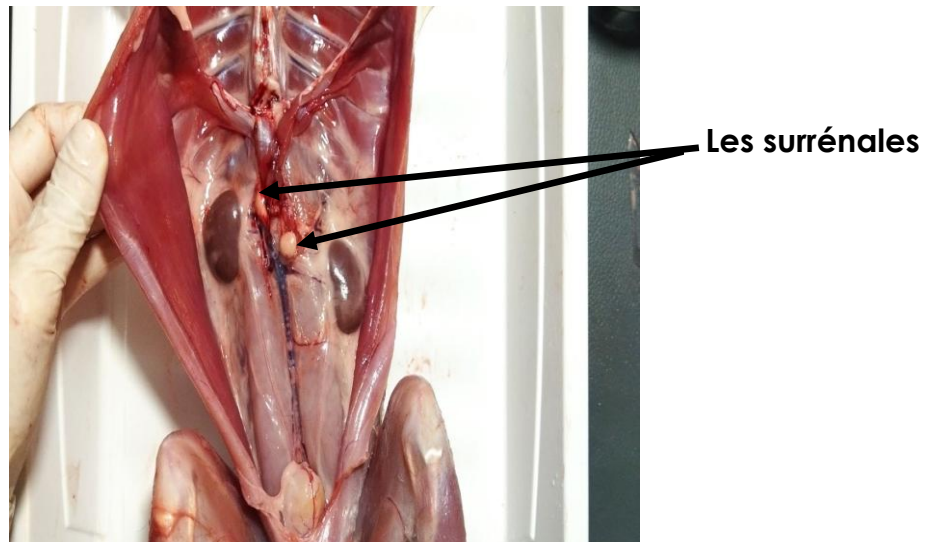


Figure 12 : Position des glandes surrénales (Originale, 2021).

- Les surrénales sont prélevées, (Figure 13), dégraissées, pesées et ensuite conservées dans du formol.

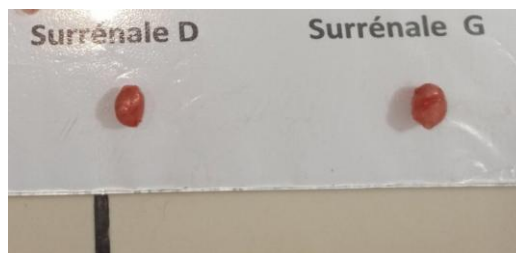


Figure 13 : Les glandes surrénales droite et gauche après prélèvement (Originale, 2021).

- Prises des mensurations de l'organe (morphométrie macroscopique) : la longueur, largeur et épaisseur.
- Découpage de l'organe d'une façon transversale.

3. Technique histologique :

Dans le but de la réalisation des coupes histologiques, nous avons suivi une série d'étapes (OPTMQ, 2014).

3.1. Fixation des échantillons :

Les prélèvements effectués sont fixés au formol à 4%, ensuite remis dans des cassettes en plastique qui sont étiquetées (Figure 14). Cette étape a pour but de conserver les tissus, d'immobiliser ses composants cellulaires par l'inhibition de l'autolyse.



Figure 14 : La surrénale gauche après fixation par le formol (Originale, 2021).

3.2. Déshydratation, éclaircissement et imprégnation :

La déshydratation du tissu permet le remplacement de l'eau tissulaire par de l'alcool.

L'éclaircissement se fait par le xylène, un produit miscible à la paraffine.

L'imprégnation a pour but de remplir toutes les cavités tissulaires par de la paraffine.

Cette étape est réalisée grâce à un automate de type Leica (Figure 15) ; Le passage des organes dans une série de bain d'éthanol de concentration croissante (70°, 70°, 96°, 100°), ensuite dans 3 bains de xylène, et enfin 3 bains de paraffine liquide, pendant 2h dans chaque bain.



Figure 15 : Appareil circulaire de déshydratation et imprégnation Leica (Originale, 2021).

3.3. Enrobage des échantillons (inclusion) :

L'enrobage permet de fournir au tissu un support externe pour la coupe au microtome. L'échantillon est mis dans un moule métallique (Figure 16), en versant de la paraffine liquide (70°C), et en mettant une cassette dessus, nous obtenons des blocs de paraffine. Ces derniers sont solidifiés grâce à une plaque refroidissante de -5°C.

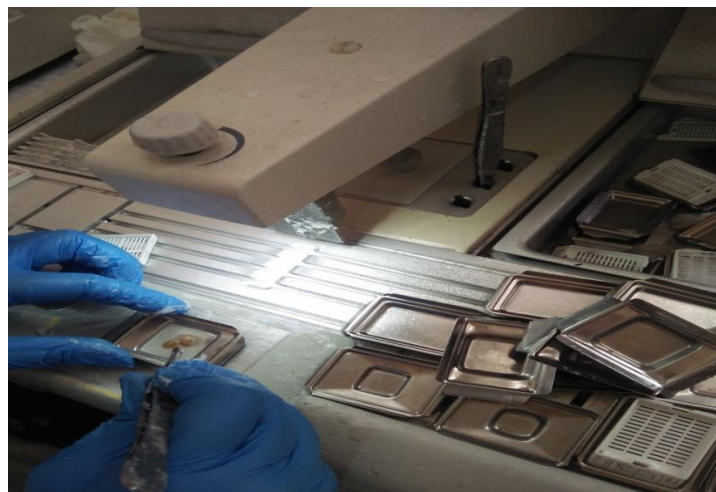


Figure 16 : L'enrobage par la paraffine des glandes (Originale, 2021).

3.4. Réalisation des coupes histologiques :

Les coupes sont effectuées par un microtome de type Leica, permettant la réalisation de séries de rubans de paraffine et de tissu d'une épaisseur de 2 μm ,

Pour récupérer les coupes sur lames, le ruban est mis dans un bain marie à une température de 40°C (Figure 17).



Figure 17 : Mise en place du tissu sur une lame (Originale, 2021).

3.5. Déparaffinage :

Pour débarrasser le tissu de la paraffine, les lames doivent être mises dans étuve à 80°-90°C pendant un minimum de 30mn (Figure 18).



Figure 18 : Etuve pour le déparaffinage (Originale, 2021).

3.6. Réhydratation et coloration des coupes :

Le type de coloration utilisé est la coloration à l'hématoxyline éosine.

Les deux étapes se font sur un même dispositif de type Leica (Figure 19), le passage des lames, dans une série de bains pendant 30 secondes pour chacun, se fait selon l'ordre suivant :

- 06 bains de xylène,
- 04 bains d'alcool absolu,
- 02 bains d'eau du robinet (jaune),
- 01 bain d'hématoxyline de Harris,
- 01 bain d'eau du robinet,
- 02 bains d'eau du robinet (jaune),
- 01 bain de carbonate de lithium,
- 01 bain d'eau du robinet (jaune),
- 01 bain d'éosine,
- 01 bain d'eau du robinet,
- 01 bain d'eau du robinet,
- 02 bains d'alcool absolu,
- 04 bains de xylène.



Figure 19 : Dispositif Leica de réhydratation et coloration (Originale, 2021).

3.7. Montage de lamelles :

Après coloration, pour protéger le tissu fixé, on dépose une lamelle sur chaque lame à l'aide de la résine (Eukitt®).

3.8. Observation des lames :

Les lames histologiques, contenant le tissu, ainsi confectionnées, sont observées au microscope optique équipé d'un appareil photo et d'une tablette.

Après la prise de photos, avec le grossissement 40X qui permet de voir la forme générale de la coupe, nous passons aux grossissements 100X et 400X ; qui permettent l'examen structurale et morphométrique.

4. Etude histo-morphométrique :

Nous L'examen histo-morphométrique permet de déterminer d'éventuels modifications histologiques traduisant des changements physiologiques.

Cet examen est fait grâce au logiciel de traitement et d'analyses d'images Axio Vision Rel. 4,8. Les mesures faites en μm sont :

- L'épaisseur de la zone corticale et médullaire,
- L'épaisseur de la capsule, des trois zones corticales,
- La surface cellulaire et nucléaire de chaque zone corticale (ZG, ZF, ZR),
- Le diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire de chaque zone,
- Le volume cellulaire et nucléaire,
- Le rapport nucléo-cytoplasmique.

5. Etude statistique :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm l'erreur standard.

Les résultats individuels ont été enregistrés puis groupés sur une base de données Excel puis traités par le logiciel R version 4.1.1.

Les tests de normalité et d'homogénéité des variances ont été appliqués pour vérifier une série d'observation.

La comparaison de la moyenne pour les deux groupes a été faite comme suit :

- Si la normalité et l'homogénéité sont vérifiées, on utilise un test paramétrique de t-Student.
- Si la normalité et l'homogénéité ne sont pas vérifiées, on utilise un test non paramétrique Wilcoxon.
- Le degré de significativité de la différence entre les valeurs moyennes est défini par une probabilité p :
 - Si $p < 0,001$: la différence est hautement significative (HS) ****
 - Si $p < 0,01$: la différence est très significative (TS) ***
 - Si $p < 0,02$: La différence est significative (S) **
 - Si $p < 0,05$: la différence est peu significative (PS) *
 - Si $p > 0,05$: la différence est non significative (NS).

II/ Résultats

Dans cette partie, nous présentons les résultats relatifs aux altérations pondérales corporelles et surrénaliennes, ainsi que les mensurations de l'organe, les variations histologiques et histo-morphométriques des surrénales sous l'effet du pesticide VT®. Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).

1. Résultats macroscopiques

1.1. Poids corporel des lapins au sacrifice

Les lapins témoins ont un poids moyen de $(4112,33 \pm 184,73)$ g, alors que celui des lapins traités est de $(3804,42 \pm 103,87)$ g (Figure 20).

Statistiquement, l'examen du poids corporel des lapins ne montre pas de différence significative ($P > 0,05$) entre les deux lots : témoins et traités.

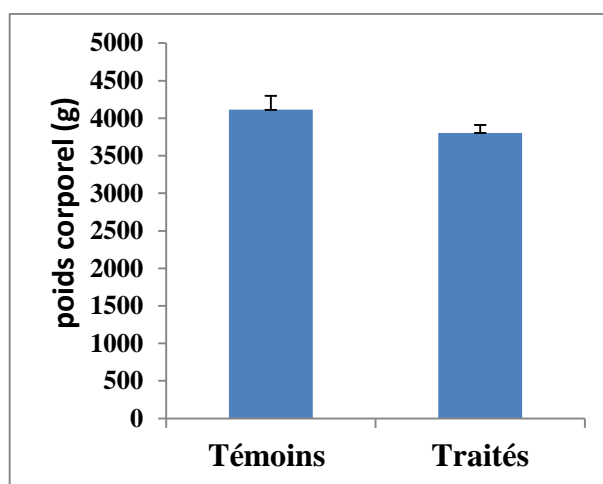


Figure 20 : Poids corporels moyens des deux lots.

1.2. Poids des glandes surrénales

Concernant le lot témoin, le poids moyen de la glande surrénale est de $(0,21 \pm 0,016)$ g pour la glande droite, et de $(0,23 \pm 0,016)$ g pour la glande gauche. Alors que chez les lapins traités, le poids moyen de la glande surrénale est de $(0,19 \pm 0,012)$ g pour la glande droite et de $(0,22 \pm 0,014)$ g pour la glande gauche (Figure 21).

Nous constatons que le poids de la surrénale gauche est légèrement supérieur à celui la surrénale droite, chez les deux lots. Cependant, cette différence n'est pas significative ($P > 0,05$).

Après comparaison entre les deux lots, le poids moyen des glandes surrénales des animaux traités est de $(0,422 \pm 0,02)$ g, légèrement inférieur à celui des témoins $(0,433 \pm 0,03)$ g, mais statistiquement, cette différence n'est pas significative ($P > 0,05$; Figure 22).

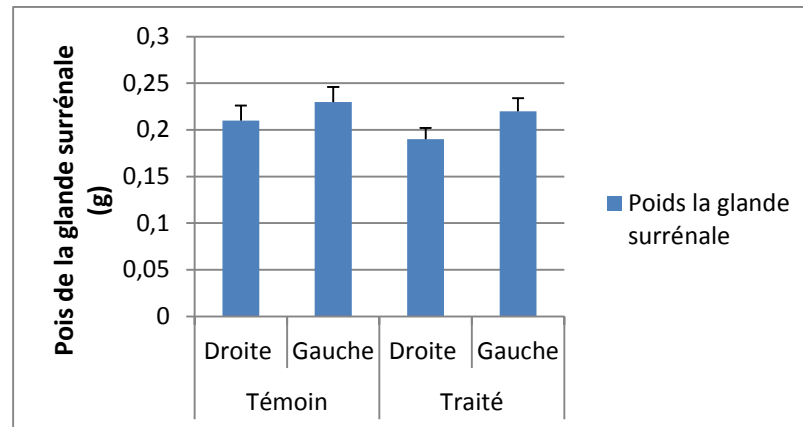


Figure 21 : Poids des glandes surrénales gauches et droites prélevées de lapins témoins et ceux traités au Voliam Targo®.

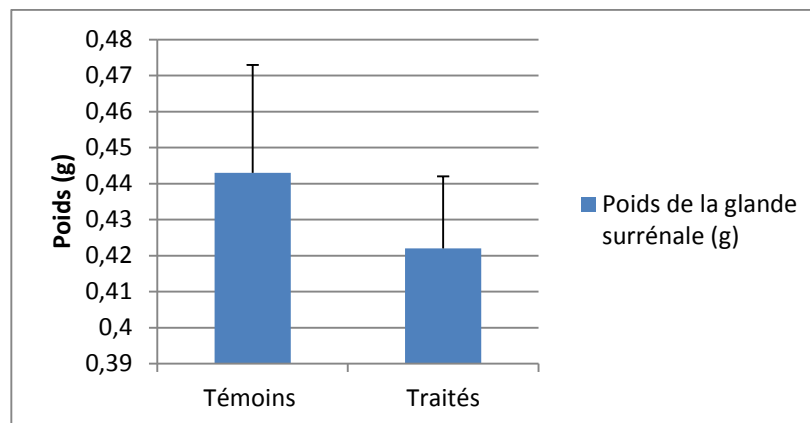


Figure 22 : Poids des glandes surrénales des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux lapins témoins.

1. 3. Mensurations des surrénales

La longueur de la glande surrénale est de $1,12 \pm 0,083$ cm chez les lapins témoins vs $1,1 \pm 0,025$ cm chez les lapins traités. Par ailleurs, sa largeur est de $0,69 \pm 0,035$ cm chez les témoins vs $0,67 \pm 0,015$ cm chez les traités. Quant à l'épaisseur, elle est en moyenne de $0,47 \pm 0,02$ cm chez les témoins et de $0,43 \pm 0,016$ cm chez les lapins traités (Figure 23).

Toutefois, nous soulignons que les mensurations (longueur, largeur et épaisseur) des glandes surrénales relevées chez les lapins traités ne présentent aucune différence significative avec celles des témoins ($P > 0,05$).

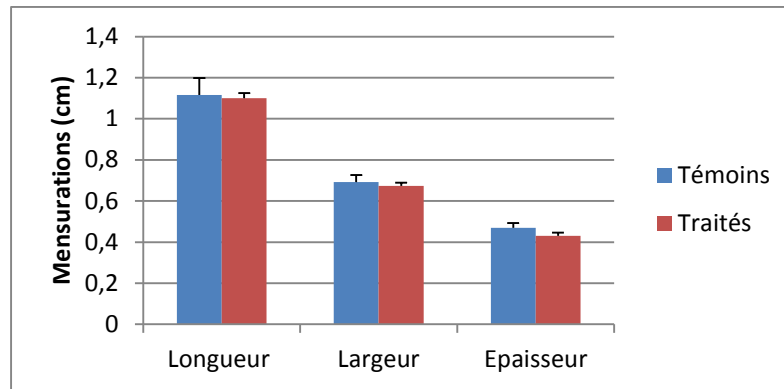


Figure 23 : Mensurations de la glande surrénale des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

2. Résultats microscopiques : Paramètres histo-morphométriques

2.1. Histologie de la glande surrénale (Vue d'ensemble)

La glande surrénale chez les lapins apparaît, en coupe transversale, constituée d'une capsule conjonctive et du parenchyme glandulaire. Ce dernier est formé de deux structures très différentes de point de vue morphologie : la partie centrale médulosurrénale et la partie périphérique ou corticosurrénale, qui est subdivisée en trois zones de l'extérieur vers l'intérieur : la glomérulée, la fasciculée et la réticulée (**Planche 1**).

Le cortex est constitué d'unités sécrétantes cordonnales disposées en arcades ou en crosses dans la zone glomérulée, en cordons parallèles dans la zone fasciculée et en réseau dans la zone réticulée. Les cordons sont séparés les uns des autres par des capillaires sinusoides.

2.2. Epaisseurs des différentes zones de la surrénale

2.2.1. Epaisseur de la capsule

Pour la surrénale droite, l'épaisseur moyenne de la capsule est de $8,60 \pm 1,47 \mu\text{m}$ chez les témoins vs $11,53 \pm 1,88 \mu\text{m}$ chez les traités et pour la surrénale gauche, elle est de $6,94 \pm 0,59 \mu\text{m}$ chez les témoins vs $11,43 \pm 1,78 \mu\text{m}$ chez les traités (Figure 24). Ainsi, nous retenons que pour les deux côtés de la surrénale, l'épaisseur capsulaire est plus importante chez les traités comparativement aux témoins, même si statistiquement, ces différences ne sont pas significatives ($P > 0,05$).

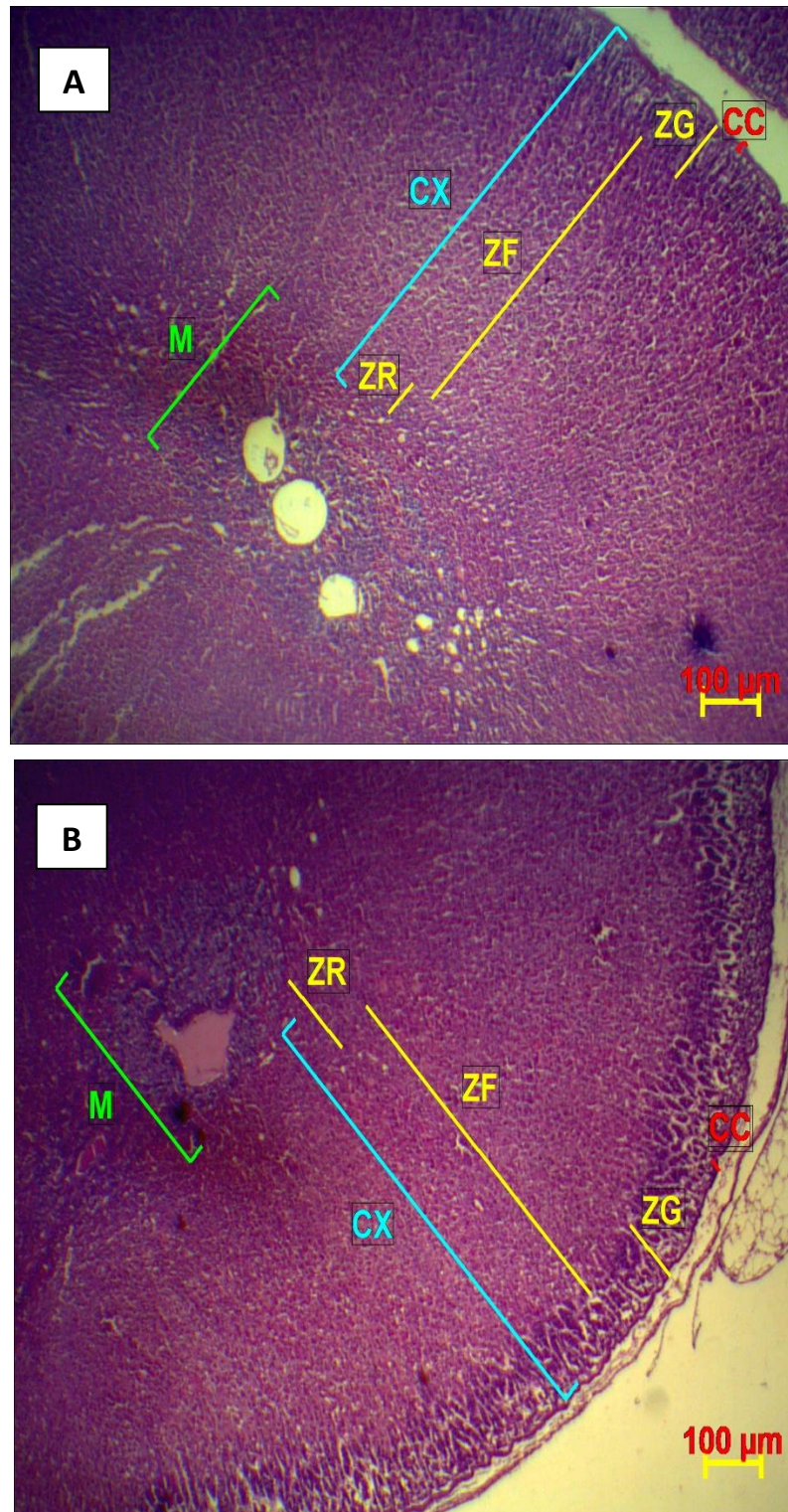


Planche 1 : Histologie de la glande surrénale chez les lapins mâles témoins (A) et traités (B) par le Voliam Targo® ; Observé au microscope optique ; Gr X40 ; coloration HE. **CC** : capsule conjonctive ; **CX** : cortex ; **ZG** : zone glomérulée ; **ZF** : zone fasciculée ; **ZR** : zone réticulée ; **M** : médulla.

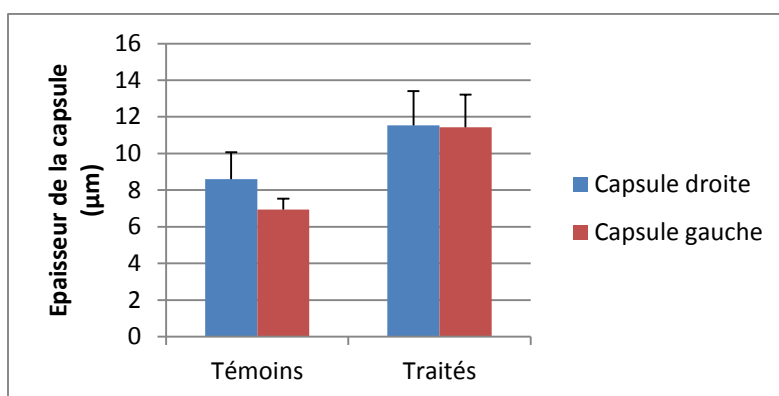


Figure 24 : L'épaisseur de la capsule de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

En comparant les moyennes des épaisseurs capsulaires des deux côtés, entre les traités et leurs témoins, nous déduisons que l'épaisseur capsulaire des traités ($11,48 \pm 1,27 \mu\text{m}$) est supérieure ($P > 0,05$) à celle des témoins ($7,77 \pm 0,7 \mu\text{m}$) (Figure 25).

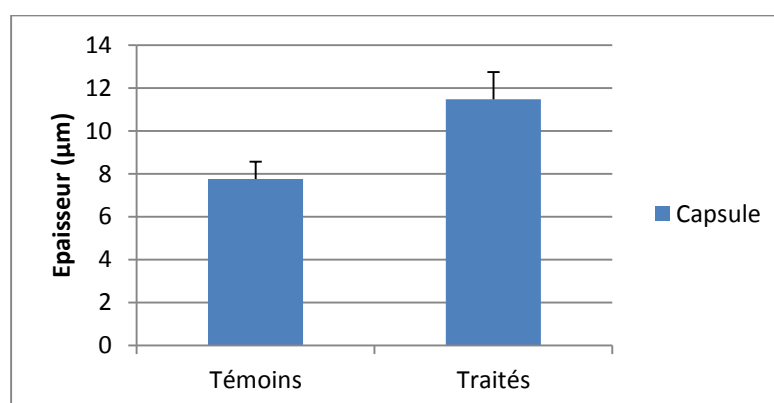


Figure 25 : L'épaisseur de la capsule (Moyenne des deux côtés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

2.2.2. Epaisseur de la corticale et médullaire

Les mesures morpho-métriques de la zone corticale des glandes surrénales montrent que l'épaisseur moyenne de cette dernière chez les témoins est de $931,69 \pm 73,3 \mu\text{m}$ pour la surrénale droite et d'une moyenne de $943,46 \pm 32,29 \mu\text{m}$ pour la surrénale gauche. Cependant chez les traités, elle est de $766,62 \pm 34,82 \mu\text{m}$ pour la surrénale droite et de $919,50 \pm 50,35 \mu\text{m}$ pour la surrénale gauche. Même si l'épaisseur du cortex de la surrénale droite est inférieure à celle du cortex de la surrénale gauche, cette différence reste non significative ($P > 0,05$).

Concernant la zone médullaire, son épaisseur moyenne chez les témoins est de $172,07 \pm 13,36 \mu\text{m}$ pour la surrénale droite et de $241,60 \pm 16,74 \mu\text{m}$ pour la surrénale gauche. Alors que chez les traités, elle est de $193,21 \pm 13,49 \mu\text{m}$ pour la surrénale droite et de $186,11 \pm 10,8 \mu\text{m}$ pour la gauche (Tableau 3) et (Figure 26).

Chez les témoins, l'épaisseur moyenne de la médulla droite est inférieure à celle de gauche. Cette différence se déclare significative ($P < 0,02$). En revanche, chez les traités, l'épaisseur moyenne de la médulla droite n'est statistiquement pas différente de celle de la médulla gauche.

Tableau 3 : Les valeurs moyennes des zones corticales et médullaires de la surrénale droite et gauche.

	Témoins		Traités	
	Droite	Gauche	Droite	Gauche
Cortex (μm)	931,69 \pm 73,39	943,46 \pm 32,29	766,62 \pm 34,82	919,50 \pm 50,35
Médulla (μm)	172,07 \pm 13,36	241,60 \pm 16,74	193,21 \pm 13,49	186,11 \pm 10,81

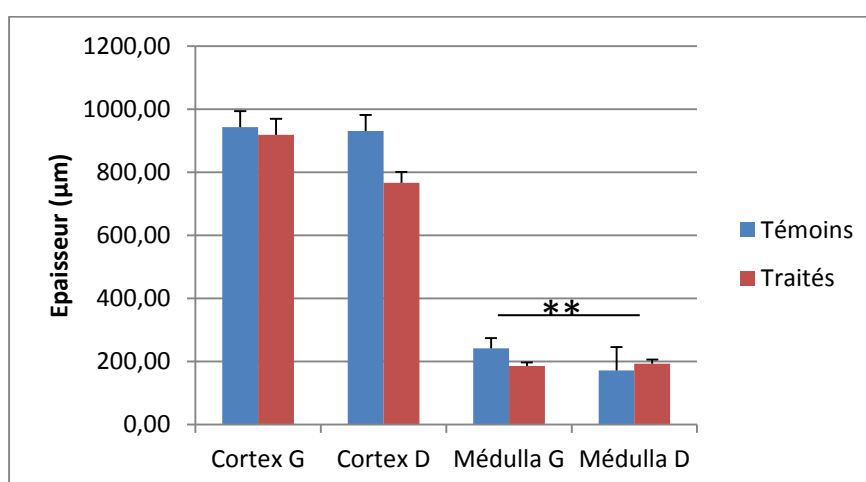


Figure 26 : L'épaisseur du cortex et médulla droite et gauche chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

a/ Impact du traitement sur les épaisseurs du cortex et de la médulla de la surrénale du côté droit puis gauche.

Pour la surrénale droite, l'épaisseur moyenne du cortex est de $931,69 \pm 73,39 \mu\text{m}$ chez les témoins et de $766,62 \pm 193,21 \mu\text{m}$ chez les traités. Alors que l'épaisseur de la médulla est de $172,07 \pm 13,36 \mu\text{m}$ chez les témoins, et $193,21 \pm 13,49 \mu\text{m}$ chez les traités. Les différences d'épaisseur relevées entre les traités et les témoins des deux zones de la surrénale droite ne sont pas significatives statistiquement.

Pour la surrénale gauche, l'épaisseur moyenne du cortex est de $943,46 \pm 32,29 \mu\text{m}$ chez les témoins et de $919,50 \pm 50,34 \mu\text{m}$ chez les traités. Quant à l'épaisseur de la médulla, elle est d'une moyenne de $241,602 \pm 16,74 \mu\text{m}$ chez les témoins et de $186,11 \pm 10,81 \mu\text{m}$ chez les traités (Figure 27). Ainsi, l'épaisseur du cortex de la surrénale gauche chez les traités est

statistiquement comparable à celle des témoins. Au contraire, l'épaisseur de la médulla est moins importante ($P < 0,02$) chez les traités comparativement aux témoins.

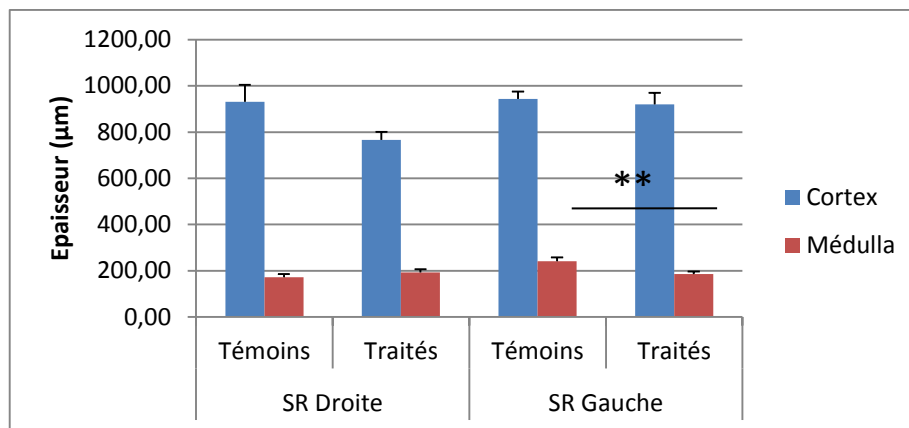


Figure 27 : Epaisseurs du cortex et médulla de la surrénale droite et gauche chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

b/ Impact du traitement sur les épaisseurs du cortex et de la médulla de la surrénale de la moyenne des deux côtés (droit et gauche).

L'épaisseur du cortex des deux surrénales chez les traités $836,11 \pm 33,41 \mu\text{m}$ est inférieure ($P < 0,05$) à celle des témoins $938,03 \pm 36,32 \mu\text{m}$ (Figure 28). Quant à l'épaisseur des médullas, elle est statistiquement la même ($P > 0,05$) chez les traités $189,98 \pm 8,68 \mu\text{m}$, comparativement aux témoins $209,51 \pm 14,49 \mu\text{m}$ (Figure 28).

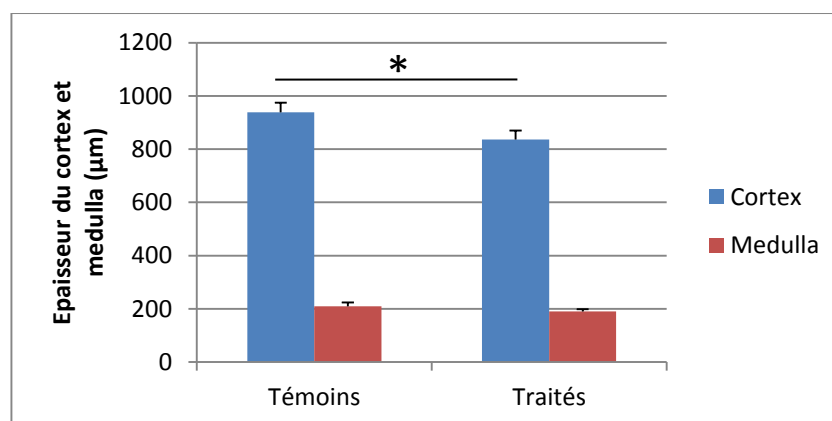


Figure 28 : L'épaisseur du cortex et de la médulla des surrénales droite et gauche chez les lapins témoins et traités au Voliam Targo®.

2.2.3. Epaisseurs des zones corticales

2.2.3.1. La zone glomérulée

La zone glomérulée est une région basophile, elle forme une couche mince bien délimitée sous la capsule. Pour la surrénale droite, les valeurs

moyennes de son épaisseur sont similaires ($P > 0,05$) chez les témoins et les traités : $(102,74 \pm 7,10) \mu\text{m}$ et $(100,15 \pm 4,61) \mu\text{m}$, respectivement. Par contre, pour la surrénale gauche, la valeur moyenne de l'épaisseur de la zone glomérulée est statistiquement ($P < 0,05$) inférieure chez les traités $(99,47 \pm 3,44) \mu\text{m}$ comparativement aux témoins $(114,46 \pm 5,50) \mu\text{m}$ (Figure 29).

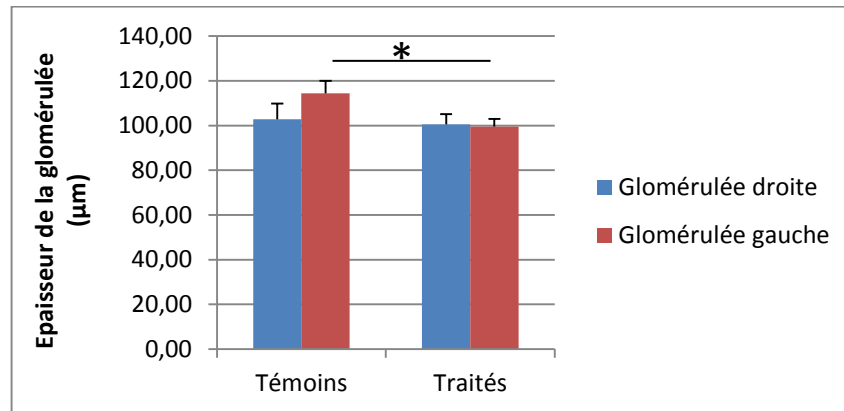


Figure 29 : L'épaisseur de la zone glomérulée de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

En comparant les moyennes des épaisseurs des glomérules des deux côtés, entre les traités et leurs témoins, nous relevons que l'épaisseur glomérulaire des traités $(99,81 \pm 2,82) \mu\text{m}$ est légèrement inférieure ($P > 0,05$) à celle des témoins $(108,60 \pm 4,61) \mu\text{m}$ (Figure 30).

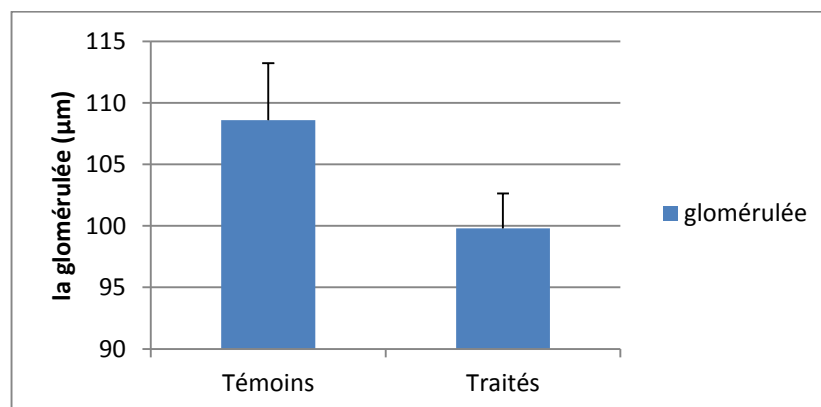


Figure 30 : Epaisseur de la zone glomérulée (Moyenne des deux côtés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

2.2.3.2. Epaisseur de la zone fasciculée

La zone fasciculaire est la zone intermédiaire la plus étendue des trois zones corticales. Elle est en continuité avec les cordons de la zone glomérulaire.

Pour la surrénale droite, l'épaisseur moyenne de la zone fasciculée est de $517,10 \pm 17,48 \mu\text{m}$ chez les témoins vs $468,24 \pm 26,44 \mu\text{m}$ chez les traités. Pour la

surrénale gauche, l'épaisseur moyenne est de $538,04 \pm 27,81 \mu\text{m}$ chez les témoins vs $500,71 \pm 12,65 \mu\text{m}$ chez les traités (Figure 31). Cette zone montre un rétrécissement chez les traités comparativement aux témoins et ce aussi bien pour les surrénales du côté droit que gauche. Cependant cette différence est statistiquement non significative ($P > 0,05$).

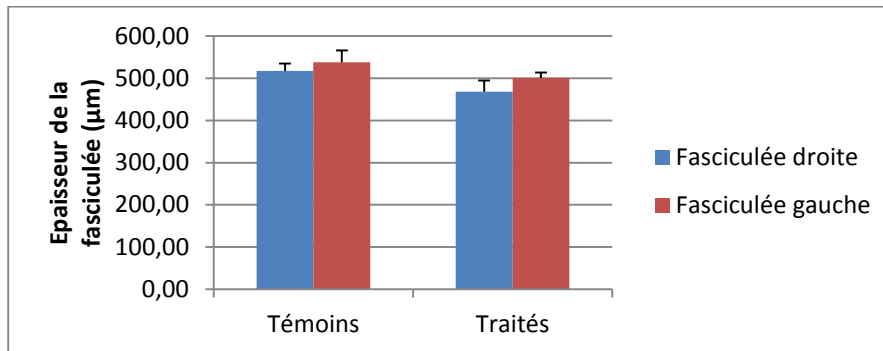


Figure 31 : L'épaisseur de la zone fasciculée de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

En comparant les moyennes des épaisseurs des capsules des deux côtés, entre les traités et leurs témoins, nous relevons que l'épaisseur capsulaire des traités ($483,87 \pm 15,06 \mu\text{m}$) est inférieure ($P > 0,05$) à celle des témoins ($527,57 \pm 15,98 \mu\text{m}$) (Figure 32).

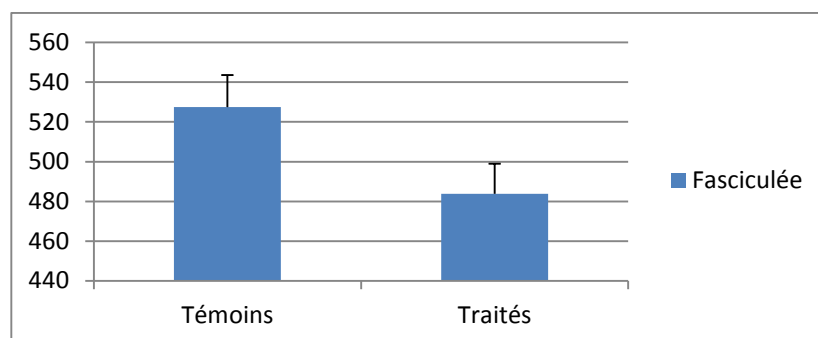


Figure 32 : Epaisseur de la zone fasciculée (Moyenne des deux côtés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

2.2.3.3. Epaisseur de la zone réticulée

La zone réticulaire, peu épaisse, est la plus profonde du cortex et elle est en contact avec la médulla. La limite entre la corticale et la médullaire est très irrégulière ; en effet des cordons de cellules réticulaires peuvent se projeter dans la médulla.

Dans la surrénale droite, l'épaisseur moyenne de la réticulée est inférieure chez les traités ($209,84 \pm 21,66 \mu\text{m}$) comparativement aux témoins ($252,78 \pm 22,17 \mu\text{m}$). A l'inverse, dans la surrénale gauche, l'épaisseur moyenne de cette zone est plus importante chez les traités ($263,96 \pm 18,51 \mu\text{m}$) relativement aux témoins ($243,62 \pm 29,71 \mu\text{m}$) (Figure 33). Cependant, ces différences ne sont pas significatives ($P > 0,05$).

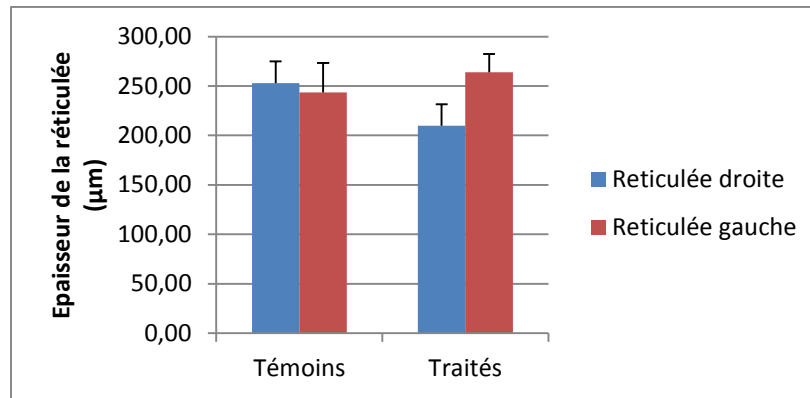


Figure 33 : L'épaisseur de la zone réticulée de la glande droite et gauche des lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

La comparaison des moyennes des épaisseurs de la zone réticulée des deux côtés, entre les traités $236,90 \pm 14,97 \mu\text{m}$ et les témoins $247,44 \pm 18,90 \mu\text{m}$ n'a pas révélée de différence significative ($P > 0,05$) (Figure 34).

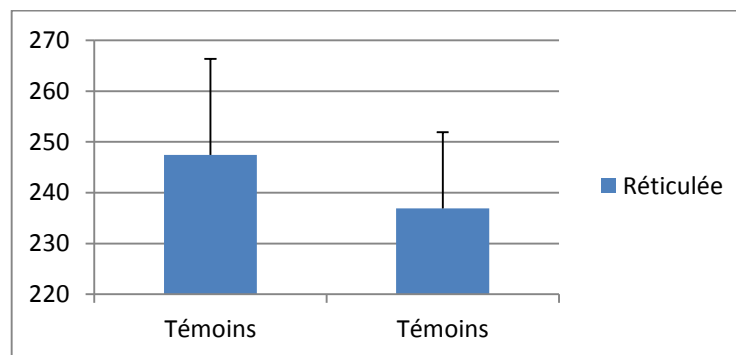


Figure 34 : Epaisseur de la zone réticulée (Moyenne des deux côtés) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

2.3. Caractéristiques histologiques et cytologiques des différentes zones avant et après le traitement avec le Voliam Targo

2.3.1. Zone glomérulée

2.3.1.1. Aspect histologiques de la zone glomérulée des lapins témoins et traités avec le VoliamTargo ®

L'aspect cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités est comparable à celui observé chez les lapins témoins. Les cellules de cette zone se disposent en amas séparés par de fines travées conjonctives, d'un aspect histologique normal (**Planche 2**). Cependant, des différences histo-morphométriques ne sont pas à écarter.

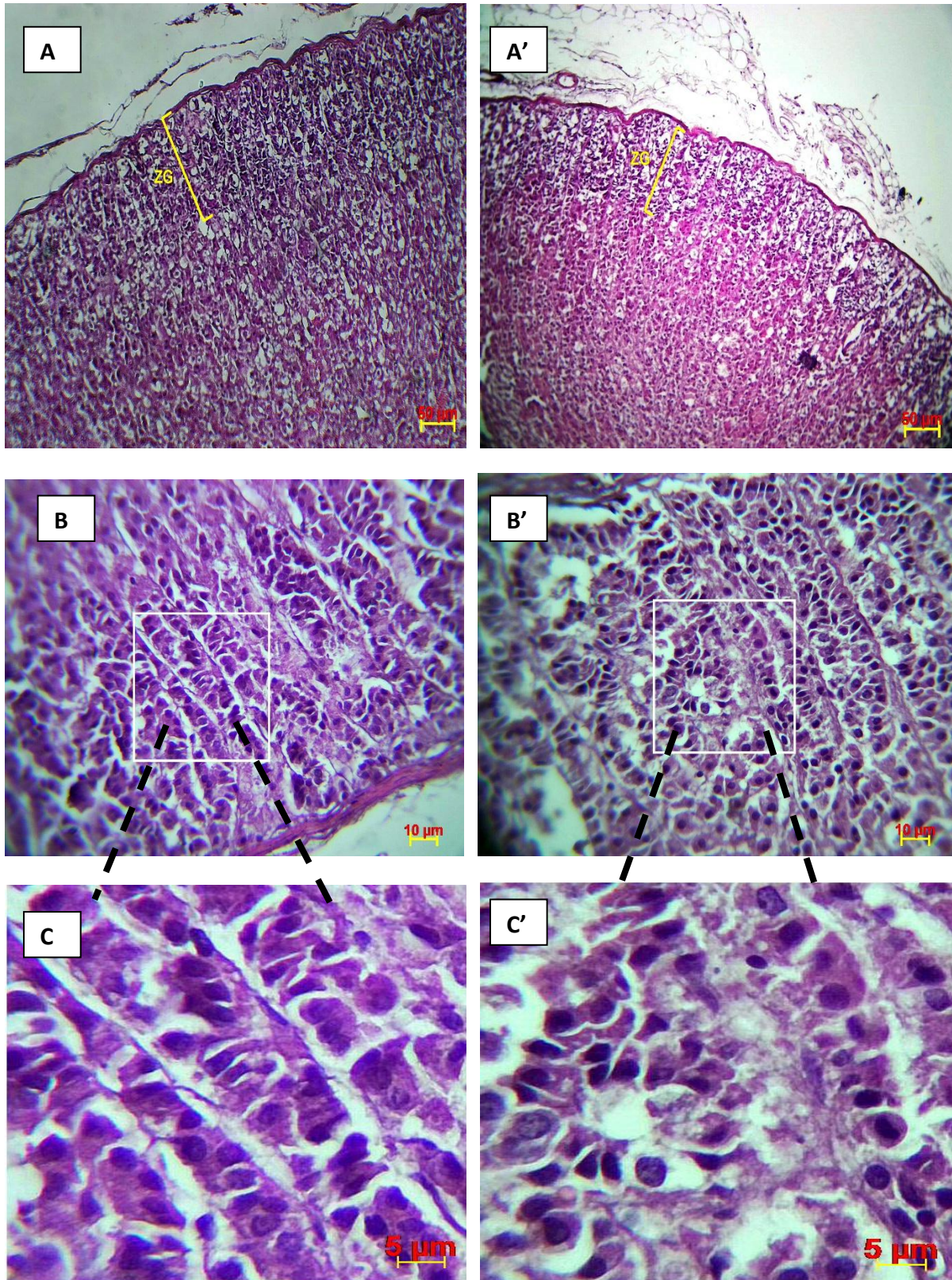


Planche 2 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez les lapins mâles adultes témoins (A, B, C) et traités (A', B', C') par le Voliam Targo ® dans une étude de toxicité sub-chronique (92 jours) montrant la zone glomérulée à différents grossissements : X100 ; X400 ; Coloration HE.

2.3.1.2. Données histo-morphométriques

a/ Surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée

Au niveau de la zone glomérulée, les cellules sont relativement petites, leurs cytoplasmes sont légèrement éosinophiles et contiennent peu de vacuoles lipidiques. Les noyaux sont compacts et rétrécis.

Du point de vue morphométrique, dans la glande surrénale droite, les surfaces cellulaire et nucléaire sont en moyenne de $19,65 \pm 2,57 \mu\text{m}^2$; $4,95 \pm 0,4 \mu\text{m}^2$ respectivement chez les lapins témoins, et de $17,34 \pm 0,82 \mu\text{m}^2$; $4,34 \pm 0,23 \mu\text{m}^2$ respectivement chez les lapins traités (Figure 35). Ces résultats montrent que la surface cellulaire est légèrement moins importante chez les traités ($P > 0,05$). Par ailleurs, dans la glande surrénale gauche, la surface cellulaire et nucléaire sont de $16,64 \pm 0,96 \mu\text{m}^2$; $4,35 \pm 0,28 \mu\text{m}^2$ chez les lapins témoins et de $15,72 \pm 0,73 \mu\text{m}^2$; $4,32 \pm 0,34 \mu\text{m}^2$ chez les lapins traités (Figure 35). La différence de la surface cellulaire n'est pas statistiquement significative ($P > 0,05$).

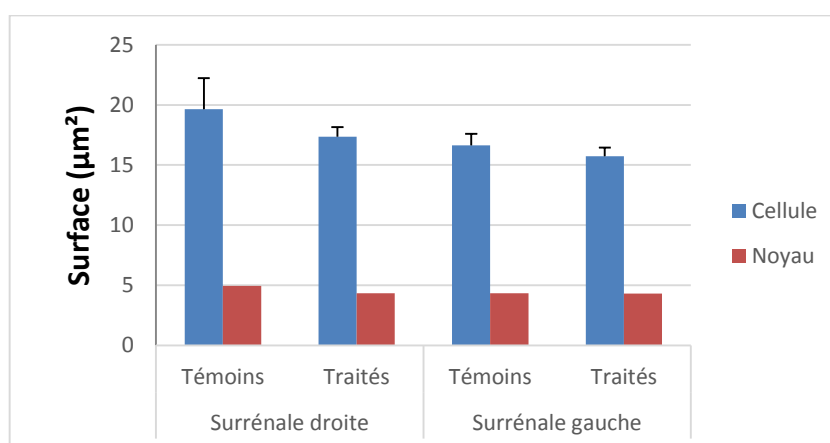


Figure 35 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats présentés sur la figure 36 montrent une diminution de la surface cellulaire chez les traités avec une moyenne de $16,5 \pm 0,56 \mu\text{m}^2$ contre $18,14 \pm 1,38 \mu\text{m}^2$ chez les témoins. Par rapport à la surface nucléaire, aucun changement significatif ($P > 0,05$) n'est observé entre les traités ($4,33 \pm 0,2 \mu\text{m}^2$) et les témoins ($4,64 \pm 0,25 \mu\text{m}^2$).

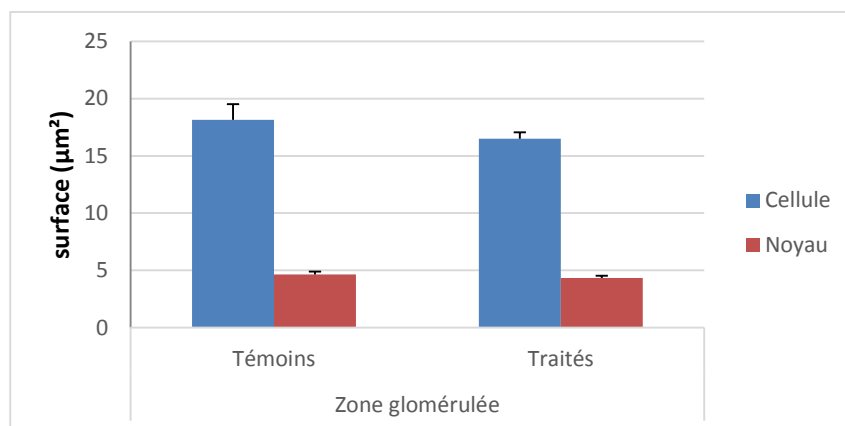


Figure 36 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

b / Diamètre / périmètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée

Le diamètre et le périmètre, cellulaire et nucléaire, des surrénales droites sont de $5,38 \pm 0,29 \mu\text{m}$; $18,23 \pm 1 \mu\text{m}$ pour les cellules et de $2,9 \pm 0,42 \mu\text{m}$; $8,56 \pm 0,32 \mu\text{m}$ pour les noyaux chez les témoins, et de $5,37 \pm 0,14 \mu\text{m}$; $17,92 \pm 0,47 \mu\text{m}$ pour les cellules et de $2,36 \pm 0,06 \mu\text{m}$; $8,05 \pm 0,2 \mu\text{m}$ pour les noyaux chez les traités (Figure 37 et 38). Le diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire mesurer ne montre aucun changement significatif entre les deux traités et les témoins ($P > 0,05$).

Le diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire des surrénales gauches sont d'une moyenne ($5,21 \pm 0,16 \mu\text{m}$; ($17,53 \pm 0,51 \mu\text{m}$) pour les cellules, et de ($2,36 \pm 0,07 \mu\text{m}$; ($8,06 \pm 0,24 \mu\text{m}$) pour les noyaux chez les témoins, et de ($5,13 \pm 0,18 \mu\text{m}$; ($17,02 \pm 0,58 \mu\text{m}$) pour les cellules et de ($2,4 \pm 0,12 \mu\text{m}$; ($7,37 \pm 0,49 \mu\text{m}$) pour les noyaux chez les traités (Figure 37 et 38). Le diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire mesurés ne présentent aucune différence significative ($P > 0,05$).

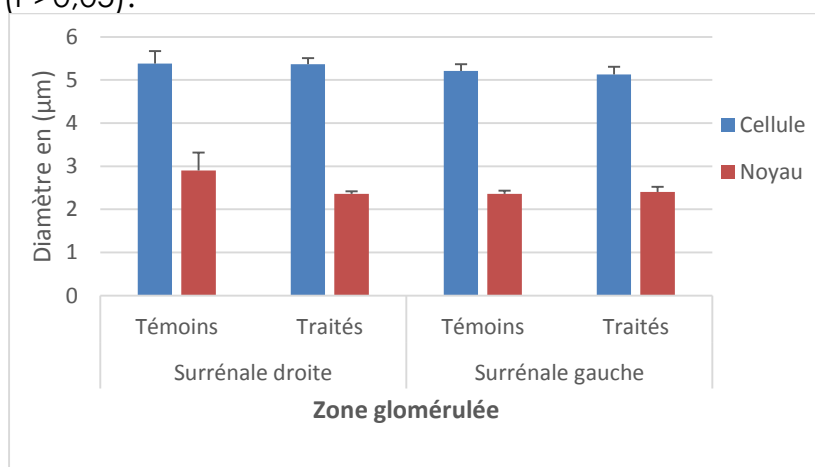


Figure 37 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

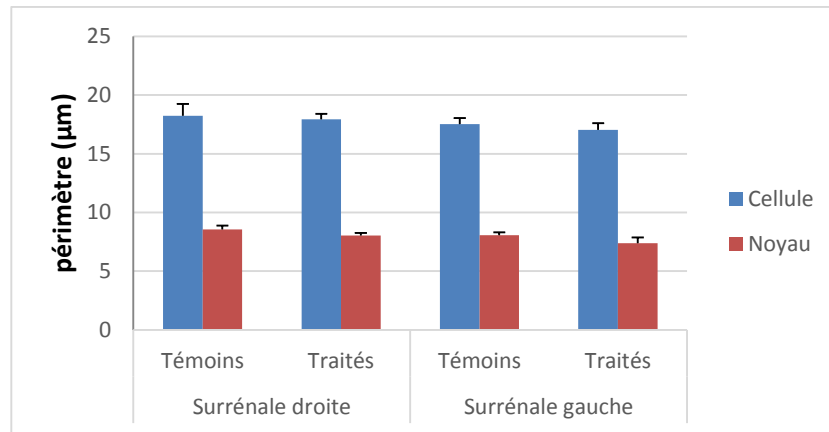


Figure 38 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats des valeurs moyennes des deux surrénales (gauche et droite) du diamètre et périmètre pour les deux lots sont représentés dans les figures 39 et 40, et ne montrent aucune différence significative ($P > 0,05$) au niveau cellulaire et nucléaire. Les valeurs concernant les traités, sont pour le diamètre et le périmètre, respectivement $5,24 \pm 0,13 \mu\text{m}$; $17,45 \pm 0,38 \mu\text{m}$ pour la cellule et $2,38 \pm 0,07 \mu\text{m}$; $7,7 \pm 0,27 \mu\text{m}$ pour le noyau. Par Ailleurs, les valeurs moyenne de $5,3 \pm 0,16 \mu\text{m}$; $17,88 \pm 0,55 \mu\text{m}$ pour la cellule et de $2,63 \pm 0,22 \mu\text{m}$; $8,31 \pm 0,2 \mu\text{m}$ pour le noyau sont obtenues chez les témoins.

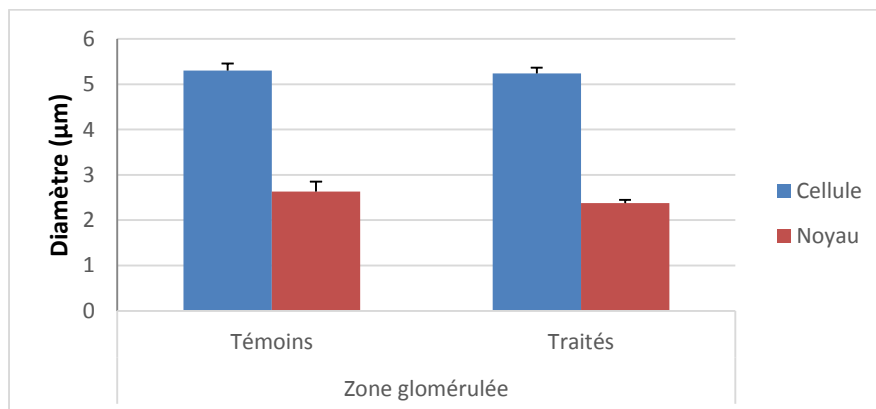


Figure 39 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

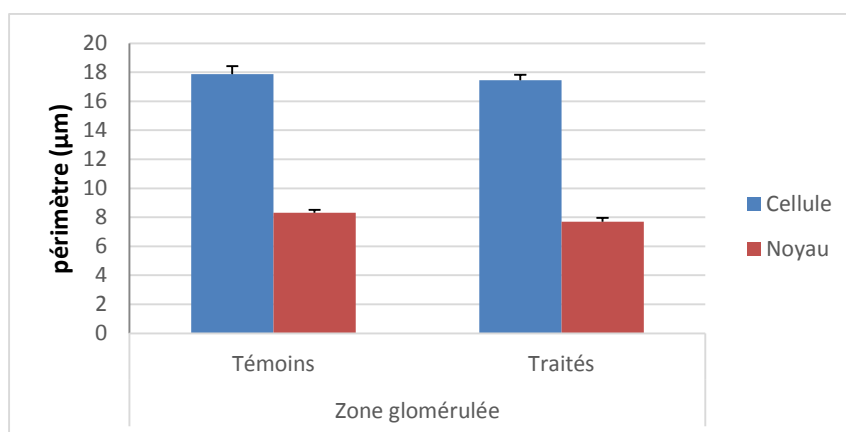


Figure 40 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

c/ Volume et rapport nucléo-cytoplasmique de la zone glomérulée

Le volume cellulaire et nucléaire de la surrénale droite sont de $(95,4 \pm 18,18) \mu\text{m}^3$; $(9,33 \pm 0,96) \mu\text{m}^3$ chez les témoins et de $(90,5 \pm 7,72) \mu\text{m}^3$; $(7,47 \pm 0,53) \mu\text{m}^3$ chez les traités (Figure 41). Une légère diminution de volume nucléaire et cellulaire observée chez les traités mais cette divergence n'est pas statistiquement significative ($P > 0,05$).

Le rapport nucléocytoplasmique (RNC) chez les traités est de $(0,12 \pm 0,01)$ et présente une différence non significative ($P > 0,05$) avec celui des témoins $(0,15 \pm 0,03)$ (Figure 42).

Le volume cellulaire et nucléaire de la surrénale gauche sont de $(81,1 \pm 8,07) \mu\text{m}^3$; $(7,34 \pm 0,61) \mu\text{m}^3$ chez les témoins et de $(79,95 \pm 9,55) \mu\text{m}^3$; $(6,92 \pm 0,61) \mu\text{m}^3$ chez les traités (Figure 41). Aucune différence significative n'est observée chez les traités ($P > 0,05$).

Le RNC chez les traités est de $(0,12 \pm 0,008)$ et ne présente aucune différence significative ($P > 0,05$) avec celui des témoins $(0,13 \pm 0,01)$ (Figure 42).

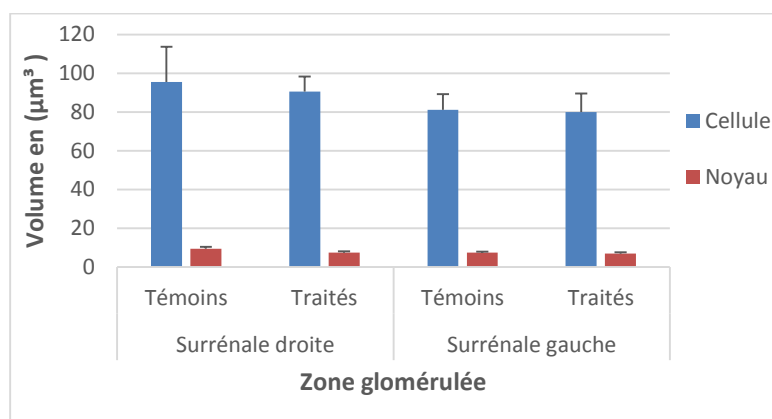


Figure 41 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

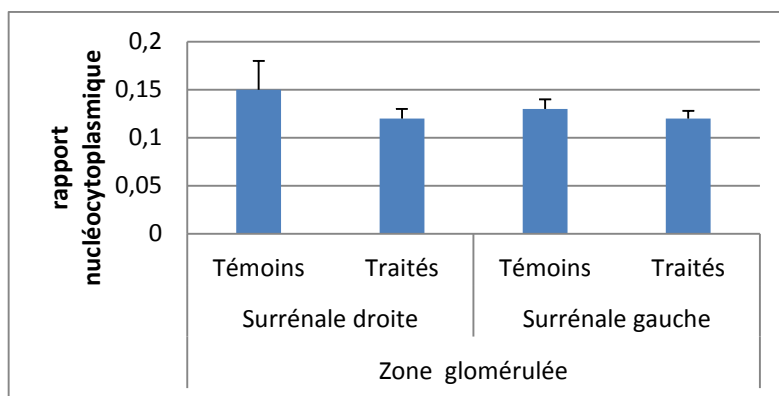


Figure 42 : Le rapport nucléo-cytoplasmique de la zone glomérulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats comparatifs du volume nucléaire et cellulaire des deux lots témoins et traités présentés sur la figure (43) montrent une faible diminution du volume nucléaire et cellulaire chez les lapins traités d'une valeur moyenne de $(85,01 \pm 6,16) \mu\text{m}^3$ pour la cellule et de $(7,17 \pm 0,4) \mu\text{m}^3$ pour le noyau, comparé aux témoins qui présentent une valeur moyenne de $(88,25 \pm 9,76) \mu\text{m}^3$ pour les cellules, et de $(8,33 \pm 0,61) \mu\text{m}^3$ pour les noyaux. Cette diminution n'est pas significative ($P > 0,05$).

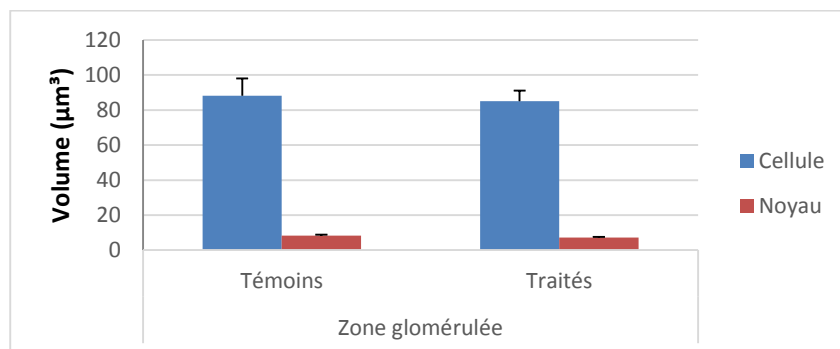


Figure 43 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée (moyenne des 2 surrénales) chez les lapins traités au VT® comparé aux témoins.

2.3.2. Zone fasciculée

2.3.2.1. Aspect histologique de la zone fasciculée des lapins témoins et traités avec le VoliamTargo®

L'aspect cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités est comparable à celui observé chez les lapins témoins. Les cellules de cette zone sont constituées d'un cytoplasme spumeux riche en gouttelettes lipidiques. On observe des noyaux pycnotiques avec un contour plus ou moins arrondis, les cellules se disposent en amas séparés par de fines travées conjonctives. Cette zone présente un aspect histologique comparable à celui des témoins (**Planche 3**).

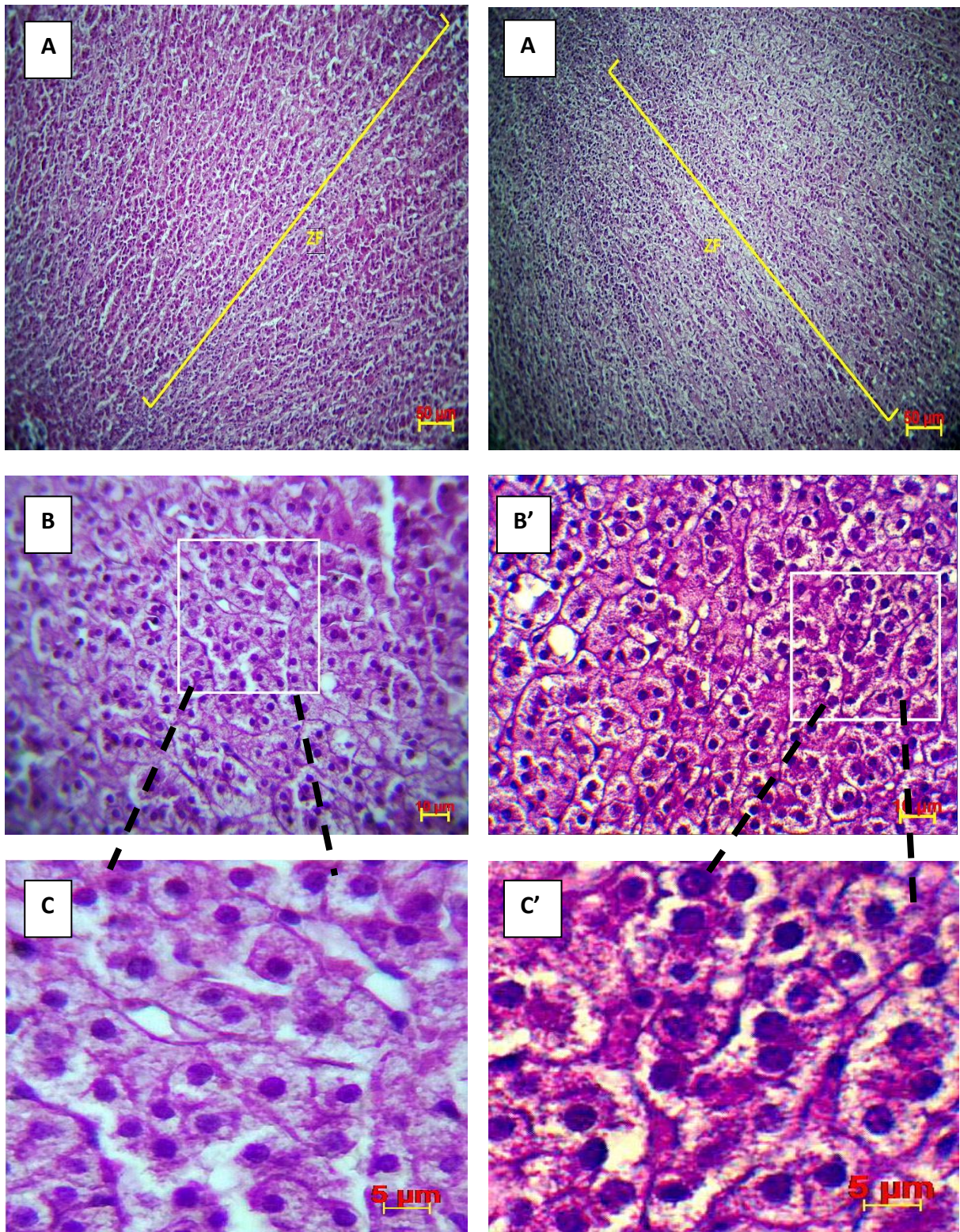


Planche 3 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez les lapins mâles adultes témoins (A, B, C) et traités (A', B', C') par le Voliam Targo® dans une étude de toxicité chronique (92 jours) montrant la zone fasciculée ; A différents grossissement : X100 ; X400 ; coloration HE.

2.3.2.2. Données morphométriques

a/ Surface cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée

Les cellules de la zone fasciculée sont polygonales et arrondies avec un noyau situé au centre et sont disposées en cordons relativement parallèles entre eux et perpendiculaires à la surface de l'organe, la disposition en colonnes est moins évidente près de la jonction corticomédullaire. Les capillaires sinusoides situées entre ces cordons affectent la même disposition radiaire. Parfois collabés, ils se distinguent par les noyaux allongés de leurs cellules endothéliales. Les cellules endocrines de la zone fasciculaire sont plus volumineuses et plus riches en enclaves lipidiques que celles de la zone glomérulaire, ce qui leur confère un aspect de spongiocyte.

La surface cellulaire et nucléaire est d'une valeur moyenne de $(42,46 \pm 6,66) \mu\text{m}^2$; $(7,01 \pm 0,61) \mu\text{m}^2$ chez les lapins témoins, et de $(33,12 \pm 3,41) \mu\text{m}^2$; $(5,74 \pm 0,25) \mu\text{m}^2$ chez les lapins traités (Figure 44). Ces résultats montrent une diminution de la surface cellulaire et nucléaire chez les traités, cette différence est non significative ($P > 0,05$).

Dans la glande surrénale gauche la surface cellulaire et nucléaire sont d'une valeur moyenne de $(36,25 \pm 4,93) \mu\text{m}^2$; $(6,15 \pm 0,67) \mu\text{m}^2$ chez les lapins témoins et de $(34,95 \pm 3,46) \mu\text{m}^2$; $(5,38 \pm 0,25) \mu\text{m}^2$ chez les lapins traités (Figure 44). Ces résultats montrent une légère diminution non significative ($P > 0,05$) de la surface cellulaire chez les traités.

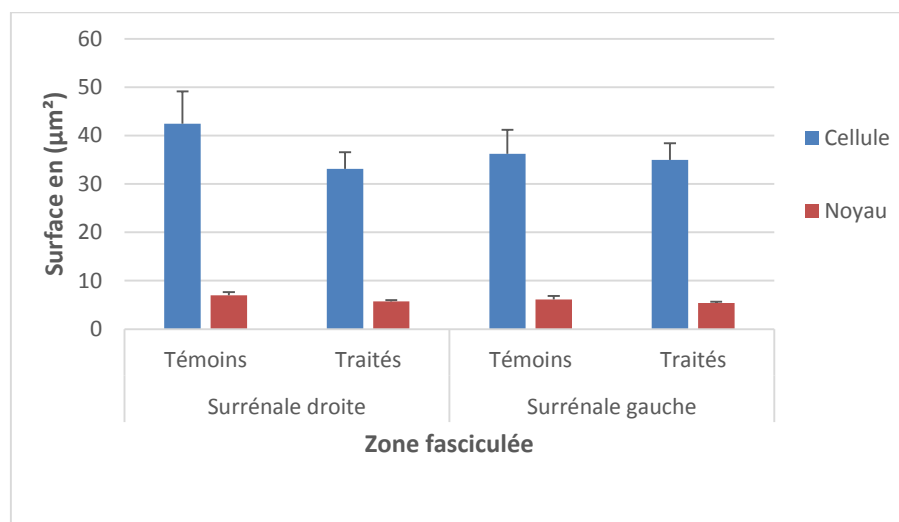


Figure 44 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats présentés sur la figure (45) montrent une diminution de la surface cellulaire et nucléaire chez les traités qui ont une valeur moyenne de $(34,03 \pm 2,38 ; 5,56 \pm 0,18) \mu\text{m}^2$ contre une valeur de $(39,35 \pm 4,07 ; 6,58 \pm 0,45) \mu\text{m}^2$ chez les témoins. Cette diminution n'est pas significative ($P > 0,05$).

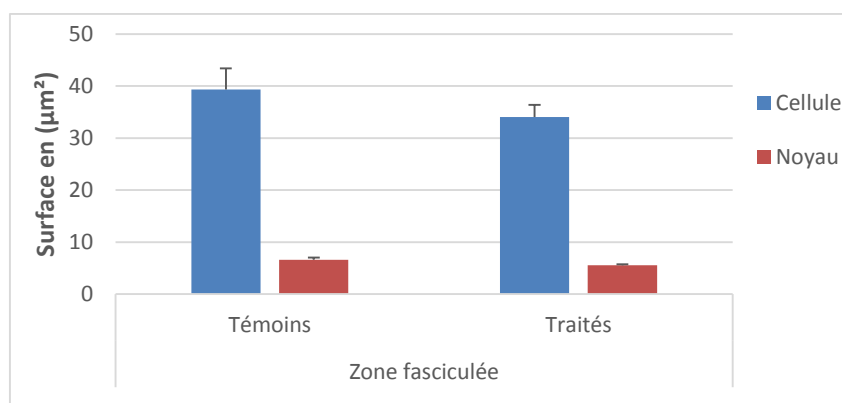


Figure 45 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

b/ Diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée

Le diamètre et le périmètre cellulaire et nucléaire des surrénales droites sont d'une moyenne de $(7,51 \pm 0,6)$ µm ; $(24,94 \pm 2)$ µm pour les cellules et de $(2,96 \pm 0,13)$ µm ; $(10,08 \pm 0,45)$ µm pour les noyaux chez les témoins, et de $(6,82 \pm 0,38)$ µm ; $(22,45 \pm 1,21)$ µm pour les cellules et de $(2,66 \pm 0,06)$ µm ; $(9,1 \pm 0,2)$ µm pour les noyaux chez les traités (Figure 46 et 47). Le diamètre et le périmètre cellulaire et nucléaire mesurés ne montrent aucun changement chez les deux lots. Statistiquement, la différence est non significative ($P > 0,05$).

Le diamètre et le périmètre cellulaire et nucléaire des surrénales gauches sont d'une moyenne de $(7,25 \pm 0,53)$ µm ; $(23,93 \pm 1,66)$ µm pour les cellules, et de $(2,75 \pm 0,14)$ µm ; $(9,29 \pm 0,48)$ µm pour les noyaux chez les témoins, et de $(7,05 \pm 0,38)$ µm ; $(23,09 \pm 1,2)$ µm pour les cellules et de $(2,57 \pm 0,06)$ µm ; $(8,68 \pm 0,17)$ µm pour les noyaux chez les traités (Figure 46 et 47). Le diamètre et le périmètre cellulaire et nucléaire mesurés ne présentent aucune différence significative ($P > 0,05$).

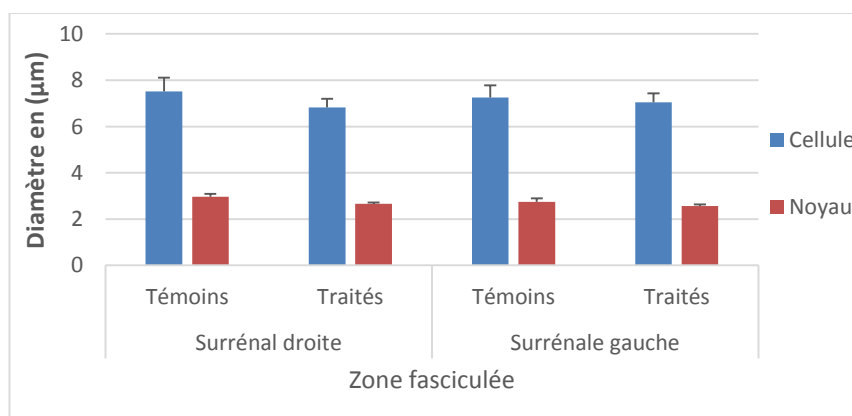


Figure 46 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

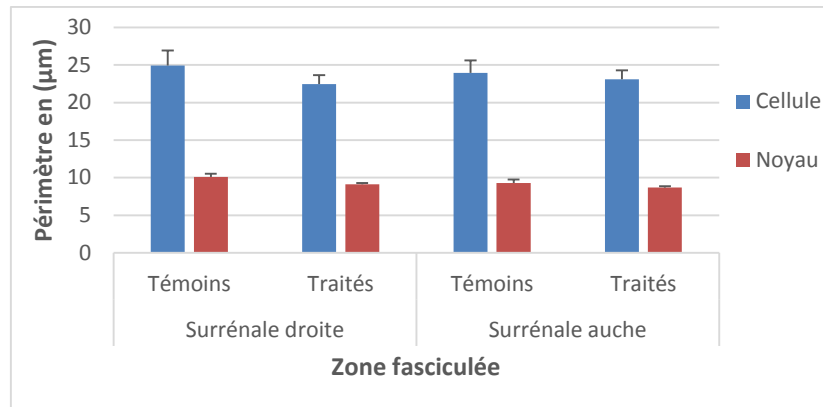


Figure 47 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats comparatifs du diamètre et périmètre des deux lots représentés dans la figure (48 et 49) ne montrent aucun changement significatif ($P > 0,05$). Concernant la cellule et le noyau, les valeurs moyennes du diamètre et du périmètre sont respectivement de $(6,94 \pm 0,26) \mu\text{m}$; $(22,77 \pm 0,83) \mu\text{m}$ pour la cellule et de $(2,62 \pm 0,04) \mu\text{m}$; $(8,9 \pm 0,14) \mu\text{m}$ pour le noyau chez les traités, et une valeur moyenne de $(7,38 \pm 0,38) \mu\text{m}$; $(24,44 \pm 1,25) \mu\text{m}$ pour la cellule et de $(2,85 \pm 0,1) \mu\text{m}$; $(9,69 \pm 0,33) \mu\text{m}$ pour le noyau chez les témoins.

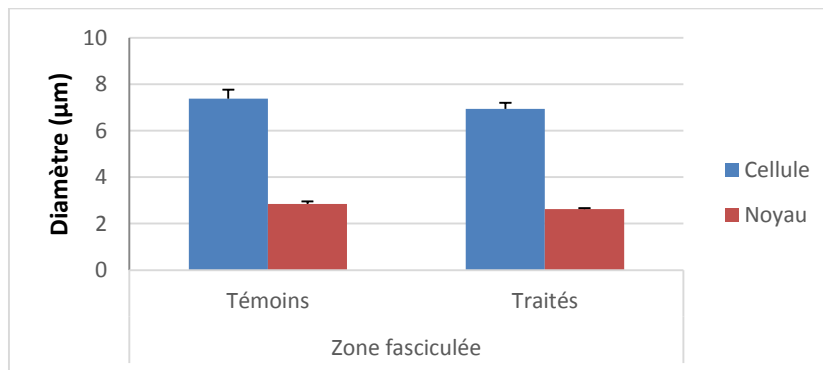


Figure 48 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

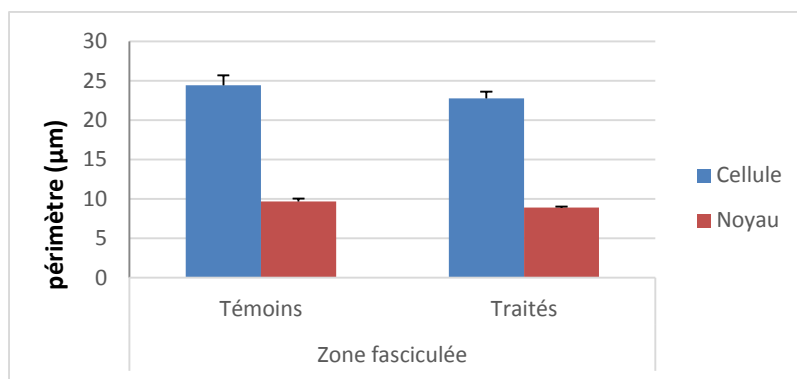


Figure 49 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

c/ Volume et rapport nucléo-cytoplasmique de la zone fasciculée

Le volume cellulaire et nucléaire de la surrénale droite sont d'une valeur de $(275,64 \pm 70,66) \mu\text{m}^3$; $(14,71 \pm 1,92) \mu\text{m}^3$ chez les témoins et de $(195,9 \pm 32,15) \mu\text{m}^3$; $(10,36 \pm 0,66) \mu\text{m}^3$ chez les traités (Figure 50). Une diminution du volume nucléaire et cellulaire observé chez les traités mais cette divergence n'est pas statistiquement significative ($P > 0,05$). Le rapport nucléo-cytoplasmique (RNC) chez les traités est de $(0,09 \pm 0,01)$ et présente une différence non significative ($P > 0,05$), comparé à celui des témoins $(0,08 \pm 0,01)$ (Figure 51).

Le volume cellulaire et nucléaire de la surrénale gauche sont d'une moyenne de $(233,88 \pm 55,48) \mu\text{m}^3$; $(11,92 \pm 1,99) \mu\text{m}^3$ chez les témoins et de $(216,1 \pm 33,51) \mu\text{m}^3$; $(9,49 \pm 0,7) \mu\text{m}^3$ chez les traités (Figure 50). Aucune différence significative n'est observée chez les traités ($P > 0,05$). Le RNC moyen chez les traités est de $(0,07 \pm 0,01)$ et ne présente aucune différence significative ($P > 0,05$), semblable avec celui des témoins $(0,07 \pm 0,007)$ (Figure 51).

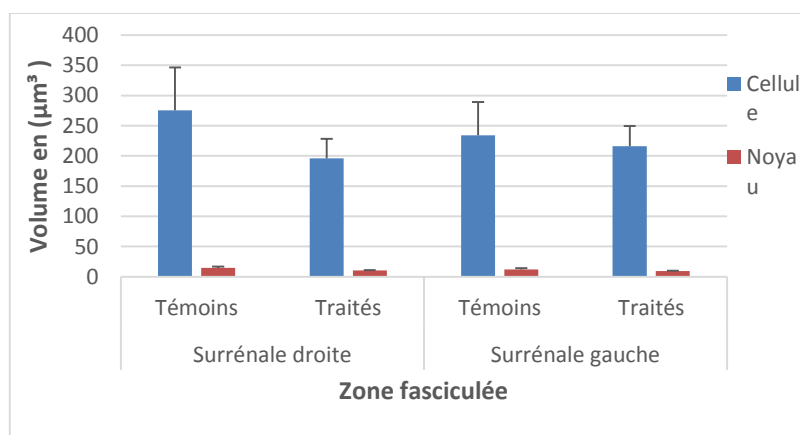


Figure 50 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

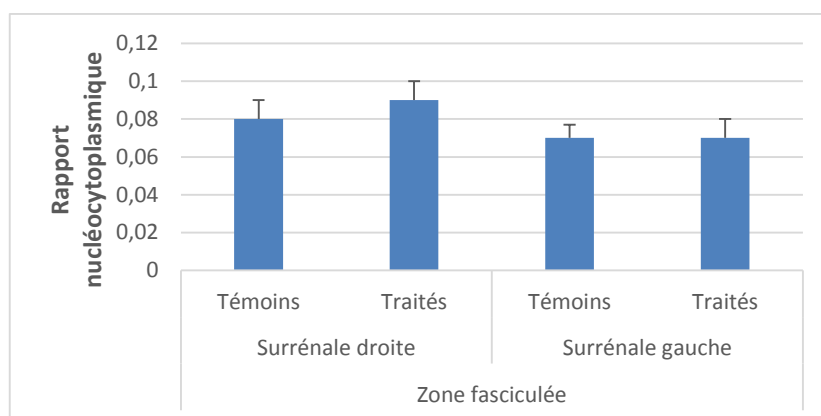


Figure 51 : Le rapport nucléo-cytoplasmique de la zone fasciculée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats comparatifs du volume nucléaire et cellulaire des deux lots témoins et traités présentés sur la figure (52) montrent une faible diminution du volume nucléaire et cellulaire chez les lapins traités d'une valeur moyenne de $(206 \pm 22,81) \mu\text{m}^3$ pour la cellule et de $(9,93 \pm 0,48) \mu\text{m}^3$ pour le noyau, comparé aux témoins qui présentent une valeur moyenne de $(254,76 \pm 43,54) \mu\text{m}^3$ pour la cellule, et de $(13,32 \pm 1,38) \mu\text{m}^3$ pour le noyau. Cette diminution n'est pas significative ($P > 0,05$).

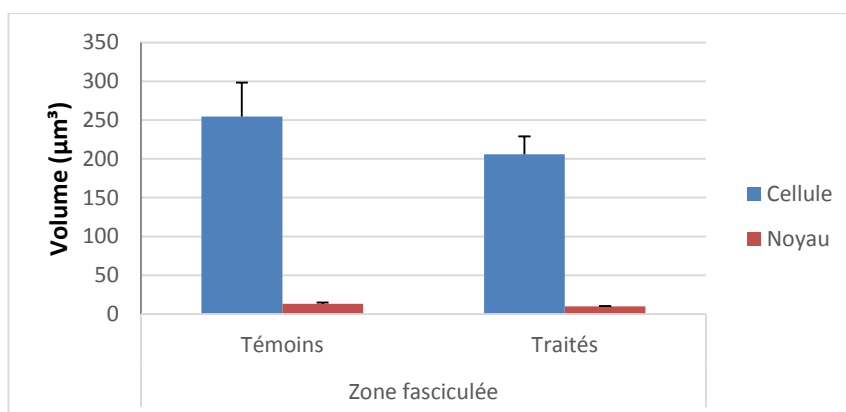


Figure 52 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée (moyenne des surrénale ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

2.3.3. Zone réticulée

2.3.3.1. Aspect histologique de la zone réticulée des lapins témoins et traités avec le Voliam Targo®

L'observation microscopique et l'étude morphologique indique des modifications cellulaires notables entre les deux lots expérimentaux, on observe chez les traités de nombreuses cellules de petites tailles de forme arrondi, avec un cytoplasme d'aspect spumeux, leurs noyaux présentent un aspect dense occupant la totalité de cytoplasme (**Planche 4**).

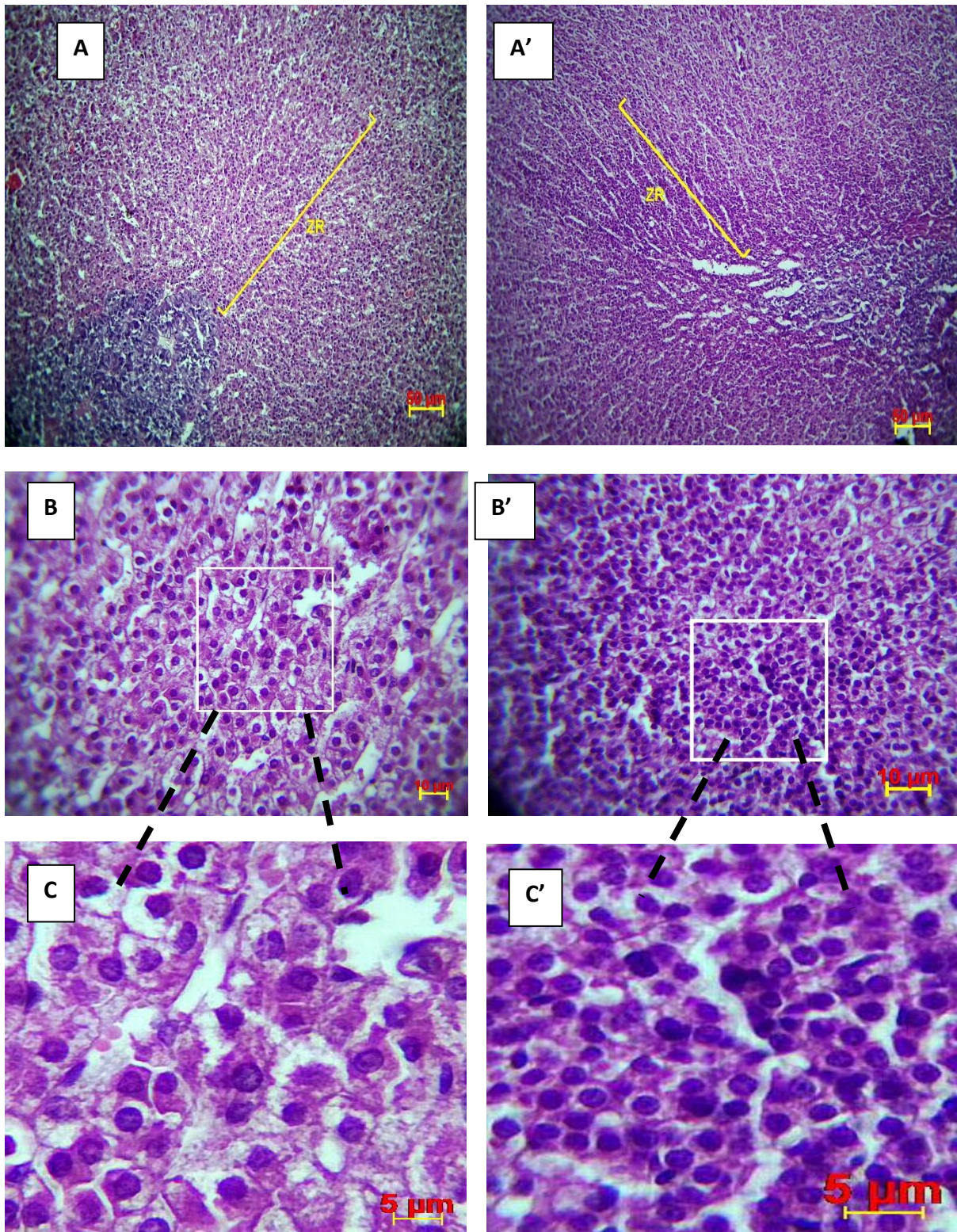


Planche 4 : coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez les lapins mâles adultes témoins (A, B, C) et traités (A', B', C') par le Voliam Targo ® dans une étude de toxicité sub-chronique (92 jours) montrant la zone réticulée, à différents grossissement : X100 ; X400 ; Coloration HE.

2.3.3.2. Données morphométriques

a/ Surface cellulaire et nucléaire de la zone réticulée

A ce niveau, les cordons cellulaires perdent leur orientation parallèle et s'anastomosent en un réseau, leurs cellules contiennent peu d'enclaves lipidiques mais sont riches en pigments de lipofuscine qui leur confèrent un aspect plus foncé (Planche 4). Les résultats morphométriques obtenus sur des zones qui ne présentent pas de lésions sont présentés comme suit :

Dans la glande surrénale droite la surface cellulaire et nucléaire est d'une valeur moyenne de $(26,53 \pm 1,97) \mu\text{m}^2$; $(5,98 \pm 0,26) \mu\text{m}^2$ chez les lapins témoins et de $(16,92 \pm 2,9) \mu\text{m}^2$; $(3,98 \pm 0,54) \mu\text{m}^2$ chez les lapins traités (Figure 53). Ces résultats montrent une diminution très significative ($P= 0,01$) de la surface cellulaire, et une différence de surface nucléaire hautement significative ($P=0,001$) chez les traités.

Dans la glande surrénale gauche la surface cellulaire et nucléaire est d'une valeur moyenne de $(26,31 \pm 2,84) \mu\text{m}^2$; $(5,17 \pm 0,37) \mu\text{m}^2$ chez les lapins témoins et de $(18,56 \pm 1,91) \mu\text{m}^2$; $(4,63 \pm 0,29) \mu\text{m}^2$ chez les lapins traités. (Figure 53). Ces résultats montrent une diminution non significative ($P>0,05$) de la surface nucléaire, par contre on note une diminution d'une différence significative ($P<0,05$) concernant la surface cellulaire chez les traités.

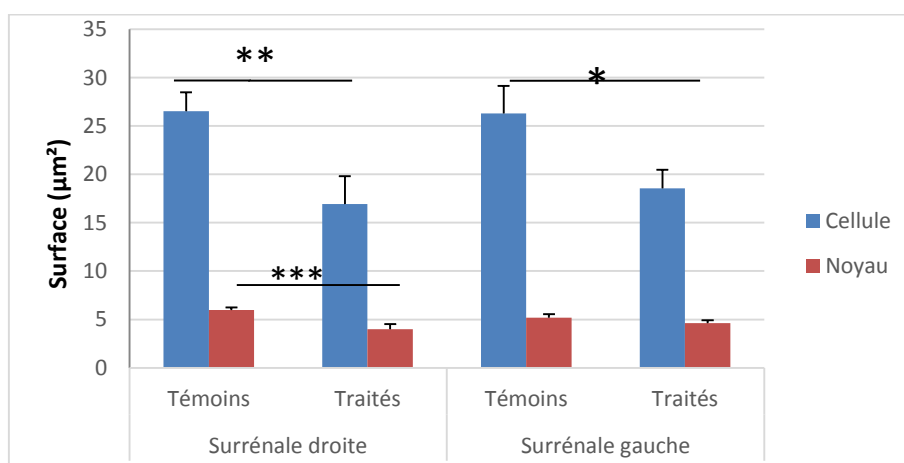


Figure 53 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone réticulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats présentés sur la figure (54) montrent une diminution de la surface cellulaire et nucléaire chez les traités qui est d'une valeur moyenne de $(17,78 \pm 1,67) \mu\text{m}^2$ pour la cellule et de $(4,32 \pm 0,3) \mu\text{m}^2$ pour le noyau, contre une valeur moyenne de $(26,42 \pm 1,66) \mu\text{m}^2$ pour la cellule et de $(5,57 \pm 0,24) \mu\text{m}^2$ pour le noyau chez les témoins. On observe une diminution très significative ($P<0,01$) de la surface cellulaire et une diminution hautement significative ($P<0,001$) de la surface nucléaire chez les traités.

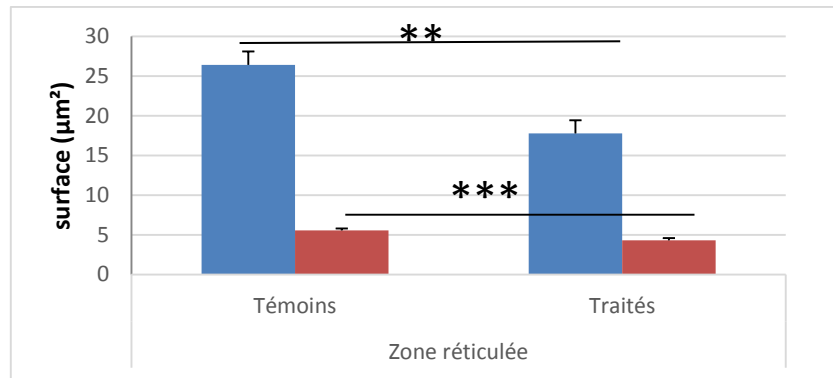


Figure 54 : La surface cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

b/ Diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée

Le diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire des surrénales droites sont de $(6,01 \pm 0,23) \mu\text{m}$; $(20,04 \pm 0,79) \mu\text{m}$ pour les cellules et de $(2,74 \pm 0,06) \mu\text{m}$; $(9,38 \pm 0,21) \mu\text{m}$ pour les noyaux chez les témoins, et de $(4,43 \pm 0,6) \mu\text{m}$; $(14,72 \pm 1,97) \mu\text{m}$ pour les cellules et de $(2,09 \pm 0,25) \mu\text{m}$; $(7,16 \pm 0,85) \mu\text{m}$ pour les noyaux chez les traités (Figures 55 et 56).

Le diamètre et périmètre nucléaire ont bien diminué et sont marqués par une différence hautement significative de $(P < 0,001)$, accompagné par une diminution du diamètre et périmètre cellulaire d'une différence statistique très significative $(P < 0,01)$ de la surrénale droite chez les lapins traités comparé à celle des témoins.

Le diamètre et périmètre cellulaire et nucléaire des surrénales gauches sont de $(6,07 \pm 0,39) \mu\text{m}$; $(20,04 \pm 1,24) \mu\text{m}$ pour les cellules, et de $(2,53 \pm 0,09) \mu\text{m}$; $(8,61 \pm 0,31) \mu\text{m}$ pour les noyaux chez les témoins, et de $(5,02 \pm 0,28) \mu\text{m}$; $(16,45 \pm 0,87) \mu\text{m}$ pour les cellules et de $(2,39 \pm 0,07) \mu\text{m}$; $(8,1 \pm 0,24) \mu\text{m}$ pour les noyaux chez les traités (Figures 55 et 56).

Le diamètre et périmètre cellulaire mesurés ne présentent aucune différence significative $(P > 0,05)$. Par contre le diamètre et périmètre nucléaire présentent une différence significative $(P < 0,05)$.

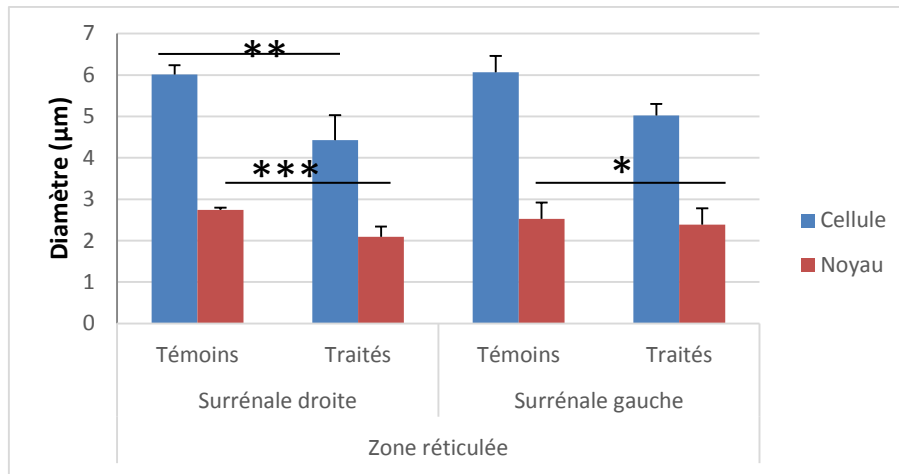


Figure 55 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

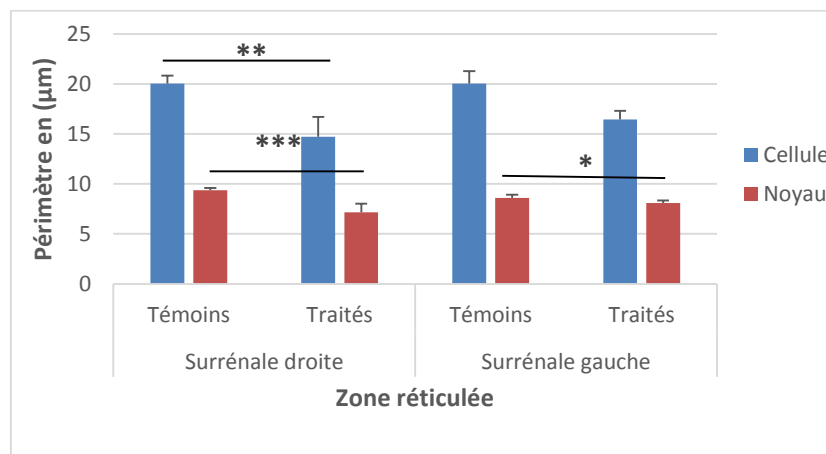


Figure 56 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats comparatifs du diamètre et périmètre des deux lots représentés dans la figure (57) et (58) montrent une différence hautement significative ($P < 0,001$) au niveau cellulaire et nucléaire de la zone réticulée des traités. Les valeurs moyennes du diamètre et du périmètre sont respectivement de $(4,74 \pm 0,32) \mu\text{m}$; $(15,62 \pm 1,03) \mu\text{m}$ pour la cellule et de $(2,25 \pm 0,12) \mu\text{m}$; $(7,65 \pm 0,43) \mu\text{m}$ pour le noyau chez les traités, et une valeur moyenne de $(6,04 \pm 0,22) \mu\text{m}$; $(20,04 \pm 0,7) \mu\text{m}$ pour les cellules et de $(2,64 \pm 0,06) \mu\text{m}$; $(9 \pm 0,21) \mu\text{m}$ pour les noyaux chez les témoins.

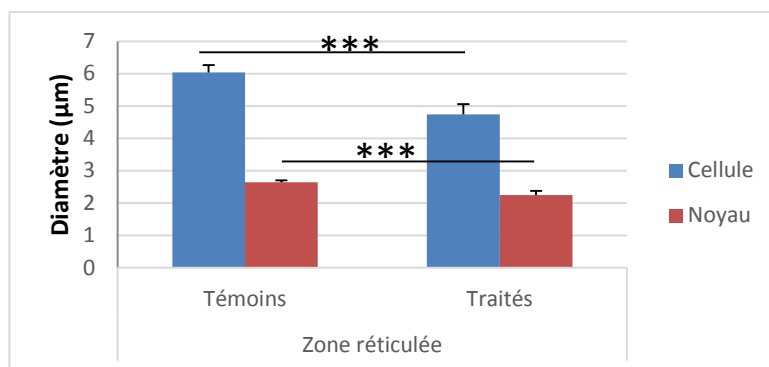


Figure 57 : Le diamètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

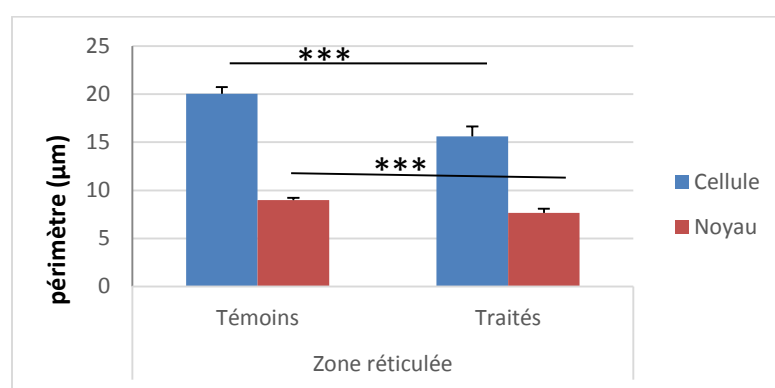


Figure 58 : Le périmètre cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

c/ Volume et rapport nucléo-cytoplasmique de la zone réticulée

Le volume cellulaire et nucléaire de la surrénale droite sont de $(123,89 \pm 13,43) \mu\text{m}^3$; $(11,3 \pm 0,76) \mu\text{m}^3$ chez les témoins et de $(67,21 \pm 14,75) \mu\text{m}^3$; $(6,33 \pm 0,95) \mu\text{m}^3$ chez les traités (Figure 59). Une diminution de volume nucléaire est observée, d'une différence hautement significative ($P < 0,001$), et une diminution très significative de volume cellulaire observé chez les traités.

Le rapport nucléo-cytoplasmique (RNC) chez les traités est de $(0,15 \pm 0,04)$ et présente une différence non significative ($P > 0,05$) avec celui des témoins $(0,12 \pm 0,01)$ (Figure 60).

Le volume cellulaire et nucléaire de la surrénale gauche sont de $(132,23 \pm 22,86) \mu\text{m}^3$; $(8,88 \pm 0,9) \mu\text{m}^3$ chez les témoins et de $(75,29 \pm 13,48) \mu\text{m}^3$; $(7,53 \pm 0,72) \mu\text{m}^3$ chez les traités (Figure 59). Aucune différence significative ($P > 0,05$) n'est observée chez les traités.

Le RNC chez les traités est de $(0,14 \pm 0,01)$ et ne présente aucune différence significative ($P > 0,05$) avec celui des témoins $(0,1 \pm 0,02)$ (Figure 60).

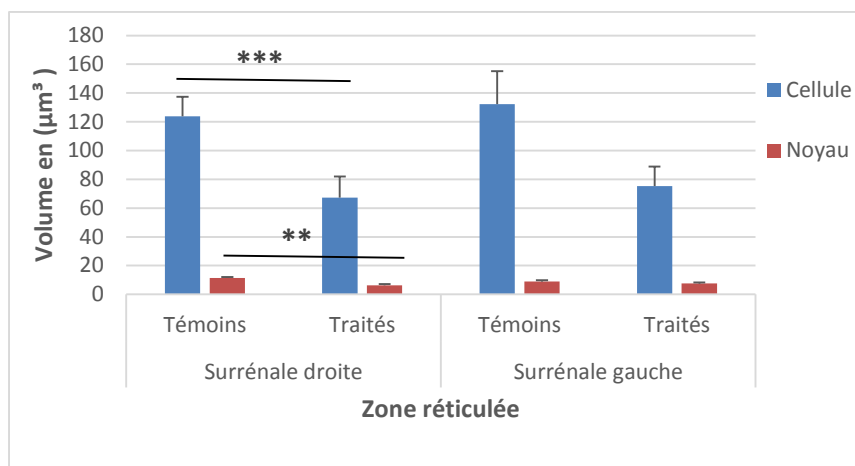


Figure 59 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

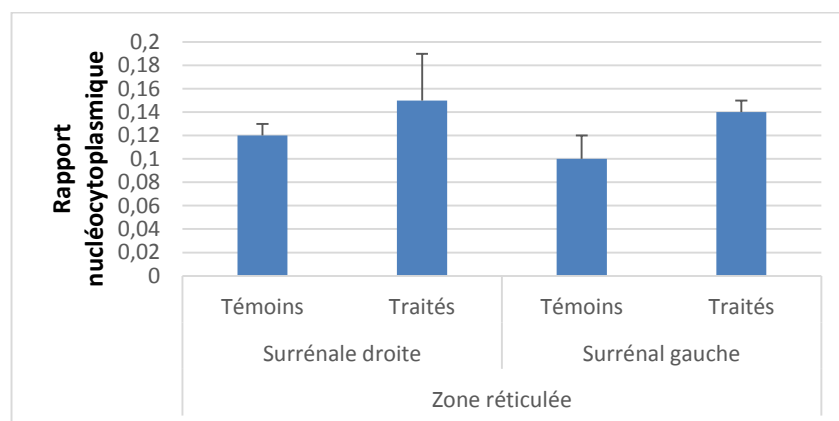


Figure 60 : Le rapport nucléo-cytoplasmique de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

Les résultats comparatifs du volume nucléaire et cellulaire des deux lots, témoins et traités, présentés sur la figure (61) montrent une diminution du volume nucléaire et cellulaire chez les lapins traités d'une valeur moyenne de $(71,44 \pm 9,75) \mu\text{m}^3$ pour la cellule et de $(6,96 \pm 0,6) \mu\text{m}^3$ pour le noyau, comparé aux témoins qui présentent une valeur moyenne de $(128,06 \pm 12,79) \mu\text{m}^3$ pour la cellule, et de $(10,09 \pm 0,66) \mu\text{m}^3$ pour le noyau. Cette diminution est hautement significative ($P = 0,001$).

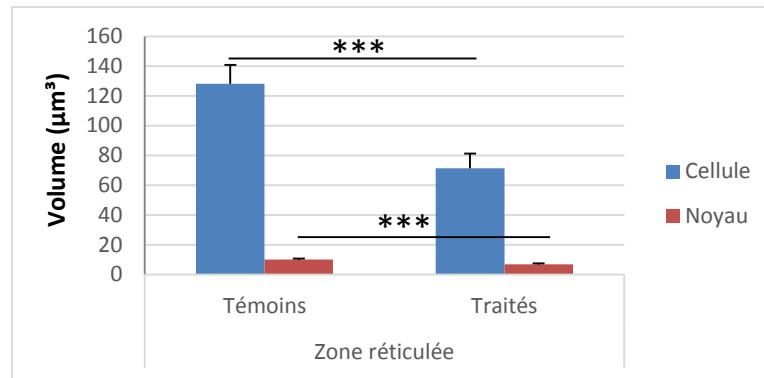


Figure 61 : Le volume cellulaire et nucléaire de la zone réticulée (moyenne des surrénales ; gauche et droite) chez les lapins traités au Voliam Targo® comparativement aux témoins.

2.4. Lésions surrénaliennes à caractère "pathologique"

Des lésions à forme pathologique sont observés au niveau des tissus surrénaux des lapins ayant reçu du Voliam Targo ® et même des témoins. De ce fait, nous ne pouvons lier ces lésions directement au traitement.

2.4.1. Les nodules corticaux accessoires surrénaux chez les témoins et traités au VT

Des nodules corticaux accessoires sont repérés dans le tissu surrénalien des deux lots (témoins et traités par le Voliam Targo ®) (**Planche 5**).

Ces nodules sont soit attachés ou localisés sous la capsule surrénale, ou encore dans le tissu adipeux péri-surrénale adjacent. Ils présentent un aspect semblable au parenchyme glandulaire du cortex surrénalien, entouré d'une capsule conjonctive (**Planche 5a, b, c, d, e, f**). Une invasion capsulaire (**planche 5d**) et des plages de nécrose dans la zone fasciculée sont également visibles sur les coupes histologiques (**planche 5a, d**).

2.4.2. Lésions histologiques de la surrénale chez les traités au VT

Certains lapins traités ont présenté un nombre accru de cellules à caractère apoptotique dans le cortex surrénalien, et plus précisément dans les zones fasciculée et réticulée. Deux sur les 14 lapins ayant reçu le VT ont présenté une désorganisation unilatérale de la surrénale, accompagnée d'une hyperplasie et une invasion capsulaire. Nous avons noté aussi la présence d'un nodule accessoire, une importante vacuolisation dans les zones glomérulée et fasciculée.

2.4.2.1. Désorganisation de la structure du cortex surrénalien

Nous avons remarqué une désorganisation structurale, une dégénérescence ou encore nécrose tissulaire (**Planche 6a, b, c, d, e**) et la présence d'un stroma issu des débris cellulaires nécrotiques (**Planche 6f**).

2.4.2.2. Invasion capsulaire

L'invasion capsulaire est une infiltration de la capsule d'un ensemble de cellules fusiformes séparées par du tissu fibrovasculaire. Les cellules présentent un noyau ovale, rond ou irrégulier, central ou excentré, avec un cytoplasme éosinophile clair (**Planche 7a, b**).

La zone corticale est parfois séparée par une prolifération marquée de fibres musculaires lisses (**Planche 7c, d**).

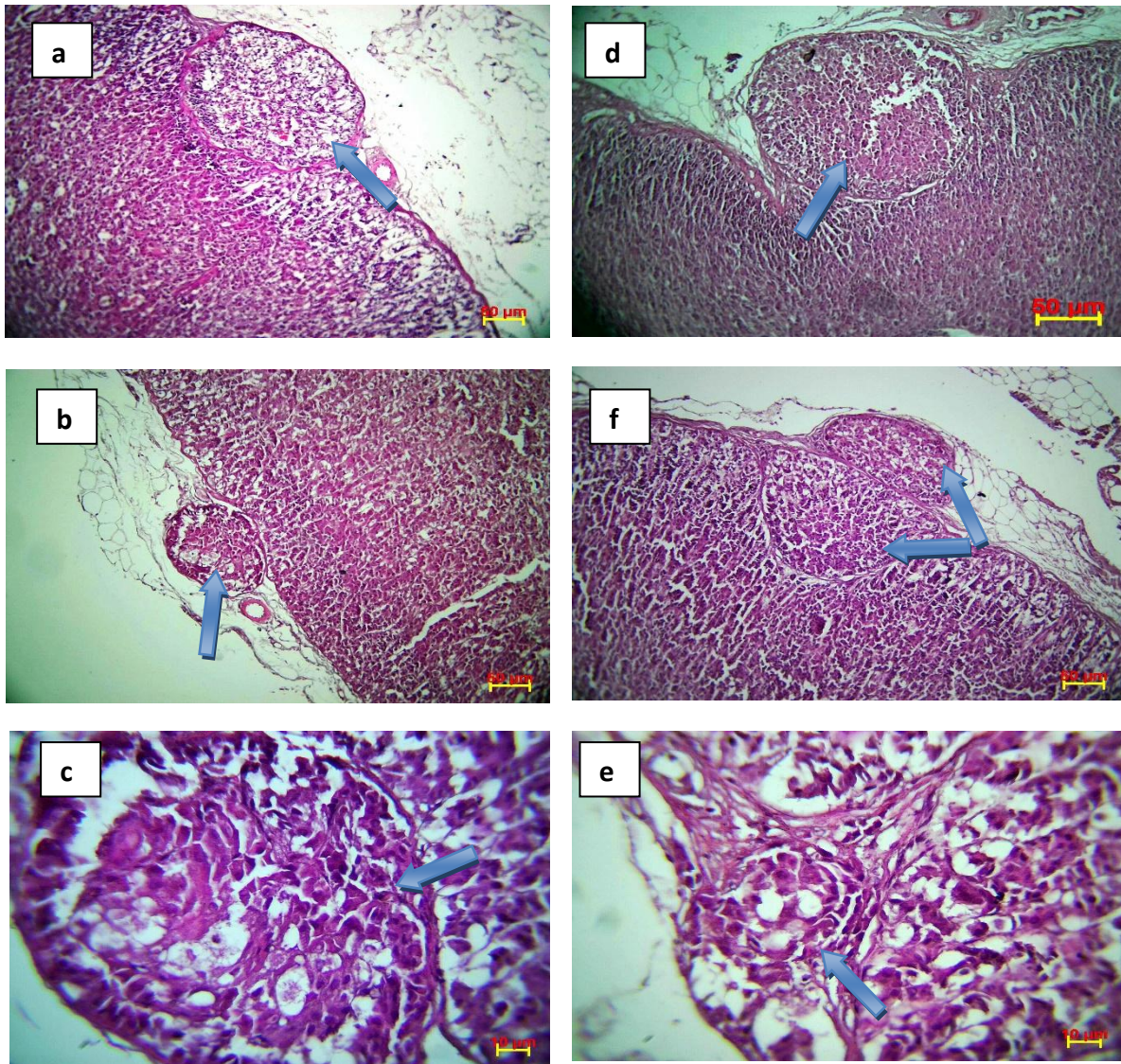


Planche 5 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles traités (a ; d) et témoins (b ; c ; f ; e) par le Voliam Targo ® montrant une section d'un nodule accessoire surrénalien ; Au grossissement : X100, X400 ; Coloration HE ; Flèche : Nodule.

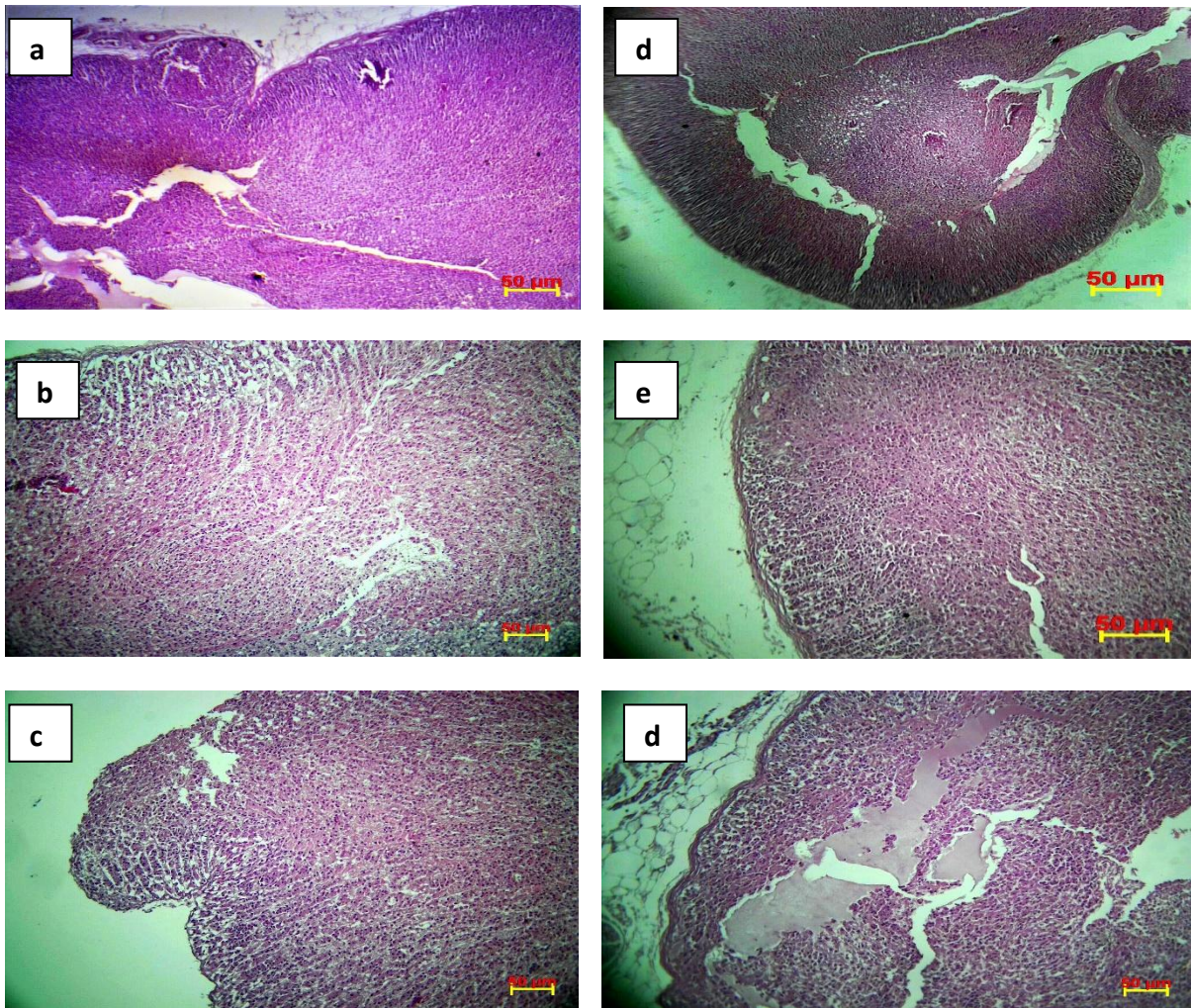


Planche 6: Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles traités montrant une désorganisation tissulaire et un tissu nécrotique ; Observé au grossissement : X40 et X100 ; coloration HE.

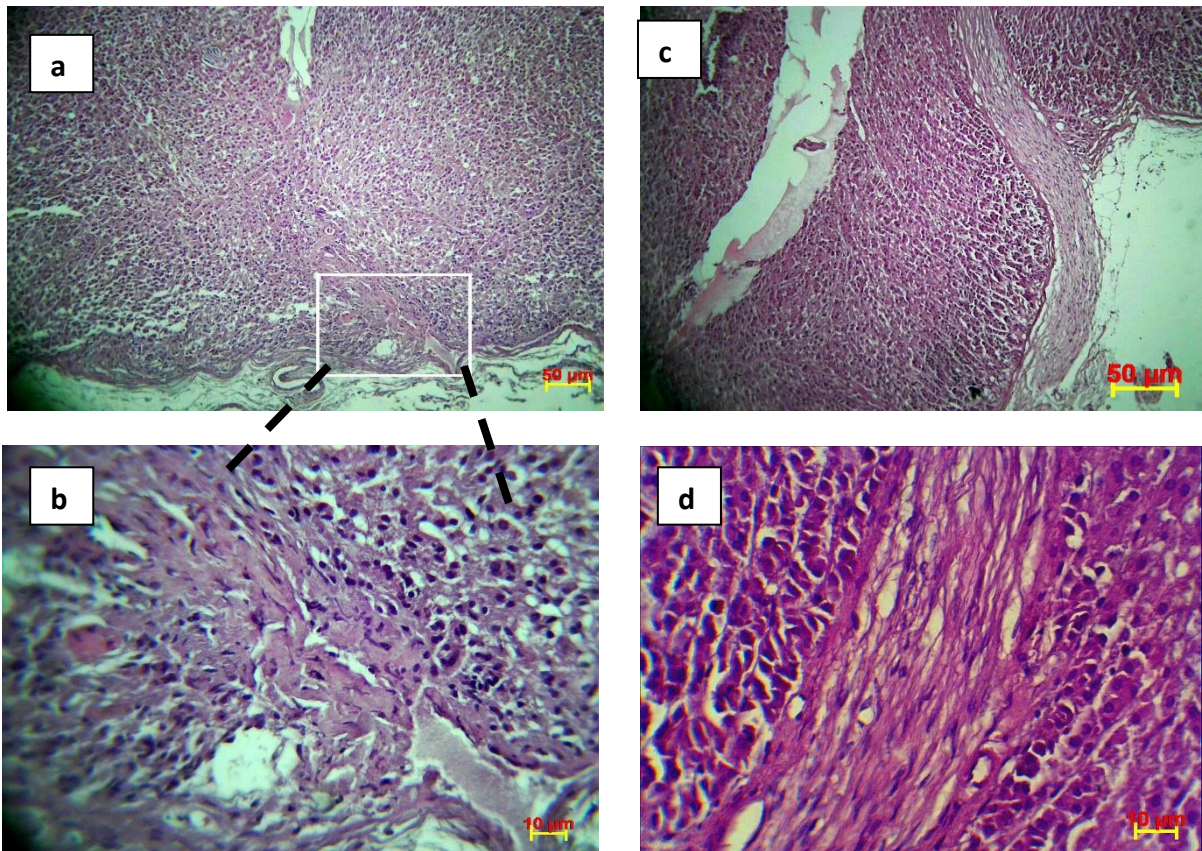


Planche 7 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant une invasion capsulaire ; Observé au grossissement : X100 et X400 ; coloration HE.

2.4.2.3. Hyperplasie médullaire :

L'hyperplasie médullaire apparaît sous forme d'une inversion des couches corticales autour d'un cœur central de tissu conjonctif, arrivant à partir de la capsule. La zone glomérulée est complètement absente dans cette partie, elle est remplacée par les cellules de la médulla (**Planche 8a et 8b**).

Au stade de vaste prolifération des cellules médullaires dans la zone corticale, les cellules de la médulla se trouvent entre la capsule conjonctive et la zone glomérulée et elles sont entourées par du matériel conjonctif (**Planche 8c et 8d**).

2.4.2.4 Dégénérescence vacuolaire

Elle correspond à une importante vacuolisation de la zone glomérulée, caractérisée par une accumulation de vacuoles claires dans les cellules corticales, et dans la zone fasciculée (**Planche 9a, 9b, 9c**)

2.4.2.5 Hémorragie et nécrose tissulaire

Dans le cortex, nous avons noté la présence de cellules sanguines extravasées sur les zones focales, où la région paraît sous formes de lésions nécrotiques (**Planche 10a, b, c, d, e, f**).

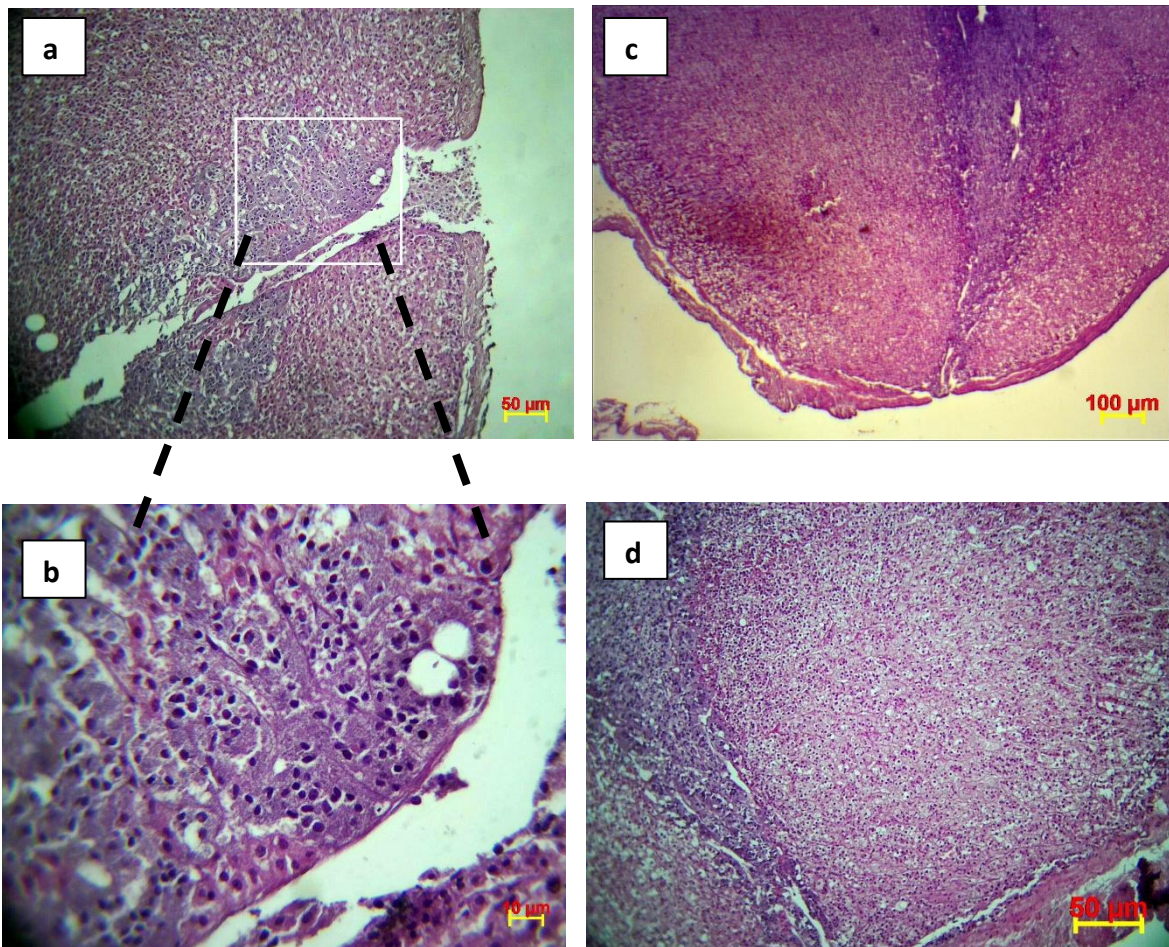


Planche 8 : Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant une invasion médullaire ; Observé au grossissement : X40, X100 et X400; coloration HE.

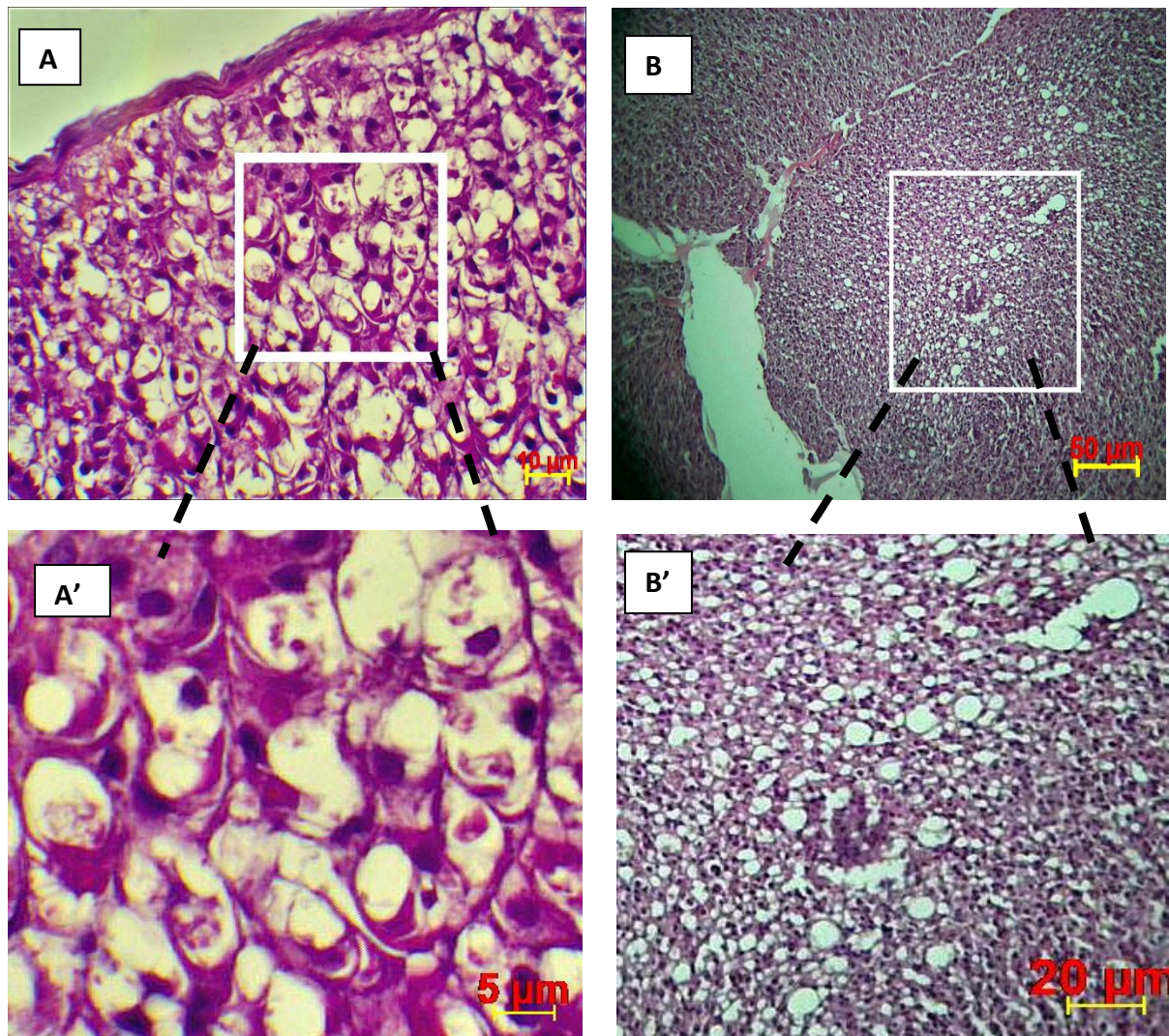


Planche 9: coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant une dégénérescence vacuolaire ; Observé au grossissement : X100 (B, B') et X400 (A, A') ; coloration HE.

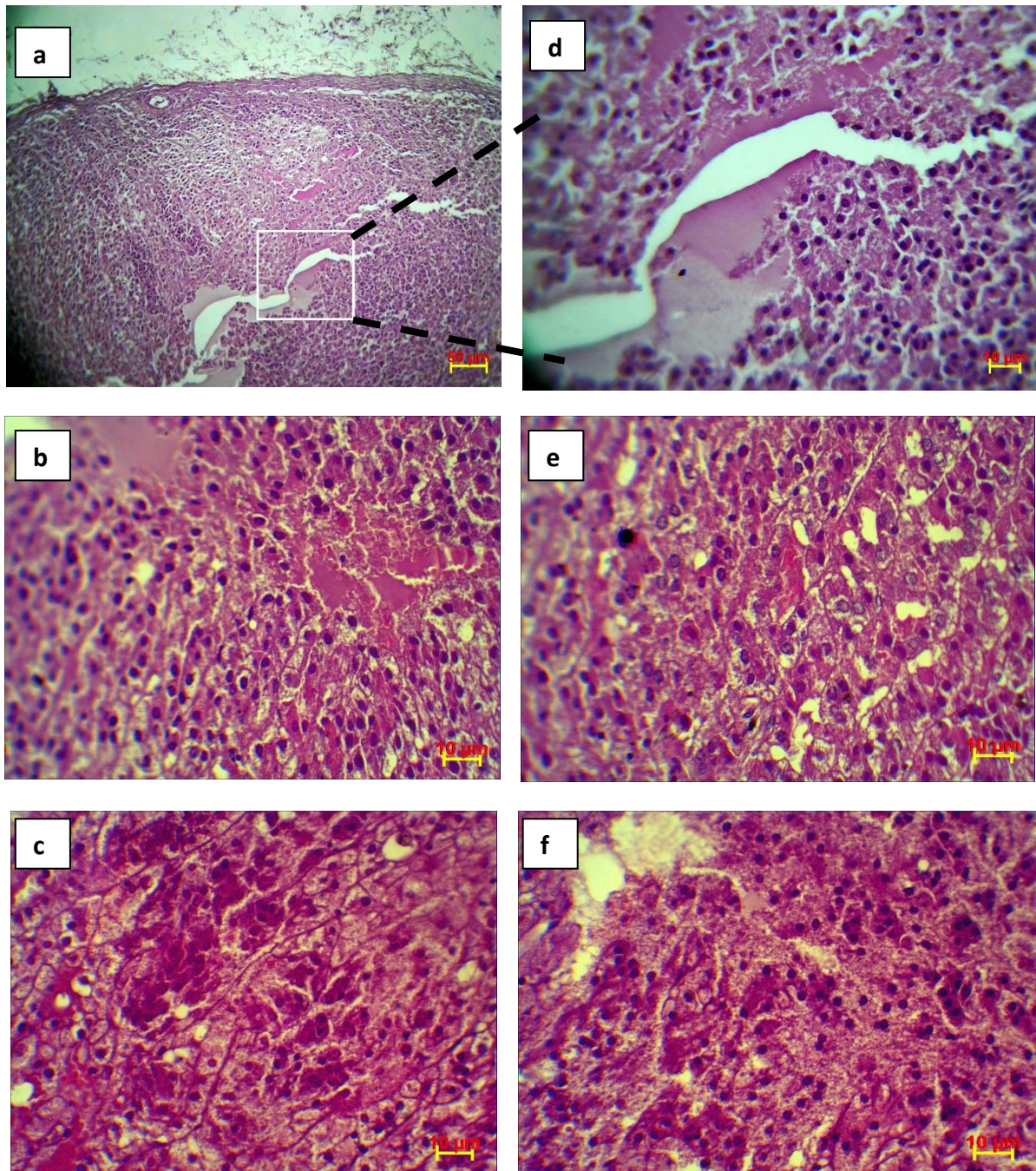


Planche 10: Coupe histologique transversale au niveau de la surrénale chez des lapins mâles adultes traités montrant un tissu nécro-hémorragique ; Observé au grossissement : X100 (a, d) et X400 (b, c, e, f) ; coloration HE.

III/ Discussion

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'effet sub-chronique du pesticide le Voliam Targo® sur les glandes surrénales des lapins mâles d'une souche synthétique. L'ensemble de nos résultats est rapporté et discuté comparativement aux données de la littérature.

A la fin de l'expérimentation, il n'y avait pas de troubles comportementaux ou de signe de toxicité. Cette observation est en accord avec le résultat de Khaldoun-Oularbi (2015).

1. Poids corporel des lapins

Après la période d'acclimatation, d'homogénéisation des poids corporels, les lapins ont reçu un traitement sub-chronique de VT®. Ce dernier ne semble pas affecter le poids corporel des lapins. Il en est de même pour l'étude réalisée par Amiour (2017) sur des rats ayant reçu de l'abamectine, à 0,5mg/Kg, soit 1/20 de la DL50, pendant 28 jours. Cependant, d'autres travaux ont rapporté une baisse de poids, en l'occurrence, Dekkali et Drissi (2016) après injection sous-cutanée de 10mg/Kg de l'abamectine, pendant 21 jours. Mansour et al. (2008), ainsi que Aissani et al. (2012) ont relié la perte de poids corporel après traitement avec l'abamectine à une réduction de la consommation de nourriture et d'eau. Ces suggestions ont été confirmées par les travaux de Khaldoun-Oularbi (2015).

2. Poids absolu de la glande surrénale

La différence de poids absolu, relevée entre les deux glandes surrénales, a déjà été signalée dans des études antérieures (Kandsi-Bouhadad et Hadj Bekkouche, 2010 ; Mokrani, 2011). En effet, le poids de la glande surrénale gauche est légèrement plus élevé que celui de la droite chez tous les lapins étudiés.

Par ailleurs, les deux glandes gardent approximativement le même poids après le traitement au VT. Sur des organes autres que la surrénale, l'abamectine provoque une importante baisse du poids absolu du foie et du rein chez le lapin (Khaldoun-Oularbi, 2015), alors que chez le rat, ce même traitement par n'engendre aucun effet sur le poids des deux organes (Amiour, 2017).

3. Aspects histologiques de la glande surrénale après traitement au Voliam Targo®

Concernant les valeurs morphométriques moyennes des zones corticales et médullaires des surrénales des lapins mâles témoins, Kandsi-Bouhadad (2010) a rapporté des valeurs moyennes supérieures à celles que nous avons obtenu ; avec un écart d'environ 100 µm pour la zone glomérulée, 60 µm pour la zone réticulée, et 200 µm pour les deux zones fasciculées et la médullaire. Mokrani (2010) a présenté des valeurs encore plus importantes par rapport à celles de notre étude ; avec une différence de 47 µm pour la capsule, 823 µm pour la fasciculée, 272 µm pour la réticulée et 1309 µm pour

la médullaire, cependant, l'épaisseur de la glomérulée reste la même : 108 µm. Ces résultats rejoignent ceux de la littérature qui rapportent parmi les différentes races de lapin (néozélandaise, chinchilla et californica), l'existence de variations morphologiques dans la zonation du cortex surrénalien, dont la hauteur est plus importante chez la femelle comparée à celui de lapin mâle (Irmak, 2000).

Nous avons retenu des différents examens réalisés que le traitement au Voliam Targo ® n'entraîne pas un changement dans les dimensions de la glande surrénale, estimées par la mesure des épaisseurs des deux glandes, droite et gauche, séparément ou cumulées. Cependant, nous ne pouvions écarter des changements au niveau des zones séparément.

3.1. La capsule conjonctive

En gardant la même épaisseur, la capsule surrénalienne des lapins traités semble être capable de protéger la glande d'éventuelles atteintes liées aux infections et lésions environnantes. En effet, La capsule de la surrénale protège cette dernière des phénomènes inflammatoires directs par contact avec les tissus adjacents (Jubb, 1993). Plusieurs études ont rapporté qu'un traitement sub-chronique des rats avec l'abamectine a engendré une augmentation du nombre de leucocytes (El-gendy et al, 2015).

3.2. La zone glomérulée

Concernant la zone glomérulée de la surrénale, seule celle de la glande gauche montre une épaisseur inférieure chez le traité relativement au témoin. Une perte cellulaire peut en être à l'origine. Dans une étude relativement récente, Elshannawy et ses collaborateurs. (2011) ont fait état d'importantes modifications structurales, comme ; une hypertrophie cellulaire, vacuolisation cytoplasmique et noyau pycnotiques, chez le rat Wistar après un traitement par le kétocenasole fongicide pharmaceutique connu pour inhiber les activités enzymatiques des cytochromes P450 (enzymes stéroïdogènes).

De plus, du point de vue histologique, les modifications observées au niveau des cellules de la zone glomérulée de la surrénale gauche chez les lapins traités laissent suggérer une dégénérescence, soutenue par une réduction du rapport nucléo-cytoplasmique, traduisant le vieillissement et la mort cellulaire. Ces modifications dégénératives sont probablement déclenchées suite à une accumulation intracellulaire des lipides qui semblent toxiques pour les cellules surrénaliennes à activité stéroïdogénique (Li et al., 2002).

3.3. La zone fasciculée

L'épaisseur de la zone fasciculée de la surrénale des lapins traités n'a pas montré de différence avec celle des témoins. Toutefois, du point de vue structural, nous avons relevé un rétrécissement cellulaire et nucléaire de la zone fasciculée du lot ayant reçu le VT. Seule la surrénale droite des lapins traités a montré un rapport nucléo-cytoplasmique supérieur à celui des témoins, avec un noyau hyperchromatique, témoignent d'une intense activité transcriptionnelle et faisant penser à une perturbation du cycle

cellulaire et éventuellement même des caractéristiques fonctionnelles. Cette suggestion est appuyée par la présence de cellules mésenchymateuses, une population cellulaire capable d'agir sur la réparation et la régénération tissulaires par différents mécanismes allant du régénération ou remplacement tissulaire à la modulation des réponses immunitaires et inflammatoires (Planat-Benard et *al.*, 2011).

3.4. Zone réticulée

Bien que son épaisseur ne change pas suite au traitement au VT, l'aspect cellulaire et nucléaire de la zone réticulée change et d'une façon plus marquée au niveau de la surrénale droite que gauche des lapins traités. En effet, les examens morphométriques ont révélé comparativement aux témoins, une diminution aussi bien de la surface cellulaire que de la surface nucléaire, accompagnée d'une baisse du volume aussi bien cellulaire que nucléaire. Par conséquent, le rapport nucléo-cytoplasmique (RNC) chez les traités reste relativement proche de celui des témoins.

Les changements structuraux peuvent traduire des modifications fonctionnelles. Rainey et ses collaborateurs (2008), en s'intéressant à la régulation de la biosynthèse des androgènes surrénaliens, ont montré que la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (3 β HSD2) a un impact négatif sur la production de déhydroépiandrostérone (DHEA) et du sulfate de DHEA (DHEA-S). L'enzyme, citée ci-dessus, est réputée pour sa capacité à éliminer les précurseurs de la voie menant à la DHEA et son expression est limitée aux deux zones ; glomérulée et fasciculée, du cortex surrénalien.

Cependant, dans une étude plus ancienne, Endoh et *al* (1996) ont montré que la zone réticulée synthétise de la DHEA et DHEA-S dans une situation d'une faible expression de la 3 β HSD2 ou de son inhibition dans les cellules fasciculées sous l'effet du trilostane. Ce dernier est un inhibiteur enzymatique de la stéroïdogénèse ciblant la 3 β HSD2, bloquant ainsi la synthèse de cortisol, de corticostérone et d'aldostérone.

Des études réalisées par Yewei Xing et *al* (2009) sur la régulation de la transcription de la 3 β HSD2 dans les cellules surrénales humaines, médiée par le récepteur farnésioïde X (FXR), suggèrent qu'une augmentation de la transcription du récepteur FXR s'accompagne d'une hausse d'expression de 3 β HSD2, et ont par ailleurs noté qu'un traitement par trilostane via le FXR, altérerait l'activité de la 3 β HSD2 et influencerait par conséquent la capacité de la glande surrénale à produire des corticostéroïdes.

Ainsi, nous n'écartons pas une perturbation de la synthèse des stéroïdes surrénaliens sous l'effet du VT. En effet, Jin et ses collaborateurs (2013) ont démontré que l'ivermectine, un pesticide de la famille des avermectines, utilisé en médecine vétérinaire, en plus à ses effets thérapeutiques antiparasitaires, représente un ligand du FXR avec un effet agoniste induisant l'activité transcriptionnelle du récepteur FXR avec des propriétés dans la modulation du recrutement des corégulateurs.

Dans une autre étude, il a été démontré que des analogues de la chlorophacinone (anticoagulant qui fonctionne comme un agoniste de la vitamine K) et de l'ivermectine moduleraient l'activité de FXR par leur capacité à modifier la liaison FXR-corégulateur (Chia-Wen Hsu et *al.*, 2016). L'ensemble des résultats suscités nous permettent de suggérer une éventuelle interaction du Voliam Targo® ou de l'abamectine avec la voie de régulation du FXR.

Il a été démontré qu'un autre type de protéine de transport est touché suite à ce traitement, il s'agit de la P-gp. A un certain niveau anatomique, cette protéine possède des fonctions excrétrices essentielles ; elle joue un rôle actif dans l'absorption, la distribution et l'élimination de multiples molécules. Par ailleurs, la P-gp intervient dans certaines activités physiologiques, comme la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien en participant à la sécrétion des stéroïdes, tels que l'aldostérone et le cortisol (Van Kalken et *al.*, 1993). Ainsi, l'affinité de l'un des principes actifs du VT, l'abamectine, altère la fonction des P-gp en l'inhibant, ce qui explique les manifestations de la toxicité (Roulet et *al.*, 2003 ; Mealy et *al.*, 2001).

3.5. Médullosurrénale

L'analyse histomorphométrique de la médullosurrénale a révélé une augmentation de l'épaisseur de la médulla de la surrénale gauche chez les traités. Ce changement s'accompagne d'une augmentation de la taille des cellules hyalochromes, responsable de la production d'adrénaline, et qui sont plus abondantes par rapport aux cellules à noradrénaline, les rhagiochromes.

Par ailleurs, la dilatation des capillaires au niveau de cette zone peut indiquer une forte activité sécrétoire des catécholamines dans la circulation sanguine. On sait bien que cette production est sous l'effet du stress d'une part et sert surtout à diagnostiquer une tumeur rare des glandes surrénales (phéochromocytome) ou une tumeur plus rare de système nerveux : paragangliome.

3.4. Les lésions surrénales à caractère "pathologique"

En dehors des études pertinentes comprises dans les rapports publiés par Maronpot (1999) et les études synthétisées par Le Dudal (2016), nous pensons que les modifications histologiques à caractère "dysfonctionnel" ou/et pathologique dans la surrénale de lapins ayant reçu du VT est importantes comparée au témoins qui peuvent être des changements physiologiques à un moindre degré, ces changements que nous avons relevés, méritent une certaine attention. Parmi les observations les plus marquantes des altérations de la structure du cortex surrénalien à savoir difficulté à identifier les différentes zones du cortex, la présence de foyer de cellule hyperplasique dans les deux zones fasciculée ou réticulaire, une invasion capsulaire et aussi médullaire, des dépôts pigmentaires et une dégénérescence vacuolaire. Ces altérations suggèrent des perturbations de la fonction endocrine. En effet, il a été rapporté que l'évaluation morphologique des lésions corticales donne un aperçu des sites d'inhibition de la stéroïdogénèse et que la dégénérescence

(vacuolaire et granulaire), la nécrose et l'hémorragie sont des résultats courants des agressions aiguës (Rosol et al., 2001).

Il est bien clair que la présence des nodules accessoires n'est pas liée à l'effet du traitement, et qu'ils n'ont pas de signification cliniquement ou toxicologiquement, alors que des changements toxiques, dégénératifs et prolifératifs dans le cortex surrénalien peuvent être observés dans ces nodules accessoires.

Des études faites par Le Dudal (2016) et Rosol et al., (2001) ont signalé des changements morphologiques se manifestant au sein de la corticosurrénale lors d'une toxicité aiguë. Ils ont par ailleurs, rapporté une altération de la stéroïdogénèse probablement en lien avec la vacuolisation représentant des accumulations de divers lipides ou cholestérol. Ces lésions apparaissent lors d'intoxication aux Triaryl phosphates (organophosphorés) ou au DMNM (α -[1,4-dioxido-3-méthylquinoxalin-2-yl]-N-méthylnitron) un antibiotique qui tout d'abord entraîne des dégénérescences vacuolaires, ensuite les lésions terminales, comme la nécrose, la lyse cellulaire et l'apoptose.

Des résultats similaires ont été rapportés dans une étude histologique faite par Saad (2020) sur l'effet de l'émamectine benzoate, qui fait partie des ivermectines, sur les glandes surrénales des rats Wistar males ayant reçu un traitement sub-chronique d'une dose de 10 mg/kg /jour. Les résultats ont montré une désorganisation de l'architecture du cortex et de la médulosurrénale, principalement une vacuolisation des cellules stéroïdiennes, des noyaux pycnotiques et une congestion vasculaire de la médulla, suivi par un effet améliorant lors d'admission de la vitamine C.

Ils est important de rappeler que la vacuolisation corticale peut se produire comme un changement spontané lié à plusieurs facteurs tels que l'âge (en particulier chez le rat); le stress de diverses causes; ainsi que l'administration de nombreux médicaments et toxines exogènes, en particulier ceux qui interfèrent avec la stéroïdogénèse normale dans le cortex surrénalien et/ou perturbent l'axe hormonal hypothalamo-hypophyso-surrénalien (y compris la sécrétion normale et le métabolisme de l'hormone adrénocorticotrope [ACTH]). La vacuolisation corticale peut également résulter de l'administration expérimentale d'un excès d'ACTH ou de corticostérone.

Rosol et al., (2001) ont rapporté que Le cytochrome-450 (Cyt P-450) dans le cortex surrénalien est impliqué dans la biotransformation du cholestérol en hormones stéroïdes et toute perturbation de l'action du Cyt P-450 peut provoquer une augmentation diffuse des gouttelettes lipidiques cytoplasmiques dans la zone fasciculée. Cette perturbation peut être le résultat de l'inactivation xénobiotique des enzymes Cyt P-450 ou de la perturbation de l'axe HPA entraînant une augmentation de la sécrétion d'ACTH engendrant à son tour une augmentation secondaire des lipides cytoplasmiques. De plus, les enzymes surrénales Cyt P-450 peuvent activer les xénobiotiques conduisant à des espèces réactives de l'oxygène qui

endommagent les membranes cellulaires provoquant une accumulation de phospholipides intra-cytoplasmiques (Greaves 2012).

L'évaluation de la gravité d'autres changements tels que la nécrose, l'hyperplasie, l'inflammation et l'hémorragie, doit également être envisagée si une exacerbation liée au traitement est suspectée.

L'homéostasie cellulaire normale est assurée par les capacités d'adaptation cellulaire à des modifications physiologiques normales, l'hyperplasie se manifeste par une augmentation du nombre de cellules, ou inversement une hypoplasie, associé à une atrophie, ces réponses adaptatives, apparaissent lorsque l'environnement cellulaire ou tissulaire est modifié, ces phénomènes peuvent être réversibles lors du retour aux conditions antérieures, mais si les limites de la réponse adaptative sont dépassées, des lésions irréversibles, avec apparition de la mort de la cellule par nécrose ou par apoptose, selon les circonstances.

Il a notamment été montré que la toxicité chronique entraîne une atrophie, une régénérescence nodulaire, de la fibrose ou une prolifération primaire des cellules corticales, ressemblant à des changements d'origine adrénocorticotrophique, semblables à ceux observés lors de la maladie de Cushing (Rosol et al., 2001). Antérieurement, Hernandez-Pando et al., (1995) ont montré que La perturbation de l'axe endocrinien pituitaire-surrénalien-gonadique avec une augmentation de la sécrétion d'ACTH après la castration peut induire une hyperplasie corticale.

De plus, Harvey & Sutcliffe (2010) affirment qu'il n'est pas possible de différencier l'hypertrophie corticosurrénale secondaire au stress de l'hypertrophie en tant que perturbation pharmaco-toxicologique d'une ou plusieurs étapes de la cascade de la stéroïdogénèse, en se basant uniquement sur la microscopie, sachant que Jusqu'à 60 produits chimiques avec différentes cibles stéroïdogènes ont été identifiés (Harvey et al., 2007).

Conclusion

L'utilisation de ces pesticides peut engendrer plusieurs effets néfastes sur la santé humaine et animale.

A travers cette étude, nous avons recherché l'impact du Voliam Targo® sur la structure histologique de la glande surrénale du lapin.

Nos résultats ont démontré que l'administration sub-chronique du Voliam Targo® n'a pas affecté le comportement et le poids corporel des lapins et n'a pas entraîné des changements importants concernant le poids et les mensurations des glandes surrénales gauche et droite.

Cependant, L'étude histomorphométrique des surrénales a montré que les deux glandes (droite et gauche) ont été affectées mais d'une manière différente :

- Les épaisseurs de la capsule conjonctive et des différentes zones corticales (glomérulée, fasciculée et réticulée) n'ont pas montré de changement.
- La zone glomérulée de la surrénale gauche a présenté des changements de structure, notamment une désorganisation, une vacuolisation cytoplasmique, ainsi qu'une dégénérescence cellulaire.
- La zone fasciculée a présenté un rétrécissement cellulaire et nucléaire, et un noyau hyperchromatique.
- La zone réticulée a montré une diminution de la surface cellulaire et nucléaire, qui pourrait se traduire par une perturbation de la synthèse des stéroïdes surrénaliens
 - La médullosurrénale semble aussi être affectée, son épaisseur ayant subi une augmentation, ses cellules hyalochromes étant hypertrophiées et les capillaires dilatés.

D'autres lésions ont été retrouvées chez les lapins traités, comme une hémorragie nécrotique.

L'étude effectuée reste partielle, des études plus approfondies doivent être envisagées pour apporter plus d'informations et mieux évaluer l'effet de cet insecticide sur les glandes surrénales, notamment un dosage hormonal ainsi qu'une étude immuno-histochimique ciblant les marqueurs de fonctionnalité.

Références bibliographiques

- **ACTA**, (2015) Index des produits phytosanitaires à usage agricole, Alger.
- **Aissani, H. Elmadani, M.**, (2012). Control physicochimique et impact toxicologique d'abamectine « le vertimec » sur les paramètres biochimiques et hormonaux chez le rat Wistar mâle. Thèse de Master 2. Université de Blida.
- **Aissani, H.**, (2013). Effet protecteur de la vitamine C suite à une toxicité par un biopesticide Proclaim® chez le rat Wistar mâle, paramètres biochimiques et histologie du foie. Université Saad Dahleb Blida 1.
- **Ali MS, Sun T, McLeroy GE** (2000) Confirmation of eprinomectin, moxidectin, abamectin, doramectin, and ivermectin in beef liver by liquid chromatography/positive ion atmospheric pressure chemical.
- **Amiour**, (2017). Étude de la toxicité chez les rats d'un mélange de pesticides commercialisés. Mémoire de Magister. Université de Jijel Mohamed Seddik Benyahia.
- **Ayad-Mokhtari N.** (2012). Identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister, Université d'Oran, Algérie.
- **Benmouloud A., Zahaf S., Khammar F., & Amirat Z.**, (2006). P2-160 - Interaction testicule-corticosurrénale chez le rat des sables *psammomysobesus* adulte. *Annales d'Endocrinologie*, 67(5), 531–532. doi:10.1016/s0003-4266(06)72991-2.
- **Bernard Waeber**, (2006), Le renouveau des antagonistes de l'aldostérone, rev Med Suisse : 2 : 2055-8, Division de physiopathologie clinique, CHUV, 1011 Lausanne.
- **Bouchard, M. F., Chevrier, J., Harley, K. G., Kogut, K., Vedar, M., Calderon, N., ... Eskenazi, B.**, (2011). Prenatal Exposure to Organophosphate Pesticides and IQ in 7-Year-Old Children. *Environmental Health Perspectives*, 119(8), 1189–1195. Doi :10.1289/ehp.1003185
- **Burkhardt, W. A., Guscelli, F., Boretti, F. S., Todesco, A. I., Aldajarov, N., Lutz, T. A., ... Sieber-Ruckstuhl, N. S.** (2011). Adrenocorticotrop hormone, but not trilostane, causes severe adrenal hemorrhage, vacuolization, and apoptosis in rats. *Domestic Animal Endocrinology*, 40(3), 155–164.
- **Chen, Q.; Xiong, L.; Luo, M.; Wang, J.; Hu, C.; Zhang, X.; Yu, S.; Li, Y.; Sun, D.**, (2015). Synthesis, Larvicidal Activities and Antifungal Activities of Novel Chlorantraniliprole Derivatives and Their Target in the Ryanodine Receptor *Molecules*, 20, 3854–3867. doi.org/10.3390/molecules20033854.
- **Code de conduite international sur la gestion des pesticides.** Directives sur les pesticides extrêmement dangereux, p : 31. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, 2018 ISBN 978-92-5-130878-3 (FAO), ISBN 978-92-4-251041-6 (WHO).

- **Cordova, D., Benner, E. A., Sacher, M. D., Rauh, J. J., Sopa, J. S., Lahm, G. P., Selby, T. P., Stevenson, T. M., Flexner, L., Gutteridge, S., Rhoades, D. L., Wu, L., Smith, R. M., and Tao, Y.** (2006). Anthranilicdiamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pest. Biochem. Physiol.* 84, 196–214.
- **Corine Pulce, Christine Hermouet,** (2012). Abamectine : étude rétrospective des expositions aux produits phytopharmaceutiques à base d'abamectine. COMITE DE COORDINATION DE TOXICOVIGILANCE. France.
- **Dekkali L. et Drissi W.,**(2016). Effet amélioratif de la vitamine C chez le lapin mâle traité par l'ivermectine (AVIMEC®) Bilan lipidique. Mémoire de Master. Université de Blida Saad Dahleb.
- **Deschaseaux F., Jorgensen C., Gabison É et Planat-Benard V. (2011).** Les cellules souches mésenchymateuses et la médecine régénérative en ophtalmologie. *Médecine/sciences*, 27(3), 282–284.
- **Díaz-Fleischer, Pérez-Staples, Valle-Mora, García-Pérez** (2016) Laboratory Evaluation of Two Commercial Abamectin-Based Insecticides Against *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): Lethal and Sublethal Effects. *Journal Econ Entomol* 1 ;109(6) :2472-2478.
- **Dorothee Batsch.**(2011). L'impact des pesticides sur la santé humaine. Sciences pharmaceutiques. fffhal-01739150f
- **El Kasmi S.,** (2012). Corticosurrénalome malin chez l'enfant. Thèse de Doctorat n° 51. Université Mohammed V. Faculté de médecine et pharmacie. Rabat, Maroc.
- **Endoh, A., Kristiansen, S. B., Casson, P. R., Buster, J. E., & Hornsby, P. J. (1996).** The zona reticularis the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex resulting from its low expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 81(10), 3558–3565.
- **Everds, N. E., Snyder, P. W., Bailey, K. L., Bolon, B., Creasy, D. M., Foley, G. L., ... Sellers, T. (2013).** Interpreting Stress Responses during Routine Toxicity Studies. *Toxicologic Pathology*, 41(4), 560–614.
- **F. Kandsi-Bouhadad, F. Hadj-Bekkouche. 2010.** Evaluation du contenu surrénalien en androstènedione et effets de la castration chez le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*). *Comptes Rendus Biologies* 333. 591–596.
- **FICHE TECHNIQUE SANTÉ-SÉCURITÉ,** (2016). Service de réglementation et évaluation biologique Syngenta Canada inc. Insecticide Acelepryn MC. P : 6. *Food Control*, 29 (1), 55-60.
- **Fulla Yvonne, Laurence Guignatb, Marie-Annick Duguea, Guillaume Assieb, Xavier Bertagnab,** (2009). Exploration biologique de la fonction corticotrope. *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES* - N°416 –

- Elsevier Masson SAS Centre de référence des maladies rares de la surrenale, France. Doi :10.1016/s1773-035x (09)70249-7.
- **Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., Bolet G.,**(2009). Comparaison des performances de production d'une souche synthétique de lapins avec deux populations locales disponibles en Algérie. 13^e journée de la recherche cunicole. France.
- **Garreau H., Theau-Clément M., Gidenne T.** (2015). Anatomie, taxonomie, origine, évolution et domestication. Le lapin : de la biologie à l'élevage. (pp.14-37)
- **Générations futures**, (2014). Enquete EXPPERT 3:EXposition aux Pesticides PERTurbateurs endocriniens. France. P : 22.
- **George J., Shukla Y.** (2011). Pesticides and cancer: Insights into toxicoproteomic-based findings. *Journal of proteomics*. p2713-2722.
- **Greaves, P. (2012)**. Endocrine glands. In *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation* (P. Greaves, ed.), pp. 725–97. *Academic Press-Elsevier, Amsterdam, the Netherlands*.
- **Harvey, P. W., Everett, D. J., & Springall, C. J.** (2007). Adrenaltotoxicology: a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis. *Journal of Applied Toxicology*, 27(2), 103–115.
- **Harvey, P. W., & Sutcliffe, C.** (2010). Adrenocortical hypertrophy: establishing cause and toxicological significance. *Journal of Applied Toxicology*, 30(7), 617–626.
- **Hsu, C.-W., Hsieh, J.-H., Huang, R., Pijnenburg, D., Khuc, T., Hamm, J., ... Xia, M. (2016)**. Differential modulation of FXR activity by chlorophacinone and ivermectin analogs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 313, 138–148.
- **INSR** : Institut national de la recherche et de la santé. (2013). Fiche toxicologique de l'abamectine n°299.
- **Irma K M.K., 2000**. Strain differences in rabbit adrenocortical structure and morphological evidence of corticomedullary communication. *Acta Physiol. Hung.*, 87(2) : 167-72.
- **Isaacs A.K., Qi S., Sarpong R., and Casida J. E.,** (2012). Insect Ryanodine Receptor: Distinct but Coupled Insecticide Binding Sites for [N-C³H₃]Chlorantraniliprole, Flubendiamide, and [3H]Ryanodine *Chemical Research in Toxicology*. 25, 8, 1571–1573.
- **Isabelle Baldi, Sylvaine Cordier, Xavier Coumoul, Alexis Elbaz, Laurence Gamet-Payraastre, et al.,** (2013). Pesticides : Effets sur la santé. [Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). Paris : Inserm : Editions EDP Sciences (ISSN : 1264-1782) / 1014 p. ffinserm-02102981f
Journal of AOAC International, 83 (1), 39-52

- **Jin, L., Feng, X., Rong, H., Pan, Z., Inaba, Y., Qiu, L., ... Li, Y. (2013).** The antiparasitic drug ivermectin is a novel FXR ligand that regulates metabolism. *Nature Communications*, 4(1).
- **Kandsi-Bouhadad F., Hadj-Bekkouche F.,** Evaluation du contenu surrénalien en androstènedione et effets de la castration chez le lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*). *Comptes Rendus Biologies*. 333 (8) 591–596. doi:10.1016/j.crv.2010.03.001
- **Karin S. Bentley, Joan L. Fletcher and Michael D. Woodward, (2010).** Chlorantraniliprole: An Insecticide of the Anthranilic Diamide Class. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, chapter 102, p: 2231 – 2242.
- **Khaldoun-Oularbi, H. Richeval, C. Djenas, N. Lhermitte, M. Humbert, L. Baz, A., (2013).** Effet de la toxicité subaiguë de l'abamectine (insecticide) sur le foie des rats (*Rattus norvegicus*). *Annale de Toxicologie Analytique*. 25(2): 63-70.
- **Khaldoun-Oularbia, H. Allorgec, D. Richevalc, C. Lhermittec, M. Djenase, N., (2015).** Emamectin benzoate (Proclaim®) mediates biochemical changes and histopathological damage in the kidney of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicologie Analytique & Clinique (2015) 27*, 72-80.
- **Koué Folligan, (2010).** Profil d'expression de protéines spécifiques au cours du développement de la surrénale humaine et applications à la pathologie (hypoplasie surrénale congénitale. *Médecine humaine et pathologie*. Université Claude Bernard - Lyon I. Français. NNT : 2010LYO10185. tel-00720203)
- **L. Mamy, E. Barriuso, B. Gabrielle, (2008).** Evaluer les risques environnementaux des pesticides Exemple du désherbage des cultures résistantes ou non au glyphosate, *Innovations Agronomiques (2008) 3*, 121-143.
- **Labaune J-M., (2002).** Thèse de doctorat : Effet de l'exposition anténatale aux corticoïdes et de l'hypoxie sur l'expression du récepteur dopaminergique D1 dans la surrénale de lapin en développement). *Sciences du Médicament. L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ - NANCY 1, France*.
- **Lahm, G. P., Stevenson, T. M., Selby, T. P., Freudenberger, J. H., Cordova, D., Flexner, L., Bellin, C. A., Dubas, C. M., Smith, B. K., Hughes, K. A., Hollingshaus, J. G., Clark, C. E., and Benner, E. A. (2007).** Rynaxypyr: A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective ryanodine receptor activator. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 6274–6279.
- **Lankas, G.R and L.R. Gordon. Toxicology in W.C. Campbell (ed.). (1989).** Ivermectin and Abamectin. Springer-Verlag, NY.
- **Le Dudal M., (2016).** Les lésions de la corticosurrénale en relation avec le stress chez les mammifères : étude bibliographique et application à une cohorte de chats autopsiés. École nationale vétérinaire d'Alfort. France. P88.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R et De Rochambou H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie. F.A.O. éd. Rome : 298p.

- **Li H., Brochu M., Wang SP., Rochdi L., Cote M., Mitchell G. et Gallo-Payet N. 2002.** Hormonesensitive lipase deficiency in mice causes lipid storage in the adrenal cortex and impaired corticosterone response to corticotrophin stimulation. *Endocrinology*, 143 : 3333-40. **Longeart, L. E. (1996).** Adrenal Medullary Tumors, Mouse. *Monographs on Pathology of Laboratory Animals*, 421–427.
- **Mansour, S.A., Heikal, T.M., Mossa, A.H. and Refaie, A.A., (2008a).** Toxic effects of five insecticides and their mixture on male albino rats. *Journal of the Egyptian Society of Toxicology*, 39, pp.85-94.
- **Mealey K.L., Bentjen S.A, Gay J.M. et Cantor G.H. (2001).** Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *MDR1* gene. *Pharmacogenetics*; 11: 727-733.
- **Moser.V.C., Simons.J.E., Genings.C., (2006).** Neurotoxicological interaction of five pesticide mixture in preweaning rats. *Toxicological Sciences*, 92(1):235-245.
- **Moukrani Zoulikha, (2010).** Répercussions d'un régime d'engraissement sur la fonction corticotrope chez le lapin male adulte *Oryctolagus Cuniculus* : Aspects morphologiques, métaboliques et endocriniens. Thèse de Magister. USTHB. Alger.
- **OPTMQ, (2014).** GUIDE D'ANATOMOPATHOLOGIE. Canada. ISBN : 978-2-9814023-3-2 (version PDF). P: 88.
- Pesticides en agriculture maraichère. Institut de recherche en santé et en sécurité de travail du Québec (IRSST), 85 p.
- **PMRA, (2014),** Disponible sur: <https://pr-rp.hc-sc.gc.ca/pi-ip/result-eng.php?1=0&2=13&3=ir&4=a&5=1&6=DESC&7=CHLORANTRANILIPROL E&8=E>. Consulté le : 18/08/2021.
- **R. R. Maronpot, G. A. Boorman and B. W. Gaul, Editors. Vienna, Illinois, Cache River Press, (1999).** Book Reviews: Pathology of the Mouse, Reference and Atlas. 699 pp
- **Rainey, W. E., & Nakamura, Y. (2008).** Regulation of the adrenal androgen biosynthesis. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 108(3-5), 281–286.
- **Redmond C. T. et Potter A., (2017).** Chlorantraniliprole: Reduced-risk Insecticide for Controlling Insect Pests of Woody Ornamentals with Low Hazard to Bees. *Acelepryn Control of Horticultural Pests. Arboriculture & Urban Forestry*. 43(6):242–256. P : 242 – 256.
- **R. Hernandez-Pando, R., Orozco, H., Honour, J., Silva, P., Leyva, R., & Rook, G. A. W. (1995).** Adrenal changes in murine pulmonary tuberculosis; a clue to pathogenesis ? *FEMS Immunology & Medical Microbiology.*, 12(1), 63–72.
- **Roulet A., Pu el O., Gesta S., et al.** MDR1-deficient genotype in collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *European Journal of Pharmacology* 2003; 460: 85-91.
- **Rubensam G, Barreto F, Hoff RB, Pizzolato TM (2013)** Determination of ivermectin and milbemycin residues in bovine muscle by liquid

chromatography -tandem mass spectrometry and fluorescence detection using solvent extraction and low temperature cleanup.

- **Samuel O. et Saint-Laurent L.** (2001). Guide de prévention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraichère. Institut de recherche en santé et en sécurité de travail du Québec (IRSST), 85 p.
- **Shelton, J. F., Geraghty, E. M., Tancredi, D. J., Delwiche, L. D., Schmidt, R. J., Ritz, B., Hertz-Picciotto, I.** (2014). *Neurodevelopmental Disorders and Prenatal Residential Proximity to Agricultural Pesticides: The CHARGE Study*. *Environmental Health Perspectives*. doi:10.1289/ehp.1307044
- **Verdati J., Idelman S.,**(2000). *Endocrinologie et communications cellulaires*, Collection Grenoble sciences, ISSN 0767-371X Édition 2, Éditeur : EDP Sciences, ISBN 2868834760, 9782868834768. 584 pages.
- **Vettorazzi, Gaston & Bianca M. Radaelli-Benvenuti, (1982).**[International Regulatory Aspects for Pesticide Chemicals. Volume 2: Table and Bibliography.](#) Ed: Boca Raton: CRC Press. USA. P: 243.
- **WW Elshennawy, RH Aboelwafa - J Am Sci, (2011).** Structural and ultrastructural alterations in mammalian adrenal cortex under influence of steroidogenesis inhibitor drug. *January 2011 Journal of American Science.*, 7(8):567.
- **Wang, X., Li, X., Shen, A., & Wu, Y.** (2010). *Baseline Susceptibility of the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) to Chlorantraniliprole in China.* *Journal of Economic Entomology*, 103(3), 843–848. doi:10.1603/ec09367.
- **Xing, Y., Saner-Amigh, K., Nakamura, Y., Hinshelwood, M. M., Carr, B. R., Mason, J. I., & Rainey, W. E. (2009).** The farnesoid X receptor regulates transcription of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human adrenal cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 299(2), 153–162.
- **NTP: National Toxicology Program. (2015).** Adrenal Gland – Accessory Adrenocortical Nodule. Disponible sur: <https://ntp.niehs.nih.gov/nnl/endocrine/adrenal/acnodule/index.htm>
Consulté le: 29 novembre 2021.