



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département des Sciences biologiques
Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de
Master en sciences biologiques
Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

**Impact du Thiamétoxame sur l'histo-physiologie
du tissu hépatique chez le rat wistar mâle**
Etude Histo-morphométrique

Réalisé par :

Abdelhamid Thileli

Hamlaoui Aini

Membres du jury :

Mme BENABDESSELAM R.	Professeur	Présidente
Mme GUENDOUZI S.	Maître assistante A	Promotrice
Mme TOUNSI F.	Doctorante	Co-promotrice
Mme ZERROUKI N.	Professeur	Examinatrice

Promotion 2022-2023



Remerciements

On tient à exprimer notre profonde gratitude envers notre promotrice **Mme GUENDOZI S.** pour son soutien inestimable tout au long de la réalisation de ce mémoire. Sa guidance, son expertise et sa disponibilité ont été d'une importance capitale pour la réussite de ce travail.

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

Nous remercions **Mme BENABDESSELAM R.** de nous avoir accordé l'honneur de présider notre soutenance.

Nos remerciements vont aussi à **Mme ZERROUKI N.** d'avoir accepté de juger notre travail en qualité d'examinatrice.

Nous remercions tous le personnel du laboratoire d'Anatomo-pathologie de l'école nationale supérieur vétérinaire d'Alger et le personnel du laboratoire physiologie animale de département des sciences biologiques de l'université Mouloud Mammeri, de Tizi Ouzou de nous avoir accueilli et donné la possibilité de réaliser une bonne partie du travail au sein de leur laboratoire

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A ma famille, aucun langage ne serait exprimé mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragement.

Particulièrement à ma chère mère : Quoi je fasse ou je dise, je ne sais pas comment te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes coté a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles ; ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.

A mon cher père : Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Ce modeste travail et le fruit de tous les sacrifices que tu as fait pour moi.

A mes chères sœurs : louiza, Mélissa, Céline, qui n'ont pas cessée de m'encourager et soutenir tout au long de mes études. Que DIEU vous protège et vous offre la chance et le bonheur.

A mon adorable petite sœur llyana qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A ma grande mère veuille DIEU lui prêter une longue et joyeuse vie.

Ma gratitude et ma reconnaissance vont également à tous mes amies Thiziri, Katila

Yamina et Massicilia ainsi qu'à tous mes proches.

Enfin, je dédie ce travail à mes camarades de la promotion Biologie et physiologie de la reproduction

Sans oublier ma binôme Thileli pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension.

Aini

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes parents :

À mon très cher père. Ta force, ta sagesse et ton soutien indéfectible ont été les piliers de ma réussite. Tu m'as toujours encouragé à poursuivre mes rêves et à viser l'excellence.

À ma très chère mère, Ton amour inconditionnel, ta sagesse et ton constant encouragement ont été une source d'inspiration pour moi. Tu as toujours cru en moi et m'as poussé à donner le meilleur de moi-même.

A mon cher frère Siphax, à travers les hauts et les bas de ce parcours académique, tu as été une source constante de soutien. Tes mots d'encouragement m'ont donné la force et la motivation nécessaires pour poursuivre mes études avec détermination. Je te suis profondément reconnaissant pour ta présence constante, tes conseils précieux et ton inspiration.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers ma meilleure amie Yasmine. Ton soutien indéfectible, ta présence encourageante et ton amitié précieuse ont été des piliers essentiels tout au long de mon parcours.

Mes remerciements à mes amies Lydia, Dalila et Sonia.

A tous mes camarades de la promo Master 2 Biologie et physiologie de la reproduction en témoignage des années passées ensemble, je leur souhaite beaucoup de courage, de réussite et un brillant avenir.

Spécialement A ma binôme « Aini » et toute sa famille.

Thileli

SOMMAIRE

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Rappels bibliographiques

Chapitre 1 : Généralités sur les pesticides : Thiaméthoxame

1. Les pesticides	3
1.1 Définition.....	3
1.2 Historique	3
1.3 Composition des pesticides	3
1.4 Classification des pesticides	4
1.4.1 Classification selon la composition chimique	4
1.4.2 Classification selon la cible	5
1.5 Modes d'exposition de l'homme aux pesticides.....	9
1.6 Effets des pesticides sur la santé	9
2. Néonicotinoïdes et thiaméthoxame	10
2.1 Définition des néonicotinoïdes	10
2.2. Définition de Thiaméthoxame	10
2.3 Propriétés physico-chimique du thiaméthoxame.....	10
2.4 Utilisation	12
2.5 Mode d'action.....	12
3.Toxicité.....	13

Chapitre 2 : Rappels anatomo-histophysiologiques sur le foie

1. Formation du foie	14
2. Anatomie du foie	14
2.1. Morphologie externe	15
2.1.1. Face supérieure (diaphragmatique)	15
3.1.2. Face inférieure (viscérale)	16
3.1.3. Face postérieure	18
2.2. Vascularisation	18
2.2.1. Veine porte	18

2.2.2. Artère hépatique propre	19
2.3.3. Veines sus-hépatiques	19
3. Histologie hépatique	20
3.1. Lobule hépatique	21
3.2. Espace porte	24
3.3. Acinus.....	25
4. Physiologie du foie	25
4. 1. Fonction d'épuration (détoxification).....	25
4.2. Fonctions métaboliques	27
4.2.1 Métabolisme des glucides.....	27
4.2.2. Métabolisme lipidique	27
4.2.3. Métabolisme des protéines	28
4.3. Fonction de stockage	28
4.4. Fonction de synthèse du la bile	28
4.5. Fonction d'hémostase.....	29
4.6 Fonction immunitaire	29

Etude expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1. Matériel	30
1.1 Matériel biologique	30
1.2. Matériel non biologique	31
1.2.1. Produit testé.....	31
1.2.2. Produits utilisés	31
1.2.3. Matériel utilisés	31
2. Méthodes	32
2.1. Traitement des animaux	32
2.2. Préparation des lots de rats	32
2.3. Sacrifice des animaux.....	33
2.4. Fixation de foie.....	33
2.5. Etude histologique.....	33
2.5.1. Déshydratation, éclaircissement et imprégnation	34
2.5.2. Inclusion ou enrobage des échantillons	34
2.5.3. Réalisation de coupes	36

2.5.4. Déparaffinage	37
2.5.5. Réhydratation	37
2.2.6. Coloration	37
2.2.7. Déshydratation.....	38
2.2.8. Eclaircissement.....	38
2.2.9. Montage.....	38
2.2.10. Observation microscopique	39
3. Etude histo-morphométrique	40
4. Etude statistique	40

Chapitre 2 : Résultats et discussion

1. Résultats	41
1.1. Histologie du foie des rats traités au Thiaméthoxame à différentes doses	41
1.1.1. Aspect histologique	41
1.1.2 Morphométrie du tissu hépatique de rats traités au Thiaméthoxame à différentes doses.....	43
1.2 Histologie du foie des rats de la première génération	44
1.2.1 Aspects histologiques	45
1.2.2 Analyse morphométrique	50
2. Discussion	56
2.1. Effet du Thiaméthoxame sur l'histo-physiologie du foie.....	56
2.2. Transmission des effets du thiaméthoxame aux descendants (effet indirect).....	57

Conclusion et perspectives	60
---	-----------

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Répartition des pesticides utilisés en fonction des classes	06
Figure 02 : Mode d'action du Thiaméthoxame.....	13
Figure 03 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides.....	13
Figure 04 : Emplacement du foie au sein du système digestif humain.....	15
Figure 05 : Face diaphragmatique du foie.....	16
Figure 06 : Face viscérale du foie.....	17
Figure 07 : Vascularisation hépatique.....	20
Figure 08 : Structure du tissu hépatique.....	21
Figure 09 : Structure du lobule hépatique.....	22
Figure 10 : Détoxification hépatique	25
Figure 11 : Localisation membranaire de cytochromes P450 dans le réticulum endoplasmique	26
Figure 12 : Rat Wistar Albinos.....	30
Figure 13 : Cassettes pour inclusion.....	34
Figure 14 : Plaque refroidissante.....	35
Figure 15 : Appareil d'enrobage.....	35
Figure 16 : Microtome.....	36
Figure 17 : Bain-marie.....	36
Figure 18 : Plaque chauffante.....	37
Figure 19 : Montage des lames.....	38
Figure 20 : Lames colorées.....	39
Figure 21 : Microscope photonique équipé d'un appareil photo connecté à l'ordinateur.....	42
Figure 22 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA (B), NOEL (C) et NOEL x 2 (D).....	44
Figure 23 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX DJA1, NOAEL1, NOAEL1 x2, comparativement aux témoins.....	43
Figure 24 : Rapport nucléo-cytoplasmique des cellules hépatiques de rats traités avec le TMX: DJA1, NOAEL1, NOAEL1 x2, comparativement aux témoins.....	44
Figure 25 : Le diamètre des sinusoides sanguines des rats traités avec le TMX : DJA, NOAEL, NOAEL x2, comparativement aux témoins.....	44
Figure 26 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins T20 (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA20 (B), NOEL20 (C) et NOEL20 x 2 (D).....	46

Figure 27 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins T60 (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA60 (B), NOEL60 (C) et NOEL60 x 2 (D).....	47
Figure 28 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins T90 (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA90 (B), NOEL90 (C) et NOEL90 x 2 (D).....	49
Figure 29 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX : DJA20, NOAEL20, NOAEL20 x2, comparativement aux témoins.....	50
Figure 30 : Rapport nucléo-cytoplasmique des cellules hépatiques des rats traités avec le TMX : DJA20, NOAEL20, NOAEL20 x2, comparativement aux témoins.....	51
Figure 31 : Le diamètre des sinusoides sanguines des rats traités avec le TMX : DJA20, NOAEL20, NOAEL20 x2, comparativement aux témoins.....	51
Figure 32 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX : DJA60, NOAEL60, NOAEL60 x2, comparativement aux témoins.....	52
Figure 33 : Rapport nucléo-cytoplasmique des cellules hépatiques de rats traités avec le TMX : DJA60, NOAEL60, NOAEL60 x2, comparativement aux témoins.....	53
Figure 34 : Le diamètre des sinusoides sanguines des rats traités avec le TMX : DJA60, NOAEL60, NOAEL60 x2, comparativement aux témoins.....	53
Figure 35 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX : DJA90, NOAEL90, NOAEL90 x2, comparativement aux témoins.....	54
Figure 36 : Rapport nucléo-cytoplasmique des cellules hépatiques de rats traités avec le TMX : DJA90, NOAEL90, NOAEL90 x2, comparativement aux témoins.....	55
Figure 37 : Le diamètre des sinusoides sanguines des rats traités avec le TMX : DJA90, NOAEL90, NOAEL90 x2, comparativement aux témoins.....	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Classification des herbicides.....	07
Tableau 02 : Classification de familles des fongicides.....	08
Tableau 03 : Classification des insecticides.....	08
Tableau 04 : Les propriétés physico-chimique du Thiaméthoxame.....	10
Tableau 05 : La position taxonomique du rat Wistar.....	30
Tableau 06 : La répartition de rats par lots et traitement.....	32

LISTE DES ABREVIATIONS

ATP : Adénosine –Triphosphate

CYPs : Cytochromes P

DJA : Dose journalière
Admissible/tolérable

G : Grossissement

HDL: High density lipoproteins

J: Jour

LDL: Low density lipoproteins

nAChR : Récepteur nicotinique de
l'acétylcholine

NAFLD : Non alcoholic non alcoolique

NK: Natural killer

NOEL : Non observed adverse effect level
« dose sans effet nocif observable »

OCs: Organochlorés

Ops: Organophosphorés

PAF : Paraformaldéhyde

T : Témoin

TMX: Thiaméthoxame

µm² : micromètre carré

GLOSSAIRE

Exposition subchronique: Exposition de durée intermédiaire entre une exposition aiguë et une exposition chronique (se rapporte à une période de vie comprise entre quelques jours et quelques années).

Dose Journalière Admissible (DJA): Quantité de substance chimique que peut ingérer un homme ou un animal par jour au cours de sa vie, sans aucun risque appréciable pour sa santé. Elle est exprimée en milligramme de substance chimique par kilogramme de poids corporel
 $DJA = NOAEL / 100$.

Non Observed Adverse Effect Level (NOAEL): Cette unité désigne la dose sans effet toxique, c'est-à-dire la dose la plus élevée d'une substance pour laquelle aucun effet toxique n'est observé.

RÉSUMÉ

Les pesticides, notamment les néonicotinoïdes tels que le thiaméthoxame, sont des substances chimiques couramment utilisées dans l'agriculture pour lutter contre les ravageurs, mais ils soulèvent des préoccupations quant à leurs effets sur l'environnement et la santé.

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet de thiaméthoxame sur l'histophysiologie de foie des rats mâles Wistar et leurs descendants âgés de 20 jours, 60 jours et 90 jours.

Pour ce faire, 12 rats mâles adultes de souche "Wistar" ont été utilisés et répartis en quatre groupes (3 rats par groupe). Un groupe témoin a reçu 1 ml/jour d'eau, tandis que les autres groupes ont été exposés au thiaméthoxame (TMX) par gavage pendant 10 semaines à différentes doses : dose journalière admissible (DJA) de 0,026 mg/kg, dose sans effet nocif observé (NOAEL) de 2,6 mg/kg, et NOAEL multiplié par deux (NOAEL x2) de 5,2 mg/kg. Par la suite, ces mâles ont été accouplés avec des femelles traitées aussi au thiaméthoxame. Le foie des mâles et de leurs descendants a été prélevé et fixé dans une solution de Paraformaldéhyde à 4%. Des coupes histologiques ont été réalisées, suivies d'une coloration à l'hématoxyline et à l'éosine. Des photographies ont été prises et analysées à l'aide du logiciel Axio Vision Rel. 4.8 pour une étude histo-morphométrique.

Les résultats de cette étude ont mis en évidence des altérations histologiques du foie chez les parents exposés au thiaméthoxame ainsi que chez leurs descendants, ce qui suggère une transmission des effets néfastes du pesticide à travers la lignée paternelle. L'examen histologique a révélé des altérations de la structure hépatique, notamment des modifications de la morphologie lobulaire et une diminution de la distinction des lames hépatocytaires, qui s'est intensifiée avec l'augmentation de la dose et a diminué avec l'avancement de l'âge des descendants.

Mots clés : Pesticide, néonicotinoïdes, Thiaméthoxame, subchronique, toxicité, Rat mâle Wistar, descendants, foie.

ABSTRACT

Pesticides, particularly neonicotinoids such as thiamethoxam, are chemical compounds extensively employed in agriculture for pest control purposes. However, they have raised concerns regarding their potential impacts on both the environment and human health.

The objective of our study is to evaluate the effect of thiamethoxam on the hepatic histophysiology of male Wistar rats and their 20-day-old, 60-day-old, and 90-day-old offspring.

To achieve this, 12 adults male Wistar rats were used and divided into four groups. One group served as a control and received 1 ml/day of water, while the other groups were exposed to thiamethoxam (TMX) through oral gavage for 10 weeks at different doses: the acceptable daily intake (ADI) dose of 0.026 mg/kg, the no observed adverse effect level (NOAEL) dose of 2.6 mg/kg, and twice the NOAEL (NOAEL x2) dose of 5.2 mg/kg. Subsequently, these males were mated with non-exposed females. The liver of the males and their offspring was collected and fixed in a 4% paraformaldehyde solution. Histological sections were prepared, followed by hematoxylin and eosin staining. Photographs were taken and analyzed using Axio Vision Rel. 4.8 software for histomorphometric analysis.

The results of this study revealed histological alterations in the liver of both thiamethoxam-exposed parents and their offspring, suggesting the transmission of adverse effects of the pesticide through the paternal lineage. Histological examination showed changes in liver structure, including modifications in lobular morphology and a decrease in the distinctiveness of hepatocellular plates, which intensified with increasing dose and decreased with the advancing age of the offspring.

Keywords: Pesticide, neonicotinoids, Thiamethoxam, subchronic, toxicity, male Wistar rat, offspring, liver.

Introduction

Introduction

Les pesticides sont des substances chimiques utilisés essentiellement en agriculture afin de protéger les cultures et garantir la sécurité alimentaire. Ils sont regroupés en trois grandes familles, les herbicides, les insecticides et enfin les fongicides (**Ehrmann, 2012**).

Les insecticides sont des substances chimiques ou biologiques conçus spécifiquement pour agir sur les insectes en inhibant leurs effets nuisibles soit par adhérence, ingestion ou inhalation (**Jesse, 2007**).

Les insecticides néonicotinoïdes sont des composés synthétiques qui partagent des similitudes structurelles avec la nicotine, substance utilisée depuis des siècles en tant qu'insecticide (**Thany, 2013**). Les néonicotinoïdes sont parmi les insecticides synthétiques les plus utilisés à l'échelle mondiale en raison de leur efficacité. Leur mode d'action vise spécifiquement le système nerveux central des insectes (**Errante, 2013**). Malgré les préoccupations concernant leur éventuelle toxicité pour l'environnement, en particulier pour les insectes pollinisateurs tels que les abeilles, les néonicotinoïdes continuent de se développer en tant que classe d'insecticides importante (**Yves, 2013**).

En effet, le thiaméthoxame (TMX) est un insecticide appartenant à la classe des néonicotinoïdes. Il a été introduit sur le marché mondial en 1998 et a été homologué en Algérie en juillet 2008. Deux ans après son homologation, il a été mis à disposition sur le marché (**MADR, 2010**). Le TMX agit en perturbant le système nerveux central des insectes, il se lie de manière sélective et puissante aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) (**Goulson, 2013**).

Il est à noter que l'exposition sub chronique aux pesticides, peut engendrer divers problèmes de santé, tels que les troubles neurologiques, les maladies respiratoires, les perturbations hormonales mais aussi l'apparition de certains cancers (**Felsot, 2011**). Ces effets varient en fonction de certains facteurs tels que la dose, la durée d'exposition et la sensibilité individuelle (**Felsot, 2011**).

Par ailleurs, l'exposition au TMX dans l'organisme nécessite son élimination au niveau rénal. Le foie constitue l'organe de détoxification, il assure les réactions métaboliques nécessaires, sous l'effet des enzymes oxygénases, afin de faciliter son excrétion en composés hydrophiles facilement excrétés par les reins.

Introduction

Ainsi, dans ce travail expérimental, nous nous sommes intéressés à l'évaluation des effets d'un traitement sub chronique au Thiaméthoxame pendant dix semaines, à différentes doses, sur l'histomorphométrie du tissu hépatique chez les parents (rat Wistar mâles) et leurs descendants non traités.

Notre manuscrit est composé de deux parties :

La première concerne les rappels bibliographiques sur les pesticides, principalement le Thiaméthoxame ainsi que la structure et la physiologie du tissu hépatique.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale, divisée en deux chapitres, le premier est sur la description du matériel utilisés et le protocole expérimental et le deuxième concerne la présentation des résultats obtenus suivis de leur discussion.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les pesticides : Thiaméthoxame

1. Les pesticides

1.1 Définition

Le mot pesticide est dérivé de l'anglais "Pest" qui englobe tout organisme vivant (virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifère) pouvant être nuisible pour l'homme et son environnement et du terme "cide" dérivé du latin "caedere" signifiant éliminer ou tuer (**Gatignol et Etienne, 2010**).

Ce sont généralement des substances chimiques utilisées pour éliminer les organismes vivants considérés comme nuisibles aux cultures tout au long du processus de production, transformation, stockage, transport ou commercialisation des denrées alimentaires, produits agricoles, bois et produits ligneux. Ils peuvent également être utilisés sur les animaux pour lutter contre les insectes, les arachnides et autres parasites internes ou externes (**FAO, 2010**).

1.2 Historique

Selon **Calvet et al., (2005)**, l'utilisation des pesticides en agriculture remonte à l'Antiquité, comme en témoigne l'utilisation du soufre mentionné par Homère et celle de l'arsenic signalée par Pline l'Ancien, qui était utilisé comme insecticide depuis la fin du XVIIe siècle. À la même époque, la nicotine a été recommandée par Jean de La Quintinie (1626-1688) après la découverte de ses propriétés toxiques. Cependant, c'est au cours des XIXe et XXe siècles, notamment lors de graves épidémies, que les propriétés biocides de nombreux produits chimiques ont été mises en évidence, ce qui a entraîné d'importants développements dans les techniques de protection des plantes. C'est ainsi que les traitements insecticides, fongicides et herbicides ont pris une grande importance. Après 1950, l'utilisation des produits phytosanitaires s'est considérablement développée, répondant à la demande croissante de rendements élevés et de qualité. Dans les années 1970-1980, une nouvelle classe d'insecticides, les pyréthrinoïdes, a fait son apparition et a dominé le marché des insecticides.

1.3 Composition des pesticides

Les pesticides sont composés à la fois d'ingrédients actifs et d'autres ingrédients considérés comme produit de formulation. Les ingrédients actifs sont utilisés pour éliminer, contrôler ou repousser le ravageur, ils doivent être clairement identifiés par leur nom, accompagné de leur pourcentage en poids, sur l'étiquette du pesticide. Les autres ingrédients peuvent avoir diverses fonctions, telles qu'attirer les ravageurs, ils ne sont pas mentionnés spécifiquement sur l'étiquette du pesticide (**EPA, 2019**).

1.4 Classification des pesticides

Les pesticides actuellement disponibles sur le marché se distinguent par leur diversité de structures chimiques, de groupes fonctionnels et d'activités. Ils peuvent être classés selon leur structure chimique ou encore selon le type d'utilisation (classification selon la cible) (Kaur *et al.*, 2019).

1.4.1 Classification selon la composition chimique

Les pesticides sont classés en fonction de leur groupe chimique (Gracia *et al.*, 2012). On distingue :

1.4.1.1 Les organochlorés (OCs)

Les organochlorés sont des hydrocarbures chlorés, classés parmi les plus anciens et les plus persistants. Ils sont surtout utilisés comme insecticides en agriculture et dans les métiers du bois. (Exemples : aldrine, dieldrine, etc...). Ils font partie d'un groupe d'aromatiques polycycliques. Bien qu'ils ne possèdent pas de structure commune spécifique, ils partagent certaines caractéristiques telles qu'une forte lipophilie et une stabilité moléculaire exceptionnellement élevée. Par conséquent ces composés sont difficilement dégradables et ont tendance à persister dans le sol, les aliments ainsi que dans les organismes humains et animaux (Cottard, 2008).

De plus les OCs ont la capacité de s'accumuler dans le foie, les tissus adipeux et le système nerveux. À des doses élevées, ils peuvent induire une action pro convulsive, ce qui signifie qu'ils peuvent favoriser l'apparition de convulsions (Tordoier et Van Sittert, 1994).

1.4.1.2 Les organophosphorés (OPs)

Les organophosphorés sont généralement des composés amides ou esters dérivés de l'acide phosphorique (TestudetGrillet, 2007).

Selon l'EPA (2019), les organophosphorés sont des composés utilisés pour lutter contre les organismes nuisibles en ciblant spécifiquement leur système nerveux. Contrairement à certains autres pesticides, les organophosphorés sont moins persistants dans l'environnement.

1.4.1.3 Les carbamates

Les carbamates sont largement utilisés en agriculture en tant qu'insecticides, herbicides et fongicides. Ce sont des composés insecticides qui agissent en bloquant les cholinestérases avec leur fonction carbyl, ce qui entraîne une accumulation d'acétylcholine. Contrairement aux organophosphorés, cette inhibition est réversible (Danel et al., 2005).

Les carbamates agissent contre les insectes par contact, ingestion et, dans certains cas, par inhalation. Sur le plan chimique, ce sont des esters de l'acide méthylcarbamique de formule générale (R-O-CO-NH-CH₃). Ces composés sont généralement non volatils, lipophiles, peu solubles dans l'eau, mais solubles dans la plupart des solvants organiques. Les carbamates ont une large gamme de solubilité, ce qui leur permet d'être efficaces contre de nombreux insectes (Testud et Grillet, 2007).

1.4.1.4 Les pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes sont des composés des esters de l'acide cyclopropane carboxylique. On les distingue en deux groupes : le groupe I, comprenant les premiers pyréthrinoïdes synthétisés qui sont sensibles à la dégradation sous l'effet de la lumière, et le groupe II, comprenant des pyréthrinoïdes photostables. Dans le groupe II, le carbone alpha est di substitué par un groupement cyané et par un radical phénoxyphényle (Testud et al., 2001).

Les pyréthrinoïdes perturbent la transmission des impulsions nerveuses en augmentant le flux d'ions sodium, ce qui provoque une stimulation excessive des cellules nerveuses ce qui entraîne une paralysie. De plus, ils ont une persistance significative et ne se décomposent pas rapidement dans l'environnement (CCHST, 2023).

1.4.2 Classification selon la cible

La classification des produits phytosanitaires est basée sur le type de parasite à contrôler. On peut principalement les regrouper en trois grandes familles en fonction de la nature de leurs cibles : les herbicides qui sont les plus utilisés à 44%, les fongicides à 29% et les insecticides à 27% (Figure 01) (Goel et Aggarwal, 2007).

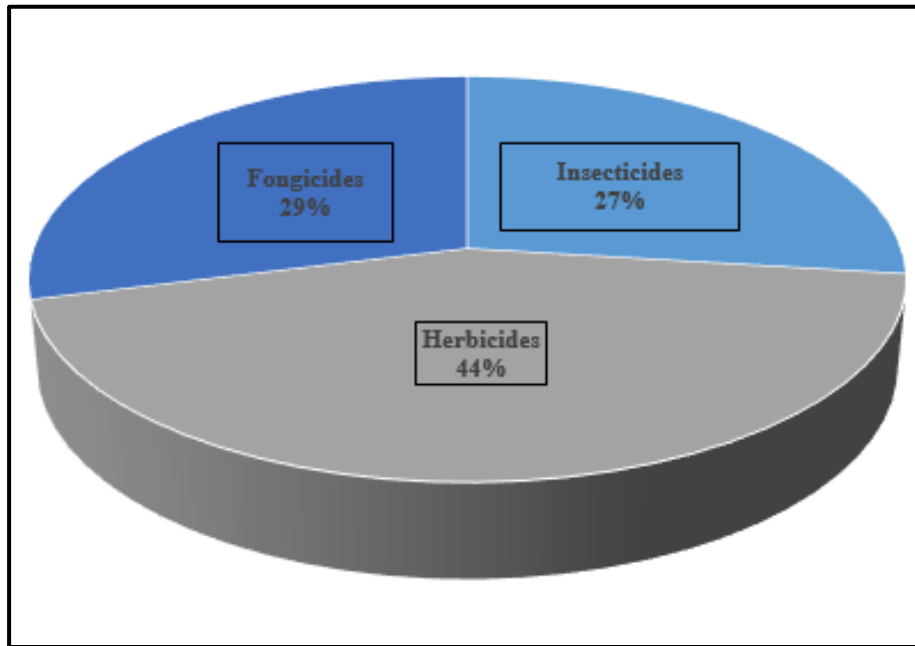


Figure 01 : Répartition des pesticides utilisés en fonction des classes (Elghazi et al., 2021)

1.4.2.1 Les herbicides

Les herbicides représentent des préparations utilisées pour détruire les mauvaises herbes qui gênent ou empêchent le développement des implantations (Fournier, 1988). Ils agissent en bloquant des fonctions fondamentales au développement et à la survie de la plante cible.

Selon El-Mrabet et al., (2007), les herbicides possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être :

- Des perturbateurs de la régulation d'une hormone « auxine » (hormone qui agit sur l'augmentation de la taille des cellules)
- Des perturbateurs de la photosynthèse
- Des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés

Selon Cirad (2000), les herbicides se distinguent entre elles par rapport à leur voie de pénétration dans les végétaux et à leur déplacement dans la plante. Ils sont regroupés en cinq familles de molécules : les organochlorés, les benzamides, les urées substituées, les chlorotriazines, les triazines (Tableau 01).

Tableau 01 : Classification des herbicides(Thiollet-Scholtus, 2004)

Familles d'herbicides	Exemples de molécules
Les organochlorés :peuvent interférer avec le processus de photosynthèse, réduisant ainsi la croissance et la productivité des plantes.	<ul style="list-style-type: none"> • Alachlore
Les benzamides :sont des composés dérivés de l'acide benzoïque qui se présentent sous forme de solides blocs. Ils sont solubles dans l'eau et particulièrement dans l'alcool.	<ul style="list-style-type: none"> • Isoxaben
Les urées substituées : sont principalement absorbées par les racines des plantes. Transportées par la sève brute, elles s'accumulent dans les feuilles où elles inhibent le processus de photosynthèse.	<ul style="list-style-type: none"> • Diuron
Les chlorotriazines	<ul style="list-style-type: none"> • Terbutylazine
Les triazines :Il existe trois types atrazine, simazine et terbutylazine, ils sont principalement utilisés pour le contrôle des mauvaises herbes dans les cultures de maïs.	<ul style="list-style-type: none"> • Métribuzine

1.4.2.2 Les fongicides

Les fongicides sont des substances d'origine naturelle ou synthétique qui sont utilisées pour éliminer les champignons, les moisissures et autres parasites des plantes(**Faubert, 2012**).

Selon **El-Mrabet et al., (2007)**, les fongicidespeuvent agir différemment :

- Soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire
- Soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides

Les fongicides sont regroupées en quatre famillesde molécules : les imides cycliques, les carbamates, les phtalamides, les triazoles (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Classification de familles des fongicides(Thiollet-Scholtus, 2004)

Familles de molécules	Exemples de molécules
Les imides cycliques	Vinchlozoline
Les carbamates	Métirame-zinc
Les phtalamides	Folpel
Les triazoles	Epoxyconazole

1.4.2.3 Les insecticides

Les insecticides sont des pesticides conçus pour combattre les insectes. Ils agissent en perturbant la croissance des insectes et en empêchant la larve de se développer jusqu'à l'âge adulte ainsi que sur la respiration cellulaire. Ces produits sont souvent parmi les plus toxiques(Martin et Worthing, 1976).

Ils sont regroupés en six familles de molécules : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les phénylpyrazoles, les néonicotinoïdes(Tableau 03).

Tableau 03 : Classification des insecticides (Thiollet-Scholtus, 2004)

Familles d'insecticides	Exemples de molécules
Les organochlorés : sont des composés organiques desynthèse, ils sont à base de carbone, d'hydrogène et de chlore	<ul style="list-style-type: none"> • Pentachlorophénol • Endosulfan
Les organophosphorés : sont des toxiques létaux	<ul style="list-style-type: none"> • Fénithroton • Méthidathion
Les carbamates : sont des esters substitués de l'acidecarbamique ou d'un amide substitué	<ul style="list-style-type: none"> • Méthomyl • Thiodicarbe
Les pyréthriinoïdes : sont des analogues synthétiques despyréthrines	<ul style="list-style-type: none"> • Bifenthrine • Deltaméthrine
Les phénylpyrazoles	<ul style="list-style-type: none"> • Fipronil • Ethiprole
Les néonicotinoïdes :sont utilisés pour laprotection contre les insectes parasites des cultures et des animaux	<ul style="list-style-type: none"> • Thiamétoxame • Imidaclopride

1.5 Modes d'exposition de l'homme aux pesticides

Les pesticides ont une capacité de dispersion étendue et certains d'entre eux persistent longtemps dans l'environnement. Ils peuvent pénétrer dans l'organisme par différentes voies, telles que l'alimentation, l'eau, le contact cutané ou l'inhalation, lors du mélange, de l'application ou du nettoyage du produit (**Figure 03**) (CCHST, 2023).

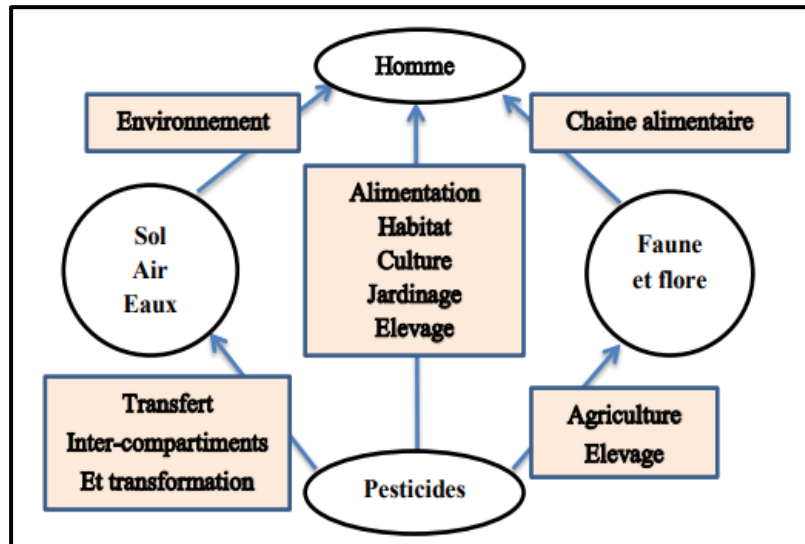


Figure 03 : Modes d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides
(CPP, 2002)

1.6 Effets des pesticides sur la santé

L'exposition aux pesticides peut avoir des impacts sur la santé humaine et provoquer deux types d'intoxications : aiguë et chronique.

L'intoxication aiguë survient immédiatement ou peu de temps après une exposition brève et ponctuelle à un pesticide, tandis que l'intoxication chronique se développe sur une période plus longue (Margoum *et al.*, 2003).

Les effets des intoxications peuvent se manifester par des symptômes locaux tels que des vomissements, des réactions allergiques cutanées ou oculaires, ainsi que des difficultés respiratoires. Cependant, ils peuvent également entraîner des atteintes à plusieurs organes ou systèmes tels que le foie, les reins et le système nerveux central...

De plus, les pesticides peuvent présenter des risques sur la reproduction, le développement du fœtus, en particulier pour le système nerveux, l'équilibre hormonal de l'organisme et le système immunitaire (Weinberg *et al.*, 2009).

2. Néonicotinoïdes et thiaméthoxame

2.1 Définition des néonicotinoïdes

Entre les années 1985 et 1995, plusieurs insecticides néonicotinoïdes ont été introduits sur le marché. Au cours de cette période, ces insecticides ont gagné en popularité et, de 1990 à 2008, ils ont acquis une part importante du marché des insecticides. Les néonicotinoïdes sont devenus la classe d'insecticides la plus vendue dans le monde, dépassant d'autres types d'insecticides en termes de volume de ventes (**Elbert et al., 2008**).

Les néonicotinoïdes sont des substances insecticides systémiques qui peuvent être utilisées de différentes manières. Ils sont couramment utilisés dans les traitements des parties aériennes des plantes, tels que les pulvérisations foliaires, pour protéger les cultures contre les insectes ravageurs. Ils peuvent également être utilisés dans les traitements du sol, où ils sont appliqués au niveau des racines pour fournir une protection contre les insectes souterrains. De plus, les néonicotinoïdes sont souvent utilisés comme enrobage des semences, où ils sont appliqués directement sur les graines avant la plantation pour protéger les jeunes plantes émergeant des semences des attaques d'insectes nuisibles (**Gupta et Gajbhiye, 2007**).

Selon **Viau (2018)**, les néonicotinoïdes les plus couramment utilisés sont le thiaclopride, l'imidaclopride et le thiaméthoxame.

2.2. Définition de thiaméthoxame

Le thiaméthoxame (TMX) est une molécule chimique appartenant à la famille des néonicotinoïdes. Il est couramment utilisé comme pesticide, agissant comme un insecticide systémique. Son utilisation vise à protéger les cultures contre les insectes nuisibles en les rendant toxiques pour ces derniers (**ARLA, 2007**).

Le TMX a été synthétisé pour la première fois en 1991, selon **la MADR (2007)**, il a été homologué en Algérie en juillet 2008. Il a été introduit sur le marché deux ans plus tard et commercialisé sous les marques Actara® pour le traitement foliaire et du sol, et Cruiser® pour le traitement des semences.

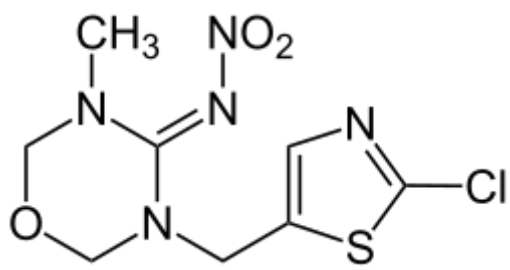
2.3 Propriétés physico-chimique du thiaméthoxame

Le thiaméthoxame agit à la fois par contact et par ingestion. Grâce à ses propriétés systémiques, il est rapidement absorbé par la plante et se propage à travers les tissus

vasculaires, en utilisant le xylème, pour atteindre différentes parties de la plante, y compris les feuilles, les tiges et les racines. Cette caractéristique lui permet de fournir une protection efficace contre les insectes nuisibles qui se nourrissent de différentes parties de la plante (Tomlin, 2006).

Ses propriétés physico-chimiques sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 04 : Les propriétés physico-chimiques du thiaméthoxame (ARLA, 2007)

Nom commun	Thiaméthoxame
Nom chimique de l'IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée)	3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-yl) méthyl-5-méthyl-1, 3,5-oxadiazinan-4-ylidène nitramide
Formule moléculaire	$C_8H_{10}ClN_5O_3$
Masse moléculaire	$291,715 \pm 0,016 \text{ g/mol}$
Pureté nominale de la matière active	98%
Formule développée	
Couleur et forme	Poudre fine de couleur blanc cassé
Odeur	Inodore
T° de fusion	139.1°C
Solubilité dans l'eau à 25°C	4.1g /l
Densité à 25°C	$1.57 \times 10^3 \text{ Kg/m}^3$
Masse volumique	1.57 g/ml

2.4 Utilisation

Les produits contenant du thiaméthoxame sont généralement conçus pour être pulvérisés sur les plantes et le sol nu. De plus, le thiaméthoxame est utilisé comme un enduit sur les semences afin de prévenir les dommages causés par les insectes lors de la plantation et pour protéger les plantes émergent de ces semences. Cela permet de fournir une protection précoce contre les insectes nuisibles(Jeschke *et al.*, 2011).

2.5 Mode d'action

Le thiaméthoxame agit comme tous les néonicotinoïdes par effet agoniste sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine avec interruption de la transmission de l'influx nerveux des insectes (Maienfisch, 2005).

Au niveau cellulaire, le thiaméthoxame agit en se liant aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) présents à la surface des cellules nerveuses des insectes. Ces récepteurs jouent un rôle essentiel dans la transmission des signaux nerveux. L'acétylcholine se lie à ses récepteurs nicotiniques, ce qui déclenche l'ouverture des canaux ioniques du récepteur. L'entrée d'ions, tels que le sodium, à travers ces canaux provoque un potentiel d'action, permettant la transmission du signal nerveux. Cependant, le thiaméthoxame se lie aux récepteurs nicotiniques de manière plus stable que l'acétylcholine(Williamson *et al.*, 2014) et présente aussi la particularité de ne pas être facilement dégradés par l'enzyme acétylcholinestérase(Buckingham *et al.*, 1997). Ainsi, cette liaison prolongée empêche l'acétylcholine d'atteindre et de se lier normalement aux récepteurs. En conséquence, les canaux ioniques ne s'ouvrent pas efficacement, ce qui perturbe le flux d'ions à travers la membrane cellulaire. Cela empêche la transmission normale des signaux électriques entre les cellules nerveuses(Figure 02).L'accumulation de thiaméthoxame au niveau des récepteurs nicotiniques entraîne une hyperexcitation des cellules nerveuses, provoquant une activité neuronale excessive et désordonnée. Cette perturbation de l'activité électrique au niveau cellulaire se propage à travers le système nerveux de l'insecte, conduisant à une paralysie progressive de ses fonctions vitales. Finalement, l'insecte est incapable de coordonner ses mouvements, de se nourrir et de se reproduire, ce qui entraîne sa mort (Williamson *et al.*, 2014).

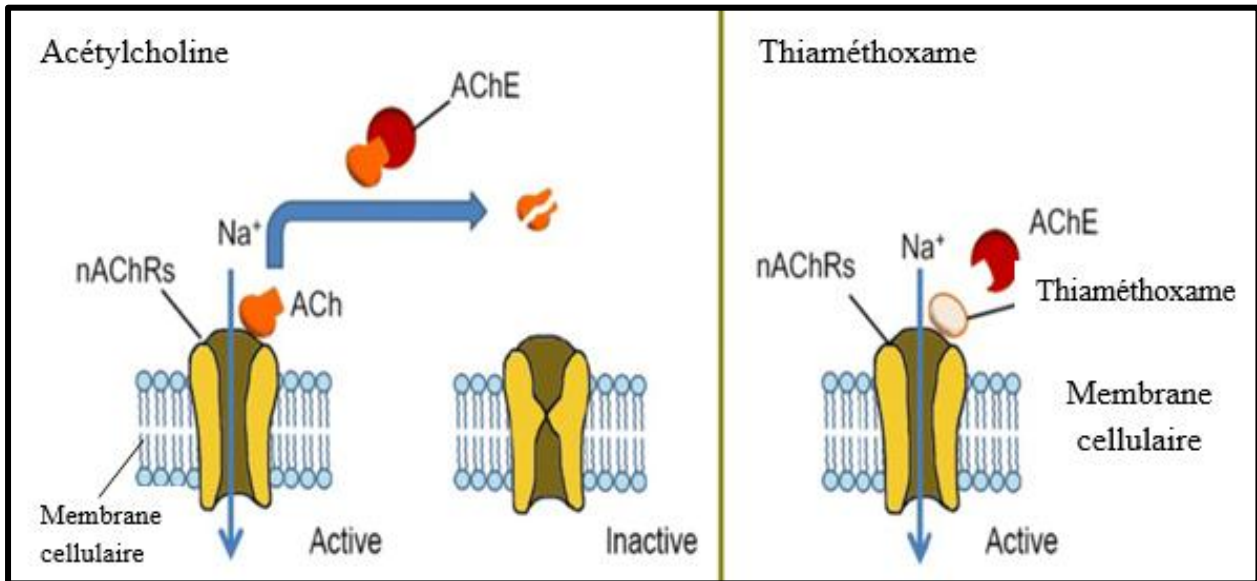


Figure 02 : Mode d'action du thiaméthoxame (Chang et al.,2013)

Ach : Acétylcholine, AChE : Acétylcholinestérase, nAChRs : récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, Na⁺ : l'ion sodium

2.6 Toxicité

Le thiaméthoxame présente une toxicité légère par voie orale et par inhalation, et il est peu toxique par voie cutanée. Il a également été démontré qu'il avait peu ou pas d'effets irritants sur la peau et les yeux, et qu'il ne provoquait pas de sensibilisation cutanée (Feki et al., 2021).

Chez les animaux, le TMX a été associé à des effets sur la santé tels que des altérations du foie, des reins et du système nerveux, mais ces effets ont été observés à des doses élevées. Cependant, il n'a pas démontré d'effets toxiques sur la reproduction lors d'expérimentations animales, et il n'a pas été considéré comme génotoxique (EPA, 2007).

Chapitre II

Rappels anatomo-histo-physiologiques du foie

Le foie est l'un des organes vitaux de l'organisme, il est considéré comme la plus volumineuse des glandes annexes du tube digestif avec un poids de 1500g dont 800 à 900g de sang chez l'adulte vivant. Il est caractérisé d'une forme ovoïde et d'une couleur rouge brun (**Kamina, 2014**).

Il s'agit d'une glande amphicrine homotypique doté d'une double fonction : endocrine qui consiste à déverser la plupart des produits métabolisés dans la circulation générale du sang ; et exocrine correspondant à la sécrétion de la bile dans le tube digestif et la drainée vers la vésicule biliaire (**Stevens et Lowe, 1997**).

De plus, le foie agit comme une immense usine chimique en produisant des molécules complexes et en éliminant les toxines présentes dans l'ensemble de corps. Lorsqu'il est en bon état, il joue un rôle crucial en effectuant une véritable transformation chimique pour protéger le système immunitaire du risque de surcharges(**Lukas, 2006**).

1. Formation du foie

Le foie prend forme à partir d'un bourgeon hépatique qui émerge de la face antérieure du duodénum. Ensuite, il se développe dans la région du mésogastre antérieur. La présence du foie dans cette région divise le mésogastre antérieure en trois parties distinctes :

- Une partie moyenne constituée du péritoine hépatique qui entoure le foie.
- Une partie antéro-supérieure, appelée le ligament suspenseur du foie, qui fixe le foie au diaphragme.
- Une partie postéro-inférieure qui relie l'estomac au foie et forme le petit épiploon.

Au-dessus du foie, il y a un segment spécifique du mésogastre antérieure qui se trouve entre le ligament supérieur et le petit épiploon. Ce segment est connu sous le nom de ligament coronaire, car il relie la face postérieure du foie au diaphragme (**Mellal, 2010**).

2. Anatomie du foie

Le foie est situé dans la partie supérieure droite de l'abdomen : cet organe est partiellement protégé par les côtes, sa consistance est ferme et friable, il est recouvert d'une capsule fibreuse : capsule de Glisson. **(Figure 04) (Mellal, 2010).**

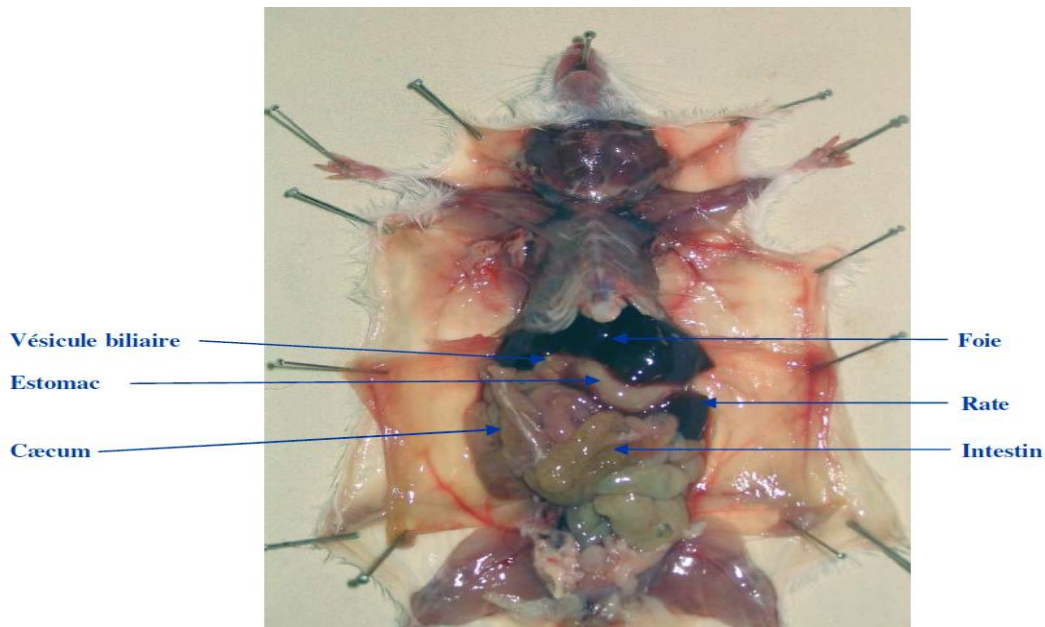


Figure 04 : Emplacement du foie au sein du système digestif du rat **(Oriana et Denis, 2015)**

2.1. Morphologie externe

Le foie présente 3 faces : supérieure, inférieure et postérieure, séparées les unes des autres par 3 bords : un bord antérieur, un bord postéro-supérieure et un bord postéro-inférieur **(Rouvière et Delmas, 2002).**

2.1.1. Face supérieure (diaphragmatique)

La face supérieure du foie est convexe, lisse et unie. Elle est orientée vers le haut, l'avant et la droite. Sa limite antérieure est définie par le bord antérieur du foie, tandis que sa limite postérieure est marquée par la ligne de réflexion du feuillet supérieur du ligament coronaire **(Mellal 2010).**

La face supérieure du foie est divisée en deux lobes, droit et gauche par le ligament falciforme, tendu de la face supérieure de foie au diaphragme. Le lobe droit présente une forte convexité, tandis que le lobe gauche est nettement plus petit que le lobe droit. De plus, le lobe gauche est moins saillant et présente, même dans sa partie médiane, une légère inflexion appelée empreinte cardiaque, qui est observable depuis le péricarde (**Figure 05**)(Rouvière et Delmas, 2002).

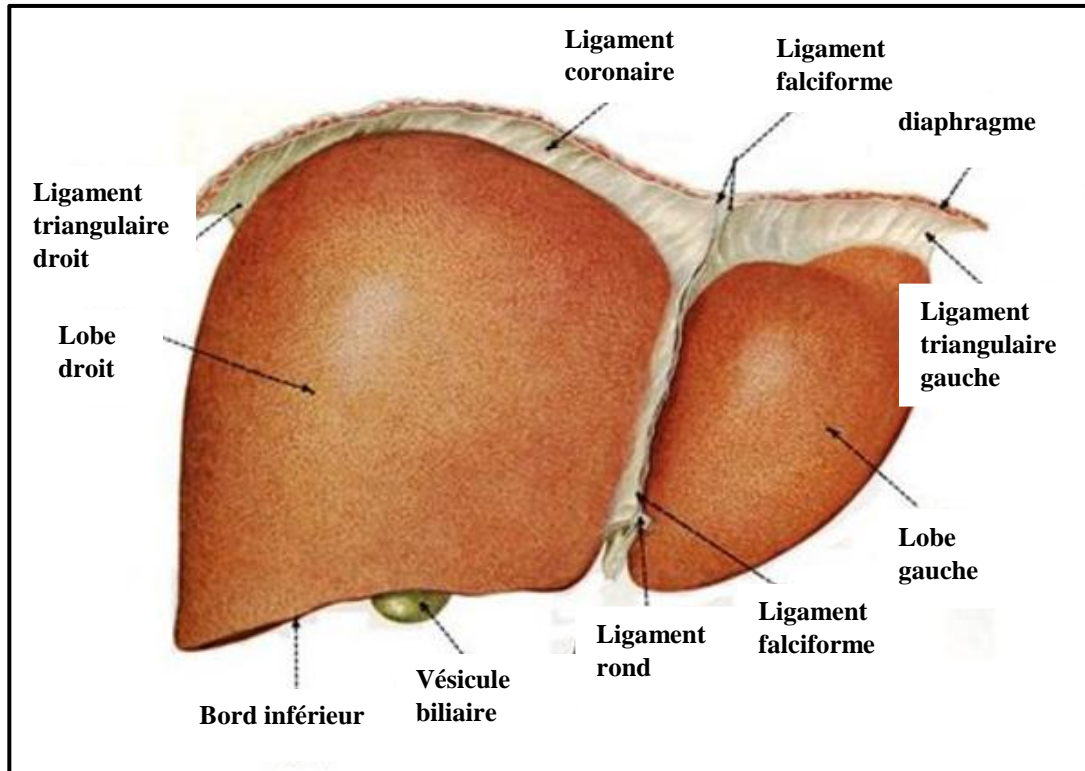


Figure 05 : Face diaphragmatique du foie (Ferner et Staubesand, 1986)

2.1.2. Face inférieure (viscérale)

La face inférieure est orientée vers le bas et vers l'avant, et caractérisée par la présence des trois sillons : Un sillon transversal et deux sillons antéro-postérieurs droit et gauche (**Figure 06**) (Mellal, 2010).

- Sillon transversal : situé dans la partie médiane, correspond au hile hépatique où les éléments du pédicule hépatique (veine porte, artère hépatique et voies biliaires) se divisent.

- Sillon antéro-postérieur droit : crée une gouttière qui s'élargit vers l'avant formant ainsi la fossette cystique.
- Sillon antéro-postérieur gauche présente une encoche au niveau du bord antérieur du foie, où il se prolonge par le ligament rond. Il s'étend vers l'arrière de la face postérieure par le sillon d'Arantius.

Selon **Mellal (2010)**, les sillons présents sur la face inférieure servent à délimiter trois parties distinctes :

- La partie droite (lobe droit), caractérisée par la présence de trois empreintes marquantes : l'empreinte colique en avant, l'empreinte rénale en arrière et l'empreinte duodénale en dedans.
- La partie gauche (lobe gauche), concave, marquée par l'empreinte gastrique.
- La partie moyenne, qui présente de l'avant vers l'arrière : le lobe carré, le hile du foie et le lobe Spiegel.

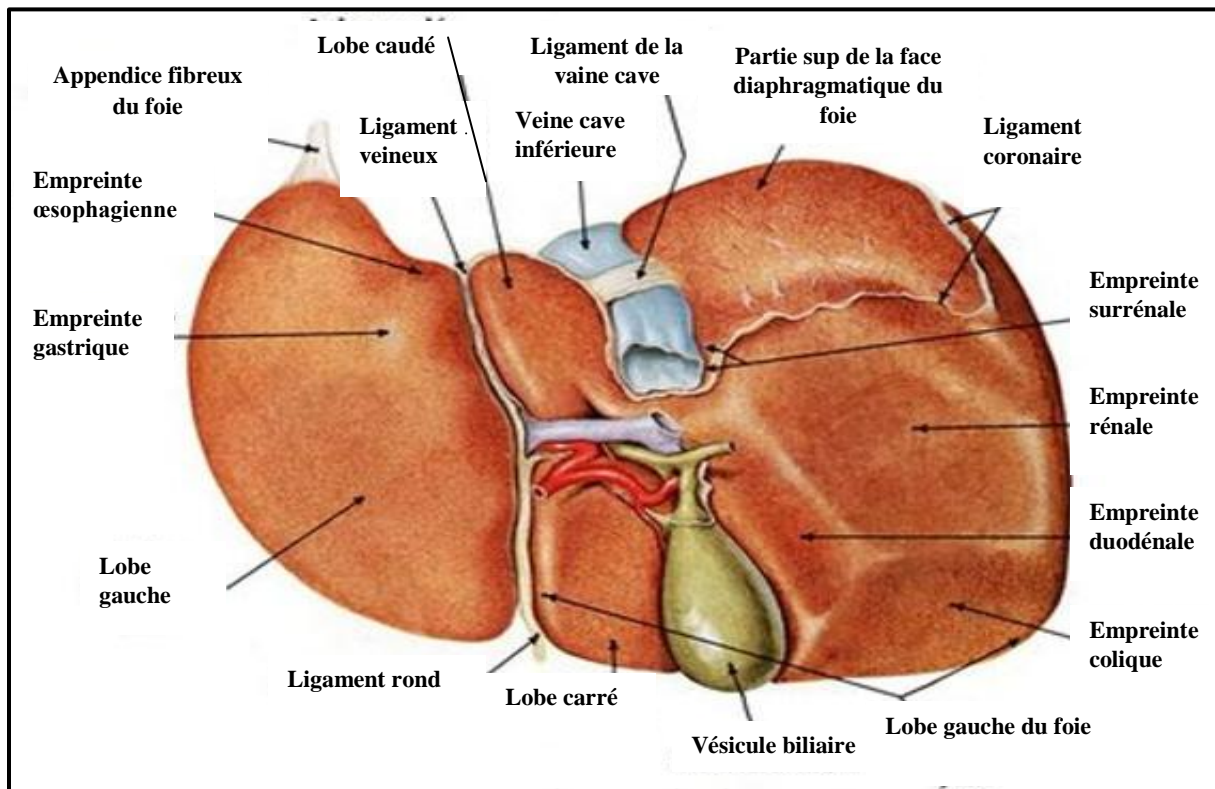


Figure 06: Face viscérale du foie (Ferner et Staubesand, 1986)

2.1.3. Face postérieure

Elle présente une forme triangulaire, avec une base droite et un sommet gauche. Elle possède une concavité postérieure qui s'adapte à la convexité de la veine cave inférieure et des corps vertébraux. Elle est marquée par la présence de deux sillons : un sillon vertical droit, qui forme une profonde gouttière où la veine cave inférieure se loge, reliée au foie par les veines sus-hépatiques. Ensuite, il y a un sillon vertical gauche qui prolonge le sillon d'Arantius (**Mellal, 2010**).

Ces deux sillons délimitent au niveau de la face postérieure trois zones : la zone droite occupée par le ligament coronaire et relie le foie sur le diaphragme, la zone moyenne formée par le lobe de Spiegel tapissé par le péritoine viscéral, et la zone gauche marquée par l'empreinte de l'œsophage abdominal (**Mellal, 2010**).

2.2. Vascularisation

Le foie est un organe très vascularisé, il reçoit plus de 10% du volume sanguin total. Cette vascularisation est assurée par la veine porte et l'artère hépatique et les veines sus-hépatiques (**Figure 07**).

Selon **Ferreira et al., (2015)**, la vascularisation du foie est dite mixte ou double, il possède :

- **Une vascularisation nutritive** : l'apport sanguin amenant le sang oxygéné est réalisé par l'artère hépatique.
- **Une vascularisation fonctionnelle** : la veine porte hépatique ramenant le sang de tube digestif riche en nutriments en période postprandiale.

2.2.1. Veine porte

La veine porte est très volumineuse, environ 75% du sang afférent, elle se divise en deux branches, droite et gauche au niveau du hile du foie. La branche droite est plus courte que la gauche. Elle émet deux ramifications vers le lobe de Spiegel, et se ramifie ensuite dans le lobe droit. La branche gauche, avant de pénétrer dans le lobe gauche, on voit également quelques ramifications aux lobes carrés et lobe de Spiegel (**Belghiti, 2002**).

Les branches de la veine porte se ramifient de manière très irrégulière à travers le foie, formant des branches de tailles différentes sans aucun ordre spécifique. Tous ces rameaux

suivent un parcours conjoint avec les ramifications de l'artère hépatique et des conduits biliaires, à l'intérieur de la gaine de la capsule de Glisson, jusqu'aux espaces portes (**Belghiti, 2002**).

2.3.2. Artère hépatique propre

L'artère hépatique se divise en deux branches terminales au-dessous du hile et au-dessous de la bifurcation de la veine porte :

- La branche gauche qui se divise à l'extérieur du foie, en trois branches secondaires destinées au lobe carré, au lobe de Spiegel et au lobe gauche.
- La branche droite de l'artère hépatique est généralement plus volumineuse que la branche gauche, peut rester non divisée jusqu'à son entrée dans le parenchyme hépatique, ou bien elle peut se diviser après avoir donné l'artère cystique en deux à trois rameaux (**Belghiti, 2002**).

2.3.3. Veines sus-hépatiques

Le sang apporté aux lobules hépatiques par l'artère hépatique et la veine porte quitte les lobules par la veine intra-lobulaire qui se rejoignent en dehors des lobules pour former les veines sub-lobulaires. Ces dernières se regroupent pour former des vaisseaux de plus en plus volumineux qui reçoivent à la fois des veines de gros calibre et les veines sub-lobulaires voisines. En définitive, tout le sang veineux du foie est acheminé à la veine cave inférieure par les troncs collecteurs appelés veines sus-hépatiques. Il existe trois veines sus-hépatiques principales qui se déversent dans la veine cave :

- La veine sus-hépatique gauche se trouve entre les deux secteurs postérieur et antérieur du lobe gauche qu'elle draine. Elle est formée par la convergence de plusieurs veines. Généralement, elle présente un tronc court et postérieur, parfois avec une partie supérieure extra parenchymateuse. Elle se trouve en contact avec le ligament veineux à l'arrière. Le plus souvent, elle se joint au tronc de la veine sus-hépatique médiane pour former un court tronc commun. Ce tronc commun peut également recevoir une veine diaphragmatique inférieure gauche.
- La veine sus hépatique médiane se forme par la fusion de deux branches, une branche droite et une branche gauche, au niveau de la partie moyenne du foie, dans la région du

hile. Elle chemine dans la scissure principale du foie, qui sépare le foie droit du foie gauche, et elle reçoit une partie du sang de ce dernier.

- La veine sus-hépatique droite est un tronc veineux de grande taille (parfois de longueur très réduite) qui se déverse le long du bord droit de la veine cave. Elle est responsable du drainage des secteurs antérieur et postérieur du foie droit (**Belghiti, 2002**).

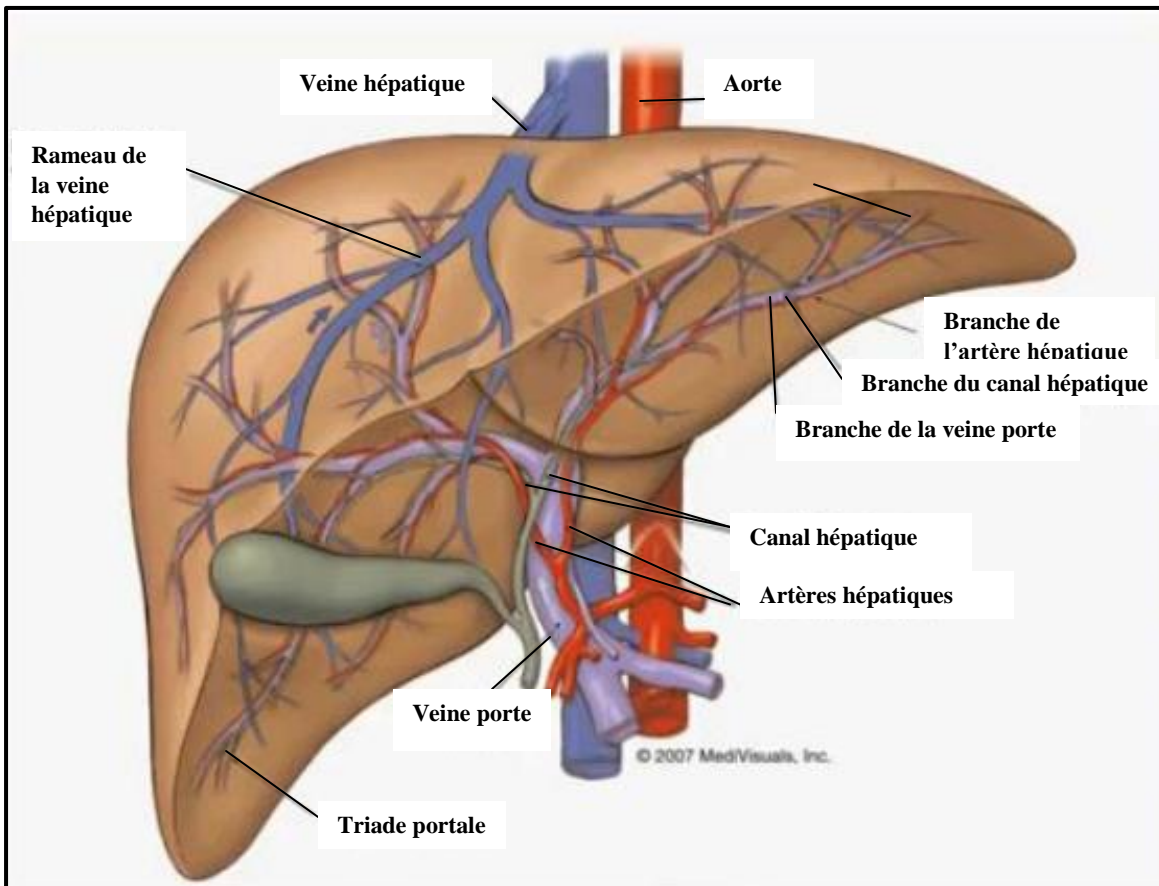


Figure 07 : Vascularisation hépatique (**Andre, 2017**)

3. Histologie hépatique

Le lobule hépatique est l'unité fonctionnelle de base du tissu hépatique. Chaque lobule présente un espace porte à chaque extrémité, composé de tissu conjonctif.

Les travées hépatiques sont organisées de manière radiale autour d'une veine centrolobulaire. Elles sont séparées les unes des autres par des capillaires sinusoides qui proviennent des branches terminales de la veine porte et de l'artère hépatique. Les canaux biliaires permettent

le drainage des canalicules biliaires situés entre les parois des hépatocytes, en passant par les passages de Hering (**Figure 08**) (**Dadoune, 1990**).

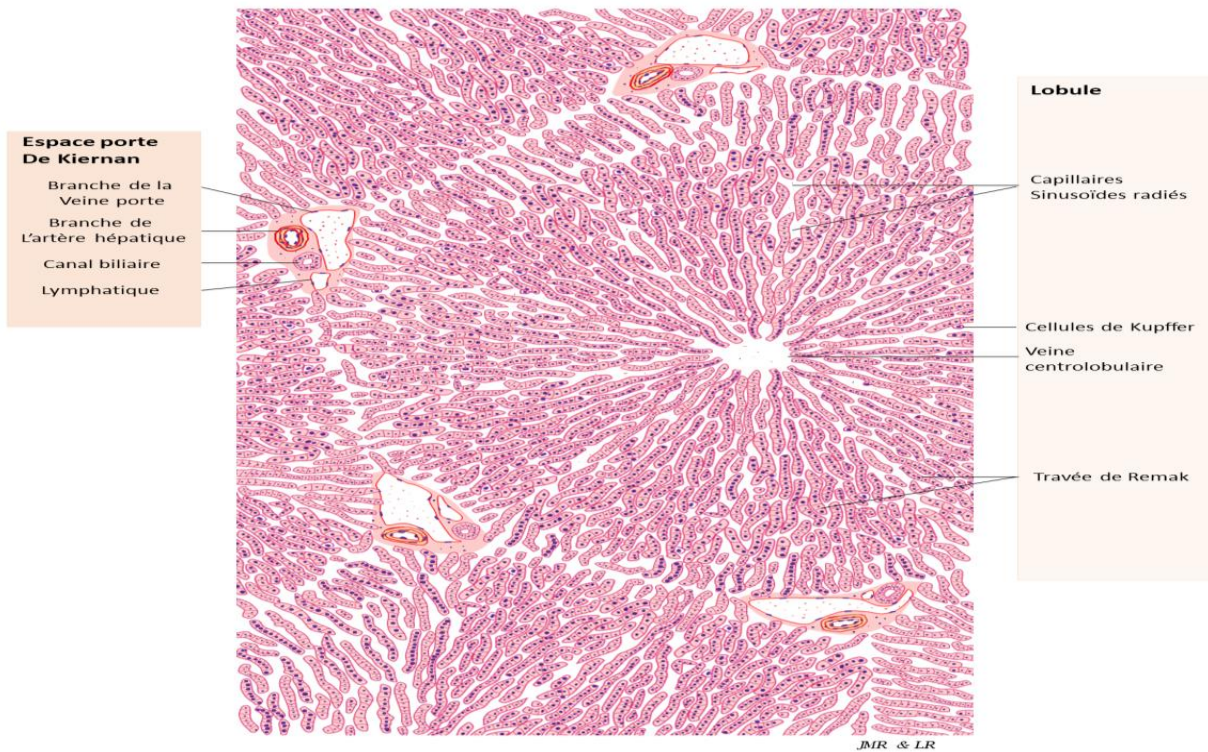


Figure 08 : Structure du tissu hépatique (**Metlej, 2019**)

3.1. Lobule hépatique

Le foie repose sur un regroupement des hépatocytes au sein d'unités anatomiques; les lobules hépatiques. Ces derniers peuvent être divisés en trois territoires :

- ✓ Territoire centro-lobulaire correspond aux zones les plus proches de la veine centrolobulaire. Les cellules centro-lobulaires sont plus petites et plus claires.
- ✓ Territoire péri-lobulaire longent les limites périphériques du lobule. Les cellules péri-lobulaires sont plus denses et plus basophiles.
- ✓ Territoire médio-lobulaire est situé entre les territoires centro et péri-lobulaire.

Ainsi les lobules hépatiques incluent les hépatocytes (cellules épithéliales hépatiques), la veine centrolobulaire, les sinusoides, le tissu conjonctif et le réseau des voies biliaires (**Figure 09**) (**Dadoune, 1990**).

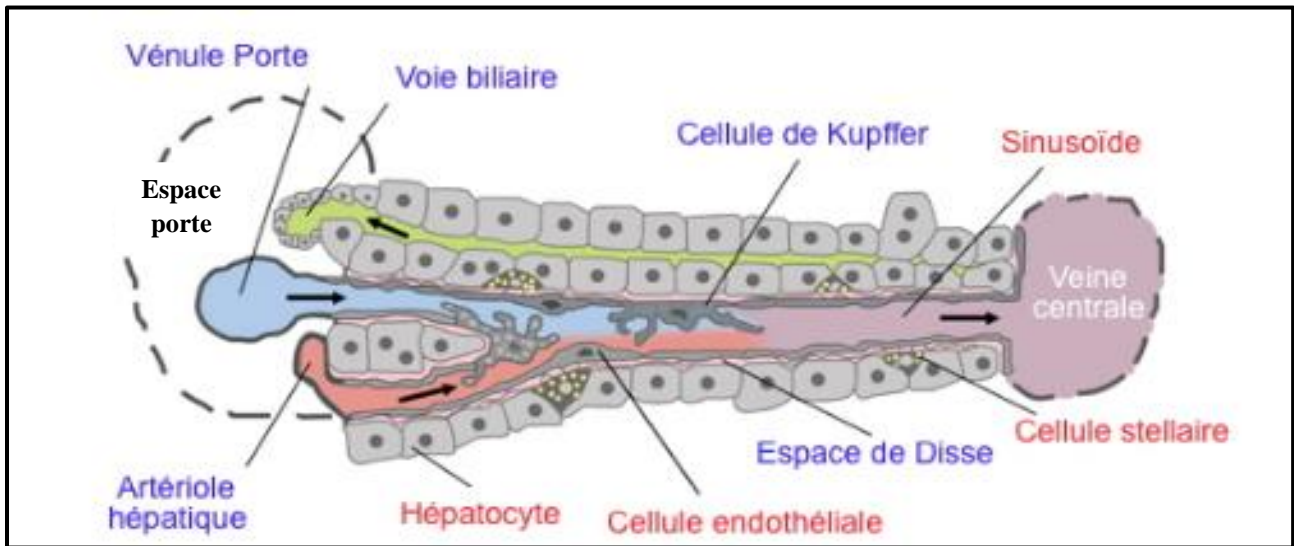


Figure 09 : Structure du lobule hépatique (Frevert *et al.*, 2011)

➤ **Hépatocytes**

Selon **Rosenbaum (1991)**, les hépatocytes représentent environ 60 % des cellules hépatiques et 90 % de la masse cellulaire du foie.

Chaque lobule hépatique est composé de travées de cellule épithéliales hépatiques, disposées de manière radiale. Ces travées sont bordées d'un côté par les sinusoides, qui s'alignent parallèlement. Les hépatocytes peuvent varier en taille et sont souvent diploïdes (**Sobotta, 2002**).

➤ **La veine centro-lobulaire**

La veine centro-lobulaire se trouve au centre de lobule, elle est le point de convergence d'une série de capillaires sinusoides disposées en forme de rayons (**Vigué, 2004**).

➤ **Les sinusoides**

Les sinusoides lobulaires ont un diamètre plus large et une forme plus irrégulière que les capillaires classiques. Ils sont compatibles complètement aux espaces présents entre les lames des cellules parenchymateuses dont il reste cependant séparé par l'espace de Disse (**Ouattara, 1999**). Cet espace persinusoidal est le siège principal de transfert bilatéral de substance entre les hépatocytes et les sinusoides.

Les sinusoides reçoivent le sang provenant des veinules portes terminales et des artérioles hépatiques, et ils libèrent un sang qui a subi des modifications considérables dans les veinules centrales terminales (**Stevens et Lowe, 1997**).

Selon **Dadoune (1990)**, les sinusoides possèdent une paroi discontinue percée de larges pores fenêtrés, formée de quatre types de cellules :

Les cellules endothéliales : La majorité de ces cellules se trouvent le long des capillaires sinusoides et ont une origine dans le mésenchyme embryonnaire. Elles se distinguent par l'absence de membrane basale, ce qui facilite les échanges entre le sang et les hépatocytes situés en dessous de la barrière endothéliale (**Rosenbaum, 1991**).

Les cellules de Kupffer : Ces cellules sont des macrophages résidents dans le foie, d'origine embryonnaire. Elles se trouvent dans la lumière sinusoidale en contact avec les cellules endothéliales, mais elles peuvent avoir des prolongements qui atteignent les hépatocytes en passant entre les cellules endothéliales. Ces cellules sont en contact direct avec le sang et jouent un rôle important dans l'immunité et l'élimination des globules rouges sénescents (**Rosenbaum, 1991**).

Les cellules d'Ito : Ces cellules se trouvent dans l'espace de Disse et présentent un noyau volumineux. Leur cytoplasme riche en inclusions lipidiques, et possèdent des prolongements étroits et allongés soutenus par un cytosquelette robuste. Ces cellules jouent un rôle essentiel dans le métabolisme de la vitamine A et dans la synthèse du collagène (**Dadoune, 1990**).

Pitscells : Ce sont des lymphocytes qui résident dans diverses localisations, tels que la lumière en contact avec les cellules endothéliales et de Kupffer, ainsi que dans l'espace de Disse (**Dadoune, 1990**). Ces lymphocytes ont des capacités anti tumorales similaires à celles des cellules Natural Killer (**Rosenbaum, 1991**).

➤ **Le tissu conjonctif**

Le tissu conjonctif forme une limite fine et incomplète entre les lobules, et il est légèrement plus abondant dans l'espace porte. On trouve des fibres conjonctives dispersées dans l'espace conjonctif étroit entre les hépatocytes et les sinusoides (**Sobotta, 2002**).

➤ Système des voies biliaires

Les voies biliaires sont de minces conduits qui se forment entre les hépatocytes. Ce sont des espaces intercellulaires étroits et spécifiques, dépourvus d'un revêtement épithélial distinct. Les canicules ne reçoivent un revêtement de cellule épithéliale aplatie (forment entre elles le canal de Hering) qu'à la périphérie la plus externe du lobule. Ces canicules sont suivis par de petits canaux biliaires, recouverts d'un épithélium cubique, que l'on peut observer dans les espaces portes (**Sobotta, 2002**). Les canicules, dont le diamètre varie de 0.5 à 2.5 μm , sont revêtus de villosités et assurent le drainage de la bile des travées hépatocytaires vers les canaux biliaires inter lobulaires situés dans les espaces portes, à l'opposé du sens de la circulation sanguine (**Stevens et Lowe, 1997**).

3.2. Espace porte

L'espace porte de forme arrondie ou triangulaire contient la triade porte préterminale : une veine inter-lobulaire, une artère inter lobulaire et des canaux biliaires inter lobulaires (**Ouattara, 1999**).

La veine inter-lobulaire : elle constitue la section vasculaire la plus large de l'espace porte. Sa paroi est mince et il y a quelques cellules musculaires lisses isolées (**Sobotta, 2002**).

L'artère inter-lobulaire : elle est de taille relativement réduite, avec une paroi comportant généralement deux à trois couches de cellules musculaires lisses (**Sobotta, 2002**).

Les canaux biliaires inter-lobulaires : ils sont revêtus d'un épithélium cubique ou prismatique mince. Leur paroi ne contient pas de musculature, mais elle est entourée d'un réseau de capillaires sanguins (**Sobotta, 2002**).

3.3. Acinus

Selon **Dadoune (1990)**, l'acinus est défini comme l'unité fonctionnelle la plus petite du foie. Il s'agit d'un fragment de parenchyme qui est irrigué par le même ensemble de branches terminales de l'artère hépatique et de la veine provenant de deux espaces portes adjacents. Trois zones sont à distinguer en rapport avec leur contenu différent :

Zone 1 : correspond à la région où les hépatocytes reçoivent un apport sanguin riche en oxygène et faible en produits de détoxification.

Zone 2 : intermédiaire (moins d'oxygène).

Zone 3 : située en périphérie et proche des veines centro-lobulaires, est la région où les hépatocytes sont particulièrement exposés aux agressions, telles que l'alcool et les toxines. Cela est dû à une relative hypoxie et à une concentration sanguine plus élevée en déchets métaboliques provenant des hépatocytes proximaux.

4. Physiologie du foie

Les cellules du foie interagissent entre elles et coopèrent à la réalisation de nombreuses fonctions :

4. 1. Fonction d'épuration (détoxification)

Le foie joue un rôle essentiel dans la transformation des composés toxiques en dérivés moins nocifs. Il peut agir en capturant les substances qui traversent facilement la membrane plasmique et en les rendant plus hydrophiles, ce qui les rend moins susceptibles de pénétrer dans les cellules (**Dadoune ,1990**). Les substances liposolubles sont converties en bile, puis excrétées dans l'intestin et éliminées dans les selles. Les produits hydrosolubles sont rejetés dans le sang, transportés vers les reins et éliminés via l'urine (**Sendensky et Dufour, 2011**).

Selon **Ploton(2018)**, ce processus de transformation est divisé en trois grandes phases et a lieu au niveau des hépatocytes (**Figure 10**).

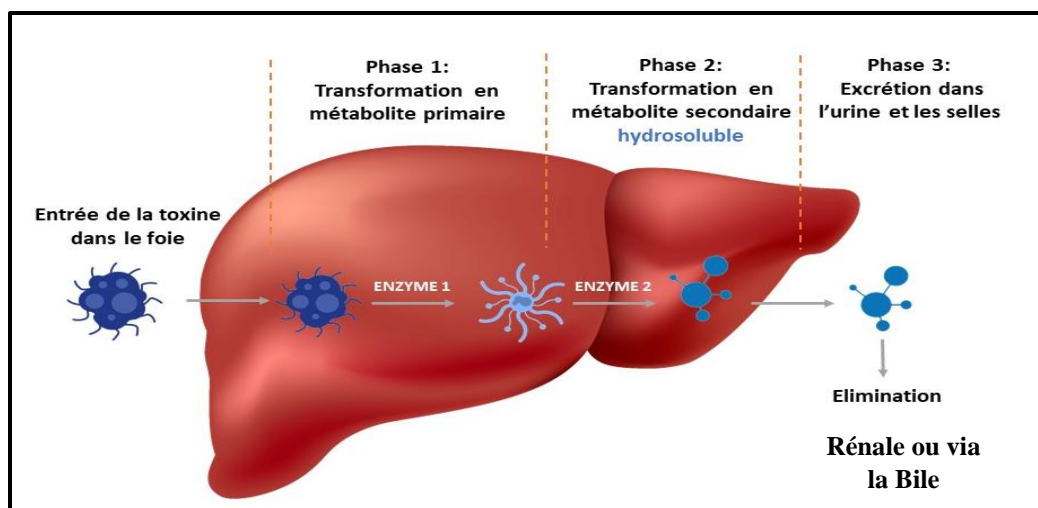


Figure 10 : Détoxification hépatique(Mathilde, 2021)

➤ **La phase I** : Réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse

Les enzymes hépatiques, principalement les cytochromes P450, modifient les substances toxiques en les oxydant, les réduisant ou les hydrolysant. Cela rend ces substances plus réactives et plus faciles à éliminer.

Le cytochrome P450 est d'abord activé par une flavoprotéine (FAD-FMN) en présence de deux électrons provenant d'une molécule de NADPH. Une fois activé, le cytochrome P450 se lie au composé organique (R-H) à métaboliser puis il catalyse une réaction d'oxydation du substrat. Dans cette réaction, un atome d'oxygène moléculaire (O_2) est utilisé pour oxyder le composé organique (R-H). Cela conduit à la formation d'un métabolite oxydé (R-OH).

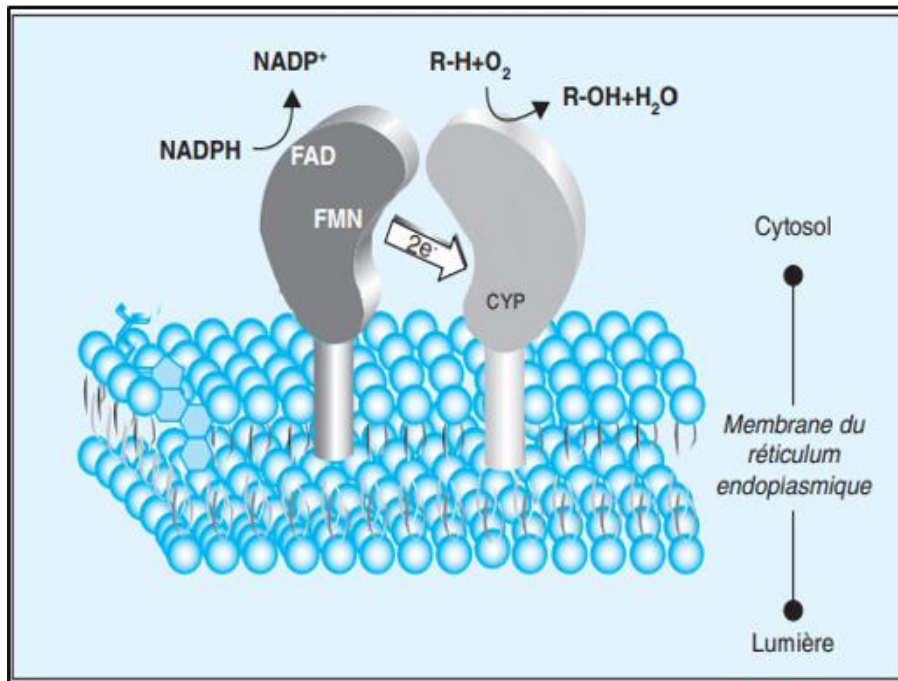


Figure 11 : Localisation membranaire de cytochromes P450 dans le réticulum endoplasmique (Gueguen, 2006)

CYP : cytochrome P450, FAD: Flavine adénine dinucléotide, FMN : Flavine Mononucléotide, NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

➤ **La phase II** : Conjugaison

Les produits métaboliques de la phase I sont combinés avec des substances endogènes, telles que le glutathion, les acides aminés, les sulfates ou les glucuronides, pour former des composés inactifs et solubles dans l'eau.

Ces deux étapes permettent de convertir le composé hydrophobe en une molécule hydrosoluble, ce qui facilite son élimination.

➤ **La phase III** : Transport des composés conjugués

Le processus implique l'excrétion active de cette molécule à l'aide de transporteurs transmembranaires. Elle peut être transportée soit dans le flux sanguin pour être éliminée par les reins, soit dans la bile pour être excrétée dans les selles.

4.2. Fonctions métaboliques

Le foie joue un rôle important dans le métabolisme des glucides, des protéines et des graisses.

4.2.1 Métabolisme des glucides

Le foie joue un rôle important dans la régulation de la glycémie en fonction des besoins de l'organisme, soit par la glycogénèse (transformation de glucose en glycogène), soit par la glycogénolyse (dégradation du glycogène). Il est le seul organe à la fois hypoglycémiant et hyperglycémiant. En cas de diminution des apports en glucose, les cellules hépatiques ont la capacité de synthétiser du glucose à partir des composants non glucidiques (la néoglucogénèse) **(Mitra et Metcalf, 2009)**.

4.2.2. Métabolisme lipidique

Le foie transforme les lipides en triglycérides pour répondre aux besoins énergétiques du corps. Les triglycérides sont ensuite hydrolysés en acides gras libres et en glycérol pour produire de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). En outre, le foie synthétise les lipoprotéines telles que la lipoprotéine de basse densité (LDL), de très basse densité (VLDL) et de haute densité (HDL) **(Sundaram et Yao, 2010)**.

Le foie est responsable de la synthèse des phospholipides et du cholestérol, qui est à la fois un précurseur d'hormone et un élément essentiel dans la structure des membranes cellulaires. De plus, le foie est le seul organe permettant l'élimination de cholestérol **(Maitre et Klein, 2008)**.

Le foie joue un rôle crucial dans le métabolisme des lipides, y compris le cholestérol. Les hormones stéroïdes, telles que les hormones sexuelles, sont dérivées du cholestérol. Un

métabolisme lipidique sain est important pour la production adéquate d'hormones sexuelles et la régulation du cycle menstruel chez les femmes. Des troubles hépatiques qui affectent le métabolisme des lipides, comme la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), peuvent perturber la fertilité féminine.

Le foie joue un rôle clé dans le métabolisme des hormones sexuelles, en particulier des œstrogènes. Il est responsable de la conversion des œstrogènes actifs en formes inactives, qui sont ensuite excrétées du corps. Cette régulation du métabolisme des œstrogènes est importante pour maintenir un équilibre hormonal adéquat dans le système reproducteur. Des anomalies dans le métabolisme hépatique des œstrogènes peuvent entraîner des déséquilibres hormonaux et affecter la fonction reproductive.

4.2.3. Métabolisme des protéines

Le foie permet le métabolisme des acides aminés essentiels. Il joue un rôle important dans la synthèse des protéines plasmatique (l'albumine) ainsi que des facteurs de la coagulation sanguine. De plus, il réalise la transformation de l'ammoniac en urée (un processus pour l'élimination des déchets azotés de l'organisme (**Böttcheret *al.*, 2011**)).

4.3. Fonction de stockage

Le foie possède la capacité de stocker les nutriments apportés par la digestion et de les transformer en molécules plus complexes. Il peut stocker le glycogène dans les hépatocytes, ainsi que les triglycérides dans les adipocytes (cellules graisseuses). Le foie est aussi capable de stocker des vitamines (A et B12) (**Marieb, 2008**).

4.4. Fonction de synthèse de la bile

Les hépatocytes secrètent de la bile de façon continue à partir de cholestérol et la transportent via les canaux biliaires vers la vésicule biliaire où elle est stockée. La couleur jaune de la bile est donc due à la présence de la bilirubine, un produit de dégradation des globules rouges (**Marieb, 2008**).

Les acides biliaires ainsi que d'autres composants de la bile, jouent un rôle dans la digestion des matières grasses qui se déroule dans l'intestin grêle. La bile a aussi pour fonction

de transporter les substances liposolubles jusqu'à l'intestin, afin de faciliter leur élimination après leur passage dans le foie (Marieb, 2008).

4.5. Fonction d'hémostase

L'hémostase est un processus complexe qui vise à éviter une trop grande perte de sang (hémorragie) en cas de lésion de la paroi vasculaire. Le foie joue un rôle vital dans la régulation de l'hémostase en synthétisant les protéines de la coagulation et en contribuant au système fibrinolytique. Le foie protège aussi l'organisme à la fois contre les complications hémorragiques et contre l'activation intra vasculaire intempestive de la coagulation (Denminger, 1997).

4.6 Fonction immunitaire

Le foie est considéré comme un organe lymphoïde capable de générer et d'activer des cellules lymphocytaires très hétérogènes telles que les lymphocytes T, lymphocytes T cd, lymphocytes NK et cellules de Kupffer. Le foie contient principalement des cellules de système immunitaire inné, ce qui lui permet d'assurer son rôle de première ligne de défense vis-à-vis des molécules provenant du tube digestif transportées par le système véhiculé porte, ainsi que contre les différents pathogènes et toxines (Lapierre et al., 2007).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1 Origine d'obtention des blocs

Notre étude a été réalisée sur 12 rats mâles et 12 rats femelles et leurs descendants de souche Wistar Albinos *Rattus norvegicus* (Figure 12).



Figure 12: Rat Wistar Albinos (George, 2000)

❖ Systématique du rat Wistar

Le tableau suivant présente la position taxonomique du rat Wistar (Tableau 05).

Tableau 05 : La position taxonomique du rat Wistar
(Chassé et Martel, 2006)

Règne	Animal
Embranchement	Vertébrés
Classe	Mammifères
Famille	Muridés
Ordre	Rongeurs
Genre	<i>Rattus</i>
Espèce	<i>norvegicus</i>

1.2. Matériel non biologique

1.2.1. Produit testé

Le produit testé dans notre étude est un insecticide dont la matière active est le thiaméthoxame et son nom commercial est Actara[®] 25WG (contient 25% de thiamethoxame)

2.2. Produits utilisés

- Produit anesthésique
- Paraformaldéhyde à 4%
- Alcool (70° 90° 100°)
- Xylène
- Paraffine
- Eau distillée
- Hématine
- Lithium carbonate
- Eosine
- Résine (Eukitt[®])

2.3. Matériel utilisés

- Ciseaux de dissection
- Aiguille épicroténienne
- Ciseaux à iris
- Cassettes en plastiques
- Moules en métal
- Plaque refroidissante
- Appareil d'enrobage
- Microtome
- Bain marie
- Plaque chauffante
- Lames et lamelles
- Microscope photonique équipé d'un appareil photo connecté à l'ordinateur (logiciel « Image View »).

2. Méthodes

2.1 Mise en lots des animaux

Pour cette étude concernant l'effet du thiaméthoxame sur la structure et l'organisation du tissu hépatique, 12 rats mâles et 12 rats femelles adultes âgés de 6 à 7 semaines ont été utilisés. Ces animaux sont issus de l'Institut Pasteur d'Alger (Centre d'élevage de Kouba, Alger) et ayant un poids corporel entre 300 et 400g. Les rats sont reçus à l'Animalerie de l'USTHB où ils ont été soumis à une période d'adaptation d'une semaine à la température de laboratoire (20-25°C), une humidité relative située entre 30 et 70 % et une photopériode contrôlée avec un éclairage artificiel (12 heures de lumière/obscurité) dans des cages métalliques et plastiques où ils recevaient la nourriture (un aliment sec sous forme de croquettes) et l'eau à volonté. Les cages sont nettoyées chaque trois jours avec renouvellement de la litière.

2.2 Préparation des lots de rats

Les rats ont été répartis dans des lots homogènes en 4 lots contenant 3 rats chacun. Ils ont ensuite été traités par le TMX pendant une durée subchronique qui s'étend sur 10 semaines, administré par gavage gastrique selon différentes doses (**Tableau 06**).

Tableau 06 : La répartition de rats par lots et traitement

Les lots	Nombre de rats	Traitements reçus
Lot 1 : Rats témoins (des rats sains n'ayant pas été traités par le TMX)	3	1 ml/j d'eau du robinet
Lot 2 : DJA (dose journalière Admissible) tolérable	3	0.026 mg/kg du TXM + 1 ml/j d'eau
Lot 3 : NOAEL (Non Observed Adverse Effect Level) Dose sans effet nocif observable (DJA x 100)	3	2.6 mg/kg du TXM + 1 ml/j d'eau
Lot 4 : NOAEL x 2 (Double dose de NOAEL)	3	5.2 mg/kg de TXM + 1 ml/j d'eau

Les 12 rats mâles ont été accouplés avec les femelles traitées au thiaméthoxame.

2.3 Sacrifice des animaux

Après la période de traitement, les animaux ont été anesthésiés par injection intra-péritonéale ensuite sacrifiés par dissection dans l'animalerie de l'USTHB.

Les animaux ont été subi une perfusion intracardiaque qui permet d'introduire le fixateur Paraformaldéhyde à 4% à travers la circulation sanguine dans toutes les parties du corps de l'organisme au niveau du laboratoire de Neurochimie de l'USTHB.

Les étapes de la perfusion comprennent :

_ Incision de thorax avec des ciseaux de dissection pour accéder au cœur et aux vaisseaux sanguins principaux.

_ Insertion d'une aiguille épicroténienne dans le ventricule gauche pour injecter une solution saline (eau salée à 9 g de sel dans 1 litre d'eau) dans l'aorte ascendante.

_ Incision de l'oreillette droite à l'aide de ciseaux à iris pour permettre l'évacuation de fixateur.

_ Ecoulement de la solution saline jusqu'à ce que le liquide qui sort de l'oreillette droite ne contient plus de sang.

_ Perfusion de l'animal avec la solution de fixation PAF à 4% (de 150 à 200ml), à un débit de 14ml /min.

La 1ère génération non traitée au thiaméthoxame issue de l'accouplement précédent ont été sacrifiés à trois âges différentes 20, 60 et 90 jours de la même manière.

2.4 Post-fixation de foie

La fixation est réalisée immédiatement après la perfusion, le foie est prélevé puis plongé dans le Paraformaldéhyde (2 à 3 min) pour immobiliser, conserver l'organe dans un état proche que possible de l'état vivant et éviter la dégradation des protéines et des enzymes.

Le foie est prélevé du PAF à 4%, puis placés dans des cassettes d'enrobage selon les lots.

2.5 Traitement histologique des organes

Elle est présentée en plusieurs étapes successives obligatoires pour obtenir des coupes fines prêtes pour la coloration histologique et ce qui rend possible l'observation microscopique.

Cette étude a été réalisée au niveau de service Anapathlaboratoire histopathologie de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger.

2.5.1. Déshydratation, éclaircissement et imprégnation

La déshydratation consiste à éliminer complètement l'eau contenue dans l'organe afin de permettre une bonne pénétration de la paraffine dans les tissus.

Elle se fait par un passage successif de l'échantillon dans des bains d'alcool à concentration croissante (70°, 90°, 100°) à raison de deux bains pour chaque titrage pendant une heure pour chaque bain.

Ensuite, on procède à l'éclaircissement par deux bains de xylène pendant une heure pour chacun.

Puis, l'imprégnation de foie dans deux bains de paraffine chauffée à 60°C pendant deux heures chacun.

2.5.2. Inclusion ou enrobage des échantillons

L'inclusion du tissu dans la paraffine permet la réalisation de bloc et par conséquent l'obtention de coupes fines et régulières. Elle est réalisée par écoulement d'une couche fine de la paraffine fondue dans des moules en métal puis on place le foie au centre qu'on couvre avec la cassette d'enrobage (**Figure 13**), puis de la paraffine liquide est versée une autre fois jusqu'à immersion totale de l'échantillon.



Figure 13 : Cassettes pour inclusion (2023)

Les moules sont ensuite posés sur une plaque refroidissante (**Figure 14**) pour solidifier les blocs et les démoulés.

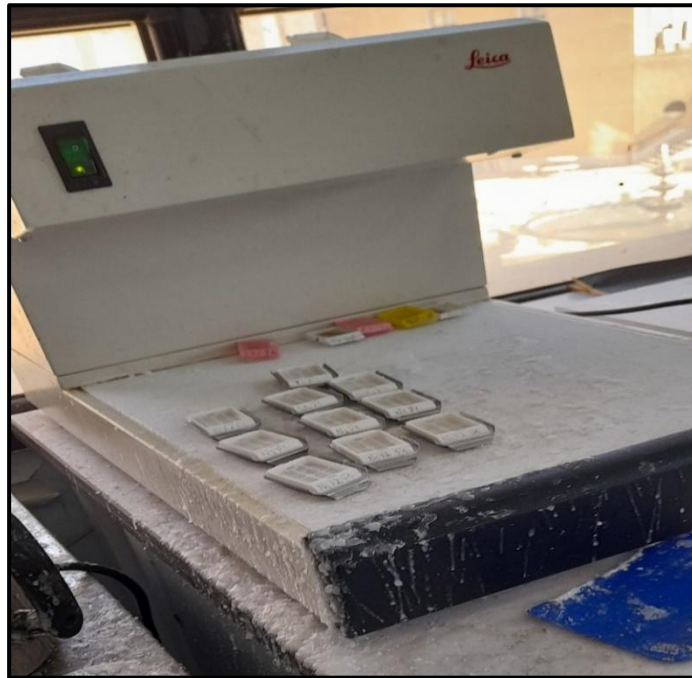


Figure 14 : Plaque refroidissante (2023)

Il existe aussi un appareil d'enrobage permet la réalisation des blocs. (**Figure 15**)



Figure 15 : Appareil d'enrobage (2023)

2.5.3.Réalisation de coupes

Les blocs obtenus sont coupés à l'aide d'un microtome (**Figure 16**), on obtient des rubans de coupes très fines de 5 μm d'épaisseur.

Les coupes ainsi obtenues sont d'abord placées dans un bain-marie (**Figure 17**) puis retirées de l'eau, placées sur une lame et mises à sécher sur une plaque chauffante (**Figure 18**).



Figure 16 : Microtome (2023)



Figure 17 : Bain-marie (2023)

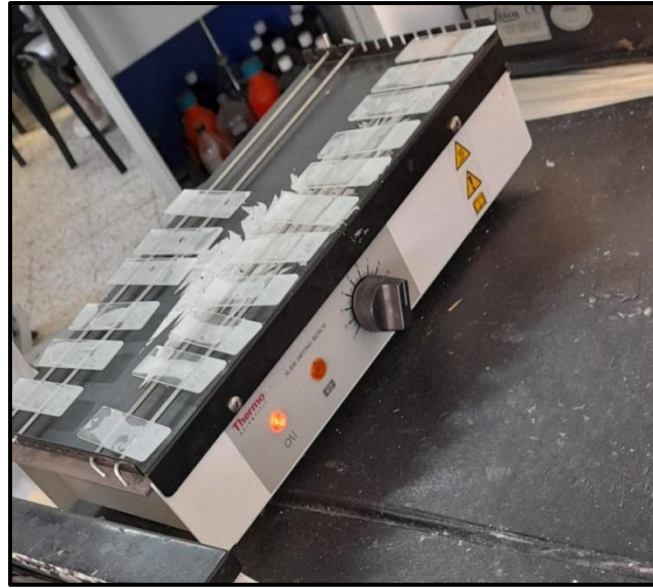


Figure 18 : Plaque chauffante (2023)

2.5.4. Déparaffinage

Le déparaffinage consiste à éliminer la paraffine par deux bains de xylène (le premier bain pendant 5 min et le deuxième pendant 7 min).

2.5.5. Réhydratation

Cette étape consiste en un passage dans trois bains d'alcool à des concentrations décroissantes (100°, 90°, 70°) pendant 1 min pour chacun.

Ensuite, passage dans trois bains d'eau distillée pendant 1 min pour chacun dans le but d'éliminer l'excès d'alcool.

2.2.6. Coloration

La coloration histologique est utilisée pour mettre en évidence des caractéristiques importantes du tissu et de pouvoir différencier les éléments structurels du tissu par leur couleur ou l'intensité de leur coloration.

Dans notre étude on a utilisé deux colorants : l'hématoxyline et l'éosine, qui coloreront chacun, le noyau en bleu violet et le cytoplasme en rose, respectivement.

La coloration Hématoxylène-Eosine se fait par un passage manuel des lames dans une série de bains selon l'ordre suivant:

- Un bain d'Hématine pendant 1 min 30 s
- Rinçage rapide à l'eau courante

Matériel et méthodes

- Un bain de lithium carbonate pendant 15s pour enfoncer la couleur de noyau
- Trois bains de l'eau distillée pendant 1 min chacun
- Bain de l'éosine pendant 3 min
- Rinçage rapide à l'eau distillée pendant 15 s

2.2.7. Déshydratation

Se fait par trois bains d'alcool à des concentrations croissantes :

- A 70° pendant 30 s
- A 90° pendant 1 min
- A 100° pendant 1 min

2.2.8. Eclaircissement

Passage des lames dans deux bains de xylène pendant 5 min chacun.

2.2.9. Montage

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec de la résine synthétique (Eukitt[®]), qui permet leur adhérence. (**Figure 19-20**)

Cette étape permet d'immobiliser et de conserver les coupes dans le temps.

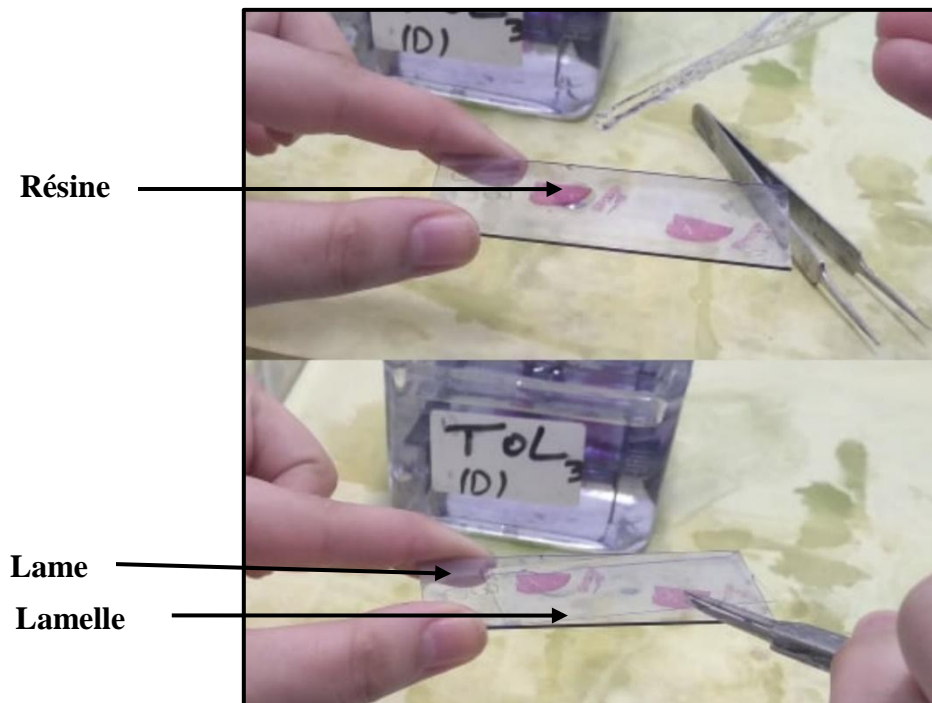


Figure 19 : Montage des lames (2023)

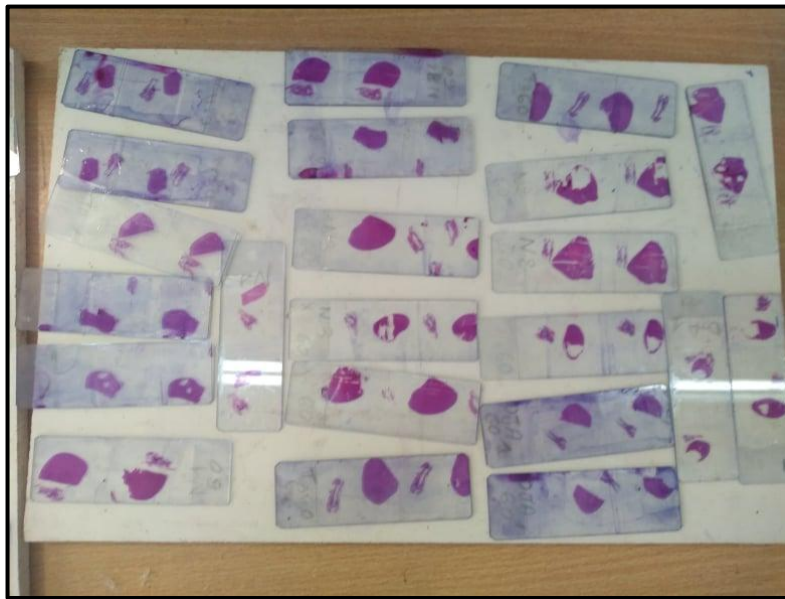


Figure 20 : Lames colorées (2023)

2.2.10. Observation microscopique

Les lames histologiques obtenues sont observées au microscope optique à grossissements (x4, x10 et x40) pour faire le tri des lames puis réaliser une lecture et capturer des photographies par un microscope photonique équipé d'un appareil photo connecté à l'ordinateur(**figure 21**)à l'aide de logiciel « ImageView»,afin de comparer entre les coupes histologiques des animaux de lot témoin et des lots traités par le thiaméthoxame.



Figure 21 : Microscope photonique équipé d'un appareil photo connecté à l'ordinateur (2023)

3. Etude histo-morphométrique

Les mesures des différentes structures histologiques ont été obtenues à l'aide du logiciel « Axio Vision 4.8 » réalisé sur des photos prise sur les lames.

Les mesures des différentes paramètres :

- ✓ La surface des cellules hépatiques
- ✓ La surface des noyaux des hépatocytes
- ✓ Le diamètre des sinusoides sanguines

Après ses mesures nous avons calculé le rapport nucléo-cytoplasmique

4. Etude statistique

Les valeurs obtenues ont été présentées par la moyenne \pm l'écart type puis analysés statistiquement par le test de l'ANOVA à l'aide de logiciel « graphpadprism » en comparant le lot témoin à chacun des lots traités.

La comparaison de la moyenne pour les 4 groups a été faite par le test de l'ANOVA

Le calcul du degré de significativité s'est fait entre les valeurs moyennes, la significativité est définie pour une probabilité p avec un risque de 5%.

- Si $p > 0.05$: la différence est non significative
- Si $p < 0.05$: la différence est peu significative *
- Si $p < 0.01$: la différence est significative **
- Si $p < 0.001$: la différence est très significative ***

Les résultats ont été exposés graphiquement sous forme d'histogrammes en utilisant le logiciel graphpadprism.

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Résultats

Dans cette étude expérimentale, nous avons procédé à l'évaluation des modifications histologiques du foie chez le rat Wistar mâle, après un traitement au Thiaméthoxame pendant 10 semaines à trois doses différentes (DJA, NOAEL, NOAELx2) et leurs descendants (première génération) non traités par le Thiaméthoxame.

1.1. Histologie du foies rats traités au Thiaméthoxame à différentes doses

1.1.1. Aspect histologique

-Chez le groupe Témoin (T1) : Les coupes histologiques du foie des rats témoins T1 observées au microscope optique au grossissement (Gx10), montrent une organisation histologique (**Figure 22 A**), composé des lobules autour de la veine centro-lobulaire à contour régulier. Au plus fort grossissement (**Figure 22 A'**), chaque lobule est formé par des lames d'hépatocyte avec un cytoplasme dense et un ou deux noyaux clairs et arrondis. Entre ces lames de cellules hépatiques, arrangées radialement autour de la veine centro-lobulaire, cheminent des sinusoides sanguines en contact avec les hépatocytes

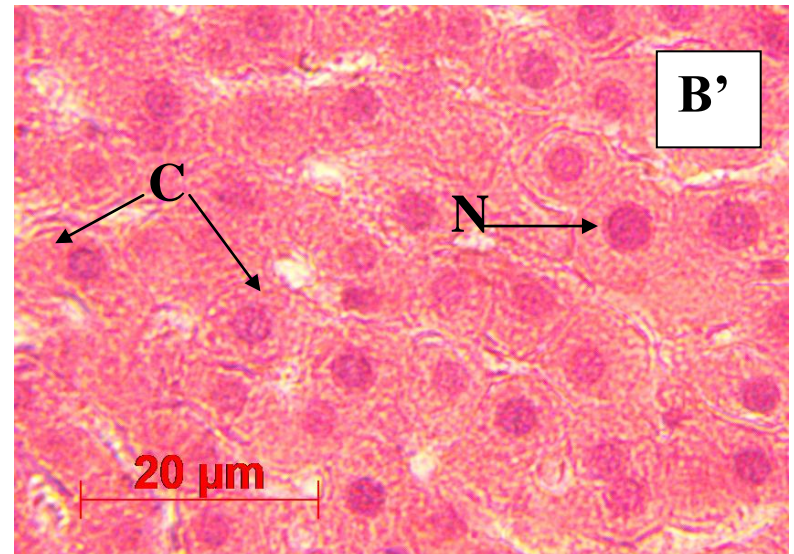
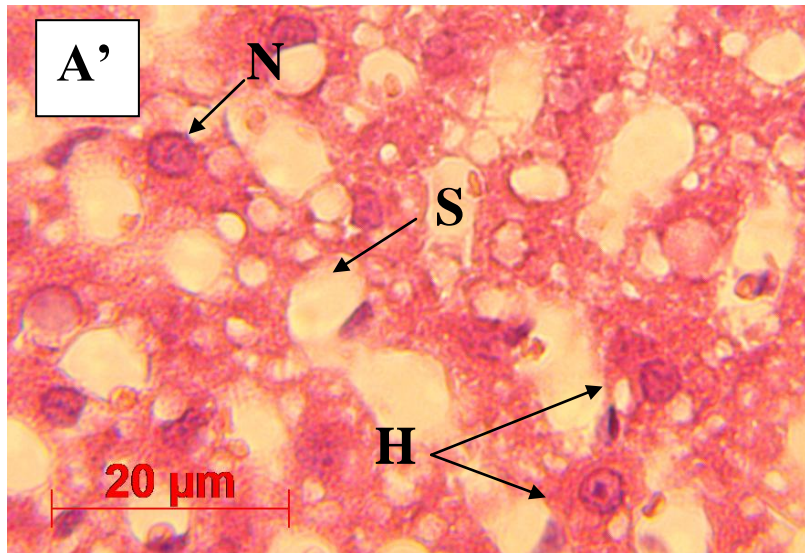
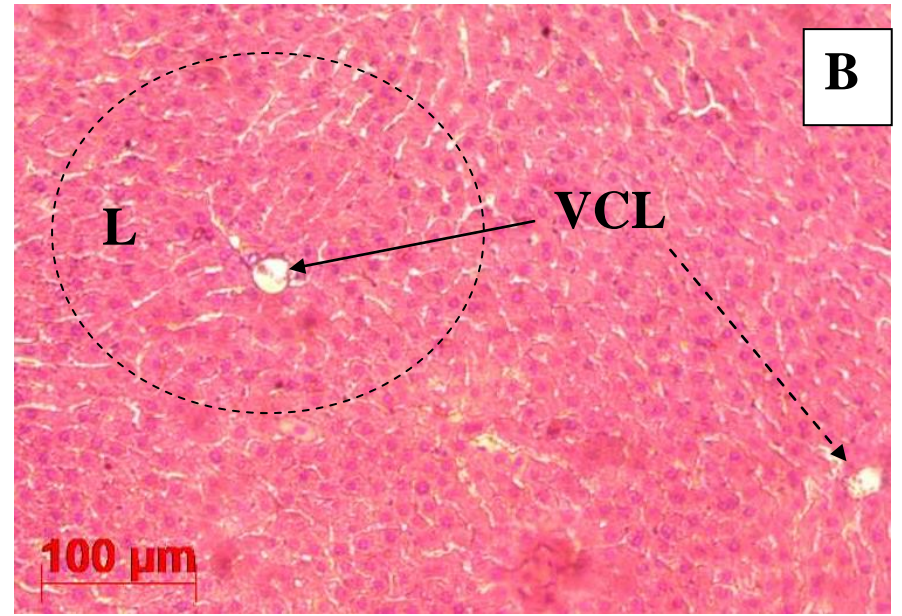
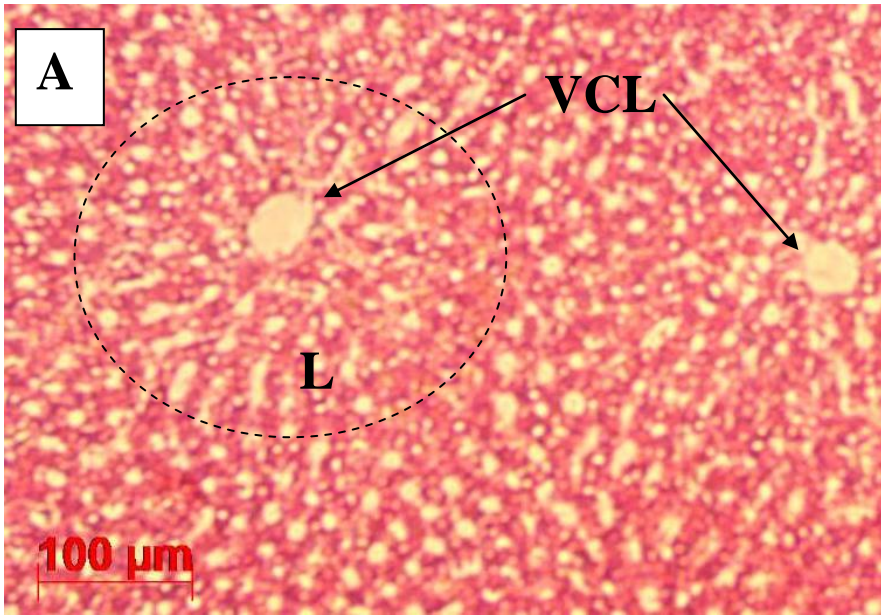
-Chez le groupe DJA1 : En comparaison avec le foie du groupe témoin (T1), l'étude histologique de foie des rats du lot DJA1 (0.026 mg/kg) (**Figure 22 B-B'**), ne montre pas des modifications histologiques remarquable. La veine centro-lobulaire est à contour régulier et l'organisation lobulaire maintenue formée par des lames d'hépatocytes avec un cytoplasme et des noyaux un peu plus dense comparé à ceux du groupe témoin et en contact avec les sinusoides sanguines.

-Chez le groupe NOAEL1 : L'étude morphologique du tissu hépatique des rats du lot NOAEL1 (2.6 mg/kg) (**Figure 22 C-C'**) a révéler certaines modifications histologiques ; la veine centro-lobulaire présente un aspect différent avec des irrégularités de forme montrant une altération avec une perte initiale de l'organisation lobulaire où certaines cellules hépatiques perdent leur forme et présente un cytoplasme irrégulier.

-Chez le groupe NOAEL1x2 : L'observation des coupes histologiques de foie des rats du lot NOAEL1 x2 (forte dose) (**Figure 22 D-D'**) montre des altérations beaucoup plus importantes par rapport aux groupes. En effet, une perte étendue de l'organisation de la veine centro-lobulaire ainsi que celles des lames d'hépatocyte avec un noyau plus dense sont observées.

Témoin 1

DJA 1



NOAEL 1

NOAEL x2
1

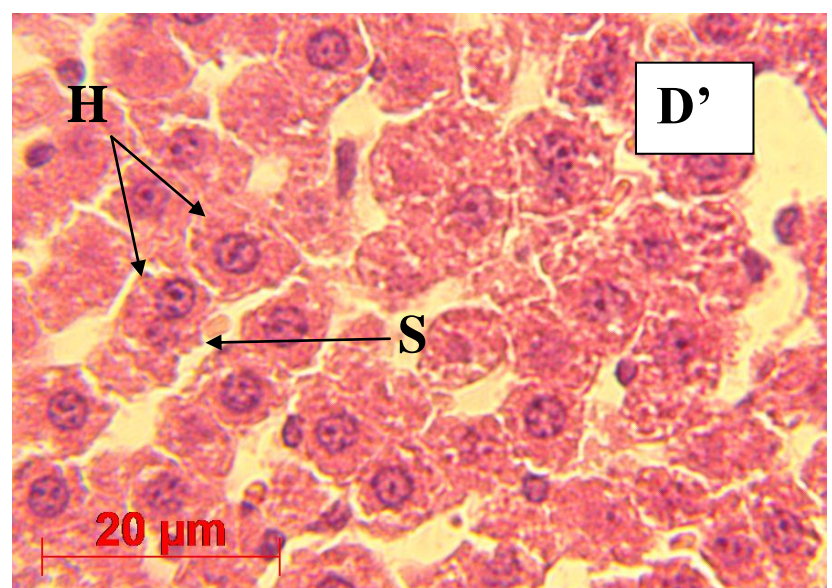
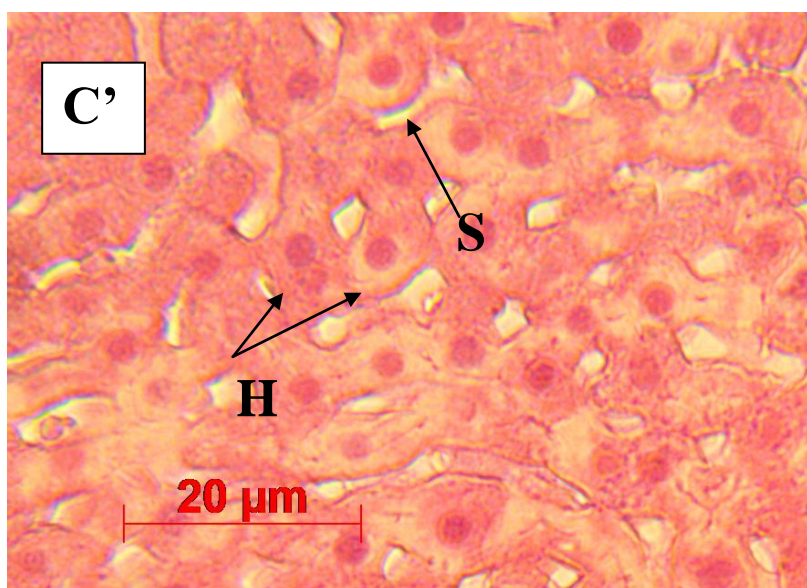
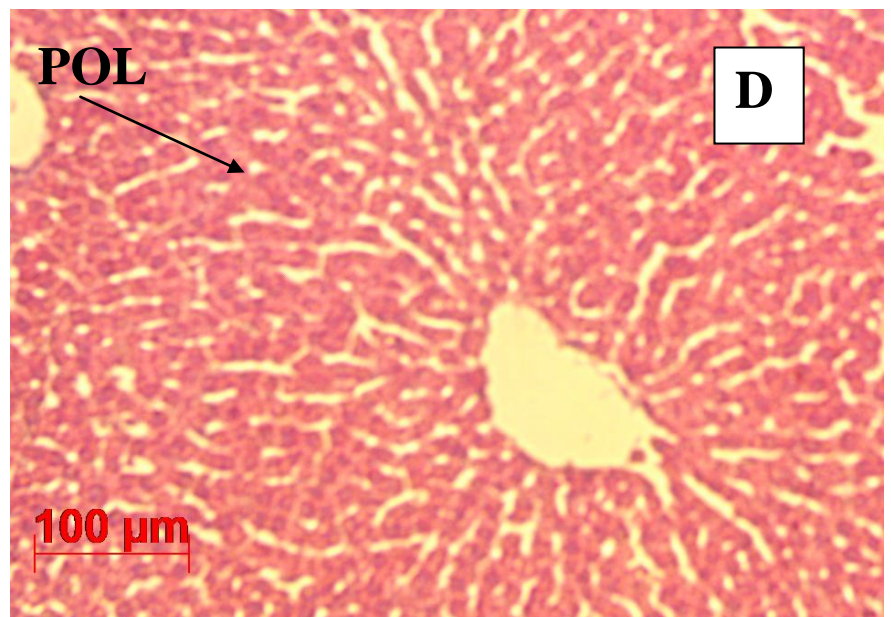
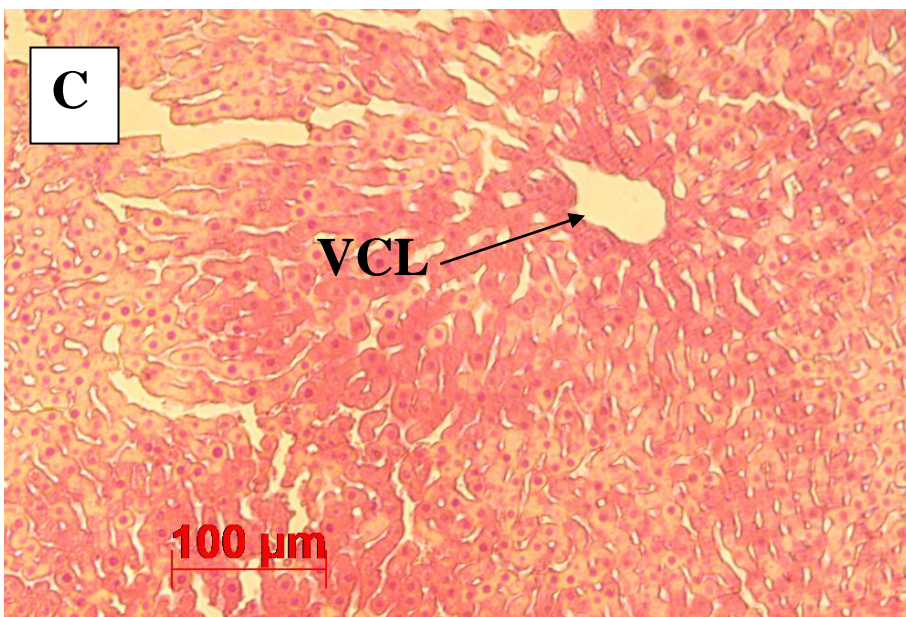


Figure 22 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C) et NOAEL x 2 (D). Coloration H et E.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, N : Noyaux des hépatocytes, S : Sinusoïdes, C : cytoplasme, POL : Perte de l'organisation lobulaire.

1.1.2 Morphométrie du tissu hépatique de rats traités au thiaméthoxame à différentes doses

En fonction de la dose de thiaméthoxame administrée, nous avons analysé les caractéristiques morphométriques où nous avons mesuré les surfaces cellulaires et nucléaires pour chaque groupe d'animaux ainsi que le diamètre des sinusoides sanguins.

1.1.2.1. Taille des cellules hépatocytes

Chez le groupe témoin (T1), la surface moyenne mesurée pour les hépatocytes est de $61,78 \pm 6,65 \mu\text{m}^2$ et celle des noyaux est de $11,28 \pm 0,94 \mu\text{m}^2$. Cependant, chez les groupes DJA1, NOAEL1 et NOAEL1 x2, la surface moyenne des hépatocytes montre des diminutions progressives ($53,71 \pm 5,41 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA1, de $40,6 \pm 6,44 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL1 et de $40,09 \pm 5,47 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL1 x2), de même pour la surface des noyaux (de $8,51 \pm 1,51 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA1, de $5,37 \pm 0,62 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL1 et de $6,92 \pm 1,7 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL1 x2). Comparativement au lot témoin, les différences enregistrées sont statistiquement hautement significatives ($p < 0.0001$) (**Figure 23 A-B**).

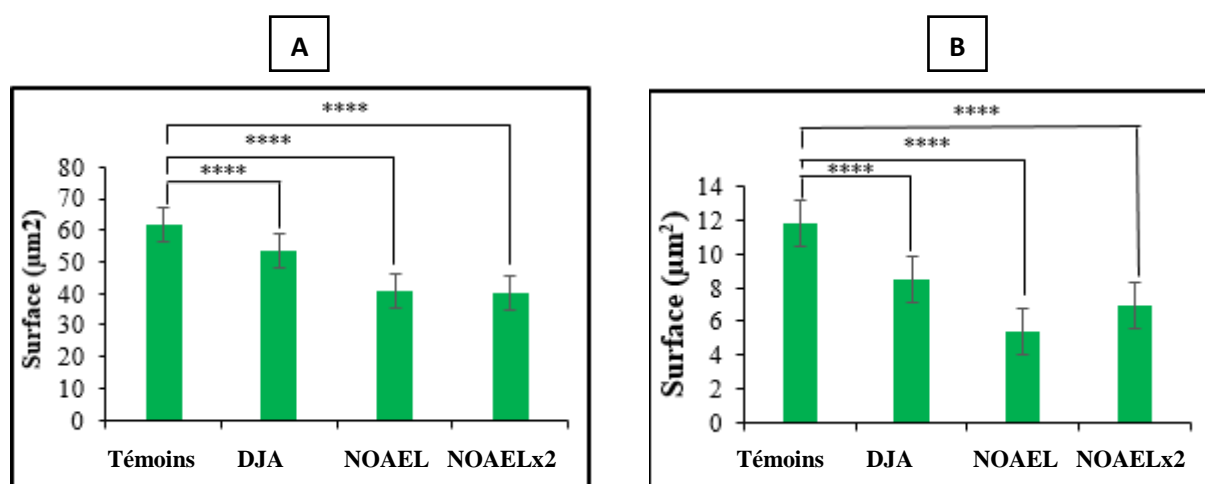


Figure 23 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX : DJA1, NOAEL1, NOAEL1 x2, comparativement aux témoins

En parallèle, le rapport nucléo-cytoplasmique RNC diminue chez le lot DJA1 et NOAEL1 x2 ($0,156 \pm 0,022$ chez les traités DJA1 et $0,169 \pm 0,049$ chez les traités NOAEL1 x2) ($P < 0.05$); par contre, pour le lot NOAEL1, on note une diminution importante et hautement significative ($0,131 \pm 0,028 \mu\text{m}$ - $p < 0.0001$) (**Figure 24**).

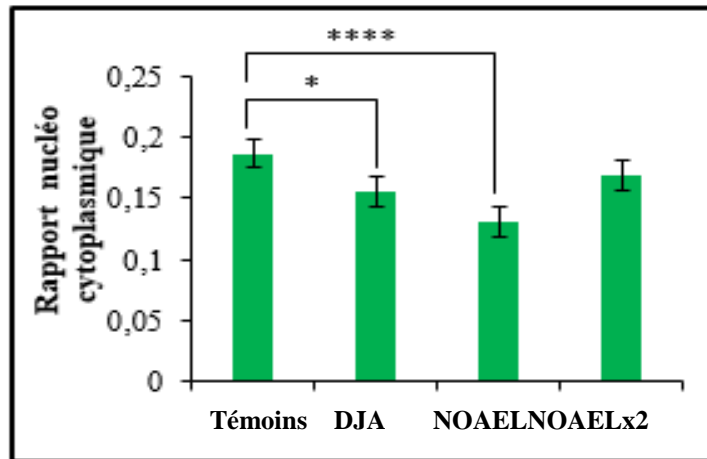


Figure 24 : Rapport nucléo-cytoplasmique des cellules hépatiques de rats traités avec le TMX: DJA1, NOAEL1, NOAEL1 x2, comparativement aux témoins

1.1.2.2 Diamètre des sinusoides hépatiques

Le diamètre moyen des sinusoides sanguins est de $2,49 \pm 0,38 \mu\text{m}$ chez les témoins, de $2,68 \pm 0,34 \mu\text{m}$ chez les traités DJA1, de $2,75 \pm 0,30 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL 1 et de $2,77 \pm 0,31 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL1 x2. On observe une hausse significative des sinusoides sanguins ($p < 0.001$) chez les lots traités par rapport au lot témoins (**Figure 25**).

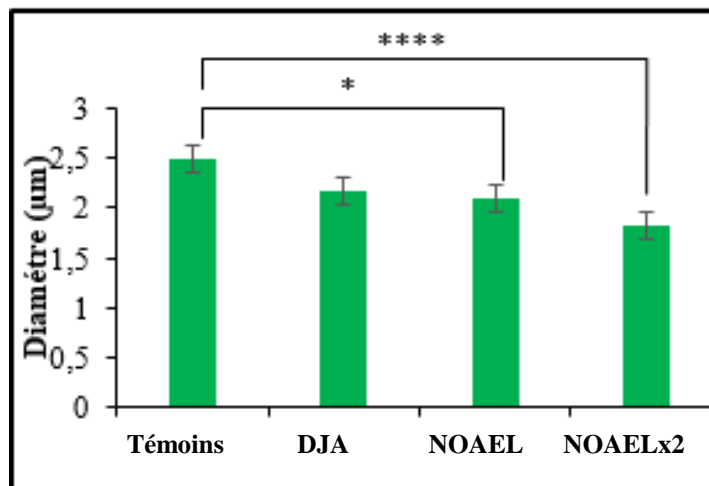


Figure 25 : Le diamètre des sinusoides sanguines des rats traités avec le TMX : DJA, NOAEL, NOAEL x2, comparativement aux témoins

1.2 Histologie du foie des rats de la première génération

Dans cette partie, nous avons analysé les coupes histologiques de foie des animaux issus d'un croisement entre des mâles ayant subi des traitements au TMX à différentes

doses avec des femelles non traitées. Nous avons ainsi suivi la première génération obtenue et ceci à différents âges des animaux, à savoir des rats de 20 jours, de 60 jours et de 90 jours.

1.2.1 Aspects histologiques

Chez les animaux de 20 jours

Les coupes histologiques du foie des rats témoins âgés de 20 jours (T20) observées au microscope optique au grossissement (Gx10 et Gx40) montrent une organisation lobulaire formée par des lames d'hépatocytes arrangées radialement autour de la veine centro-lobulaire et entre lesquelles cheminent des sinusoides sanguines. Les hépatocytes présentent un cytoplasme granulaire et un noyau avec 2 à 3 nucléus (**Figure 26 A-A'**).

Chez les animaux (DJA20), issus de parents traités de dose DJA1, la structure histologique de foie est semblable à celle des témoins où les lames d'hépatocytes sont bien organisées et un aspect homogène du cytoplasme et des noyaux hépatocytaires (**Figure 26 B-B'**).

Contrairement aux animaux T20 et DJA20, les animaux du groupe NOAEL20 et NOAEL20x2 (issus de parents traités avec les doses NOAEL et NOAELx2 respectivement), des changements dans la structure histologique sont observés. Comme le montre **la figure 26 C-C' et D-D'**, une modification de la veine centro-lobulaire est constatée, l'arrangement des hépatocytes au sein des lobules sont modifiés. D'autre part, le cytoplasme des cellules est plus clair ainsi que les noyaux (un ou deux noyaux), comparés à ceux des témoins T20.

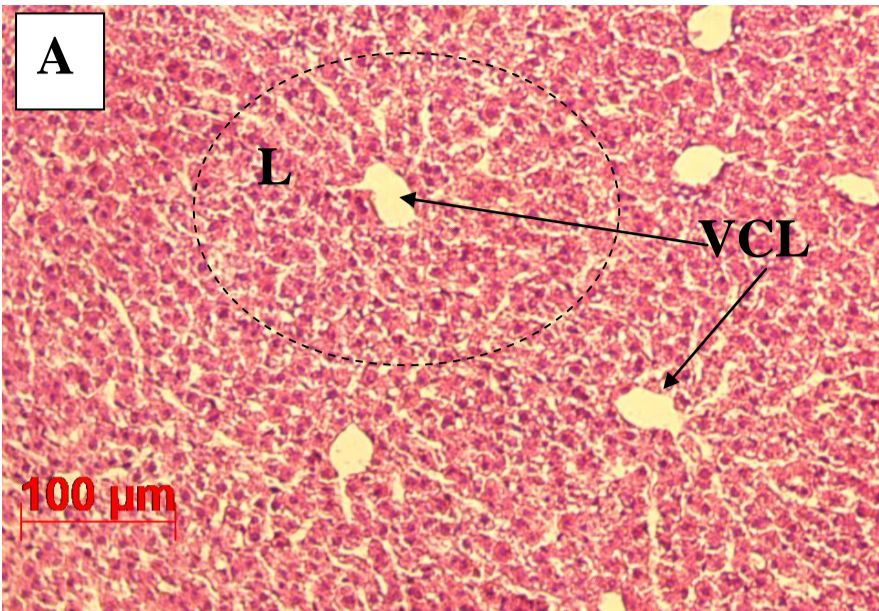
Chez les animaux de 60 jours

Les coupes histologiques du foie des rats témoins âgés de 60 jours (T60) révèlent une organisation histologique caractérisée par la présence de lobules composés de lames d'hépatocytes (**figure 27 A-A'**) similaire avec celle du groupe T20, par contre le cytoplasme présente un aspect clair granuleux et un noyau plus dense par rapport à celui des T20.

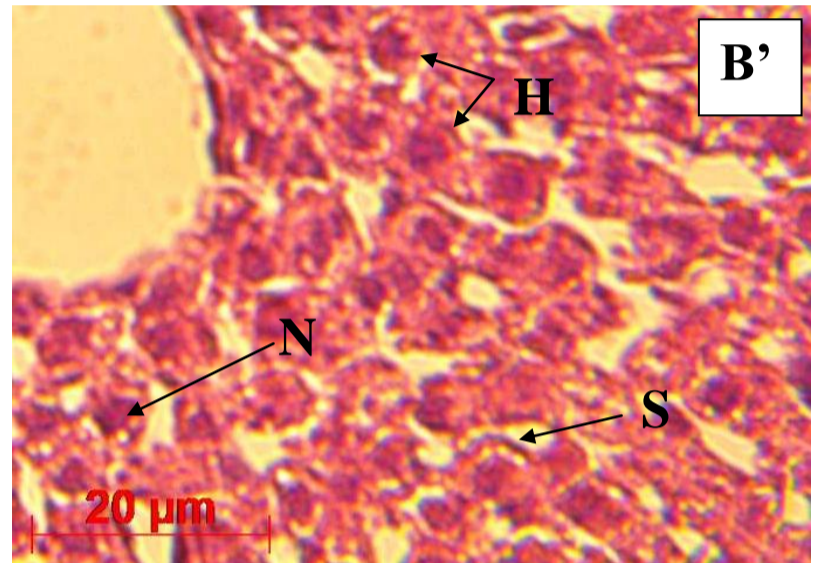
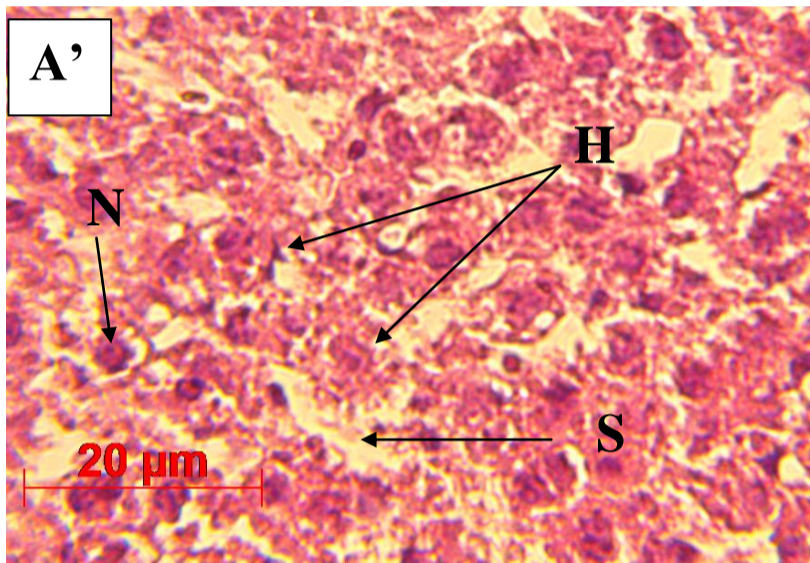
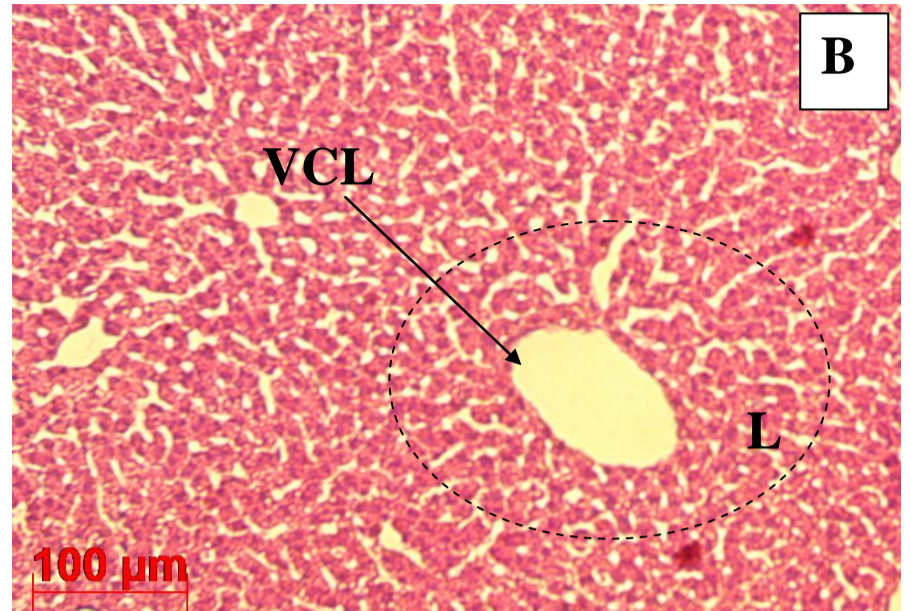
De plus, la même organisation est observée dans le groupe DJA60 (**figure 27 B-B'**) comparée à celle des T60.

Chez le groupe NOAEL et NOAELx2 (**figure 27 C-C' et D-D'** respectivement), nous avons noté deux observations au niveau des hépatocytes: un aspect granuleux cytoplasmique très riche et un noyau d'aspect plus clair comparé à celui observé chez les T60 notamment une modification de la forme des veines centro-lobulaires.

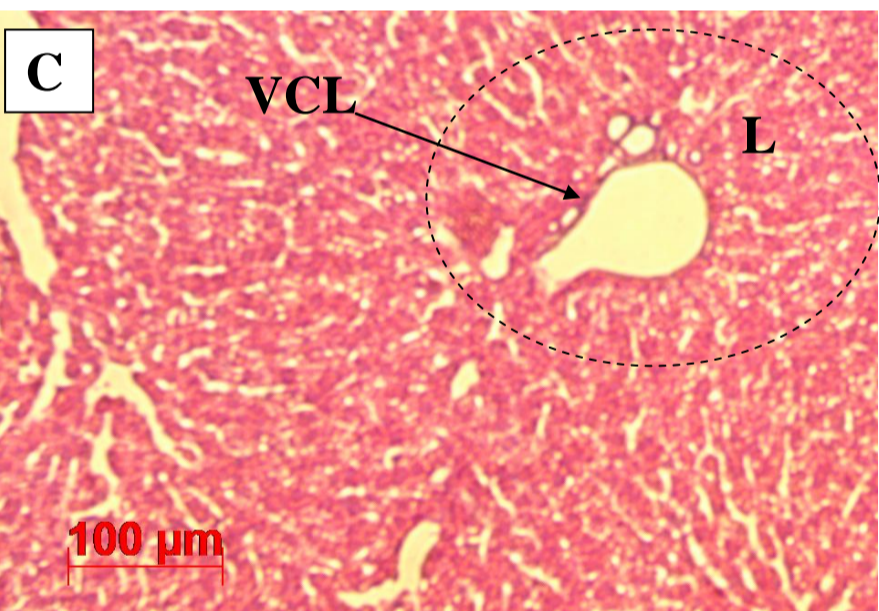
Témoin
20



DJA 20



NOAEL
20



NOAEL x2
20

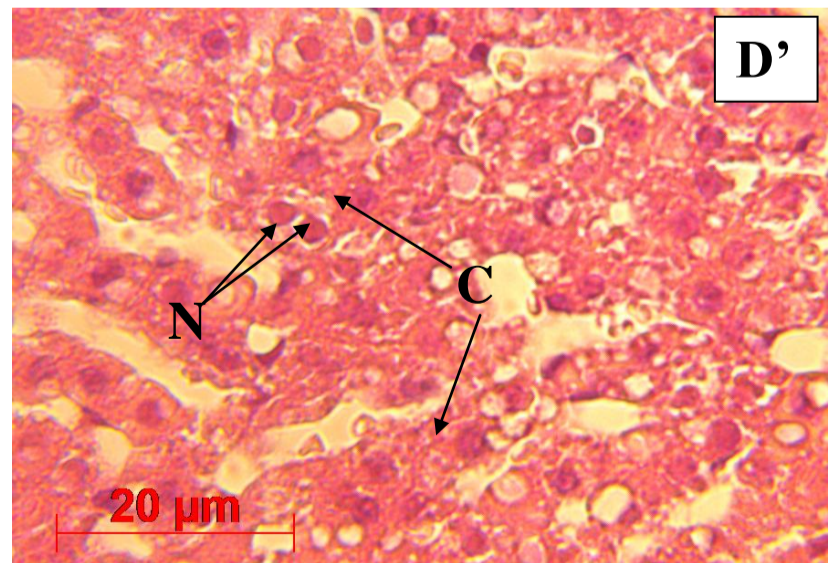
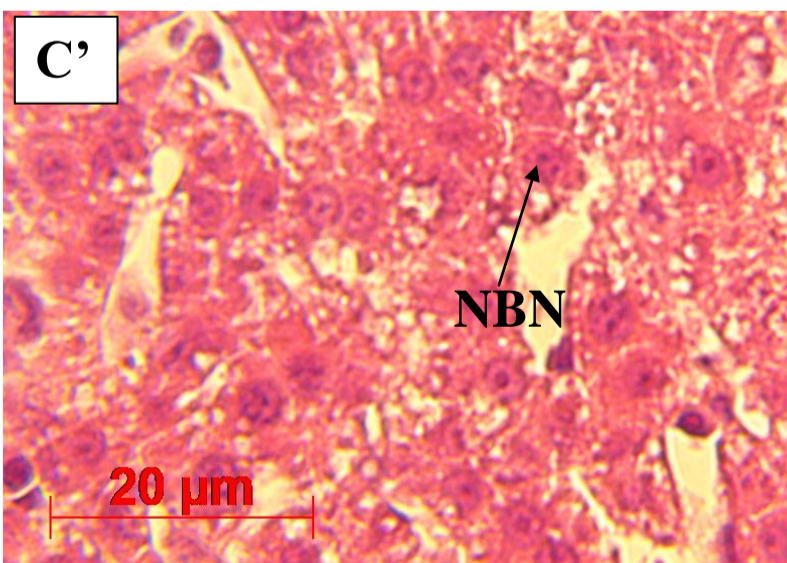
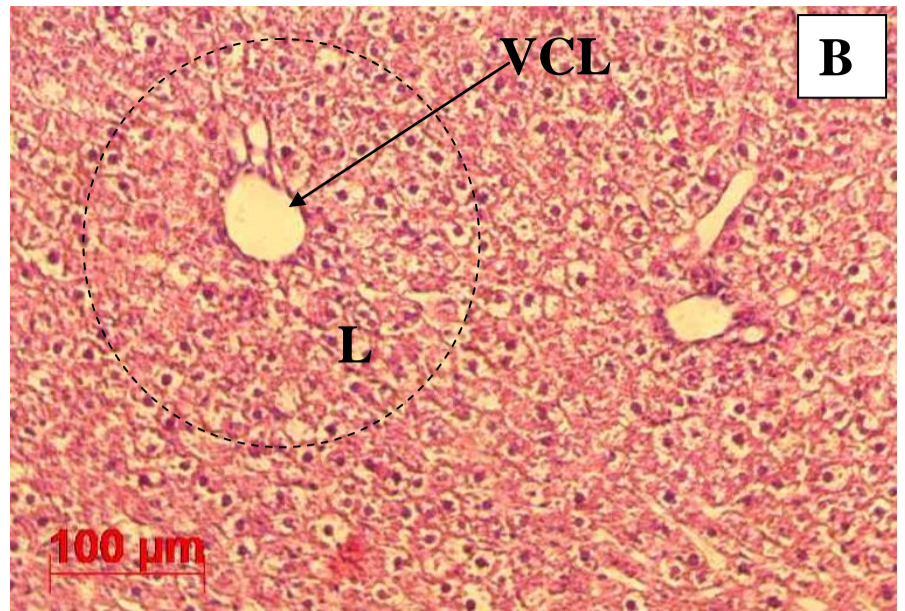
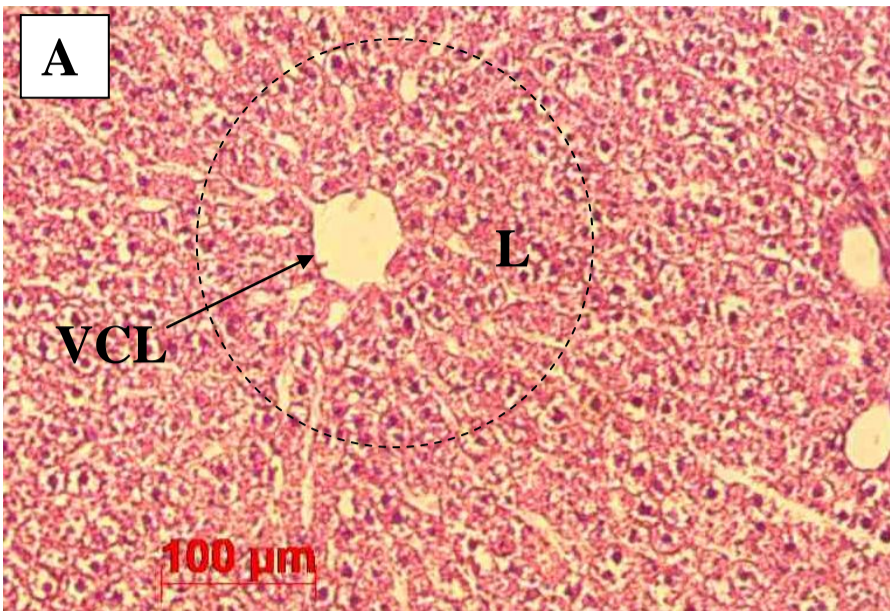


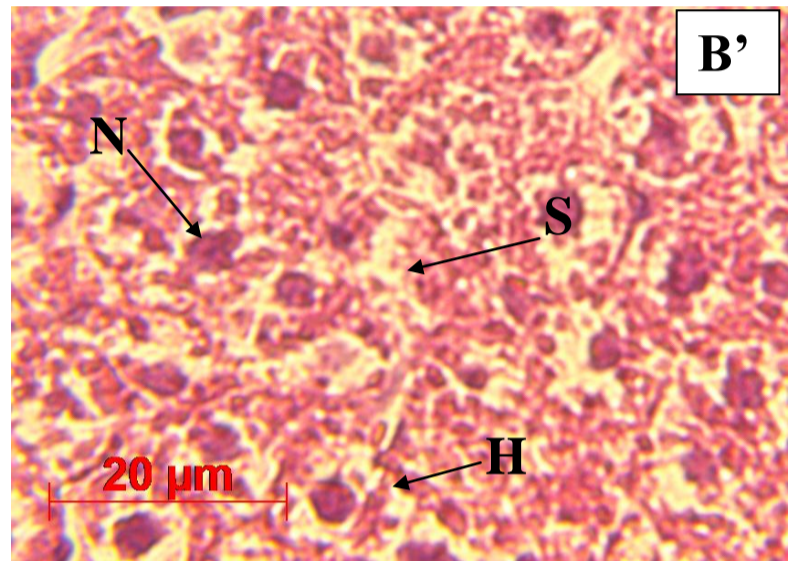
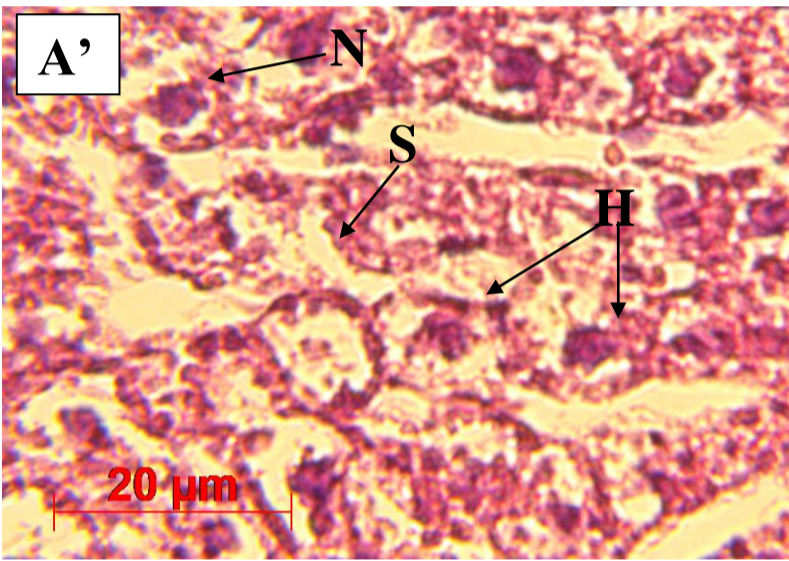
Figure 26 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins T20 (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA20 (B), NOAEL20 (C) et NOAEL20 x2 (D). Coloration H et E.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, N : Noyaux des hépatocytes, S : Sinusoïdes, C : cytoplasme, NBN : noyau bi nucléus, TH : travées hépatocytaires.

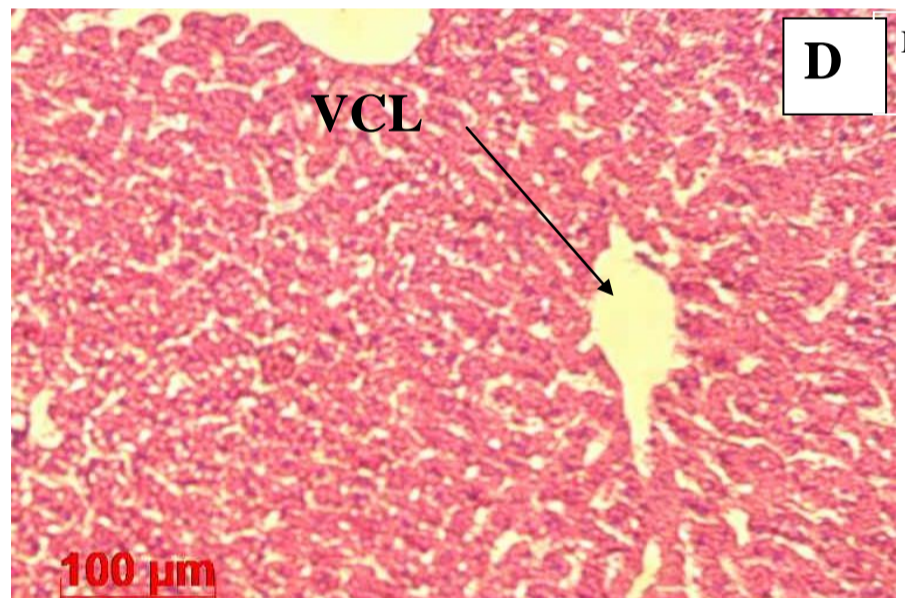
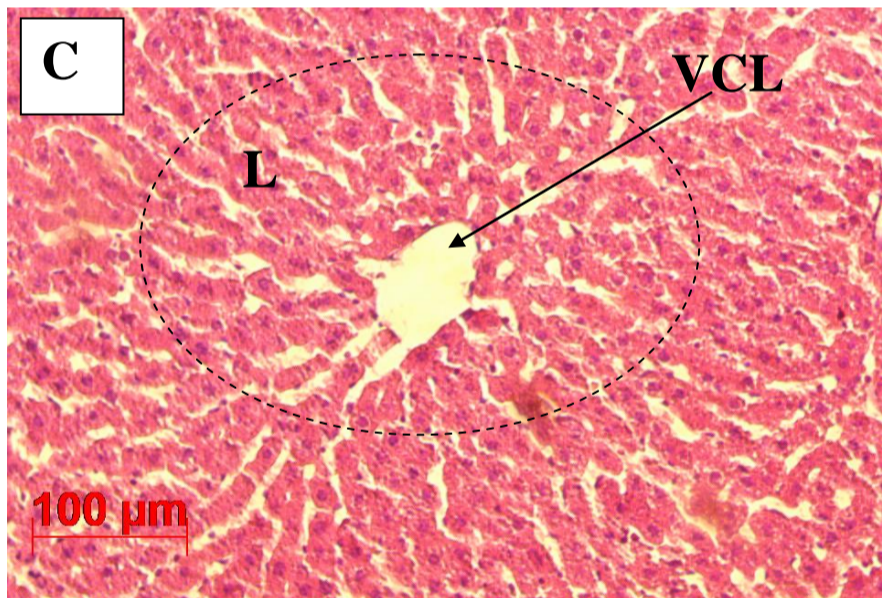
Témoin
60



DJA 60



NOAEL
60



NOAEL x2
60

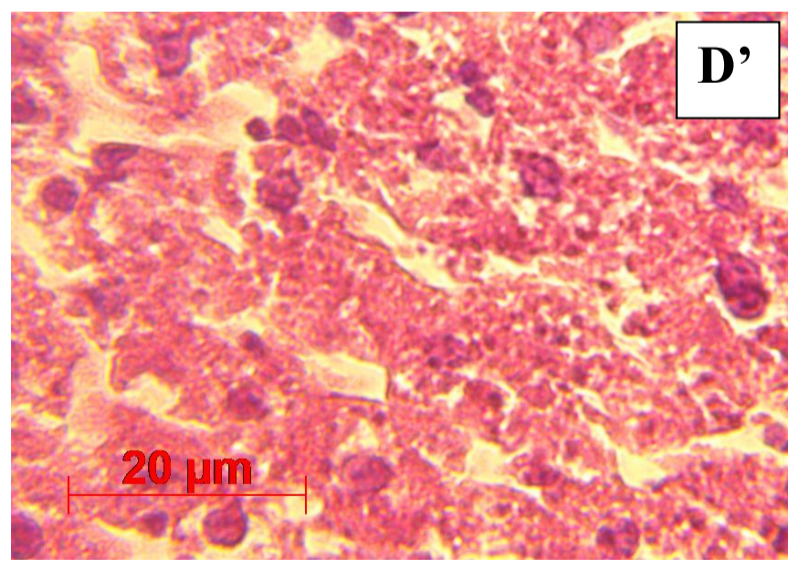
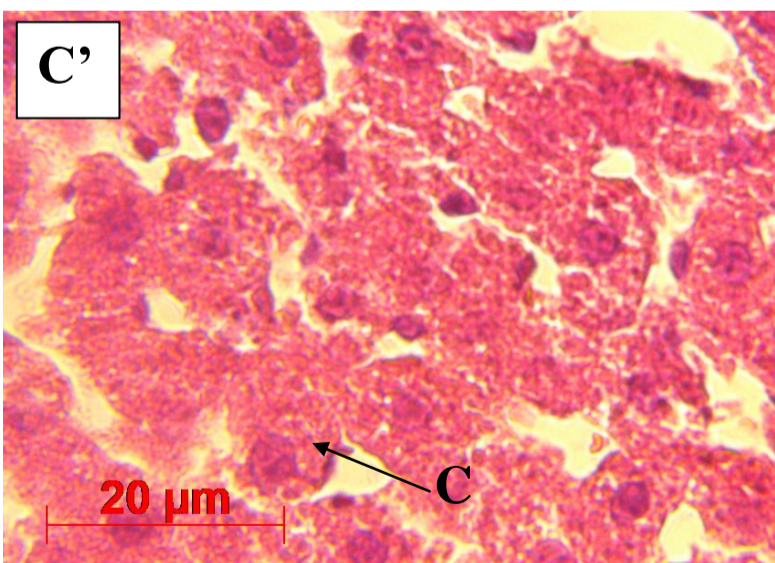


Figure 27 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins T60 (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA60 (B), NOAEL60 (C) et NOAEL60 x2 (D). Coloration H et E.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, N : Noyaux des hépatocytes, S : Sinusoides, C : Cytoplasme.

Chez les animaux de 90 jours

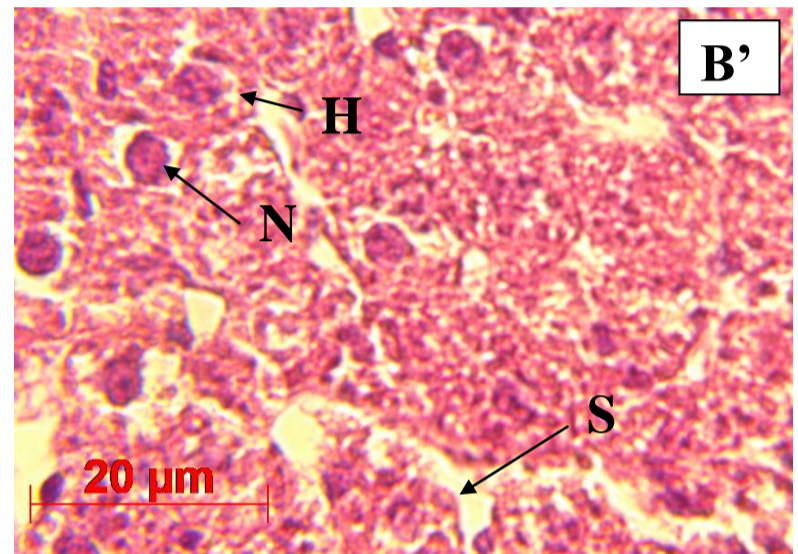
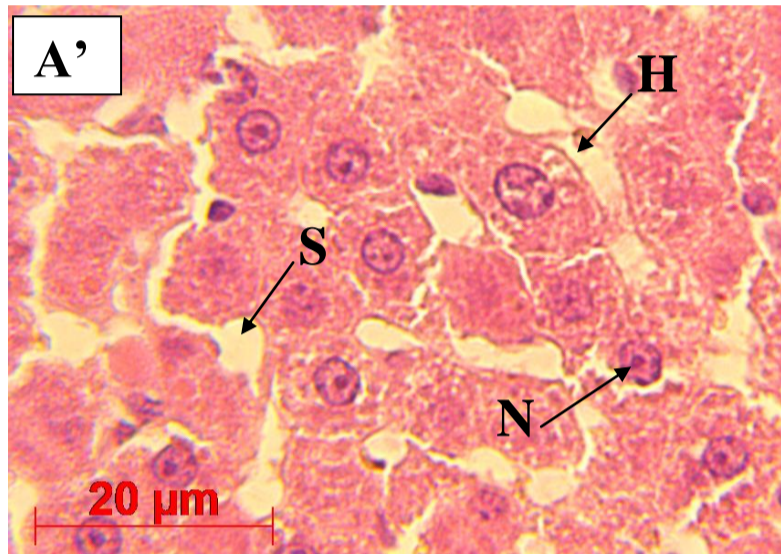
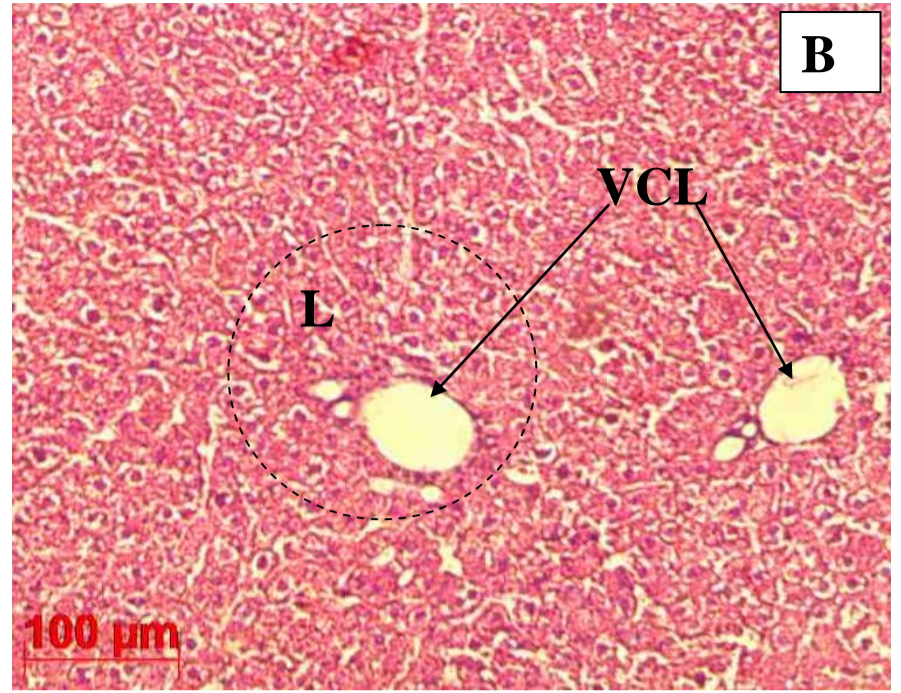
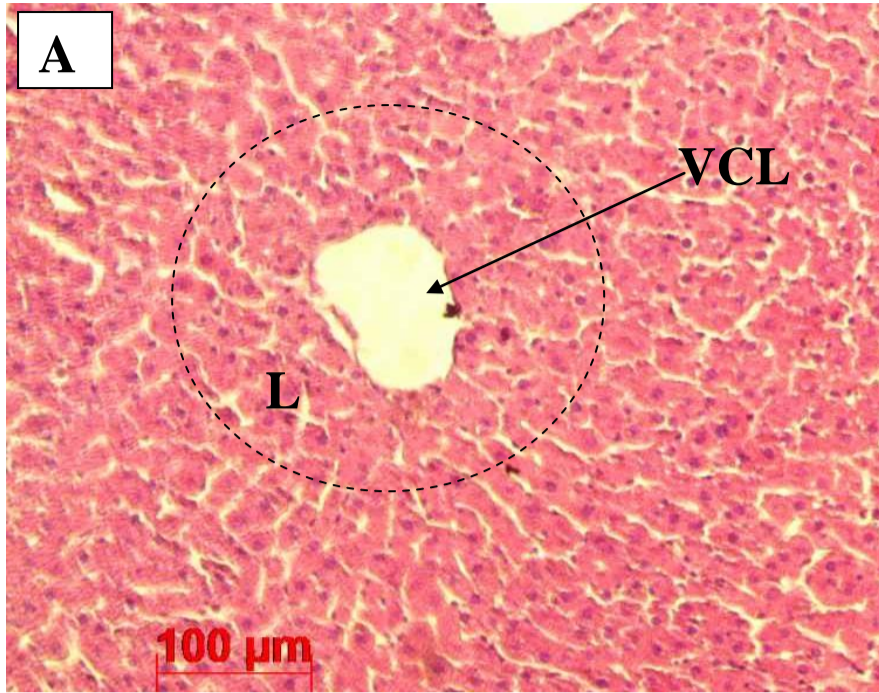
Les coupes histologiques du foie des rats témoins âgés de 90 jours (T90) révèlent une organisation histologique caractérisée par la présence de lobules composés de lames d'hépatocytes (**figure 28 A-A'**), un cytoplasme homogène et un noyau clair.

Chez les rats traités de groupe DJA90, la structure histologique de foie est semblable à celle des témoins où les lames d'hépatocyte sont bien organisées et un aspect cytoplasmique légèrement granuleux et des noyaux hépatocytaires(**figure 28 B-B'**).

Chez le groupe NOAEL et NOAELx2 (**figure 28C-C'et D-D'**respectivement), nous avons noté deux observations au niveau des hépatocytes : un aspect granuleux cytoplasmique et un noyau central (chez les NOEAL90) et plus clair (chez les NOEAL90 x2), notamment une légère modification de contour des hépatocytes et la morphologie des lobules.

Témoin
90

DJA 90



NOAEL
90

NOAEL x2
90

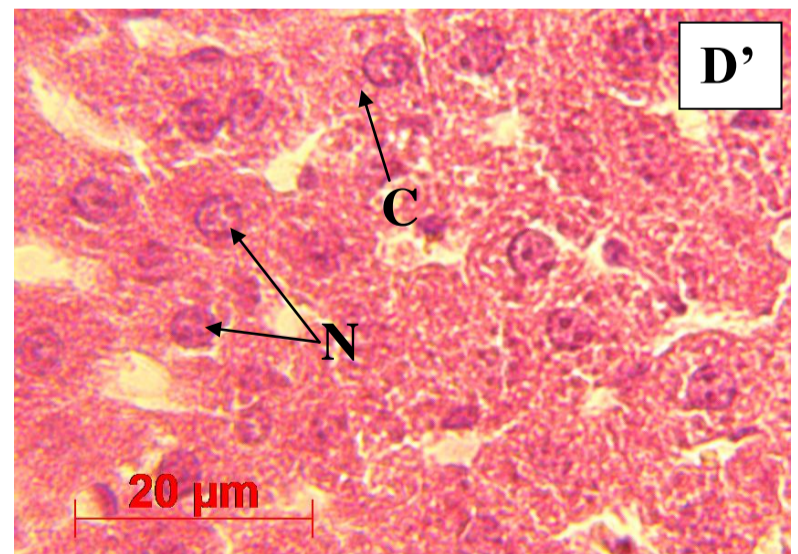
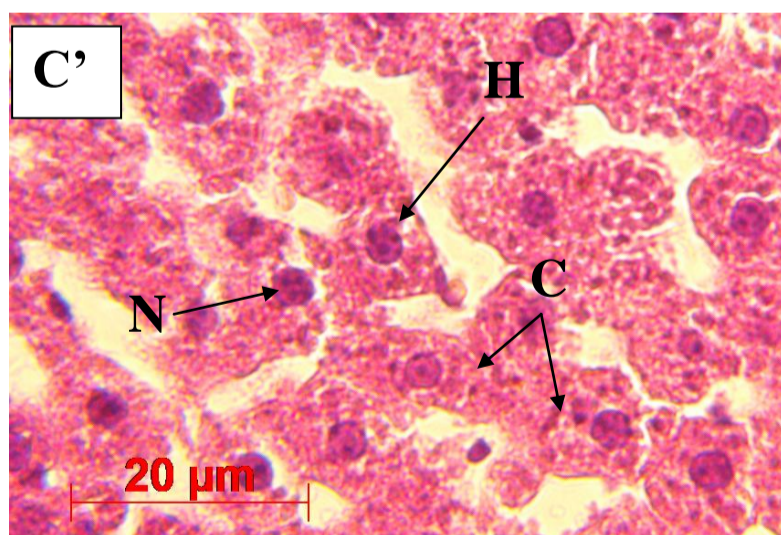
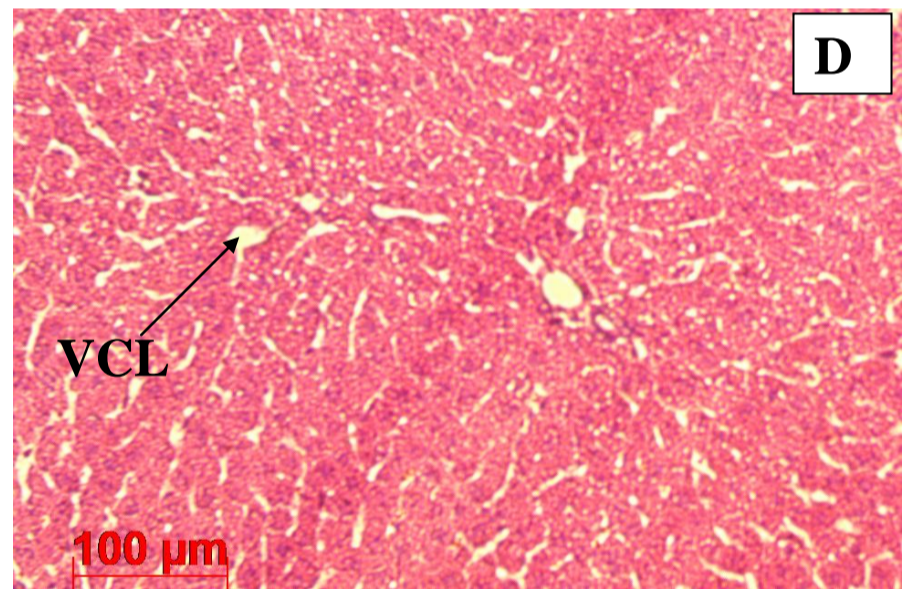
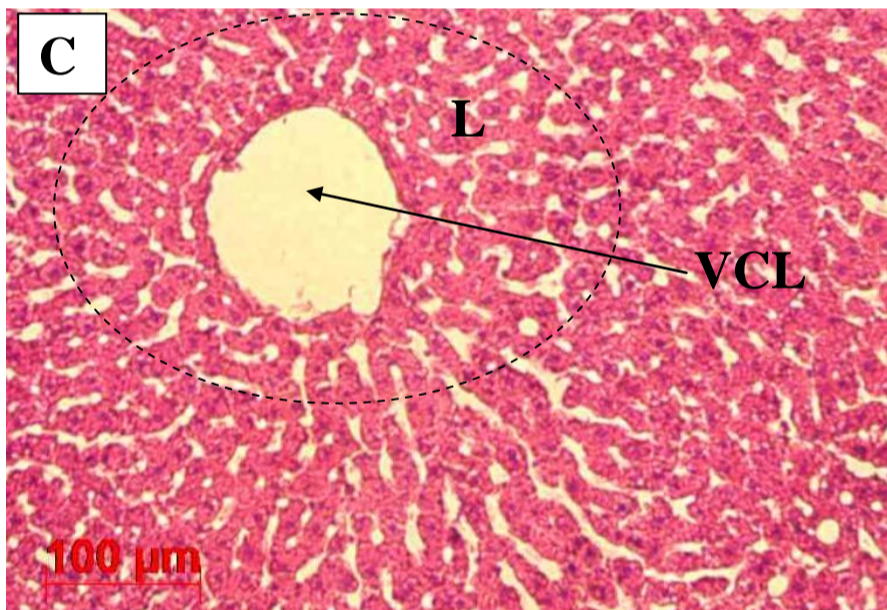


Figure 28 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins T90 (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA90 (B), NOAEL90 (C) et NOAEL90 x2 (D). Coloration H et E.

H : Hépatocytes, L : Lobule, VCL : Veines centrolobulaires, N : Noyaux des hépatocytes, S : Sinusoïdes, C : Cytoplasme

1.2.2 Analyse morphométrique

Chez les animaux de 20 jours

– Taille des cellules hépatiques

Chez le groupe témoin (T20), la surface moyenne mesurée pour les hépatocytes est de $33,09 \pm 3,62 \mu\text{m}^2$ et celle des noyaux est de $6,12 \pm 0,55 \mu\text{m}^2$. Cependant, chez les groupes DJ20 et NOAEL20 x2, la surface moyenne des hépatocytes montre une diminution ($29,96 \pm 2,68 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA20 et de $27,67 \pm 2,11 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL20 x2), de même pour la surface des noyaux (de $5,68 \pm 0,92 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA20, de $5,37 \pm 0,62 \mu\text{m}^2$ et de $5,05 \pm 0,52 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL20 x2). Par contre chez les NOAEL 20 on observe une augmentation de la surface des hépatocytes ($37,36 \pm 2,25 \mu\text{m}^2$) et de leurs noyaux ($5,05 \pm 0,52 \mu\text{m}^2$). Comparativement au lot témoin, les différences enregistrées sont statistiquement hautement significatives ($p < 0.0001$) (**Figure 29 A-B**).

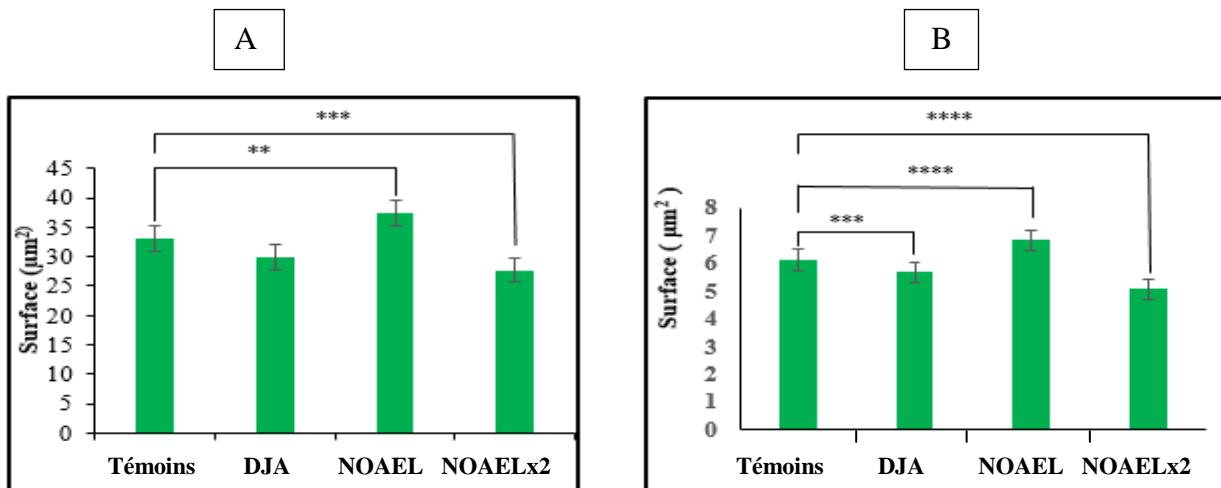


Figure 29 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX : DJA20, NOAEL20, NOAEL20 x2, comparativement aux témoins

En parallèle, le rapport nucléo-cytoplasmique RNC augmente légèrement chez DJA 20 ($0,185 \pm 0,033$), diminue chez le lot NOAEL 20 et NOAEL20 x2 ($0,178 \pm 0,020$ chez les traités NOAEL20 et $0,179 \pm 0,020$ chez les traités NOAEL20 x2) comparativement aux témoins ($0,183 \pm 0,031$), même si cette différence n'est statistiquement pas significative ($P > 0.05$) (**Figure 30**).

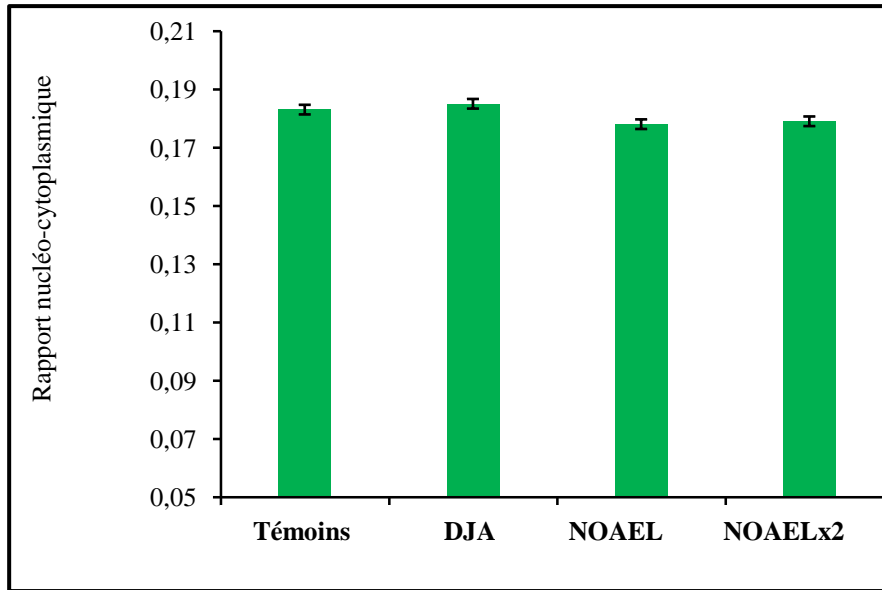


Figure 30 : Rapport nucléo-cytoplasmique des cellules hépatiques de rats traités avec le TMX : DJA20, NOAEL20, NOAEL20 x2, comparativement aux témoins

Diamètre des sinusoides

Le diamètre moyen des sinusoides sanguins est de $2,49 \pm 0,38 \mu\text{m}$ chez les témoins, de $2,68 \pm 0,34 \mu\text{m}$ chez les traités DJA 20, de $2,75 \pm 0,30 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL20 et de $2,77 \pm 0,31 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL1 x2(**Figure 31**).

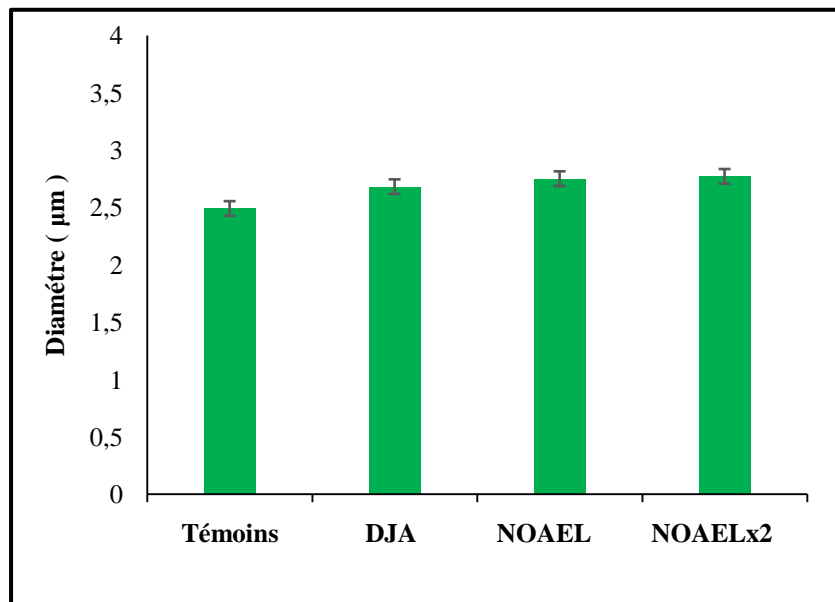


Figure 31 : Le diamètre des sinusoides sanguines des rats traités avec le TMX : DJA20, NOAEL20, NOAEL20 x2, comparativement aux témoins

Chez les animaux de 60 jours

– Taille des cellules hépatiques

Chez le groupe témoin (T60), la surface moyenne mesurée pour les hépatocytes est de $88,31 \pm 10,31 \mu\text{m}^2$ et celle des noyaux est de $11,67 \pm 0,93 \mu\text{m}^2$. Cependant, chez les groupes DJA60 et NOAEL60 x2, la surface moyenne des hépatocytes montre une diminution ($67,80 \pm 3,86 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA60, de $65,00 \pm 4,39 \mu\text{m}^2$ pour les NOAEL et de $57,81 \pm 3,85 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL60 x2), de même pour la surface des noyaux (de $10,41 \pm 0,6 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA60, de $65,00 \pm 4,39 \mu\text{m}^2$ pour les NOAEL60 de $5,37 \pm 0,62 \mu\text{m}^2$, de $10,48 \pm 0,6 \mu\text{m}^2$ pour les NOAEL60 et de $9,94 \pm 0,63 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL60 x2). Comparativement au lot témoin, les différences enregistrées sont statistiquement hautement significatives ($p < 0.0001$) (**Figure 32 A-B**).

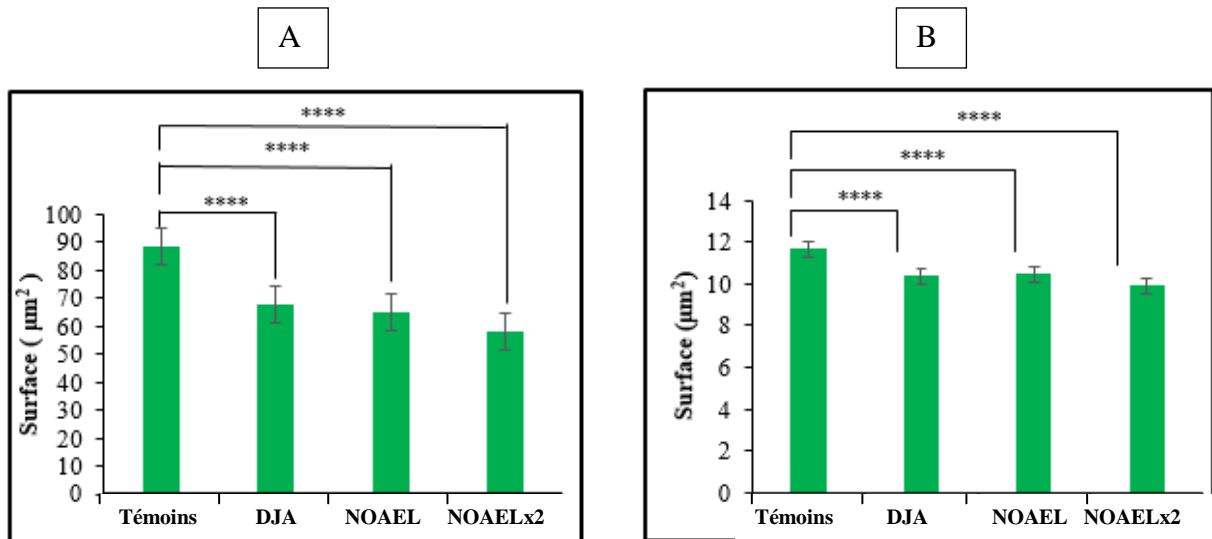


Figure 32 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX : DJA60, NOAEL60, NOAEL60 x2, comparativement aux témoins

Pour le rapport nucléo-cytoplasmique moyen (60 jours) est de $0,129 \pm 0,018$ pour les témoins, on note une augmentation hautement significative ($p < 0.0001$) de $0,148 \pm 0,014$ pour les traités DJA60, de $0,157 \pm 0,013$ pour les NOAEL 60 et de $0,168 \pm 0,020$ pour les NOAEL60 x 2 (**Figure 33**).

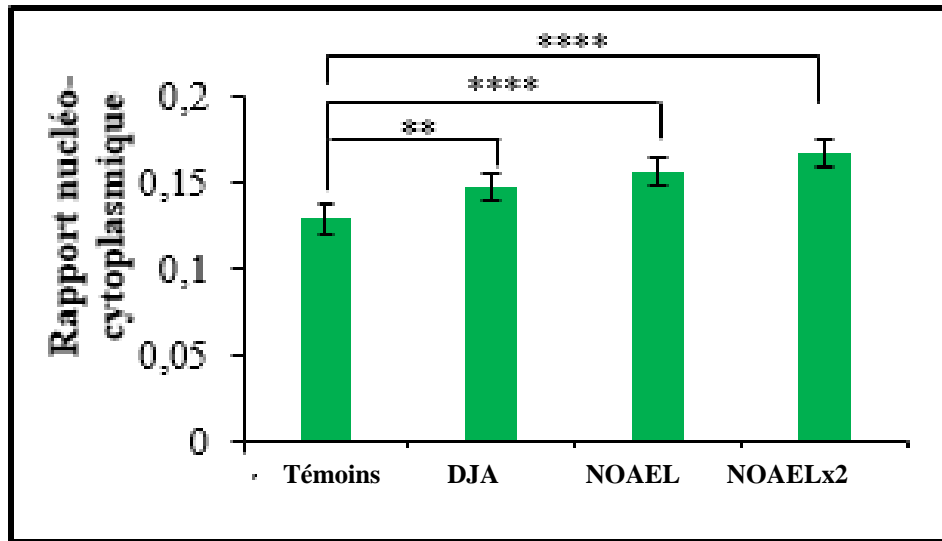


Figure 33 : Rapport nucléocytoplasmique des cellules hépatiques de rats traités avec le TMX : DJA60, NOAEL60, NOAEL60 x2, comparativement aux témoins

– Diamètre des sinusoides hépatiques

Le diamètre moyen des sinusoides sanguins est de $2,14 \pm 0,32 \mu\text{m}$ chez les témoins, de $2,14 \pm 0,38 \mu\text{m}$ chez les traités DJA60, de $2,50 \pm 0,35 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL60 et de $2,39 \pm 0,44 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL60 x2. On observe une augmentation de diamètre des sinusoides sanguins ($p < 0.001$) chez les lots traités par rapport au lot témoins (**Figure 34**).

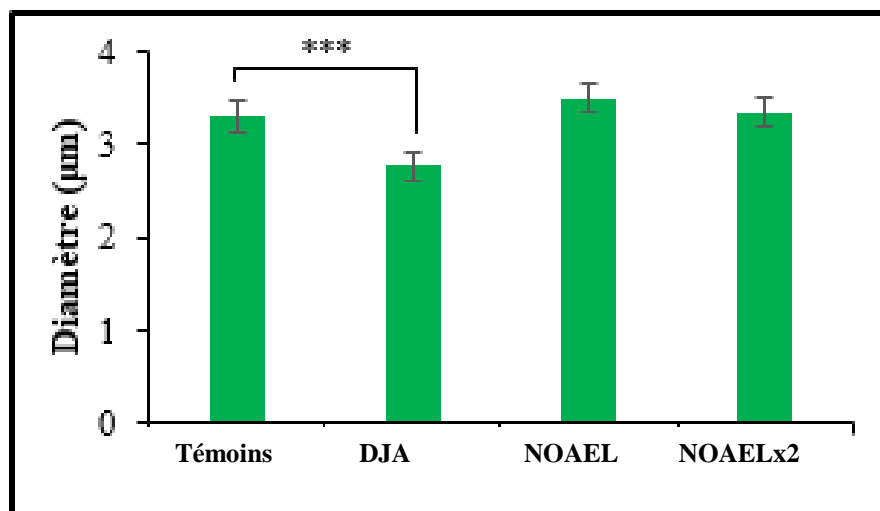


Figure 34 : Le diamètre des sinusoides sanguins des rats traités avec le TMX : DJA60, NOAEL60, NOAEL60 x2, comparativement aux témoins

Chez les animaux de 90 jours

– Taille des cellules hépatiques

Chez le groupe témoin (T90), la surface moyenne mesurée pour les hépatocytes est de $71,53 \pm 5,45 \mu\text{m}^2$. Cependant, chez les groupes DJA90 et NOAEL90 et NOEL90 x2, la surface moyenne des hépatocytes montre une diminution ($56,89 \pm 4,03 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA90, de $61,62 \pm 4,68 \mu\text{m}^2$ pour les NOAEL et de $59,96 \pm 3,81 \mu\text{m}^2$ chez les traités NOAEL90 x2) comparativement au lot témoin qui sont statistiquement hautement significatives ($p < 0.0001$).

La surface moyenne mesurée pour les noyaux est de $8,98 \pm 0,89 \mu\text{m}^2$. Cependant, chez les groupes DJA90 et NOEL90 (de $9,43 \pm 0,96 \mu\text{m}^2$ chez les traités DJA90, de $9,68 \pm 0,75 \mu\text{m}^2$ pour les NOAEL90 et de $8,82 \pm 0,45 \mu\text{m}^2$) qui augmente et NOEL90 x2 de $8,82 \pm 0,45 \mu\text{m}^2$ qui diminue. Comparativement au lot témoin, les différences enregistrées sont statistiquement peu significatives ($p < 0.01$) (**Figure 35 A-B**).

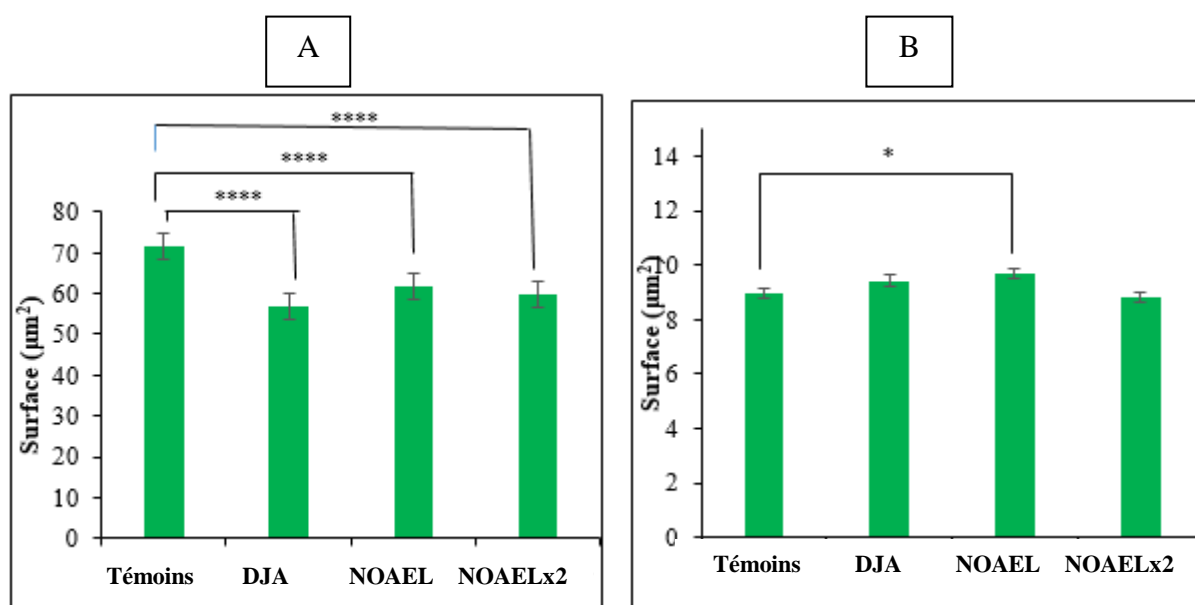


Figure 35 : La surface des hépatocytes (A) et de leur noyau (B) des rats traités avec le TMX : DJA90, NOAEL90, NOAEL90 x2, comparativement aux témoins

Pour le rapport nucléo-cytoplasmique moyen (90 jours) est de $0.121 \pm 0,016$ pour les témoins, on note une augmentation hautement significative ($p < 0.0001$) de $0,162 \pm 0.018$ pour les traités DJA, de $0,153 \pm 0,020$ pour les NOAEL et de $0,14 \pm 0,012$ pour les NOAEL x 2 (**Figure 36**).

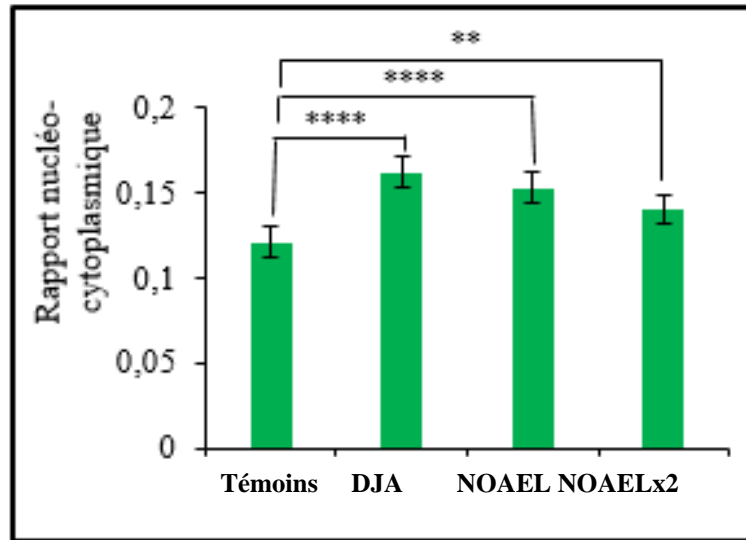


Figure 36 : Rapport nucléocytoplasmique des cellules hépatiques de rats traités avec le TMX : DJA90, NOAEL90, NOAEL90 x2, comparativement aux témoins

Diamètre des sinusoides hépatiques

Le diamètre moyen des sinusoides sanguins est de $2,14 \pm 0,32 \mu\text{m}$ chez les témoins, de $2,14 \pm 0,38 \mu\text{m}$ chez les traités DJA90, de $2,50 \pm 0,35 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL90 et de $2,39 \pm 0,44 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL1 x2. On observe une augmentation peu significative des sinusoides sanguines ($p < 0,01$) chez les lots traités par rapport au lot témoins (**Figure 37**).

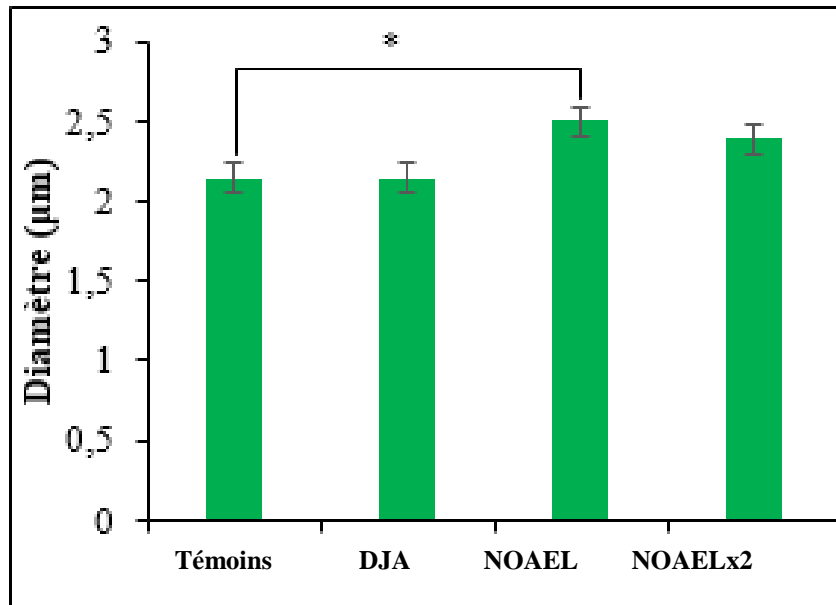


Figure 37 : Le diamètre des sinusoides sanguins des rats traités avec le TMX : DJA90, NOAEL90, NOAEL90 x2, comparativement aux témoins

2. Discussion

Notre travail concerne l'étude des effets sub-chroniques d'un pesticide néonicotinoïde, le thiaméthoxame, administré à trois doses différentes (DJA, NOAEL, NOAEL x2), sur la fonction hépatique, chez le rat male adulte. Les résultats histo-morphométriques ont montré, selon la dose administrée, des effets chez les animaux traités directement mais aussi des effets indirects sur leurs descendants (première génération).

2.1. Effet du Thiaméthoxame sur l'histo-physiologie du foie

Le foie présente une structure histologique en lobules, constitués de lamelles d'hépatocytes présentant un cytoplasme dense et un ou deux noyaux clairs et arrondis de tailles variables. Ces cellules hépatiques sont disposées de manière radiale autour de la veine centro-lobulaire, tandis que les sinusoides sanguines cheminent entre elles.

À la dose DJA, l'impact du thiaméthoxame sur la structure des lobules peuvent ne pas être détectable, les lobules hépatiques présentent une morphologie normale sans altérations remarquables. En effet, la dose DJA est généralement considérée comme ayant un effet négligeable sur les hépatocytes, leurs noyaux et les sinusoides. Ces résultats sont similaires à ceux de **Khaldoun-Oularbiet *al.*, (2017)** où aucun changement notable n'a été observé dans la structure ou la fonction de ces paramètres hépatiques chez les rats Wistar males traités avec la dose DJA.

À la dose NOAEL, de légères altérations de la structure des lobules sont observés, notamment une désorganisation des lames d'hépatocytes et une modification morphologique de la veine centro-lobulaire. De même, pour la double dose NOAEL où des altérations de la structure des lobules et de la veine centro-lobulaire sont observées mais avec une perte plus importante de la distinction des lames hépatocytaires.

En outre, aux doses NOAEL et NOAEL x2, nous avons noté des changements dans la taille des hépatocytes et de leur noyau, par conséquent, des modifications du rapport nucléocytoplasmique pouvant compromettre les fonctions métaboliques et de détoxification du foie. En effet, selon **Shalaby *et al.*, (2010)** l'administration orale quotidienne de 156,3 mg/kg de thiaméthoxame, à doses répétées chez rats albinos, a induit des changements significatifs dans la morphologie lobule hépatique, y compris des modifications de la structure des veines centro-lobulaires .

De plus, selon **Wang *et al.*,(2017)**, une exposition prolongée au thiaméthoxame chez les rats par voie orale a entraîné des modifications significatives dans la structure et la

fonction des cellules hépatiques se traduisant par des altérations de l'activité enzymatique du foie.

Par ailleurs, l'analyse des sinusoides hépatiques des rats traités par le thiaméthoxame a la dose NOEAL et NOEAL x2 a montré des modifications dans leurs organisations ainsi qu'une diminution de leur diamètre. Ceci suggère un autre effet du thiaméthoxame pouvant perturber les échanges de substances entre le sang et les cellules hépatiques. Cela peut ainsi entraîner une diminution de l'apport en nutriments essentiels et une accumulation de toxines dans les hépatocytes.

Les travaux menés par **Abouelghar et al.,(2020)** ont montré des altérations des sinusoides hépatiques chez des souris males ayant reçu des doses de 6 et 30 mg/kg de poids corporel de thiaméthoxame par gavage pendant une période de 28 jours ; ce qui peut entraîner une réduction de la perfusion sanguine et de l'apport en nutriments essentiels aux cellules hépatiques. Ces effets pourraient potentiellement avoir un impact négatif sur la fonction hépatique globale.

Etant donné que les sinusoides hépatiques jouent un rôle crucial dans la physiologie hépatique, ils agissent comme un filtre sanguin en éliminant les substances nocives, les toxines et les déchets du sang, tout en facilitant l'échange de nutriments essentiels avec les cellules hépatiques. Les sinusoides contribuent également à l'élimination des déchets en permettant leur transport vers les voies d'élimination appropriées. Ainsi, les sinusoides hépatiques sont vitales pour le fonctionnement hépatique global et le maintien de la santé de l'organisme.

2.2. Transmission des effets du thiaméthoxame des parents au foie de la première génération

L'analyse histo-morphométrique du foie des animaux issus de parents exposés au thiaméthoxame nous a permis de constater une éventuelle transmission du pesticide des parents à leurs descendants de première génération. Cette transmission pourrait altérer le développement et la maturation des hépatocytes en fonction de l'âge des animaux.

En effet, les descendants âgés de 20 jours montrent des modifications surtout chez les groupes d'animaux issus des rats traités au thiaméthoxame à la dose NOEAL et la dose NOEAL x2. Le premier présente une hypertrophie des hépatocytes probablement liée à l'accumulation de toxine, par contre le 2ème groupe montre une hypotrophie d'où une toxicité cellulaire. Il est à noter que chez les deux groupes une restriction des sinusoides hépatiques

est observée. A cet âge, les animaux étant à un stade précoce de développement post natale, leur foie est encore en cours de maturation et peut présenter une vulnérabilité accrue aux effets néfastes de thiaméthoxame même à des doses relativement faibles. Les rats à cet âge sont au cours de l'allaitement. **Johnson et al., (2020)** ont mise en évidence une possible toxicité hépatique causée par ce pesticide à cet âge dans leur étude portant sur des rats âgés de 20 jours exposés au thiaméthoxame par voie orale.

Il est supposé qu'à ce stade, les rats peuvent avoir un système enzymatique hépatique moins développé, y compris les enzymes responsables de la détoxification des substances toxiques principalement les cytochromes P450. Cela peut entraîner une capacité réduite du foie à métaboliser et à éliminer efficacement le thiaméthoxame, ce qui peut augmenter sa toxicité. Cette hypothèse renforce les données rapportées par l'étude de **Smith et al., (2018)** qui ont examiné l'activité enzymatique hépatique chez les rats à un stade de développement précoce. Les résultats ont révélé que l'activité des enzymes hépatiques est moins prononcée chez les rats plus jeunes par rapport aux rats adultes. Plus précisément, les enzymes responsables de la détoxification des substances toxiques, comme les cytochromes P450 et les enzymes de conjugaison, étaient moins présentes et moins actives chez les jeunes rats.

Concernant les rats âgés de 60 jours issus des parents traités par le thiaméthoxame à la dose NOEAL et NOEAL x2, des modifications histologiques ont été observées, notamment des modifications de la morphologie des hépatocytes et de la forme des veines centrolobulaire. Cependant, ces altérations sont moins prononcées que celles observées chez les rats âgés de 20 jours. À cet âge de 60 jours, le foie présente une structure hépatique mature et des mécanismes de détoxification plus efficaces, ce qui le rend plus résistant aux effets toxiques du thiaméthoxame (**Yu et al., 2018**).

De même, les altérations du foie chez les rats adultes âgés de 90 jours issus des parents traités par le thiaméthoxame à la dose NOEAL et NOEAL x2 peuvent être moins prononcées par rapport aux stades de développements plus précoces. Selon **Yu et al., (2018)**, à cet âge, le foie a généralement atteint sa pleine maturité et sa capacité de détoxification est maximale.

Une autre étude réalisée par **Liu et al., (2017)** a évalué l'impact du thiaméthoxame sur le foie de rats à différents stades de développement (30 jours, 60 jours et 90 jours) en utilisant des doses croissantes. Les résultats ont montré que les rats plus jeunes exposés aux doses les plus faibles présentaient des lésions hépatiques légères, telles qu'une légère dilatation des

sinusoïdes et une hypertrophie cellulaire. Cependant, à des doses plus élevées, les rats plus jeunes ont développé des lésions plus graves, notamment une nécrose hépatocytaire et une inflammation.

A partir de ces résultats, on peut dire que les parents traités par le thiaméthoxame présentent des effets nocifs au niveau de foie, ces effets peuvent être transmis à leur descendance. Il est supposé que le thiaméthoxame puisse être transmis par la femelle ou par le sperme d'un mâle exposé, ce qui suggère la possibilité d'une exposition directe du fœtus au pesticide pendant les premiers stades de développement embryonnaire. En effet, l'étude réalisée par **Rizzati et al., (2016)** a mis en évidence la présence du thiaméthoxame dans le sperme des mâles exposés à ce pesticide à différentes doses pendant une période donnée, indiquant sa capacité à être absorbé par le corps et à sa transmission aux organes reproducteurs. Cette absorption du pesticide peut se produire via la circulation sanguine, permettant ainsi au thiaméthoxame d'atteindre les testicules et d'être incorporé dans les cellules germinales responsables de la production des spermatozoïdes. De plus, selon **Hossain et al., (2017)**, lorsque des spermatozoïdes contenant du thiaméthoxame fertilisent un ovule, le pesticide peut être introduit dans l'embryon en développement. Cette exposition précoce au thiaméthoxame peut influencer le développement du foie chez les descendants et entraîner des altérations histologiques ou des perturbations de la fonction hépatique. Ces chercheurs ont indiqué des changements dans la morphologie hépatique, des niveaux élevés d'enzymes hépatiques et des perturbations métaboliques chez la descendance exposée.

Une autre supposition, lorsqu'une femelle gestante est exposée au thiaméthoxame, le pesticide peut être absorbé par son organisme. Il peut ensuite traverser la circulation sanguine maternelle et atteindre le placenta. Le thiaméthoxame peut traverser la barrière placentaire et atteindre le fœtus où il peut être absorbé par les différents tissus, y compris le foie en développement. Après la mise-bas, une partie du thiaméthoxame peut être excrétée dans le lait maternel. Étant donné que les descendants ont un système enzymatique encore immature, leur capacité à métaboliser et éliminer le thiaméthoxame peut être réduite. Conformément à l'étude menée par **Pagès et al., (2002)**, portant sur des femelles adultes exposées au lindane, il est confirmé que ce pesticide s'accumule dans les compartiments graisseux de l'organisme maternel et franchit facilement la barrière placentaire pour atteindre le fœtus. Cependant, du point de vue quantitatif, il est possible que le lait maternel représente une source encore plus significative de lindane pour le nouveau-né, car le lait constitue la principale voie d'élimination des substances lipophiles persistantes stockées dans les tissus adipeux.

Conclusion
et
Perspectives

Dans cette étude, nous avons examiné l'impact de Thiaméthoxame sur l'histo-physiologie du foie des rats Wistar male à trois doses croissantes et leurs effets sur la structure hépatique de la première génération issue des parents traités au thiaméthoxame.

Les résultats obtenus, ont mis en évidence le rôle de la dose administrée dans l'apparition des effets du thiaméthoxame sur l'histologie hépatique, ce qui suggèrent que des doses plus élevées de thiaméthoxame (NOAEL et NOAEL x2) peuvent entraîner des altérations histologiques plus marquées, telles que des altérations des veines centro-lobulaires et une dégénérescence des hépatocytes. Ces altérations peuvent compromettre les fonctions métaboliques et de détoxification du foie. Ainsi, il est crucial de prendre en compte la dose administrée lors de l'évaluation des effets potentiels du thiaméthoxame sur la santé hépatique.

Nous avons également constaté que l'âge des rats de la première génération peut influencer la réponse hépatique au thiaméthoxame. Les animaux plus jeunes (20 jours) semblent présenter une sensibilité accrue avec des altérations histologiques plus importantes. En revanche, les rats plus âgés (60 et 90 jours) peuvent être moins susceptibles aux effets toxiques, bien que des altérations hépatiques puissent encore être observées.

Ce dernier résultat nous a permis de déduire une éventuelle transmission du thiaméthoxame, des parents exposés à leur descendant, soit lors de la fécondation, la gestation ou l'allaitement. Cette exposition précoce au thiaméthoxame peut influencer le développement du foie chez les descendants et entraîner des altérations histologiques ou des perturbations de la fonction hépatique.

En conclusion, ce travail pourra ouvrir de nouvelles perspectives pour d'autres études plus complètes et édifiantes à savoir :

- Réaliser l'étude avec un effectif des animaux plus important
- Exploration des effets du Thiaméthoxame sur la descendance de la deuxième génération.
- Explorer la capacité de récupération du foie des rats après l'arrêt de l'exposition au thiaméthoxame
- Des études de toxicité chronique du Thiaméthoxame afin d'évaluer et prévenir des risques probables chez l'être humain

Références bibliographiques

A

- Abouelghar G.E. Yassien R.I. Bermawy.AE. Z. Ali Ammar H. et Shalaby AE.Y. (2020). Sub lethal Toxicity of Thiamethoxam Insecticide in Albino Mice: Biochemical, Oxidative Damage and Histopathological Evaluations. *Advanced Journal of Toxicology: Current Research*. N°1 –Vol 4 : 28p.
- Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire (ARLA). (2007). Rapport d'évaluation du Thiaméthoxame. Canada.
- Agence gouvernementale des États-Unis pour l'environnement. (EPA). (2019).
- André N. (2017). Cirrhose et syndrome hépatorénal. Thèse de doctorat en pharmacie. Université d'Aix-Marseille : 126p.

B

- Belghiti J. (2002). L'anatomie du foie peut-elle changer *Elsevier SAS*.N° 6 -Vol 127:416-417p.
- Böttcher J.P. Knolle P.A. et Stabenow D. (2011). Mechanisms balancing tolerance and immunity in the liver. *Digestive diseases*, N°4 –Vol 29 :384-390p.
- Buckingham S.D. Lapied B. Le-Corronc H. Grolleau F. et Sattelle D.B. (1997). Imidaclopride actions on insect neuronal acetylcholine receptors. *The journal of experimental biology*. N° 21 –Vol 200: 2685-2692 p.

C

- Calvet R. Barriuso E. Bedos C. Benoit P. Charnay M.P et Coquet Y. (2005). Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales. Edition France Agricole, France : 637p.
- Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement. (Cirad). (2000). France.
- Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail. (CCHST). (2023). Canada.
- Chang H.Y. Daugherty L.et Mitchell A. (2013). Bee afraid, bee very afraid – neonicotinoids and the nAChRs family. *Inter Pro Protein Focus* : 1–8p.

- Chassé R. et Martel L. (2006). Paramètres d'exposition chez les mammifères – Rat surmulot. Fiche descriptive. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec: 15 p.
- Comité de la prévention et de la protection (CPP). (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. France : 47p.
- Cottard C. (2008). Les pesticides encore appelées produits phytosanitaires. Ecole normale supérieure de Lyon Institut français de l'éducation. France.

D

- Dadoune J.P. (1990). Histologie. Médecine-Sciences Flammarion. 1^{er} Ed. Paris : 457p.
- Denminger M.H. (1997). Rôle du foie dans l'hémostase. *Éditions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS*.
- Danel V. Barriot P. Saviuc P. et Hanna J. (2005). Intoxication par insecticides. Intoxications aiguës en réanimation. 2^{ème} Ed. France : 225p.

E

- El Ghazi I. Egah J. Imane B. Menouni A. Amane M. Kestemont M.P. et El Jaafari S. (2021). Utilisation et Gestion des Pesticides dans les Zones Agricoles Urbaines, Périurbaines et Rurales de la Préfecture de Meknès, Maroc. *European Scientific Journal, ESJ*. Vol 17 : 94-111p.
- El Mrabet K. Le-Dioron V. Yardin C. Lalere B. Hervouet G. et Pichon V. (2007). Méthode d'analyse multi résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie. France.
- Elbert A. Haas M. Springer B. Thielert W. et NauenR. (2008). Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science*. N°64 Vol 11 : 1099–1105p.

F

- Faubert A. (2012). Biodiversités : victimes silencieuses des pesticides, section française de l'organisation mondiale de protection de la nature. France : 80p.

- Feki A. Kammouni I. Naifar M. Makni A.F. Hakim A. et Ben Amara I. (2021). Etude du profil biochimique chez des rats traités avec des doses croissantes en Thiaméthoxame. *Revue Tunisienne de Biologie Clinique*. N°37: 55 – 63p.
- Ferner H. et Staubesand J. (1986). Atlas d'anatomie humaine, thorax, abdomen, bassin, membre pelvien, peau. Sobotta. 2^{ème} Ed, France : 400p.
- Ferreira A. Petretti C. Vanisa B. (2015). Biologie de l'alimentation humaine : Tome2, Anatomie, physiologie, physiopathologie. Studyrama. France: 690p.
- Fournier J. (1988). Chimie des pesticides. Agence de Coopération Culturelle et Technique. France : 332p.

G

- Garcia F.P. Ascencio S.C. Oyarzun J.G. Hernandez A.C. et Alavardo P.V. (2012). Pesticides: Classification, Uses and Toxicity. Measures of Exposure and Genotoxic Risks. *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology*. N°1-Vol 11: 279-293p.
- Gatignol C. et Etienne J.C. (2010). Pesticides et santé. Rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques : 262p.
- George J.K. (2000). Handbook of Experimental Animals. Academic Press : 3-16p.
- Goel A. et Aggarwal P. (2007). Pesticide poisoning. *The National medical journal of India*. Vol 20:182-91p.
- Gueguen Y. Lobaccaro J.M. Ferrari L. et Paquet F. (2006). Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *Annales de biologie Clinique*. N°6 –Vol 64: 535-548p.
- Gupta S. et Gajbhiye V.T. (2007). Persistence of Acetamiprid in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. N°5 Vol 78: 349-346 p.

H

- Hossain, M. S. (2017). Paternal pesticide exposure impairs male offspring liver function and metabolism in mice. *Toxicological Sciences*. N° 160 – Vol 2: 383-396p.

J

-Jeschke P. Nauen R. Schindler M. et Elbert A. (2011). Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of agricultural and food chemistry*. N° 7 – Vol 59 : 2897-2908p.

-Johnson C. (2020). Effects of Thiamethoxam on Liver Histology and Biochemical Markers in 20-day-old Rats. *Journal of Toxicological Sciences*. N°45 –Vol 3: 145-153p.

K

-Kamina P. (2014). Anatomie clinique. Tome 3: Thorax, abdomen. Maloine. 4^{ème} Ed, France : 360p.

-Kaur R. Mavi G. et Raghav S. (2019). Pesticides Classification and its Impact on Environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Vol 8 : 1889-1897p.

-Khaldoun-Oularbi H. Bouzid N. Boukreta S. Makhlof C. Derriche F. et Djennas N.(2017).Altérations induites par le thiaméthoxam Actara[®] dans les reins, le foie, le cervelet et l'hippocampe de rats mâles. *Journal of xenobiotics*. N° 7 - Vol 1 : 25-30p.

L

-Lukas H. (2006). La santé du foie. Québecor. Canada : 223p.

M

-Maienfisch P, (2005).Synthesis and Properties of Thiamethoxam and Related Compounds. *Syngenta Crop Protection AG, Research & Technology*. Suisse :353 – 359p.

-Maitre M. et Klein C. (2008). Métabolismes hépatiques. *EMC, Hépatologie* : 16p.

-Margoum C. Gouy V. Laillet B. et Dramais G. (2003). Rétention des produits phytosanitaires dans les fossés de connexion parcelle-cours d'eau. *Revue des sciences de l'eau Journal of Water Science*. N°4-Vol 16 : 389-405p.

-Marieb E.N. (2008). Biologie humaine. Principes d'anatomie et de physiologie. 8^{ème} Ed. Pearson, France: 708p.

- Martin H. et Worthing C.R. (1976). Insecticide and fungicide handbook for crop protection. Oxford Black Well Scientific. 5^{ème} Ed : 427p.
- Mathilde T. (2021). Détoxification et nutraceutiques : comment réussir sa routine détox ? (<https://www.dynveo.fr/blog/detoxification-et-nutraceutiques-n20>).
- Mellal A. (2010). Application pratique de l'anatomie humaine. Publibook. France : 255p.
- Metlej P. (2019). Identification de peptides ciblant les cholangiocytes et cellules souches cancéreuses humaines issus de la lignée d'hépatome HepaRG par la technique de phage display. Thèse de doctorat. Université de Rennes. France : 118 p.
- Ministre de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR). (2007). Recensement agricole de 2007. Direction de la protection de végétaux et des contrôles techniques. Algérie.
- Mitra V. et Metcalf J. (2009). Fonctions métaboliques du foie. *Anesthésie et médecine de soins intensifs*. N°7 -Vol 10 : 334-335p.

O

- Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. FAO. (2010). Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides Directives pour la publicité des pesticides. Rome, 2008.
- Oriana C. et Denis C. (2015). Le foie et les voies biliaires : Anatomie. Centre hépato-Biliaire Paul Brousse. France.
- Ouattara Y. (1999). Etude de l'activité des extraits aqueux de plantes hépato tropes sur le foie de souris soumises à une intoxication" algue au tétrachlorure de carbone. Thèse de 3ème cycle en sciences biologiques appliquées, option physiologie animale. Université de Ouagadougou: 93p.

P

- Pagès N. Sauviat M.P. Bouvert S. et Goudey-Perrière F. (2002). Toxicité du lindane sur la reproduction. *Journal de la société de biologie*. N°196-Vol 4 : 325-338p.
- Ploton M. (2018). Impact de la phosphorylation de FXR par la PKA sur son activité transcriptionnelle et sur la régulation de la néoglycogénèse hépatique. Thèse de doctorat. Université Lille : 91p.

R

- Rizzati, V. (2016). Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*. N°23 –Vol 21 : 17406-17423p.
- Rosenbaum J. (1991). Interactions cellulaires dans le foie. *Médecine sciences*. N°2 -Vol 7: 1-8p.
- Rouvière H. et Delmas A. (2002). Anatomie humaine : descriptive, topographique et fonctionnelle. Tome2: Tronc. Masson. 15^{ème} Ed. Paris: 697p.

S

- Sendensky A. Dufour J.F. (2011). Chronic liver failure Mechanisms and Management. HumanaPress : 608 p.
- Shalaby EM. S. Farrag H. et El-Saed SM. G. (2010). Toxicological potential of thiamethoxam insecticide on albino rats its residues in some organs. *JASMR*.N°5- Vol 2: 165-172p.
- Smith A. (2018). Immaturity of Cytochrome P450 Enzymes in the Neonate: A –Systematic Review. *Current Drug Metabolism*. N°19 -Vol 9: 762-775p.
- Sobotta J. et Welsch U. (2004). Précis d'histologie : Cytologie, histologie, anatomie microscopique. Lavoisier. France : 592 p.
- Stevens A. et Lowe J. (1997). Histologie humaine. De Boeck Université. 2^{ème}Ed. Paris, Bruxelles: 397p.
- Sundaram M. Yao Z. (2010). Recent progress in understanding protein and lipid factor saffecting hepatic VLDL assembly and secretion. *Nutrition and metabolism*. Vol7 : 17p.

T

- Testud F. et Grillet J.P. (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes de synthèse et divers. Elsevier Masson SAS, Toxicologie - Pathologie professionnelle. France :24p.

- Testud F. Garnier R. Delemotte B. (2001). Toxicologie humaine des produits phytosanitaires. Tome 1, Principes généraux, insecticides, fongicides et fumigants. Ed ESKA. France. Vol 1 : 272p.
- Thiollet-Scholtus M. (2004). Construction d'un indicateur de qualité des eaux de surface vis-à-vis des produits phytosanitaires à l'échelle du bassin versant viticole. Thèse de doctorat de l'INPL. Université de Lorraine : 180p.
- Tomlin C. The Pesticide Manual. (2006). British Crop Protection Council, Alton. 14^{ème} Ed. Royaume-Uni: 1349 p.
- Tordoir W.F. et Van Sittert N.J. (1994). Organochlorines. *Toxicology*. Vol 91: 51-57 p.

V

- Viau R. (2018). L'influence des insecticides néonicotinoïdes sur la stéroïdogénèse dans deux modèles cellulaires humains en co-culture physiologiquement représentatifs. Université du Québec : 141p.

W

- Weinberg R.A. Gupta P.B. Onder D.T. Jiang G. Tao K. Kuperwasser C. et Lander E.S. (2009). Identification des inhibiteurs sélectifs des cellules souches cancéreuses par dépistage à haut débit. *Elsevier* : 645-659p.
- Williamson S.M. Willis S.J. et Wright G.A. (2014). Thiamethoxam Interacts with Nicotinic Acetylcholine Receptors of Honey Bee Larvae. N° 62 -Vol 40: 9603-9610p.

Y

- Yu X. (2018). Age-related differences in hepatic and renal toxicity of thiamethoxam in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. N°25 - Vol 28 : 28576-28585p.