

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université MOULOU D MAMMERI TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques

Département de Biologie

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

MASTER EN BIOLOGIE

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

THÈME

**Contribution à la recherche de l'effet
amélioratif des vitamines C et E chez le
lapin mâle traité par lambda cyhalothrine.
Etude histomorphométrique des testicules**

Réalisé par :

M^{lle} Belhocine Linda & M^{lle} Belarbia Tassadit

Devant le jury d'examen composé de :

M ^{me} Zerrouki N.	Professeur	Présidente
M ^{me} Benabdesselam R.	M.C.A	Examinatrice
M ^{me} Akdader S.	M.A.A	Examinatrice
M ^{me} Khaldoun H.	M.C.B	Promotrice

Année universitaire: 2016/2017

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous exprimons toutes nos profondes reconnaissances à notre promotrice Mm KHALDOUN née OULARBI Hassina pour le temps consacré à nous écouter, nous orienter et nous corriger tout au long de notre recherche.

Nous tenons à remercier la présidente des membres du jury Mme ZERROUKI née DAOUDI NACERA de nous avoir tant aidées dans la réalisation de cette recherche et d'avoir accepté de bien vouloir juger notre travail.

Nos vifs remerciements vont également à Mme BENABDESSELAM. R. et Mme AKDADERS pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous et à toutes.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- ❖ *Mes parents qui m'ont toujours soutenus tout au long de mon parcours et plus particulièrement Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude ;*
- ❖ *Mon très cher frère Abderazak et mes très chères sœurs Malika, Katia et Thilleli qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité ;*
- ❖ *La petite famille de notre très chère Malika : son mari Mouhand Oulhadj et leur petit ange Eloise ;*
- ❖ *A Zakaria qui m'a tant soutenu et encouragé durant ces 4 dernières années que ça soit par son soutien morale, son amour ou ses conseils et à sa petite famille : sa douce mère Ouassila, son père et sa très chère petite sœur Amina, et sa grande famille tantes et oncles, cousins et cousines ;*
- ❖ *Mes tantes, oncles, cousins et cousines, neveux et nièces paternels et maternels que je pourrais tous les citer ;*
- ❖ *Mes chères amies : Amina, yasmima, djouher, safia, thilleli, kamilia et nabila ;*
- ❖ *Ma très chère sœur, amie et binôme tassadit ainsi que toute sa famille ;*

Et à toute la promo 2016 |2017.

Belhocine Linda

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

- *A mes très chers parents qui ont beaucoup sacrifiés pour que je puisse arriver jusque là et qui m'ont beaucoup soutenus et qui me soutiennent toujours*
- *A mes très chères sœurs, KAHINA, DYHIA, MELISSA et THIZIRI son mari MALIK sans oublié leur petit fils*
- *A toute la famille BELARBIA et KEBAILI*
- *Spéciale dédicaces à mon très cher MOHAMMED et sa petite famille*
- *A tous mes amies DJOUDJOU, SAFIA, YASMINE, FAHIMA, AMIRA, TINHINANE; M, TINHINANE ;B, LINA et DYHIA*
- *A Mr HAMADOU*
- *A mon amie et sœur et binôme BELHOUCINE LINDA ainsi que toute sa famille*
- *Et a toute la promo 2016/2017*

Belarbia Tassadit.

Résumé

Le présent travail vise à évaluer les effets reprotoxique d'un insecticide lambda cyhalothrine (LCT) sur le parenchyme testiculaire des lapins mâles de souche local algérienne et l'effet amélioratif de la vitamine C et E. Pour cela une administration de 10 mg/Kg/pc/jr pendant 21 jours de LCT et une co-administration des vitamines C et E a été réalisée. Nous avons réalisé deux colorations topographiques, l'Hématoxyline éosine et le trichrome de Masson, pour évaluer l'effet reprotoxique de LCT sur le parenchyme testiculaire. Et pour confirmer ces lésions, nous avons réalisé une étude morphométrique des différent structures testiculaire. Nos résultats montrent une baisse de prise de poids chez les animaux traités par LCT. Sur le plan histologique des lésions tissulaires caractérisent le parenchyme testiculaire des lapins traités par LCT et peuvent se résumer comme suit : une congestion vasculaire, une nécrose et destruction de l'épithélium séminifères par rétraction du cytoplasme des spermatogonies et apparition de corps apoptotiques. Cependant, le parenchyme testiculaire des lapins co-administrés par les vitamines C et E montre une architecture tissulaire proche de celle des lapins témoins. Donc les lésions se sont atténuées suite à la supplémentation vitaminique. Les résultats de l'examen morphométrique confirment ceux de l'étude histologique car le traitement par LCT a entraîné un rétrécissement de l'épithélium séminifère et l'élargissement de la lumière des tubes indiquant la réduction cellulaire par nécrose. En conclusion, les vitamines C et E ont un effet protecteur contre les dommages causés par lambda cyhalothrine.

Mots clé : Testicule, Lambda cyhalothrine, Vitamines C et E, Histo-Morphométrie, Lapin.

Abstract

The aim of this work is, to evaluate the toxic effects of a lambda cyhalothrin insecticide (LCT) on the testicular parenchyma of the male rabbits of local Algerian strain, and the enhancing effect of vitamin C and E. For this, administration of 10 mg / Kg / Pc / day for 21 days of LCT and co-administration of vitamins C and E was performed. We performed two topographic staining; Hematoxylin eosin and Masson trichrome, in order to evaluate the reprotoxic effect of LCT on the testicular parenchyma. And in order to confirm these lesions, we realized a different testicular structures morphometric study.

Our results show a decrease in weight gain in the animals treated with LCT. Histologically, tissue lesions characterize the testicular parenchyma of rabbits treated with LCT and can be summarized as follows: vascular congestion, necrosis and destruction of the seminiferous epithelium by retraction of the cytoplasm of spermatogonia and appearance of apoptotic bodies. However, the testicular parenchyma of the rabbits co-administered by vitamins C and E shows a tissue architecture close to that of the control rabbits. So, the lesions were reduced by vitamin supplementation.

The results of the morphometric examination confirm those of the histological study because the treatment with LCT caused a narrowing of the seminiferous epithelium and the enlargement of the lumen of the tubes indicating the reduction by cell necrosis. In conclusion, vitamins C and E have a protective effect against the damages caused by lambda cyhalothrin.

Key words: Testicle, Lambda cyhalothrin, Vitamins C and E, histomorphometry, Rabbit.

Liste des abréviations

- **ABP**: androgène binding-protéin.
- **ANR** : apports nutritionnels recommandés
- **AZT** : azidothymidine
- **CHU** : centre hospitalier universitaire
- **CHRU** : centre hospitalier régional universitaire
- **DBP** : Di-n-Butyl Phtalate
- **DDT** : Dichlorodiphényltrichloroéthane
- **DMLA** : Dégénérescence Maculaire Liée à l'Âge
- **EDTA** : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique
- **EGME** : Ethylène Glycol Monométhyl Ether
- **EPA** : Environmental Protection Agency
- **FAO** : food and Agriculture Organization
- **FSH** : follicle Stimulating Hormone
- **HDL** : High Density Lipoprotein (lipoprotéine de haute densité)
- **hSVCT** : human Sodium Vitamine Transporter
- **GnRH** : Gonadotrophin Releasing Hormone
- **Kow** : Coefficient de partage octanol/eau
- **LCT** : Lamda cyhalothrine
- **LDL** : Low Density Lipoprotein (lipoprotéine de basse densité)
- **LH** : Luteinizing Hormone
- **NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **P.C** : poids corporel
- **Qe** :Quercétinine
- **Vit(C+E)** : vitamine C+ vitamine E
- **VLDL** : Very Low Density Lipoprotein (lipoprotéine de très basse densité)

Liste des figures :

Numérotation des figures	Titre	page
Figure 01	Organisation générale des testicules	04
Figure 02	Schéma de l'appareil génital male	05
Figure 03	Scrotum et vaginale	06
Figure 04	Parenchyme testiculaire	07
Figure 05	Spermatogénèse.	10
Figure 06	Différentes phases de la spermiogénèse	12
Figure 07	Structure d'un spermatozoïde	12
Figure 08	Contrôle endocrinien des fonctions testiculaire	14
Figure 09	Insecticides de la classe des pyréthrinoïdes	17
Figure 10	Structure chimique des deux isomères de lambda cyalothrine	18
Figure 11	Mode d'action des pyréthrinoïdes sur les neurones.	19
Figure 12	Structure chimique des 4 tocotriénols et les 4 tocopherols.	23
Figure 13	Oxydation de l'alpha-tocophérol en alpha tophéryl et sa régénération par l'acide ascorbique	26
Figure 14	Lapin mâle <i>Oryctolagus cuniculus</i>	28
Figure 15	Echantillons sanguins	29
Figure 16	Fixation des organes dans du formol	30
Figure 17	Macroscopie	31
Figure 18	Automate de desydratation	32
Figure 19	Automate de confection des blocs de paraffine	32
Figure 20	Microtome de type Leica	32
Figure 21	Automate de coloration de type Leica	33
Figure 22	Evolution pondérale des lapins à la fin de l'expérimentation (témoin, Vit CE, traités LTC et LTC + Vit CE).	37

Figure 23	Evolution du poids absolu des organes (testicules + épididymes) chez les différents groupes de lapins (témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E).	38
Figure 24	Evolution du poids relatif des organes (testicules + épididymes) chez les différents groupes de lapins (témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E).	39
Figure 25	Variation du poids absolu et relatif des testicules droit et gauche chez les lapins témoin et traités par LCT et traité par LCT + vitamine C et E à J21.	40
Figure 26	Effet du traitement par vit C et E, LCT et LCT + vit C et E sur la surface des tubes séminifères des lapins traités en comparaison avec les témoins.	54
Figure 27	Effet du traitement par vit C + E, LCT et LCT + vit C et E sur l'épaisseur de l'épithélium séminifère en comparaison avec les témoins.	55
Figure 28	Effet du traitement par vit (C+E), LCT et LCT + vit (C+E) sur le diamètre de la lumière des tubes séminifère en comparaison avec les témoins.	56

Liste des tableaux

- **Tableau I** : Etapes de la coloration au trichrome de masson35
- **Tableau II** : résultats de l'étude des poids (moyenne \pm écartype)..... annexe
- **Tableau II** : résultats de l'étude morphométrique.....annexe

Liste des planches

Numérotation des planches	Titre	Page
Planche 1	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins témoin coloration HE	43
Planche 2	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins témoin, coloration thricrome de masson	44
Planche 3	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traité par la vit C et la vit E , coloration HE	46
Planche 4	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par la vit C et la vit E, coloration thricrome de masson	47
Planche 5	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traité par LCT , coloration HE	49
Planche 6	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par la LCT, coloration thricrome de masson	50
Planche 7	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traité par LCT plus le Vit C et vit E, coloration HE	52
Planche 8	Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par la LCT et coadministrés de la vit C et E, coloration thricrome de masson	53

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Données bibliographiques	3
1. Appareil génital masculin	3
1.1. Généralités	3
1.2- Anatomie du testicule des mammifères	3
1.2.1 Vascularisation et innervation	4
1.3. Anatomie du testicule des lagomorphes : Le lapin (<i>Oryctolagus Cuniculus</i>) ...	5
1.4. Embryologie du testicule	5
1.5. Histologie du testicule	6
1.5.1. Scrotum et vaginale	6
1.5.2. Parenchyme testiculaire	7
1.5.3. Voies excrétrices	8
1.6. Physiologie du testicule	9
1.6.1. Epithélium séminal et spermatogenèse	9
1.6.2. Cellules nourricières de Sertoli	12
1.6.3. Cellules endocrines de Leydig	12
1.7. Régulation des fonctions testiculaires	12
1.7.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires	12
1.7.2. Régulation intra-gonadique des fonctions testiculaires.....	13
2. Pesticides	15
2.1. Définition	15
2.2. Classification des pesticides	15
2.3. Composition d'une formulation pesticide	16
2.3.1. Matière active.....	16
2.3.2. Solvant	16
2.3.3. Surfactant	16
2.3.4. Adjuvant	16
2.4. Toxicité des pesticides	16
2.5. Pyréthriinoïdes	17
2.5.1. Structure, classification et toxicité	17
2.6. lambda-cyhalothrine	18
2.6.1. Structure chimique	18
2.6.2. Caractéristiques physico-chimiques	18

2.6.3. Pharmacocinétique	18
2.6.4. Domaines d'utilisation	19
2.6.5. Mode d'action	19
3. Acide ascorbique	20
3.1. Structure	20
3.2 Propriétés de l'acide ascorbique	20
3.3. Sources de l'acide ascorbique	20
3.4. Métabolisme de l'acide ascorbique	20
3.5. Rôles physiologiques de l'acide ascorbique	21
3.5.1. Rôle antioxydant	22
3.5.2 Action sur les toxiques	22
3.6. Autres effets de l'acide ascorbique	22
4. Vitamine E	23
4.1. Structure chimique	23
4.2. Principales sources de vitamine E	23
4.3. Biosynthèse	23
4.4. Métabolisme	24
4.5. La fonction anti-oxydante de la vitamine E	24
4.6. Autre rôles de la vitamine E	25
4.7. Toxicité de la vitamine E	26
Chapitre II : Matériel et Méthodes	27
1-Matériel	28
1.1-Matériel biologique	28
1.1.1. Modèle animal	28
1.1.2. taxonomie du lapin	28
1.2. Matériel non biologique	28
2. Methodes.....	29
2.1. Constitution des lots	29
2.2. Sacrifice et prélèvement de sang et des testicules.	29
2.3. Etude des poids corporel et absolu et relatif des organes.....	30
2.4. Étude histologique	30
2.4.1. Fixation	30
2.4.2. Etude macroscopique.....	31
2.4.3. Déshydratation et éclaircissement.....	31

2.4.4. Imprégnation	31
2.4.5. Inclusion.....	31
2.4.6. Confection des coupes et étalement.....	32
2.4.7. Coloration.....	33
2.4.8. Hématoxyline éosine (coloration topographique : de routine).....	33
2.4.9. Coloration Trichrome de Masson.....	34
2.4.10. Coloration histochimique PAS (Periodic Acid Schiff)	35
2.5. Montage des lames	36
2.6. Etude histomorphométrique	36
2.7. Etude statistique	36
Chapitre III : Résultats et discussion.....	37
1. Etude du poids corporel et du poids absolu et relatifs des testicules+épididymes des lapins.....	37
1.1. Effet du traitement sur le poids final.....	37
1.2. Effet du traitement sur le poids absolu des testicules + épидидymes.....	38
1.3. Effet du traitement sur le poids relatif des testicules + épидидymes.....	39
1.2. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif des testicules + épидидymes.....	40
2. Résultats de l'étude histologique des testicules.....	41
2.1. Histologie du testicule témoin (Coloration HE).....	41
2.2. Histologie du testicule témoin (Coloration Trichrome de Masson).....	42
2.3. Histologie du testicule traité par les vitamines C et E (coloration HE).....	45
2.4. Histologie du testicule traité par les vitamines C et E (coloration Trichrome de Masson).....	45
2.5. Histologie du testicule traité par la lambda cyalothrine (LCT) (coloration HE)...	48
2.6. Histologie du testicule traité par la lambda cyalothrine (LCT) (coloration Trichrome de Masson).....	48
2.7. Histologie du testicule traité par la lambda cyalothrine (LCT) et co-administré par la vit C et la vit E (coloration HE).....	51
2.8. Histologie du testicule traité par la lambda cyalothrine (LCT) et co-administré par la vit C et la vit E (coloration Trichrome de Masson).....	51

3. Résultats de l'étude histomorphométrique.....	54
3.1. Effet du traitement par vit C et E, LCT et LCT + vit C et E sur surface des tubes séminifères.....	54
3.2. Effet du traitement par LCT et LCT + vit C et vit E sur l'épaisseur de l'épithélium séminifère.....	55
3.3. Effet du traitement par vit C + E, LCT et LCT + vit C et E sur le diamètre de la lumière des tubes séminifères.....	56
Discussion	57
Conclusion	60
Références bibliographiques	62
Annexe	

L'infertilité est un problème de santé mondial qui touche environ 15% des couples, la stérilité des hommes est le facteur dominant dans près de 50% de la population atteinte. L'infertilité chez l'homme a été corrélée avec l'exposition aux pesticides. On a observé que la spermatocytogénèse et la spermiogénèse sont les stades spermatogènes les plus sensibles aux toxines environnementales. Les pesticides produisent également des altérations endocriniennes, entraînant des changements dans divers paramètres reproductifs. **(Khaldoun Oularbi et al., 2015)**

Les pesticides peuvent aussi être très nocifs, ils peuvent endommager l'environnement et s'accumuler dans les écosystèmes ; comme ils possèdent le potentiel de causer toute une gamme d'effets toxiques envers la santé humaine, parmi lesquels le cancer, les dysfonctions des systèmes endocriniens et immunitaires, l'atteinte aiguë et chronique du système nerveux et l'endommagement des poumons. **(Jawich, 2006)**

Les principales classes de pesticides en usage courant sont les organochlorés, les organophosphates, les carbamates et les pyréthroïdes. Les pyréthroïdes sont classés en deux types, le type I et le type II, qui diffèrent selon la structure chimique et le mécanisme d'action. La lambda-cyhalothrine (C₂₂H₁₉ClF₃NO₃) (LCT) est un pyréthroïde de synthèse de type II composé de deux stéréoisomère **(Khaldoun Oularbi et al., 2015)**

Par ailleurs, les cellules ont développé des systèmes de défenses pour métaboliser les radicaux libres et ainsi limiter les dégâts qu'ils provoquent. On distingue les oligoéléments (Cu, Zn, Mg et Se), les défenses enzymatique (superoxydes dismutase, catalase et glutathion peroxydase) et les antioxydants non enzymatique (glutathion, β- carotène et la vitamine C et E).

Les vitamines E (α-tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant **(Layachi, 2013)**.

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire elle peut capter directement l'O₂⁻ et l'OH⁻. Elle peut aussi réduire le radical α-tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E.

Au vu de ces données, dans notre étude nous allons essayer de voir d'une part l'effet d'une toxicité subaiguë par un pesticide de la famille des pyréthroïdes de type II «lambda cyhalothrine» (LCT) sur l'organe de reproduction mâle «testicules» de lapin de la souche local algérienne et d'autre part l'effet amélioratif probable d'une coadministration de la vitamine C et E avec LCT sur le testicule. Pour cela, dans un premier temps dans la partie

bibliographique nous allons présenter quelques connaissances acquises sur le testicule, généralités sur les pesticides et en particulier la lambda cyhalothrine et les vitamines C et E. leurs structure et leur rôle en tant qu'antioxydants, Puis dans la partie expérimentale, nous allons nous intéresser aux effets cytotoxiques de lambda cyhalothrine sur le parenchyme testiculaire des lapins d'une part, et d'évaluer l'effet protecteur des vitamines C et E combinés d'autre part, enfin une discussion des résultats suivis d'une conclusion et perspectives.

CHAPITRE I

Rappelles bibliographiques

1. appareil génital masculin

1.1 Généralités

L'appareil génital masculin comporte les testicules qui produisent les spermatozoïdes et secrètent des androgènes ; l'épididyme, le canal déférent, le canal éjaculateur et l'urètre, qui constituent un système de canaux assurant le transport des spermatozoïdes vers l'extérieur. Les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrale (glandes de Cowper) élaborent la majeure partie du sperme en fournissant un milieu de transport liquide et nutritifs aux spermatozoïdes et enfin, le pénis, qui est l'organe copulateur. Les testicules, l'épididyme et le canal déférent sont situés dans le scrotum, poche revêtue de peau contenant une cavité tapissée d'un mésothélium et communiquant avec la cavité péritonéale par le canal inguinal (Stevens et Lowe, 1997)

L'appareil génital masculin assure plusieurs fonctions à savoir :

- La nutrition et le stockage temporaire des gamètes (spermatozoïdes)
- l'émission d'une suspension de spermatozoïdes dans l'appareil génital féminin
- la production d'hormones sexuelles mâles (androgènes).

Les deux premières fonctions ne sont effectives qu'en période de maturation sexuelle, tandis que la production hormonale est nécessaire tout le long de la vie, même in utero.

1.2- Anatomie du testicule des Mammifères

Le testicule représente la glande génitale mâle, c'est un organe pair chez les Mammifères situé en dehors de la cavité abdominale (dans le scrotum). Chaque testicule est revêtu par une capsule fibreuse: l'albuginée (**Figure 1**).

Elle s'enfonce dans le testicule pour constituer le corps de Highmore perforé par des vaisseaux et le rete testis. Entre l'albuginée et le corps de Highmore, sont tendues des cloisons ou septa, souvent incomplètes qui délimitent chez l'homme environ 300 lobules testiculaires, chacun contenant 1 à 4 tubes séminifères. Chez les rongeurs, il n'y a aucune cloison (Gayraud, 2007).

Le poids des testicules dépend de l'âge et de l'espèce, mais aussi parfois de la saison. Chez les mammifères adultes, les testicules peuvent occuper des positions différentes. Soit, ils restent intra-abdominaux (édentés, cétacés, hérisson, phoques, tapirs, rhinocéros, chauve-souris...).

Soit, ils quittent la cavité abdominale (Musaraignes, taupes, rongeurs, lagomorphes, carnivores, équidés, suidés, ruminants, primates et beaucoup de marsupiaux). Cette migration extra-abdominale des testicules est définitive (cas le plus général) ou temporaire et périodique

permettant sa remonté dans la cavité abdominale en dehors des périodes d'activité sexuelle (insectivores, chauves-souris, rongeurs) (Nicaise, 2015).

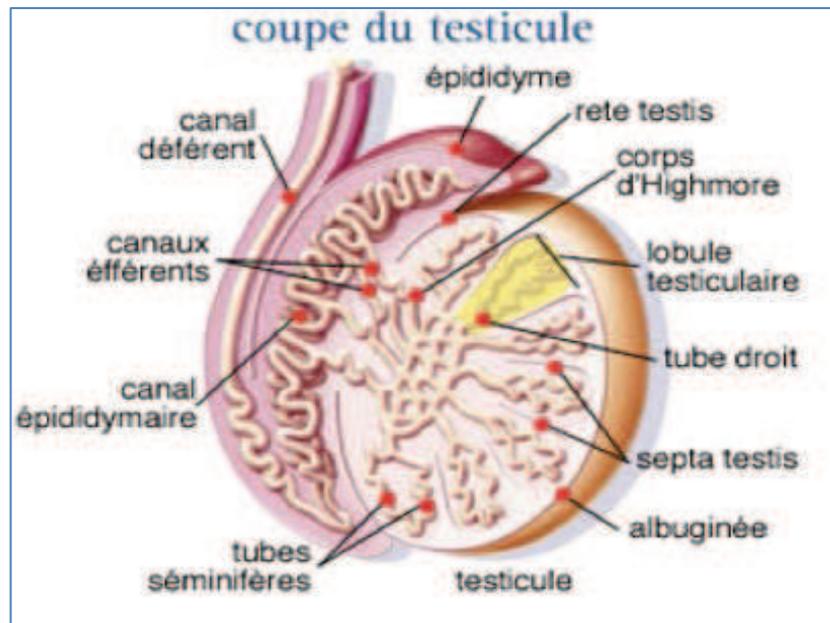


Figure 1: Organisation générale des testicules (Anonyme 1)

1.2.1 Vascularisation et innervation :

La vascularisation testiculaire est assurée par l'artère testiculaire, des veines et des vaisseaux lymphatique.

~ **Artérielle** : L'artère testiculaire (née de l'aorte abdominale) pénètre dans l'organe par son pôle apical, se ramifie dans l'albuginée, le mediastinum testis et les cloisons interlobulaires. Les ramifications terminales se résolvent dans le tissu conjonctif intertubulaire en formant un très riche réseau capillaire.

~ **Veineuse** : Les veinules prennent naissance en regard des capillaires et sont drainées par une veine testiculaire. En quittant le testicule, les veines testiculaires forment un réseau anastomosé et très convoluté : le plexus pampiniforme qui entoure l'artère testiculaire.

~ **Lymphatique** : de nombreuses fentes lymphatiques naissent dans les lobules et sont drainées par les vaisseaux lymphatiques des cloisons d'une part vers le médiastinum testis, d'autre part vers l'albuginée où le réseau devient plus net.

~ **Innervation** : des fibres amyéliniques vasomotrices viennent au contact des fibres musculaires lisses des vaisseaux de la charpente conjonctive et jusqu'au tour des tubes séminifères. Il semble que les fibres nerveuses ne pénètrent pas dans ces derniers. (Bourgès-Abella, 2008).

1.3. Anatomie du testicule des lagomorphes : Le lapin (*Oryctolagus Cuniculus*)

Chez les mâles, les testicules, ovoïdes, sont logés dans deux scrota bien distincts, en position périnéale haute (**Figure 2**). Ils sont mobiles entre les scrotums et la cavité abdominale en raison de l'absence de fermeture du canal inguinal. Chez le lapin adulte en activité sexuelle les testicules sont ovoïdes et bien développés. Ils sont contenus dans des sacs scrotaux et leurs dimensions moyennes sont d'environ (35 x 15) mm (**Damaison, 2011**).

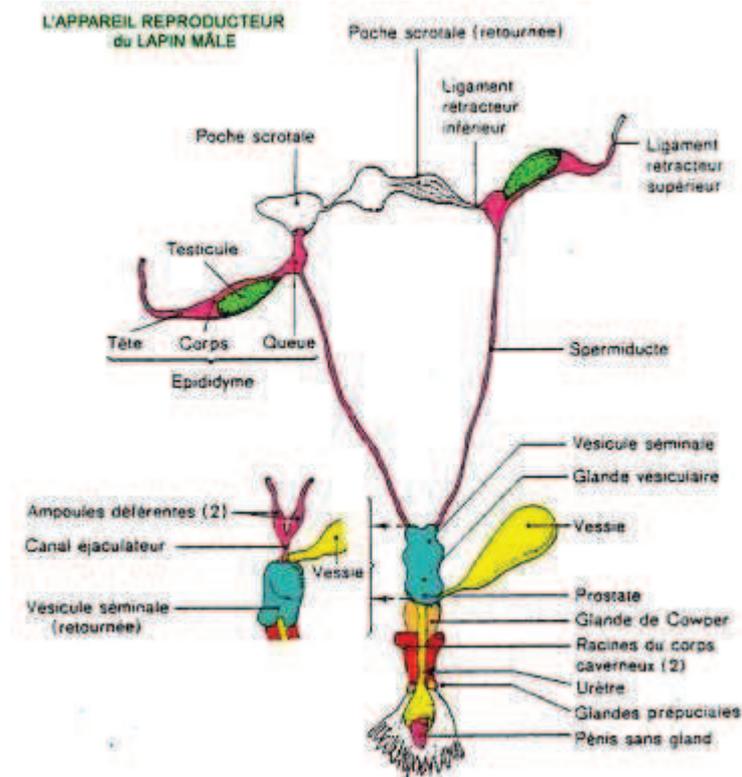


Figure 2: schéma de l'appareil génital du lapin mâle (**lebas et al.,1996**)

1.4. Embryologie du testicule :

Au début de l'organogenèse, se forme une crête génitale qui est colonisée par les cellules germinales. La crête génitale est issue (de même que les reins) du mésoderme intermédiaire, situé entre le mésoderme latéral et les somites. Les cellules germinales migrent, chez tous les Vertébrés, pour aller coloniser la crête génitale. Chez les Mammifères, ces cellules sont originaires du mésoderme extra-embryonnaire. Elles accomplissent leur migration en passant par l'allantoïde.

L'épithélium de la crête génitale se développe dans le tissu conjonctif ; il se forme alors des cordons sexuels primitifs qui s'entourent de cellules germinales. Ces cordons sexuels vont proliférer dans le tissu conjonctif. Pour les fœtus XY, on observe dans la crête génitale la formation de deux types de cordons : les cordons testiculaires et les cordons du rete-testis qui se trouvent à l'extrémité des cordons testiculaires (**Anonyme 2**)

1.5. Histologie du testicule

1.5.1. Scrotum et vaginale

Les testicules sont recouverts extérieurement par une peau contenant des follicules pileux obliques et de nombreuses glandes sudoripares exocrines.

Dans les couches profondes de la peau, des cellules musculaires lisses se disposent de façon assez désordonnée pour former le muscle dartos, mal défini, dont la contraction provoque le plissement de la peau scrotale.

Au-dessous du muscle dartos se situe un fascia fibreux (fascia de colles) dont la zone la plus profonde se densifie pour constituer la couche pariétale dense de la vaginale. La vaginale, bordée intérieurement par un mésothélium, constitue la face interne du sac scrotal, séparée de la surface testiculaire par un espace virtuel contenant un liquide lubrifiant permettant aux testicules de bouger à l'intérieur, sans à-coups ni friction. (**Figure. 3**)

Une capsule fibreuse épaisse, revêtue d'une couche de cellule mésothéliales aplaties, la couche viscérale de la vaginale (albuginée), recouvre la surface testiculaire. Une couche étroite de tissu de soutien lâche, contenant des vaisseaux sanguins superficiels, sépare la capsule fibreuse (**Stevens et Lowe, 1997**).

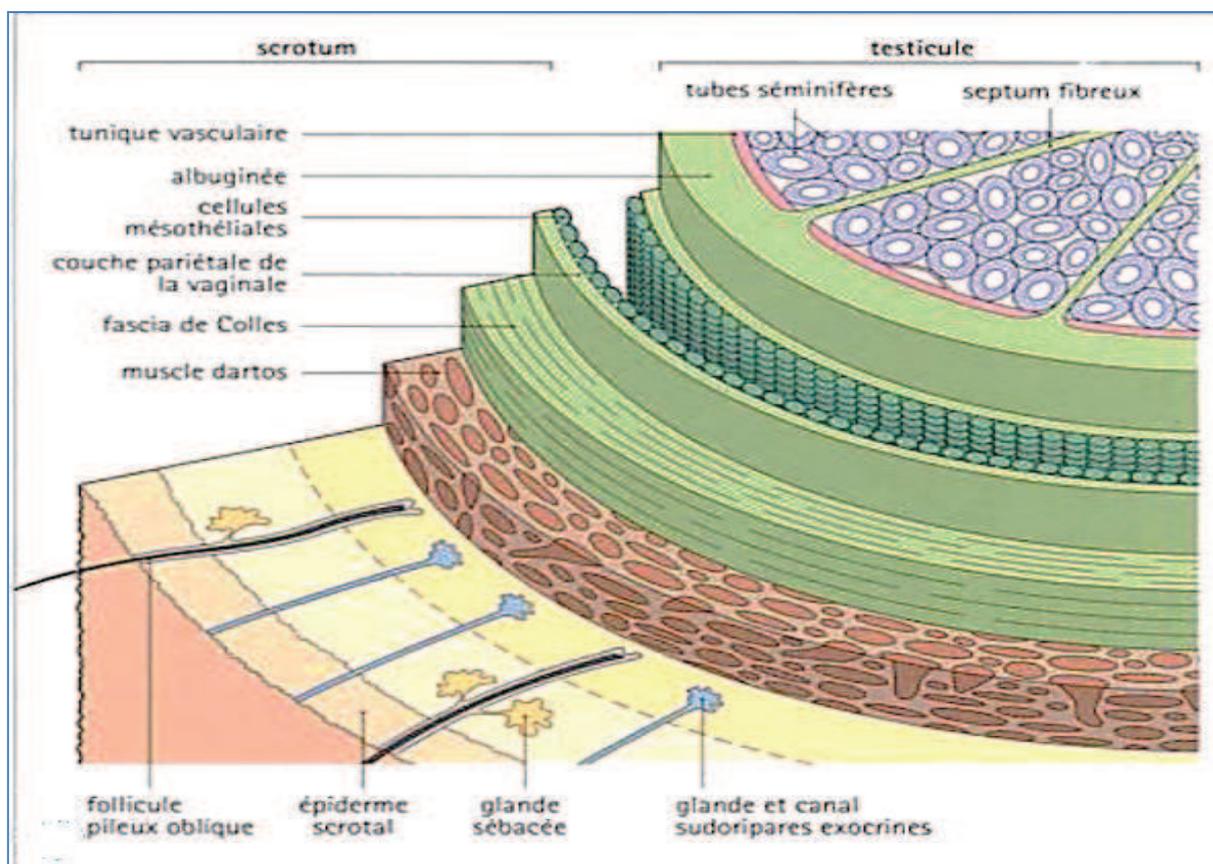


Figure 3 : Scrotum et vaginale (Stevens et Lowe, 1997).

1.5.2. Parenchyme testiculaire

Il est composé par des structures tubulaires glandulaires exocrines, les tubes séminifères, chargés de l'élaboration, la fabrication et l'excrétion des gamètes mâles, les spermatozoïdes, des structures glandulaires insulaires endocrines : les cellules interstitielles (anciennement cellules de Leydig) responsables de la sécrétion des hormones mâles, les androgènes (Bourgès-Abella, 2008).

Dans chaque lobule, sont pelotonnés deux à cinq tubes séminifères contournés (100 à 300 μm de diamètre chez l'homme). Ils se terminent au sommet des lobules en tubes droits qui eux-mêmes se dirigent vers le médiastinum testis (Bourgès-Abella, 2008).

a. Tubes séminifères

Le testicule des mammifères est de type lobulaire : au sein de ses lobes, se rencontrent des tubes séminifères (formation tubulaires fortement enroulées sur elles-mêmes).

La longueur totale des tubes séminifères déroulés et mis bout à bout, atteint en moyenne 350 mètres chez l'homme et 2000 mètres chez l'étalon (Nicaise, 2015). Chaque tube est entouré d'une enveloppe.

L'épithélium séminifère apparaît stratifié constitué par les cellules de la lignée germinale et par des cellules somatiques : cellules de Sertoli où les limites intercellulaires sont peu apparentes. Tous les tubes séminifères n'ont donc pas le même aspect (Figure 4) (Bourgès-Abella, 2008).

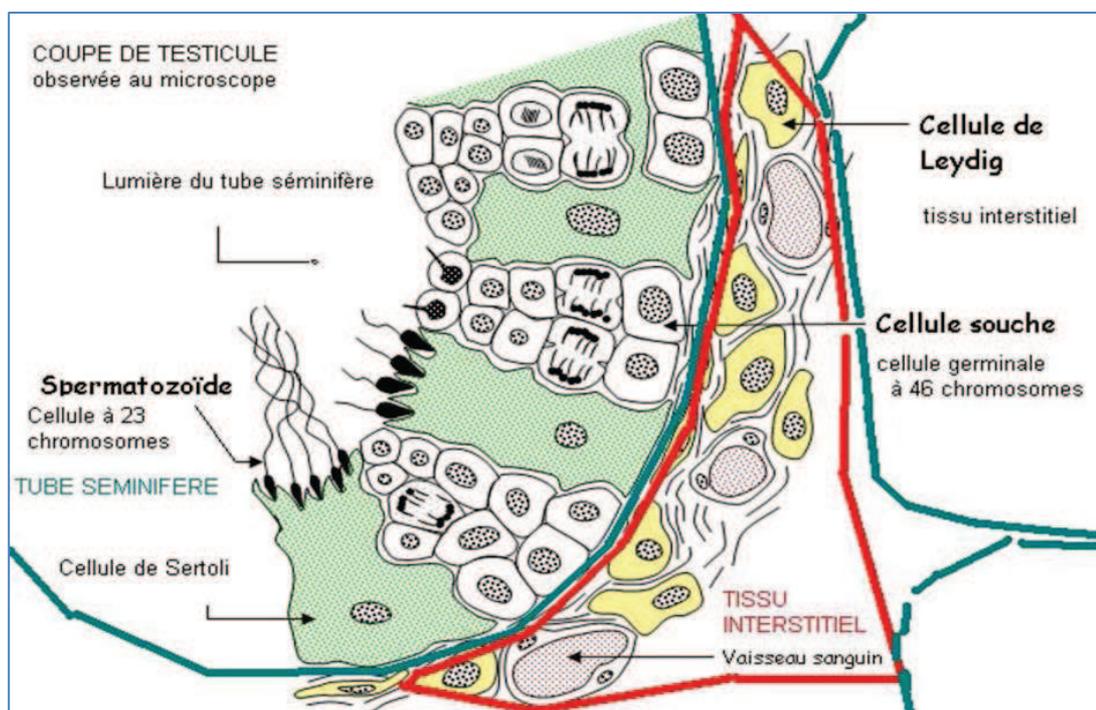


Figure 4: Parenchyme testiculaire (Anonyme 3).

Une lame basale entoure le tube séminifère, puis 3 ou 4 assises de cellules allongées concentriques semblables à des cellules musculaires lisses : cellules péritubulaires entourées par des faisceaux de fibres collagènes. Puis une fine couche de fibroblastes qui jouent un rôle paracrine vis-à-vis des cellules de Sertoli (**Kohler, 2010**).

b. Cellule de Sertoli

Les cellules de Sertoli reposent sur une membrane basale et s'étendent sur toute la hauteur de l'épithélium et représentent 15 à 25 % du volume de l'épithélium tubulaire. Cette cellule de grande taille renferme un noyau volumineux de forme ovale ou irrégulière, disposé perpendiculairement à la membrane basale, sa chromatine est réticulée et un ou parfois deux nucléoles très colorables sont visibles (**Kohler, 2010**).

La cellule de Sertoli est irrégulière, avec de nombreuses expansions cytoplasmiques ramifiées qui entrent en contact avec les expansions des cellules adjacentes pour former un réseau cytoplasmique.

Ce réseau entourant les cellules germinales en développement, est grossièrement divisé en compartiments basal et adluminal par des jonctions serrées. Les zones cytoplasmiques proches des spermatides contiennent habituellement des microfibrilles et des microtubules. Les spermatogonies et les spermatocytes I en stade préleptotène occupent le compartiment basal, tandis que les autres spermatocytes I les spermatocytes II et les spermatides sont situées dans le compartiment adluminal (**Stevens et Lowe, 1997**).

c. Cellule de Leydig

Entre les tubes séminifères, un tissu conjonctif lâche très vascularisé au sein duquel sont différenciées des cellules endocrines « cellules de Leydig ». Cellules polyédriques, isolées ou en amas au noyau sphérique central, clair, nucléolé ayant un cytoplasme abondant riche en mitochondries et en gouttelettes lipidiques, un réticulum endoplasmique lisse très développé (métabolisme lipidique important), Golgi, liposomes de diamètre variable (**Kohler, 2010**).

1.5.3. Voies excrétrices

a) Tubes droits : Courts canaux de 1 à 2 mm de long, qui font suite aux tubes séminifères : un tube droit reçoit 5 à 6 tubes séminifères. Tapissés par un épithélium cubique, pauvre en organites.

b) Rete testis : Le rete testis est le lieu de convergence des tubes séminifères. Il est formé par un réseau de canalicules bordé par une couche de cellules cubiques, dont certaines sont dotées d'un flagelle qui aiderait la progression des spermatozoïdes vers les canaux efférents.

1.6. Physiologie du testicule

1.6.1. Épithélium séminal et spermatogénèse

Les cellules de la lignée mâle ou cellules spermatogènes dérivent des cellules germinales primordiales. Polymorphes, elles passent par les divers stades de la spermatogénèse, c'est-à-dire de la formation des spermatozoïdes. La spermatogénèse se subdivise en trois phases la **spermatocytogénèse**, dans laquelle les spermatogonies se développent en spermatocytes ; la **méiose**, division réductionnelle qui donne aux spermatides son nombre haploïde de chromosomes et la **spermiogénèse**, transformation des spermatides en spermatozoïdes (**Figure 6**).

Les spermatogonies ou cellules souches sont situées au voisinage de la membrane limitante. Leur cytoplasme est clair, d'aspect homogène et leur noyau volumineux. On en reconnaît deux types :

- **les spermatogonies A** (diamètre 12 μm) au noyau, clair, présente une chromatine en fine poussière et un nucléole central proéminent. Ces cellules subissent quelques mitoses. La dernière division mitotique produit une nouvelle spermatogonie de type A et une spermatogonie de type B, qui est à l'origine d'une lignée spermatogène.
- **les spermatogonies B** : le noyau présente des mottes denses de chromatine, le nucléole est moins proéminent que celui du type précédent. La phase de multiplication dure 3 jours chez le rat.

La division méiotique des spermatogonies B donne naissance aux spermatocytes primaires :

- **Les spermatocytes primaires** : Cellules diploïdes (diamètre 20 μm) dont le noyau ressemble à celui des spermatogonies qui leur ont donné naissance. Les spermatocytes I s'éloignent de la région basale de l'épithélium et augmentent de taille. Ce sont les cellules les plus volumineuses dans le tube.
- **Les spermatocytes secondaires** : Cellules de plus petite taille que les spermatocytes I aux noyaux nucléolés (chromatine fine, granulaire, peu colorée). Les spermatocytes II subissent aussitôt une nouvelle et rapide division méiotique qui produit les spermatides.
- **Les spermatides** : Au stade initial, les spermatides sont des cellules de petite taille (5 à 6 μm de diamètre), arrondies, au noyau à chromatine finement granuleuse. Le cytoplasme est peu abondant. Le noyau va ensuite s'allonger, se densifier tandis que se développe un très long flagelle et que la plus grande partie du cytoplasme est éliminé (**Bourgès-Abella, 2008**).

La spermiogénèse est caractérisée par la condensation du noyau et la déshydratation de la chromatine ; la formation de l'acrosome au départ d'une vésicule golgienne ; le

développement de l'appareil flagellaire à partir du centriole distal ; le glissement du cytoplasme le long de l'axe flagellaire et la différenciation de diverses structures fibreuses qui se condensent autour de celui-ci ; le repositionnement des mitochondries en une rangée hélicoïdale autour de la partie initiale du flagelle (*pars intermedia*) et l'élimination de la plus grande partie du cytoplasme (corps résiduel) (**Figure 05**) (**Gayard, 2007**).

Les spermatozoïdes (**Figure 06**) sont des cellules qui apparaissent en microscopie photonique comme des éléments filiformes très basophiles dans la lumière du tube séminifère. Ils présentent une partie proximale : la tête au noyau allongé basophile; une partie distale : le flagelle (**Bourgès-Abella, 2008**).

A leur sortie du testicule, les spermatozoïdes ne sont pas féconds. Ils le deviennent après leur passage dans l'épididyme.

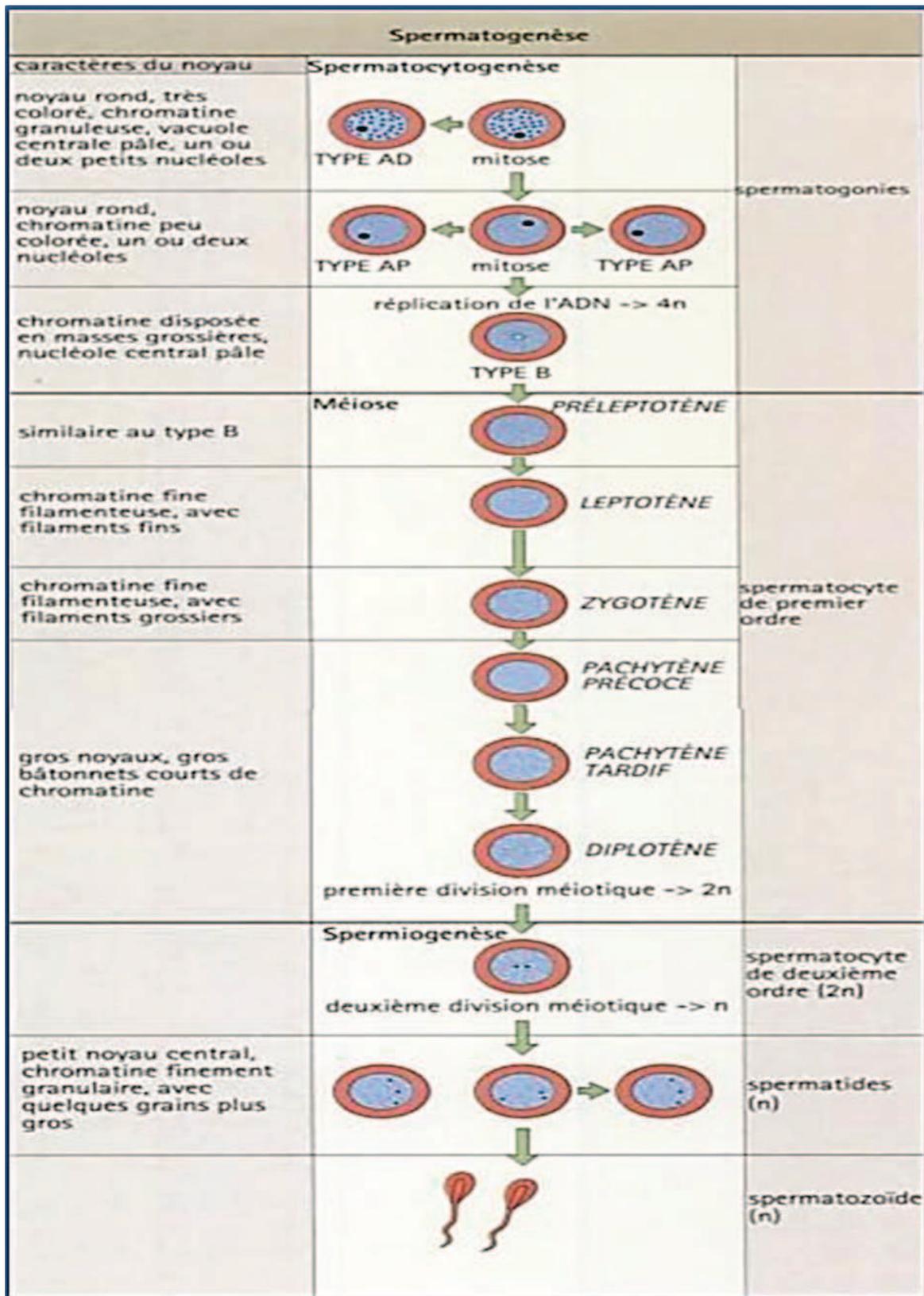


Figure 5: Spermatogénèse. (Stevens et Lowe, 1997)

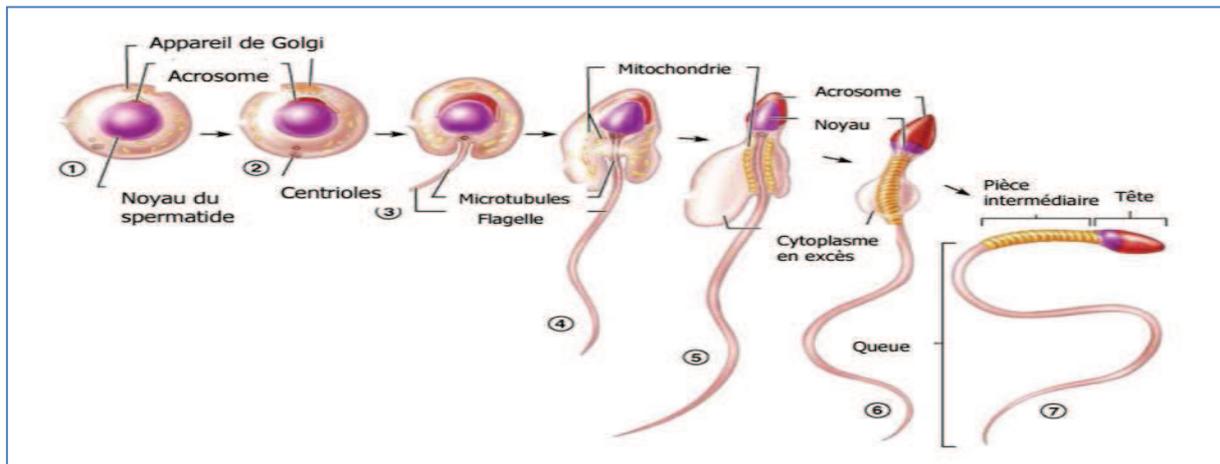


Figure 6: Les différentes phases de la spermiogénèse (Gayrard, 2007)

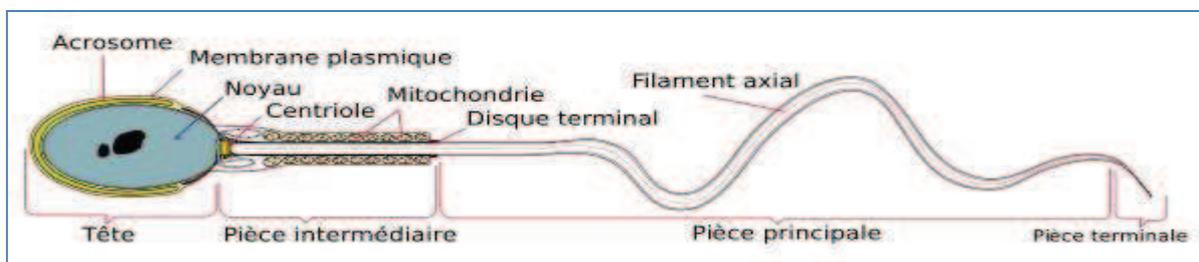


Figure 7: Structure d'un spermatozoïde

1.6.2. Cellules nourricières de Sertoli

Les cellules de Sertoli constituent le support des cellules de la lignée spermatogène. La fonction de soutien comprend vraisemblablement l'apport de nutriments aux cellules germinales en développement par l'intermédiaire de leur prolongement cytoplasmiques et le transport des déchets métaboliques vers les systèmes vasculaires sanguins et lymphatiques entourant les tubes séminifères. (Stevens et Lowe, 1997). Les cellules nourricières de Sertoli forment des jonctions serrées entre elles pour constituer une barrière sang-testicule qui produit un micro-environnement dans les tubes séminifères qui contiennent les cellules germinales. Les cellules germinales exerceraient également une influence sur les cellules de Sertoli.

1.6.3. Cellules endocrines de Leydig

Élaborent des hormones stéroïdes. La cellule interstitielle sécrète l'hormone mâle ou testostérone, nécessaire au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génital mâle et l'intégrité de la lignée germinale. Son activité est sous le contrôle de la LH antéhypophysaire. (Kohler, 2010).

1.7. Régulation des fonctions testiculaires

1.7.1. Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires

Les testicules des mammifères adultes ont deux fonctions : la production de spermatozoïdes et la production de testostérone qui dépendent des hormones gonadotropes

hypophysaires (LH et FSH) produites par la glande hypophysaire en réponse à la libération de GnRH hypothalamique.

a) Hormones de l'axe hypothalamohypophysaire

La Gn-RH : L'hypothalamus libère de façon pulsatile la Gn-RH toutes les 3-4 heures. Chez l'homme, les pics surviennent surtout la nuit et le matin.

Les 2 hormones gonadotropes **FSH et LH** ont chacune une cible différente au niveau du testicule.

- La **LH** stimule la production de la testostérone par la cellule interstitielle de Leydig, qui est la seule cellule du testicule équipée de récepteurs pour cette hormone.

- Cependant, la **FSH** stimule l'épithélium séminifère de manière spécifique en se liant à des récepteurs intratubulaires situés sur la cellule de Sertoli, la seule à en être pourvue. La FSH est essentielle pour déclencher la spermatogénèse et probablement pour son entretien. Elle stimule la cellule de Sertoli qui synthétise et libère dans le tube séminifère une substance qui fixe la testostérone, l'androgène binding-Protein (ABP). La FSH jouera également un rôle anti-apoptotique des cellules germinales.

b) Androgènes : La LH stimule les cellules interstitielles de Leydig pour augmenter la production en androgènes. Les androgènes intratesticulaires sont nécessaires pour une spermatogénèse normale. Le plus important d'entre eux est la testostérone. Les cellules de Leydig sécrètent par ailleurs l'androstènedione et les oestrogènes (oestradiol).

La testostérone est produite par les cellules de Leydig en réponse à LH, elle joue un rôle essentiel dans l'initiation de la spermatogénèse au moment de la puberté et dans le maintien de la spermatogénèse chez l'adulte. Elle est catabolisée dans le foie et est excrétée dans les urines sous forme de 17 cétostéroïdes.

La testostérone a une triple destinée, elle agit directement sur certaines cibles en se liant à des récepteurs spécifiques cytosoliques ; elle agit indirectement sur certaines cibles équipées de l'enzyme α réductase qui la transforme en dihydrotestostérone ; sous l'action de l'aromatase dans les adipocytes, elle est transformée en œstradiol. Le mécanisme d'action de la testostérone pourrait impliquer une famille de protéines (la famille de Bcl2) qui exercent un effet anti-apoptotique.

1.7.2. Régulation intra-gonadique des fonctions testiculaires

Bien que la régulation endocrine de la fonction testiculaire soit très importante, il devient évident que les régulations qui s'exercent localement au niveau du testicule jouent un rôle clé dans la fertilité du mâle (**Figure 8**).

- **Interactions cellules germinales-cellules de Sertoli** : La cellule de Sertoli exerce différentes fonctions. Elle contrôle le développement et le déplacement des cellules germinales. Elle contribue à la production du liquide interstitiel impliqué dans les régulations paracrines et le liquide tubaire qui s'écoule dans la lumière des tubes séminifères. Enfin, elle produit des protéines spécifiques ou non spécifiques du testicule (activateur du plasminogène, transferrine, facteur de croissance de type insuline).

L'ABP (*Androgen Binding Protein*) est une protéine de 41 kDa qui, en liant préférentiellement la testostérone et la dihydrotestostérone permet le maintien de concentrations testiculaires élevées en androgènes. Les peptides produits par les cellules de Sertoli régulent la stéroïdogénèse négativement (activine) ou positivement (inhibine). L'inhibine est une glycoprotéine qui inhibe la sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaires et essentiellement, FSH. L'activine, constituée de 2 sous unités β , a une activité opposée à l'inhibine sur la sécrétion de FSH. Elle est libérée sous l'influence de la testostérone et de FSH. Les cellules de Sertoli jouent un rôle majeur dans ces régulations en interagissant avec les cellules germinales (Gayrard, 2007).

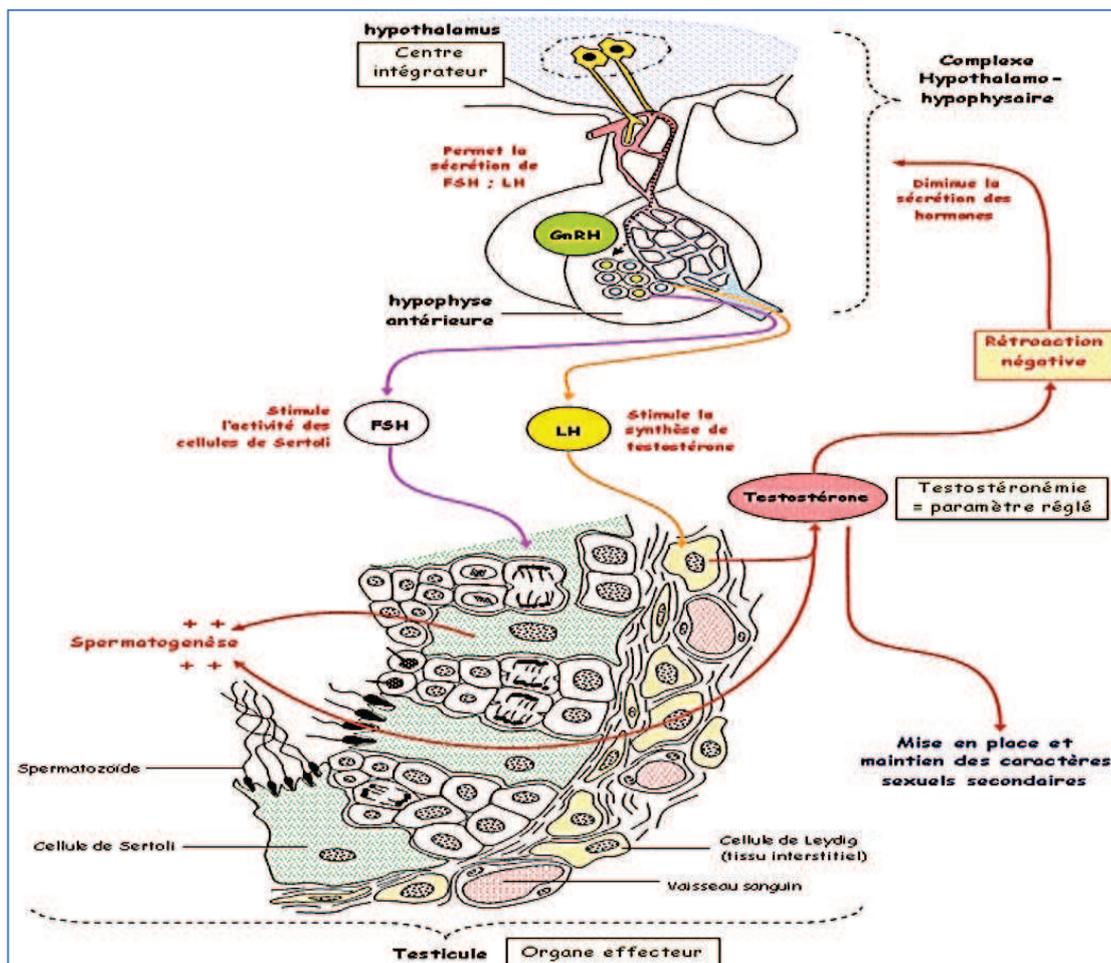


Figure 8: Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires. (Anonyme 4)

2. PESTICIDES

2.1. Définition

Le mot pesticide se compose du suffixe commun « **cide** » du latin *caedo, caedere* qui signifie tué, et du mot **pestis** qui désigne un animal nuisible, un fléau. Donc les pesticides sont des tueurs de parasites et ravageurs.

Le Codex Alimentaire (FAO/OMS, 1994), définit comme pesticide toute substance ou un mélange de substances destinées à prévenir, détruire ou contrôler tout parasite, y compris des vecteurs de maladies humains ou animaux, espèces indésirables de plantes ou d'animaux qui causent des dommages pendant ou Interférer la production, l'entreposage, le transport, la distribution et la transformation de denrées alimentaires, de bois, de produits agricoles, des aliments pour animaux ou qui peuvent être Administré aux animaux pour le contrôle des insectes, des arachnides ou d'autres organismes nuisibles dans ou sur leur corps. En effet le terme comprend les produits chimiques naturels ou de synthèse utilisés comme des régulateurs de croissance, des correcteurs de carence, des défoliants, des agents de dessiccation et des agents d'éclaircissage et des substances appliquées Aux cultures avant ou après la récolte pour éviter toute détérioration (**Anonyme 5**).

Leur immense succès dans les applications agricoles afin d'optimiser la productivité des denrées, a entraîné une étendue rapide de leur production et utilisation. Mais, vu leurs propriétés toxicologiques, ubiquité, persistance, présence et concentration dans la chaîne alimentaire, ils constituent un véritable danger, et sont actuellement considérés parmi les principaux polluants environnementaux, à l'origine de résidus toxiques dans l'air, le sol et l'eau. Leur utilisation massive dans les secteurs agricole, industriel et médical constitue donc une réelle menace mondiale.

2.2. Classification des pesticides

Les produits phytosanitaires, ou phytopharmaceutiques sont utilisés en milieu végétal, agricole le plus souvent. Les pesticides sont généralement classés selon leur fonction ; les trois principales sont les suivantes :

- les herbicides : contre les mauvaises herbes.
- les fongicides : contre les champignons et les moisissures.
- les insecticides : contre les insectes.

D'autres familles, moins fréquentes, peuvent également être répertoriées :

- les rodenticides : contre les rongeurs.
- les raticides : contre les rats.
- les germicides : contre la germination des graines.

- les molluscicides : contre les mollusques.
- les nématocides : contre les nématodes (ou vers ronds) (**Bonnefoy, 2012**)

Les pesticides sont parfois classés en fonction de leur substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires, autrement dit leur groupe chimique. Les principaux groupes sont : les organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes, triazines et les urées substituées. Compte tenu de la variété de pesticides disponibles sur le marché, il existe un très grand nombre de familles chimiques (**El Mrabet et al., 2008**)

2.3. Composition d'une formulation pesticide

2.3.1. Matière active : La matière active est la partie la plus importante d'un produit, car c'est le produit chimique toxique qui tue / lutte contre le ravageur visé. Tous les autres produits chimiques dans la formulation sont là pour l'aider. Il est très important d'identifier la (ou les) matière(s) active(s), afin d'être en mesure de remonter la filière et d'en savoir plus sur le pesticide.

2.3.2. Solvant : Un produit chimique utilisé pour dissoudre la ou les matières active (s) pour les rendre liquides. Peut être lui-même toxique et a sa propre classification de risque, par exemple, le toluène et le xylène

2.3.3. Surfactant : Abréviation d'agent actif de surface, appelée aussi humecteur, épandeur et collant réduit la tension de la surface, augmente l'émulsion, la diffusion et les propriétés humectantes des formulations liquides pour permettre au pesticide de coller aux parasites ou de s'étendre de manière plus uniforme sur les feuilles et les surfaces de la plante.

2.3.4. Adjuvant : Un produit chimique qui réduit le potentiel de nuisance à une récolte par un pesticide. Un produit chimique ajouté à un pesticide pour en accroître l'efficacité Il n'est actif qu'en présence des matières actives des pesticides (**Anonyme 6**)

2.4. Toxicité des pesticides

On distingue différents degrés de toxicité : la toxicité aigüe, la toxicité subaigüe et la toxicité chronique (ou indirecte) qui résulte de l'absorption répétée de petites doses de produits.

Suite aux nombreuses constatations faites sur le terrain après les épandages insouciantes de pesticides toxiques effectués ces 20 dernières années, les scientifiques ont mis en évidence trois types d'effets de ces produits sur la faune et l'homme, à savoir:

- Des effets cancérogènes: provoquant des tumeurs.
- Des effets mutagènes: entraînant des modifications du matériel génétique de la cellule.
- Des effets tératogènes: entraînant des malformations de l'embryon. (**El Azzouzi, 2013**).

2.5. Pyréthrinoïdes

Les pesticides de la famille des pyréthrinoïdes sont les analogues synthétiques des pyréthrines, qui sont des substances naturelles présentes dans les fleurs de chrysanthème (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Les pyréthrinoïdes synthétiques ont une structure et une action similaires aux pyréthrines naturelles mais, contrairement à elles, ils présentent l'avantage d'être stables à la lumière tout en gardant un pouvoir insecticide, une action plus sélective sur certaines espèces et une faible toxicité pour les mammifères (Anonyme 7)

2.5.1. Structure Classification et Toxicité

Les pyréthrinoïdes sont classés en deux catégories en fonction de la présence ou non d'un radical cyanide (-CN). Ainsi les pyréthrinoïdes de type I (par exemple perméthrine, tétraméthrine, alléthrine) sont dépourvus du radical cyanide alors que les pyréthrinoïdes de type II (par exemple cyperméthrine, esfenvalérate, deltaméthrine) portent le radical cyanide (Figure 9) (Kadala, 2011).

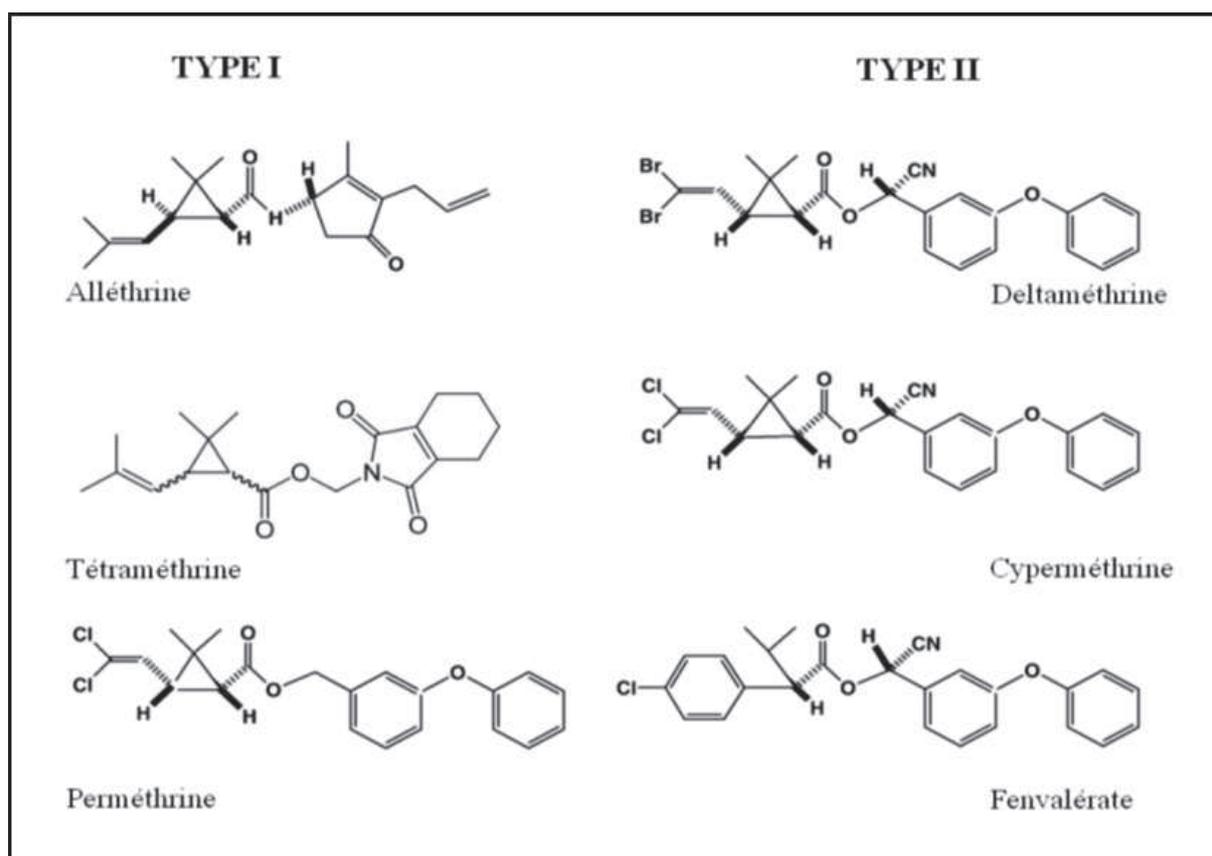


Figure 9: Insecticides de la classe des pyréthrinoïdes (Kadala, 2011)

2.6. Lambda-cyhalothrine (LCT)

La lambda-cyhalothrine est un insecticide pyréthriinoïde de type 2 enregistré par l'agence de la protection Environnemental (EPA) en 1988. La lambda-cyhalothrine est similaire à la pyréthroïde cyhalothrine (**Lambda-cyhalothrin, Technical Fact Sheet ; 2001**)

2.6.1. Structure chimique

La lambda-cyhalothrine est un mélange 1: 1 de deux stéréoisomères :

- (S)- α -cyano-3-phenoxybenzyl-(Z)-(1R,3R)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethyl cyclopropanecarboxylate.
- (R)- α -cyano-3-phenoxybenzyl-(Z) -(1S,3S)-3-(2-chloro-3, 3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate (**Figure 09**) (**Li-Ming et al., 2008**)

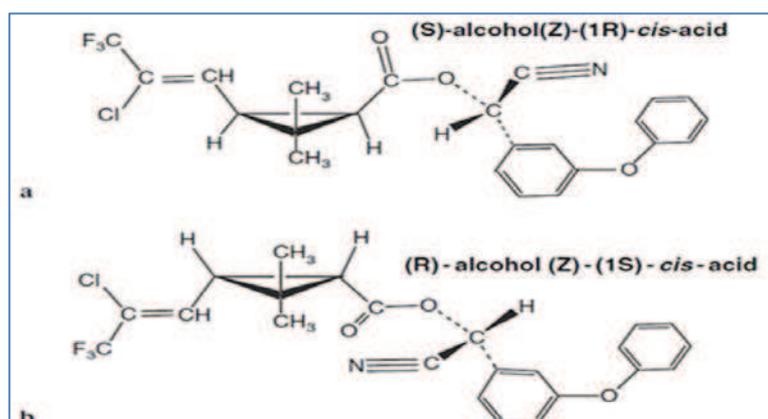


Figure 10: structure chimique des deux isomères de lambda cyalothrine
(Li-ming et al., 2008)

2.6.2. Caractéristiques physico-chimiques

La lambda-cyhalothrine est un solide incolore de poids moléculaire 449 g/mol. Les études montrent que la lambda-cyhalothrine n'est pas facilement volatilisable dans l'atmosphère à cause de sa faible pression de vapeur, mais elle se dissipe rapidement dans l'eau à cause de son adsorption sur les particules et les organismes aquatiques.

De plus, son coefficient de partage octanol-eau élevé (Kow) montre qu'elle a un potentiel de bioconcentration élevé. Elle est peu soluble dans l'eau (**Zoumenou et al., 2015**)

2.6.3. Pharmacocinétique

Très peu d'informations sont disponibles sur la pharmacocinétique de la lambda-cyhalothrine. Elle diffuse rapidement sur la surface corporelle. Lors d'ingestion orale, souvent accidentelle, leur métabolisation par les estérases sanguines et hépatiques est très rapide et limite leur toxicité chez les mammifères ou ils sont conjugués puis éliminés par les urines (**Durkin, 2010**).

2.6.4. Domaines d'utilisation

Les Pyréthrinoides de synthèse ont fait l'objet d'étude de plusieurs chercheurs dont certains ont pu découvrir qu'ils sont de puissants insecticides à large spectre, respectueux de l'environnement, compatible en raison de leur persistance modérée, de leur faible volatilité et leur mobilité aqueuse pauvre dans le sol.

LCT est utilisé pour contrôler une large gamme de ravageurs à savoir les lépidoptères, les hémiptères, les diptères, et les coléoptères Elle est un important outil utilisé en santé pour contrôler les cafards, les moustiques, et les mouches, qui peuvent agir comme des vecteurs de maladies. Cette molécule est particulièrement utilisée dans la culture cotonnière béninoise afin de lutter contre les ravageurs du coton.

2.6.5. Mode d'action

lambda-cyhalothrine agit comme un poison axonique sur le système nerveux périphérique et central de l'insecte. Elle agit en se liant à une protéine qui régule le voltage des canaux de sodium et les empêchent de se fermer normalement, ce qui résulte une stimulation continue du nerf et des tremblements chez les insectes empoisonnés.

En effet, le canal sodique voltage dépendant de la membrane des cellules nerveuses est le principal site d'action des Pyréthrinoides. De même, **Li-Ming et al. (2008)** ont montré que les pyréthrinoides, plus particulièrement la lambda-cyhalothrine inhibe la fermeture des canaux sodiques et donc perturbe le fonctionnement normal du système nerveux (**Figure 09**).

La lambda-cyhalothrine pénètre plus précisément la cuticule de l'insecte grâce à sa nature lipophile, et perturbe la conduction nerveuse dans les minutes qui suivent; ce qui conduit à la cessation de l'alimentation, la perte de contrôle musculaire, la paralysie et la mort éventuelle (**Zoumenou et al., 2015**).

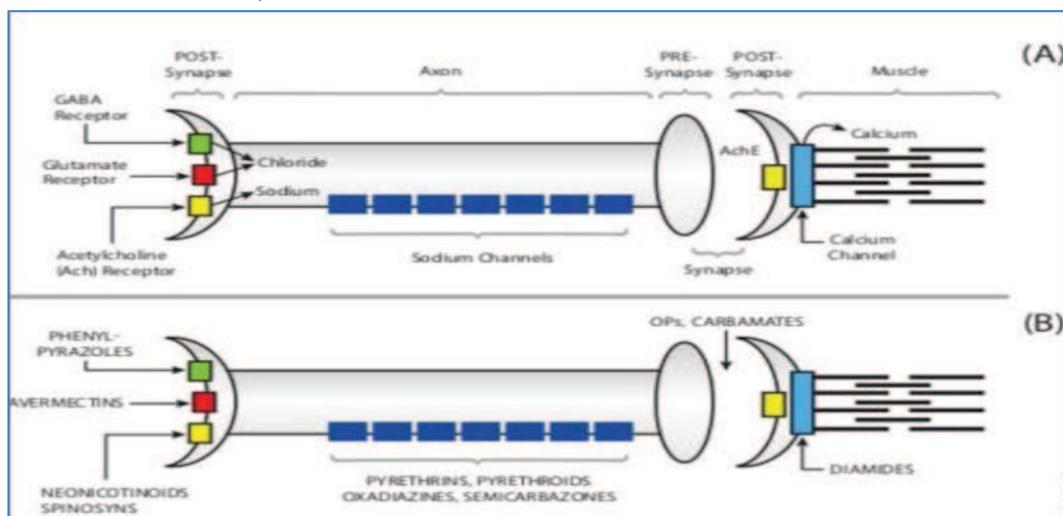


Figure 11: Mode d'action des pyréthrinoides sur les neurones. (**Hamadidi, Melek., 2016**)

3. Acide ascorbique

3.1. Structure

La vitamine C, fait partie des vitamines hydrosolubles, au même titre que les vitamines B, H et PP. l'acide ascorbique est un hexose de formule $C_6 H_8 O_6$, de poids moléculaire 176,13 comportant une fonction lactone, une fonction ène-diol et deux fonctions alcool, l'une primaire et l'autre secondaire. Comporte deux paires d'énantiomères, respectivement les acides D et L-ascorbique et D-et L-isoascorbique, l'acide D-ascorbique et L-isoascorbique n'existant pas à l'état naturel. L'acide D-isoascorbique quant à lui ne représente que 5% de l'activité antiscorbutique de la vitamine C. L'acide L-ascorbique est donc la forme active de la vitamine C. Très fragile, elle se dégrade très rapidement par auto oxydation au contact de l'air en formant l'acide déhydroascorbique, réaction réversible.

La vitamine se présente donc dans la nature sous forme réduite, l'acide ascorbique; et sous forme oxydée, l'acide déhydroascorbique, ce qui permet la libération d'électron et explique son intervention dans divers mécanismes d'oxydoréduction. Les deux formes sont en équilibre avec une forme intermédiaire, instable, désigné sous le nom de radical ascorbyle

3.2. Propriétés de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique se présente sous l'aspect d'une poudre blanche ou légèrement jaunâtre, cristalline, inodore, de saveur légèrement acide. Il est aisément soluble dans l'eau à une concentration de 33 g/100 ml, beaucoup moins dans l'alcool à 95% (3,3 g/100 ml), dans l'alcool absolu (2g/1 00 ml), l'acide acétique (0,2g/100ml). Il est insoluble dans l'éther et le chloroforme. Il est thermosensible, sensible aux ultraviolets et à l'oxygène, mais en revanche tout à fait stable à l'abri de la lumière, de l'humidité et de l'oxygène (Colombo, 2001).

3.3. Sources d'acide ascorbique

L'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble. L'homme est incapable de la synthétiser du fait d'une mutation du gène de la L-gluconolactone oxydase. En outre l'organisme ne dispose pas de capacité de stockage. Un apport minimal quotidien d'origine alimentaire est donc nécessaire. La majeure partie des apports (70 %) provient des fruits (agrumes essentiellement) et des légumes. Les pommes de terre, le pain et les céréales en apportent de 12 à 22 % (Sekli-Belaidi, 2011)

3.4. Métabolisme de l'acide ascorbique

Apporté par la nourriture chez l'homme, l'acide ascorbique est absorbé par les muqueuses digestives principalement au niveau de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, Iléon) et passe la barrière cellulaire par l'intermédiaire d'une protéine de transport hSVCT ou Human Sodium Vitamine Transporter, dans un mécanisme Sodium dépendant et saturable sur une prise

unique de 3 g. L'hSVCTI est retrouvée dans le foie, les reins, l'intestin grêle, le thymus et la prostate, et assure un transport spécifique de la vitamine C. La forme oxydée de la vitamine C fait elle appel à un transport facilité. Par ailleurs la vitamine C interviendrait directement sur la motricité intestinale, les segments ayant la plus grande concentration réagissant de façon plus importante (relaxation musculaire), action médiée par les récepteurs cholinergiques.

A fortes doses, le mécanisme actif est substitué par un mécanisme de diffusion passive. Ainsi pour des doses inférieures à 200 mg, 100% sont absorbées, et lors de la prise d'une quantité aussi élevée que 12g, seulement 16 % le sont. Par ailleurs, l'acide acétylsalicylique inhibe l'absorption de l'acide ascorbique.

Au niveau sanguin, la vitamine circule sous forme libre, influencée par la présence d'oxygène et de métaux qui vont permettre le passage tantôt à la forme réduite, tantôt à la forme oxydée. La concentration directe de l'acide ascorbique joue également un rôle sur la forme qu'il va adopter.

La vitamine va ensuite être distribuée aux différents tissus de l'organisme, par l'intermédiaire d'un système de transport actif, contre-gradient. Puis sera stockée et utilisée pour les différents mécanismes d'oxydoréduction dans lesquels elle intervient. A titre indicatif, nous retiendrons que les tissus les plus riches en vitamine C sont l'hypophyse, les glandes surrénales, les leucocytes; à l'inverse, la thyroïde, le plasma et la salive n'en stockent quasiment pas.

Le pool vitaminique C total de l'organisme est évalué à 1500 mg, .soit 20 mg/kg, et le pool seuil d'apparition des carences de 300 à 350 mg selon les auteurs. Ces valeurs ont pu être déterminées après étude cinétique à l'ascorbate marqué chez des sujets en régime forcé.

La majeure partie de la vitamine C est éliminée dans les urines sous forme inchangée ou sous forme d'acide oxalique, après transformation en L-Xylose puis L-Xylulose, en xylitol et enfin en Xylose 5-P, rejoignant ainsi la voie des Pentoses. Les proportions sont respectivement de l'ordre de 25% sous forme inchangée, 20% sous forme d'acide dicétogulonique et 45% en acide oxalique. On en retrouve des traces dans la sueur et par voie respiratoire sous forme de CO₂. Son administration à visée thérapeutique est la cause de sa présence dans les fèces; à dose optimale, le pourcentage d'élimination par cette voie est de l'ordre de 3%. (Colombo, 2001)

3.5. Rôles physiologiques de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique joue plusieurs rôles dans l'organisme, notamment grâce à ses propriétés antioxydantes et hydroxylantes. Il intervient dans la synthèse du collagène, de la tyrosine, de la carnitine, du cholestérol et des acides biliaires. Il participe également au

métabolisme du fer et a un rôle dans l'élimination des carcinogènes et des nitrosamines cancérigènes.

3.5.1. Rôle antioxydant

Le rôle antioxydant de l'acide ascorbique découle de ses propriétés réductrices. C'est le plus puissant des antioxydants hydrosolubles. Il est capable de réagir directement avec les espèces réactives oxygénées et azotées. Il réduit l'anion superoxyde sous forme acide ou basique :



Il limite la peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux peroxyde et les complexes oxoferryle :



Il intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques fer dépendantes en tant que transmetteur d'électrons. Il permet aussi de régénérer la vitamine E. Son pouvoir antioxydant l'implique dans les mécanismes de défense contre plusieurs pathologies. (Sekli-Belaidi, 2011)

3.5.2. Action sur les toxiques

L'acide ascorbique participe, de façon encore mal connue mais probablement toujours liée à sa fonction antioxydante, à la dégradation de certains toxiques et médicaments. En effet, au cours du cycle de synthèse à partir du glucose, la molécule menant à l'acide ascorbique, l'UDP-D-Glucuronate, est un donneur de glucuronosyl utilisé contre certains toxiques comme les benzopyrènes (mais également l'AZT et le phénobarbital). L'acide ascorbique a une action épurative vis à vis du tabac et en particulier de la nicotine, il diminue les taux de nicotine, mesurés par les valeurs d'excrétion urinaire en métabolites, et diminue les dégradations oxydoréductrices directement imputables au tabac. Enfin l'acide ascorbique agit comme un puissant chélateur des ions métalliques en particulier le cuivre, le plomb, le mercure, le cadmium et le strontium, pouvant avoir ainsi une utilité dans le saturnisme (Colombo, 2001)

3.6. Autres effets de l'acide ascorbique

- Activité antihémorragique.
- Amélioration de la cicatrisation cutanée.
- Réduit le taux de cholestérol et de triglycérides.
- Protège la vitamine E.
- Aide aux sevrages des drogues et diverses toxicomanies.
- Effet protecteur vis-à-vis de certains cancers (il existe de plus en plus de preuves de l'effet protecteur anticancéreux de la Vitamine C) (Anonyme 8)

4. vitamine E

4.1- Structure chimique

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, Cette dernière comprend 4 substances: l' α -tocophérol, qui est la vitamine E proprement dite, le β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol. La structure chimique des tocophérols se compose d'un cycle chromanol mono-, di-, ou tri-méthylé auquel se trouve rattachée une chaîne carbonée latérale (chaîne phytyle) saturée de 16 carbones. Les tocophérols diffèrent entre eux seulement par le nombre et l'arrangement des groupements méthyles autour du cycle benzène du noyau chromanol.

La structure chimique des tocotriénols se compose également d'un cycle chromanol mono-, di- ou tri- méthylé avec chaîne carbonée latérale, mais celle-ci contient 3 doubles liaisons en position 3', 7' et 11'. (Cuvilier *et al.*, 2003)

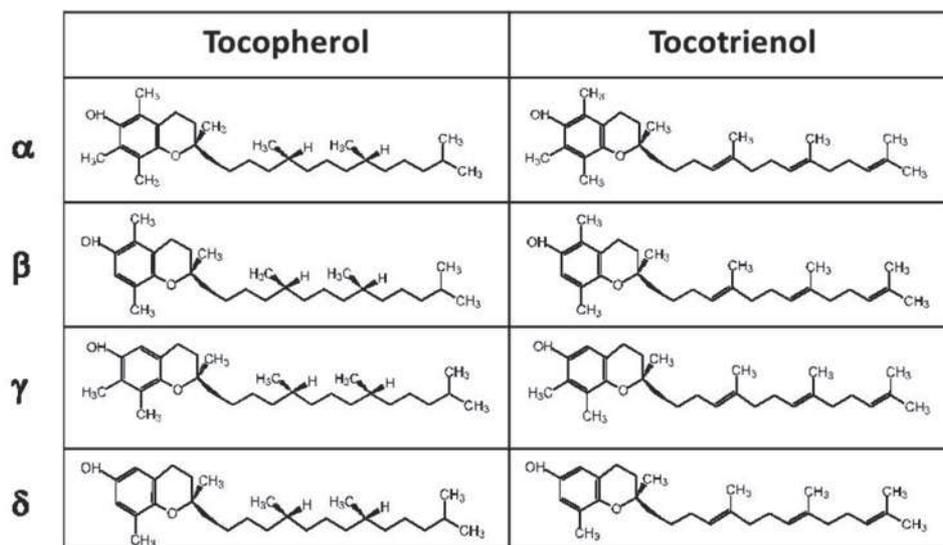


Figure 12: Structure chimique des 4 tocotriénols et les 4 tocopherols, (Abdala-Valencia *et al.*, 2013)

4.2. Principales sources de vitamine E

Dans notre alimentation, les céréales et les huiles constituent la source majeure de vitamine E. Les fruits et les légumes, bien que leurs teneurs en vitamine E soient faibles, contribuent pour environ 15 % aux apports en vitamine E (Landrier, 2011)

4.3. Biosynthèse

La biosynthèse de la vitamine E s'effectue dans les plantes, les algues et certaines plantes non photosynthétiques telles que les champignons mais pas chez les animaux. Il existe vraisemblablement 2 voies de synthèse conduisant à la formation de la vitamine E, la voie des tocotriénols et la voie des tocophérols (Cuvilier, 2003).

4.4. Métabolisme

Les tocophérols sont absorbés dans la partie médiane de l'intestin grêle, la moitié seulement des quantités apportées par l'alimentation étant réellement absorbées. L'absorption de la vitamine E, dans la lumière intestinale, nécessite la présence de graisses monoglycérides, acides gras libres pour la formation des micelles, de sels biliaires et d'enzymes pancréatiques (estérases) pour être incorporée dans les micelles.

Elle traverse la paroi intestinale et est ensuite transportée par les chylomicrons.

Dans le sang, la vitamine E est transférée des chylomicrons aux lipoprotéines circulantes. Les tocophérols sont transportés dans le sang par les lipoprotéines de haute densité (HDL) et de faible densité (LDL et VLDL). Chez un adulte en bonne santé à jeûn, la distribution de la vitamine E sur les lipoprotéines est de 15 % dans les VLDL, 45 % dans les LDL, 40 % dans les HDL. On trouve principalement de l' α -tocophérol et du γ -tocophérol.

Les taux de vitamine E plasmatiques sont proportionnels à la concentration lipidique. Ceci explique que les concentrations de vitamine E doivent être rapportées aux teneurs lipidiques pour dépister une carence éventuelle.

Après un passage dans le foie, elle est distribuée dans les tissus de manière ubiquitaire. Dans les cellules, elle est présente à forte concentration dans les membranes et les mitochondries. Dans les membranes, le tocophérol est en partie intégré à la surface de la cellule et en partie incrustée dans la bicouche lipidique.

La vitamine E a un « turnover* » très lent, l'organe le plus épargnant étant le cerveau. Elle n'est pas stockée, les tissus graisseux contenant la plus grosse partie de la vitamine E corporelle totale, on considère que c'est la vitamine E du tissu adipeux qui représente la zone de stockage. Le tissu adipeux et les glandes surrénales contiennent 10 fois plus de vitamine E que les autres tissus.

La vitamine E et ses dérivés sont éliminés par voie fécale dans la bile et un peu dans les urines. La peau est une voie d'excrétion importante pour la vitamine E, notamment par les glandes sébacées qui secrètent le film lipidique protecteur de la peau. (Martin *et al.*, 2001)

4.5. La fonction anti-oxydante de la vitamine E

La vitamine E exerce une activité anti-oxydante très importante. Elle piège les radicaux libres. Ceux-ci sont des produits toxiques de l'oxygénation cellulaire : ils sont formés à partir des acides gras polyinsaturés sous l'action de l'oxygène. Dans les aliments, la vitamine E protège les acides gras polyinsaturés. Dans l'organisme, cette protection s'exerce sur les membranes des cellules et sur les lipoprotéines. La vitamine E agit donc partout, que ce soit sur les cellules nerveuses, celles des parois artérielles, de la peau etc. Cette action se déroule

en synergie avec les autres substances antioxydantes : vitamines A et C, carotènes, sélénium etc (**Neyrat, 2008**).

Dans ce mécanisme de protection, la vitamine E (α -tocophérol) est oxydée sous une forme régénérable, la forme radicalaire chromane-6-oxyle α -tocophéryl, par les espèces moléculaires oxydées préalablement formées, par exemple les radicaux acylperoxy. Ce qui fait l'une des particularités importantes de la vitamine E, c'est la nature physiologiquement régénérable de l' α -tocophéryl.

Celui-ci entre en effet dans une chaîne de réactions dont l'organisme est équipé qui fait elle-même intervenir une autre vitamine, la vitamine C (ascorbate), qui, une fois oxydée par suite de la régénération de l' α -tocophéryl, est elle-même régénérée par le glutathion réduit et/ou l'acide dihydrolipoïque comme intermédiaire d'oxydo-réduction, et la glucose-6-phosphate-deshydrogénase comme pourvoyeur terminal d'éléments réducteurs (NADPH).

Dans son rôle régénérateur, la vitamine C pourrait être partiellement remplacée par certains anti-oxydants d'origine alimentaire capables de réduire l' α -tocophéryl (c'est le cas par exemple de composés polyphénoliques et non du bêta-carotène) (**Leger, 2000**).

4.6. Autres rôles de la vitamine E :

- Elle agit en synergie avec d'autres nutriments, tels que la vitamine C, le bêta-carotène et le sélénium.
- Elle protège en particulier les lipides constitutifs des membranes cellulaires, ainsi que les lipoprotéines LDL (les lipoprotéines sont les transporteurs du cholestérol dans le sang). A ce titre, elle participe à la prévention des maladies cardio-vasculaires.
- Elle contribue aussi à la prévention de l'athérosclérose (altération des artères), en empêchant les plaquettes sanguines de s'agglutiner, en exerçant une action anti-inflammatoire et en stimulant la production de substances vasodilatatrices.
- Elle pourrait participer à la prévention de la DMLA (dégénérescence maculaire liée à l'âge), de la cataracte et du déclin des facultés intellectuelles avec l'avancée en âge.
- Elle semble limiter la baisse des défenses immunitaires chez les personnes âgées.
- La vitamine E est utilisée comme conservateur - sous les numéros de code E 306 à E 309 - de certains aliments, pour les protéger de l'oxydation, et donc du rancissement.

(**Daine, 2016**)

- En parallèle de ces travaux sur les effets antioxydants, des études récentes ont montré que la vitamine E est capable de moduler l'expression de gènes via un certain nombre de voies de signalisation et de récepteurs nucléaires (**Landrier, 2011**)

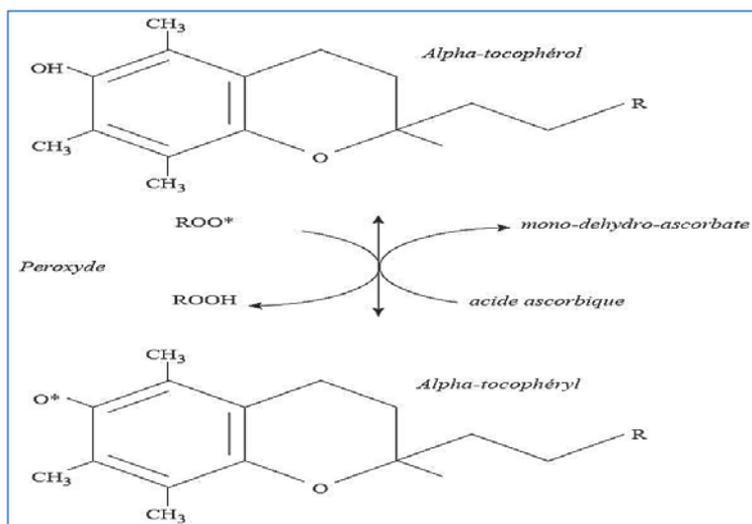


Figure 13 : Oxydation de l'alpha-tocophérol en alpha tophéryl et sa régénération par l'acide ascorbique (**Anonyme 9**)

La vitamine E exercerait aussi, mais à des doses thérapeutiques, très élevées, des effets protecteurs contre le cancer, la maladie d'Alzheimer, les manifestations allergiques ...etc. Mais pour le moment aucune étude n'a vraiment démontré d'effets positifs de grosses doses de vitamine E. Parce qu'elle protège les membranes de toutes les cellules, on attribue souvent à la vitamine E des propriétés qui se situent plutôt dans le registre de la magie, comme par exemple de retarder le vieillissement, d'effacer les rides (**Neyrat, 2008**)

4.7. Toxicité de la vitamine E

Des études sur des animaux de laboratoire montrent que la vitamine E présente une très faible toxicité tant aigue que chronique, lorsqu'elle est administrée oralement. Les symptômes de surdosage sont plutôt non spécifiques. Une certaine toxicité hémorragique existe néanmoins, mais elle ne se manifeste que lors de l'administration de doses importantes de vitamine E à des sujets carencés en vitamine K ou ingérant simultanément des anticoagulants (**Cuvilier, 2003**).

CHAPITRE II

Matériels et Méthode

L'objectif de l'étude est la recherche des effets toxiques de lambda cyhalothrine (LCT) un insecticide de la famille des pyréthriinoïdes de type II, et l'effet d'une supplémentation vitaminique (vitamines C et E) après exposition subaiguë sur l'organe de reproduction des lapins mâles (testicule). Pour notre étude on a utilisé des lapins mâles de souche locale fournis par l'animalerie de l'ITEV de Baba Ali ayant un poids moyen final de 3000 ± 500 g.

Le présent travail a été réalisé durant la période allant du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2017 ; en collaboration avec les laboratoires suivants :

- Laboratoire de zoologie de l'ENS Kouba où le sacrifice des animaux, prélèvement sanguin centrifugation et conservation du plasma à -20°C , prélèvement des organes, pesé, fixation et étude macroscopique ont été réalisés.
- Laboratoire d'anatomie-cytologie-pathologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, où l'étude histologique des testicules a été faite ainsi que la coloration à l'Hématoxyline éosine.
- Laboratoire d'anatomie pathologie CHRU Parnet, Alger, où les colorations Trichrome de Masson et P.A.S ont été faites.
- Laboratoire de biochimie du l'hôpital Ibn Ziri à bologhine (baïnam)

1- Matériels

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Modèle animal

Le modèle animal utilisé dans cette étude est le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) de sexe mâle (**Figure 14**). Les lapins mâles sont élevés dans des cages métalliques aux conditions de l'animalerie, à une température de 23 ± 2 °C, et un cycle lumière/obscurité de 12h. Ils reçoivent un régime alimentaire standard et équilibré et de l'eau de robinet pour une consommation à volonté.

1.1.2. Taxonomie du lapin

L'étude a donc porté sur 16 lapins mâles de souche locale algérienne. La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante : (**Grasse, 1949 ; Lebas et al., 1984**).

Règne : **Animale**

Embranchement : **Vertébrés**

Classe : **Mammifères**

Super ordre : **Glires**

Ordre : **Lagomorphes**

Famille : **Léporides (lièvre et lapin)**

Sous-famille : **Leporinae**

Genre : ***Oryctolagus***

Espèce : ***Oryctolagus cuniculus***



Figure 14 : lapin mâle *Oryctolagus cuniculus*

1.2. Matériel non biologique

Le produit testé dans cette étude est un insecticide de synthèse de la famille des pyréthriinoïdes : LCT, communément utilisé en agriculture pour le traitement phytosanitaire

des fruits et légumes. Ainsi que les vitamines C (acide ascorbique) et vitamine E (α tocophérol).

Nous avons utilisés une verrerie classique et du matériel pour l'étude histologique les cassettes, lames et lamelles ainsi qu'un appareillage et des réactifs chimiques du laboratoire d'anatomopathologie.

2. Méthode

2.1. Constitution des lots

Des lapins adultes en bonne santé (n =16) ont été répartis au hasard en quatre groupes de poids moyen homogène comme suit:

Groupe 1(n=4) : **Témoin** recevant de l'eau distillée

Groupe 2(n=4) : **Vitamines C+E (CE)** ayant reçues 200 mg / kg /P.C/ jour de vitamine C et de vitamine E

Groupe 3(n=4) : **Lambda cyhalothrine (LCT)** recevant une dose de 10 mg / kg /P.C / jour de LCT.

Groupe 4(n=4) : **Lambda cyhalothrine (10 mg / kg /P.C / jour) +vitamines C et E (200 mg / kg /P.C/ jour)**

Le pesticide et les vitamines ont été préparés dans de l'eau distillée.

2.2. Sacrifice et prélèvement de sang et des testicules

À la fin de l'expérience (21jours), les lapins ont été euthanasiés par décapitation cervicale et leurs organes ont été prélevés et pesés.

Les testicules étaient rapidement retirés et pesés puis fixés pour l'étude histopathologique. Nous avons réalisé un prélèvement sanguin et les échantillons de sang (~ 3 ml) ont été recueillis dans les tubes EDTA (**Figure 15**) via la veine carotide. Les échantillons de plasma ont été obtenus après centrifugation à 4000 tr / min pour 20min, et stocké à -20 ° C pour un dosage hormonal.

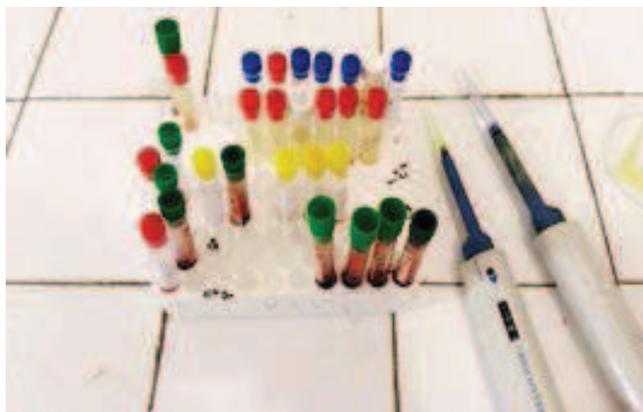


Figure 15: Echantillon sanguin (Original)

2.3. Etude des poids corporel et absolu et relatif des organes

Cette étude vise à :

- ✚ Evaluer le poids corporel final des lapins (à la fin de l'expérimentation).
- ✚ Peser les poids absolu des organes après prélèvement (dans nôtre travail on a pesé le poids de testicule + épидидyme)

La valeur finale est obtenue en calculant la moyenne entre le testicule droit et le testicule gauche.

- ✚ Calculer le poids relatif des organes en utilisant la formule suivante :

$$\text{Poids relatif de l'organe} = \frac{\text{poids absolu de l'organe}(g) \times 100}{\text{le poids corporel de lapin le jours de sacrifice}(g)}$$

2.4. Etude histologique

L'étude histologique implique la mise en œuvre de plusieurs étapes obligatoires afin de réaliser des coupes de l'échantillon étudié. Ces étapes sont : la fixation, la déshydratation et éclaircissement, l'imprégnation, l'inclusion dans de la paraffine, la confection des coupes, l'étalement, le déparaffinage et l'hydratation, la coloration topographique et histochimique, et le montage suivie de l'observation microscopique (**Martoja et Martoja, 1967 ; Gabe, 1968**).

2.4.1. Fixation

Après le sacrifice, les testicules sont délicatement prélevés, pesés et immergés dans un liquide fixateur le formol à 10%, cette étape est très importance car une mauvaise fixation aura pour conséquence la perte de l'organe. En effet la fixation vise à :

- maintenir les cellule dans un état aussi proche que possible de l'état vivant en s'opposant au processus d'autolyse, les protéger de l'attaque bactérienne et empêcher la destruction des constituants cellulaires sous l'action d'enzymes en les rendant insolubles.



Figure 16: Fixation dans du formol à 10% (Original)

2.4.2. Etude macroscopique

Après une semaine de fixation les testicules sont récupérés et coupés transversalement en petites pièces, placées dans des cassettes d'inclusion étiquetées puis remis dans le fixateur.



Figure 17: Macroscopie (Original)

2.4.3. Déshydratation et éclaircissement

Les organes fixés et lavés doivent être imprégnés par la paraffine. Comme la paraffine n'est pas miscible dans l'eau, les organes doivent être déshydratés progressivement par un passage dans une batterie de bains d'alcool à degrés croissant (70°, 90°, 100°) pendant deux heures chacun. La déshydratation a pour but de substituer l'eau contenue dans les cellules par de l'alcool. Après la déshydratation les pièces sont transférées dans des bains de xylène pour l'éclaircissement. L'éclaircissement se fait dans trois bains de xylène, la durée de chaque bain est de deux heures.

2.4.4. Imprégnation

L'imprégnation est nécessaire pour la réalisation des coupes. Elle se fait à chaud dans trois bains successifs de paraffine pure pendant deux heures pour chaque bain.

La déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation sont réalisés avec un appareil de circulation de type Leica (Figure 18).

2.4.5. Inclusion

L'inclusion permet d'enrober l'échantillon dans le milieu d'inclusion de façon à pouvoir confectionner un bloc et le couper. L'inclusion est réalisé grâce à un appareil d'enrobage de type Leica au laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Cet appareil contient de la paraffine fondue à 60°C (Figure 19).



Figure 18: Automate de déshydratation (**Original**)



Figure 19: Automate de confection des blocs de paraffine (**Original**)

Après 24 heures de séjour dans l'appareil de circulation, les cassettes sont récupérées. La paraffine chaude est versée dans des moules spécifiques puis les pièces de testicule sont placés. Les moules sont ensuite placés sur la plaque refroidissante de l'appareil, une fois solidifiés les blocs sont facilement démoulés et peuvent être conservés sans dommage.

2.4.6. Confection des coupes et étalement

Les coupes sont effectuées par à un microtome de type Leica (Figure 20). Cet appareil comporte un porte-cassette et un porte-rasoir où des lames minces jetables sont placées. Des coupes de $2\mu\text{m}$ d'épaisseur sont réalisées et sont récupérées sous forme de ruban à l'aide d'un pinceau et directement plongées dans un bain marée chauffé à 41°C ; avec des lames en verre on récupère le ruban de façon à ce qu'il soit bien étalé sur la lame.



Figure 20: Microtome de type Leica

2.4.7. Coloration

Les colorations réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour pouvoir reconnaître les différents éléments du tissu.

Etapes d'une coloration histologique : une coloration histologique nécessite les étapes suivantes

- ~ Déparaffinage (toluène / xylène -éthanol)
- ~ Hydratation
- ~ Coloration proprement dite (routine ou spéciale)
- ~ Déshydratation (éthanol)
- ~ Éclaircissement (toluène / xylène)

La paraffine est insoluble dans l'eau et l'alcool, mais soluble dans les hydrocarbures tels que le toluène ou le xylène.

Les colorations choisies dans la présente étude sont :

2.4.8. Hématoxyline éosine (coloration topographique : de routine)

Réalisé avec un automate de coloration de type Leica ST 4040(Figure 21).



Figure 21: Automate de coloration de type Leica ST 4040

Les différents bains utilisés sont répartis comme suit :

- 06 Xylène
- 02 Eau de robinet
- 01 Hématoxyline de Harris
- 01 Eau de robinet
- 02 Eau de robinet
- 01 Carbonate de Lithium
- 01 Eau de robinet
- 01 Eosine

- 01 Eau de robinet
- 01 Eau de robinet
- 02 Alcool Absolu
- 04 Xylène

Un chariot de lames contenant l'organe passe dans les différents bacs dans l'ordre de dessus et reste 30 seconde dans chacun avant de passer à l'autre. Les solutions d'hématoxyline contiennent de l'hématéine et un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer). Ce mordant est responsable de la coloration. L'éosine colore les cytoplasmes en rose et les fibres dans une gamme de roses plus ou moins vifs selon l'acidophilie des différents éléments.

- Collagènerose pâle
- Musclerose foncé
- Cytoplasme acidophilerouge
- Basophilespourpre
- Noyauxbleu
- Érythrocytesrouge cerise
- Chromatine devrait être bleue pourpre et bien distincte.
- Nucléoles devraient être violacés.

2.4.9. Coloration Trichrome de Masson

La coloration est réalisée manuellement suivant le protocole ci-après (**Tableau I**). A l'aide d'un chariot, les lames sont immergées dans les différents bains pendant le temps nécessaire pour chacun. Cette coloration met en évidence les fibres de collagènes. Cette méthode est très populaire.

La plupart des recettes colore en rouge la kératine et les fibres musculaires, en bleu ou vert le collagène et l'os, en rouge-clair ou rose les cytoplasmes, et en noir les noyaux de cellules.

Tableau I : étapes de coloration trichrome de Masson

Etapes		Temps
1. Déparaffinage et hydratation	Xylène	15min
	Alcool 100%	3min
	Alcool 90%	3min
	Alcool 70%	3min
2. Coloration Trichrome de Masson	Lavage avec H2O	1min
	Hématoxyline de Groat	2min
	Rincer à l'eau courante	5min
	Fuschineponceau	30sec
	Rincer avec H2O	
	Solution phosphomolybdiquephosphotungstique	5min
	Vert lumière	3à4min
	Rincer à l'eau acétifiée	
	Faire passer dans de l'alcool à 100%	
	Xylène	3min

Résultats

- ✚ Noyaux, chromatine et nucléole.....bleu foncé à noir
- ✚ Cytoplasme.....rouge
- ✚ Globules rouges.....rouge
- ✚ Collagène.....Bleu

2.4.10 Coloration histochimique PAS (Periodic Acid Shiff)

La coloration est réalisée manuellement suivant le protocole ci-après. A l'aide d'un chariot, les lames sont immergées dans les différents bains pendant le temps nécessaire pour chacun.

- Xylène30mn
- Séchage dans l'étuve.....3mn
- Alcool à 100%10mn
- Eau courante.....1mn
- Acide périodique.....10mn
- Rinçage

Réactif de schiff.....	20mn
Rinçage	
Séchage dans l'étuve.....	10mn

La coloration PAS met en évidence les mucines (épithélium à bordures en brosse), les membranes basales, le glycogène ainsi que les filaments et spores mycéliens. La réaction à l'acide périodique de Schiff correspond à l'oxydation de certains polysaccharides par l'acide périodique, révélée par une coloration rouge. Le PAS est couramment associé à la diastase (PAS diastase) qui digère le glycogène mais laisse persister la coloration rosée des mucines intra ou extracellulaires.

2.5. montage des lames

Après chaque coloration à la sortie du solvant, les lames sont mises à l'étuve à 60°C pour le séchage. Après que les lames soient totalement séchées, une goutte de résine de montage (Eukitt) est déposée sur la coupe et une lamelle est appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. La préparation microscopique est alors prête pour l'observation.

2.6. Etude histomorphométrique

Pour estimer l'état physiologique des cellules spermatogène et les lésions tissulaires causés par LCT nous avons réalisé différentes mesures à l'aide d'un logiciel d'analyse et de traitement d'image (Axio vision Rel 4.8) développées par la société Carl Zeiss. Afin d'obtenir des mesures en μm concernant:

- la surface des tubes séminifères.
- le diamètre de la lumière des tubes séminifères.
- L'épaisseur de l'épithélium séminifère et enfin le rapport épithélium /lumière a été calculé pour chaque lot.

2.7. Etude statistique

Les données obtenues, à savoir le poids final des animaux, poids moyen et relatif des testicules et les mesures morphométriques ont été analysées statistiquement par le test d'ANOVA à un facteur au moyen du logiciel STATISTICA Version 7, en comparant le lot témoin à chacun des lots traités à LCT, vit(C+E) et LCT + VIT(C+E). Les résultats obtenus sont représentés graphiquement et sous forme de moyenne \pm l'écart type.

CHAPITRE III

Résultats et discussion

Résultats

Dans le but d'étudier l'effet amélioratif de la vitamine C et E sur la reprotoxicité induite par les pesticides, nous avons administré à des lapins mâles un insecticide lambda cyhalothrine (10 mg/kg/ p.c.) et la vitamine C et E (200 mg/kg/poids de l'animal). L'effet du traitement a été observé sur les points suivants:

- Poids final après 21 jours de traitement par LCT et les vitamines C et E.
- Variation du poids absolu et relatif des testicules
- Examen histologique et morphométrique des testicules.

1. Etude du poids corporel et du poids absolus et relatifs des testicules+épididymes des lapins

1.1. Effet du traitement sur le poids final

Les résultats de l'évolution pondérale des animaux traités et témoins sont rapportés dans le **tableau II (annexe)** et la **figure 22**.

- D'après la **figure 22**, il apparaît que le poids corporel moyen final des lapins a diminué progressivement chez les groupes CE ($2.72\text{kg} \pm 0.28\text{g}$) et LCT ($2.88\text{kg} + 0.53\text{g}$) par rapport au groupe témoin (control) ($3.14\text{kg} \pm 0.02\text{g}$) et a augmenté remarquablement chez le groupe traité par LCT+Vit(C+E) ($3.17\text{kg} \pm 0.34\text{g}$) par rapport au groupe traité avec la LCT.

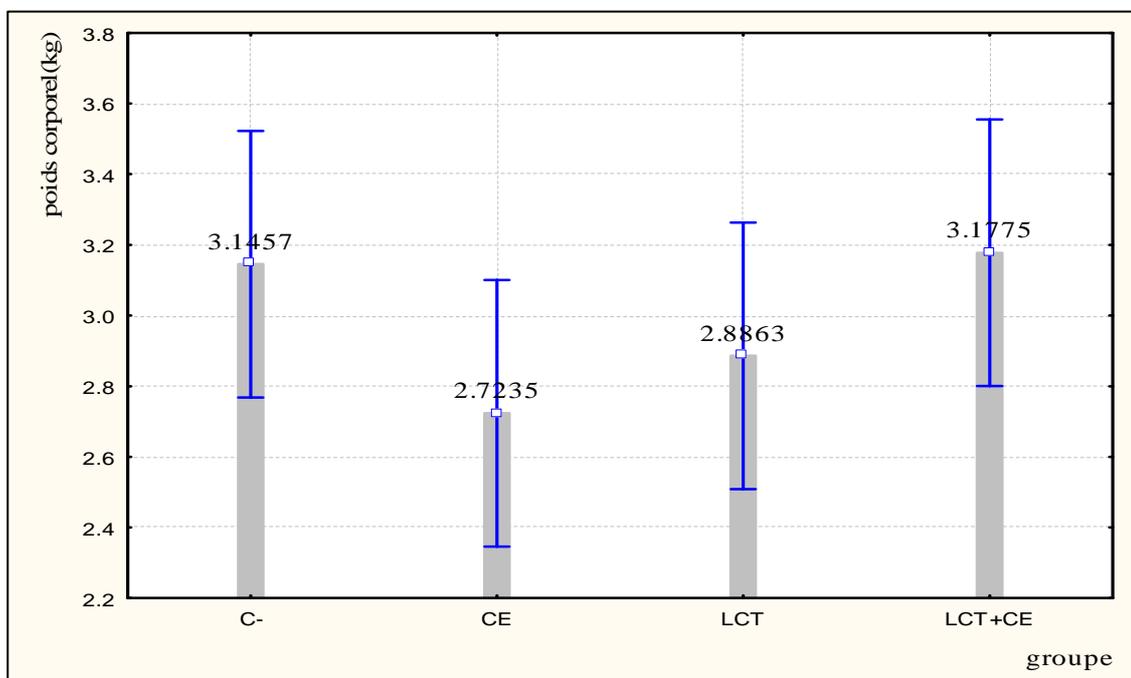


Figure 22 : Evolution pondérale des lapins à la fin de l'expérimentation (témoin, Vit CE, traités LTC et LTC + Vit CE).

C- : Groupe témoin. **CE** : Groupe traité par les vitamines C et E. **LCT** : Groupe traité par la LCT.

LCT+CE : Groupe Co-administré par la LCT et les vitamines C et E.

1.2. Effet du traitement sur le poids absolu des testicules + épидидymes

- Les résultats représentés dans le **Tableau II** (annexe) et la **Figure 23** montrent que le poids absolu des organes (testicules et épидидymes) diminue significativement chez les groupes traités par la LCT ($4.32\text{g} \pm 0.16\text{g}$) et par CE ($4.59\text{g} \pm 0.41\text{g}$) comparés au groupe témoin ($5.32\text{g} \pm 0.03\text{g}$), par contre dans le groupe LCT+Vit(C+E) nous remarquons une augmentation hautement significative des poids ($5.98\text{g} \pm 0.23\text{g}$) par rapport aux groupes traités LCT et CE.

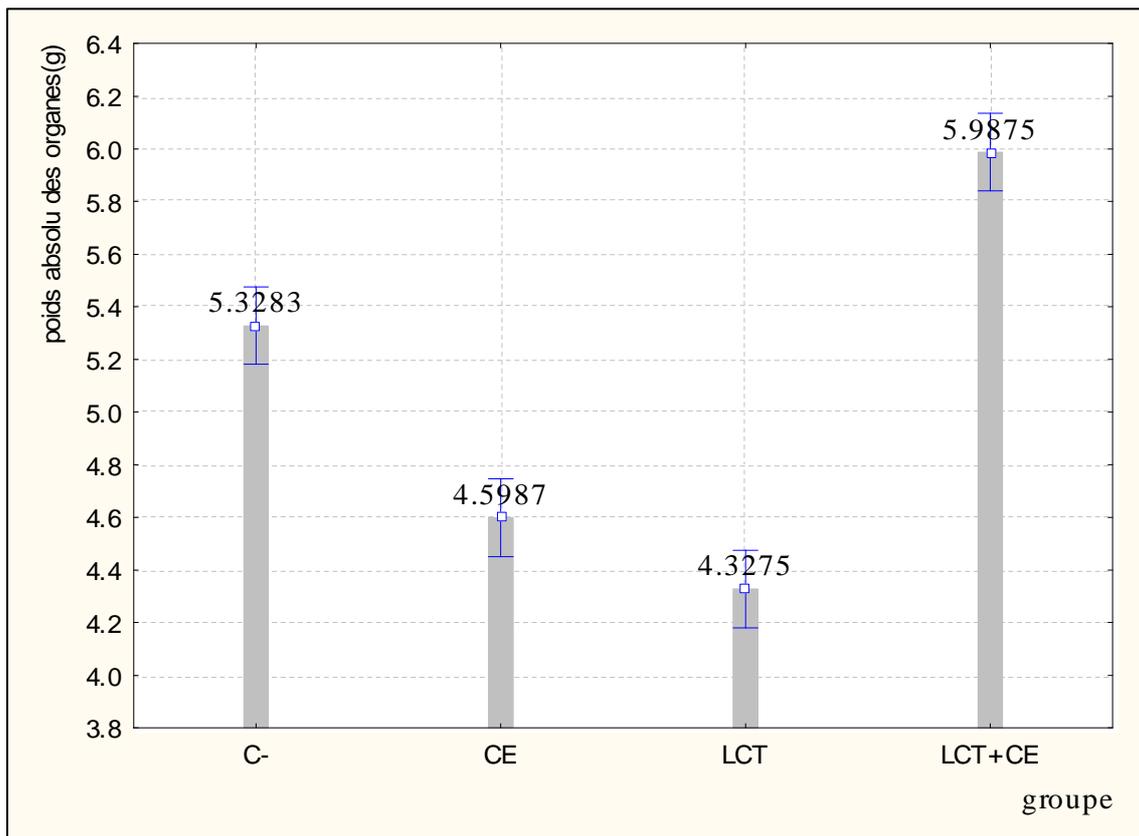


Figure 23 : Evolution du poids absolu des organes (testicules + épидидymes) chez les différents groupes de lapins (témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E).

C- : Groupe témoin. **CE** : Groupe traité par les vitamines C et E. **LCT** : Groupe traité par la LCT. **LCT+CE** : Groupe Co-administré par la LCT et les vitamines C et E.

1.3. Effet du traitement sur le poids relatif des testicules + épидидymes

Le poids relatif est calculé pour évaluer l'évolution pondérale de l'organe par rapport à l'organisme.

• Les résultats représentés dans le **Tableau II** (annexe) et la **Figure 24** montrent que le poids relatif du testicule+épididyme a diminué de façon significative chez le groupe traité avec CE ($0.17g \pm 0.02g$) et aussi chez le groupe traité par la LCT ($0.15g \pm 0.02g$) par rapport au témoin ($0.16g \pm 0.0003g$) et montrent une augmentation significative chez le groupe Co-administré par LCT+Vit(C+E) ($0.19g \pm 0.02g$) par rapport au groupe traité par la LCT.

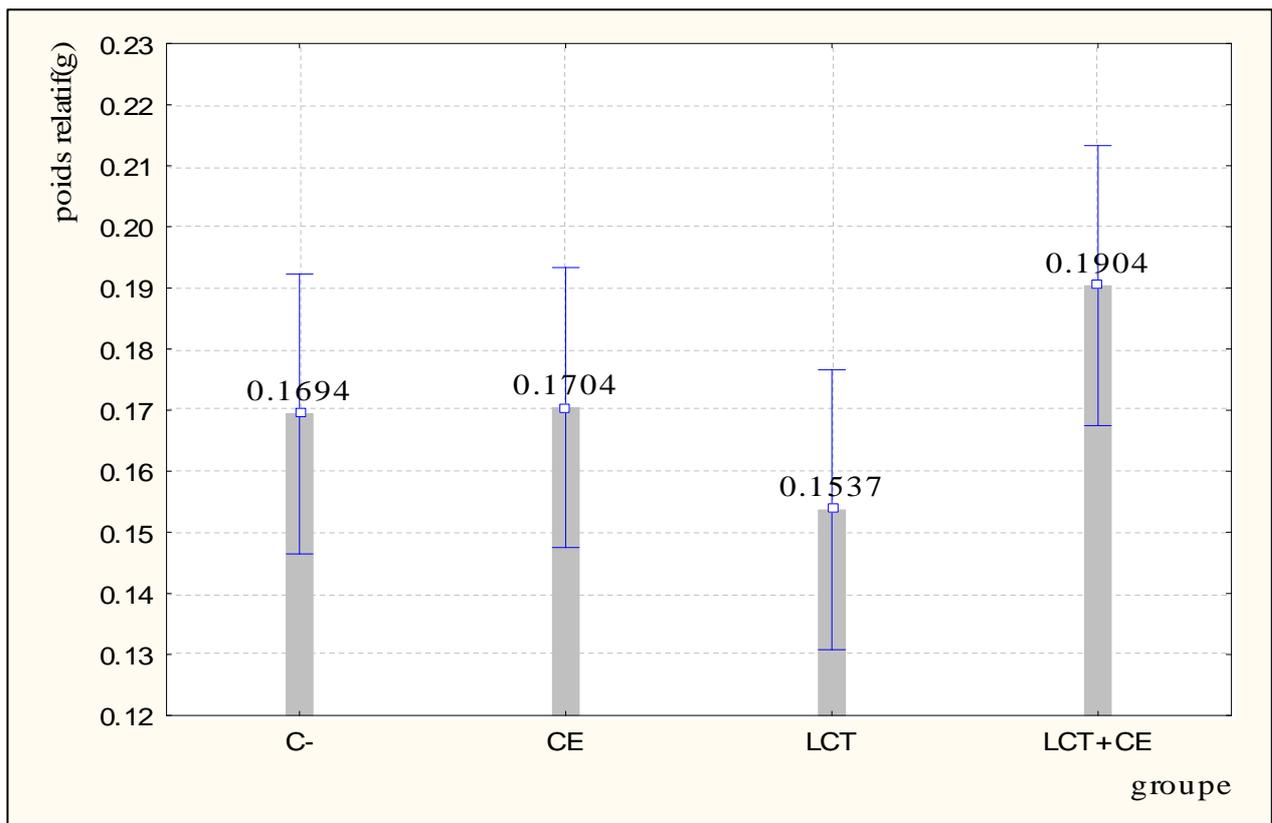


Figure 24 : Evolution du poids relatif des organes (testicules + épидидymes) chez les différents groupes de lapins (témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E).

C- : Groupe témoin. **CE** : Groupe traité par les vitamines C et E. **LCT** : Groupe traité par la LCT. **LCT+CE** : Groupe Co-administré par la LCT et les vitamines C et E.

1.2. Effet du traitement sur le poids absolu et relatif des testicules + épидидymes

Nous avons suivi l'évolution du poids absolu (PA) et relatif (PR) des testicules+épididyme chez les lapins témoins et traités par LCT et co-administrés par les vitamines C et E.

La **Figure 25** montre que le poids relatif ne présente pas de différence significative entre les différents groupes de lapins, et le poids absolu change d'un groupe à un autre. Cela veut dire que le poids des organes (testicules+épididyme) évolue avec le poids corporel.

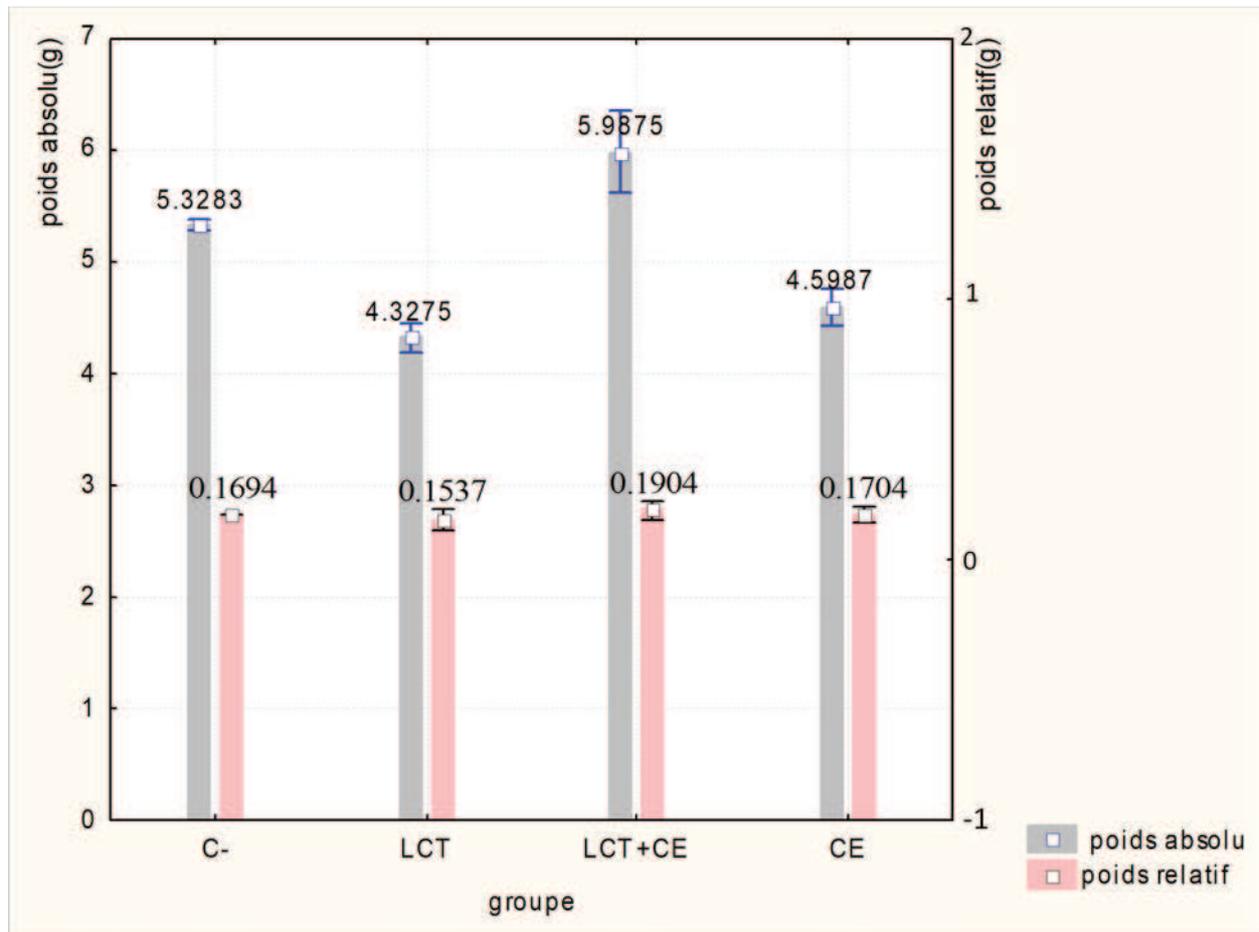


Figure 25: Variation du poids absolu et relatif des testicules droit et gauche chez les lapins témoin et traités par LCT et traité par LCT + vitamine C et E à J21.

C- : Groupe témoin. **CE** : Groupe traité par les vitamines C et E. **LCT** : Groupe traité par la LCT. **LCT+CE** : Groupe Co-administré par la LCT et les vitamines C et E.

2. Résultats de l'étude histologique des testicules

Pour mettre en évidence les différentes structures et constituants du parenchyme testiculaire, nous avons réalisé deux colorations topographiques (hématoxyline éosine et trichrome de Masson) et une coloration histochimique (PAS).

~ **L'hématoxyline éosine (HE)**: c'est une coloration standard utilisée en histologie. Dans notre travail nous l'avons utilisé pour mettre en évidence les cellules résidentes ou infiltrant le testicule.

À un faible grossissement elle permet de visualiser la forme des tubes séminifères, les lumières des tubes séminifères et le positionnement des cellules de Leydig.

Au fort grossissement nous arrivons à voir les différents stades de la spermatogénèse jusqu'à l'arrivée des spermatozoïdes dans la lumière.

~ **Le trichrome de Masson**: fait intervenir trois colorations successives : Une coloration des noyaux par l'hémalum de Mayer, une coloration du cytoplasme par un mélange précis de fuchsine acide et de rouge ponceau et une coloration du collagène par le vert lumière. En plus des observations faites avec la coloration HE, la coloration avec trichrome de Masson nous permet de distinguer la lame basale des tubes séminifères et les délimitations cytoplasmiques des cellules.

~ **PAS(Acide périodique de Schiff)**: c'est une coloration utilisée en histologie pour mettre en évidence les polysaccharides (types mucopolysaccharides) présents dans certains tissus conjonctifs ainsi que dans le mucus, mais malheureusement cette coloration nous a pas donner de résultats exploitables suite à une erreur lors du protocole de coloration.

2.1. Histologie du testicule témoin (Coloration HE)

L'observation des coupes histologique des testicules des lapins témoins (**Planche 1**) au faible (Gr X 10) (A) et au fort grossissement (Gr X 40) (B) révèle la présence d'une architecture normal. Les tube séminifères sont de forme plus ou mois arrondie entourés d'une fine membrane basale, comportent un épithélium germinatif (ligne germinale) épais qui montre les différents stades de la spermatogénèse et une lumière (canal central) étroite riche en flagelle (**Planche 1**).

Les différents plans de coupes des tubes séminifères montrent une structure pelotonnés bordés par un épithélium stratifié constitué de deux types de cellules, des cellules germinales à différents stades de la spermatogénèse et la spermiogénèse, et des cellules non germinales : les cellules de Sertoli.

Dans les espaces interstitiels situés entre les tubes, on trouve des cellules endocrines, les cellules de Leydig isolées ou regroupées en petits amas dans le tissu de soutien.

2.2. Histologie du testicule témoin (Coloration Trichrome de Masson)

Le testicule du témoin (**planche 2**) :

- Au faible grossissement (Gr X 10) (A) présente la forme normale des tubes séminifères: lame basale, tissu interstitiel, des amas de cellules de Leydig, la lumière du tube séminifère.
- Au fort grossissement (Gr X 40) (B) nous apercevons les noyaux des cellules de sertoli avec une forme triangulaire, un épithélium stratifié comprenant les cellules de la lignée germinale en division qui représentent les phases de la spermatogenèse, la lumière du tube séminifère qui est occupée par la masse de spermatozoïdes matures et la lame basale colorée en bleu qui entoure chaque tube séminifère.

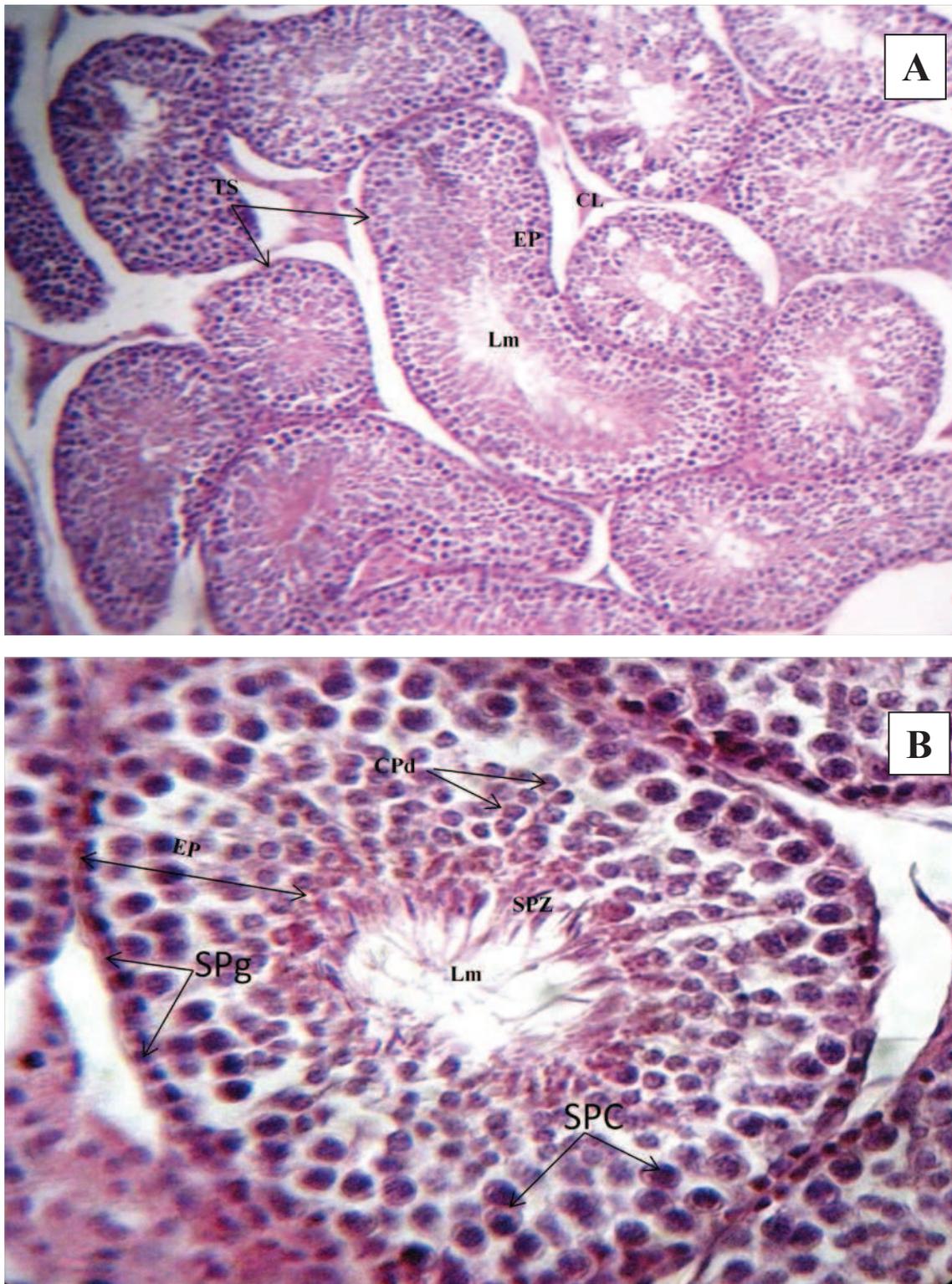


Planche 1: Histologie du parenchyme testiculaire des lapins **témoins** coloration **HE**

A : Gr X 10 **B :** Gr X 40.

TS : Tubes Séminifères, **CL :** Cellules de Leydig, **EP:** Epithélium Séminifère, **Lm:** Lumière du tube séminifère, **SPZ:** Spermatozoïdes, **SPC:** Spermatocytes, **SPd :** Spermatides, **SPg:** Spermatogonies.

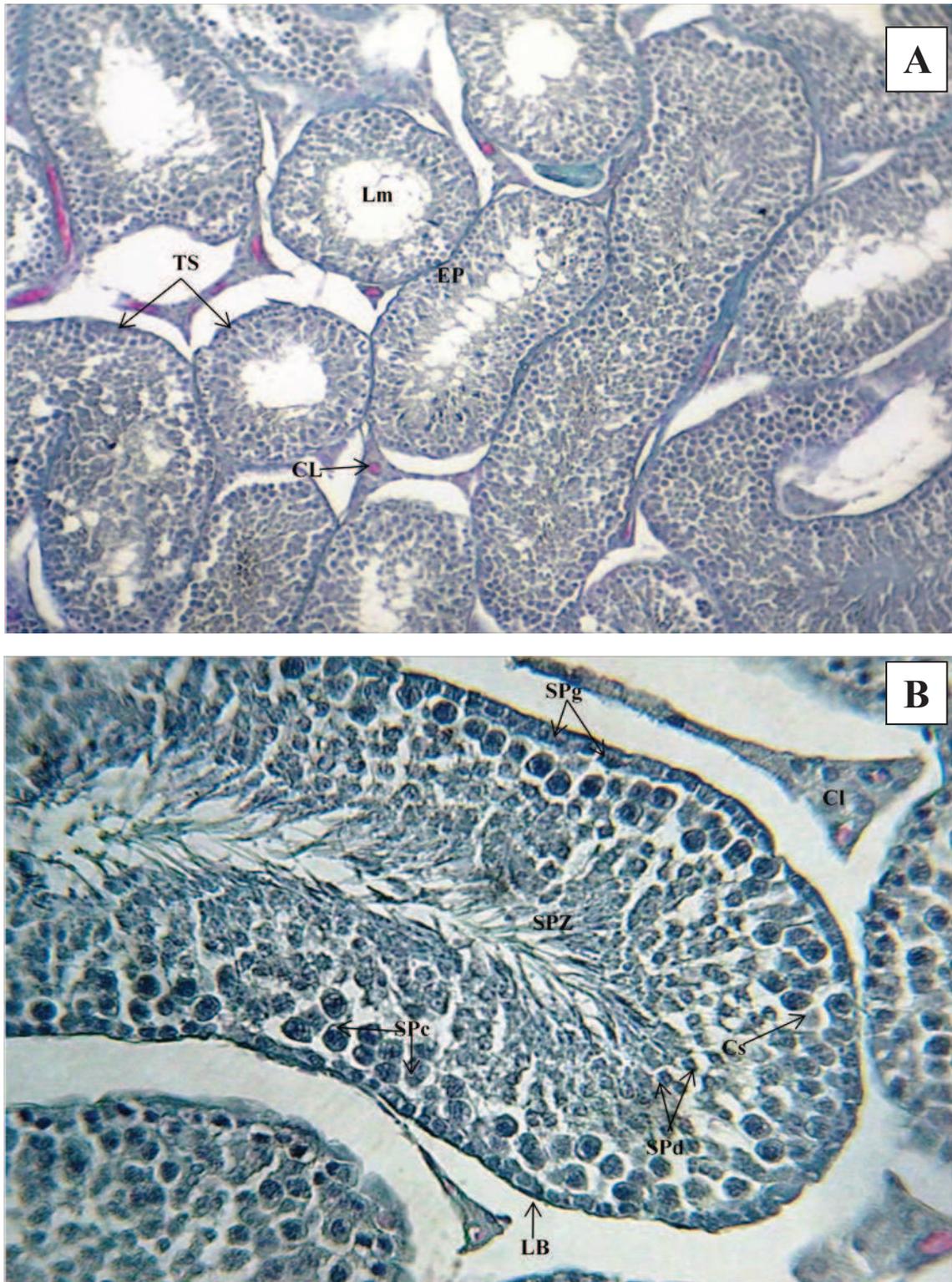


Planche 2: Histologie du parenchyme testiculaire des lapins témoins coloration Trichrome de Masson

A : Gr X 10 B : Gr X 40.

TS : Tubes Séminifères, CL : Cellules de Leydig, EP: Epithélium Séminifère, Cs : Cellule de Sertoli, Lm: Lumière du tube séminifère, SPZ: Spermatozoïdes, SPC: Spermatocytes, SPd : Spermatides, SPg: Spermatogonies, LB : Lame Basale.

2.3. Histologie du testicule traité par les vitamines C et E (coloration HE)

Chez les individus traités par les doses de 200mg de vitamines C et E (**Planche 3**), nous constatons qu'aucune modification n'est remarquée, la coupe représente les mêmes aspects du témoin:

- Avec un faible grossissement (Gr X10) (A) nous observons les tubes séminifères qui sont de forme plus ou moins arrondie, entre eux nous trouvons un tissu interstitiel qui comprend les cellules endocrines de Leydig

Les tubes séminifères comportent une lumière ou sont déversés les spermatozoïdes.

- Le fort grossissement (Gr X40) (B) nous permet de voir un épithélium germinatif (ligne germinale) épais qui montre les différents stades de la spermatogenèse et une lumière (canal central) étroite riche en flagelle.

L'épithélium séminifère est stratifié, il constitue deux types de cellules, des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse et de spermiogénèse, et des cellules non germinales : les cellules de Sertoli.

2.4 Histologie du testicule traité par les vitamines C et E (coloration Trichrome de Masson)

En plus des observations faites par la coloration HE chez les lapins traités avec les vitamines C et E la coloration trichrome de Masson (**Planche 4**) nous montre la même structure qui sont les mêmes que celles observées chez les lapins témoins :

- Au faible grossissement (Gr X10) (A) nous observons les différentes formes de tubes séminifères dus aux différents plans de coupes (des tubes ronds, des tubes pelotonnés, des tubes contournés...etc.) un épithélium séminifère épais et une lumière au centre des tubes séminifères.

- Au fort grossissement (Gr X40) (B) toutes les cellules du parenchyme testiculaire sont observables, les noyaux des cellules de Sertoli, tous les stades de la spermatogénèse en allant des spermatogonies de la lame basale jusqu'au centre de la lumière où nous trouvons les spermatozoïdes avec leurs flagelles qui sont orientés vers le centre de la lumière.

La coloration avec le Trichrome de Masson nous permet d'observer la lame basale de chaque tube et les différentes cellules de la lignée germinale avec plus de détails.

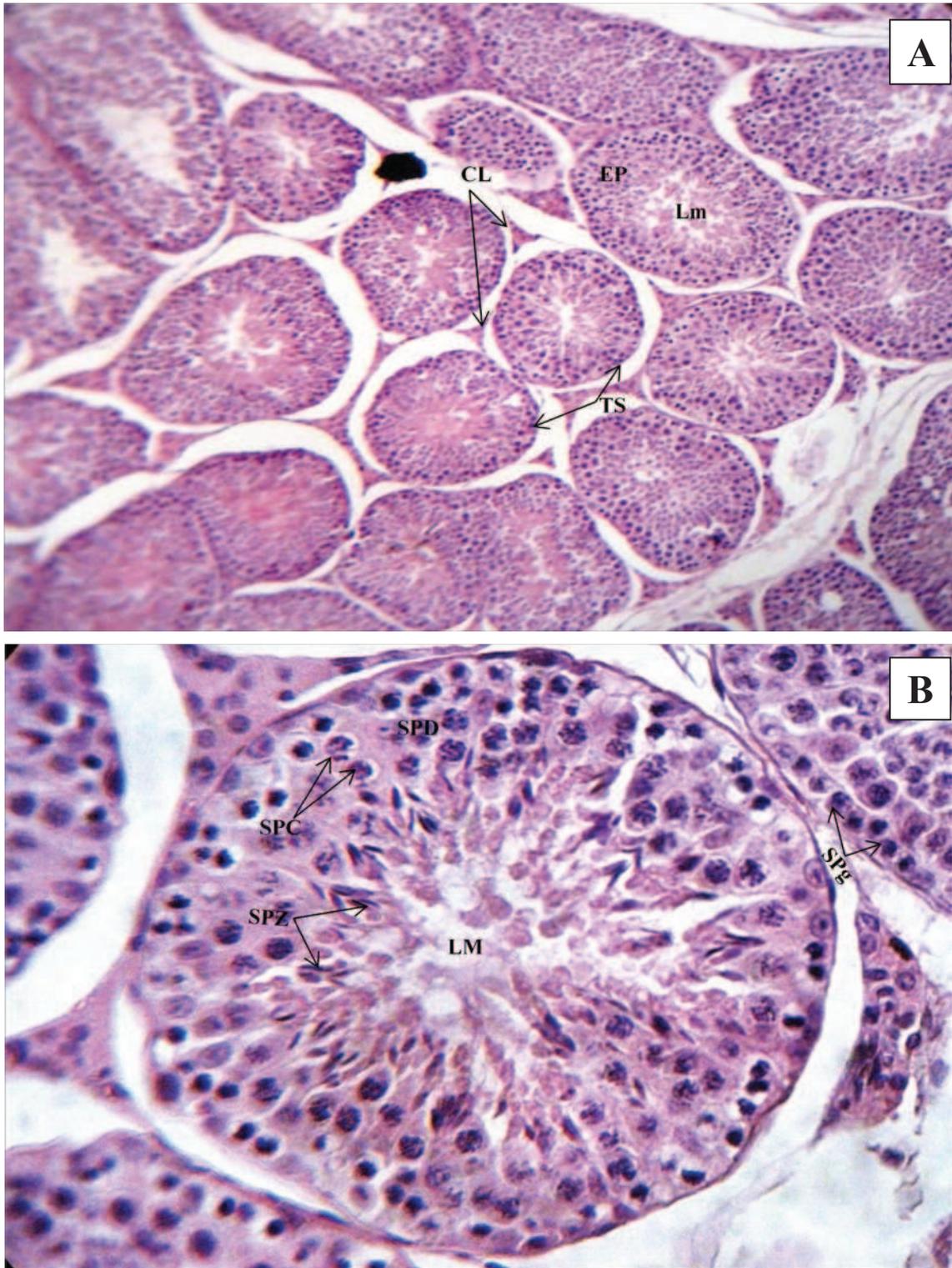


Planche 3 : Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par la vit C et la vit E, coloration HE,

A : Gr X 10, B : Gr X 40

TS : Tubes Séminifères, CL : Cellules de Leydig, EP: Epithélium Séminifère, Cs : Cellule de Sertoli, Lm: Lumière du tube séminifère, SPZ: Spermatozoïdes, SPC: Spermatocytes, SPd : Spermatides, SPg: Spermatogonies, LB : Lame Basale.

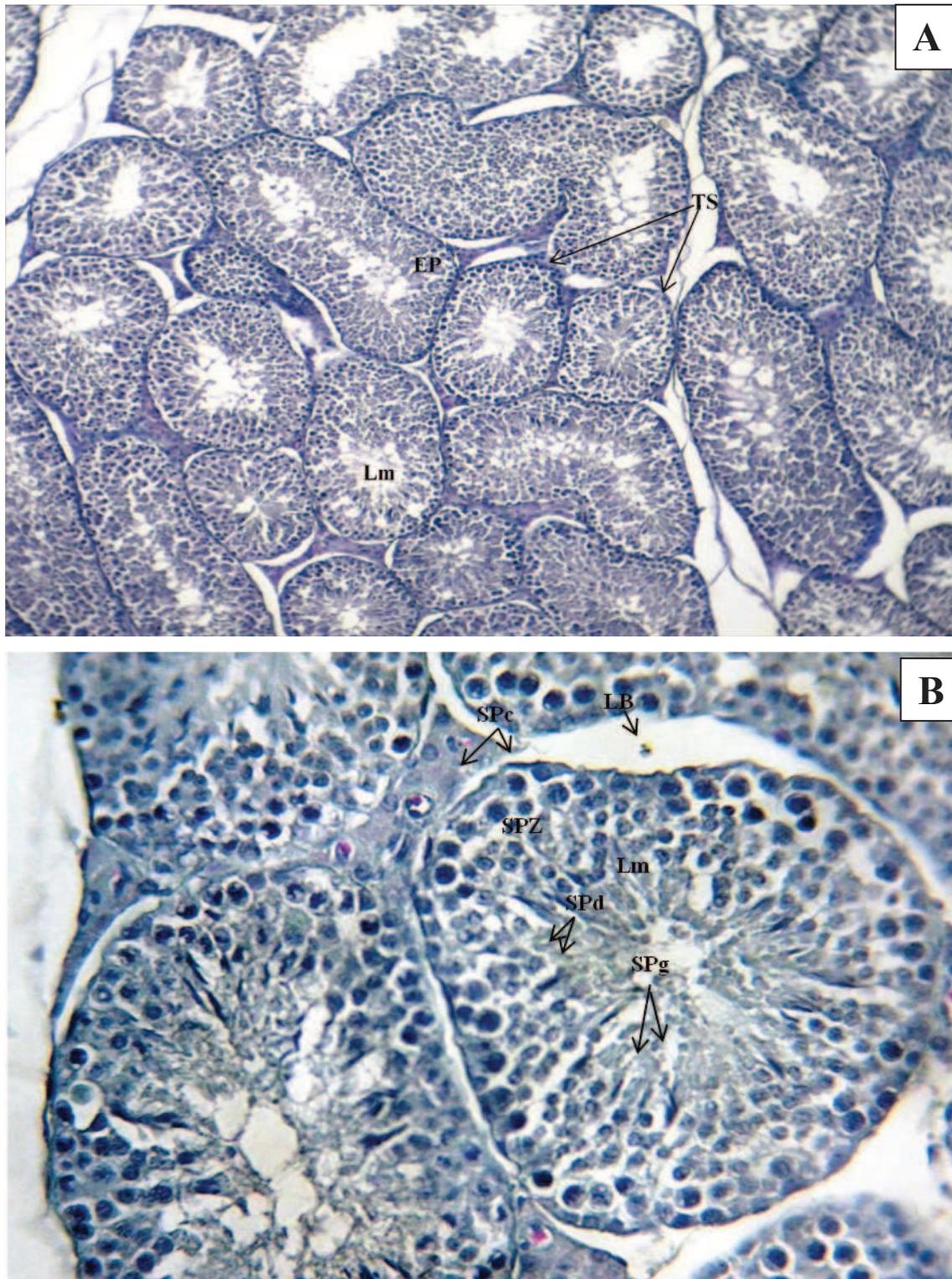


Planche 4 : Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par la vit C et la vit E, coloration **Trichrome de Masson**

A : Gr X 10 B : Gr X 40.

TS : Tubes Séminifères, **CL** : Cellules de Leydig, **EP**: Epithélium Séminifère, **Cs** : Cellule de Sertoli, **Lm**: Lumière du tube séminifère, **SPZ**: Spermatozoïdes, **SPC**: Spermatocytes, **SPd** : Spermatides, **SPg**: Spermatogonies, **LB** : Lame Basale.

2.5. Histologie du testicule traité par la lambda cyhalothrine (LCT) (coloration HE)

L'observation des coupes histologiques des testicules des lapins traités par la lambda cyhalothrine (LCT) (**Planche 1**) au faible (Gr X 10) et au fort grossissement nous permettra de voir les atteintes histologiques causées par l'exposition des lapins à un traitement subaiguë de LCT pendant 21 jours.

- Avec un faible grossissement (GrX10) (A), nous constatons que la lumière des tubes séminifères s'est élargie, l'épithélium séminifère a rétréci et l'espace entre les tubes séminifères est plus important, nous notons aussi la présence d'œdèmes (congestions vasculaires).

- Avec un fort grossissement (GrX40) (B) nous observons la présence des lésions, une dégénérescence de l'épithélium séminifère et des débris cellulaires au niveau des lumières. En ce qui concerne les spermatozoïdes, ils sont absents dans les lumières des tubes séminifères suite à la destruction de toute la lignée germinale.

2.6. Histologie du testicule traité par la lambda cyhalothrine (LCT) (coloration Trichrome de Masson)

Avec la coloration trichrome de Masson des coupes de testicules de lapin traité par la LCT (**Planche 6**) nous observons :

- A un faible grossissement (GrX10) (A) toutes les structures observées avec la coloration HE mais nous notons ici la présence de la lame basale colorée en bleu et le tissu interstitiel rétréci et la réduction du nombre de cellule de Leydig.

- Avec un fort grossissement (GrX40) (B) nous observons la présence des corps apoptotiques au niveau de l'épithélium suite à une activation de l'apoptose qui engendre une rétraction cytoplasmique.

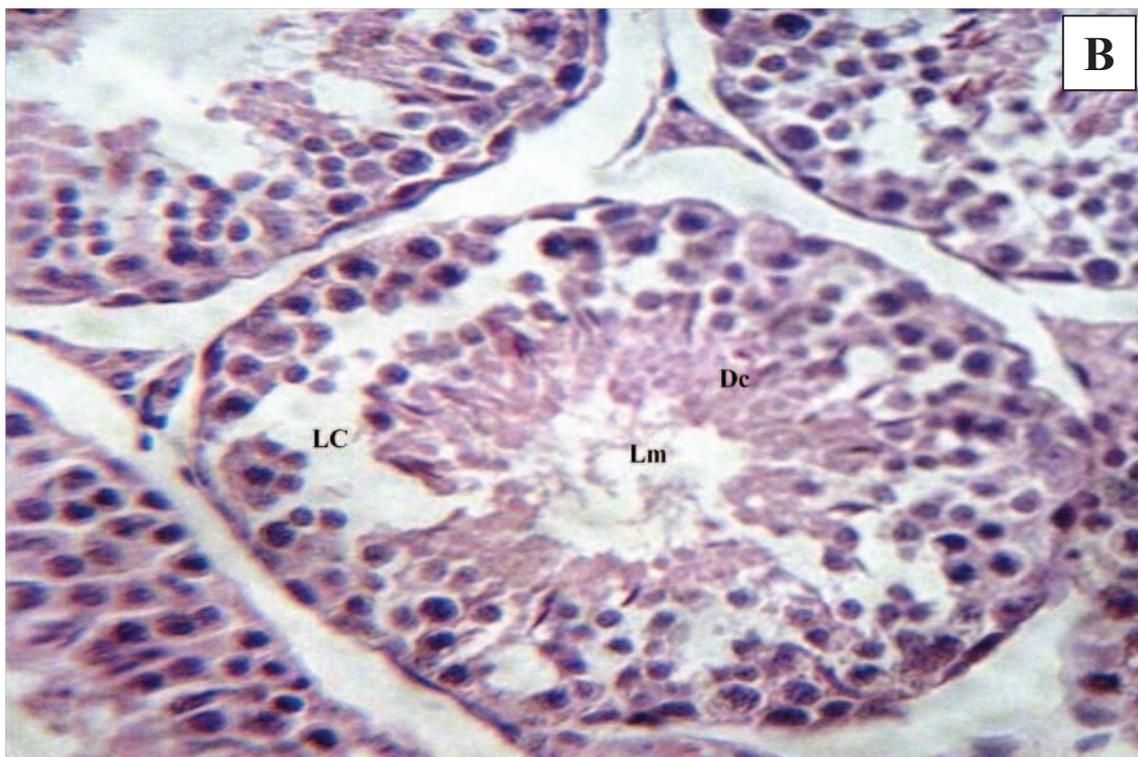
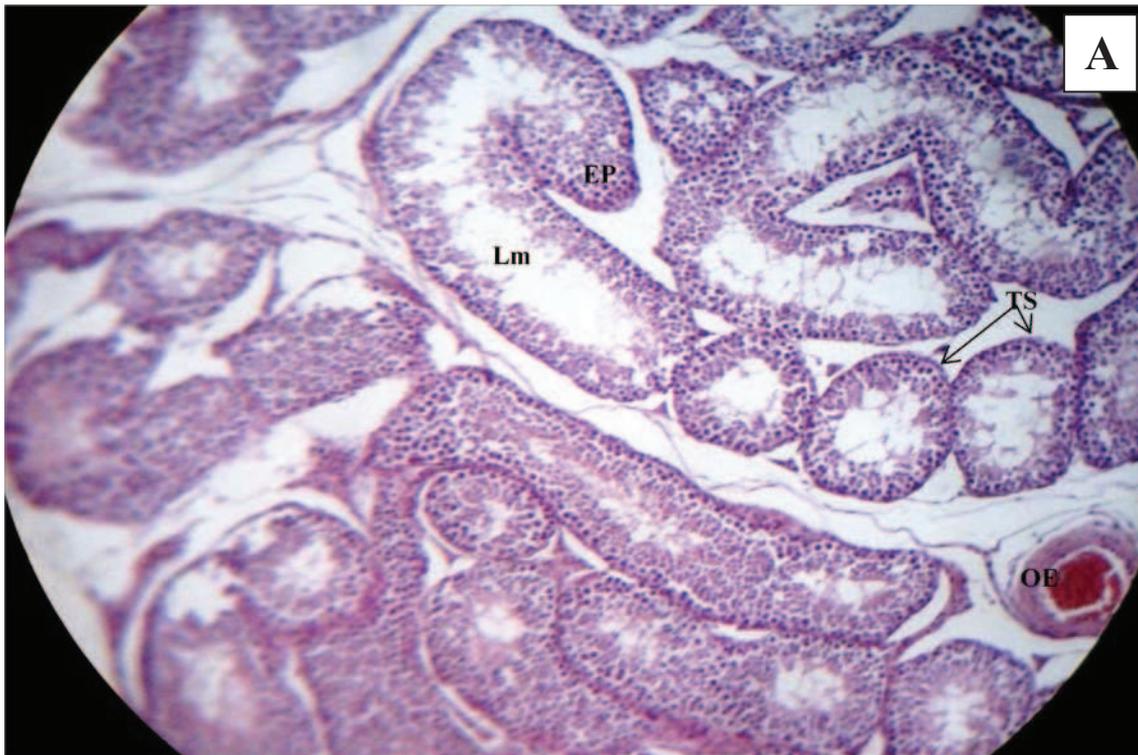


Planche 5 : Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par LCT, coloration HE

A : Gr X 10 B : Gr X 40.

TS : Tubes Séminifères, EP: Epithélium Séminifère, Lm: Lumière du tube séminifère, OE : œdème, LC : Lacunes, Dc : Débris Cellulaires.

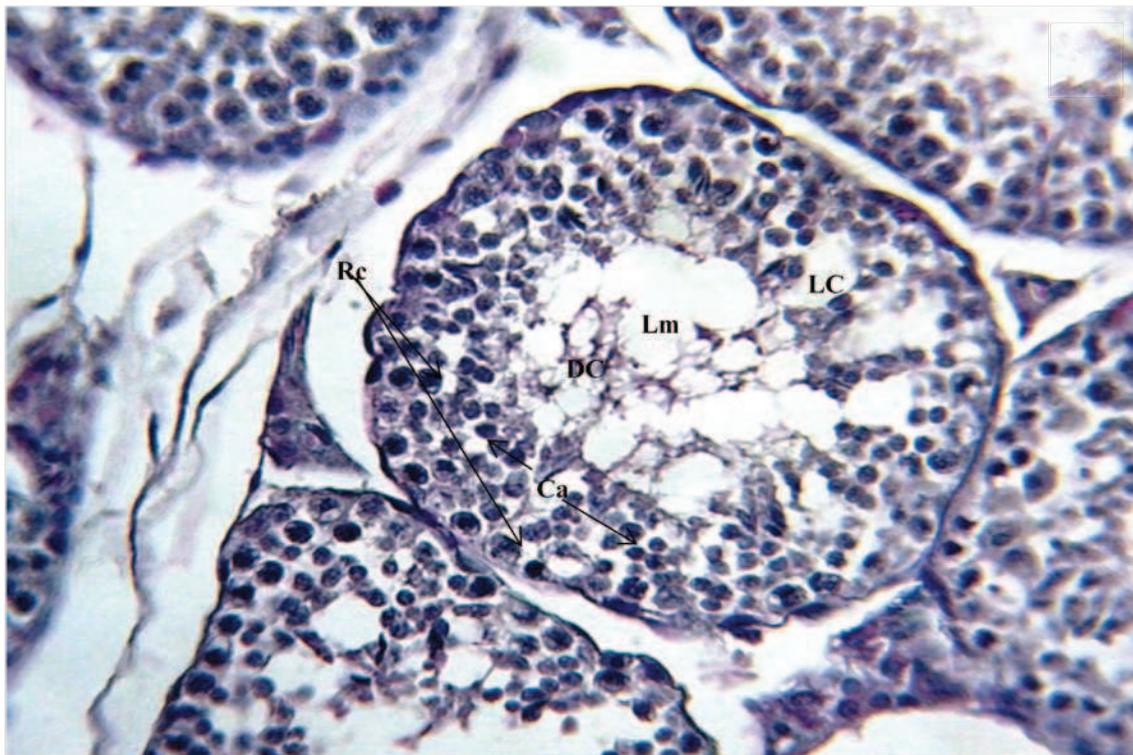
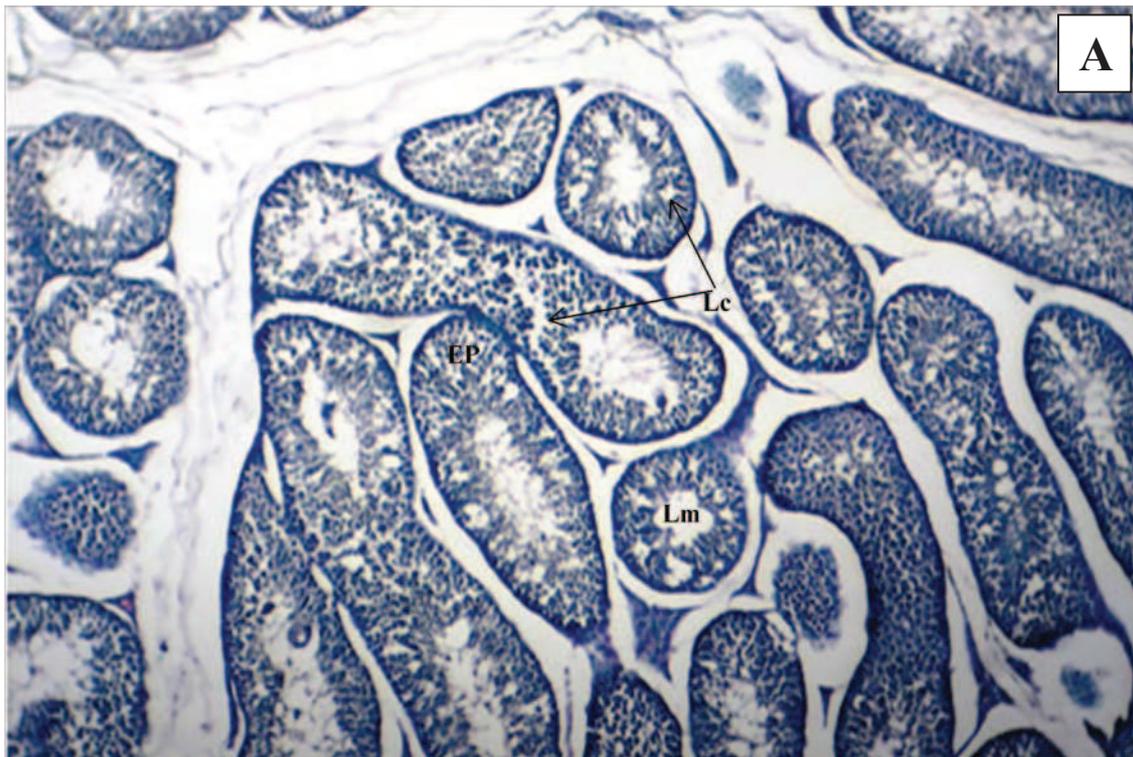


Planche 6 : Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par la LCT, coloration trichrome de Masson,

A : Gr X 10, B : Gr X 40

EP: Epithélium Séminifère, Lm: Lumière du tube séminifère, LC : Lacunes, Dc : Débris Cellulaires, RC : Rétractions cytoplasmiques, Ca : corps apoptotiques.

2.7. Histologie du testicule traité par la lambda cyhalothrine (LCT) et co-administré par la vit C et la vit E (coloration HE)

L'examen microscopique de la **planche 7** montre que la co-administration de la vit C et la vit E avec le traitement par la LCT pendant 21 jours, diminue les effets causés par ce dernier.

- A un faible grossissement (GrX10) (A) nous observons que la coupe présente un parenchyme testiculaire semblable à celui observé dans la coupe du groupe témoin: des tubes séminifères avec un épithélium séminifère épais et une lumière au centre des tubes et l'espace intertubaire reprend sa taille initiale.

- Au fort grossissement (GrX40) (B) nous avons constaté que l'épithélium séminifère commence à se régénérer et les lacunes causées par les lésions aussi disparaissent en parallèle. Nous observons aussi un nombre plus important de spermatozoïdes dans les lumières des tubes.

2.8. Histologie du testicule traité par la lambda cyhalothrine (LCT) et co-administré par la vit C et la vit E (coloration Trichrome de Masson)

Dans la **planche 8** qui représente le parenchyme testiculaire de lapin traité avec la LCT et co-administré avec les vit C et E colorée avec le trichrome de Masson, nous observons:

- Au faible grossissement (GrX10) (A) des tubes séminifères qui présente une même structure que les testicules des lapins témoins.

- Au fort grossissement (GrX40) (B) les tubes séminifères qui reprennent leur aspects histologique normales : l'épithélium séminifère est bien stratifié, il comprend tout les stade de la spermatogénèse, nous observons même des spermatozoïdes dans la lumière du tube. les lacunes ont disparues mais nous notons la présence de quelques rétractions cytoplasmiques donc le parenchyme testiculaire n'a pas régénéré complètement mais nous nous permettant de dire que des améliorations remarquables suite à la co-administration des vitamines C et E sont bien présentes, comparativement au coupes des testicules traités par la LCT.

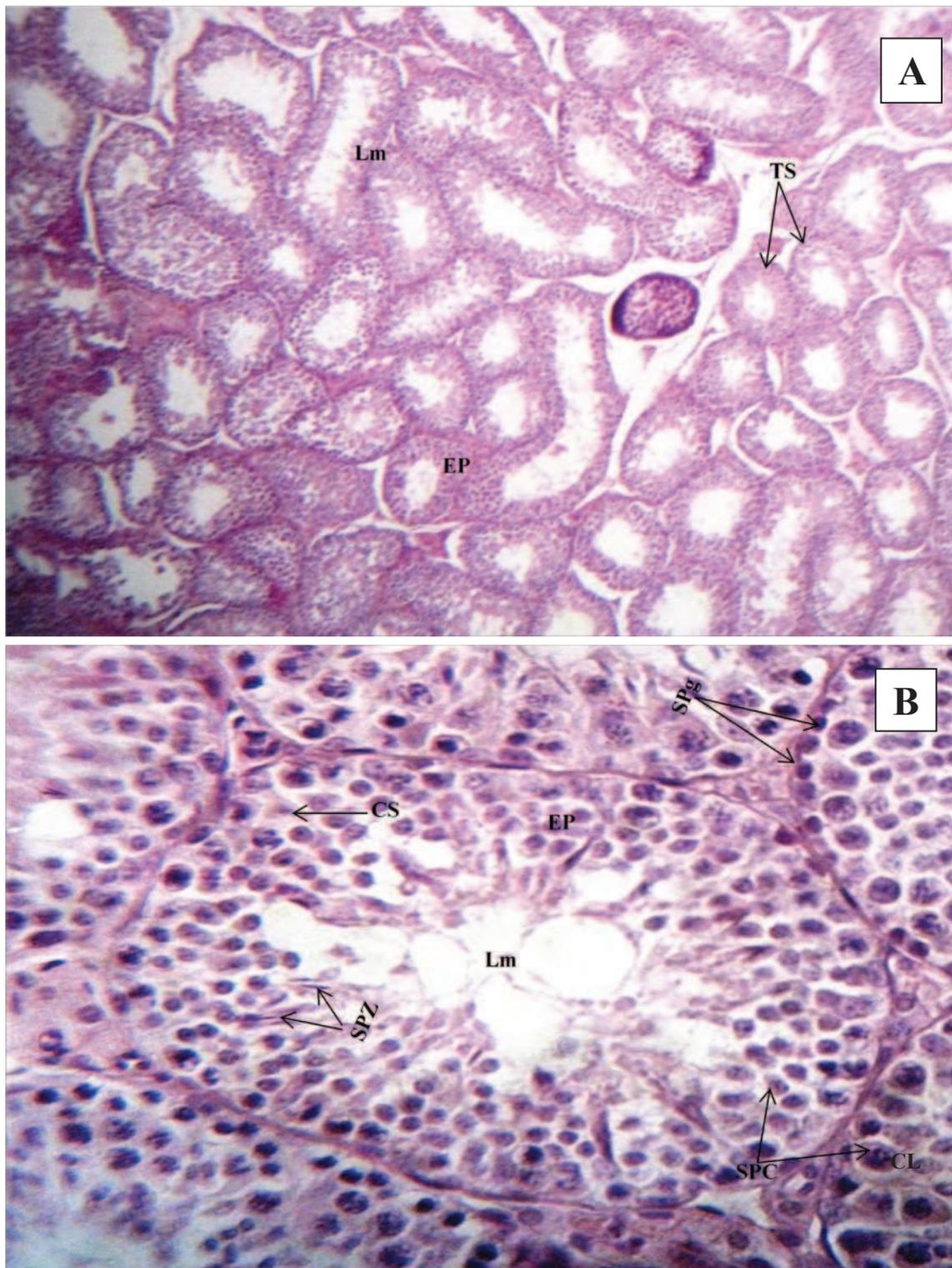


Planche 7 : Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par LCT et coadministré de la vitC et E, coloration HE, A : Gr X 10 B : Gr X 40.

TS : Tubes Séminifères, CL : Cellules de Leydig, EP: Epithélium Séminifère, CS : Cellule de Sertoli, Lm: Lumière du tube séminifère, SPZ: Spermatozoïdes, SPC: Spermatocytes, SPg: Spermatogonies, LB : Lame Basale.

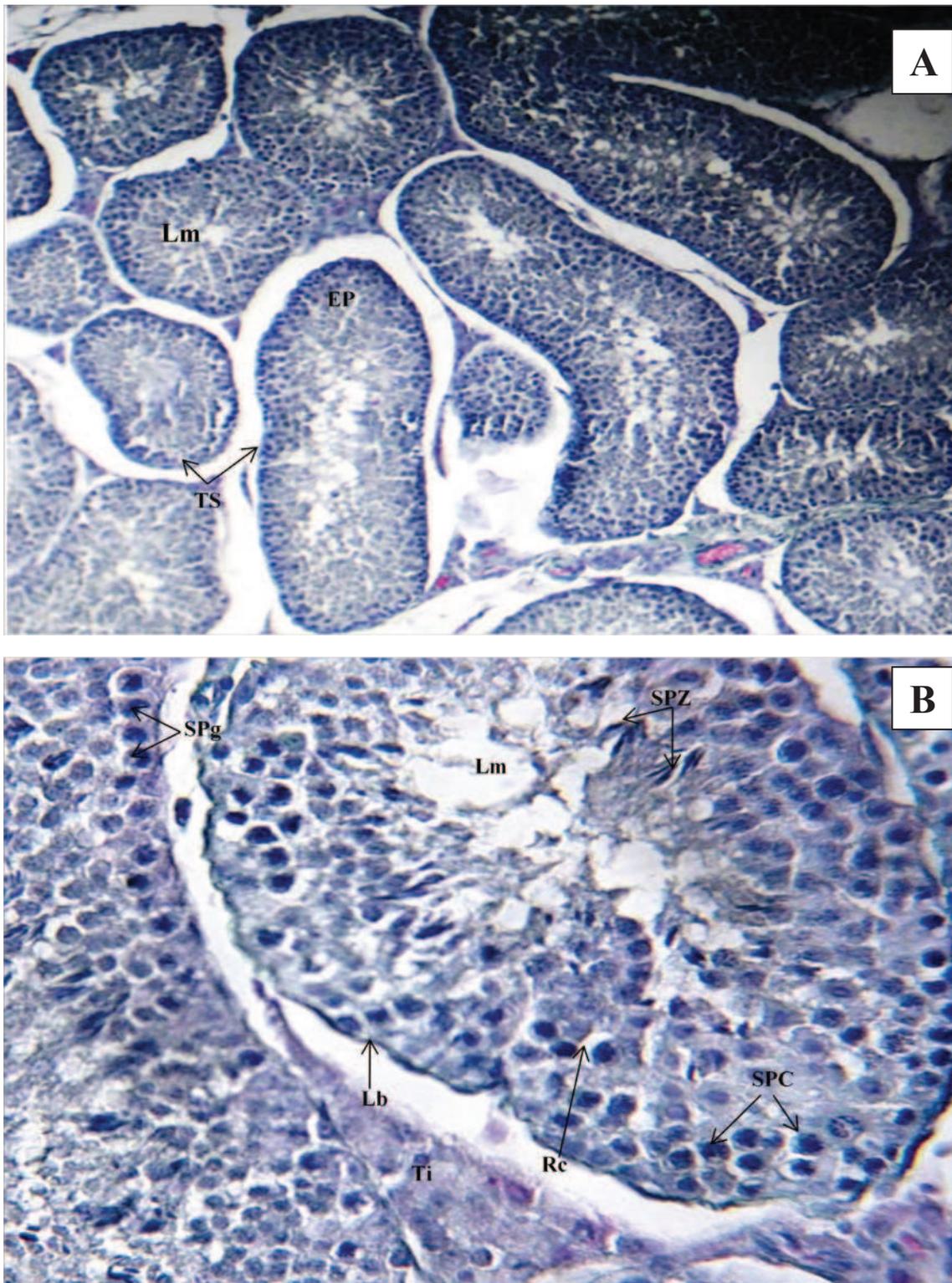


Planche 8 : Histologie du parenchyme testiculaire des lapins traités par LCT et coadministré de la vit C et E , coloration **trichrome de Masson**,

A : Gr X 10 **B** : Gr X 40.

TS : Tubes Séminifères, **CL** : Cellules de Leydig, **EP**: Epithélium Séminifère, **CS** : Cellule de Sertoli, **Lm**: Lumière du tube séminifère, **SPZ**: Spermatozoïdes, **SPC**: Spermatocytes, **SPg**: Spermatogonies, **Lb** : Lamelle Basale, **Ti** : tissu interstitiel, **RC** : rétraction cytoplasmique.

3. Résultats de l'étude histomorphométrique

3.1. Effet du traitement par vit C et E, LCT et LCT + vit C et E sur surface des tubes séminifères

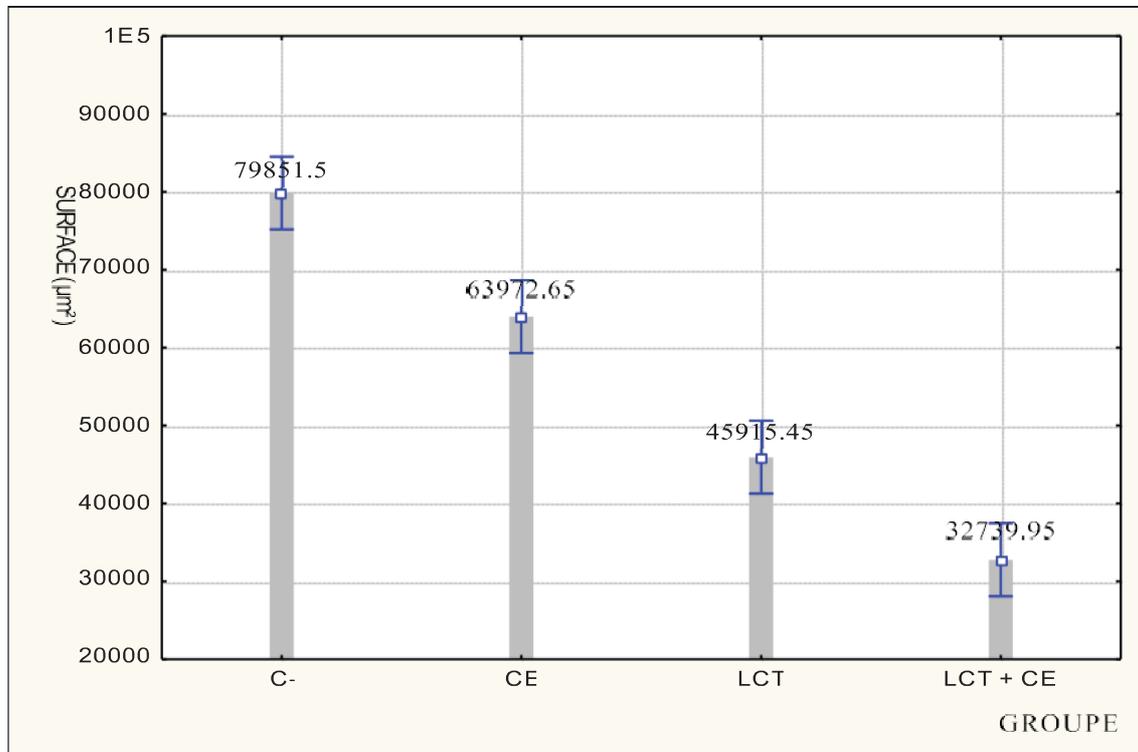


Figure 26: Effet du traitement par vit C et E, LCT et LCT + vit C et E sur la surface des tubes séminifères des lapins traités en comparaison avec les témoins.

C- : Groupe témoin. CE : Groupe traité par les vitamines C et E. LCT : Groupe traité par la LCT. LCT+CE : Groupe Co-administré par la LCT et les vitamines C et E.

✓ Les résultats du **Tableau III** (en annexe) et de la **Figure 26** montrent que la surface des tubes séminifères chez les lapins témoins est de $(79851.4973 \pm 15228.7 \mu\text{m}^2)$, elle diminue chez les lapins traités avec les vitamines C et E $(63972.6487 \pm 17452.9 \mu\text{m}^2)$ et diminue encore plus chez ceux traités avec LCT $(45915.454 \pm 7659.04 \mu\text{m}^2)$. Chez le groupe traité avec LCT+vit(C+E) la diminution est encore plus significative $(32739.953 \pm 8408.55 \mu\text{m}^2)$.

3.2. Effet du traitement par LCT et LCT + vit C et vit E sur l'épaisseur de l'épithélium séminifère

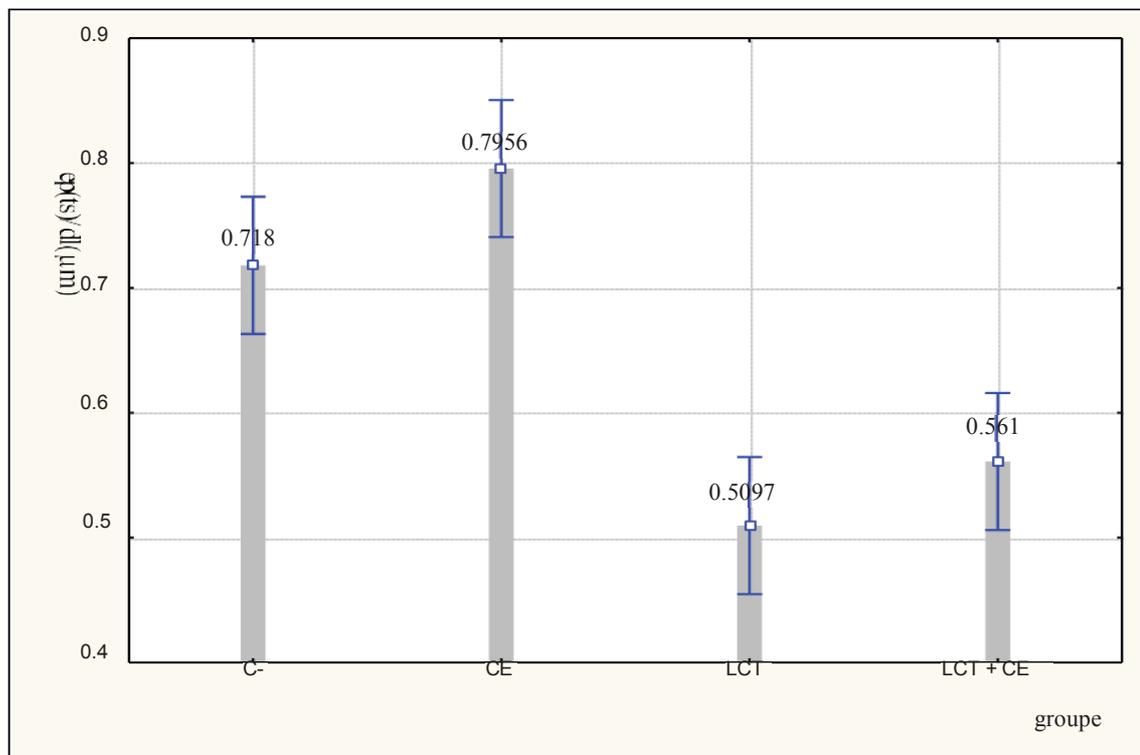


Figure 27: Effet du traitement par vit C + E, LCT et LCT + vit C et E sur l'épaisseur de l'épithélium séminifère en comparaison avec les témoins.

C- : Groupe témoin. **CE :** Groupe traité par les vitamines C et E. **LCT :** Groupe traité par la LCT. **LCT+CE :** Groupe Co-administré par la LCT et les vitamines C et E.

✓ D'après le **Tableau III** (en annexe) et la **Figure 27**, nous remarquons que le rapport épaisseur de l'épithélium séminifère sur le diamètre de la lumière est de (0.718 ± 0.18) . Le rapport augmente significativement chez les lapins traités avec vit(C+E) (0.7959 ± 0.14) et diminue significativement chez ceux traités avec LCT (0.5097 ± 0.10) . Avec la co-administration de la vitamine C et E pour les lapins traités par la LCT, le rapport arrive à (0.561 ± 0.15) .

3.3. Effet du traitement par vit C + E, LCT et LCT + vit C et E sur le diamètre de la lumière des tubes séminifères

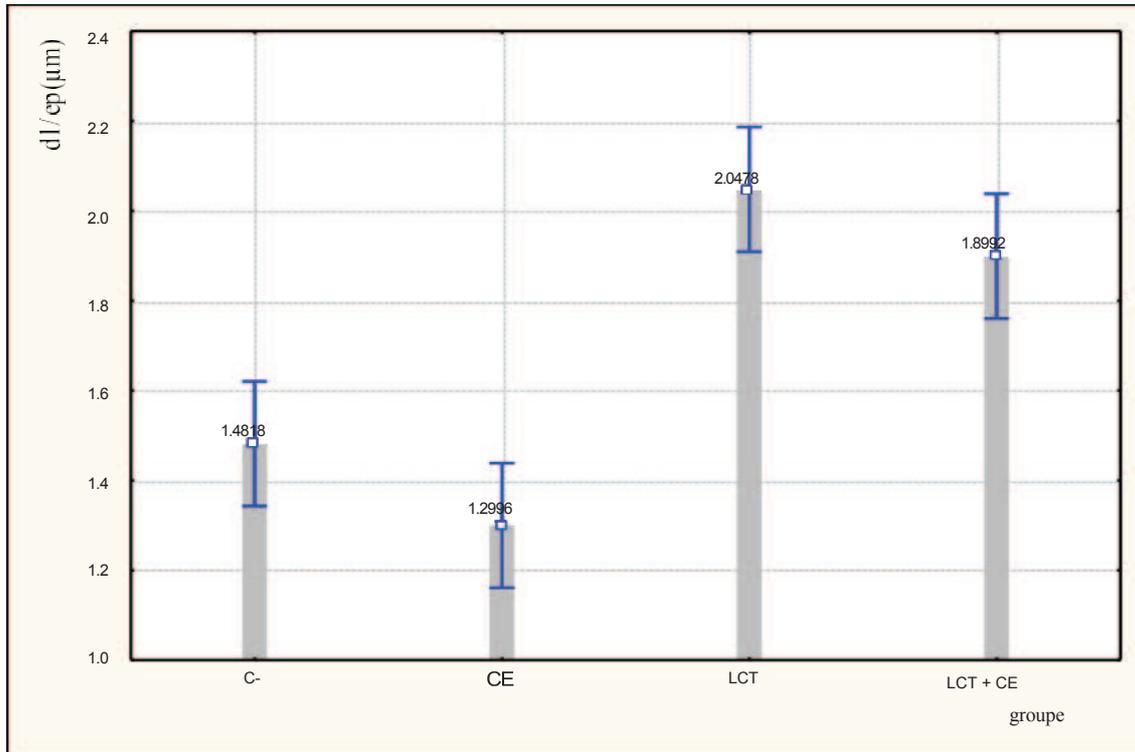


Figure 28: Effet du traitement par vit (C+E), LCT et LCT + vit (C+E) sur le diamètre de la lumière des tubes séminifère en comparaison avec les témoins.

C- : Groupe témoin. **CE** : Groupe traité par les vitamines C et E. **LCT** : Groupe traité par la LCT. **LCT+CE** : Groupe Co-administré par la LCT et les vitamines C et E.

✓ selon le **Tableau III** (en annexe) et la **Figure 28** nous remarquons que les lapins traités avec la vit(C+E) présentent un diamètre de la lumière des tubes séminifères plus faible que celui des lapins témoins, puisque le rapport du diamètre de la lumière sur l'épaisseur de l'épithélium est de (1.2996 ± 0.36) chez les testicules des lapins traités par les vitamines C et E et de (1.4818 ± 0.36) chez les testicules des lapins témoins. Chez les lapins traités avec la LCT le diamètre de la lumière des tubes séminifères augmente significativement comparé aux témoins (le rapport diamètre de la lumière sur l'épaisseur de l'épithélium chez les testicules traités par la LCT est de (2.0478 ± 0.44)), par contre chez les lapins co-administrés avec la vit(C+E) le diamètre de la surface reprend progressivement sa taille normale (Témoin), où le rapport diamètre de la lumière sur l'épaisseur de l'épithélium est de (1.8992 ± 0.44) .

Discussion

Les pesticides représentent une menace pour la fonction de reproduction masculine d'où la littérature scientifique révèle une relation de cause à effet entre les perturbateurs et la baisse de la fertilité. La reprotoxicité des différents produits chimiques a été étudiée chez les différents modèles d'animaux notamment chez les rongeurs et les lagomorphes.

De ce fait, il nous a semblé important d'envisager d'explorer d'une part les effets néfastes de la lambda cyalothrine qui est un pesticide de la famille des pérythrinoides sur les testicules d'un modèle animal de laboratoire, le lapin mâle domestique, de la souche locale algérienne et évaluer aussi l'effet amélioratif de la vitamine C et E face aux altérations causées par LCT d'autre part. Les résultats de notre étude se sont basés sur l'évolution du poids corporel et du poids testiculaires des différents lots de lapins et les différentes modifications histologiques observées au niveau du parenchyme testiculaire.

Les résultats obtenus au terme de 21 jours d'intoxication par la LCT montrent une diminution du gain du poids corporel par rapport au témoin de $3.14\text{kg} \pm 0.02\text{g}$ à $2.88\text{kg} \pm 0.53\text{g}$. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par **Ben Abdallah et al., 2013** qui ont traité sur reprotoxicité de la lambda cyalothrine sur les testicules de rats Wistar mâles adultes.

Plusieurs études ont évalué l'effet de pesticides et plusieurs perturbateurs endocriniens sur le poids corporel chez les animaux. Une étude de **Djabali, et Khelili., 2009** a montré une réduction du poids des lapins traités avec un fongicide (Dithiocarbamate de manganèse : Manèbe). Une autre étude, note une diminution en gain du poids corporel après une exposition à de fortes doses de 750 mg/kg/P.C de Di-n-Butyl Phthalate (DBP) pendant une durée de traitement de 30 jours (**Rihani, 2014**).

Nos résultats semblent significatifs, puisque une diminution significative a été observée chez le groupe traité par LCT. Cette diminution est peut être due à l'effet de LCT sur le tractus gastro-intestinal entraînant une perte d'appétit ou une mal absorption des aliments provoquant ainsi une réduction dans la consommation d'aliment et d'eau chez les lapins. **Fetoui et al., (2008)** a démontré que la perte d'appétit en raison de l'exposition au LCT peut expliquer la réduction du poids corporel, **Yousef., (2010)** a aussi signalé que les animaux traités par LCT ont montré une baisse de la consommation d'aliment.

En ce qui concerne le poids absolu des organes (testicules+épididyme), on a observé une diminution significative par rapport au groupe témoin de $5.32\text{kg} \pm 0.03\text{g}$. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Memon, et al., (2014)** qui ont exploré l'effet toxique de la LCT sur les testicules de lapin (*Oryctolagus cuniculus*) et avec ceux de **Rihani, (2014)** qui a noté une diminution du poids absolu des testicules et de l'épididyme chez les rats traités par deux doses

500 et 750 mg/kg/j du DBP par rapport au groupe témoin. Aussi les résultats obtenus par **Djabali, (2015)** rapportent une diminution significative du poids testiculaires chez les lapins traités par un solvant : Ethylène Glycol Monométhyl Éther (EGME).

En raison des problèmes de santé induits par de nombreux polluants, beaucoup d'efforts ont été menés à l'égard des composés naturels et des composants alimentaires tels que les antioxydants pour améliorer la qualité des spermatozoïdes et diminuer le stress oxydatif induit par les pesticides pyréthroïdes. Les Vitamine C et E, procure des effets bénéfiques à la santé en raison de leur fonction antioxydante. Elles ont une structure appropriée pour le balayage des radicaux libres et leur capacité à interagir et à pénétrer dans les bicouches lipidiques. Par conséquent, dans cette étude, nous avons évalué le possible effet protecteur des vitamines C et E contre la toxicité de LCT au niveau des testicules de lapin.

Nous avons constaté que l'administration de 200 mg / kg/P.C / jour de vitamines C et E avec 10 mg/kg/P.C/jour de LCT compensent de manière significative la diminution du poids corporel et du poids testiculaire. Ce résultat est en accord avec les résultats obtenus par **Yousef, (2010)** qui a suggéré que la vitamine E antagonise l'effet reprotoxique de LCT et améliore la qualité du sperme chez les lapins.

L'examen microscopique des coupes histologiques réalisé au niveau des testicules a montré une diminution du nombre de spermatozoïdes chez les lapins intoxiqués pendant 21 jours par 10mg de lambda cyalothrine voir une absence des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères.

Cette analyse histologique met en évidence la présence d'un retricissement cytoplasmique laissent apparaître des lacunes ou de méas au sein de la paroi des testicule des lapins intoxiqués qui témoigne d'une dégénérescence des cellules de sertoli et des spermatogonies confirmant l'atteinte profonde de la spermatogenèse et la spermiogenese. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Khaldoun Oularbi et al., (2015)** qui a montré une désorganisation des tubes séminifères et un arrêt de la spermatogénèse, dans les testicules des rats traité avec LCT.

En revanche l'étude statistique a montré une diminution remarquable dans le diamètre des tubes (de $112.92 \pm 24.47 \mu\text{m}$ à $99.003 \pm 18.78 \mu\text{m}$) et l'épaisseur de l'épithélium séminifères ($77.55 \pm 12.41 \mu\text{m}$ à $49.17 \pm 7.91 \mu\text{m}$) de chez les lapins intoxiqués pendant 21jrs par la lambda cyalothrine comparativement aux lapins témoins. Nous postulons donc que l'arrangement désordonné des cellules germinales a pu engendrer ces changements observés dans le diamètre et l'épaisseur des tubes séminifères. Nos observations sont en accord avec les résultats de plusieurs autres études qui ont traités des problématiques proches de la notre comme l'étude de **Oshoke et al., (2016)** qui ont testés la LCT sur les organes reproducteurs du rats Wistar, leurs

travaux ont révélé que administration de LTC à des concentrations variables de 25, 50, 75 et 100 mg / kg pendant cinq semaines induit une diminution dans le nombre et dans la motilité des spermatozoïdes, une réduction de la capacité de fertilisation, une dégénérescence de la spermatogénèse, une nécrose des cellules interstitielles et des congestions avec des œdèmes diffus.

Des études ont proposé l'hypothèse du phénomène d'apoptose des cellules germinales pour expliquer la réduction du nombre voir l'absence totale de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Nos résultats montrent la présence de corps apoptiques dans l'épithélium séminifère et des débris cellulaires au niveau de la lumière des tubes séminifères des lapins exposés à lambda cyalothrine comparé au groupe temoins. Des résultats similaires ont été obtenus par **Rihani, (2015)**.

En revanche, l'efficacité de la fonction antioxydante de la vitamine C et E a été confirmée par nos examens histologiques qui ont montrés que la coadministration de la vit(C+E) à des doses de 200 mg / kg / jour pour chaque vitamine avec LTC à une dose de 10 mg / kg / jour cause la régénérescence de la spermatogénèse.

Nous suggérons que la coadministration de LTC avec la vitamine C et E corrige les dégâts induits par les radicaux libres. Ainsi, la coadministration de la vitamine C et E a atténué la reprotoxicité de la LTC au niveau des testicules.

Des résultats analogues ont été observés par **khalaf et al., (2017)** qui ont mis en évidence l'effet protecteur du Vitazinc sur le stress oxydatif induit par Chlorsan (qui est un bactéricide et un fongicide très efficace utilisé comme insecticide) au niveau testiculaire chez les rats. D'autre part il y a **Ben Abdala et al., (2013)** qui ont montré l'effet protecteur de la quercétinine (Qe) qui est l'une des bio-Flavonoïdes des flavonols, Il s'est avéré être un antioxydant très **puissant** au niveau des testicules des rats intoxiqués par LCT.

Conclusion

Les résultats de notre étude ont montré que l'administration de la vitamine C et E pour les lapins traités par lambda cyalothrine a permis de minimiser les dégâts et les perturbations causés par ce pesticide.

En ce qui concerne la croissance corporelle Nos résultats montrent :

- Une diminution du poids corporel durant la période du traitement.
- Une diminution des poids absolus des organes (testicules, épидидymes) chez les lapins traité par LCT.

En ce qui concerne l'étude histologique : Lambda cyalothrine a provoqué des effets toxiques sur le parenchyme testiculaire

- Une diminution du nombre de spermatozoïdes. Ce qui montre l'effet toxique de LCT sur la fertilité chez le mâle.
- Une altération structurale des testicules qui se traduit par la diminution de la surface des tubes séminifères.
- dégénérescence cellulaire au niveau de l'épithélium séminifère (absence de spermatogénèse) et présence de corps apoptiques.
- Présence de lacunes et de méas suite à la rétraction du cytoplasme.

La coadministration de la vitamine C et E a permis une :

- reprise importante du poids corporel et testiculaire.
- l'épithélium séminifère reprend progressivement sa taille initiale.
- Régénérescence de la lignée germinale.
- Présence de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères.
- Disparition des lacunes et des meas.

Les perspectives de notre travail sont encore nombreuses sur ce sujet. Il serait intéressant d'éclaircir l'effet des pesticides chez les deux sexes, et particulièrement au cours de l'activité sexuelle mâles et femelles et de la gestation, en utilisant d'autres techniques cellulaires et moléculaires pour mieux comprendre ces effets à l'échelle moléculaire comme le dosage de plusieurs enzymes impliqués dans le stress oxydant dans les organes reproducteurs.

Il est intéressant de mettre en place les mécanismes induisant la génotoxicité de lambda cyalothrine et l'intégrité du matériel génétique dans les cellules gonadiques.

L'une des approches nouvelles sur lesquelles pourrait déboucher notre travail serait également l'étude des conséquences comportementales sexuelles d'une exposition à une faible dose de lambda cyalothrine pendant une plus longue durée (toxicité chronique).

Il serait également intéressant d'approfondir le côté hormonal qui est sous le contrôle de

l'axe hypothalamo-hypophysaire par le dosage de neurohormone produite dans l'hypothalamus par des neurones à fonction endocrine. Ainsi que le dosage de l'activité de certaines enzymes clés responsables de la biosynthèse de la testostérone ou les intermédiaires de synthèse tel que delta 5,3 beta –hydroxystéroïde déshydrogénase (delta 5,3 beta – HSD), 17 beta –hydroxystéroïde déshydrogénase (17 beta – HSD) et sobitol déshydrogénase (SDH).

Enfin il apparaît important d'apporter des éléments complémentaires permettant d'affiner l'interprétation des résultats obtenus et d'ouvrir de nouvelles pistes de recherche dans ce domaine.

Références bibliographiques

- **Stevens, A. et Lowe, J., (1997).** Histologie humaine. Traduction de la deuxième édition anglaise par Pierre Validire. Boeck Supérieur. Page 309.
- **Gayrard, V., (2007).** Physiologie de la reproduction des mammifères. Page 97.
- **Nicaise, C., (2015).** Système génital mâle. Version du 28/05/2015
- **Kohler, C., (2010).** Appareil génital masculin-université médicale virtuelle francophone-2010.
- **Bourgès-Abella, N., (2008).** Module Sciences morphologiques HISTOLOGIE- Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse-2008.
- **Cuvelier C., Dotreppe O., Istasse L., (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. Ann. Méd. Vét., 2003, 147, 315-324.
- **Landrier JF., (2011).** Vitamine E et physiologie du tissu adipeux. OCL 2011 ; 18(2) : 83-87. doi : 10.1684/ocl.2011.0370
- **Martin A., (2001).** Les Apports Nutritionnels Conseillés pour la population française. 3ème édition, 2001. Éditions Tec et doc. Lavoisier
- **Daine, F., (2016).** Vitamine E ou tocophérol. Doctissimo.
- **Bonnefoy, N., (2012).** Rapport d'information fait au nom de la mission commune d'information sur les pesticides et leur impact sur la santé et l'environnement (Tome 1). Sénat session ordinaire de 2012-2013. N° 42 : p 17 - 18.
- **El Mrabet, K., Charlet, P., Lalère, B., (2008).** Les pesticides. Laboratoire national de métrologie et d'essais : p 4.
- **El Azzouzi, E., (2013).** Processus Physico-chimiques d'Élimination des pesticides dans l'environnement : Cas de l'Imazéthapyr. Thèse de doctorat. Université mohammed v – agdal. faculté des sciences. Rabat : p 20 – 21 .
- **Kadala, P-A., (2011).** action des pyréthriinoïdes sur le canal sodique activé par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique apis mellifera. Thèse de doctorat. université d'Avignon et des pays de Vaucluse. sciences agricoles. HAL. 2015 : p 44.
- **General Fact Sheet., (2001).** Lambda-cyhalothrin. national pesticide information center.
- **Li-Ming, H., Troiano, J., Wang, A., Goh, K.(2008).** Environmental Chemistry, Ecotoxicity, and Fate of Lambda-Cyhalothrin : p 73.

- **Zoumenou, B., AÏNA, M,P., Agbohessi, P., Imorou Toko, I., Scippo, M-L.,(2015).** Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. International journal of biological and chemical sciences : p 2186.
- **Durkin P-R., (2010).** Lambda-Cyhalothrin Human Health and Ecological Risk Assessment. Syracuse Environmental Research Associates, Inc : p 13.
- **Colombo, R., (2001).** Etude de la carence en vitamine c dans une population gériatrique hospitalisée. Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine. Université henri poincaré, Nancy 1.
- **Sekli-Belaidi, F., (2011).** Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly(3,4- éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Thèse de doctorat. l'Université Toulouse III - Paul Sabatier .
- **Hamadidi, A ., Melek, S., (2016).** Influence de la co-administration de la vitamineC sur le foie du lapin traité par lambda cyhalothrine.Étude biochimique et histopathologique. Mémoire de fin d'études. Université saad dahleb Blida.
- **Abdala-Valencia, H., berdnikovs, S., cook-Mills, JM., (2013).** Vitamin E isoforms as modulators of lung inflammation. Pubmed Central. Nutrient. 2013 ; 5(11) :4347-4363.
- **Neyrat, P., (2008).** Vitamine E (tocophérols)et ses rôles. e.santé.fr
- **Leger, C-L., (2000).** Etat actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardiovasculaire, biodisponibilité. Oléagineux, corps gras, lipides. Volume 7.Numero 3. 258-265. 2002. dossier : Les vitamines liposolubles.
- **Ben-Abdelah, F., Hamadi, F., Ziribi, N., Ammar-Keskes, L., (2013).** Quercetin Attenuates Lambda Cyhalothrin-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. Environ Toxicol. 2013. 28(12):673-80. doi: 10.1002/tox.20762.
- **Djabali, N et Khelili, K., (2009).** Contribution à l'étude de l'impact d'un fongicide (Dithiocarbamate de manganèse : Manèbe) sur quelques paramètres de la fertilité masculine chez le lapin : *Oryctolagus cuniculus*. Afrique science 05(2) (2009) 321 - 329 ISSN 1813-548X.
- **Rihani, M., (2014).** L effet du Di-n-Butyl Phthalate (DBP) sur les paramètres hématologiques, biochimiques et les paramètres de la reproduction chez le lapin mâle *Oryctolagus Cuniculus*.These de doctorat. Universite Badji-Mokhtar –Annaba.

- **Fetoui, H., Garoui, EM., Makni-ayadi, F., Zeghal, N., (2008).** Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. *Environ Toxicol Pharmacol* 26:225–231.
- **Youcef, MI., (2010).** Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Food Chem Toxicol*. 2010. 48(5):1152-9. doi: 10.1016/j.fct.2010.02.002. Epub 2010.
- **Memon, S-A., Shaikh, S-A., Memon, N., Shah, M-A., Mal, B., Shah, N-A., (2014).** Testicular Toxicity of Lambda Cyhalothrin Insecticide in Male Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Sindh Univ. Res. Jour. (Sci. Ser.)* Vol.46 (3) 287-292 (2014).
- **Djabali, N., (2015).** Effets d'un solvant : Ethylène Glycol Monométhyl Éther (EGME) sur la fertilité masculine et quelques paramètres biochimiques et cellulaires du sang chez le lapin *Oryctolagus cuniculus*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Khaldoun Oularbi, H., Zerrouki Daoudi, N., Baha, M., Ouineten, Y., Djennas, N., (2015).** Hematological and histopathological changes in the testes and seminal vesicle of rats following repeated exposure to lambda- cyhalothrin. *Journal of International Scientific Publications. Agriculture & Food* ISSN 1314-8591. Volume 3. 2015.
- **Oshoke, F. I., Fadina, O. O., Fayinminnu, O. O., (2016).** Sub-chronic toxicity study of synthetic Pyrethroids (Lambda-cyhalothrin) on reproductive organs of male Wistar rats. *IJAAR* 4 (2016) 38-45.
- **Khalaf, A .A., Ibrahim, M.A., Tohamy, A.F., Abd Allah, A.A ., Amr, Z., (2017).** Protective Effect of Vitazinc on Chlorsan Induced Oxidative Stress, Genotoxicity and Histopathological Changes in Testicular Tissues of Male Rats. *International Journal of Pharmacology*. ISSN 1811-7775 DOI: 10.3923/ijp.2017.22.32.
- **Martoja, H., Martoja, M., (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale masson et cie. Paris.
- **Lebas, F. ; Fortun-Lamothe, L., (1996).** Effects of dietary energy level and origin (starch vs oil) on performance of rabbit does and their litters: average situation after 4 weanings. 6th World Rabbit Congress, Toulouse, 1: 217-222.
- **Anonyme 1:** <https://www.studyblue.com/notes/n/chirurgie-urologique/deck/13329725>
- **Anonyme 2:** <http://planet-vie.ens.fr/article/1487/mise-place-appareil-genital-etre-humain>.
- **Anonyme 3:** https://www.ac-grenoble.fr/disciplines/svt/file/ancien_site/log/1_es/Procreation/revisions/chl-II.htm
- **Anonyme 4:** http://eric.lacouture.free.fr/lycee/1ereS/cours_1ereS_ch4.htm

- **Anonyme 5** : (article 2 de la loi algérienne du journal officiel N°87-17 du 1 aout 1987).
- **Anonyme 6**: L'union internationale des travailleurs de l'alimentation, de l'agriculture, de l'hôtellerie-restauration, du catering, du tabac et des branches connexes (UITA). manuel de formation sur les pesticides. Projet PNUE – Sustainlabour : p 16 – 17.
- **Anonyme 7**: Institut de veille sanitaire., (2011). Pesticides pyréthriinoïdes. Santé publique France.2011.
- **Anonyme 8**: Rueff, R. la vitamine C (ou Acide A scorbique). Institut Linus Pauling. Université de l'Etat de l'OREGON. Editions Jouvence.
- **Anonyme 9**: http://campus.cerimes.fr/nutrition/enseignement/nutrition_10/site/html/4.html

Annexe

Matériels non biologique utilisés

- produit étudié



lambda cyhalothrine



Vitamine E



Vitamine C

- Solutions utilisées



Formol



Xylène



Eosine



phosphomolybdique phosphotungstique



Fushine ponceau



Vert lumière



Bain d'inclusion + chariot porte lames

- Appareillage



Automate



Etuve



Bain marine



Microscope photonique



Station d'enrobage en paraffine



Balança



Centrifugeuse

- Tableaux des resultants

Groupe	Control	CE	LCT	LCT+Vit(C+E)
Poids corporel (kg)	3.14 ± 0.02	2.72 ± 0.28	2.88 ± 0.53	3.17 ± 0.34
Poids absolus testiculaire (+épididyme) (g)	5.32 ± 0.03	4.59 ± 0.41	4.32 ± 0.16	5.98 ± 0.23
Poids relatifs des organes	0.16 ± 0.0003	0.17 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.19 ± 0.02

Tableau II: résultats de l'étude des poids (moyenne ± écartype)

groupe		C-	CE	LCT	LCT+CE
Epaisseur de l'épithélium (ep)(μm)	moyenne	77,551667	79,021	49,176667	51,467
	écartype	12,41394	11,261571	7,9148334	6,9315228
Diamètre de la lumière (dl)(μm)	moyenne	112,92167	101,84033	99,003667	95,634333
	écartype	24,47988	19,360445	18,782274	17,566006
ep/dl	moyenne	0,686774	0,7759303	0,4967156	0,5381645
	écartype	0,18671377	0,14578319	0,10493492	0,15854755
dl/ep	moyenne	1,456083	1,2887756	2,0132244	1,858168
	écartype	0,36746594	0,24695086	0,44313896	0,44335288
surface des tubes séminifères (μm^2)	moyenne	78117,423	63972,649	45915,454	32739,953
	écartype	15228,7253	17452,9268	7659,04097	8408,55333

Tableaux III : résultats de l'étude morphométrique