



**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMÈRI DE TIZI-OUZOU**

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**

**Projet 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 sur l'épididyme de lapin (*Oryctolagus cuniculus*), traité par la lambda-cyhalothrine.**

**Réalisé par :**

**Melle HAMADOU Djouher**

**Melle KAIS Safia**

**Devant le jury d'examen composé de :**

<b>Mme N. ZERROUKI</b>	<b>PROFESSEUR</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme R. BENABDESSELAM</b>	<b>MCA</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme S. AKDADER</b>	<b>MAA</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme H. KHALDOUN</b>	<b>MCB</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Promotrice</b>

**2016 – 2017**

## *Remerciements*

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à notre promotrice  
Mme Khaldoun-Oularbi H, merci d'avoir pris le temps de nous assister, nous guidés, orientés.

Nous adressons nos sincères remerciements au professeur Zerrouki-Daoudi N, qui nous a  
soutenue tout au long de notre travail.

Nous remercions la chef de service du laboratoire d'anatomie-cytologie-pathologie du CHU  
Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, Dr Benserai, pour leur hospitalité.

Nous tenons à remercier la présidente de jury Mme Zerrouki-Daoudi N  
d'avoir bien voulu juger notre travail.

Nous sommes très honorées par la présence de Mme Benabdesselam R qui a accepté  
d'examiner ce travail.

Nous sommes très honorées par la présence de Mme Akdader S qui a bien voulu accepté  
d'examiner ce travail.

Merci à l'équipe du laboratoire d'anatomopathologie Parnet.

Un grand merci à Mr Hamadou T, et Mr Belarbia R pour l'aide qu'ils nous ont apportée tout  
le long de notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à toute personne ayant contribué de loin ou  
de près à la réalisation du présent travail.

# *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à mes parents*

*Mère tu m'as soutenue, épaulée et toujours aidée à aller de l'avant et donner le meilleur de moi même, sans toi je ne serais pas parvenu à réaliser ce travail. Merci à la plus merveilleuse des mamans,*

*Père, merci pour ta présence, ton soutien et ton assistance,  
Que dieux vous protège*

*A mes frère Ghiles, Mohammed et son épouse*

*A mes sœurs Dalila, Sihem et leurs époux*

*A ma sœur Dimia qui nous a quittés trop tôt*

*« Paie à son âme »*

*Mon neveu et nièce, Mayes et Dimia*

*Mon fiancé, qui m'a soutenue et encourager tout au long de cette année*

*Dr Kadi, merci pour votre patience, encouragement, soutien et précieux conseils*

*Djouher, milles mercis pour ton immense patience, compréhension et soutien tout au long de cette année*

*A tous ceux qui m'on prêter aide, soutien et encouragement de prêt ou de loin*

## DÉDICACES

J'aimerais que ce modeste travail soit le reflet et l'aboutissement de toutes ces années d'étude, à l'image de mon dévouement à mes études et ma soif de connaissance qui reste toujours aussi inassouvie qu'au début.

Je dédie ce travail à mes parents, ma fierté, à eux deux ils symbolisent tout le courage, la réussite, et l'honnêteté ainsi que l'innocence que nous, leurs enfants, portons au fond de nous, une richesse que nul autre personne au monde ne pourrait nous inculquer.

À mes grand parents, maternels et paternels, que dieu vous garde, et plus particulièrement à mon grand-père, Belaid, ce grand homme qui m'a tout appris, présent à chacun de mes pas dans ce monde, m'apportant tous son savoir inestimable et incommensurable.

À mes frères, Ghiles, Idir, Yanis et Adam, je carbure à leurs fous rires.

À mes cousins et cousines, et plus particulièrement toi Leticia, tu es la sœur que je n'ai jamais eue, les mots expriment peu la place que tu occupes dans mon cœur.

À mes oncles et tantes, qui ont toujours été là afin de me rappeler l'image de la réussite, dans les moments où l'inspiration me manquait.

À tous mes amis, Nassima, Nawel, Kenza, Amina, Fairouz, Imen, Maya, Sara, et Karim, merci d'avoir été là pour m'encourager et me supporter.

Je tenais à remercier mes binômes, Safia, Tassadit et Lynda, nous avons vécu toute cette expérience ensemble, nous y sommes arrivés ensemble.

Djouher.

**Résumé**

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet reprotoxique d'un pesticide de la famille des pyréthriinoïdes de type II « lambda-cyhalothrine » (LCT), sur l'épithélium épидидymaire de lapin et de déterminer l'éventuel effet amélioratif des vitamines C et E, considérés comme des antioxydants forts.

Nous avons réalisés deux colorations topographiques, l'Hématoxyline Eosine et le Trichrome de Masson, pour mettre en évidence l'effet histopathologique de la LCT sur l'épithélium épидидymaire.

Nous avons étudié les variations morphométriques causées par la LCT en réalisant des mesures des différentes structures épithéliales épидидymaires, pour confirmer les lésions engendrés.

Nos résultats montrent une perturbation du poids corporel moyen des animaux exposés et des organes de reproduction (testicule et épидидyme). Sur le plan tissulaire, les lésions observées ont montré une dégénérescence de l'épithélium épидидymaire, notamment celle des cellules basales et une irrégularité du contour des tubes épидидymaires. Ces résultats histologiques sont confirmés par ceux de l'étude morphométrique qui montre une augmentation du diamètre de la lumière des tubes épидидymaires et une diminution de la hauteur de l'épithélium de l'épididyme remarqué à l'exposition à la LCT.

Cependant, concernant les lapins chez qui nous avons administrés les vitamines C et E, nos résultats montrent une atténuation et une régression des lésions générées par le biopesticide en comparaison avec les lapins témoin.

En conclusion, notre étude montre que l'exposition subaigüe des lapins à la LCT perturbe les paramètres histomorphométriques de l'épididyme, et l'administration des vitamines C et E ont un effet protecteur contre ces dommages.

**Mots clé :** Lambda-cyhalothrine, Épидидyme, Vitamines C et E, Morphométrie, Histopathologie, Lapin.



**Abstract**

The aim of this study is to evaluate the reprotoxic effect of Lambda-cyhalothrin (LCT), a type II pyrethroid insecticide on epididymis of rabbit, and the protective effect of the vitamins C and E administrations, which are considered as strong antioxidants.

Histomorphometric study in addition to two topographical staining, Hematoxylin Eosin and Masson's trichrome, were performed in order to evaluate the histopathological damages caused by subacute toxicity to LCT and co-administration of two vitamins C and E on the epididymal epithelium. Morphometric variations were studied by measuring different epithelial parameters.

The obtained results show a disturbance of the body weight and that of the considered organs. Histopathological tissue lesions were observed and have shown the degeneration of the epididymal epithelium, especially that of the basal cells and an irregular contour of the tubes. The treatment with LCT leads to different morphometric changes such as an increase in the diameter of the lumen of the epididymal tubes and a decrease in the height of the epithelium.

However, regarding the rabbits co-administered with vitamins C and E, the study we carried out shows an attenuation of the lesions generated by the biopesticide in comparison with the results of the control group.

In conclusion, LCT disrupt histomorphometric parameters of epididymis, however, vitamins C and E have a protective effect against this damages.

**Key words:** Lambda-cyhalothrin, Epididymis, Vitamins C and E, Morphometric, Histopathology, Rabbit.

---

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMP c	Adénosine mono phosphate cyclique
CHRU	Centre Hospitalier Régional Universitaire
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CN	Groupe Cyano
DCE	Directive-cadre sur l'eau
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
GPC	Glycéryl Phosphoryl Choline
ERO	Espèce réactive oxygénée
FSH	Hormone folliculo-stimulante
HE	Hématoxyline eosine
ITELV	Institut Technique des Elevages
LCT	Lambda-Cyhalothrine
LDL	Low density lipoprotein
LH	Hormone lutéinisante
Mel	Mélatonine
OT	Ocytocine
PAS	Acide périodique-Schiff
PIRRP	Plan Interministériel de Réduction des Risques liés aux Pesticides
Prl	Prolactine
RE	Récepteur œstrogène
SH	Groupement sulfhydryle
SNC	Système nerveux central
SNP	Système nerveux périphérique
Vits	Vitamines

---

<b>Mots</b>	<b>Définition</b>
<b>Acidophilie</b>	Affinité pour un colorant acide
<b>Antérocytaire</b>	(Entérocyte) Les entérocytes sont un des quatre principaux types de cellules de l'épithélium intestinal, au sein de la muqueuse intestinale.
<b>Aposome</b>	Excroissance du cytoplasme apicale de certaines cellules épithéliales.
<b>Aquaporine</b>	Classe de protéines membranaires qui forment des pores perméables aux molécules d'eau dans les membranes biologiques.
<b>Artefacts</b>	Le terme désigne à l'origine un phénomène créé de toutes pièces par les conditions expérimentales, un effet indésirable, un parasite.
<b>Athérome</b>	Un athérome est un dépôt par accumulation de différents éléments (graisse, sang, tissu fibreux, dépôt calcaire) sur une partie de la paroi interne d'une artère, l'intima. Le diamètre de celle-ci diminue, ce qui peut entraver la circulation sanguine. L'une des causes de la formation de la plaque d'athérome est l'oxydation par les radicaux libres des lipoprotéines de basse densité (LDL).
<b>Autolyse</b>	L'autolyse est un processus enzymatique d'autodestruction qui se produit à l'intérieur des cellules.
<b>Busulfan</b>	Diester sulfonique utilisé comme anticancéreux dans le conditionnement préalable à une greffe de cellules souche hématopoïétiques. Son activité pharmaceutique de s'exerce que sur la moelle osseuse.
<b>Cadium</b>	Le cadmium est l'élément chimique de numéro atomique 48, de symbole Cd.
<b>Calmoduline</b>	Protéine ubiquitaire, capable de s'associer aux ions calcium présents dans le milieu cellulaire.
<b>Carnitine</b>	Cette molécule intervient au sein de la cellule dans le transport des acides gras du cytosol vers les mitochondries lors du catabolisme des lipides dans le métabolisme énergétique.
<b>Cyano</b>	Le radical cyano •CN est une espèce chimique de type monoradicalaire fréquemment rencontrée en combustion chimique.
<b>Cystatine</b>	Protéine de type protéase à cystéine.
<b>Edaphique</b>	Caractérise un facteur écologique lié aux caractéristiques du sol.
<b>ERO</b>	Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) sont moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie.

<b>Glucuroconjugaison</b>	La glycuconjugaison ou la glucuroconjugaison est la réaction chimique qui permet la formation d'une nouvelle molécule par fixation sur un substrat d'une molécule d'acide glucuronique. Cette réaction se produit souvent dans l'organisme humain pour permettre d'éliminer un produit toxique (ou un médicament).
<b>Hème</b>	L'hème est une structure aromatique contenant un atome de fer.
<b>Homéostasie</b>	Processus de régulation par lequel l'organisme maintient les différentes constantes du milieu intérieur entre les limites des valeurs normales.
<b>Oligozoospermie</b>	Présence de spermatozoïdes en quantité anormalement faible.
<b>Procarcinogène</b>	Toute substance qui se transforme en une substance cancérogène par le métabolisme.
<b>Quinone</b>	Composé benzénique dans lequel deux atomes d'hydrogène du noyau sont remplacés par deux atomes d'oxygène.
<b>Radical libre</b>	Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire (non apparié) sur leur couche périphérique.
<b>Stéréocils</b>	Expansions cytoplasmiques ramifiées longues, fines et immobiles présentes au niveau du pôle apical de certaines cellules épithéliales.

## Liste des figures

<b>Numérotation des figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Schéma de l'appareil génital du lapin mâle.	3
<b>Figure 2</b>	Représentation schématique de l'épididyme et du testicule.	4
<b>Figure 3</b>	Evolution de la régionalisation épидидymaire murine.	5
<b>Figure 4</b>	Représentation schématique des différents types cellulaires épидидymaire de mammifères.	6
<b>Figure 5</b>	Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme.	10
<b>Figure 6</b>	Durée du transit (en jours) des spermatozoides dans la tête (noir), le corps (clair) et la queue (gris) de l'épididyme chez différentes espèces.	13
<b>Figure 7</b>	Représentation schématique de l'organisation cellulaire de l'épithélium epididymaire de rat en coupe transversale et des différentes voies de régulation des fonctions épидидymaires.	14
<b>Figure 8</b>	Représentation schématique du dysfonctionnement de la transmission induit par les pyréthrinoides sur les canaux ioniques sodium et sur le neurone.	24
<b>Figure 9</b>	Structure chimique de lambda-cyhalothrine.	25
<b>Figure 10</b>	Structure chimique de l'acide ascorbique.	26
<b>Figure 11</b>	Structure chimique du Tocophérol.	30
<b>Figure 12</b>	Cassette d'inclusion + Organe.	30
<b>Figure 13</b>	Automate de déshydratation.	31
<b>Figure 14</b>	Machine à enrobage.	32
<b>Figure 15</b>	Bloc de paraffine.	32
<b>Figure 16</b>	Microtome.	33
<b>Figure 17</b>	Automate de Coloration.	34
<b>Figure 18</b>	Exemple d'une fenêtre du logiciel AxioVision.	37
<b>Figure 19</b>	Représentation graphique des poids corporels finaux chez les lapins témoin, traités LCT et LCT + Vit C et E.	39
<b>Figure 20</b>	Représentation graphique des poids finaux des testicules et épидидymes chez les lapins témoin, traités LCT et LCT + Vit C et E.	40
<b>Figure 21</b>	Représentation graphique du poids relatif des testicules + épидидyme, des lapins témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E.	41

---

LISTE DES FIGURES

<b>Figure 22</b>	Evolution de la surface des tubes au cours de l'expérimentation chez les différents lots.	55
<b>Figure 23</b>	Evolution de la hauteur de l'épithélium des tubes au cours de l'expérimentation chez les différents lots.	56
<b>Figure 24</b>	Evolution du diamètre de la lumière des tubes au cours de l'expérimentation chez les différents lots.	57
<b>Figure 25</b>	Evolution de l'espace intertubulaire au cours de l'expérimentation chez les différents lots.	58
<b>Figure 26</b>	Rapport Epithélium/Lumière en fin d'expérimentation chez les différents lots.	59

**Liste des planches**

<b>Numérotation des planches</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Planche 1</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin témoin coloration HE.	43
<b>Planche 2</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin témoin coloration Trichrome de Masson.	44
<b>Planche 3</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par les vitamines C et E coloration HE.	46
<b>Planche 4</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par les vits C et E coloration Trichrome de Masson.	47
<b>Planche 5</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité avec LCT coloration HE.	49
<b>Planche 6</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par LCT coloration Trichrome de Masson.	50
<b>Planche 7</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par lambda-cyhalothrine co-administré avec les vitamines C et E coloration HE.	52
<b>Planche 8</b>	Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par lambda-cyhalothrine co-administré avec les vitamines C et E coloration Trichrome de Masson.	53

**Liste des tableaux**

<b>Numérotation des tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Synthèse des caractéristiques structurales et fonctionnelles des différents types cellulaires constituant l'épithélium épидидymaire chez les mammifères.	8
<b>Tableau 2</b>	Quelques familles chimiques de pesticides et leur classement selon leur cible.	21
<b>Tableau 3</b>	Répartition des lapins par lots.	29
<b>Tableau 4</b>	Poids finaux des lapins témoins, traités par LCT et LCT + Vit C et E.	38
<b>Tableau 5</b>	Poids finaux des testicules et épидидymes chez les lapins témoin, traités LCT et LCT + Vit C et E.	39
<b>Tableau 6</b>	Moyennes des mesures morphométriques des différents paramètres.	54
<b>Tableau 7</b>	Résultats du rapport épithélium/lumière des mesures des tubes épидидymaires.	59

# SOMMAIRE

---

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I : Données Bibliographiques</b> .....	3
<b>1. Généralités sur le tractus génital mâle</b> .....	3
1.1. Anatomie du tractus génital mâle du Lapin.....	3
1.2. Généralités sur l'épididyme.....	4
1.2.1. Anatomie.....	4
1.2.2. Histologie.....	5
1.2.3. Vascularisation et innervation.....	9
1.2.4. Mode de sécrétion de l'épididyme.....	9
1.2.5. Physiologie et fonctions de l'épithélium épididymaire.....	10
1.2.6. Mobilité et stockage des spermatozoïdes.....	12
1.2.7. Durée du transit dans l'épididyme.....	13
1.2.8. Régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire.....	14
<b>2. Généralités sur les pesticides</b> .....	20
2.1. Définition.....	20
2.2. Classification.....	20
2.3. Composition.....	20
2.4. Toxicité.....	21
2.4.1. Toxicité subaiguë.....	21
2.4.2. Toxicité chronique.....	21
2.5. Effet sur la santé.....	22
2.5.1. Pesticides et reproduction.....	22
<b>3. Pyrethrinoïdes de synthèse</b> .....	22
3.1. Mode d'action.....	23
3.2. Toxicocinétique.....	24
<b>4. Lambda-cyhalothrine</b> .....	24
4.3.1. Propriétés physiques et chimiques.....	25
4.3.2. Mécanisme d'action.....	25
4.3.3. Toxicité chez les mammifères.....	25
<b>5. Vitamine C</b> .....	26
5.1. Définition.....	26
5.2. Structure chimique.....	26
5.3. Sources de la vitamine C.....	26
5.4. Métabolisme de la vitamine C.....	27
5.4.1. Absorption digestive.....	27
5.4.2. Distribution.....	27
5.4.3. Elimination.....	27
5.5. Rôles physiologiques de la vitamine C.....	27
5.5.1. Rôle antioxydant.....	28
5.5.2. Effet sur la reproduction.....	28
5.5.3. Rôle enzymatique.....	28
5.5.4. Agent d'oxydoréduction.....	29
5.5.5. Autres effets d'oxydoréduction.....	29
<b>6. Vitamine E</b> .....	29
6.1. Définition.....	29
6.2. Structure chimique.....	30
6.3. Propriétés physico-chimiques.....	30
6.4. Sources de la vitamine E.....	30
6.5. Métabolisme.....	31

# SOMMAIRE

---

6.6. Physiologie de la vitamine E.....	31
6.7. Propriétés biochimiques et métaboliques.....	31
6.8. Activités Co-enzymatiques.....	32
6.9. Action anti-oxydante de la vitamine E.....	32
6.10. Toxicité de la vitamine E.....	32
7. Anti-oxydation.....	33
7.1. Définition.....	33
7.2. Conséquences du stress oxydatif.....	33
<b>Chapitre II : Matériel et Méthodes.....</b>	<b>34</b>
1. Matériel.....	34
1.1. Matériel biologique.....	34
1.1.1. Taxonomie du Lapin.....	34
1.2. Matériel non biologique.....	35
2. Méthodes.....	35
2.1. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes.....	35
2.2. Etude histologique.....	36
2.4. Etude morphométrique.....	42
2.5. Etude statistique.....	43
<b>Chapitre III : Résultats et Discussion.....</b>	<b>44</b>
1. Etude du poids corporel des lapins et du poids absolu et relatif des organes.....	44
1.1. Etude du poids corporel des lapins.....	44
1.2. Etude du poids absolu et relatif des testicules et épидидymes.....	45
2. Histologie et histomorphométrie de l'épididyme.....	47
2.1. Histologie.....	47
2.1.1. Histologie épидидymaire des lapins témoins.....	48
2.1.2. Histologie épидидymaire des lapins traités par vits C et E.....	51
2.1.3. Histologie épидидymaire des lapins traités par LCT.....	54
2.1.4 Histologie épидидymaire des lapins traités pas LCT + vits C et E.....	57
2.2. Histomorphométrie.....	60
2.2.1. Surface des tubes.....	61
2.2.2. Hauteur de l'épithélium.....	62
2.2.3. Diamètre de la lumière.....	63
2.2.4. Espace intertubulaire.....	64
2.2.5. Rapport Epithélium/Lumière.....	65
<b>Discussion.....</b>	<b>66</b>
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>70</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>72</b>
<b>Annexe 1</b>	

## **Introduction**

Près de 12% des couples en âge de procréer rencontrent des difficultés pour avoir des enfants. Dans 20% des cas, l'infertilité est d'origine masculine (**BERRAH, 2011**). Diverses causes en sont à l'origine, parmi elles figure la pollution environnementale qui agit par le biais de molécules chimiques, comme les pesticides. Ces derniers engendrent un stress oxydatif, qui est défini comme étant un état de déséquilibre entre la production d'espèces réactives et l'action des défenses antioxydantes de l'organisme (**SIES., 1991**).

Le stress oxydatif induit des altérations membranaires et nucléaires entraînant une perte de mobilité et une diminution du pouvoir fécondant du spermatozoïde, facteurs de risques de faible taux de fécondation, d'anomalies du développement préimplantatoire et de fausses couches (**METHORSTA et al., 2014**).

Les vitamines, en tant qu'antioxydants majeurs, ont pour rôle la neutralisation des ERO (Espèces Réactives Oxygénés) et la réduction des dommages oxydants. Parmi les molécules antioxydantes pouvant empêcher la formation non contrôlée des radicaux libres ou leur réaction aux sites biologiques et également leur destruction pour prévenir l'oxydation des antioxydants endogènes, figure la vitamine C et la vitamine E (**DJEFFAL, 2014**).

La vitamine C, encore appelée acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble qui ne peut être synthétisée par l'organisme, ce qui rend indispensable son apport exogène. L'acide ascorbique est le plus puissant agent réducteur physiologique, il inhibe la formation des nitrosamines, augmente l'absorption du fer et renforce les effets immunitaires et anti-infectieux (**LE MOEL, 2004**).

La vitamine E quant à elle, est une substance organique liposoluble. Elle joue un rôle important dans l'organisme grâce à ses propriétés antioxydantes : elle prévient les réactions chimiques néfastes qui sont provoquées par les radicaux libres et impliquées dans la survenue de nombreuses pathologies (**LEBOULANGER, 1984**).

Les pesticides sont des produits destinés à lutter contre les parasites animaux et végétaux indésirables des cultures, des plantes des voiries et espaces de loisirs. Ils sont constitués d'une ou plusieurs substances actives associées à des agents de formulation et peuvent être dommageables pour la santé et l'environnement à cause de leur toxicité.

Les pyréthrinoides font partie des insecticides les plus usuels. Elles sont extraites des fleurs de chrysanthème et agissent sur le système nerveux des insectes provoquant leur paralysie rapide et leur mort (**HEMINGWAY et al., 2004**).

La lambda-cyhalothrine fait partie de la famille des pyréthrinoides de synthèse de type II. Il a été démontré qu'elle affecte plusieurs tissus de l'organisme, parmi eux, nous citerons l'épithélium épидидymaire (**ZOUMENOU et al., 2015**).

L'épididyme est un organe de l'appareil reproducteur masculin jouant un rôle très important dans la fertilité des mâles. À leur sortie du testicule, les spermatozoïdes sont fonctionnellement immatures et ce n'est qu'au cours de leur transit à travers l'épididyme qu'ils acquièrent progressivement la capacité à se mouvoir et à féconder un ovocyte (**BEDFORD, 1976**).

Le présent travail a pour principal objectif de rechercher l'effet de l'administration subaiguë de lambda cyhalothrine seule ou compléter par les deux vitamines C et E sur l'architecture tissulaire de l'organe de maturation des spermatozoïdes « l'épididyme » en étudiant l'histopathologie et l'histomorphométrie de l'épithélium épидидymaires chez le lapin de souche locale (*Oryctolagus cuniculus*).

Ce manuscrit est scindé en deux parties essentielles. La première partie, essentiellement descriptive, présente une synthèse bibliographique, à travers laquelle nous introduisons des généralités sur l'épididyme, l'organe de maturation des spermatozoïdes, des généralités sur les pesticides, leur classification et leur impact sur la santé humaine, puis la famille des pyréthrinoides et enfin des généralités sur les vitamines C et E.

Dans la deuxième partie de ce manuscrit, nous avons décrit le protocole expérimental suivi pour la réalisation de ce travail et nous avons présenté et discuté les différents résultats obtenus.

Enfin, nous concluons cette étude en mettant en lumière les principaux résultats obtenus et quelques perspectives.

*Chapitre I : Données  
bibliographiques*

Dans cette première partie, nous développons des rappels anatomo-structuro-fonctionnels de l'organe génital mâle chez les mammifères.

## 1. Généralités sur l'appareil génital mâle

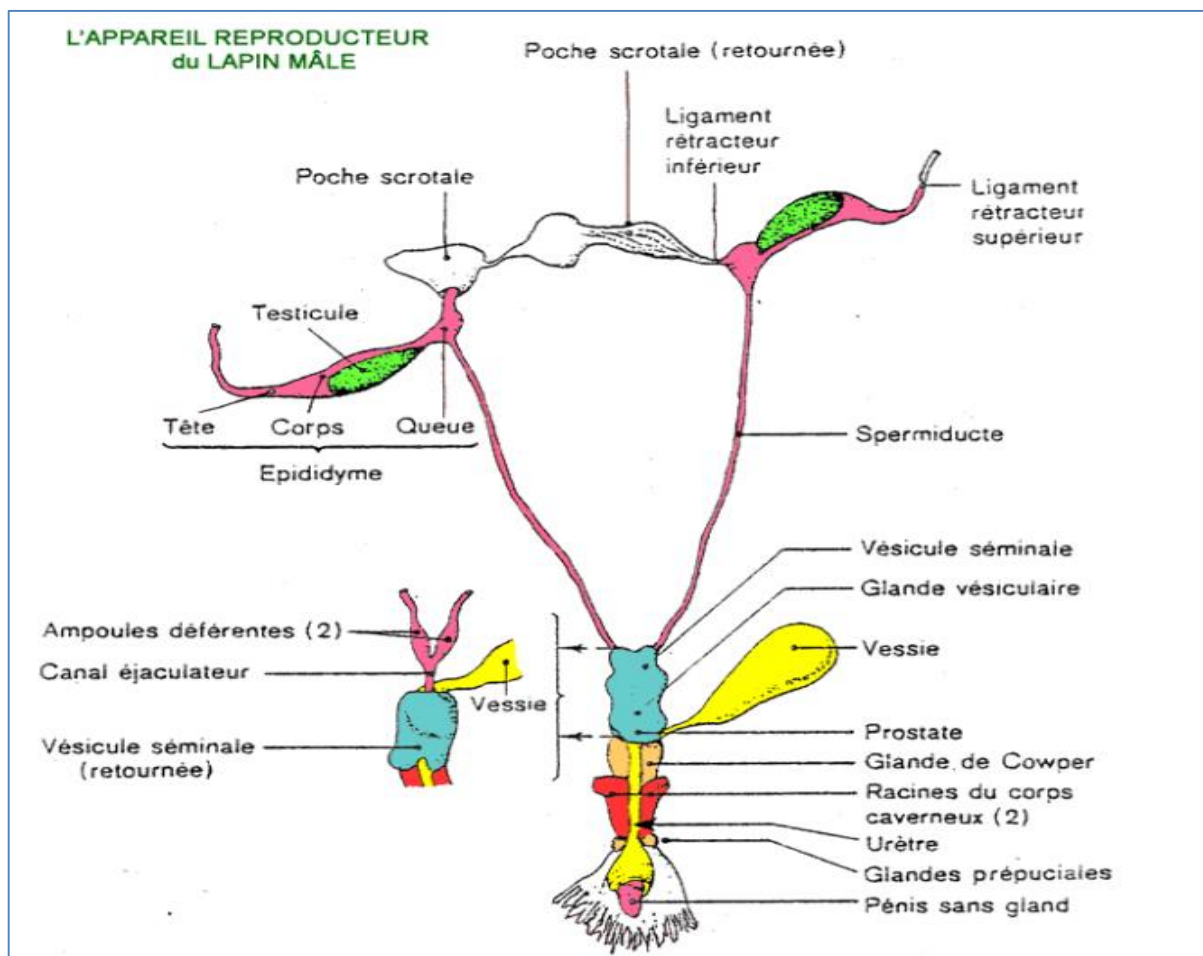
### 1.1. Anatomie du tractus génital mâle du lapin

L'organe reproducteur du lapin mâle se compose de différentes structures. L'une d'entre elles est le testicule, qui est composé des parties suivantes :

**a. Scrotum (poche des testicules) :** il est localisé dans la région inguinale, ventral par rapport à l'anus, et peut être comparé à un sac entouré de peau et composé de muscles ou de tissu conjonctif. Il contient le testicule.

**b. Testicules :** ils représentent la glande reproductrice, composée de boucles tubulaires, lobules et d'un plexus tubulaire central. Les lobules tubulaires sont composés de lignées de cellules qui développent le sperme, à travers un processus de divisions cellulaires (méioses) et de maturation.

**c. Epididyme :** c'est un tube enroulé situé à la surface des testicules (QUESENBERRY *et al.*, 2004). La position relative des différents organes est indiquée sur la **figure 1**.

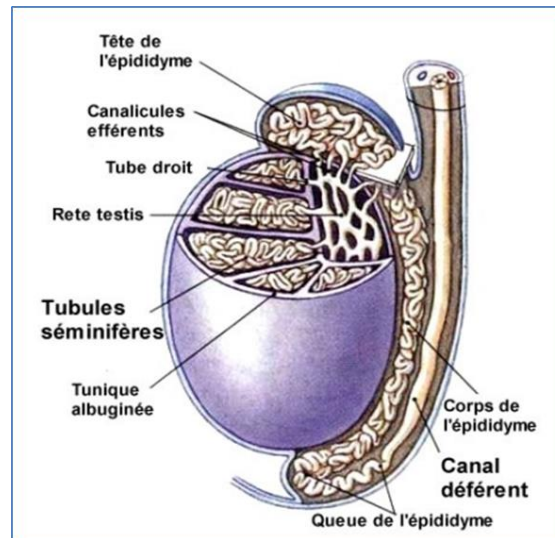


**Figure 1 :** Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (LEBAS *et al.*, 1996).

## 1.2. Généralités sur l'épididyme

### 1.2.1. Anatomie

L'épididyme est un long canal contourné (5 m chez l'homme, 60 m chez le verrat et 80 m chez l'étaalon) accolé à la face postérieure du testicule, reliant les canaux efférents au canal déférent (**Figure 2**). La paroi de ce tube est entourée d'une mince couche de fibres musculaires lisses dont les contractions permettent le transit des spermatozoïdes (**DACHEUX ET DACHEUX, 2001**).

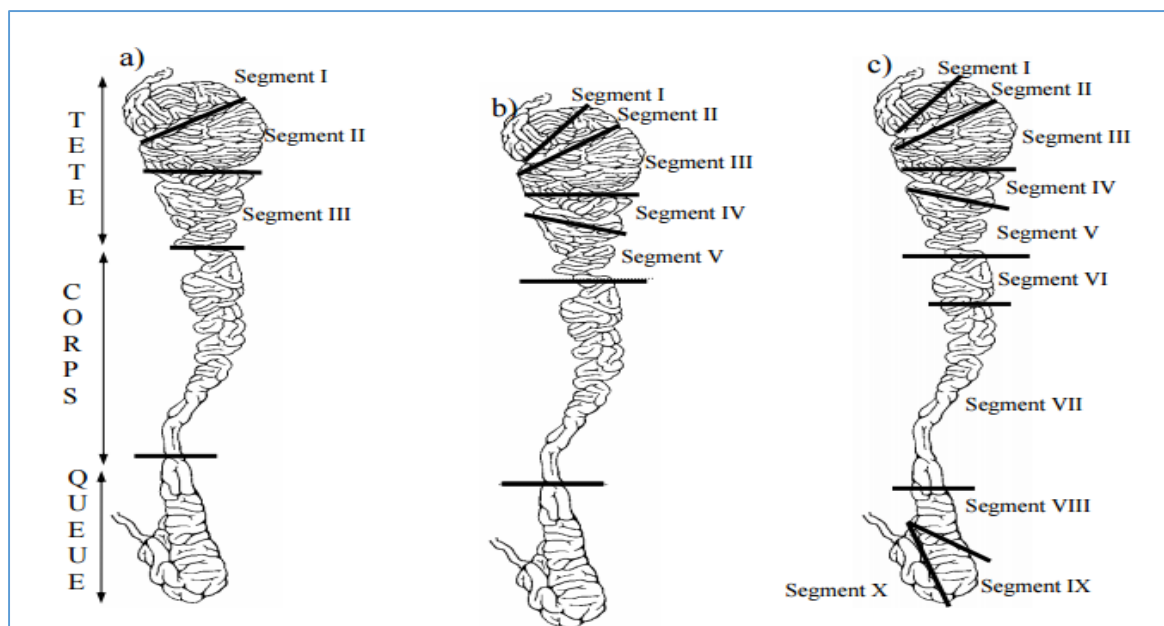


**Figure 2** : Représentation schématique de l'épididyme et du testicule (**MULLER et CLOS, 1997**).

L'épididyme est divisé en trois régions anatomiques et fonctionnelles (**Figure 3**) : la tête (faisant suite aux canaux efférents), le corps et la queue (précédant le canal déférent). Plus précisément, chez la souris, la tête de l'épididyme est constituée de cinq segments, qui diffèrent dans la hauteur de l'épithélium, la position du noyau dans les cellules, les caractéristiques cytologiques et histochimiques des cellules apicales et principales, ainsi que par la concentration de spermatozoïdes dans la lumière du canal (**ABOU-HAILA et FAIN-MAUREL, 1984**).

Le corps et la queue peuvent être respectivement subdivisés en deux et trois segments. L'étude transcriptionnelle globale de ces segments a permis de mettre en évidence qu'ils sont quasiment tous indépendants du point de vue de la synthèse de messagers. En effet, transcriptionnellement, l'épididyme peut être divisé en dix segments, I, II, III, IV-V-VI, VII, VIII-IX-X (**JOHNSTON et al., 2005**).

Cette subdivision repose sur des analyses ultrastructurales, ainsi que sur l'étude des activités enzymatiques et transcriptionnelles de l'organe (**TAKANO, 1980**).



**Figure 3** : Evolution de la régionalisation épидидymaire murine (Abe *et al.*, 1983 (a), Abou-Haila et Fain-Maurel, 1984 (b), et Johnston *et al.*, 2005 (c)).

### 1.2.2. Histologie

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : un épithélium pseudo stratifié, entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses et du tissu conjonctif, contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins, et une lumière bordée par cet épithélium (ROBAIRE et HERMO, 1988).

Différents types cellulaires constituent l'épithélium épидидymaire. Certaines cellules sont retrouvées sur toute la longueur du canal, alors que d'autres sont plus spécifiques d'une région, elles présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Tableau 1).

Les types cellulaires retrouvés dans l'épithélium épидидymaire : les cellules principales, apicales, claires, en halo et basales (Figure 4) (ROBAIRE et HERMO, 2002).

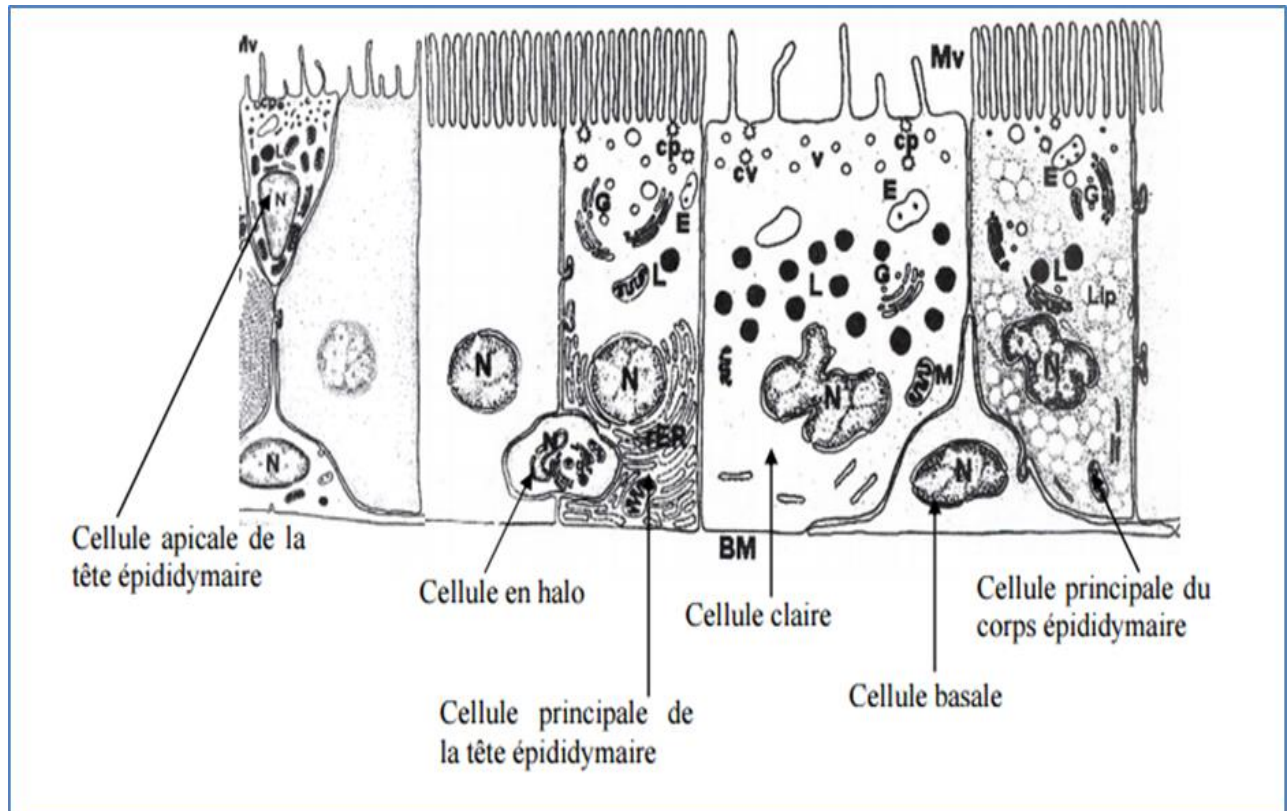
#### a. Cellules principales

Les cellules principales encore appelées cellules stéréciliées sont les plus représentées au niveau de l'épithélium épидидymaire. Elles représentent 65-80% de la population des cellules épithéliales épидидymaires totales. Ces cellules sont retrouvées dans la totalité du canal, mais présentent des variations structurales selon la région épидидymaire (ROBAIRE et HERMO, 2002).

Ces cellules présentent un noyau basal, ainsi que des stérécils qui diminuent en longueur entre la tête et la queue épидидymaire. De plus, la hauteur des cellules diminue, alors que leur largeur

augmente tout au long du canal. Cette variation concerne aussi la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôle apical (**JONES et al., 1979**).

Ces cellules prismatiques sont très actives quant au transport et à la sécrétion de petites molécules organiques, la synthèse et la sécrétion de protéines, et à l'absorption du fluide épидидymaire (**COOPER, 1998**).



**Figure 4** : Représentation schématique des différents types cellulaires épидидymaire de mammifères (**HERMOS et ROBAIRE, 2002**).

Cp : puits recouverts de clathrine, E : endosomes, L : lysosomes, G : appareil de Golgi, rER réticulum endoplasmique rugueux, lip : gouttelettes lipidiques, Mv : microvillosités, BM : membrane basal, N : noyau, V : petites vésicules apicales.

#### b. Cellules apicales

Elles sont retrouvées principalement dans la tête épидидymaire. Ces cellules ont un noyau sphérique en position apicale, d'où leur qualification. Leur cytoplasme est dense, très riche en mitochondries (**MARTINEZ-GARCIA et al., 1995**).

Elles sont capables d'endocyter des substances contenues dans la lumière (**ROBAIRE et HERMO, 2002**), et interviendraient dans l'acidification du fluide épидидymaire (**MARTINEZ-GARCIA et al., 1995**).

**c. Cellules claires**

Les cellules claires sont des cellules larges, présentent essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme. Elles contiennent des vésicules de tailles diverses dans leur région apicale, des lysosomes dans leur région médiane, et des gouttelettes lipidiques dans leur partie basale (**ROBAIRE et VIGER, 1995**).

Cette distribution d'organites est cohérente avec une fonction d'élimination active de matériel depuis la lumière épидидymaire. En effet, elles présentent une forte capacité d'endocytose (**ROBAIRE et VIGER, 1995**). De plus, à l'instar des cellules apicales, un rôle dans l'acidification du fluide épидидymaire a été proposé pour les cellules claires (**HERMO et al., 2000**).

**d. Cellules en halo**

Les cellules en halo sont de petites cellules présentes sur toute la longueur de l'épididyme, généralement situées à la base de l'épithélium (**HERMO et ROBAIRE, 2002**). Identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natal, ces cellules sont disséminées tout le long du canal épидидymaire. Elles pourraient intervenir dans la réponse immune innée de ce tissu qui échappe à la réponse immune adaptative à cause de la barrière hémato-épидидymaire (**SERRE et ROBAIRE, 1999**).

**e. Cellules basales**

Les cellules basales sont de petites cellules allongées réparties tout autour de l'épididyme (**ROBAIRE et VIGER, 1995**). Elles sont présentes sur l'ensemble du canal épидидymaire et représentent 10 à 20% de la population cellulaire épидидymaire totale. Elles ont une forme hémisphérique, adhèrent à la membrane basale et ne semblent pas avoir d'accès direct à la lumière du tube. Leur noyau est irrégulier et leur cytoplasme pauvre en organites (**SORANZO et al., 1982**).

Leur fonction est inconnue mais il semblerait qu'elles jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libres ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à la barrière hémato-épидидymaire (**SEILER et al., 2000**).

**Tableau 1** : Synthèse des caractéristiques structurales et fonctionnelles des différents types cellulaires constituant l'épithélium épидидymaire chez les mammifères.

Type cellulaire	Aspect	Régionalisation	Fonctions
<b>Principales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grandes cellules prismatiques</li> <li>• Aspect variable d'un segment à l'autre</li> </ul>	Tête Corps Queue	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Transport et sécrétion de petites molécules organiques</li> <li>• Synthèse et sécrétion de protéines</li> <li>• Réabsorption du fluide épидидymaire</li> </ul>
<b>Basales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellules petites, allongées</li> <li>• Forme triangulaire</li> <li>• Reposent sur la lame basale</li> <li>• Noyaux irréguliers, cytoplasme pauvre en organites</li> </ul>	Tête Corps Queue	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Élimination des radicaux libres</li> <li>• Protection immunitaire des spermatozoïdes</li> </ul>
<b>En halo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lymphocytes intra-épithéliaux</li> <li>• Monocytes</li> </ul>	Tête Corps Queue	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Défense immunitaire</li> </ul>
<b>Claire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellules larges à l'aspect prismatique</li> <li>• <u>Zone apicale</u> : vésicules claires</li> <li>• <u>Région médiane</u> : lysosome</li> <li>• <u>Région basal</u> : inclusions lipidiques</li> </ul>	Corps  Queue essentiellement	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Absorption de composants du fluide épидидymaire</li> <li>• Endocytose de gouttelettes cytoplasmiques éliminées par les spermatozoïdes</li> </ul>
<b>Apicale</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aspect caliciforme</li> <li>• Noyaux situés dans le tiers apical</li> <li>• Cytoplasme dense, très riche en mitochondries</li> </ul>	Tête, majoritairement dans le segment initial	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sécrétions d'ion H<sup>+</sup></li> <li>• réabsorption de bicarbonates</li> <li>• acidification du fluide épидидymaire</li> </ul>

(Synthèse originale).

#### f. Lumière du canal épидидymaire

Pour rejoindre le système éjaculateur depuis les gonades mâles, les spermatozoïdes transitent à travers l'épидидyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très

complexe : le fluide épидидymaire. Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules.

Mais en raison d'une forte régionalisation tissulaire et cellulaire des activités de synthèse, de sécrétion et réabsorption des cellules épithéliales, la composition du fluide épидидymaire varie tout le long du canal (**HERMOS et ROBAIRE, 2002**).

### **1.2.3. Vascularisation et innervation**

La vascularisation artérielle du testicule et de l'épididyme est assurée par l'artère spermatique naissant de l'aorte abdominale. Cette artère spermatique est-elle même subdivisée en artère testiculaire vascularisant le testicule, artère épидидymaire antérieure vascularisant la tête de l'épididyme et de l'artère épидидymaire postérieure vascularisant le corps et la queue.

L'innervation du testicule vient du système nerveux autonome orthosympathique essentiellement. Il existe deux groupes nerveux issus des ganglions de la chaîne sympathique, le plexus spermatique (*superior spermatic nerve, niveau Th10*) et le plexus différentiel (*inferior spermatic nerve*).

### **1.2.4. Mode de sécrétion de l'épididyme**

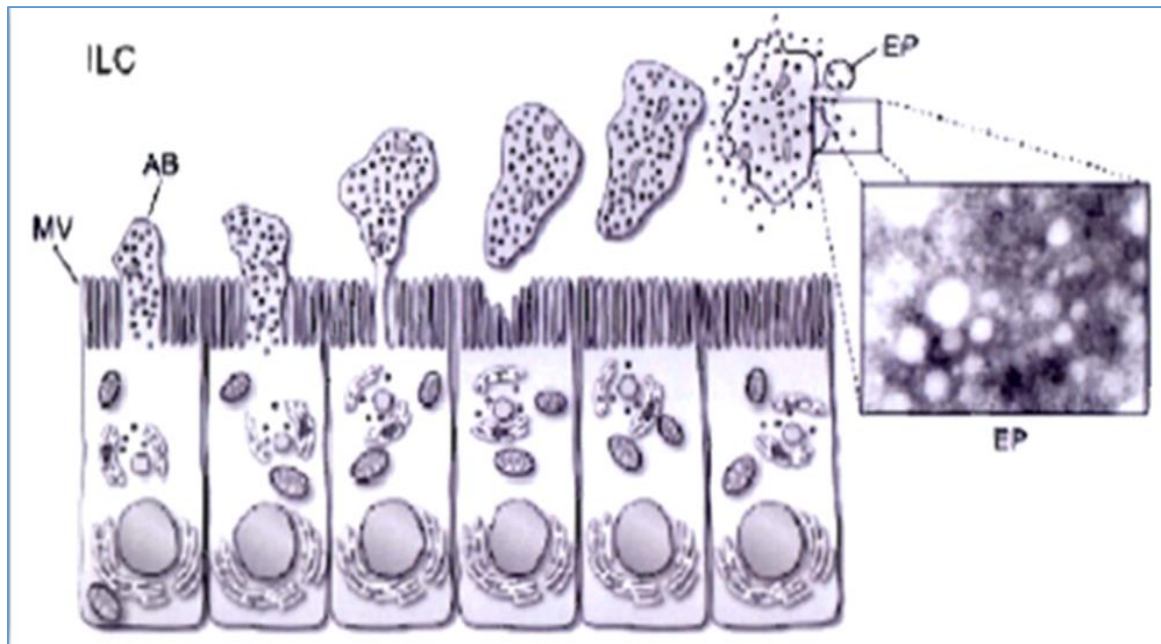
La sécrétion des protéines est réalisée essentiellement par les cellules principales et est accomplie selon deux modes de sécrétions différents : le mode mérocrine et le mode apocrine. (**Figure 5**).

La sécrétion mérocrine est le mode de sécrétion protéique classique (**THIBAUT et LEVASSEUR, 2001**). Effectivement, ce mode de sécrétion se produit dans la plupart des différents types cellulaires y compris les cellules principales de l'épithélium épидидymaire (**SHERWOOD, 2006**).

**La sécrétion mérocrine** implique le mécanisme d'exocytose. Les protéines ne présentent pas d'ancrage membranaire, sont libérées dans la lumière de l'épididyme (**GIROUARD, 2009**).

**La sécrétion apocrine** a été mise en évidence par microscopie électronique dans les cellules principales de l'épididyme et dans le canal déférent et dans différentes glandes telles que la glande mammaire, la prostate et les glandes accessoires (**GIROUARD, 2009**). Les protéines sont plutôt emmagasinées dans une excroissance du cytoplasme apicale, nommée aposome (**REJRAJI et al., 2006**).

Plusieurs de ces aposomes ont été observés dans la lumière de l'épididyme par microscopie électronique. (**REJRAJI et al., 2006**). Ces aposomes contiennent entre autres des ribosomes libres, des vésicules de différentes grosseurs de même que quelques citernes du réticulum endoplasmique. Par la suite, les aposomes se fragmentent et libèrent leur contenu dans la lumière de l'épididyme (**GIROUARD, 2009**).



**Figure 5 :** Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (**GIROUARD, 2009**).

AB : Aposomes ; EP : Epididymoses ; ILC : Compartiment intra-Laminal.

### 1.2.5. Physiologie et fonctions de l'épithélium épididymaire

#### a. Maturation épididymaire

À leur sortie du testicule, les spermatozoïdes sont non fécondants et immobiles. Ils sont également inactifs du point de vue de la synthèse protéique car leur ADN, très fortement condensé depuis les dernières étapes de la spermatogenèse, est soumis à une condensation accrue durant la maturation.

C'est au cours de leur transit à travers l'épididyme, assuré par les contractions des fibres musculaires lisses qui entourent les cellules épithéliales, que les spermatozoïdes acquièrent progressivement l'aptitude à féconder un ovocyte *in vivo*, à se mouvoir, à se maintenir en vie lors de leur stockage dans la queue épididymaire, avant l'éjaculation (**BEDFORD, 1967**).

On parle alors de maturation post testiculaire des gamètes. Ce processus est le résultat d'une constante interaction, tout le long de l'épididyme, entre les spermatozoïdes immature et le fluide intraluminal, microenvironnement spécifique créé par les activités d'absorption et de sécrétion des cellules épididymaires.

En raison de la spécificité tissulaire, la composition du fluide épididymaire est propre à chaque région, à chaque segment qui constitue l'épididyme, créant un environnement luminal unique, en chaque point de ce long canal circonvolutionné.

Ainsi les spermatozoïdes rencontrent un environnement unique en chaque point parcouru au sein de cette lumière (OLSON *et al.*, 2002).

Les spermatozoïdes subissent lors de ce transit de nombreuses modifications morphologique et biochimiques. Ceci se traduit essentiellement par l'acquisition de la mobilité et la modification de protéines membranaire du spermatozoïde (EDDY *et al.*, 2003).

#### **b. Fluide épидидymaire**

Le fluide épидидymaire da part sa composition très variée, riche en protéines, ions divers, inositol, L-carnitine et en acide sialique (RIAR *et al.*, 1973) provenant du sang ou sécrétés par l'épithélium, participe à la survie et au maintien de l'intégrité des spermatozoïdes (BRITAN, 2006).

#### **c. Réabsorption d'eau, d'ions et des protéines**

L'épithélium épидидymaire réabsorbe l'eau, les ions et les protéines présents dans le fluide testiculaire, particulièrement dans les premières régions épидидymaires, entraînant une concentration des spermatozoïdes.

La réabsorption de l'eau se fait en association avec les mouvements des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  réabsorbés et des ions  $\text{K}^+$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  sécrétés, ce qui aboutit à une diminution du rapport Na/K d'un facteur 10 entre la tête et la queue de l'épидидyme.

La majorité des protéines présentes dans le fluide testiculaire sont réabsorbées par endocytose fluide ou spécifique, ou par transcytose, et sont remplacées par de nouveau composés sécrétés par les cellules épithéliales (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001).

#### **d. Sécrétion de substances organiques et concentration de substance sanguines dans la lumière du tube**

L'épithélium épидидymaire sécrète des protéines telle que la Glycéryl Phosphoryl Choline (GPC) et des protéines spécifiques, où la plus part sont des enzymes, phosphatases acides et alcalines, glucosidases, glycosyl transférases qui peuvent modifier le fluide épидидymaire et la membrane des spermatozoïdes au cours du transit épидидymaire ; les glucosidases et les protéases procathépsine L quant à elles modifient la membrane des spermatozoïdes et assurent la maturation épидидymaire (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001).

La fonction de concentration de substances sanguines dans la lumière tu tube de l'épithélium épидидymaire est illustrée par la concentration en carnitine et acetylcarnitine dans le fluide épидидymaire. La carnitine produite par le foie, véhiculée par le sang et réabsorbé par transport actif est concentrée dans la lumière du tube.

Il semble qu'elle soit transformée en acétylcarnitine, et utilisée comme substrat énergétique pour la mobilité des spermatozoïdes (**THIBAUT et LEVASSEUR, 2001**).

#### **e. Modifications morphologiques des spermatozoïdes**

Dans la partie proximale de la tête de l'épididyme, l'acrosome des spermatozoïdes est long et large et présente des gouttelettes cytoplasmiques sur la pièce intermédiaire, près de la tête. Au cours du transit, l'acrosome se raccourcit, la gouttelette cytoplasmique glisse le long de la pièce intermédiaire et la densité des spermatozoïdes s'accroît. Dans la queue de l'épididyme, les spermatozoïdes ont un acrosome réduit et n'ont plus de gouttelette cytoplasmique (**BELFORD, 1936**).

### **1.2.6. Mobilité et stockage des spermatozoïdes**

#### **a. Acquisition de la mobilité des spermatozoïdes**

À la sortie du testicule et au niveau de la tête antérieure, les spermatozoïdes sont immobiles. Dans la tête distale, les cellules présentent une courbure statique avec oscillations de l'extrémité du flagelle sans déplacement. Dans le corps apparaissent les mouvements transitoires caractérisés par une grande courbure ce qui va entraîner des mouvements circulaires et erratiques. Dans la région caudale, les cellules présentent un mouvement mature caractérisé par une distribution symétrique des ondes de part et d'autre des flagelles permettant une trajectoire rectiligne (**YANAGIMACHI, 1994**).

#### **b. Contrôle endogène et exogène de la mobilité des spermatozoïdes**

Le contrôle de cette mobilité dépend des facteurs exogènes et endogènes. L'apparition de la mobilité est associée à l'augmentation intracellulaire de l'AMPc (**PARISET *et al.*, 1985**) et des protéines kinases AMPc dépendantes et à la diminution du  $Ca^{++}$  et de la calmoduline. Les facteurs responsables du déclenchement de la mobilité ne sont pas encore connus, mais la phosphorylation des protéines dépendantes de l'AMPc pourrait intervenir (**EDDY *et al.*, 2003**). Chez certaines espèces, les spermatozoïdes maintiennent leur mobilité au niveau de la partie caudale grâce aux éléments fournis par le fluide épидидymaire. Chez d'autres espèces, les spermatozoïdes sont immobiles, cet état de sommeil des spermatozoïdes est lié en partie aux contraintes mécaniques comme l'augmentation de la viscosité du fluide épидидymaire suite à l'augmentation de la concentration de l'immobiline. Lors de l'éjaculation, l'immobiline est soit diluée par les sécrétions des glandes séminales, soit dégradée par des protéases présentes dans ces sécrétions ce qui permettrait aux spermatozoïdes de devenir motile (**EDDY *et al.*, 2003**). Au niveau de l'épididyme, les spermatozoïdes subissent de nombreuses modifications morphologiques et biochimiques assurant leur maturation (**USSELMAN et CONE, 1983**).

### c. Stockage des spermatozoïdes

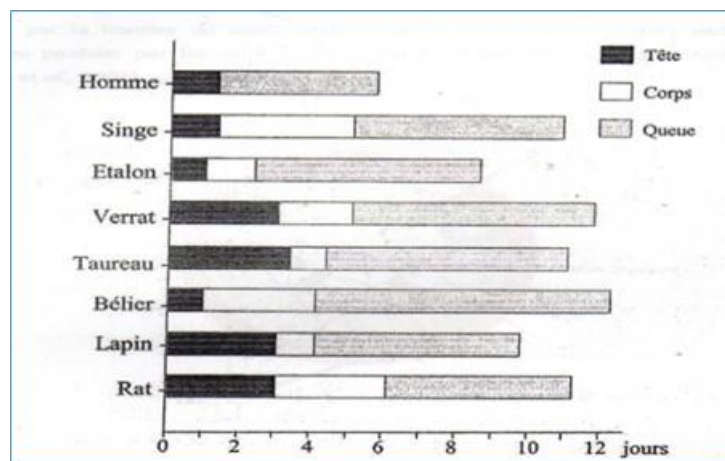
L'épididyme et le lieu de stockage des spermatozoïdes. Le stock total de  $1000 \times 10^6$  spermatozoïdes est répartie comme suit :  $275 \times 10^6$  dans la tête et le corps,  $650 \times 10^6$  dans la queue de l'épididyme et  $50 \times 10^6$  dans le canal déférent. Néanmoins, le stock des spermatozoïdes au niveau de la queue épидидymaire, varie selon l'activité sexuelle et la durée de la photopériode (ALVARINO, 1993).

### d. Autre fonction de l'épithélium épидидymaire

La protection des spermatozoïdes matures, qui sont les cibles de multiples agressions. La barrière hémato-épидидymaire les protège contre les attaques du système immunitaire et certaines protéines sécrétées par l'épithélium ont, quant à elles, une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatifs. Elles protègeraient ainsi les spermatozoïdes de dommages protéolytiques, qui pourraient avoir lieu lors d'une libération prématurée des enzymes acrosomiales durant le transit épидидymaire (POLLANEN et COOPE, 1994).

#### 1.2.7. Durée du transit dans l'épididyme

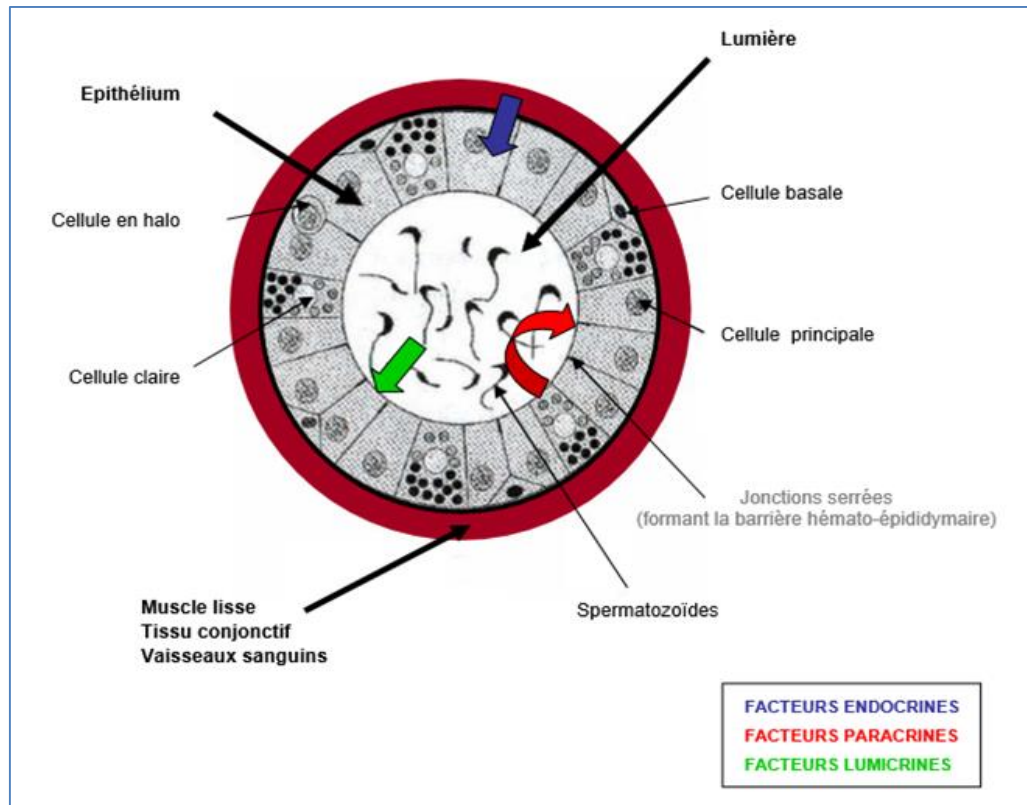
Selon ALVARINO (1993), le transit dans l'épididyme dure 8 à 10 jours, dont 2 jours au niveau de la tête, 2 jours dans le corps et 5 à 6 jours dans la queue du conduit épидидymaire. Chez le lapin par exemple, la durée du transit est de 10 jours, 3 jours dans la tête, 1 jour dans le corps et 6 jours dans la queue (ROBAIRE et HERMOS, 1988) (Figure 6).



**Figure 6** : Durée du transit (en jours) des spermatozoïdes dans la tête (noir), le corps (clair) et la queue (gris) de l'épididyme chez différentes espèces (ROBAIRE et HERMO, 1988).

### 1.2.8. Régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire

La régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire fait appel à un réseau complexe de molécules biochimiquement très variées et d'origines diverses, qui vont agir spécifiquement au niveau des cellules de l'épithélium épидидymaire pour réguler l'expression de gènes-cibles, et par conséquent, agir sur les fonctions physiologiques de cet organe (ROBAIRE *et al.*, 2003) (Figure 7).



**Figure 7** : Représentation schématique de l'organisation cellulaire de l'épithélium épидидymaire de rat en coupe transversale et des différentes voies de régulation des fonctions épидidymaires (ROBAIRE *et al.*, 2003).

#### 1.2.8.1. Les contrôles endocriniens

##### 1.2.8.1.1. Les androgènes :

L'action de ces hormones stéroïdes, et notamment de la testostérone, arrivant par la voie sanguine liées à la SBP (*sexsteroid-bindingprotein*) (MERCIER-BODARD *et al.*, 1970) et par le fluide testiculaire liée à l'ABP (*androgenbindingprotein*) (BROOKS., 1981 ; HOLLAND *et* ORGEBIN-CRIST., 1988) au niveau épидидymaire, est médiée par la 5 $\alpha$ -dihydrotestostérone (DHT), obtenue après conversion de la testostérone par la 5 $\alpha$ -réductase de

type I et II, principalement au niveau du segment initial (ROBAIRE et HERMO., 1988 ; ROBAIRE et AL., 2000 ; EZER et ROBAIRE., 2003).

Les récepteurs au androgènes sont présents au niveau des cellules principale de toutes les régions de l'épididyme chez la souris (ZHOU et al., 2006), les caprins (GOYAL et al., 1997), le rat (ZHU et al., 2000) et l'étalon (PARLEVIET et al., 2006) ; ces récepteurs sont présents au niveau des cellules principales, des cellules basales et les cellules musculaires lisses chez le verrot (PEARL et al., 2006).

Les androgènes sont important pour plusieurs fonctions de l'épididyme ; ils sont nécessaire pour le maintien de la morphologie des cellules principales et préviennent leur apoptose (EZET et ROBAIRE, 1998), l'expression et la sécrétion des protéines (SYNTIN et al., 1999), le transport des ions et des molécules organiques comme la L-Carnitine, la régulation des protéines qui interviennent dans le remodelagemembranaire, la régulation des ions et des protéines intervenant dans la motilité des spermatozoïdes (BRIZ et al., 1995), l'expression des protéines intervenant dans le stockage des spermatozoïdes au niveau de la queue et de la glycosylation des protéines (CASTELLON et HUIDOBRO., 1999).

#### 1.2.8.1.2. Les œstrogènes

Les œstrogènes présentent une importance majeure dans la fertilité puisque l'inactivation du RE chez la souris induit un phénotype épидидymaire anormal (EDDY et al., 1996) et une infertilité (HESS et al., 1997) suite à un retard dans l'absorption du fluide au niveau des canaux efférents.

Il est clairement bien connu que les œstrogènes interviennent dans l'absorption du fluide luminal, la transition pubertaire (PARLEVIET et al., 2006), l'expression des protéines comme la lactoferrine (YU et CHEN, 1993), la cystatine 12 (LI et al., 2005), le R-OT chez le lapin (FILIPPI et al., 2002), et probablement elles interviennent dans le remodelage membranaire et le stockage puisque par traitement par les E-antagonistes les spermatozoïdes ne sont pas mobiles chez le singe (SHAYU et al., 2005). La source des œstrogènes au niveau du système reproducteur est la cellule de Sertoli chez les animaux immatures (PAYNE et al., 1976 ; CARREAU et al., 1999 ; 2007).

#### 1.2.8.1.3. Les hormones corticosurréaliennes

Les minéralocorticoïdes (corticostérone et surtout à 95% l'aldostérone), glucocorticoïdes (Cortisol) et gonadocorticoïde (déhydropandrostérone) sont synthétisés

respectivement par la zone glomérulée, fasciculée et réticulée de la cortico-surrénale. Ces hormones dérivent du cholestérol et agissent toutes via des récepteurs nucléaires spécifiques pour réguler l'activité transcriptionnelles des cellules cibles. Des études ont montrés que les récepteurs au minéralocorticoïdes et au glucocorticoïdes étaient exprimés au niveau des cellules cibles de l'épithélium épидидymaire (PEARCE *et al.*, 1986 ; HINTO et KEEFER, 1985 ; SCHULTZ *et al.*, 1993) suggèrent une action de l'aldostérone, dans l'absorption de l'eau et le contrôle des mouvements d'ions entre la lumière et les cellules épithéliales épидидymaires (AU *et al.*, 1978 ; TURNET et CESARINI, 1983 ; JENKINS *et al.*, 1983).

#### 1.2.8.1.4. Les hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes (tri-iodothyronine [T3], thyroxine ou tétra-iodothyronine [T4]) jouent un rôle important dans les fonctions épидидymaire. L'action de ces hormones, et en particulier de T3, est médiée par un récepteur nucléaire, dont on a montré l'expression au niveau des cellules épидидymaire de rat (DEL RIO *et al.*, 2000).

Les animaux présentant une hypo-thyroïdie souffrent d'une diminution du nombre et de la motilité des spermatozoïdes ainsi que d'une atteinte sévère de la morphologie et de l'histologie de leur épидидyme, caractérisée par une diminution de l'activité mitotique, une vascularisation insuffisante, une diminution de la taille des noyaux et une décondensation de la chromatine (DEL RIO *et al.*, 2000).

De même l'hyperthyroïdie cause, chez des rats mâles pré pubères, de nombreux changements au niveau de la composition en lipides épидидymaire et une diminution du nombre et de la motilité des gamètes (KUMAR *et al.*, 1996).

Par conséquent, ces hormones apparaissent essentiellement au maintien de l'intégrité des fonctions épидидymaire.

#### 1.2.8.1.5. La prolactine (Prl)

La prolactine est une hormone hypophysaire impliquée dans diverses fonctions biologique dont la fonction testiculaire (REGISFORD et KATZ., 1993). Chez les rongeurs elle stimule la sécrétion de la testostérone via la maintien du récepteur du LH au niveau de la cellules de Leydig (TAKASE *et al.*, 1998). R-Prl a été exprimé au niveau de l'épithélium épидидymaire du cerf rouge (JABBOUR *et al.*, 1998). Elle maintient le poids épидидymaire, promeut les échanges du fluide le long de l'épithélium épидидymaire (BRUMLOW et ADAMS., 1990).

#### 1.2.8.1.6. L'ocytocine (OT)

L'ocytocine (OT) présente dans l'épididyme, contrôle la progression du sperme le long de l'appareil génital. Chez l'homme, le gène du R-OT est exprimé au niveau de l'épithélium épидидymaire, il n'est plus exclusif aux cellules musculaires lisses (**FILIPPI et al., 2002**). Des résultats similaires ont été observés chez l'étalon (**WATSON et al., 1998**).

L'OT intervient dans la motilité et la progression du sperme d'où son usage pharmacologique dans le traitement des patients oligoazoospermiques (**ROLF et al., 2000 ; FILIPPI et al., 2002**).

L'OT jouerait un rôle de démarreur de l'émission du sperme au cours de l'éjaculation. Il semblerait que l'endothéline (ET) et OT agissent en synergie puisque les antagonistes de l'ET réduisent la contractilité induite par l'OT (**ORLANDO et al., 1990 ; MAGGI et al., 1993**).

#### 1.2.8.1.7. L'inhibine, l'activine, la follistatine

Il est bien connu que l'inhibine disparaît après castration (**ISHIDA et al., 1990**) tandis que l'activine reste inchangée (**MACFARLANE et al., 1996**) ce qui laisse suggérer une origine extra-gonadique. Chez l'homme, les cellules principales expriment l'activine, la follistatine et la sous-unité de l'inhibine (**BAHATHIQ et al., 2005**). Il semblerait que ces molécules interviennent dans la maturation du sperme et le pouvoir fécondant durant le transit et le stockage des spermatozoïdes (**BAHATHIQ et al., 2005**).

#### 1.2.8.1.8. La mélatonine

La progression des spermatozoïdes au cours de leur maturation post-testiculaire est liée aux contractions péristaltiques exercées par le canal épидидymaire qui reçoit une innervation sympathique modulée par la mélatonine. La mélatonine (N-acétyl-5-méthoxytryptamine) est une hormone synthétisée et libérée par la glande pinéale dans l'obscurité. Elle agit via des récepteurs spécifiques, MEL1A et MEL 1B, dont on a montré l'expression au niveau des cellules épithéliales de corps de l'épididyme de rat (**LI et al., 1998**). L'expression et l'activité de ces récepteurs sont sous le contrôle des androgènes (**SHIU et al., 1996**). De par sa liaison à son récepteur, la mélatonine stimule la prolifération de ces cellules épithéliales épидидymaire. Cet effet est dépendant de la concentration et du temps d'exposition à l'hormone (**LI et al., 1999 ; SHIU et al., 2000**).

### 1.2.8.2. Contrôle paracrine et /ou autocrin

#### 1.2.8.2.1 Angiotensine II

L'épididyme semble posséder tous les éléments nécessaires à la synthèse locale d'angiotensine II, à savoir une synthèse rénine-angiotensine qui lui serait propre, puisque l'angiotensine I, l'angiotensine II, l'ACE (**WONG et UCHENDU, 1990, 1991**) et l'angiotensinogène (précurseur) (**LEUNG et al., 1999, 2000**) ont été mis en évidence au niveau de l'épididyme.

L'angiotensine II est plus précisément localisée au niveau des cellules basales de l'épithélium épididymaire (**ZHAO et al., 1996**). Il existe deux types de récepteurs AT1 et AT2, localisés au niveau de la membrane basale des cellules principales (**GROVE et SPETH, 1989 ; LEUNG et al., 1997**). Une étude a été réalisée par **LEUNG et al., (1997)**, où il a été démontré que l'angiotensine II via les récepteur AT1, stimule le transport des spermatozoïdes, le fluide épididymaire et régule la balance électrolytique nécessaire pour la maturation des spermatozoïdes ; tandis que le rôle des AT2 reste incertain chez l'adulte. Ceci laisse suggérer une action paracrine/autocrine de l'angiotensine II au niveau de l'épithélium épididymaire, où une fois libérée par les cellules basales, elle stimulerait les cellules principales et leur fonction de sécrétion.

#### 1.2.8.2.2. Ions et eau

Les cellules épithéliales épididymaire participent activement à la formation du fluide épididymaire (**ORGBIN-CRIST, 1967 ; WONG et al., 2001**). La sécrétion du fluide à l'intérieur de la lumière épididymaire est contrôlée par un transport actif secondaire d'ion Cl<sup>-</sup> par l'intermédiaire des canaux CFTR, canaux Cl<sup>-</sup>, activés par l'AMPc et localisés à la surface des cellules principales épididymaires (**HUANG et al., 1992 , 1993 ; LEUNG et WONG, 1994**). Le calcium à l'origine de ce phénomène sécrétoire.

Ces canaux ioniques sont primordiaux dans la physiologie épididymaire notamment dans la fonction sécrétrice de cet organe responsable de la formation du fluide épididymaire et donc de manière indirecte, dans la maturation gamétique. Ils agissent en synergie avec d'autres protéines membranaires, les aquaporines, impliquée dans la réabsorption d'eau du compartiment luminal vers le compartiment épithélial (**WONG et al., 1999**).

Comme les canaux efférents, responsables de la réabsorption de plus de 90 % du fluide testiculaire (**CLULOW et al., 1994**), le segment initial de l'épididyme est pleinement impliqué

dans ce phénomène (CLULOW *et al.*, 1998). L'importance de cette fonction est majeure, à savoir qu'elle permet d'augmenter la concentration spermatique, dans le but de faciliter leur maturation et stockage au sein de l'épididyme (ILO et HESS, 1994 ; HESS, 2002 ; HESS *et al.*, 2002).

### 1.2.8.3. Contrôle lumicrine

#### 1.2.8.3.1. Endothéline (ET)

L'endothéline a été localisée au niveau du fluide séminal chez l'homme (CASEY *et al.*, 1992). D'autres études ont montré sa production par la cellule de Sertoli chez le rat (FANTONI *et al.*, 1993). La présence des R-ET et l'enzyme de conversion de l'ET au niveau de l'épididyme humain laisse supposer qu'elle est responsable de la progression du sperme, par la stimulation de l'activité contractile de l'épididyme (PERI *et al.*, 1997).

#### 1.2.8.3.2. Androgènes

Acheminés par le fluide testiculaire, complexés à l'ABP (*androgenbindingprotein*), les androgènes ont une action lumicrine au niveau de l'épididyme pour contrôler les fonctions physiologiques de cet organe (BROOKS, 1981 ; HOLLAND et ORGEBIN-CRIST, 1988).

#### 1.2.8.3.3 Facteurs de croissances

L'analyse de la composition du fluide testiculaire dévoile dans un premier temps une grande richesse en facteurs de croissance. Bien que l'identification de tous ces facteurs reste incomplète, leur importance dans le maintien de l'épithélium épидидymaire a clairement été prouvée (ABE *et al.*, 1984).

Les principaux facteurs de croissances, ayant une action au niveau de l'épididyme supposée ou plus ou moins démontrée sont :

- PDGF (*Platelet-DerivedGrowth Factor*),
- HGF(*HepatocyteGrowth Factor*),
- VEGF (*VascularEndothelialGrowth Factor*),
- NGF (*NervGrowth Factor*).

Dans cette seconde partie, nous allons présenter des généralités sur les pesticides.

## 2. Généralités sur les pesticides

### 2.1. Définition

La réglementation algérienne définit le pesticide à travers l'article 2 de la loi algérienne du **journal officiel N° 87-17 du 1 aout 1987** relative à la protection phytosanitaire désigne un pesticide ou produit phytosanitaire comme : « substance ou mélange de substances destinées à repousser, détruire ou combattre les organismes, en vue de la protection ou de l'amélioration de la production végétale. Le terme comprend les agents biologiques, les régulateurs de croissance, les correcteurs de carence, les défoliants, les agents de dessiccation, les agents d'éclaircissage ainsi que les substances appliquées sur les cultures avant ou après récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport» (**Anonyme 1, 1987**).

### 2.2. Classification

La grande majorité des pesticides utilisés sont des produits phytopharmaceutiques, principalement utilisés en milieu agricole. Celles-ci sont habituellement classées par famille en fonction de leur structure chimique : organochlorés, organophosphorés, carbamates, thiocarbonates, pyréthriinoïdes, urées substituées, phénoxyherbicides, pyridines, etc.

Elles peuvent être également regroupées selon leurs cibles principales qui sont pour la majorité d'entre elles des végétaux, des champignons ou des insectes considérés comme nuisibles à l'agriculture. On détermine les principales classes suivantes de pesticides : les insecticides, les herbicides, les fongicides, les rodenticides, les molluscicides et les fumigants. (**Tableau 2**) (**BOLAND et al., 2004**).

### 2.3. Composition

Un pesticide est composé de plusieurs substances :

- Une (ou plusieurs) matière active : c'est la matière active qui donne au pesticide un effet toxique. Les propriétés d'un pesticide découlent pour l'essentiel de sa matière active.
- Un diluant : qui est une matière liquide (solvant) incorporé à une préparation et destiné à abaisser la concentration en matière active. Ce sont le plus souvent des huiles végétales.
- Des adjuvants (ou synergistes) : qui sont des substances dépourvues d'activité biologique, mais susceptibles de faciliter l'utilisation de la matière active (**HAMDALLAYE, 2000**).

**Tableau 2** : Quelques familles chimiques de pesticides et leur classement selon leur cible

Famille chimique	Exemples de molécules	Classement selon cibles
<b>Organochlorés</b>	DDT, Chlordane, Lindane, Dieldrine, Heptachlore...	Insecticides
<b>Organophosphorés</b>	Malathion, Parathion, Chlorpyrifosa, Diazinon...	Insecticides
<b>Pyréthroïdes</b>	Permethrine, <b>Lambda cyhalothrine</b> ...	Insecticides
<b>Carbamates</b>	- Aldicarbe, Carbaryl, arbofuran, Méthomyl... - Asulame, Diallate, Terbucarbe, Triallate ... - Benthiavalicarbe ...	Insecticides Herbicides Fongicides
<b>Dithiocarbamates</b>	Mancozebe, Manebe...	Fongicides
<b>Phtalimides</b>	Folpel, Captane, Captafol	Fongicides
<b>Triazines</b>	Atrazine, Simazine...	Herbicides

(BERRAH, 2011)

## 2.4. Toxicité

Elle dépend d'un certain nombre de facteurs :

- La dose et l'activité biologique
- Les modalités de l'exposition.
- Le temps pendant lequel la personne est exposée.
- Le degré d'absorption.
- La nature des effets de la matière active et de ses métabolites.
- L'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme.
- La "sensibilité" personnelle (antécédents, patrimoine génétique, etc.) (BERRAH, 2011).

On distingue deux types de toxicité :

**2.4.1. Toxicité subaiguë** : elle se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps après une exposition unique ou de courte durée (quelques minutes, heures ou jours).

**2.4.2. Toxicité chronique** : L'intoxication chronique survient normalement suite à l'absorption répétée de faibles doses de pesticides, le délai avant l'apparition des symptômes ou d'une maladie peut parfois être long, dans certains cas plusieurs années (BOLAND *et al.*, 2004).

## 2.5. Effet sur la santé

Tous les pesticides sont potentiellement dangereux pour l'homme. Dans la littérature scientifique, l'exposition à certains pesticides a été liée chez l'homme à des cancers associés à la suppression immunitaire, des réactions allergiques, des réponses auto-immunes et une plus grande sensibilité aux agents pathogènes. Certains pesticides peuvent affecter les fonctions et le développement du système nerveux, chez le fœtus, l'enfant et l'adulte et altérer de ce fait le potentiel des individus exposés in utéro (**MULTIGNER, 2005**).

Les pesticides peuvent affecter le système endocrinien par plusieurs mécanismes. Ces perturbateurs endocriniens peuvent agir différemment selon l'âge ou la phase de développement de l'organisme touché. Des expositions régulières, même à faibles doses, sur de très longues périodes à des pesticides perturbateurs endocriniens pourraient également causer des dommages importants. Le fœtus en développement et le nouveau-né sont extrêmement sensibles aux effets des pesticides. L'exposition du fœtus à des pesticides à certaines périodes de la grossesse peut conduire à un avortement spontané, à des retards de croissance, des handicaps à la naissance, etc. (**BERRAH, 2011**).

### 2.5.1. Pesticides et reproduction

La fertilité masculine dans les pays développés n'a cessé de décroître depuis un demi-siècle, comme le prouvent de nombreuses études (**PONCELET et SIFER., 2011**). Les concentrations du sperme en spermatozoïdes diminuent régulièrement depuis 60 ans (**BERRAH, 2011**).

Selon **Multigner (2005)**, l'étude des impacts potentiels des pesticides sur la reproduction porte sur la fertilité et le développement embryonnaire et fœtal. Les principales manifestations de ces altérations sont : Infertilité ; Mort fœtale et l'avortement spontané ; Prématurité et hypotrophie ; Malformations congénitales. (**FERRAGU et al., 2010**).

## 3. Pyrethrinoides de synthèse

Insecticides dits « de troisième génération », cette famille de pesticide dérive de l'acide chrysanthémique, un insecticide naturel présent dans les variétés sauvages de pyrèthres, la sélection a affaibli les facultés de résistance de ces plantes aux insectes, en même temps que la chimie multipliait par mille ou d'avantage la toxicité de ses dérivés vis-à-vis des invertébrés. Comme les organochlorés, ils tuent l'insecte en bloquant le fonctionnement des canaux sodium indispensables à la transmission de l'influx nerveux (**HEMINGWAY et al., 2004**).

Les insecticides de la famille des pyréthrinoides se divisent en deux groupes distincts :

- Les pyréthrinoides naturels sont des insecticides d'origine végétale tels que les roténones et les nicotinoïdes (**TISSUT et al., 1979**).

- Les pyréthrinoides synthétiques sont divisés en deux catégories (type I et type II) selon la structure chimique : le type I ne possède pas de groupe cyano (CN), alors que le type II possède un groupe cyano (CN) (**BURR et RAY, 2004**).

### 3.1. Mode d'action

Très tôt il apparut que l'essence de pyrèthre prolonge la conduction nerveuse, en induisant des décharges répétées, les mécanismes moléculaires impliquent une altération ou dysfonctionnement des canaux sodiques et potassiques. Le radical cyclopropane joue certainement un rôle à part dans la toxicité des pyréthroides, ses propriétés de franchissement des barrières cérébrales et de perturbations neuronales lui confèrent des propriétés anesthésiques, qui pourrait être impliquées dans le phénomène de « Knock down » qui immobilise les insectes avant que les processus thanatogènes n'aillent à leur terme (**Li-Ming, 2008**).

#### - Action sur les canaux voltage-dépendant

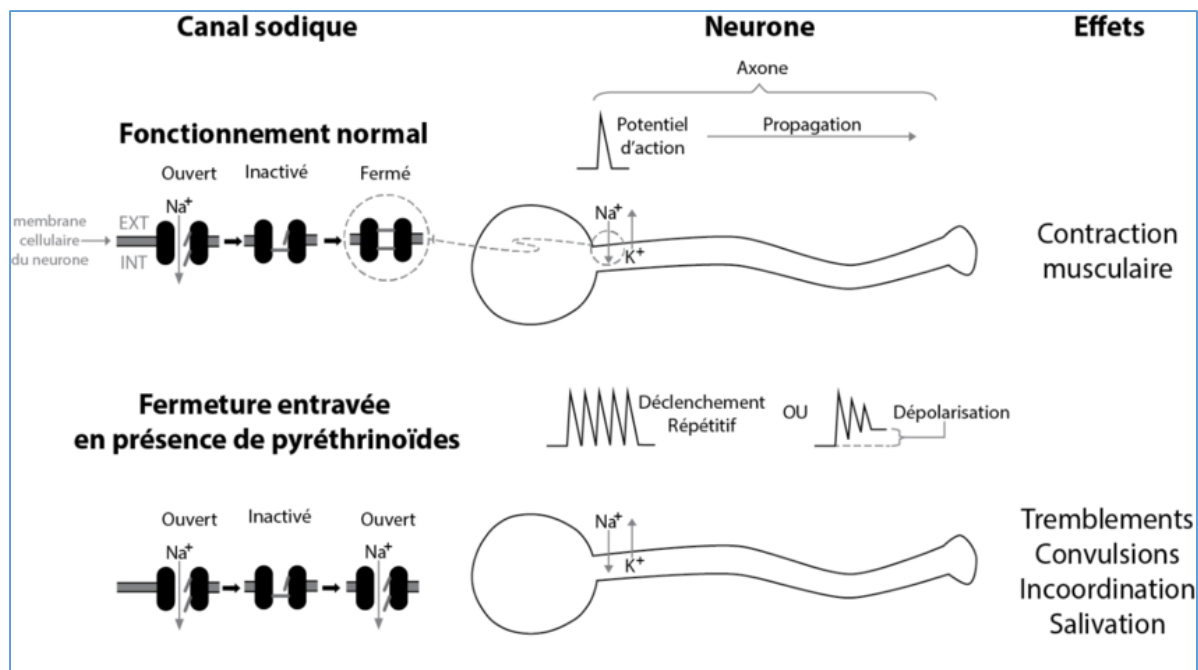
Les pyréthrinoïdes de type I interfèrent avec les canaux sodium ( $\text{Na}^+$ ) des membranes neuronales en induisant des décharges répétitives dans les neurones et prolongent la fin du potentiel d'action. Le prolongement de l'ouverture des canaux  $\text{Na}^+$  permet une entrée excessive de l'influx  $\text{Na}^+$ , ce qui empêche la repolarisation de la membrane neuronale, et les impulsions ne sont plus bloquées (**DAEWOO et al., 1999**).

Les pyréthrinoïdes de type II engendrent un retard encore plus grand dans l'inactivation des canaux  $\text{Na}^+$  avec une dépolarisation de membrane sans décharges répétitives, une réduction de l'amplitude du potentiel d'action et un bloc de conduction.

L'action dépolarisante a un effet plus prononcé sur les neurones sensoriels, du moment qu'ils ont tendance à décharger même après de faibles dépolarisations. Ce qui provoque une libération augmentée de neuromédiateurs avec des troubles au niveau synaptique (**NARAHACHI, 2000**). (**Figure 8**).

Aussi, les pyréthrinoïdes de type II sont capables de se lier avec un site allostérique pour le récepteur  $\text{GABA}_A$ , dans le système nerveux central. Cette liaison empêche l'influx des ions  $\text{Cl}^-$  et bloque la fonction inhibitrice de ce type de récepteur.

La puissance insecticide élevée des pyréthrinoïdes de type II peut être justifiée par l'inhibition de récepteurs  $\text{GABA}_A$  périphériques qui se trouvent exclusivement dans la musculature des arthropodes (**SPENCER et al., 2005**).



**Figure 8 :** Représentation schématique du dysfonctionnement de la transmission induit par les pyréthrinoïdes sur les canaux ioniques sodium et sur le neurone (KADALA, 2011).

Certains composés (perméthrine, cyperméthrine), agissent en inhibant les ATPases, ce qui implique une augmentation de la concentration des ions  $\text{Ca}^{++}$  et de  $\text{Mg}^{++}$  intracellulaire. Il en résulte une augmentation soutenue de la libération des neuromédiateurs, induisant une dépolarisation post-synaptique. Par ailleurs, les études *in vitro* ont montrés que l'augmentation de la concentration de la perméthrine et de la cypreméthrine inhibe la calmoduline, protéine qui lie le calcium intracellulaire, réduisant la libération spontanée de neurotransmetteurs (BURR et RAY, 2004).

### 3.2. Toxicocinétique

Les pyréthrinoïdes diffusent 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. Ils sont conjugués puis éliminés par les urines (CAZET, 2007).

### 4. Lambda-cyhalothrine

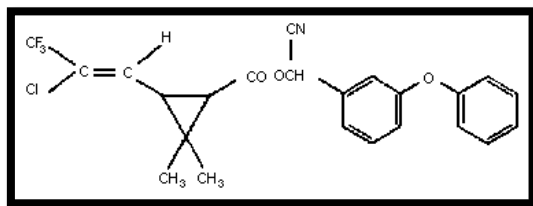
La lambda cyhalothrine est un insecticide pyréthrinoïdes de type 2. Utilisé pour le contrôle des insectes nuisibles dans l'agriculture, la santé publique, dans la construction etc.

Nomenclature chimique : 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-diméthyl-cyano(3-phenoxyphenyl) méthyl cyclopropane carboxylate.

Formule moléculaire :  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{ClF}_3\text{NO}_3$

Masse moléculaire Relative : 449.9

Numéro CAS : 91465-08-6



**Figure 9** : Structure chimique de lambda-cyhalothrine (FETOUI *et al.*, 2008).

#### 4.1. Propriétés physiques et chimiques

Etat physique : liquide

Forme : liquide transparent à légèrement turbide

Couleur : jaune à jaune pale

Odeur : aromatique

PH : > 4.0 - 6.5 à 1% w/v

Point de rupture : > 38 °C Abel-Pensky c.c.

Densité : 0.905 g/cm<sup>3</sup> à 20 °C (SYNGENTA, 2010).

#### 4.2. Mécanisme d'action

Modulation au niveau du canal ionique sodium. Action toxique au niveau des axones par interférence avec le fonctionnement du canal sodium au niveau du SNC et du SNP, par stimulation de décharges nerveuses à répétition causant la paralysie (KADALA, 2011).

#### 4.3. Toxicité chez les mammifères

##### 4.3.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë par voie orale est très élevée chez le rat et la souris et elle est modérée par la voie cutanée ou par inhalation chez ces espèces. Elle est faiblement irritante pour les yeux du lapin et n'irrite pas sa peau (ANONYME 2, 2004).

##### 4.3.2. Effets à long terme

Des études sur la toxicité tant aiguë (rats et souris) que subchronique (chiens) montrent que le principal effet de seuil toxicologique préoccupant pour la lambda-cyhalothrine est représenté par les signes cliniques de neurotoxicité, caractéristiques des effets neurotoxiques attribuables aux pyréthroides synthétiques. De plus, une étude tératologique avec les rats a mis en évidence des signes cliniques de neurotoxicité (mouvements désordonnés des membres). La cyhalothrine n'a pas démontré de sensibilité accrue des petits après une exposition *in utero* ou postnatale dans les études sur la reproduction et le développement. Elle est non génotoxique et elle ne perturbe pas la fonction endocrinienne (ANONYME 2, 2004).

Cette dernière partie des données bibliographiques englobe des rappels généraux sur les vitamines C et E.

## 5. Vitamine C

### 5.1. Définition

La vitamine C, de formule brute  $C_6H_8O_6$ , est le nom communément donné à l'acide ascorbique. C'est une vitamine hydrosoluble, chimiquement très proche d'un sucre, le glucose. Comme toutes les vitamines, elle n'est pas synthétisée par l'organisme, et doit donc être apportée par l'alimentation. Sa carence provoque le scorbut (affection mortelle) et la carence partielle favorise diverses maladies comme les infections, les allergies, l'arthrose, les maladies cardiovasculaires, le stress ou encore le cancer.

Au sein de l'organisme, c'est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques et biologiques, notamment dans la synthèse du collagène et de la carnitine, dans les processus de métabolisme de la dopamine, de la noradrénaline et de l'hémoglobine, dans la régénération de la vitamine E et un rôle promoteur dans l'absorption intestinale du Fer (BOSSOKPI, 2002).

### 5.2. Structure chimique

Sa caractéristique essentielle est d'exister sous trois degrés d'oxydoréduction différents : la forme réduite ou acide ascorbique, la forme semi-réduite ou mono-oxydée, appelée acide-mono-hydro-ascorbique, et la forme oxydée ou acide mono-déhydro-ascorbique.

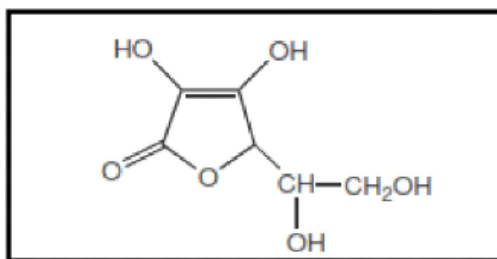


Figure 10 : Structure chimique de l'acide ascorbique (DIALLO, 2005).

### 5.3. Sources de la vitamine C

La vitamine C se trouve essentiellement dans les végétaux frais, particulièrement dans les agrumes, les fruits frais, les légumes verts. Elle est également présente sous forme de vitamine pure de synthèse ou sous forme d'extrait de fruits. La vitamine C est généralement combinée avec d'autres vitamines choisies et le complexe résultant est vendu en tant que supplément « antioxydant » (PADAYATTY et al., 2003).

#### 5.4. Métabolisme de la vitamine C

La vitamine C est sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Le pool total de l'organisme est de 1500 à 2500 mg. Le turnover quotidien est de 45 à 60 mg/jour. La demi-vie est de 10 à 20 jours. L'acide ascorbique se décompose à 200° C (FAIN, 1986).

##### 5.4.1. Absorption digestive

La vitamine C est absorbée essentiellement au niveau du duodénum et du jéjunum proximal, par un mécanisme de transport actif saturable au-delà de 180 mg/jour et diminue avec la dose, sodium-dépendant et pouvant être inhibée par des analogues structuraux.

##### 5.4.2. Distribution

Après ingestion, la vitamine C passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Dans le plasma, l'acide-ascorbique est lié réversiblement à l'albumine. Dans le sang totale, on retrouve principalement l'acide-ascorbique (80 à 95%) (Cette forme prédomine parce qu'elle est protégée par le glutathion et les composés à groupe SH) et l'acide déhydro-ascorbique qui ne représente que 5 à 20% de la vitamine C circulante. Sa concentration est basse (5 à 15 mg/l) dans le plasma et les globules rouges, et très élevée dans les plaquettes et les globules blancs (80 fois supérieure) (ADIKWU *et al.*, 2012 ).

##### 5.4.3. Elimination

La vitamine C est réabsorbée à plus de 90% au niveau tubulaire rénal après filtration glomérulaire. L'élimination urinaire se fait sous la forme native et de métabolites dont le principal est l'acide oxalique (55%). Lorsque la concentration plasmatique dépasse 14 mg/l, la vitamine C absorbée est éliminée dans les urines. L'hypophyse et la corticosurrénale sont les organes les plus riches en acide ascorbique alors que le muscle et le foie ont les concentrations les plus faibles. Il n'existe ni synthèse ni stockage de la vitamine C dans l'organisme. Ceci est une particularité de l'homme, du singe et du cobaye, du fait de la mutation du gène codant pour la L-gluconolactone oxydase nécessaire à la transformation du gluconate en acide ascorbique (WANDZILAK *et al.*, 1995).

#### 5.5. Rôles physiologiques de la vitamine C

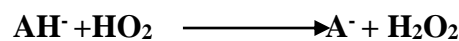
L'acide-ascorbique et l'acide déhydro-ascorbiques ont les mêmes propriétés anti-scorbutiques, et présentent surtout les deux formes oxydées et réduites d'un système d'oxydoréduction réversible. L'ascorbate est un puissant réducteur capable de piéger et d'éliminer les radicaux libres (anion superoxyde ou radical hydroxyl OH<sup>-</sup>), produit par l'activité métabolique des cellules, notamment lors de leur lutte contre des agents pathogènes. L'ascorbate est capable de

prévenir la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres oxygénés en favorisant la régénération de la vitamine E (LEBOULANGER *et al.*, 1984).

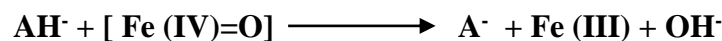
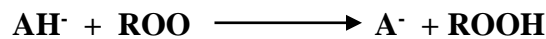
### 5.5.1. Rôle antioxydant

Le rôle antioxydant de l'acide ascorbique découle de ses propriétés réductrices. C'est le plus puissant antioxydant hydrosoluble. Il est capable de réagir directement avec les espèces réactives oxygénées et azotées en particulier  $O_2^{\cdot-}$  et  $HO^{\cdot}$  de même que  $HOCl$ ,  $H_2O_2$  et  $O_2$  et les neutralisées (BALL, 2004).

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.

### 5.5.2. Effet sur la reproduction

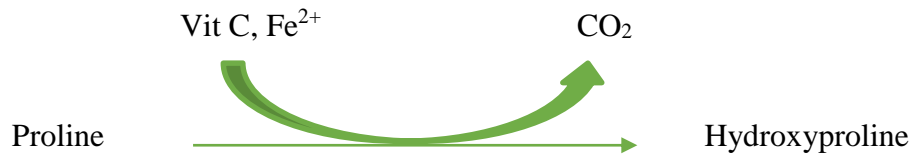
La vitamine C est retrouvée à un niveau élevé dans le fluide épидidymaire et le plasma séminal en concentration 8 à 10 fois plus élevée que dans le plasma sanguin, cette concentration élevée protège les spermatozoïdes en évitant les lésions de leur ADN, une supplémentation en vitamine c a un effet positif sur la croissance des gonades et la qualité du sperme : augmentation du nombre de spermatozoïde, amélioration de la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes (PONCELET C, 2011).

### 5.5.3. Rôle enzymatique

**a) Absorption du fer :** La vitamine C est nécessaire à l'absorption gastroduodénale du fer (LABRER et LECLERCQ, 1992 ; VIDACS, 1992), en tant qu'agent réducteur, elle participe à la réaction de réduction du fer ferrique en fer ferreux qui est absorbé plus facilement.

**b) Réaction d'hydroxylation :** Elle participe en tant que donneur d'électron à l'oxydation des résidus proline et lysine respectivement en hydroxyproline et hydroxylysine lors de la synthèse du collagène et à un moindre degré à l'hydroxylation d'hormones stéroïdes. Le collagène forme

30% de la totalité des protéines de l'organisme et entre dans la composition de la peau, de l'os, des dents, du cartilage (**LARBIER et LECLERCQ, 1992**).



#### 5.5.4. Agent d'oxydoréduction

La vitamine C participe à la réduction des acides foliques en coenzymes actifs, les acides tétrahydrofoliques (THF). Toujours par réduction des formes oxydées, elle réduit les effets nocifs des mycotoxines, des métaux lourds et des polluants sur la santé et les performances. À forte dose (1000 mg/kg aliment), elle protège contre l'accumulation du cadmium dans l'organisme. La vitamine C a en effet un rôle détoxifiant vis-à-vis d'un grand nombre de métaux lourds (plomb, mercure, cadmium, strontium), car elle favorise leur élimination ou diminue l'absorption intestinale de certains d'entre eux (**GUILLOT et al., 1998**).

#### 5.5.5. Autres effets d'oxydoréduction

La vitamine C joue le rôle de transporteur d'électrons et participe à diverses hydroxylations :

- a. **Biosynthèse de la carnitine à partir de la lysine** : L'acide ascorbique favorise les réactions d'hydroxylation de la triméthyllysine et de la butyrobétaïne, précurseurs de la carnitine.
- b. **Hydroxylation de certains médiateurs** : Hydroxylation de la dopamine en noradrénaline sous l'influence de la  $\beta$ -dopamine hydroxylase. Cette réaction nécessite, en outre, la présence de cuivre. Elle intervient également dans le métabolisme de la tyrosine et de la phénylalanine dans les réactions d'hydroxylation aboutissant à la production des catécholamines (dopamine, adrénaline, noradrénaline) (**LARBIER et LECLERCQ, 1992**).
- c. **Transformation du cholestérol en acides biliaires** : Ceci explique le faible effet hypolipémiant de la vitamine C, surtout lorsqu'elle est associée à la pectine qui fixe les acides biliaires et empêche leur réabsorption digestive (**DUPIN, 1992**).

## 6. Vitamine E

### 6.1. Définition

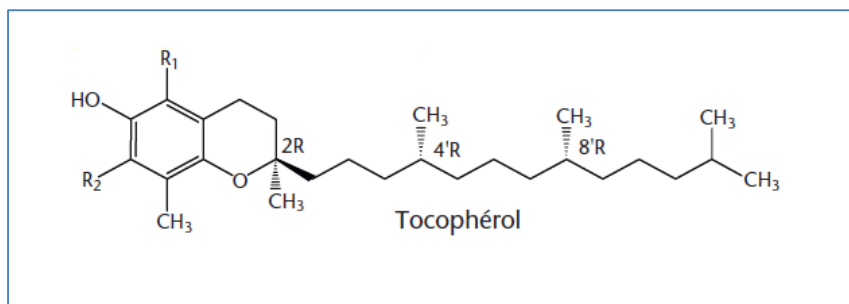
La vitamine E est un terme générique qui désigne l'ensemble tocophérols et tocotriénols, dérivé du 6-chromanol. Parmi l'ensemble de ces composés, l'alpha-tocophérol est celui qui possède l'activité biologique la plus importante et représente la forme plasmatique la plus abondante (environ 88%) (**SOUCCAR et al., 1996**).

La vitamine E est un micro-élément essentiel de la nutrition humaine et animale, c'est une substance liposoluble, isolée pour la première fois par **EVANS en 1936**. Une carence alimentaire en vitamine E peut provoquer des troubles neuromusculaires ou ophtalmologiques graves.

La vitamine E est le principal anti-oxydant de l'organisme dans le sang. Son action est principalement de protéger les structures membranaires des cellules contre les effets destructeurs des radicaux libres, notamment ceux provoquant l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés (**GUILLAND et al., 2009**).

## 6.2. Structure chimique

La vitamine E existe sous huit formes, quatre tocophérols et quatre tocotriénols. Les tocophérols sont des substances constituées par un noyau hydroxychromane et une chaîne latérale saturée phytyle à 16 carbones. Le nombre et la position des groupements méthyle sur le noyau hydroxychromane définissent les différentes formes de tocophérols et tocotriénols. La forme la plus active est l' $\alpha$ -tocophérol que l'on rencontre le plus fréquemment dans la nature (**GIROUD, 2017**).



**Figure 11** : Structure chimique du Tocophérol (**LANDRIER, 2011**).

## 6.3. Propriétés physico-chimiques

Tous les tocophérols se présentent, à température ambiante, sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques). Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases (**BOURGEOIS, 2003**).

## 6.4. Sources de la vitamine E

Les tocophérols sont largement répandus dans les produits naturels d'origine végétale ou animale. Les sources alimentaires les plus riches en vitamine E sont les céréales (seigle, blé, avoine...) dont leurs germes, les fruits (bananes, fraise, melon...), la plupart des oléagineux,

dont leurs huiles (tournesol, soja, maïs, olive, arachide...). On trouve de la vitamine E dans les légumes à feuilles (salade, épinard, chou, poireau), dans la graisse animale ainsi que dans le lait, le beurre et le fromage et également dans le poisson (**CUVELIER et al., 2003**).

### **6.5. Métabolisme**

Après hydrolyse intestinale et antérocytaire des esters, les tocophérols sont transportés dans le sang associés aux lipoprotéines. Le taux d'absorption de l'alpha-tocophérol est voisin de 70% et est conditionné par la présence de sels biliaires, de lipase pancréatique, et par la teneur en lipides de la ration alimentaire.

Après digestion, la vitamine E est transportée par les chylomicrons et gagne la circulation générale par voie lymphatique. Après action de la lipoprotéine lipase, la vitamine E est captée par les hépatocytes, puis l'alpha-tocophérol est incorporé aux VLDL dont il suit le métabolisme vasculaire. La vitamine E est éliminée par voie biliaire, soit directement, soit après oxydation en quinone, puis réduction en hydroquinone et glucuroconjugaison (**GUILLAND et al., 2009**). Les tissus qui contiennent les concentrations les plus élevées de vitamine E sont les graisses, certaines glandes endocrines et les thrombocytes. Au niveau cellulaire, la vitamine E est présente à forte concentration dans les membranes et les mitochondries. La vitamine E est peu ou pas métabolisée dans l'organisme (**GIROUD, 2011**).

### **6.6. Physiologie de la vitamine E**

Au plan physiologique, la vitamine E est un antioxydant majeur des structures lipidiques. Elle prévient notamment l'oxydation des lipoprotéines et s'oppose au développement de la plaque d'athérome. Par ailleurs, les tocophérols exercent une action stabilisatrice des membranes cellulaires. La vitamine E pourrait aussi jouer un rôle dans la régulation de la synthèse de l'hème. Enfin, étant donné le rôle procarcinogène probable des peroxydes lipidiques, la vitamine E pourrait exercer un rôle protecteur du cancer (**KAMOUN, 2007**).

### **6.7. Propriétés biochimiques et métaboliques**

La fonction naturelle de la vitamine E est d'être anti-oxydante. Grâce à ce rôle, elle assure la protection des membranes cellulaires et prévient le durcissement des cellules. Elle aide également à maintenir la santé du système immunitaire en protégeant la vie des globules rouges dans la circulation sanguine (**BOURGEOIS, 2003**).

**a. Protection des membranes cellulaires :** La vitamine E aide à protéger les membranes cellulaires : les acides gras insaturés, insolubles dans l'eau, servent à la constitution de la structure interne des parois de chaque cellule de l'organisme et des membranes des organes internes. Elle ralentit le vieillissement cutané en protégeant les membranes cellulaires. Sa

présence permet la conservation de l'intégrité de ces acides gras, très sensibles à l'oxydation. Grâce à sa longue chaîne lipidique, la vitamine E se fixe au sein des membranes lipidiques, et c'est sa fonction phénolique qui est responsable de son activité anti-oxydante. En protégeant les membranes cellulaires, la vitamine E aide le foie à détoxiquer l'organisme sans lésions hépatiques. En inhibant la formation de radicaux au niveau de la cellule, la vitamine E protège également les constituants cellulaires comme les protéines et les acides nucléiques **(BOURGEOIS, 2003)**.

**b. Prévention des caillots sanguins :** La vitamine E prévient la formation anormale de caillots dans le sang. L'exposition aux crises cardiaques et attaques cérébrales est ainsi diminuée. En effet, la carence en vitamine E entraîne la dégradation des parois des vaisseaux sanguins qui s'accompagne de la formation de caillots pour éviter l'hémorragie lorsqu'un vaisseau sanguin est percé. La vitamine E est aussi efficace dans le traitement de certains désordres circulatoires des jambes, comme les varices ou les crampes **(TRAORE, 2006)**.

#### **6.8. Activités Co-enzymatiques**

L' $\alpha$ -tocophérol aurait un rôle dans la prolifération des cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux, modulerait le métabolisme de l'acide arachidonique par la phospholipase A2 et interviendrait dans l'activité de la protéine kinase C. La vitamine E inhiberait la formation de prostaglandines et de thromboxanes intervenant ainsi dans les processus inflammatoires et d'agrégation plaquettaire. Elle augmenterait la production de substances endogènes vasodilatatrices, l'adhésion des monocytes et diminuerait la flambée respiratoire des phagocytes **(MULTON, 2002)**.

#### **6.9. Action anti-oxydante de la vitamine E**

La vitamine E (molécule réductrice) va stopper l'oxydation des acides gras en s'oxydant à leur place. C'est la réaction qui nécessite le moins d'énergie qui se fera préférentiellement. La vitamine E intervient surtout au stade de l'initiation, en cédant un de ses atomes d'hydrogène au radical peroxyde qui se stabilise et devient non réactif. Cela permet ainsi d'arrêter les réactions en chaîne **(MULTON, 2002)**.

#### **6.10. 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)**.

## **7. Anti-oxydation :**

### **7.1. Définition**

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue des radicaux libres, soit à une diminution de la capacité de défenses antioxydants (**SIES., 1991**). Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acide nucléiques (**ANGELOS et al., 2005**). L'exposition chronique au stress oxydatif peut favoriser l'apparition de, dépôt de lipides oxydés fibrose, cancers et maladies cardiovasculaires, mutation (**FAVIER., 2003**).

### **7.2. Conséquences du stress oxydatif**

L'accumulation des ERO a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides, l'acide désoxyribonucléique et glucides.

*Chapitre II :*

*Matériel et Méthodes*



**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMÈRI DE TIZI-OUZOU**

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**

**Projet 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 sur l'épididyme de lapin (*Oryctolagus cuniculus*), traité par la lambda-cyhalothrine.**

**Réalisé par :**

**Melle HAMADOU Djouher**

**Melle KAIS Safia**

**Devant le jury d'examen composé de :**

<b>Mme N. ZERROUKI</b>	<b>PROFESSEUR</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme R. BENABDESSELAM</b>	<b>MCA</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme S. AKDADER</b>	<b>MAA</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme H. KHALDOUN</b>	<b>MCB</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Promotrice</b>

**2016 – 2017**

Dans cette partie, nous allons décrire les différentes étapes et conditions expérimentales que nous avons adoptées pour la réalisation de ce travail.

Cette dernière a été réalisée au sein de différents établissements hospitaliers :

- Laboratoire de zoologie de l'ENS Kouba dans lequel le sacrifice des animaux, le prélèvement et la pesée des organes ont été réalisés.
- Laboratoire d'anatomie-cytologie-pathologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, dans lequel l'étude histologique des épидидymes ainsi que la coloration à l'Hématoxyline éosine ont été faites.
- Laboratoire d'anatomie pathologie CHRU Parnet, Alger, dans lequel les colorations Trichrome de Masson et P.A.S ont été faites.

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel biologique

Le présent travail vise à contribuer à l'étude de l'effet reprotoxique d'une exposition subaiguë à la Lambda-cyhalothrine (LCT), un insecticide de la famille des pyréthriноïdes de synthèse, sur l'épididyme du lapin mâle et l'effet amélioratif de la co-administration des vitamines C et E sur cet organe.

De ce fait, 16 lapins mâles adultes de souche locale *Oryctolagus cuniculus*, provenant de l'élevage de l'ITELV, Alger, et ayant un poids corporel moyen de  $2\text{kg} \pm 20\text{g}$ , ont servi à l'étude toxicologique.

Les lapins ont été acclimatés pendant 21 jours. Ces animaux ont eu accès à la nourriture et à l'eau *ad libitum*.

#### 1.1.1. Taxonomie du Lapin

Selon GRASSE, (1949) et LEBAS et *al.*, (1984), la systématique du lapin est la suivante :

- **Règne** : Animalia
- **Embranchement** : Vertébrés
- **Classe** : Mammifères
- **Ordre** : Lagomorphes
- **Famille** : Léporides (lièvre et lapin)
- **Sous-famille** : Leporinae
- **Genre** : *Oryctolagus*
- **Espèce** : *Oryctolagus cuniculus*

## 1.2. Matériel non biologique

La molécule testée dans la présente étude est une formulation d'un insecticide dont la matière active est lambda-cyhalothrine (LCT), ajouté à cela les deux vitamines C (ou acide ascorbique) et E (ou  $\alpha$ -tocophérol).

Le matériel disposé à cet effet est constitué de verrerie de laboratoire, d'appareillages électroniques, de réactifs chimiques et de différents colorants organiques (**Annexe 1**).

## 2. Méthodes

Les lapins mâles codifiés de façon spécifique ont été répartis en 4 lots de poids moyen homogènes, contenant un nombre de lapins de 4 par lots et répartis comme indiqué dans le tableau ci-après :

**Tableau 3** : Répartition des lapins par lots

N° de lot	Nombre de lapins	Traitement
<b>Lot 1 : Témoin</b>	4	Eau distillé
<b>Lot 2 : Témoin</b>	4	Vits C et E
<b>Lot 3 : Traité</b>	4	LCT
<b>Lot 4 : Traité</b>	4	LCT + Vit C et E.

Afin d'évaluer l'effet reprotoxique de LCT et après une durée d'acclimatation de 21 jours, des doses journalières de 10mg/kg/p.c. (ajustés en fonction du poids corporel des animaux) ont été administrées par gavage durant 21 jours, ainsi que des doses de 200 mg/kg/p.c. de vitamine C et E (**Tableau 3**).

### 2.1. Sacrifice des animaux et prélèvement des organes

Les animaux ont été maintenus à jeun 24 heures avant le sacrifice, ce dernier est effectué au 22ème jour de l'expérimentation. Les prélèvements sanguins sont faits au même moment par ouverture de la carotide avant décapitation.

Les organes sont prélevés soigneusement et pesés, ils sont ensuite imprégnés dans du formol à 10% dans des piluliers afin de bien les conserver avant l'étude histologique.

## 2.2. Etude histologique

### ❖ Etude macroscopique

Les épидidymes prélevés sont coupés délicatement en petit fragments, déposés dans des cassettes d'inclusion, fixé dans du formol à 10%, le tout est soumis à l'analyse histopathologique.

### ❖ Fixation des échantillons

La fixation vise à maintenir les cellules et le tissu dans un état aussi proche que possible de l'état vivant en s'opposant au processus d'autolyse qui est due à la libération d'enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires.

La fixation est une étape essentielle en histologie et le choix du fixateur ainsi que la détermination des conditions de son action constituent des préalables indispensables pour mener à bien une étude histologique à des fins d'analyse morphologiques, histochimiques ou immunocytologiques. Une mauvaise appréciation de ces paramètres expérimentaux est susceptible d'engendrer des aspects cytologiques artificiels désignés sous le terme d'artefacts. Il est nécessaire que le liquide de fixation pénètre rapidement dans l'échantillon et se répartisse de manière homogène à l'intérieur de celui-ci.

Les fragments de l'épididyme sont alors imprégnés dans du formol à 10%, communément utilisé comme fixateur standard. Il permet de durcir l'échantillon sans l'endommager. Les échantillons sont ensuite mis dans des cassettes d'inclusion (**Figure 12**), outil indispensable pour la réussite de la fixation en vue des prochaines manipulations.



**Figure 12 :** Cassette d'inclusion + Organe (**Originale**).

Les coupes histologiques ont été faites au CHU Nedir Mohamed, au laboratoire d'anatomie-cytologie-pathologie. Le protocole de la technique suit les étapes suivantes :

### ❖ Déshydratation des échantillons

Les organes fixés doivent être imprégnés par la paraffine. Comme la paraffine n'est pas miscible dans l'eau, la déshydratation a pour but de substituer l'eau contenue dans les cellules par de l'alcool. Les organes fixés sont déshydratés progressivement par un passage dans des solutions alcooliques à degrés croissant. L'alcool est alors remplacé par un solvant organique, miscible à la fois dans l'alcool et dans la paraffine fondue, il s'agit du xylène.

La déshydratation se fait grâce à un automate de déshydratation (**Figure 13**) qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70%, 96 % et 100 %), puis dans des bains de xylène. Au fur et à mesure de leur infiltration par ce solvant (xylène), les tissus ont tendance à s'éclaircir : cette étape est donc parfois appelée éclaircissement ou clarification.



**Figure 13** : Automate de déshydratation (**Originale**).

❖ **Imprégnation** : À la fin de l'étape de déshydratation, les organes sont plongés dans 3 bains successifs de paraffine, de 2 heures chacun à 60°C.

### ❖ Inclusion des échantillons (ou enrobage)

Une machine à enrobage (**Figure 14**) est nécessaire à cette étape, celle-ci contient de la paraffine fondu à 56/60°C. Les échantillons sont placés dans des moules qui seront ensuite

remplis par de la paraffine fondue, les cassettes sont respectivement placés à la surface des moules selon la codification initiale, ils sont enfin déposés sur une plaque réfrigérante, ce qui provoque le durcissement de la paraffine et donc la rigidification des fragments tissulaires prélevés.

On procède alors au démoulage : on obtient des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine (**Figure 15**).



**Figure 14 : Machine à enrobage (Originale).**



**Figure 15 : Bloc de paraffine (Originale).**

#### ❖ Confection des coupes histologiques

Des coupes transversales de 2  $\mu\text{m}$  sont réalisées à partir des blocs refroidis sur une plaque à -7°C. On utilise pour cela un microtome à paraffine (**Figure 16**). L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire, elles sont étalées à la surface de l'eau du bain marie (**Annexe 1**) à 40 °C puis dépliés. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre qui seront ensuite incubées dans une étuve (**Annexe 1**) à 60°C afin d'initier le processus de déparaffinage avant la coloration.



**Figure 16 : Microtome (Originale).**

❖ **Déparaffinage et réhydratation des coupes**

Les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux et ne peuvent donc pas agir sur un tissu saturé en paraffine, il faut donc les déparaffiner et les réhydrater. Le déparaffinage est effectué par un passage dans un solvant, comme le xylène. L'hydratation est ensuite effectuée par un passage dans des bains d'alcool éthylique à concentration décroissante (100°, 90°, 80°, 70°), et enfin dans de l'eau distillée.

❖ **Coloration des lames**

Les tissus de l'organisme ne sont pas spontanément colorés, ce qui rend les observations au microscope difficiles. Les colorations réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation.

Nous avons effectué deux types de colorations : Topographiques et Histochimiques.

➤ **Coloration à l'hématoxyline éosine (HE)**

Principe et protocole :

Coloration histologique topographique, associe une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris à une coloration des cytoplasmes et du collagène par l'éosine.

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. (MARTEL, 2007). Cette coloration a été effectuée à l'aide d'un automate de coloration (**Figure 17**), selon le protocole suivant :

- 06 bains de xylène,
- 04 bains d'alcool absolu,
- 02 bains d'eau de robinet,
- 01 bain d'hématoxyline de Harris,
- 03 bains d'eau de robinet,
- 01 bain de carbamate de lithium,
- 01 bain d'eau de robinet,
- 01 bain d'éosine,
- 02 bains d'eau de robinet,
- 02 bains d'alcool absolu,
- 04 bains de xylène.
- Montage des lames en Eukitt®.



**Figure 17 : Automate de Coloration (Originale).**

### ➤ Coloration par le Trichrome de Masson

Principe :

Coloration histologique, topographique, trichromique, associant à une coloration nucléaire (hématoxyline), une coloration cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Fuchsine-Ponceau) et une coloration élective du collagène (vert lumière) (MARTEL, 2007).

Protocole : D'après **Martoja et Martoja (1967)**, modifié par le laboratoire d'anatomie pathologie CHRU Parnet :

- Déparaffinage dans le xylène pendant 15 min,
- Hydratation dans l'éthanol 70°, 90° et 100° pendant 3 minutes chacun,
- Lavage à l'eau distillé pendant 1 min,
- 01 bain d'héματοxyline de Groat pendant 2 min,
- Rincer à l'eau courante pendant 5 min,
- Colorer dans la fuchsine-ponceau pendant 30 secondes,
- Rinçage avec de l'eau distillé,
- Solution phosphomolybdique phosphotungstique pendant 5 min,
- Coloration vert lumière pendant 3 à 4 min,
- Rinçage avec de l'eau acétifiée à 1%,
- Faire passer dans l'alcool à 100°,
- Bain de xylène pendant 3 min,
- Montage des lames en Eukitt®.

➤ **Coloration Acide Périodique-Schiff (PAS)**

Principe :

Cette méthode est très utilisée dans plusieurs applications, en particulier pour la mise en évidence par une coloration magenta de différents sucres, soit isolés comme le glycogène, soit combiné à d'autres molécules telles que des protéines comme les glycoprotéines. La méthode sert aussi à visualiser les membranes basales et les mucines neutres sécrétées par différentes cellules épithéliales (MARTEL, 2007).

Protocole : D'après **Martoja et Martoja (1967)**, modifié par le laboratoire d'anatomie pathologie CHRU Parnet :

- Déparaffinage dans le xylène pendant 30 minutes,
- Hydratation dans l'éthanol 70°, 90° et 100° pendant 10 min,
- Rinçage à l'eau courant pendant 1 min,
- Oxydation à l'acide périodique pendant 10 min,
- Rinçage à l'eau distillée,
- Traitement par le réactif de Schiff pendant 20 min,
- Rinçage à l'eau distillée,
- Séchage et montage des lames en Eukitt®.

### ❖ Montage

Les lames sont montées pour préserver les colorations. Elles sont déshydratées grâce à des bains de xylène, puis on colle des lamelles de verre par-dessus grâce à des résines synthétiques comme l'Eukitt (indice de réfraction proche du verre) afin de préserver les préparations. Les lames ainsi montées sont prêtes pour l'observation microscopique, et pourront être conservées pendant plusieurs années.

### ❖ Observation microscopique

L'observation microscopique a été faite sur un microscope photonique, à différents grossissements (G10 x 4, G 10 x 10, G 10 x 40, G 10 x 100).

## 2.4. Etude morphométrique

Nous avons procédé à l'histomorphométrie afin d'évaluer l'état physiologique des différents constituants cellulaires et tissulaires des épидидymes.

Pour cela, nous avons utilisé le **logiciel AxioVision**, développé par Carle Zeiss, ce logiciel permet de mesurer les structures histologiques des organes étudiés à partir des observations microscopiques. (**Figure 18**).

Nous avons pris les mesures suivantes :

- Surface des tubes,
- Hauteur de l'épithélium,
- Diamètre de la lumière,
- Espace intertubulaire.

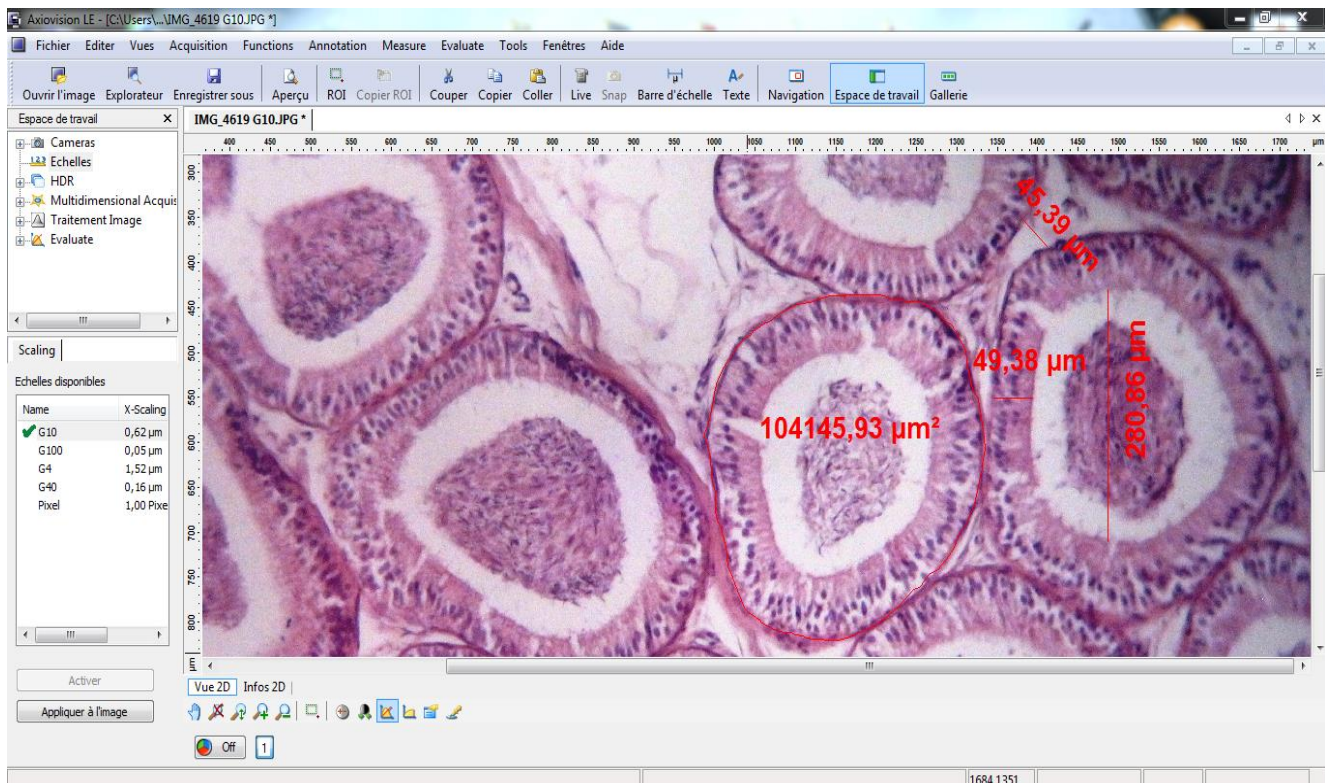


Figure 18 : Exemple d'une fenêtre du logiciel AxioVision (Originale).

## 2.5. Etude statistique

Les données obtenues, à savoir le poids des animaux, le poids des organes ainsi que les valeurs des paramètres 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 par lambda cyhalothrine (LCT) et Vitamines C/E +LCT.

Les résultats obtenus sont représentés graphiquement. Les valeurs sont données par la moyenne  $\pm$  l'écart type.

***Chapitre III :***

***Résultats et discussion***

## Résultats

Notre travail est axé sur les variations histologiques et histomorphométriques au niveau de l'épididyme de lapins mâles après une exposition subaiguë à la lambda-cyhalothrine (LCT), un insecticide de la famille des pyréthrinoïdes de synthèse, et sur l'effet amélioratif de la co-administration des vitamines C et E sur cet organe.

Les résultats qui suivent regroupent les variations du poids corporel et du poids absolu et relatif des testicules et des épидидymes en fonction du traitement effectué en fin d'expérimentation, ainsi que l'étude histologique et histomorphométrique des tubes épидидymaires chez les lapins témoins en comparaison avec ceux traités par les vitamines C et E, ou par la LCT, ou ceux traités par la LCT et co-administrés par les vitamines C et E.

Bien que les prélèvements sanguins aient été effectués dans le but d'une étude hormonale, cette dernière n'a pas pu être réalisée, faute de réactifs.

### 1. Etude du poids corporel des lapins et du poids absolu et relatif des organes

#### 1.1. Etude du poids corporel des lapins

Les poids corporels finaux sont représentés dans le tableau suivant :

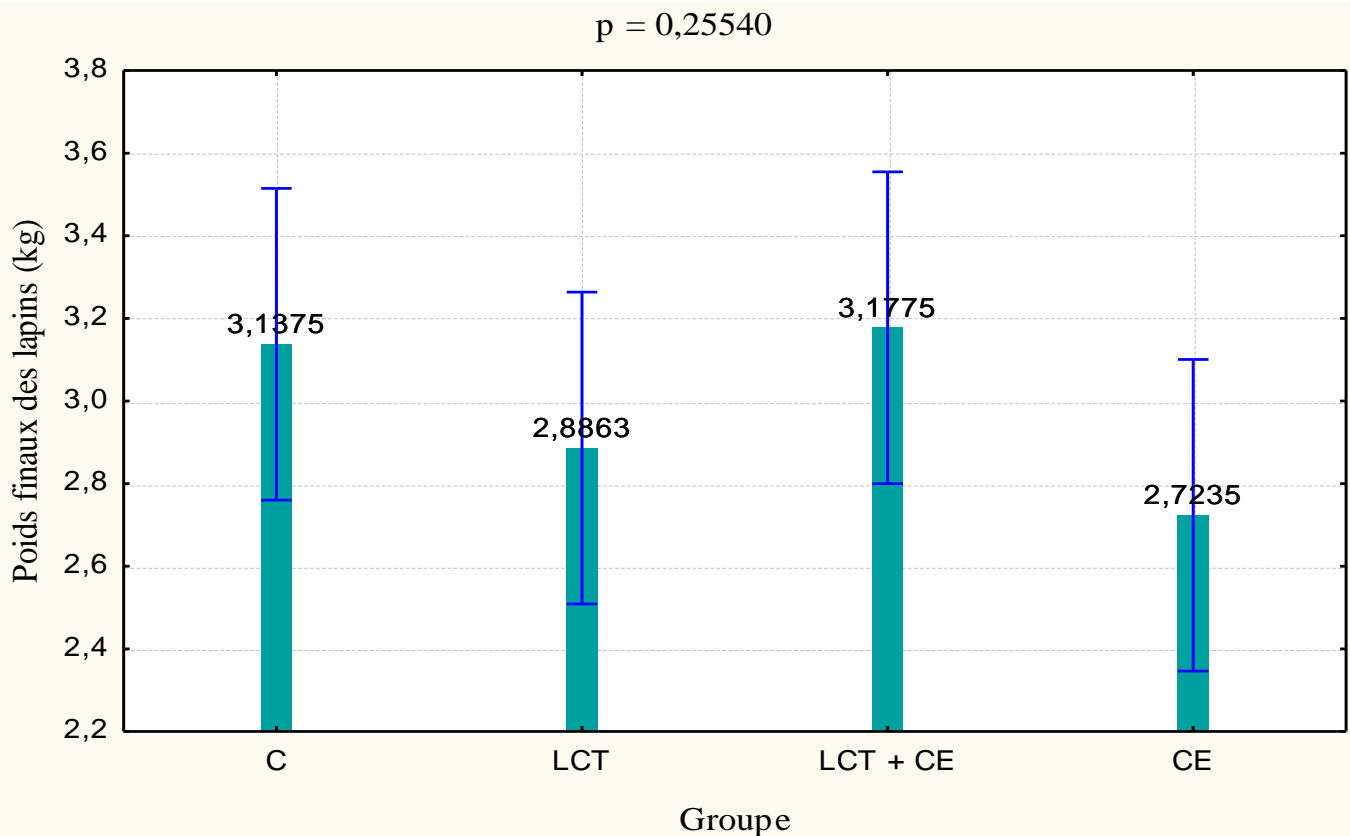
**Tableau 4 :** Poids finaux des lapins témoins, traités par les vits C et E, par la LCT et par LCT + Vits C et E.

Poids corporels (kg)	Control	LCT	CE	LCT + CE
<b>Poids Final</b>	3.13 ± 0,028	2.88 ± 0.53	2.72 ± 0.28	3.17 ± 0.34

D'après le **tableau 4** et la **figure 19** nous avons remarqué que :

À la fin de l'expérimentation, les poids corporels des lapins traités par la LCT (2.88 kg ± 0.53 g) et par les vitamines C et E (2.72 kg ± 0.28 g) sont relativement inférieurs par rapport au groupe témoin (3.13 kg ± 0,028 g).

Le poids corporel final des lapins co-administrés par la LCT + Vits C et E (3.17 kg ± 0.34 g) est supérieur en fin d'expérimentation en comparaison au groupe traité par LCT et s'est fortement rapproché du groupe témoin (**Figure 19**).



**Figure 19 :** Représentation graphique du poids corporel final des lapins témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E.

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

## 1.2. Etude du poids absolu et relatif des testicules et épидидymes

Les résultats des poids absolus et relatifs des testicules et épидидymes sont représentés dans le tableau suivant :

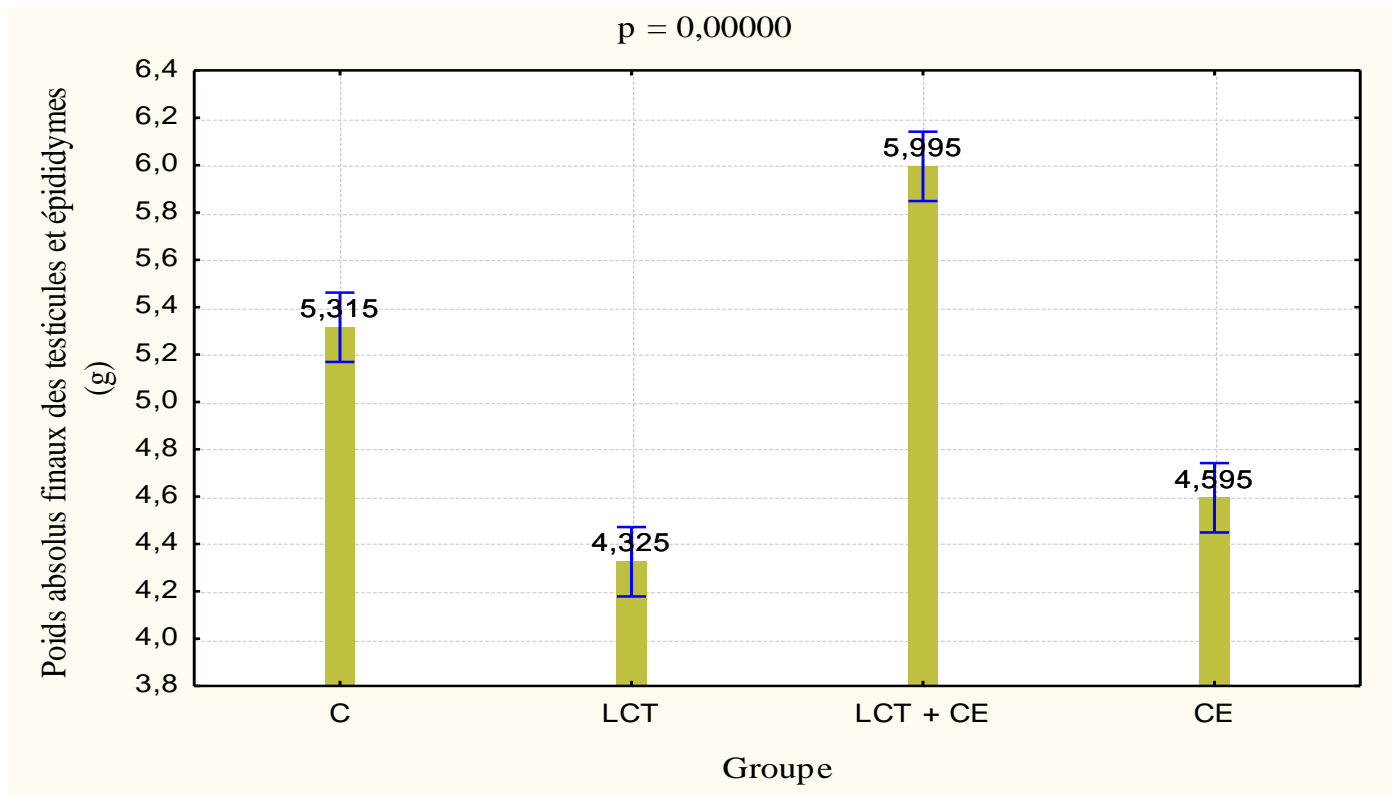
**Tableau 5 :** Poids absolus et relatifs des testicules et épидидymes chez les lapins témoins, traités par les vits C et E, par la LCT, et par LCT + Vits C et E.

Poids des organes (g)	Control	CE	LCT	LCT + CE
<b>Poids absolus</b>	5.31 ± 0.44	4.59 ± 0.10	4.32 ± 0.22	5.99 ± 0.87
<b>Poids relatifs</b>	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.027	0.16 ± 0.019	0.18 ± 0.026

D'après le **tableau 5** et la **figure 20** nous remarquons que :

À la fin de l'expérimentation, les poids absolus des testicules et des épидидymes des lapins traités par LCT ( $4.32 \text{ g} \pm 0.22 \text{ g}$ ) sont significativement inférieurs par rapport au groupe témoin ( $5.31 \text{ g} \pm 0.44 \text{ g}$ ).

Les poids absolus des testicules et des épидидymes chez les lapins traités par les vitamines C et E ( $4.59 \text{ g} \pm 0.10 \text{ g}$ ) et ceux co-administrés par LCT + Vits C et E ( $5.99 \text{ g} \pm 0.87 \text{ g}$ ) sont relativement supérieurs en fin d'expérimentation en comparaison au groupe traité par la LCT ( $4.32 \text{ g} \pm 0.22 \text{ g}$ ) (**Figure 20**).

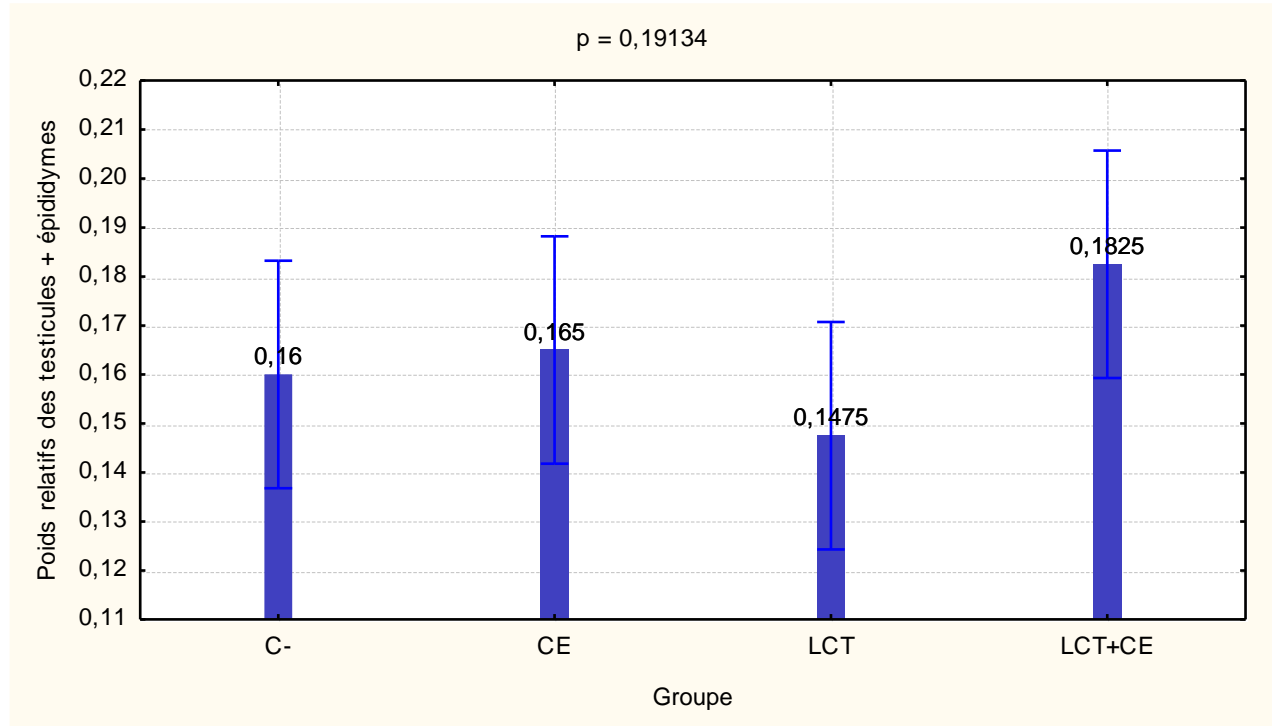


**Figure 20 :** Représentation graphique du poids absolu final des testicules et épидидymes des lapins témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E.

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

Le poids relatif des organes renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à l'organisme en entier. Dans notre expérimentation, le poids relatif des organes (poids de l'organe X 100/poids de l'animal) reste relativement stable chez les groupes traités par LCT ( $0.16 \text{ g} \pm 0.019 \text{ g}$ ) et Vits C et E ( $0.15 \text{ g} \pm 0.027 \text{ g}$ ), en comparaison au groupe témoin ( $0.16 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ ).

Cependant, on note également une légère augmentation du poids relatif des organes chez les lapins co-administré par LCT et les vitamines C et E ( $0.18 \text{ g} \pm 0.026 \text{ g}$ ) (**Figure 21**).



**Figure 21** : Représentation graphique du poids relatif des testicules + épидидyme, des lapins témoins, traités par les vits C et E, par LCT, et par LCT + vits C et E.

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

## 2. Histologie et histomorphométrie de l'épididyme

### 2.1. Histologie

Dans le présent travail, nous avons réalisé des colorations topographiques, HE et trichrome de Masson, et une coloration histochimique PAS.

**L'hématoxyline éosine** est une coloration de base qui met en évidence les tubes épидидymaires et leur différents constituants.

**Le trichrome vert de Masson** permet de reconnaître les différents tissus, le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmiques. Les noyaux sont colorés en noir, les

cytoplasmes acidophiles et les nucléoles en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes, les muscles sont rouges et les fibres de collagène sont vertes.

**Le PAS** colore la membrane basale des tubes épидидymaire en plus des sécrétions des différentes cellules de l'épithélium épидидymaire. Les résultats obtenus dans notre expérimentation ne sont pas exploitables suite à une erreur commise dans le protocole expérimental.

### 2.1.1. Histologie épидидymaire des lapins témoins

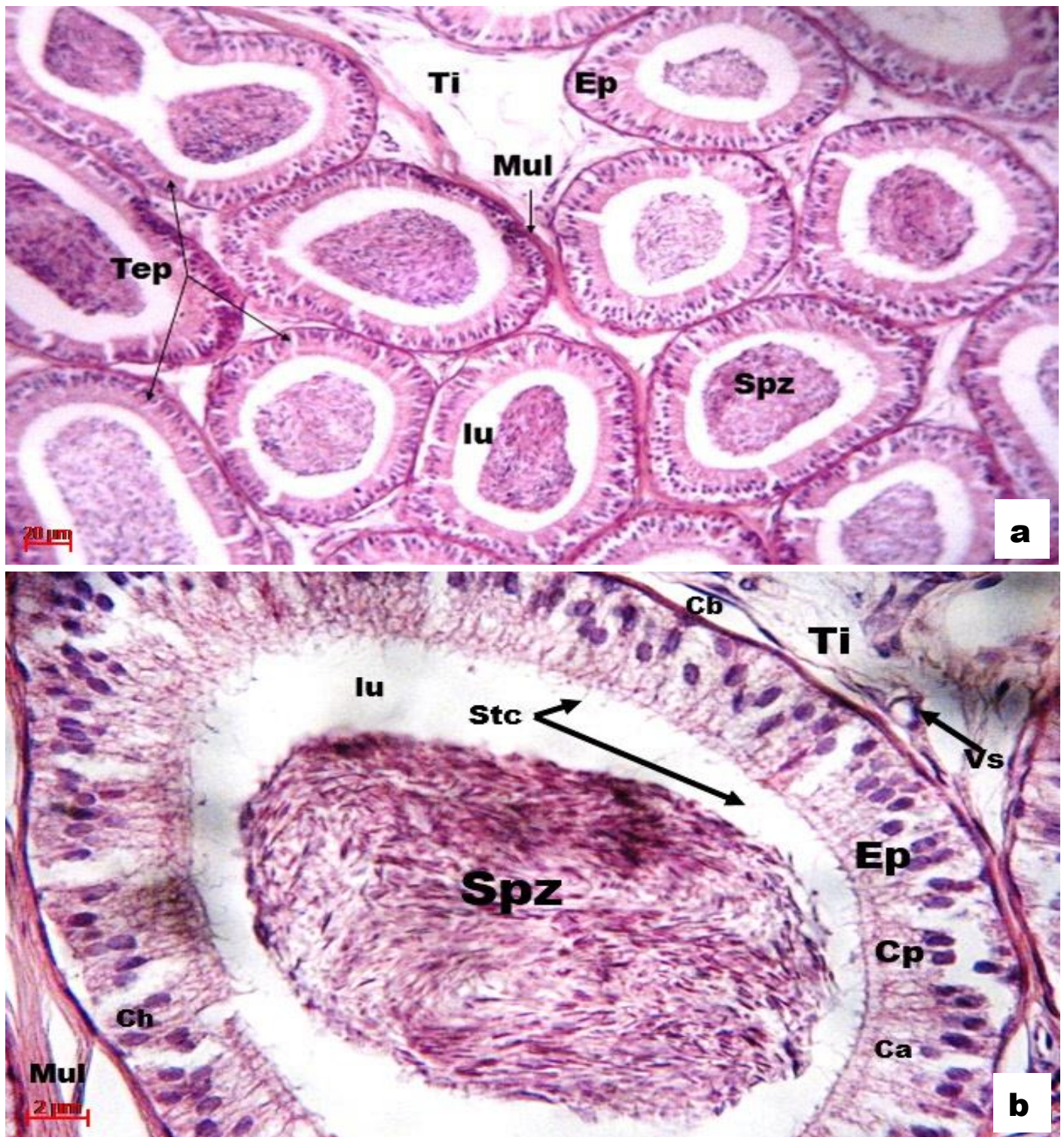
Selon les planches 1 et 2, l'épididyme est un cylindre musculaire lisse bordé par un épithélium haut pseudo-stratifié. Ce dernier est constitué de différents types cellulaires, parmi eux les cellules principales qui portent de très longues microvillosités appelées stéréocils, ainsi que de volumineuses cellules basales à la partie inférieure de l'épithélium.

#### ✓ Coloration par l'Hématoxyline Eosine

- Au grossissement 10 x 10 (a), nous distinguons une forme régulière de l'épithélium et des tubes épидидymaires entourés par une fine couche de tissus musculaire lisse, ainsi qu'un amas de spermatozoïdes dans la lumière tubulaire.
- Au grossissement 10 x 100 (b), l'épithélium pseudo stratifié est bien démarqué, bordé par des stéréocils sur la partie apicale de ces cellules principales.

#### ✓ Coloration par le Trichrome de Masson

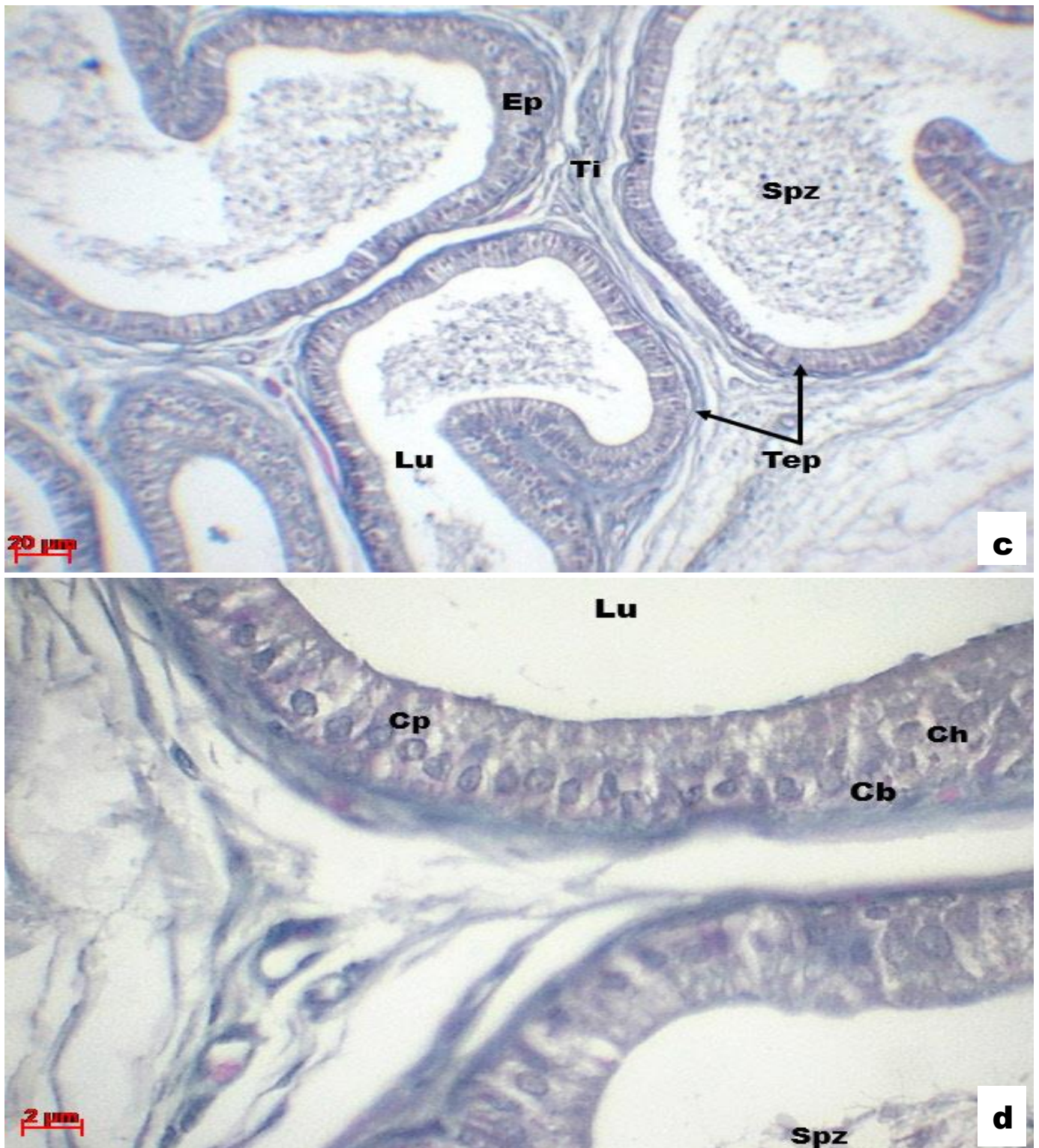
- Au grossissement 10 x 10 (c), des tubes épидидymaires, un épithélium régulier, des spermatozoïdes occupant la lumière, ainsi qu'un espace intertubulaire sont mis en évidence.
- Au grossissement 10 x 100 (d), nous observons un épithélium haut pseudo-stratifié, et plusieurs types cellulaires qui le composent dont les cellules principales, basales et en halo.



**Planche 1 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin témoin coloration HE.**

a : G 10 x 10 ; b : G 10 x 100

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, lu : Lumière épидидymaire, Stc : Stéréocils, Ti : Tissus interstitiel, Mul : Muscle lisse, Vs : Vaisseaux sanguins, Cp : Cellule principale, Cb : Cellule basale, Ca : Cellule apicale, Ch : Cellule en halo.



**Planche 2 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin témoin coloration**

**Trichrome de Masson.** c : G 10 x 10 ; d : G 10 x 100

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, Lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissus interstitiel, Cp : Cellule principale, Cb : Cellule basale, Ch : Cellule en halo.

### 2.1.2. Histologie épидидymaire des lapins traités par les vits C et E

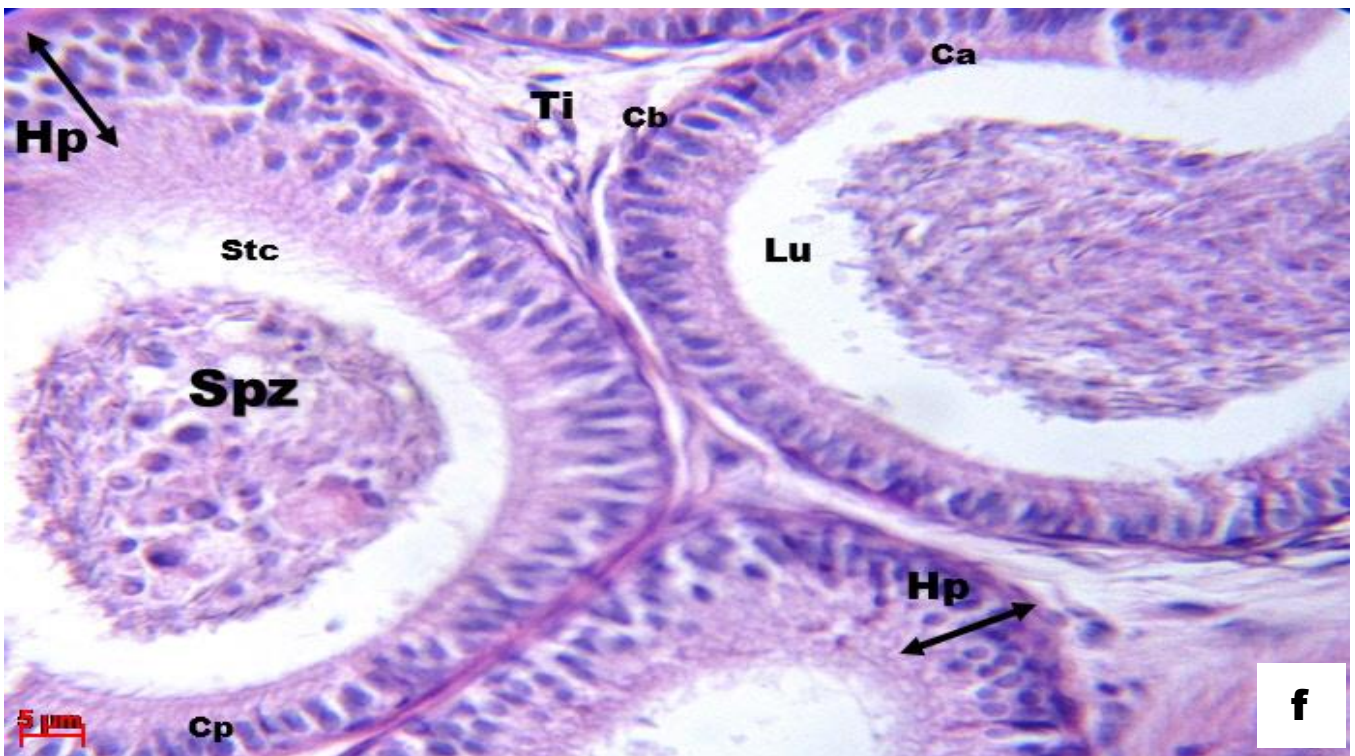
Selon les planches 3 et 4, nous remarquons que les lapins traités par les vitamines C et E pendant 21 jours sont relativement similaires aux lapins témoins, avec une hyperplasie régénératrice des cellules basales de l'épithélium épидидymaire de plusieurs tubes. Cette hyperplasie se traduit par une diminution du diamètre de la lumière et de l'espace intertubulaire et une augmentation de la hauteur de l'épithélium par rapport au groupe témoin.

✓ Coloration par l'Hématoxyline Eosine

- Au grossissement 10 x 10 (e), nous notons des tubes épидидymaires bordés par un épithélium qui présente des hyperplasies localisées à certains endroits, avec des amas de spermatozoïdes occupant la lumière.
- Au grossissement 10 x 40 (f), nous remarquons la présence de stéréocils au pôle apicale des cellules constituant l'épithélium épидидymaire, ainsi qu'une régénération et multiplication des cellules basales (hyperplasie).

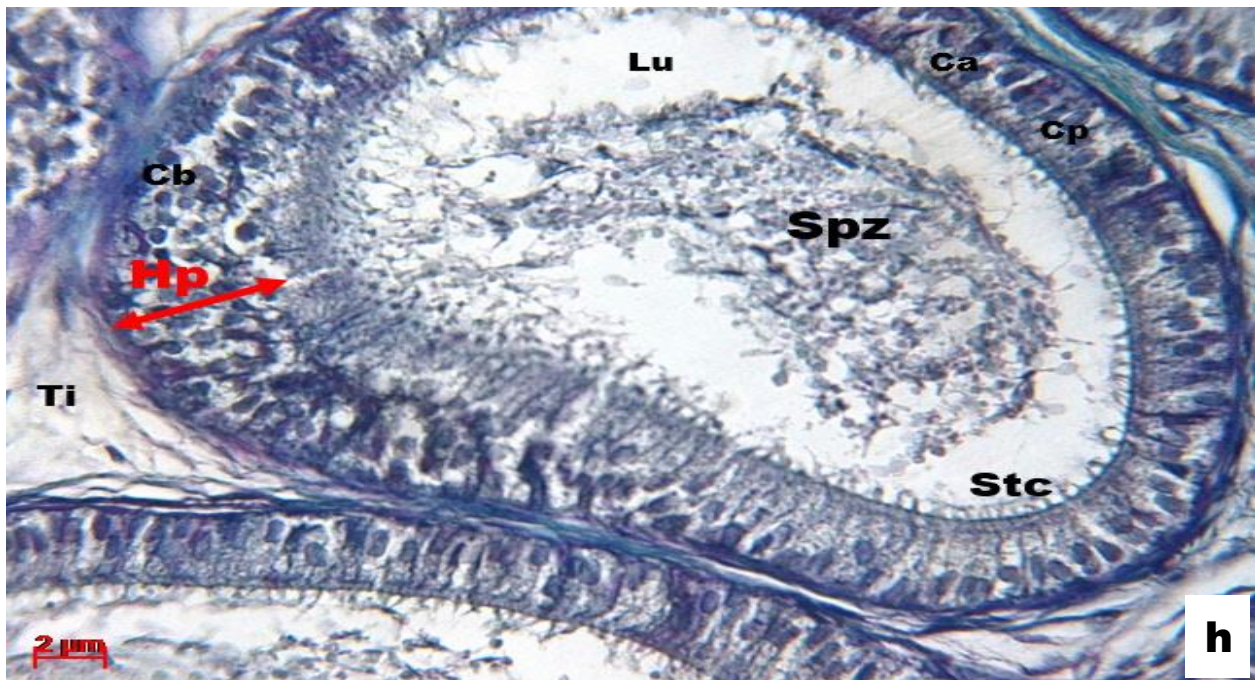
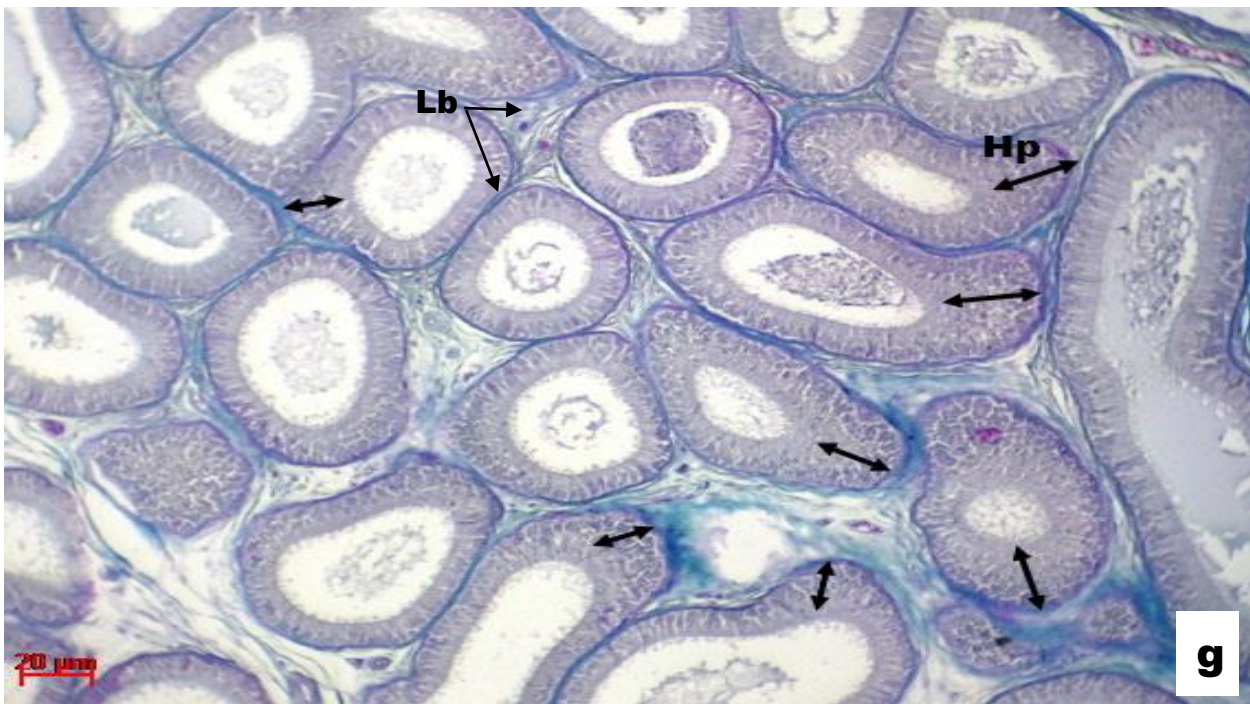
✓ Coloration par Trichrome de Masson

- Au grossissement 10 x 10 (g), nous observons distinctivement la lame basale de l'épithélium des tubes épидидymaires, ainsi que l'hyperplasie de cet épithélium.
- Au grossissement 10 x 100 (h), les stéréocils, l'épithélium pseudo-stratifié, l'hyperplasie régénératrice ainsi qu'un amas de spermatozoïdes occupant la lumière, sont bien mis en évidence par la coloration.



**Planche 3 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par les vitamines C et E coloration HE. e : G 10 x 10 ; f : G 10 x 40**

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissus interstitiel, Cp : Cellule principale, Cb : Cellule basale, Ca : Cellule apicale, Ch : Cellule en halo. Tep CT : Tube épидидymaire coupe transversale. MI : Muscle lisse, Hp : Hyperplasie, Stc : Stéréocils.



**Planche 4 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par les vits C et E coloration Trichrome de Masson. g : G 10 x 10 ; h : G 10 x 100**

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, Lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissus interstitiel, Cp : Cellule principale, Cb : Cellule basale, Ch : Cellule en halo. Ca : cellules apicales, Lb : lame basale, Stc : stéréocils, Hp : Hyperplasie, Vs : Vaisseaux sanguins. ↔ : Hyperplasie.

### 2.1.3. Histologie épидидymaire des lapins traités par LCT

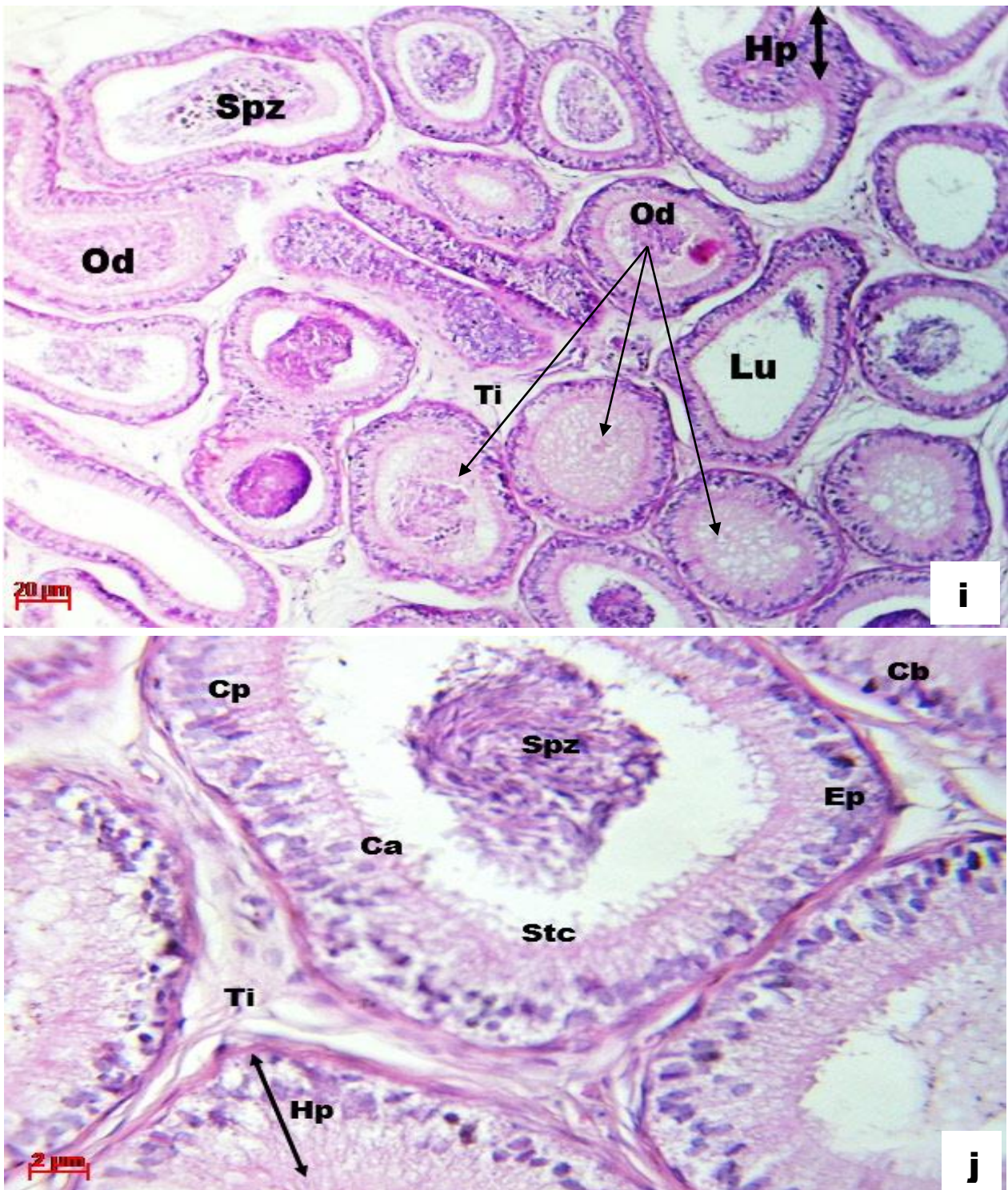
Selon les planches 5 et 6, nous remarquons que l'exposition subaiguë pendant 21 jours à LCT cause une importante dégénérescence des cellules épithéliales épидидymaires, notamment des cellules basales et principales. Il est intéressant de remarquer aussi la présence d'œdèmes diffus au niveau de la lumière épидидymaire, ainsi qu'une augmentation du diamètre de la lumière des tubes et de l'espace intertubulaire, mais aussi par une réduction de la hauteur de l'épithélium en comparaison à l'épithélium épидидymaire des lapins du groupe témoin.

✓ Coloration par l'Hématoxyline Eosine

- Au grossissement 10 x 10 (i), nous observons des tubes épидидymaires de forme irrégulière, un espace intertubulaire important, ainsi que des œdèmes diffus.
- Au grossissement 10 x 100 (j), nous notons une dégénérescence de l'épithélium épидидymaire, ainsi qu'un œdème diffus.

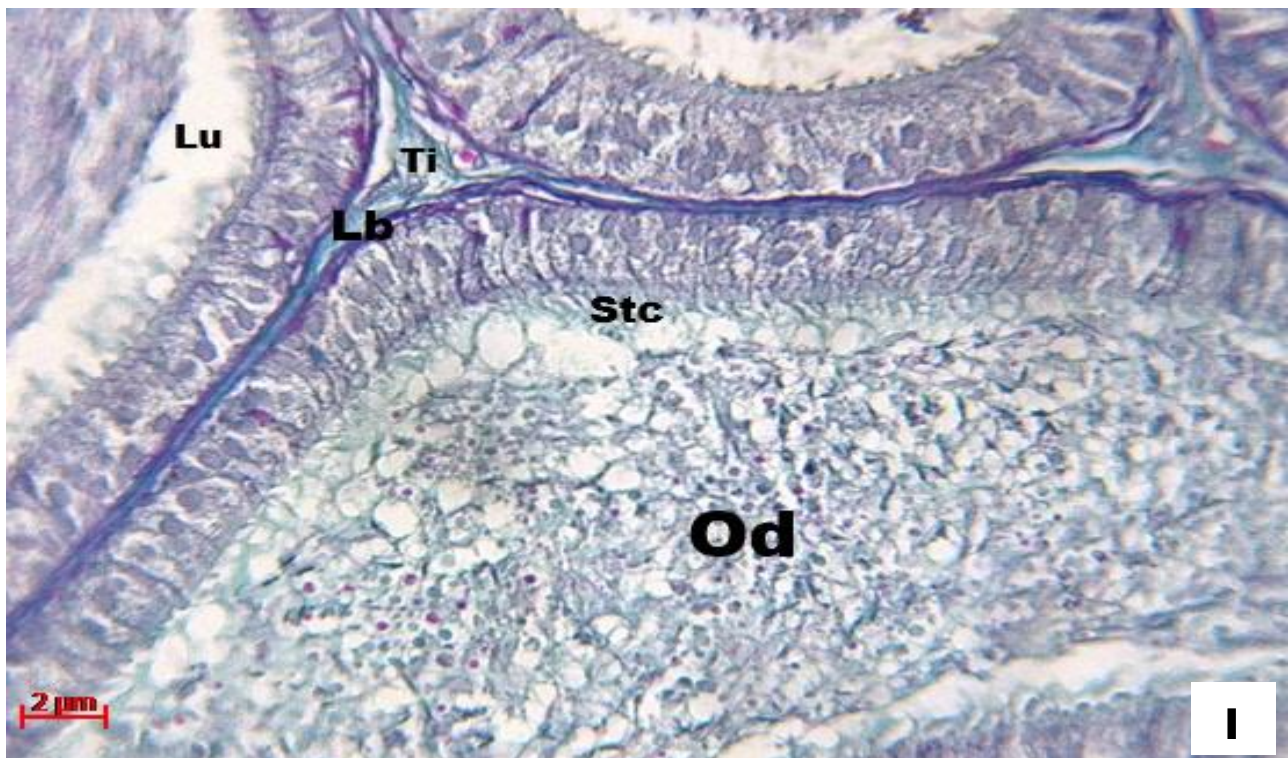
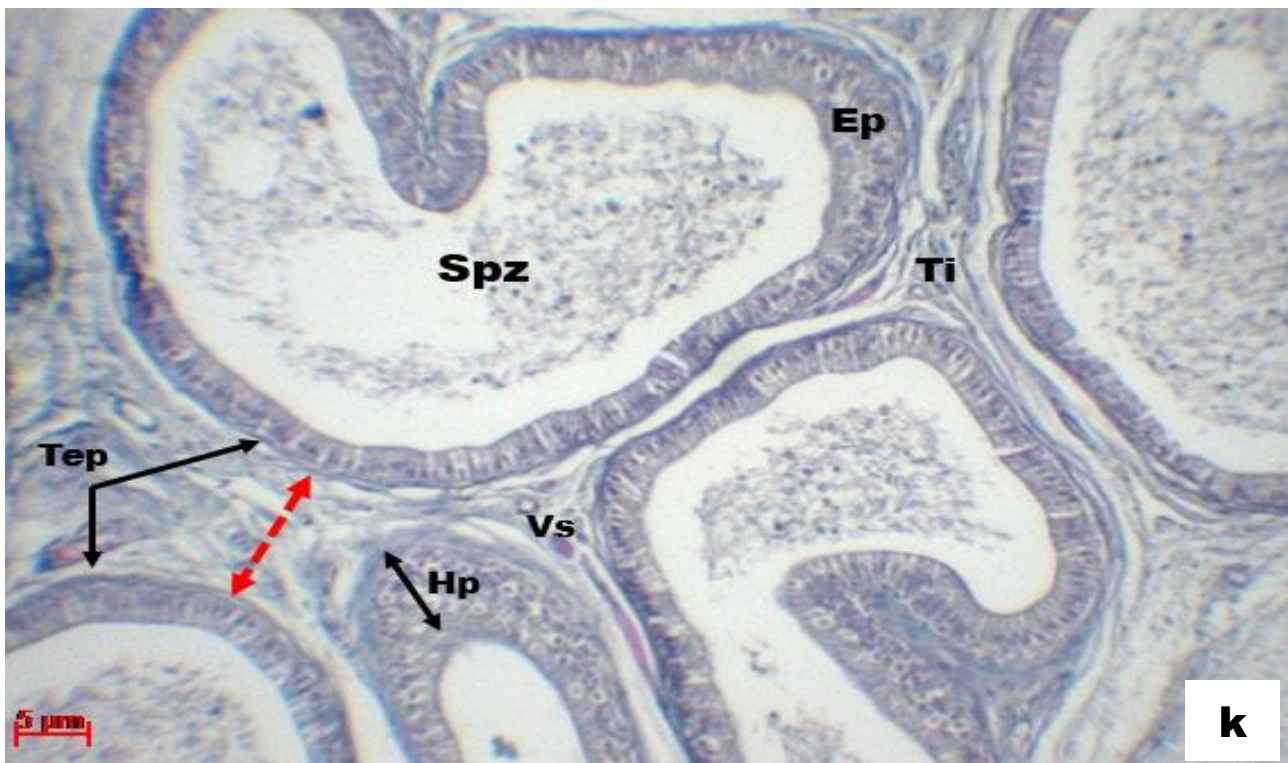
✓ Coloration par Trichrome de Masson

- Au grossissement 10 x 40 (k), nous notons une irrégularité du contour des tubes épидидymaires avec un épithélium réduit présentant des hyperplasies à certains endroits, ainsi qu'un espace intertubulaire important.
- Au grossissement 10 x 100 (l), nous distinguons une lame basale bien délimitée et un œdème diffus.



**Planche 5 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité avec la LCT coloration HE. i : G 10 x 10 ; j : G 10 x 100**

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissu interstitiel, Cp : Cellule principale, Cb : Cellule basale, Ca : Cellule apicale, Ch : Cellule en halo, Vs : Vaisseau sanguin, Hp : Hyperplasie, Od : Œdème, Stc : Stéréocils.

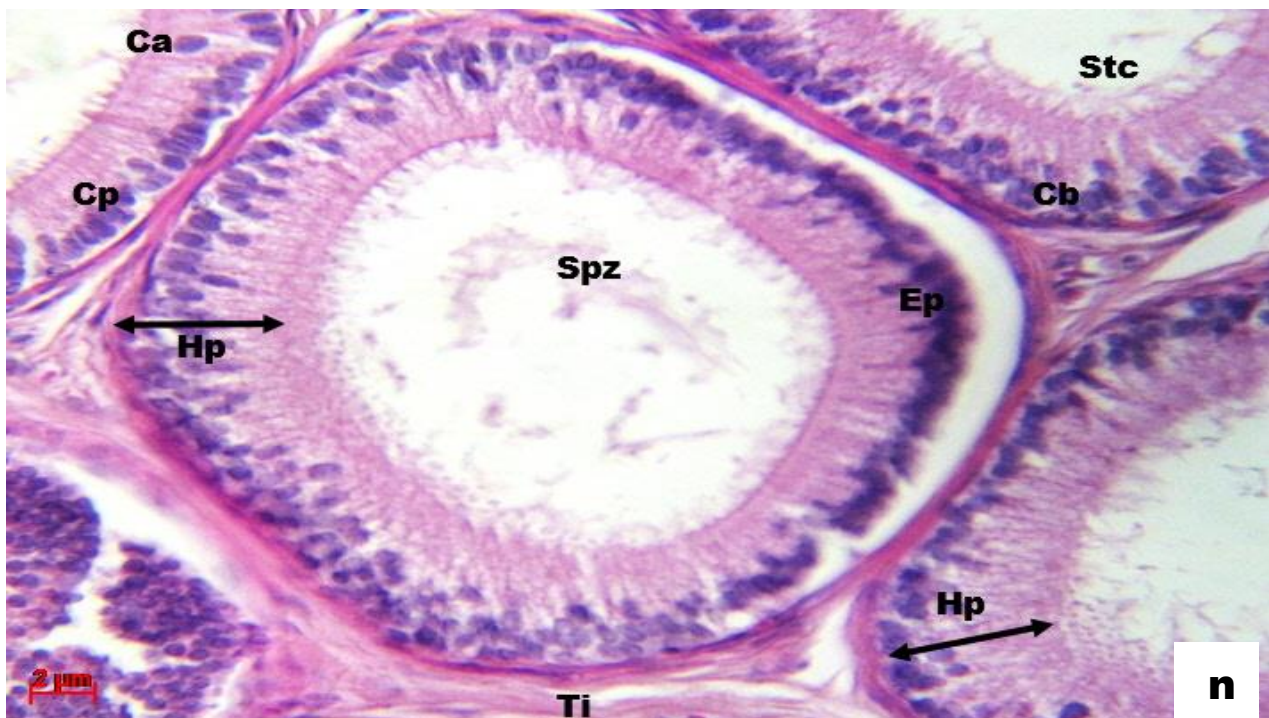
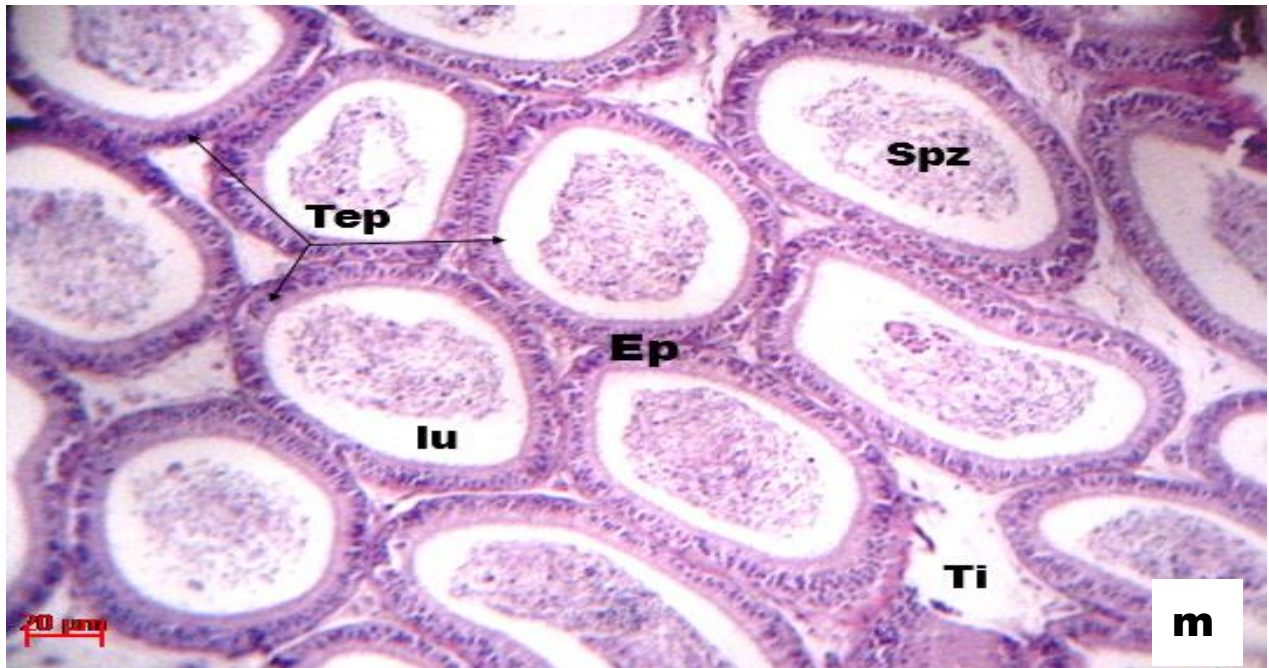


**Planche 6 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par LCT coloration Trichrome de Masson. k : G 10 x 40 ; l : G 10 x 100**

Lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissus interstitiel, Stc : stéréocils, Hp : Hyperplasie, Od : œdème,  $\leftarrow \text{---} \rightarrow$  : Espace intertubulaire.

#### 2.1.4. Histologie épидidymaire des lapins traités par LCT + vitamines C et E

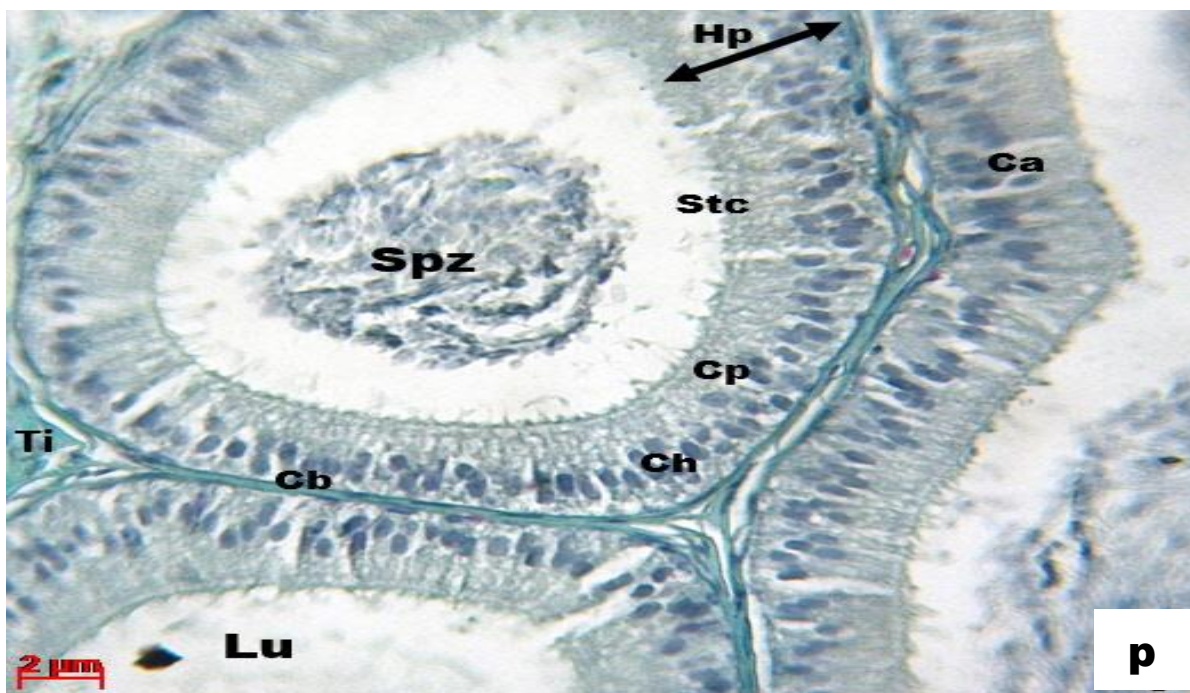
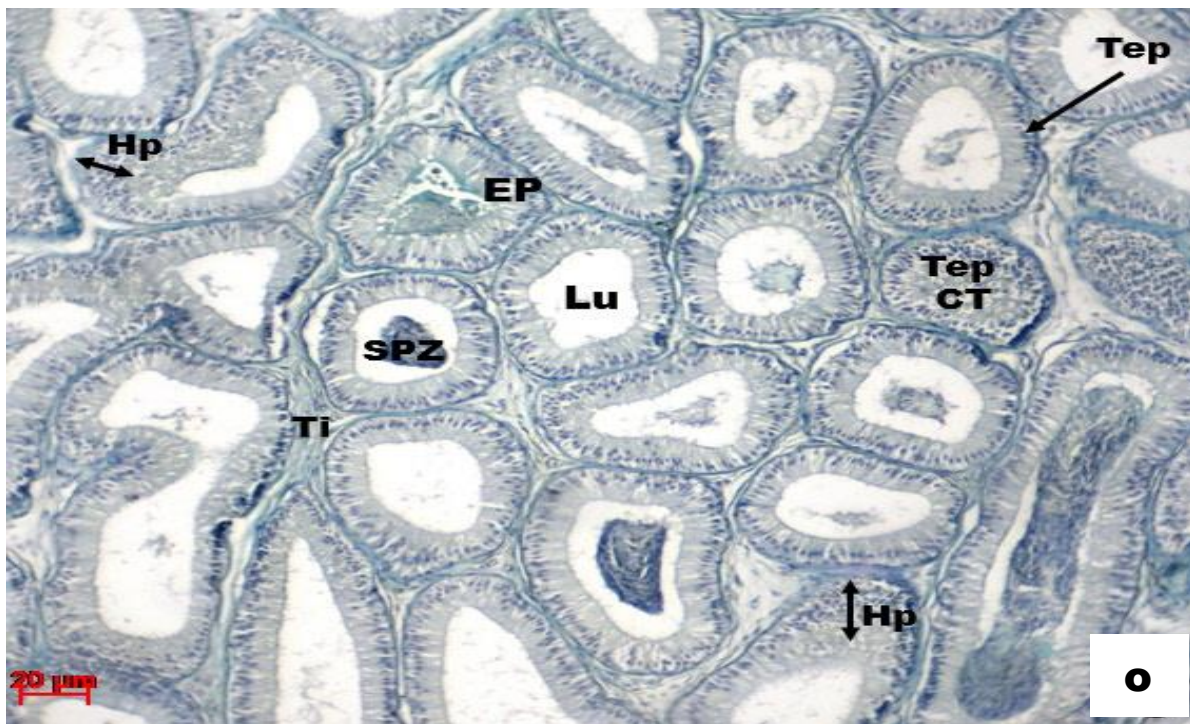
- Selon les planches 7 et 8, nous constatons que les lapins co-administrés par LCT et vitamines C et E présentent une hyperplasie régénératrice importante des cellules basales en comparaison aux traités par LCT et une régularité de la forme des tubes. Ceci se traduit par une augmentation et une amélioration de la hauteur de l'épithélium, une diminution du diamètre de la lumière des tubes et une réduction de l'espace intertubulaire en comparaison au groupe traité par LCT et au groupe témoin.
  
- ✓ Coloration par l'Hématoxyline Eosine
  
- Au grossissement 10 x 10 (m), nous observons des tubes épидidymaires réguliers avec un espace intertubulaire réduit et une normalisation de l'épithélium et des amas de spermatozoïdes dans les lumières tubulaires.
- Au grossissement 10 x 100 (n), nous remarquons un tube épидidymaire au contour régulier, bordé par un épithélium pseudo-stratifié ayant des stéréocils au pôle apical de ses cellules principales, ainsi qu'une hyperplasie régénératrice au sein de cet épithélium.
  
- ✓ Coloration par Trichrome de Masson
  
- Au grossissement 10 x 10 (o), nous observons des tubes épидidymaires de forme régulière, bordé par un épithélium d'aspect normal présentant des hyperplasies régénératrices par endroit ainsi qu'une lumière occupée par des amas de spermatozoïdes.
- Au grossissement 10 x 100 (p), nous notons une hyperplasie au sein de l'épithélium pseudo-stratifié présentant des stéréocils au pôle apicales de ses cellules principales reposant sur une lame basale bien mise en évidence par la coloration, nous notons également la présence d'amas de spermatozoïdes occupant la lumière tubulaire.



**Planche 7 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par la LCT co-administré avec les vitamines C et E coloration HE.**

m : G 10 x 10 ; n : G 10 x 100

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, lu : Lumière épидидymaire, Stc : Stéréocils, Ti : Tissus interstitiel, Mul : Muscle lisse, Cp : Cellule principale, Cb : Cellule basale, Ca : Cellule apicale, Ch : Cellule en halo, Hp : Hyperplasie.



**Planche 8 : Structure histologique du tube épидидymaire chez le lapin traité par la LCT co-administré avec les vitamines C et E coloration Trichrome de Masson. o : G 10 x 10 ; p : G 10 x 100.**

Tep : Tubes épидидymaires, Spz : Spermatozoïdes, Ep : épithélium épидидymaire, Lu : Lumière épидидymaire, Ti : Tissu interstitiel, Cp : Cellule principale, Cb : Cellule basale, Ch : Cellule en halo, Ca : cellules apicales, Lb : lame basale, Stc : stéréocils, Hp : Hyperplasie, Vs : Vaisseaux sanguin, Tep CT : tubes épидидymaires coupe transversale.

## 2.2. Histomorphométrie

Parallèlement à l'étude histologique, nous avons effectué des mesures morphométriques sur les photos prises sur les coupes histologiques observées au microscope photonique.

Nous avons effectué les mesures suivantes :

- Surface des tubes,
- Hauteur de l'épithélium,
- Diamètre de la lumière,
- Espace intertubulaire.

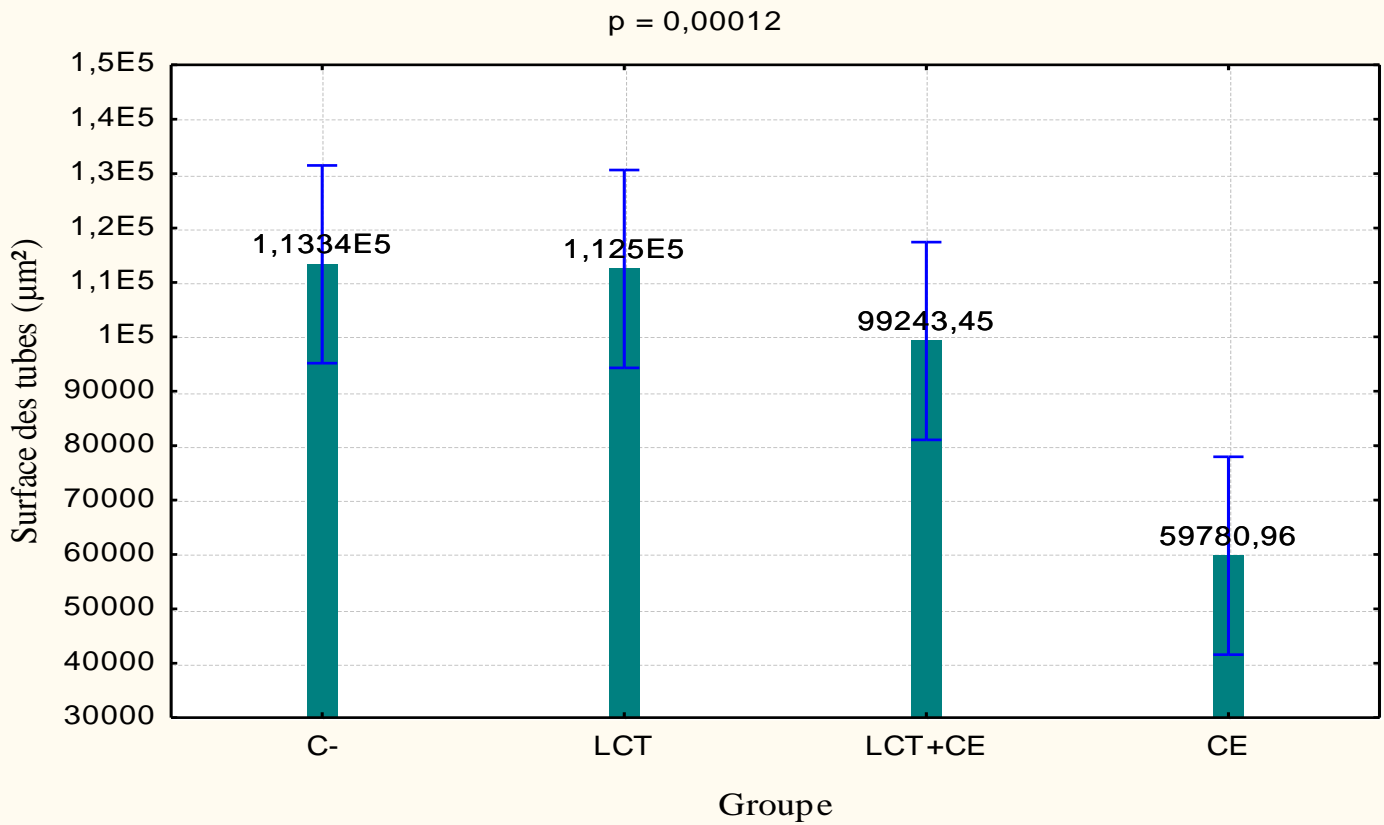
Les moyennes des valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau suivant :

**Tableau 6** : Moyennes des mesures morphométriques des différents paramètres.

Moyennes				
Groupe/paramètre	Surface des tubes ( $\mu\text{m}^2$ )	Hauteur de l'épithélium ( $\mu\text{m}$ )	Diamètre de la lumière ( $\mu\text{m}$ )	Espace intertubulaire ( $\mu\text{m}$ )
<b>Contrôle</b>	<b>113338,25 <math>\pm</math> 27953,41</b>	<b>45,18 <math>\pm</math> 9,79</b>	<b>261,947 <math>\pm</math> 98,2</b>	<b>45,613 <math>\pm</math> 24,11</b>
<b>CE</b>	<b>59780,95 <math>\pm</math> 28592,44</b>	<b>58,105 <math>\pm</math> 11,7</b>	<b>246,077 <math>\pm</math> 80,63</b>	<b>26,151 <math>\pm</math> 11,71</b>
<b>LCT</b>	<b>112498,12 <math>\pm</math> 89263,93</b>	<b>37,745 <math>\pm</math> 10,45</b>	<b>308,272 <math>\pm</math> 77,84</b>	<b>114,739 <math>\pm</math> 46,86</b>
<b>LCT + CE</b>	<b>99243,45 <math>\pm</math> 40565,11</b>	<b>49,555 <math>\pm</math> 10,23</b>	<b>258,159 <math>\pm</math> 104,79</b>	<b>84,952 <math>\pm</math> 32,85</b>

Les résultats obtenus sont présentés sous formes de graphiques comme suit :

### 2.2.1. Surface des tubes



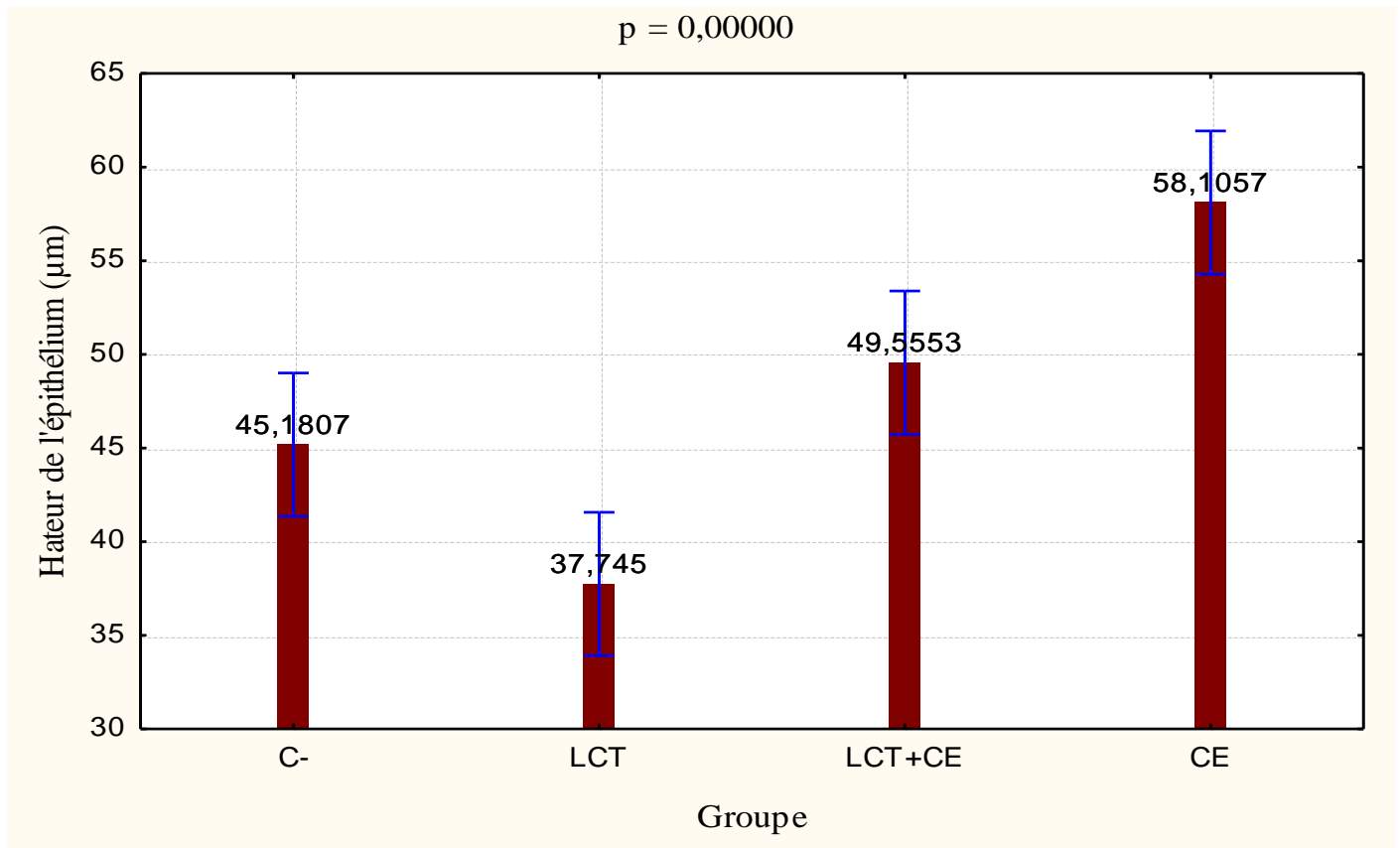
**Figure 22** : Surface des tubes en fin d'expérimentation chez les différents lots.

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

#### Interprétation

Comparativement au groupe témoin, les surfaces des tubes du groupe traité par LCT ainsi que celle du groupe co-administré ont relativement diminué. Cette diminution est plus accentuée dans le groupe traité par les vits C et E.

### 2.2.2. Hauteur de l'épithélium



**Figure 23 :** Hauteur de l'épithélium des tubes en fin d'expérimentation chez les différents lots.

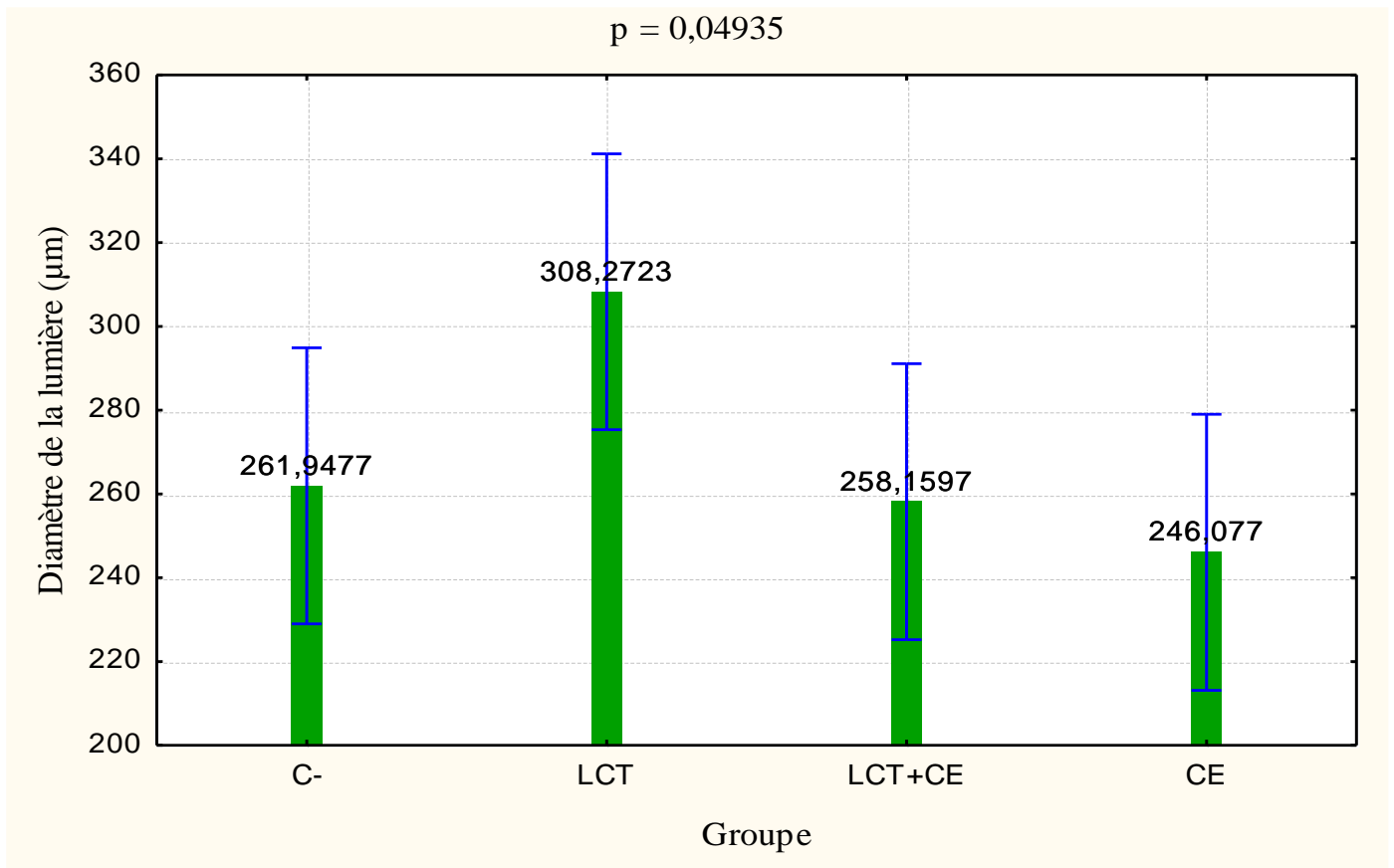
C - : Groupe témoin. LCT : Groupe traité par la LCT. LCT+CE : Groupe co-administré par LCT et les vitamines C et E. CE : Groupe traité par les vitamines C et E.

#### Interprétation

Les lapins traités par les vitamines C et E présentent un épithélium épидидymaire d'une hauteur très élevée ( $58.1 \pm 11.7 \mu\text{m}$ ) par rapport au groupe témoin ( $45.18 \pm 9.79 \mu\text{m}$ ).

Après traitement par LCT, nous constatons une nette diminution de la hauteur de l'épithélium ( $37.45 \pm 10.45 \mu\text{m}$ ) comparativement au groupe témoin ( $45.18 \pm 9.79 \mu\text{m}$ ), cependant nous notons une amélioration de cette dernière après administration des vitamines C et E ( $49.55 \pm 10.23 \mu\text{m}$ ).

### 2.2.3. Diamètre de la lumière



**Figure 24 :** Diamètre de la lumière des tubes en fin d'expérience chez les différents lots. C - : Groupe témoin. LCT : Groupe traité par LCT. LCT+CE : Groupe co-administré par LCT et les vitamines C et E. CE : Groupe traité par les vitamines C et E.

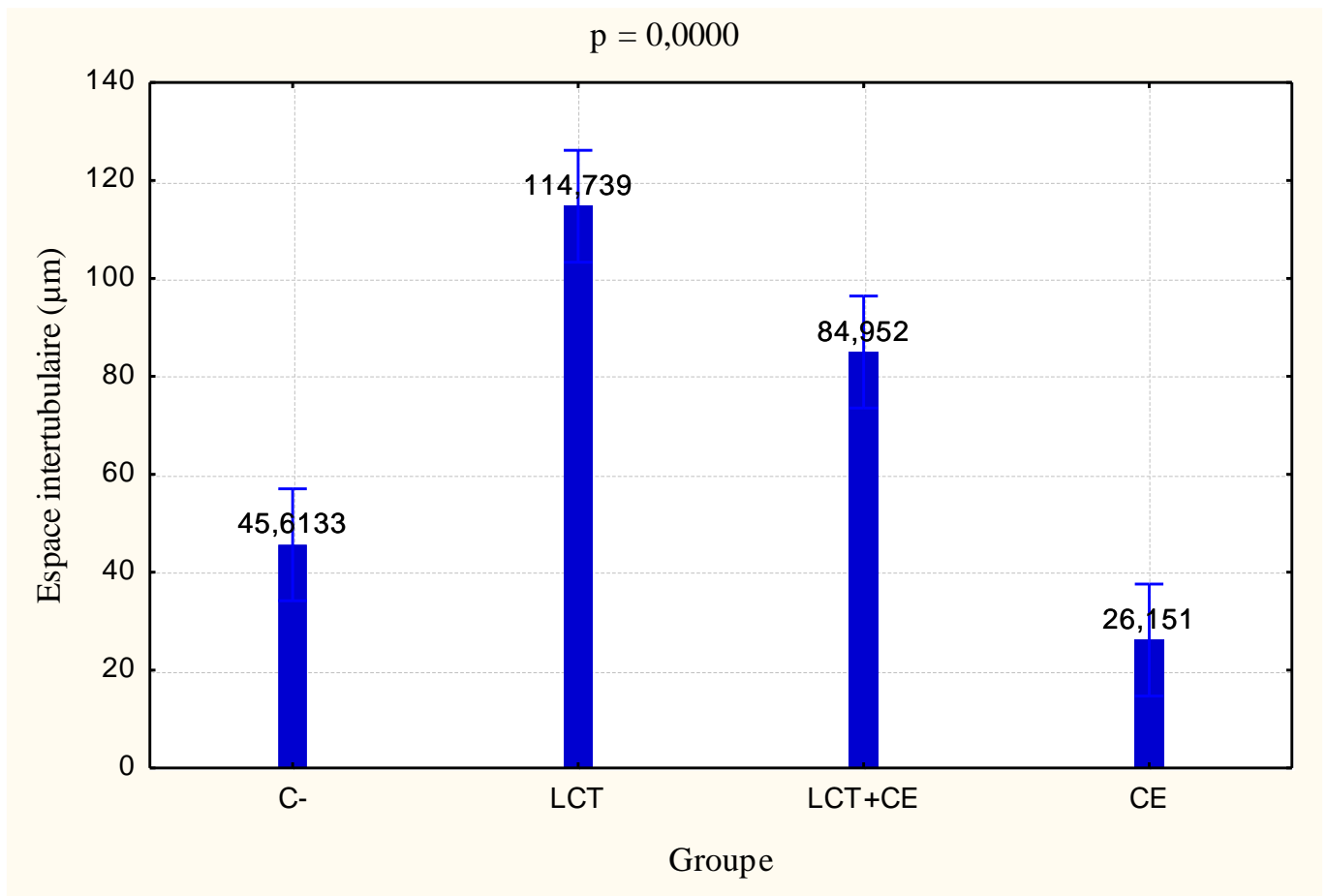
#### Interprétation

Après traitement par les vitamines C et E, nous notons une diminution du diamètre de la lumière tubulaire ( $246.07 \pm 80.63 \mu\text{m}$ ) comparativement au groupe témoin ( $261.94 \pm 98.2 \mu\text{m}$ ).

Le traitement par LCT induit une augmentation significative de ce paramètre ( $308.27 \pm 77.84 \mu\text{m}$ ) par rapport au témoin ( $261.94 \pm 98.2 \mu\text{m}$ ) et aux traités par les vits C et E ( $246.07 \pm 80.63 \mu\text{m}$ ).

Concernant le groupe co-administré par les vits C et E et par LCT, une importante diminution du diamètre de la lumière est constatée ( $258.15 \pm 104.79 \mu\text{m}$ ) par rapport au groupe traité par LCT ( $308.27 \pm 77.84 \mu\text{m}$ ).

### 2.2.4. Espace intertubulaire



**Figure 25 :** Espace intertubulaire en fin d'expérimentation chez les différents lots.

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

#### Interprétation

Nous remarquons une diminution de l'espace intertubulaire pour les groupes traités par les vitamines C et E ( $26,151 \pm 11,71 \mu\text{m}$ ) par rapport au groupe témoin ( $45,613 \pm 24,11 \mu\text{m}$ ). Cet espace intertubulaire a significativement augmenté après exposition au xénobiotique (LCT) ( $114,739 \pm 46,86 \mu\text{m}$ ).

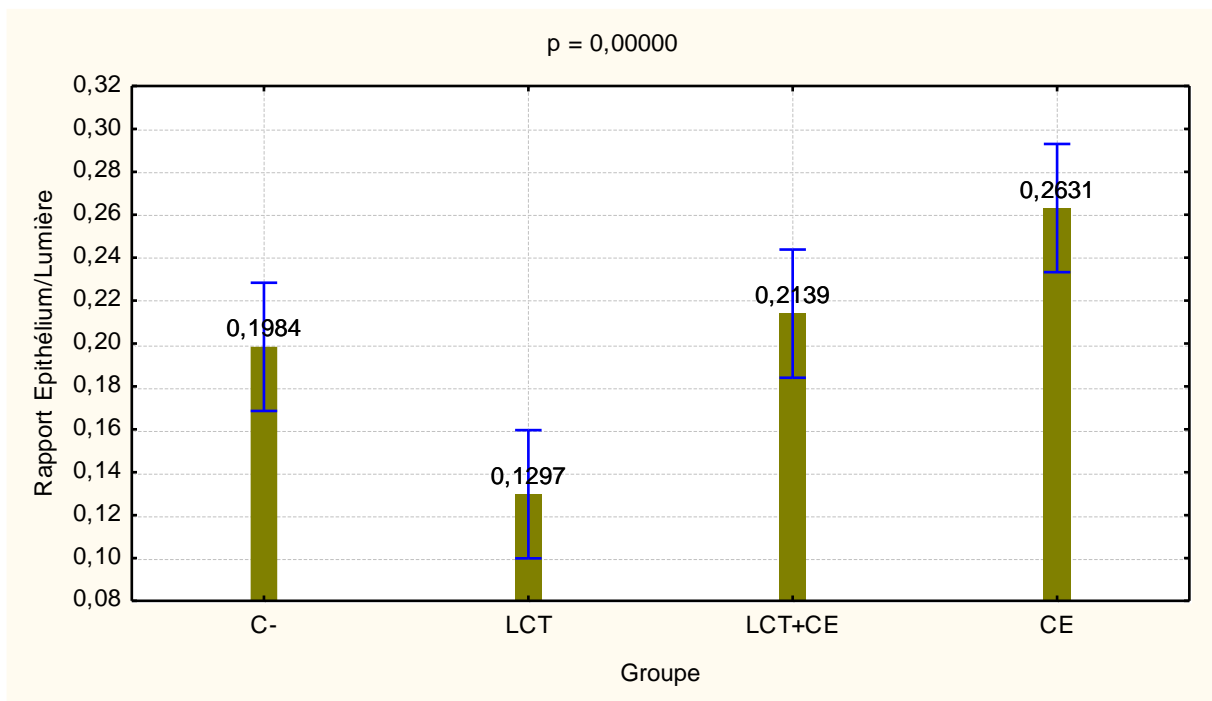
Concernant le groupe co-administré par les vits C et E et par LCT ( $26,151 \pm 11,71 \mu\text{m}$ ), l'espace intertubulaire a diminué comparativement au groupe traité par LCT ( $114,739 \pm 46,86 \mu\text{m}$ ).

### 2.2.5. Rapport Epithélium/lumière

L'intérêt du rapport Epithélium/Lumière est d'évaluer l'activité de l'épithélium épидидyаire.

**Tableau 7** : Résultats du rapport épithélium/lumière des mesures des tubes épидидyаires.

Groupe	Contrôle	CE	LCT	LCT + CE
Rapport épithélium/lumière ( $\mu\text{m}$ )	<b>0,19 <math>\pm</math> 0.08</b>	<b>0,26 <math>\pm</math> 0.1</b>	<b>0,12 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0,21 <math>\pm</math> 0.07</b>



**Figure 26** : Rapport Epithélium/Lumière en fin d'expérimentation chez les différents lots.

### Interprétation

Nous remarquons une augmentation du rapport épithélium/lumière chez les lapins du groupe traité par les vitamines C et E ( $0.26 \pm 0.1 \mu\text{m}$ ), et une diminution de ce dernier dans le groupe traité par LCT ( $0.12 \pm 0.05 \mu\text{m}$ ) en comparaison au groupe témoin ( $0.19 \pm 0.08 \mu\text{m}$ ).

La co-administration des vitamines C et E avec la LCT améliore le résultat ( $0.21 \pm 0.07 \mu\text{m}$ ) en comparaison au groupe traité par le xénobiotique ( $0.12 \pm 0.05 \mu\text{m}$ ).

### Discussion

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue des radicaux libres, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydant qui peut être causée par des produits exogènes tels que les pesticides (**SIES., 1991**).

L'accumulation des espèces réactives oxygénées (ERO) a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides, l'acide désoxyribonucléique et les glucides (**ANGELOS et al., 2005**).

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO (**FAVIER., 2003**). Il existe une quantité innombrable d'antioxydants, parmi elles nous citerons les Polyphénols, le Sélénium, les Vitamines C et E (**YOU et al., 2003**).

Notre présente étude a pour objectif d'évaluer l'effet d'une toxicité subaiguë (pendant 21 jours) par un pyréthrianoïde de synthèse, LCT, sur l'épithélium épидидymaire de lapins de souche locale (*Oryctolagus cuniculus*), en parallèle à un possible effet protecteur d'une co-administration des vitamines C et E. Nos résultats ont montré que :

Les principales manifestations de toxicité subaiguë observées se traduisent dans un premier temps par une importante baisse du poids des animaux traités par la LCT à la fin de l'expérimentation ( $2.72 \text{ kg} \pm 0.28 \text{ g}$ ) comparativement aux lapins témoins ( $3.13 \text{ kg} \pm 0,028 \text{ g}$ ), et un gain de poids remarqué chez les lapins co-administrés par les vits C et E + LCT ( $3.17 \text{ kg} \pm 0.34 \text{ g}$ ). Ces résultats corroborent ceux obtenus par **YOUSEF, (2010)** qui a montré que l'effet cytotoxique des pyréthrianoïdes sur les lapins mâles se manifeste par une baisse significative du poids corporel.

**KHALDOUN et al., (2015)** ont étudié l'effet de ce même pesticide sur des rats et ont montré une différence significative du pourcentage de prise de poids corporel à la fin des périodes de traitement dans le groupe traité par la LCT en comparaison avec le groupe témoin.

D'autres travaux ont également montré que les pesticides de la famille chimique des pyréthrianoïdes de synthèse agissent sur l'évolution pondérale chez diverses espèces (**KILIAN, 2007 ; FETOUI et al., 2010**).

Dans notre étude, la co-administration des vitamines C et E avec la LCT a permis d'améliorer le poids corporel de ces animaux. Ces résultats sont compatibles avec ceux obtenus par **AL-SHINNAWY, (2008)** ; **MESSARAH et al., (2012)** ; **MOSSA et al., (2014)** qui ont constaté une augmentation significative du poids corporel suite à une administration de la vitamine C seule après exposition au pesticide. **YOUSEF, (2010)** a constaté un gain de poids corporel des lapins mâles traités par la LCT après administration de la vitamine E seule.

Jusqu'à présent, peu d'études ont été réalisées sur l'effet amélioratif de la co-administration des vitamines C et E sur l'évolution des poids des lapins traités par la LCT, de ce fait, nous ne pouvons comparer nos résultats avec ceux de la littérature.

En ce qui concerne le poids relatif et absolu des organes, nous avons constaté une baisse des poids des testicules et des épидидymes traités par la LCT ( $0.16 \pm 0.019$  ;  $4.32 \pm 0.22$  g) en comparaison au groupe témoin ( $0.15 \pm 0.027$  ;  $4.59 \pm 0.10$  g). Ces résultats sont en accord avec ceux de **YOUSEF (2010)** qui a obtenu une baisse significative des poids relatifs des testicules, des épидидymes, des vésicules séminales et de la prostate des rats mâles exposés à des pyréthrynoïdes.

Cette baisse observée dans le poids de ces organes peut être directement attribuée à la cytotoxicité de cet insecticide sur ces tissus (**KHALDOUN et al., 2015**), cette diminution peut également être liée à une réduction de la synthèse de la testostérone et une perturbation des taux des androgènes (**HOSSAIN et RICHARDSON, 2011**).

**EL-DEMERDASH (2007)**, a également démontré une réduction significative dans l'indice pondéral des testicules des animaux exposés à la cyperméthrine ou autres pyréthrynoïdes de type- II.

Quant au groupe co-administré, nous avons constaté une augmentation du poids relatif et absolu de ces organes ( $0.18 \pm 0.026$  ;  $5.99 \pm 0.87$  g), ces résultats sont compatibles avec ceux trouvés par **YOUSEF , (2010)**, qui a constaté que l'administration de la vitamine E seule a permis l'augmentation significative du poids relatif des testicules et des épидидymes.

Actuellement, l'effet amélioratif de la co-administration des vitamines C et E sur l'évolution des poids relatifs et absolus des lapins traités par la LCT n'a pas été développé.

Concernant le lot traité par les vitamines C et E, nos résultats montrent une baisse du poids corporel des lapins ( $2.72 \text{ kg} \pm 0.28 \text{ g}$ ), ainsi qu'une diminution des poids relatifs et absolus des testicules et épидидymes de ces mêmes animaux ( $0.15 \pm 0.027$  ;  $4.59 \pm 0.10$  g). Nous n'avons trouvé aucune observation à l'appui afin d'affirmer ou d'infirmer nos résultats.

L'examen histologique structural de l'épididyme des lapins traités par les vitamines C et E montre une importante hyperplasie régénérative des cellules basales par rapport au groupe témoin qui se traduit par un renouvellement cellulaire accru. Ceci est dû au rôle protecteur et antioxydant des vitamines C et E qui protègent les cellules contre les dommages infligés par les radicaux libres. Ces résultats sont confirmés par l'histomorphométrie, qui montre un rapport épithélium/lumière de  $0.26 \pm 0.1 \mu\text{m}$  comparativement à la valeur obtenue pour le groupe témoin qui est de  $0.19 \pm 0.08 \mu\text{m}$ , cette augmentation se traduit par l'hyperplasie des cellules épithéliales du groupe traité par les vitamines C et E.

Nous avons constaté après exposition au pesticide « LCT » la présence d'une altération au niveau de l'épithélium désignant une dégénérescence des cellules épithéliales, notamment des cellules basales et une réduction de ce dernier ; des œdèmes diffus indiquant une désorganisation de la structure histologique de l'épididyme, une irrégularité dans la forme des tubes, une lumière épидидymaire importante, et un espace intertubulaire important, néanmoins aucune étude n'a été effectuée sur l'effet de ce xénobiotique sur l'épididyme de lapin.

Cependant, l'effet reprotoxique de cet insecticide sur les vésicules séminale et les testicules ont été étudiés par **Khaldoun et al., (2015)**, l'examen histopathologique a montré au niveau du testicule une dégénérescence cellulaire avec congestion et œdème, et au niveau des vésicules séminales une détérioration de l'épithélium avec ectopie de ce dernier, ceci concorde avec nos résultats. Par conséquent, la LCT pourrait causer des dommages au niveau de la membrane plasmique des cellules suite à ses propriétés lipophiles (**ISSAM et al., 2009**).

Nos résultats histomorphométriques viennent confirmer nos résultats histopathologiques, qui montrent une réduction de la hauteur de l'épithélium ( $37,745 \pm 10.45 \mu\text{m}$ ) et une augmentation du diamètre de la lumière des tubes ( $308.272 \pm 77.84 \mu\text{m}$ ) en comparaison au groupe témoin qui présente une hauteur de l'épithélium de ( $45.18 \pm 9.79 \mu\text{m}$ ) et un diamètre de lumière de ( $261.947 \pm 98.2 \mu\text{m}$ ). Le rapport épithélium/lumière affirme ces précédent résultats, la valeur de cette dernière ( $0.12 \pm 0.05 \mu\text{m}$ ) est inférieure à celle obtenue pour le groupe témoin ( $0.19 \pm 0.08 \mu\text{m}$ ), ce qui se traduit par une dégénérescence de l'épithélium épидидymaire suite à une exposition subaiguë à la LCT.

Les examens microscopiques ont montré des lésions pathologiques induites par la LCT qui ont été remarquablement réduites par l'administration des vits C et E. Nous notons une régularité de la forme des tubes épидидymaires, ainsi qu'une hyperplasie compensatrice des

cellules basales en comparaison à l'épithélium du groupe traité par la LCT, siège d'une dégénérescence.

Nos résultats corroborent avec ceux trouvés par **BEN ABDELLAH et al., (2013)**, qui ont mené une étude histologique sur l'effet antioxydant de la quercétine, un puissant antioxydant, sur l'effet reprotoxique de la LCT. Ces derniers ont démontré que la co-administration d'une dose de (50 mg/kg/jour) de quercétine avec la LCT induit une réduction des lésions au niveau des tubes séminifères permettant de distinguer les différents stades de la spermatogenèse avec un tissu interstitiel normal. Ils suggèrent que la co-administration de la LCT avec la quercétine prévient les dommages causés par les radicaux libres et maintient le bon fonctionnement du système pro-oxydant, antioxydant. De ce fait, la co-administration de la quercétine atténue l'effet reprotoxique de la LCT sur la structure testiculaire. Peu d'études ont été menées sur l'effet amélioratif de la co-administration des vitamines C et E sur la reprotoxicité en générale et sur l'épididyme en particulier, ce qui limite notre discussion.

Nos résultats histomorphométriques confirment nos résultats histopathologiques, qui montrent une nette amélioration de la hauteur de l'épithélium épидидymaire ( $49.555 \pm 10.23 \mu\text{m}$ ) et une diminution du diamètre de la lumière des tubes ( $258.159 \pm 104.79 \mu\text{m}$ ) concernant le groupe co-administré par la LCT + C et E, comparativement au groupe traité par la LCT dont les valeurs sont respectivement les suivantes  $37.745 \pm 10.45 \mu\text{m}$  et  $308.272 \pm 77.84 \mu\text{m}$ . Ceci se confirme par le rapport épithélium/lumière dont la valeur pour le groupe co-administré ( $0.21 \pm 0.07 \mu\text{m}$ ) est supérieure à celle trouvée pour le groupe traité par la LCT ( $0.12 \pm 0.05 \mu\text{m}$ ) ce qui affirme l'hyperplasie régénératrice observée au niveau de cet épithélium.

# *Conclusion*

## **Conclusion**

L'objectif de ce travail de recherche est d'explorer l'effet reprotoxique d'un biopesticide de la famille des pyréthriinoïdes, lambda-cyhalothrine, et de tester les effets protecteurs de la supplémentation en vitamines C et E connues pour leur rôle antioxydant sur l'épithélium épидидymaire.

Les résultats obtenus nous ont permis de montrer que l'exposition subaigüe à ce xénobiotique provoque une perte de poids corporel et une diminution du poids absolue et relatif des épидидymes et des testicules, une augmentation du diamètre de la lumière et une irrégularité du contour des tubes, ainsi que des dommages structuraux, des lésions tissulaires et cellulaires au niveau des tubes épидидymaires qui se reflètent par une dégénérescence de l'épithélium épидидymaire, notamment celle des cellules basales induisant la réduction de sa hauteur.

La supplémentation des vitamines C et E induit un gain de poids corporel et une augmentation du poids des organes, et sur le plan histologiques, une réparation et un renouvellement de l'épithélium épидидymaire se traduisant par une hyperplasie compensatrice des cellules épithéliales et une normalisation de cette structure. Ces résultats sont confirmés par l'examen histologique et l'étude histomorphométrique.

En se référant à la littérature et à nos résultats, nous pouvons conclure que d'une part, l'exposition à lambda cyhalothrine cause des lésions tissulaires de l'épithélium épидидymaire et d'autre part que la co-administration des vitamines C et E rétablis l'état normale des différentes structures épидидymaires.

## **Perspectives**

Des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les différents effets observés. Par conséquent, notre travail pourrait être complété par une analyse des profils hormonaux à savoir les gonadostimulines LH et FSH afin d'évaluer l'effet de ce pesticide sur l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadotrope et sa possible répercussion sur la physiologie épидидymaire ainsi que l'éventuel effet amélioratif des antioxydants.

La réalisation d'une coloration histochimique par le PAS serait un complément plus que nécessaire afin de mettre en évidence les différentes sécrétions des cellules épидидymaires et les dommages engendrés par le xénobiotique sur ces dernières.

Estimer l'effet du stress oxydatif sur les tissus épидидymaires en dosant les éventuelles variations des marqueurs biologiques notamment le Glutathion.

Des études histopathologique et histomorphométrique des différents segments caractérisant l'épididyme s'avèrent nécessaires afin d'évaluer l'impact du pesticide sur ces derniers et l'existence d'un possible effet néfaste sur leur physiologie. Il est également intéressant d'étudier l'impact probable de cet insecticide sur la qualité de la semence (spermogramme).

Etudier les mécanismes cellulaire et moléculaire des effets protecteurs des antioxydants en générale et de la co-administration des vitamines C et E en particulier sur la reprotoxicité induite par les pesticides.

- Abe K., Takano H., And Ito T., (1983).** Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. Arch Histol Jpn 46, 51-68.
- Abe, K., Takano, H., and Ito, T ; (1984).** Interruption of the luminal flow in the epididymal duct of the corpus epididymidis in the mouse, with special reference to differentiation of the epididymal epithelium. Arch Histol Jpn 47, 137-147.
- Abou-Haila A., And Fain-Maurel M.A., (1984).** Regional differences of the proximal part of mouse epididymis : morphological and histochemical characterization. Anat Rec 209, 197-208. Academic/ Plenum Publishers), pp. 81-102.
- Adikwu E., Apiakis W., (2012).** Ameliorative effects of vitamins C and E on tenofovir/nevirapine-induced hepatorenal oxidative stress in albino rats. Indonesian Journal of Pharmacy, Vol 27, No 4.
- Al-Shinnawy M.S., (2008).** Vitamin C as ameliorative agent against thiodicarb toxicated male albino rats (*Rattus norvegicus*). Egypt. Acad. J. Biol. Sci. 1(2) : 177-187.
- Alvarino J.M.R., (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In : Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia Jul., 2000, Vol. A : 13-35.
- Angelos M.G., Kotalav K., Torres C.A., He G., Stoner J.D., Mohammed M., Kuppusamy P., (2005).** Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radiacal generation. Am J Physiol Heart Circ Physiol. Vol. 290(1) : 341-347.
- Anonyme 1, (1987).** Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes, JOURNAL OFFICIEL N° 87-17 du 1 aout 1987.
- Anonyme 2, (2004).** Government Of Canada Publications. <http://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/resultats.aspx?Search=matiere&ID=140>.
- Au, C. L., Ngai, H. K., Yeung, C. H., and Wong, P. Y. (1978).** Effect of adrenalectomy and hormone replacement on sodium and water transport in the perfused rat cauda epididymidis. J Endocrinol 77, 265-266.
- Ball G.F.M., (2004).** Vitamins : Their role in the human body. Blackwell Publishing, Oxford. 449p.
- Beaulieu, V., Da Silva, N., Brown, C. R., Smith, P. J., Brown, D., And Breton, S., (2004).** Modulation of the actin cytoskeleton via gelsolin regulates vacuolar H<sup>+</sup>ATPase (V-ATPase) recycling. J Biol Chem.
- Bedford J.M., (1967).** Effects of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa from different regions of the rabbit epididymis. J. Exp. Zool. 166 : 271-281.
- Ben Abdallah F., Fetoui H., Zribi N., Fakhfakh F., Keskes L., (2013).** Quercetin Attenuates Lambda Cyhalothrin-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. - Environmental Toxicology ; December 2013.
- Berrah A., (2011).** Etude sur les pesticides. Master en toxicologie appliquée. Université de Tébessa Algérie. P : 57-58.
- Boland, J., Koomen, I., Van Lidth De Jeude, J. Et Oudejans, J., (2004).** Les pesticides : composition, utilisation et risques, Pays Bas.
- Bossokpi I.P.L., (2002).** Etude des activités biologiques de Fagara zanthoyloides Lam (Rutaceae).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 9p.
- Bourgeois C., (2003).** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Edition TEC & DOC, Paris. 708 p.

- Britan A., (2006).** Développement, optimisation et utilisation d'un système cellulaire de l'épithélium épидидymaire murin : Approches moléculaire. Thèse DOCTORAT. Ecole Doctorale des sciences de la vie et de la santé. Université blaise pascal d'auvergne : 83p.
- Burr A., Ray E., (2004).** Structure activity and interaction effect du carbofuran sur l'activité de l'AChE cérébrale. Laboratoire d'Ecologie Aquatique, INRA, France. (25), 33-40.
- Bahathiq, A. O., Stewart, R. L., Baxter, L., Wells, M., Moore, H. D., and Ledger, W. L. (2005).** Tissue immunoexpression and messenger ribonucleic acid localization of inhibin/activin subunit in human epididymis. *Fertil Steril* 83, 78-85.
- Brooks, D. E. (1981).** Metabolic activity in the epididymis and its regulation by androgens. *Physiol Rev* 61, 515-555.
- Brumlow, W. B., and Adams, C. S. (1990).** Immunocytochemical detection of prolactin or prolactin-like immunoreactivity in epididymis of mature male mouse. *Histochemistry* 93, 299-304.
- Cazet L.D.M., (2007).** Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin. Ecole nationale vétérinaire de lyon. Thèse n° 074. Lyon, France.
- Cooper, T.G., (1998).** Interactions between epididymial secretions and spermatozoa. *J Reprod Fertil Suppl* 53, 119-136.
- Cuvelier C., Dotreppe O., Istasse L., (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.,* 2003, 147, 315-324.
- Castellon, E. A., and Huidobro, C. C. (1999).** Androgen regulation of glycosidase secretion in epithelial cell cultures from human epididymis. *Hum Reprod* 14, 1522-1527.
- Del Rio, A. G., Blanco, A. M., Pignataro, O., Niepomnische, H., Juvenal, G., and Pisarev, M. A. (2000).** High-affinity binding of T3 to epididymis nuclei. *Arch Androl* 44, 187-191.
- Dacheux F., And Dacheux J.L., (2001).** L'épididyme et les glandes annexes. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme, I.* Editions, ed. (Paris, EditionsEllipses), pp 290-315.
- Daewoo L., Yoonseong P., Brown T., Adams M., (1999).** Altered properties of neuronal sodium channels associated with genetic resistance to pyrethrinoid. *Molecular pharmacology.* (55), 584-593.
- Diallo A., (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense WILLD* (MYRTACEAE). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 13-14.
- Djefal A., (2014).** Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C – thèse doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Dupin H., Cup J., Malewiak M.I., Leynaud-Rouaud C., Berthier A.M., (1992).** Alimentation et nutrition humaines. Esf Editeur. Pp 361. Pages 1533.
- Eddy E.M., Toshimori K., O'brien D.A., (2003).** Fibrous sheath of mammalian spermatozoa. *Microsc. Res. Tech.* 61 : 103-115.
- Eddy, E. M., Washburn, T. F., Bunch, D. O., Goulding, E. H., Gladen, B. C., Lubahn, D. B., and Korach, K. S. (1996).** Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology* 137, 4796-4805.

- El-Demerdash F.M., (2007).** Lambda-cyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effect of some antioxidants. *Toxicol In Vitro* ; 21: 392-7. Epididymis : from molecules to clinical practice, R. a. Hinton, ed. (New York, Kluwer).
- Filippi, S., Luconi, M., Granchi, S., Vignozzi, L., Bettuzzi, S., Tozzi, P., Ledda, F., Forti, G., and Maggi, M. (2002a).** Estrogens, but not androgens, regulate expression and functional activity of oxytocin receptor in rabbit epididymis. *Endocrinology* 143, 4271-4280.
- Goyal, H. O. (1985).** Morphology of the bovine epididymis. *Am J Anat* 172, 155-172.
- Grove, K. L., and Speth, R. C. (1989).** Rat epididymis contains functional angiotensin II receptors. *Endocrinology* 125, 223-230.
- FAIN O., (1986).** New concept in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N. Engl. J. Med.*, 314. P : 890-892.
- Favier A., (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique.* 108-115.
- Ferragu C., Tron I., Bompays S., (2010).** Pesticides et santé : état de connaissance sur les effets chroniques en 2009. Bretagne.
- Fetoui H., Garoui E.M., 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.
- Fetoui H., Garoui El M., Zeghal N., (2009).** Lambda-cyhalothrin induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats : ameliorative effect of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologie Pathology.* 61(3) :189- 96.
- Fetoui H., Makni M., Groui E.L.M., Zeghal N., (2010).** Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney : Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologie Pathology.* 62(6) :593-9.
- Girouard J., (2009).** Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes bovins. Thèse doctorat en physiologie-endocrine. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUEBEC.
- Giroud J.P., (2011).** Médicaments sans ordonnance : Les bons et les mauvais. La Martinière. France.
- GRASSE P.P., (1949).** *Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie* : Ed. Masson et Cie, Paris, 979p.
- Guilland J.C., Lequeue B., (2009).** *Encyclopédie de vitamines. Du nutriment au médicament.* Lavoisier. France.
- Guillot I., Lohr B., Weiser H., Halbach S., Rambeck W.A., Keinzle E., Tennan T.B., (1998).** Influence of vitamin C on cadmium and mercury accumulation. In : *Proceedings of Conference of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition, Munich, Germany.* *Journal of Animal Physiology And Animal Nutrition* 80 : 167-169.
- Hamdallaye A.C.I., (2000).** Programme Africain relatif aux Stocks de Pesticides obsolètes (PASP).Mali.
- Hemingway J., Hawkes N.J., Mccarroll L., Ranson H., (2004).** The molecular basis of

- insecticides resistance in mosquitoes. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 34:653-65.
- Hermo L., Adamali H.I., Andonian S., (2000).** Immunolocalization of CA II and H<sup>+</sup> V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl* 21, 376-391.
- Hermo L., Robaire B., (2002).** Epididymal cell types and their functions. In *The HINMAN F Jr., 1993 - Atlas d'Urosurgical Anatomy*. Philadelphie : WB Saunders. Pesticides obsolètes (PASP). Mali.
- Hossain M.M., Richardson Jr., (2011).** Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of calpain and the ER stress pathway. *Toxicol Sci* ; 122 : 512-25.
- Hess, R. A. (1998).** Effects of environmental toxicants on the efferent ducts, epididymis and fertility. *J Reprod Fertil Suppl* 53, 247-259.
- Huang, S. J., Leung, A. Y., Fu, W. O., Chung, Y. W., Zhou, T. S., Chan, P. S., and Wong, P. Y. (1992).** Electrophysiological studies of anion secretion in cultured human epididymal cells. *J Physiol* 455, 455-469.
- Issam C., Samir H., Zohra H., Monia Z., Hassen B.C., (2009).** Toxic responses to deltamethrin (DM) low doses on gonads, sex hormones and lipoperoxidation in male rats following subcutaneous treatments. *J. Toxicol. Sci* ; 34, 663-670.
- Johnston D.S., Jelinsky S.A., Bang H.J., Dicaneloro P., Wilson E., Kopf G.S., And Turner T. T., (2005).** The Murine Epididymal Transcriptome : Transcriptional Profiling of Segmental Gene Expression in the Epididymis. *Biol Reprod*.
- Jones R., Hamilton D.W., And Fawcett D.W., (1979).** Morphology of the epithelium of the extratesticular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymis of the adult male rabbit. *Am J Anat* 156, 373-400.
- Kumar, P. N., Aruldas, M. M., and Juneja, S. C. (1996).** Influence of hyperthyroidism induced at prepuberty on the epididymal lipids, number and motility of spermatozoa in rats. *Reprod Fertil Dev* 8, 373-378.
- Kadala P.A., (2011).** Action des pyrèthrinoïdes sur le canal sodique activé par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Thèse doctorat en Sciences biologiques, L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- Kamoun P., (2007).** Précis de biopathologie analyses médicales spécialisées. Biomnis.
- Khaldoun H., Richeval C., Djenas N., Aissani H., Zerrouki-Daoudi N., Et Allorge D., (2015).** Néphrotoxicité d'un pesticide, l'abamectine, chez le rat Wistar. Elsevier Masson. Vol 27. Pages S66.
- Khaldoun H., Zerrouki-Daoudi N., Baha M., Ouinten Y., Et Djenas N., (2015).** Hematological and histopathological changes in the testis and seminal vesicle of rats following repeated exposure to lambda-cyhalothrin. *Journal of International Scientific Publications. Agriculture and Food*. Vol 3.
- Kilian Delpont Er, Bornman Ms, De Jager C., (2007).** Simultaneous exposure to low concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane, deltamethrin, nonylphenol and phytoestrogens has negative effects on the reproductive parameters in male Sprague-Dawley rats. *Andrologia* ; 39 : 128-35.
- Kühnel W., (1995).** Atlas de poche d'histologie. Edition Flammarion médecine et sciences p 358.
- Landrier J.F., (2011).** Vitamine E et physiologie du tissu adipeux. 18(2) : 83-87. doi :

10.1684/oc1.2011.0370.

- Larbier M., Leclercq B., (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. Paris, France : ESTEM, p : 352.
- LE MOËL G., (2004).** Vitamine C-Acide ascorbique. Laboratoire de biochimie A « Métabolisme & Nutrition ». Elsevier SAS. France.
- Lebas F., Coudert P., De Rochameau H., Thebault R.G., (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 277p.
- Lebas F., Coudert P., Rouvier R., Rochambeau De H., (1984).** Le lapin élevage et pathologie, Edition FAO, Rome, 298p.
- Leboulanger J., (1984).** Vitamine E, In : Les vitamines. Biochimie – Mode d’action – Intérêt thérapeutique, F, Hoffmann – La Roche et Cie Ed, Neilly/seine, 57-64.
- Li-Ming H, John T, Albert W, Kean G., (2008).** Environmental Chemistry, Ecotoxicity, and Fate of Lambda-Cyhalothrin. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 100: 71-91.
- Leung, A.Y.H., and Wong, P.Y.D. (1994).** The epididymis as a chloride secreting organ. News Physiol Sci. 9: 31-35.
- Leung, G. P., Dun, S. L., Dun, N. J., and Wong, P. Y. (1999a).** Serotonin via 5-HT1B and 5-HT2B receptors stimulates anion secretion in the rat epididymal epithelium. J Physiol 519 Pt 3, 657-667.
- Leung, P. S., Chan, H. C., Fu, L. X., Leung, P. Y., Chew, S. B., and Wong, P. Y. (1997a).** Angiotensin II receptors: localization of type I and type II in rat epididymides of different developmental stages. J Membr Biol 157, 97-103.
- Li, L., Wong, J. T., Pang, S. F., and Shiu, S. Y. (1999).** Melatonin-induced stimulation of rat corpus epididymal epithelial cell proliferation. Life Sci 65, 1067-1076.
- Li, L., Xu, J. N., Wong, Y. H., Wong, J. T., Pang, S. F., and Shiu, S. Y. (1998).** Molecular and cellular analyses of melatonin receptor-mediated cAMP signaling in rat corpus epididymis. J Pineal Res 25, 219-228.
- Mercier-Bodard, C., Alfsen, A., and Baulieu, E. E. (1970).** Sex steroid binding plasma protein (SBP). Acta Endocrinol Suppl (Copenh) 147, 204-224;
- Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P., Palacios J., Paniagua R., And Nistal M., (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. Andrologia 27, 195-206.
- Martoja R., Martoja M., (1967).** Initiation aux techniques de l’histologie animale. Masson et cie. Paris.
- Messarah M., Klibet F., Boumendjel A., Abdennour C., Bouzerna N., Boulakoud M.S., El Feki A., (2012).** Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic induced liver injury in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. **64**: 167-174.
- Methorsta C., Huygheb E., Et Les Membres Du Comité D’andrologie Et De Médecine Sexuelle De L’association Française D’urologie., (2014).** Stress oxydant et infertilité masculine : physiopathologie et intérêt thérapeutique des antioxydants, Elsevier Masson. France.
- Mossa A-T.H., Heikal T.M., Omara E.A.Z., (2014).** Liver damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium. *Biomed. Aging Pathol*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomag.2014.01.004>.

- Muller Y., Et Clos J., (1997).** La reproduction (Gonade, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris : 9-31.
- Multigner L., (2005).** Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. Environnement. Risque et santé. Vol (4). 187-194.
- Multon J.L., (2002).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires, Paris, Lavoisier, p. 207 - 231.
- Narahachi T., (2002).** Neuroreceptors ans ION Channels a the Basis for drug action : past, present and future. The journal of pharmacology and experimental therapeutics (294), 1-26.
- Nguyen V., Ferry N., (2007).** La reproduction de vertébrés. Edition De Boeck université pp : 1-6.
- Olson G.E., Nagdas S.K., Winfrey V.P., (2002).** Structural differenciation of spermatozoa during post-testicular maturation. In The epididymis : from molecules to clinical practice, R. a. Hinton, ed. (New York, The epididymis : from molecules to clinical practice), pp. 371-388.
- Padayatty J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J.H., Shengli Chen S., Corpe C., Dutta A., Sudhir K, Dutta S.K., Levine M., (2003).** Vitamin C as an Antioxydant : Evaluation of Its Role in Desease Prevention. American College of Nutrition. 22(1) : 18-35.
- Pariset C.C., Feinberg J.M., Dacheux J.L., et Weinman S.J., (1985).** Changes in calmodulin level and cAMP dependent protein kinase activity during epididymal maturation of ram spermatozoa. J.Reprod.Fertil. 74 : 105-112.
- Pollanen P., and Cooper T.G., (1994).** Immunology of the testicular excurrent duct. J Reprod Immunol 26, 167-216.
- Poncelet C., Sifer C., (2011).** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain, Springer-Verlag France, Paris.
- Pearce, P. T., Lipkevicius, O. R., and Funder, J. W. (1986).** High affinity (type 1) aldosterone-binding sites in rat epididymis. Endocrinology 118, 2072-2075.
- Peri, A., Fantoni, G., Granchi, S., Vannelli, G. B., Barni, T., Amerini, S., Pupilli, C., Barbagli, G., Forti, G., Serio, M., and Maggi, M. (1997).** Gene expression of endothelin1, endothelin-converting enzyme-1, and endothelin receptors in human epididymis. J Clin Endocrinol Metab 82, 3797-3806.
- Quesenberry K E., Carepenter J W., Quesenberry P., Ferrets., (2004).** Rabbits and Rodents : Clinical Medicine and Surgery Includes Sugar Gliders and Hedgehogs, Elsevier Health.
- Rejraji H, Sion B, Prensier G, Carreras M, Motta C, Frenoux Jm, Vericel E, Grizard G, Vernet P, Drevet Jr., (2006).** Lipid remodeling of murine epididymosomes and spermatozoa during epididymal maturation. Biol Reprod 74: 1104-1113.
- Riar S.S., Setty B.S., and Kar A.B., (1973).** Studies on the physiology and biotechnology of mammalian epididymis : biochemical composition of epididymis. A comparaive study. Fertil Steril 24, 355-363.
- Robaire B., and Viger R.S., (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. Biol Reprod 52, 226-236.
- Robaire B., Hermo L., (1988).** Efferent ducts, epididymis, and vas deferens : structure, functions, an their regulation. In The physiology of Reproduction pp 999- 1080 Eds E Knobil ans J NEIL. Raven Press, New-York.

- Robaire, B., Syntin, P., and Jervis, K. (2000).** The coming of age of the epididymis. In Testis, Epididymis and Technologies in the year 2000 pp 229-262 Eds B Jegou, C Pineau and J Saez. Springer-Verlag, New-York.
- Robaire B., Jervis K.M., and Ezer N., (2003).** Cell Dynamics and Cell Death in the Epididymal Epithélium. In : Third International Conference on the Epididymis. Pp 35-49, BT Hinton and TT Turner eds. 2003, The Van Doren Company, Charlottesville, Virginia, USA.
- Seiler P., Cooper T.G., and Nieschlag E., (2000).** Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int J Androl* 23, 65-76.
- Serre V., and Robaire B., (1999).** Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol Reprod* 61, 705-714.
- Serre V., and Robaire B., (2002).** Interactions of the immune system and the epididymis. In *The epididymis : from molecules to clinical practice*, R. a. Hinton, ed. (New York, Kluwer Academic/ Plenum Publishers), pp. 219-231.
- Sherwood L., (2006).** *Physiologie Humaine*. 2ème Edition ; de Boeck Université (Bruxelles) : 529-595.
- Sies H., (1991).** Role of reactive oxygen species in biological processes. *Klin. Wochenschr* ; 69(21-23) : 965-968.
- Soranzo L., Dadoune J.P., and Fain-Maurel M.A., (1982).** Segmentation of the epididymal duct in mouse : an ultrastructural study. *Reprodu Nutr Dev* 22, 999-1012.
- Souccar T., Curtay J.P., (1996).** *Le nouveau guide des vitamines*. Seuil. France.
- Spencer C.M., Alekseyenko O., Serysheva E., Yuva-Paylor L.A., Paylor R., (2005).** Altered anxiety-related and social behaviors in the *Fmr1* knockout mouse model of fragile X syndrome. *Genes Brain Behav.* 4, 420-430.
- Shayu, D., and Rao, A. J. (2006).** Expression of functional aromatase in the epididymis: Role of androgens and LH in modulation of expression and activity. *Mol Cell Endocrinol* 249, 40-50.
- Shiu, S. Y., Chow, P. H., Yu, Z. H., Tang, F., and Pang, S. F. (1996).** Autoradiographic distribution and physiological regulation of 2-[125I]iodomelatonin binding in rat epididymis. *Life Sci* 59, 1165-1174.
- Takano H., (1980).** Qualitative and quantitative histology and histogenesis of the mouse epididymis, with special emphasis on the regional difference (author's transl). *Kaibogaku Zasshi* 55, 573-587.
- Thibault C., Levasseur M.C., (2001).** *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Edition ellipse pp : 310-311.
- Tissut M, Severin F., Benoit Guyod J.L., Mallion J.M., Degrange C., Boucherle A., (1979).** *Les pesticides oui ou non*. Press univ. Grenoble, 119-124.
- Tortora G.J., Grabowski S.R., Parent J-C., (1995).** *Biologie humaine : cytogénétique – régulation – reproduction*. Edition CEC, collégial et universitaire. Pp : 311-322.
- Traore Cheikh M., (2006).** *Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au mali*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 72p.

- Ussenman M., and Cone R.A., (1983).** Rat sperm are mechanically immobilized in the caudal epididymis by « immobilin », a high molecular weight glycoprotein. *Biol Reprod* 29, 1241-1253.
- Vidacs L., (1992).** Effects of ascorbic acid and iron ration on performance of broiler chickens. *Barom fitenyésté é Feldolga* 39 (3) : 131-134.
- Wandzilak T.R., D'andre S.D., Davis P.A, Williams H.E., (1995).** Effect of high dose vitamin C on urinary oxalate levels. *J Urol*, 151(4) :834-7.
- Wong, P. Y., and Uchendu, C. N. (1990).** The role of angiotensin-converting enzyme in the rat epididymis. *J Endocrinol* 125, 457-465.
- Wong, P. Y., and Uchendu, C. N. (1991).** Studies on the renin-angiotensin system in primary monolayer cell cultures of the rat epididymis. *J Endocrinol* 131, 287-293.
- Wong, P. Y., Chan, H. C., Leung, P. S., Chung, Y. W., Wong, Y. L., Lee, W. M., Ng, V., and Dun, N. J. (1999).** Regulation of anion secretion by cyclo-oxygenase and prostanoids in cultured epididymal epithelia from the rat. *J Physiol* 514 ( Pt 3), 809-820.
- Yanagimachi R., (1994).** *Mammalian Fertilization*, 2nd ed. Raven Press, New York, USA.
- You H.J., Kim J.Y., Jeong H.G., (2003).** 17 bêta-estradiol increases inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. Vol. 303(17) : 1129-1134.
- Yousef Mi., (2010).** Vitamin E. Modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Food Chem Toxicol* ; 48 : 1152-9.
- Zhao, W., Leung, P. Y., Chew, S. B., Chan, H. C., and Wong, P. Y. (1996).** Localization and distribution of angiotensin II in the rat epididymis. *J Endocrinol* 149, 217-222.
- Zhu, L. J., Hardy, M. P., Inigo, I. V., Huhtaniemi, I., Bardin, C. W., and Moo-Young, A. J. (2000).** Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study. *Biol Reprod* 63, 368-376.
- Zoumenou B., Aïna Ap., Agbohessi P., Imorou Toko I., Scippo Ml., (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 Biology and Chemical Sciences*, 9(4): 2184-2199, August 2015.

Sites internet :

<https://www.syngenta.co.in/insecticides>.

<https://www.cuniculture.fr>

**Annexe 1 : Matériel non biologique utilisé**

Produits utilisés :



Lambda-Cyhalothrine



Vitamine C (acide ascorbique)



Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)

Solutions utilisés :



Acide périodique



Baume d'inclusion Eukitt



Eosine



Ethanol



Fuschine Ponceau



Hématoxyline



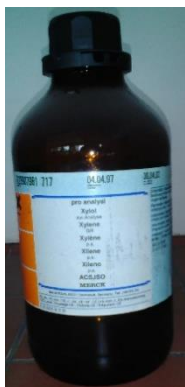
Paraffine



Phosphomolibdique phosphotungstique



Vert lumière



Xylène

Appareillages :



Bain marie



Etuve