

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie et physiologie de la reproduction

THEME

**Effet de l'huile essentielle du *géranium rosat* sur la
fonction ovarienne de la souris femelle de souche
BALB/c après un traitement à l'acétate de plomb**

Réalisé par :

M^r HABI Hacene

M^r REHOUNI Sofiane

Soutenue devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} MEDJDOUB F Professeur (FSBSA-UMMTO)

Promotrice : M^{me} AKDADER S Maitre de conférence B (FSBSA-UMMTO)

Co-promoteur : M^r MADOUCHE M Doctorant (FSBSA-UMMTO)

Examinatrice : M^{me} LAKABI L Maitre de conférence A (FSBSA-UMMTO)

2022-2023

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous exprimons notre reconnaissance envers Dieu Tout-Puissant pour nous avoir accordé la force et le courage nécessaires pour mener à bien cette tâche.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce modeste projet.

Nous tenons au premier lieu de remercier notre promotrice le professeur Mme AKDADER S, pour avoir accepté de nous encadrer ainsi que votre gentillesse et votre rigueur que nous ont motivé pendant cette période. Merci d'avoir accepté d'être notre promotrice.

Notre CO-promoteur Mr MADOUCHE M et Melle BOULILA N doctorants à L'UMMTO, pour leur disponibilité, leur précieuse aide afin d'améliorer la qualité de ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent également à l'examinatrice Mme LAKABI L et la présidente Mme MEDJDOUB F pour avoir eu l'amabilité d'accepter d'examiner ce travail, qu'elles trouvent ici l'expression de nos sincère reconnaissance.

Nos remerciements les plus sincères vont à tous les enseignants du département de biologie de l'UMMTO.

Dédicaces

Celle qui a tant bercé, tant donné et tant sacrifié toi qui m'a guidé dans le droit chemin pour me voir toujours en progrès, toi qui m'es la source de lumière lorsqu'il fait que niortaise, à toi qui m'as appris que rien n'est impossible. A toi **chère Maman**.

A mes frères et sœur : **Ghiles** et **Sarah**

A mes amis, amies dans les meilleurs comme dans le pire : **Said**, **Srafi**, **Anis**, **Melissa**, **Nadia** Qui n'ont cessé de me soutenir durant toutes ces années.

A toi **Sofiane** mon binôme

A tout ceux qui me connaît.

Hacene

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ce qui sont chers,

A mes **chers parents**. Mes amours, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement contenu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respects pour leurs grands sacrifices.

A mes frères et sœurs pour leur grand amour et leur soutien qu'il trouvent ici l'expression de ma haute gratitude et sans oublier mes neveux et nièces adorés.

A toi **Hacene** mon binôme

A tous mes chers amis qui m'ont aidé, encouragés et soutenus.

A tous qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de se modeste travail.

Et à tous ceux que **j'aime**.

Sofiane

Liste des abréviations

- AP** : Acétate de plomb
- ABRC** : Animal Breeding and Research Center
- AKT** : Protéine kinase B
- BPA** : BISPHÉNOLES A
- CMV** : Complexe multi vitaminé
- cAMP** : adénosine monophosphate cyclique
- cGMP** : Guanine monophosphate cyclique
- DBP** : PHTALATES de Dibutyle
- DMSO** : Dimethylsulfoxyde
- EGF** : Epidermal Growth Factor
- EGFR** : Epithelial Growth Factor Receptor
- E2** : Estradiol
- ESR1** : Estrogens Receptor Alpha
- EGF** : Epidermal Growth Factor
- EGF** : Epidermal Growth Factor
- FGFR** : Fibroblast growth factor Receptor
- FSH** : Follicle Stimulating Hormone
- GnRH** : Gonadotropin-Releasing Hormone
- HSP** : Heat shock proteine
- HE1** : Huile essentielle géranium rosat
- HE** : Hématoxyline Eosine
- IMC** : Indice de Masse Corporel
- LH** : Luteinizing Hormone
- OMS** : Organisation mondiale de la santé

Liste des abréviations

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase

EGF : Epidermal Growth Factor

NCI : National Cancer Institute

PB : Plomb

PE : Perturbateurs Endocriniens

PCF : Composé perfluorés

PFOA : Acide pentadecafluorooctanoïque

PFOS : Acide perfluorooctanesulfonique

PCB : Polychlorobiphényles

DEHP : PHTALATES de bis

RE : Récepteurs à œstrogènes

RE : Récepteurs tyrosine kinase

TDAH : Troubles déficits d'attention avec ou sans hyperactivité

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Organisation générale de l'appareil génital d'une souris après dissection	2
Figure 2 : Coupe histologique d'un ovaire	4
Figure 3 : Coupe histologique d'un oviducte d'une souris	5
Figure 4 : Histologie de l'utérus et de l'endomètre.....	7
Figure 5 : Coupe histologique d'un vagin d'une ratte.....	8
Figure 6 : La stéroïdogénèse ovarienne.....	9
Figure 7 : Régulation de la stéroïdogénèse	10
Figure 8 : Les différentes étapes de la folliculogénèse.....	11
Figure 9 : Physiologie de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien	14
Figure 10 : Souris de souche BALB/c femelle	24
Figure 11 : Photo de l'huile essentielle <i>géranium rosat</i>	25
Figure 12 : Les lots des souris.....	27
Figure 13 : Peser puis injection intra péritonéale des souris.....	28
Figure 14 : Moment de dissection	29
Figure 15 : Balance à haute précision de type AXIS	29
Figure 16 : Fixation des cassettes dans un bain de Bouin Holland	29
Figure 17 : Bain d'alcool à degré croissant	30
Figure 18 : Variations des poids corporel moyens des souris après traitement à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle.....	34
Figure 19 : Variations de poids total des ovaires des souris après traitement à l'acétate de plomb	35
Figure 20 : Variations de poids des ovaires droit et gauche des souris après traitement à l'acétate de plomb et l'huile essentielle.....	36

Liste des figures et tableaux

Figure 21 : Variations de poids relatifs des ovaires à 100gr droit et gauche des souris après traitement à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle.....	36
Figure 22 : Coupe histologique d'ovaire de souris témoins observée au microscope photonique au grossissement Gx400 ensuite traiter par DMSO	38
Figure 23 : Coupe histologique d'ovaire de souris traité par l'acétate de plomb	40
Figure 24 : Coupe histologique d'ovaire de souris traité par l'huile essentielle après administration de l'acétate de plomb	40
Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques du plomb.....	22

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Rappels bibliographiques

1. Rappels anatomo-histologiques de l'appareil reproducteur femelle	2
1.1. Organes génitaux internes	2
1.1.1. Ovaires	3
1.1.2. Oviductes.....	4
1.1.3. Utérus	6
1.1.4. Vagin.....	7
1.1.5. Vestibule vaginal	8
1.2 Organes génitaux externes	8
1.2.1. La vulve.....	8
1.2.2. La glande mammaire.....	8
2. Physiologie de l'ovaire	9
2.1. Stéroïdogénèse ovarienne.....	9
2.1.1 Stimulation hormonale	9
2.1.2. Maturation folliculaire	10
2.1.3 Conversion du cholestérol en précurseurs stéroïdiens	10
2.1.4. Conversion des précurseurs en hormones stéroïdes	10
2.1.5. Régulation de la stéroïdogénèse	10
2.2. Folliculogénèse	11
2.3. Ovogénèse	11

2.4. Ovulation.....	12
2.4.1. Cycle ovarien.....	12
2.4.2. Phase folliculaire	12
3. Régulation ovarienne de la fonction ovarienne.....	13
3.1. Axe hypothalamo-hypophyso-ovarien.....	14
3.1.1 Hypothalamus.....	14
3.1.2. Hypophyse.....	15
3.1.2.1. GnRH	15
3.1.2.2. FSH	15
3.1.2.3. LH	15
3.2. Ovaires	16
3.2.1. Œstrogènes	16
3.2.2. La progestérone	16
3.3. Régulation paracrine	18
3.3.1. Substances de régulation paracrine.....	18
3.3.2. Effets locaux.....	18
3.4. Régulation autocrine	18
3.4.1. Sécrétion de substances régulatrices :.....	18
3.4.2 Réponse cellulaire.....	19
3.4.3. Autosuffisance	19
4. Perturbateurs Endocriniens	19
4.1. Généralités sur les perturbateurs endocriniens	19
4.1.1. Définition	19
4.1.2. Nature chimique des perturbateurs endocriniens.....	19
4.1.3. Mode d'action des perturbateurs endocriniens.....	20
4.2. Reprotoxycité chez la femelle	20
4.3. Acétate de plomb	20

4.3.1. Propriété physico chimique du plomb	21
4.3.2. Modes d'exposition humaine au plomb	22
4.3.2.1. Voie digestive	22
4.3.2.2. Voie respiratoire.....	23
4.3.2.3. Voie cutanée.....	23
4.3.3. Reprotoxicite du plomb.....	23

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel et Méthodes	24
1.1. Matériel	24
1.1. Modèle animal	24
1.2. Huile essentielle.....	25
1.3. Conditions d'expérimentation	26
1.3. 1. Animalerie	26
1.3.2 Régime alimentaire	26
1.3.3 Protocole expérimental	27
1.3.4 Sacrifice et prélèvements d'organe.....	28
2. Méthodes	29
2.1. Etude histologique	29
2.1.1 .Fixation	29
2.1.2. Déshydratation	30
2.1.3. Imprégnation a la paraffine	30
2.1.4. Confection des blocs	30
2.1.5. Réalisation des coupes	30
2.1.6. Déparaffinage	31
2.1.7. Coloration.....	31
2.1.8. Montage des lames	31
2.1.9. Observation des échantillons	31

3. Analyse statistique 31

Chapitre III : Résultats et discussions

1. Effet de *géranium rosa* sur le poids corporel moyen et ovarien après traitement à l'acétate de plomb 33

1.1. Effet de *géranium rosa* sur le poids corporel moyen après traitement à l'acétate de plomb 33

1.2. Effet de *géranium rosa* sur le poids ovarien moyen après traitement à l'acétate de plomb 34

1.3. Effets de *géranium rosa* sur le poids ovarien moyen gauche après traitement à l'acétate de plomb.....35

1.4. Effets de *géranium rosa* sur le poids ovarien relatif après traitement à l'acétate de plomb.....36

2. Effets de *géranium rosa* sur La structure histologique de l'ovaire de souris après traitement à l'acétate de plomb..... 37

2.1. Histologie des souris du lot témoins et DMSO 37

2.2. Histologie des ovaires des souris du lot AP et HE1 39

Conclusion 41

Références bibliographiques 42

Résumé

Abstract

Introduction

Le plomb est un métal gris foncé et mou. Les organes cibles des métaux lourds sont variés : les ions métalliques se fixent sur les globules rouges. Les métaux s'accumulent dans le foie, les reins (organes très vascularisés), les dents et les os et peuvent pénétrer dans le système nerveux central par diffusion passive. Le plomb présente également des effets sur la pression artérielle, sur la fonction rénale chez l'adulte ainsi que sur la reproduction et le développement de l'enfant et sur le système nerveux central

Depuis longtemps, l'homme cherche à soigner plusieurs maladies. Pour cela, il a utilisé les produits immédiatement à sa portée, "les plantes". L'usage des plantes en médecine est très ancien (**Max, 2003**). Selon l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industrielles ; parmi eux les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.). Elles sont aussi utilisées dans les traitements de l'appareil digestif, l'appareil respiratoire et l'appareil circulatoire...etc. Les plantes constituent une source d'antioxydants naturels qui bloquent l'action des radicaux libres et donc défendent contre le stress oxydant (**Akinmoladun et al., 2007**).

L'huile essentielle *géranium rosat* est issue d'une plante de la famille des Géraniacée, originaire d'Afrique de Sud et cultivée en Algérie dans la plaine de la Mitidja (wilaya de Blida), dans les jardins et dans les cimetières. Cette espèce est utilisée depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques (Émollient, bactéricide, fongicide et anti-inflammatoire) (**Boukhatem et al., 2011 ; Cardenas, 2017**). Chez l'homme, en milieu professionnel, une exposition chronique au plomb peut entraîner une diminution de la production des gamètes qui accroît le risque d'hypofertilité.

Pour cela, l'objectif de notre travail réalisé au niveau de Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, est d'évaluer les effets amélioratifs du *géranium rosat* sur l'appareil reproducteur femelle de souris après une injection unique à l'acétate de plomb.

Notre travail en quatre parties, dans la première partie nous rapportons des rappels Bibliographique sur l'anatomie et la physiologie de l'appareil reproducteur de la femelle en général et du l'organe étudié (ovaire) en particulier, les perturbateurs endocriniens et leur effet .la deuxième partie nous décrivons le matériel et les différentes méthodes utilisées en premier lieu, suivis des résultats et de leur discussion. A la fin, une conclusion et des perspectives seront présentées.

Rappels bibliographiques

1. Rappels anatomo-histologiques de l'appareil reproducteur femelle

L'appareil génital de la femelle regroupe les différents organes responsables de la production des gamètes féminines, de la fécondation et du développement de l'embryon puis du fœtus (Rooker, 1998), il comprend les organes génitaux internes et les organes génitaux externes (Nguyen, 2005).

1.1. Organes génitaux internes

Les organes génitaux internes sont situés dans la cavité pelvienne (Figure 1) et comprennent : les ovaires, les trompes utérines, l'utérus et le vagin (Delmarche et al, 2002).

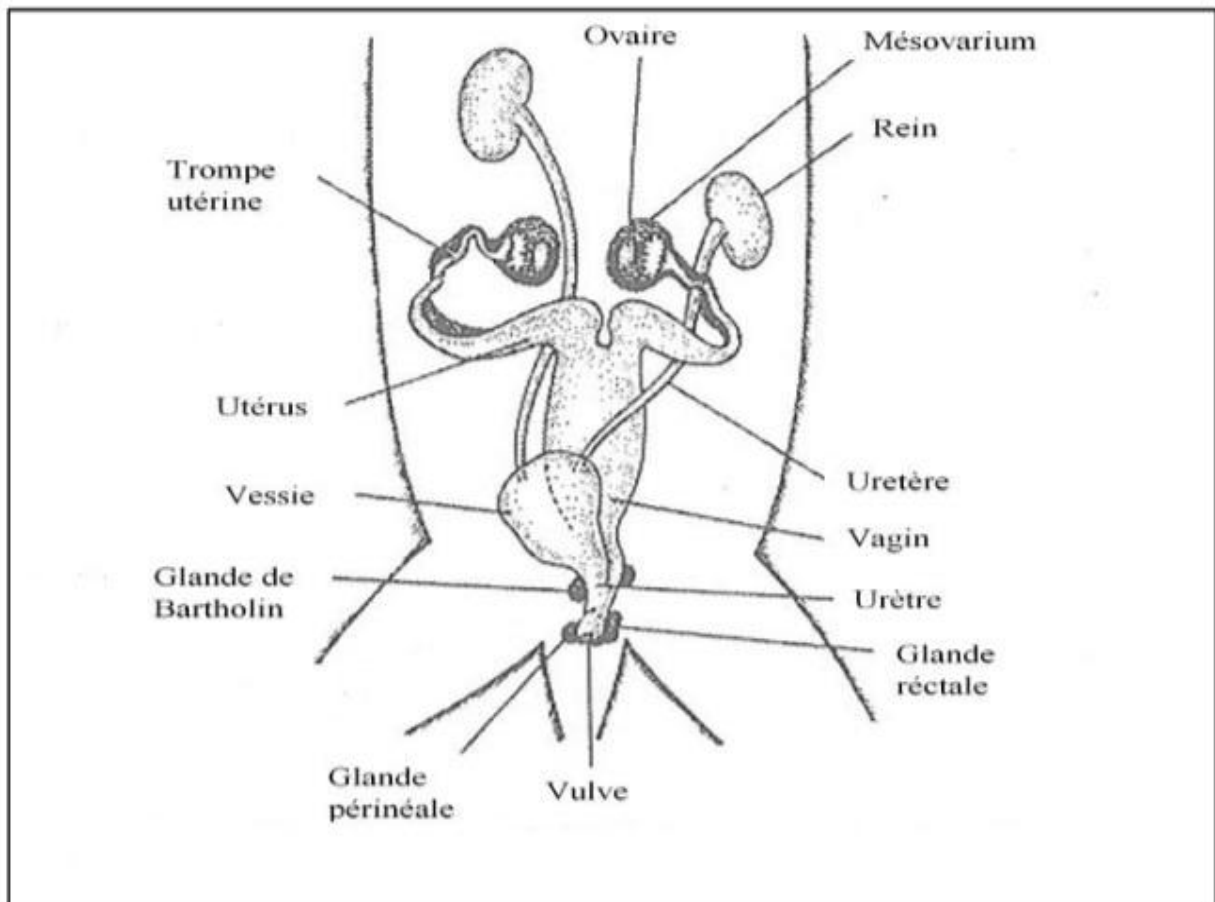


Figure 1 : Organisation générale de l'appareil génital d'une souris après dissection (Anonyme, 2019)

1.1.1. Ovaires

Les ovaires sont des glandes se trouvant au nombre de deux, de forme, de dimension et de localisation variables suivant l'espèce (**Figure 2**). Chaque ovaire est un organe ovoïde, bosselé, réuni au ligament large par un pédicule qui s'insère au niveau du hile et constitue le mésovarium (**Derrickson et Tortora, 2007**). Une section sagittale montre que cette gonade comporte essentiellement deux parties (**Humeau et Arnal, 2007**).

Une zone périphérique corticale ou cortex ovarien : comprenant, de l'extérieur vers l'intérieur :

- Un épithélium cubique simple, l'épithélium ovarien.
- Une couche conjonctive fibreuse, la tunica albugina ou albuginée qui est un tissu conjonctif pauvre en cellule et riche en substances fondamentale.
- Un stroma cortical, avec des cellules d'aspect fibroblastique et très peu de fibres, dans lequel on distingue : Des follicules, qui sont des associations d'un ovocyte et de cellules satellites (sont des cellules qui entourent l'ovocyte et font partie du follicule ovarien. Ces cellules jouent un rôle essentiel dans le développement de l'ovocyte et dans la production d'hormones endocrines), à fonction glandulaire endocrine (les plus petits sont les plus nombreux). Des corps jaunes qui sont les produits d'évolution des follicules après l'ovulation. Des corps atrétiques, qui sont les produits de dégénérescence des follicules ou des corps jaunes.

Une zone interne, centrale dite zone médullaire : C'est une zone parenchymateuse de tissu conjonctif lâche, avec un hile permettant l'innervation et la vascularisation de l'ovaire (**Humeau et Arnal, 2007**).

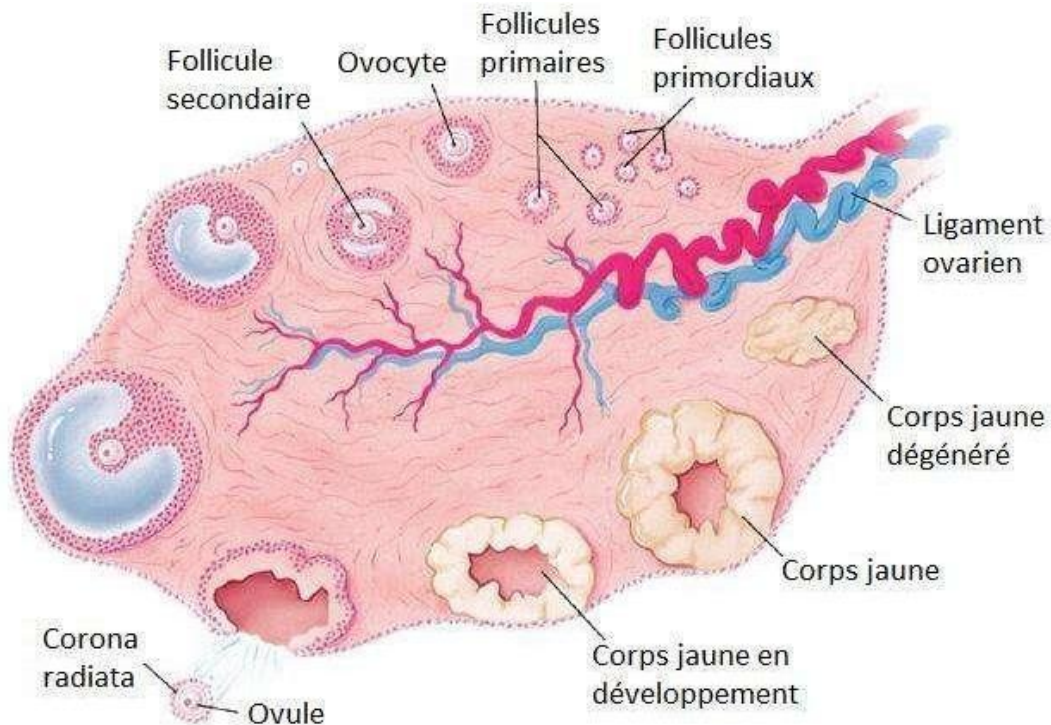


Figure 2 : Coupe histologique d'un ovaire (Marieb, 2005)

Les ovaires assurent une double fonction ; endocrine et exocrine :

- **La fonction exocrine** ou production d'ovocytes, concerne le développement de plusieurs follicules ovariens à chaque cycle menstruel (Nassar et al, 2004). Un seul, ou plusieurs, seront sélectionnés selon l'espèce, à maturation l'ovocyte sera expulsé par rupture du follicule ce qui est appelé ovulation.

- **La fonction endocrine** permet la production d'hormones stéroïdiennes ; principalement les œstrogènes, impliqués notamment dans le développement des caractères sexuels secondaires et la progestérone, impliquée dans l'épaississement de l'endomètre ou muqueuse utérine servant de lieu d'implantation de l'œuf (ovule fécondé) (Beclard et al, 2000).

1.1.2. Oviductes

Les oviductes sont de petits canaux assez fins et flexueux constitués de trois parties :

- Le pavillon : Portion en forme d'entonnoir, situé près de l'ovaire et bordé de projection digitiforme appelée frange de trompe, dont l'une est fixée à l'extrémité externe de l'ovaire. Son rôle principal est de capter l'ovule (ou ovocyte) lors de l'ovulation et de le guider dans l'oviducte. L'histologie du pavillon montre une muqueuse tapissée d'épithélium cilié, qui aide au déplacement des ovules en créant des

mouvements ciliaires.

- Ampoule tubaire : C'est la portion la plus large et la plus longue. C'est l'endroit où la fécondation peut se produire, c'est-à-dire lorsque l'ovule est fécondé par un spermatozoïde. L'histologie de l'ampoule tubaire montre également une muqueuse tapissée d'épithélium cilié, qui facilite le transport de l'ovule fécondé vers l'utérus.
- Isthme : C'est une structure courte et étroite à paroi épaisse qui s'ouvre dans l'utérus. Son rôle est de fournir un passage sécurisé pour l'ovule fécondé vers l'utérus, où il pourra se développer et éventuellement s'implanter pour débiter une grossesse. L'histologie de l'isthme présente un épithélium cilié moins développé par rapport aux autres parties de l'oviducte.
- Portion interstitielle : En continuité anatomique avec l'utérus. Elle constitue la jonction entre l'oviducte et l'utérus. L'histologie de cette partie montre une transition progressive de l'épithélium tubaire à l'épithélium utérin (Nguyen et Ferry, 2007).

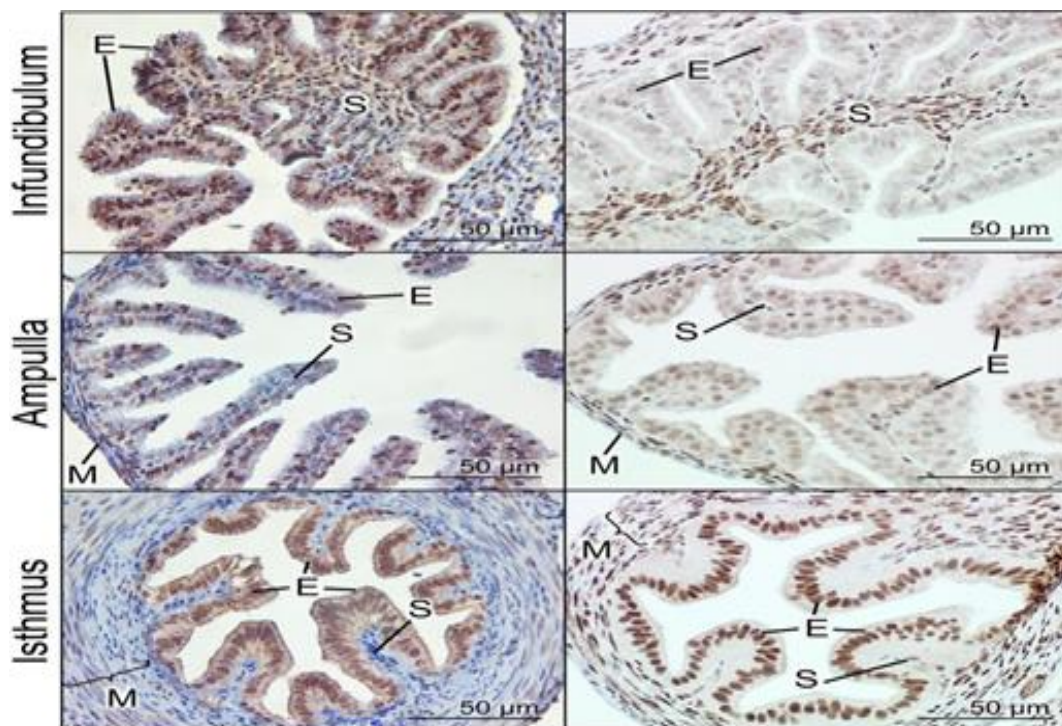


Figure 3 : coupe histologique d'un oviducte d'une souris (Brooks *et al*, 2020)

1.1.3. Utérus

L'utérus est un organe reproducteur féminin situé dans la cavité pelvienne. Il a une forme semblable à une poire inversée et fait partie de l'appareil génital interne de la femme. Son rôle principal est de recevoir et de loger l'embryon en développement pendant la grossesse.

Le col de l'utérus relie l'utérus au vagin, permettant ainsi le passage du sperme lors des rapports sexuels et l'évacuation du flux menstruel. Pendant la grossesse, l'utérus se dilate progressivement pour accueillir le fœtus en croissance (**Standring, 2016**). La séparation de l'utérus en deux cornes est une caractéristique présente dans certaines espèces, principalement chez les mammifères. On appelle cette structure l'utérus bicorne.

L'utérus bicorne se forme lorsque les canaux de Müller, qui sont les précurseurs de l'utérus, ne fusionnent pas complètement pendant le développement embryonnaire. Cette condition peut être naturelle ou résulter de certains troubles du développement.

Chez les espèces possédant un utérus bicorne, chaque corne de l'utérus fonctionne de manière indépendante et peut accueillir un embryon en développement. Cela peut affecter la reproduction et la gestation chez ces animaux.

Chez la rate, la souris a deux cornes utérines qui s'unissent pour se raccorder au vagin par l'intermédiaire d'un col qui représente un rétrécissement entre le corps utérin et le vagin. Les cornes utérines et le corps utérin sont allongés de façon longitudinale. La séparation entre l'utérus gauche et droit est bien marquée car la division est complète (**Parrish, 2000**). L'utérus abrite et nourrit l'embryon pendant la gestation et est sensible aux hormones ovariennes tout au long du cycle œstral.

Histologiquement, l'utérus comprend une couche musculaire épaisse ou myomètre, une cavité appelée cavité utérine et la muqueuse qui tapisse la cavité utérine est appelée l'endomètre. L'endomètre utérin comporte un chorion tapissé d'un épithélium avec une couche superficielle fonctionnelle et une couche basale (**Levasseur et Thibault, 2001**)

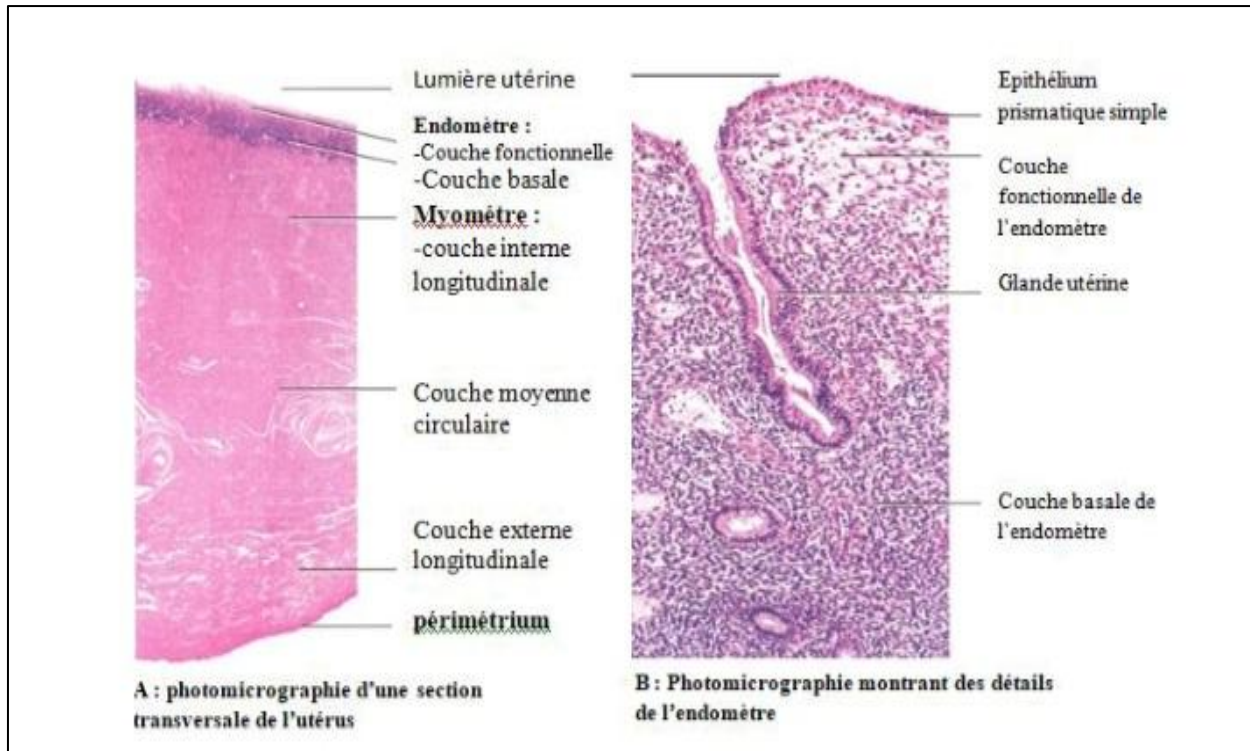


Figure 4 : Histologie de l'utérus et de l'endomètre (Tortora *et al*, 2007)

1.1.4. Vagin

Selon (Camus *et al*, 2006), le vagin est un conduit musculo-membraneux qui s'étend du col utérin à la vulve, il est situé entre la vessie et l'urètre ventralement et le rectum dorsalement, son rôle consiste en la réception des spermatozoïdes lors de l'éjaculation et c'est par le vagin que se fait l'écoulement des règles et des leucorrhées. La paroi vaginale est constituée de l'intérieur vers l'extérieur par :

- La muqueuse : constituée par un épithélium de revêtement pavimenteux stratifié, non kératinisé délimitant la cavité vaginale, il est sensible aux variations des taux hormonaux ovariens (œstrogène + progestérone), il repose sur une lame basale qui à son tour fait jonction avec un tissu conjonctif sous-jacent dense.
- La musculuse : formée de deux couches de muscle lisse : l'une externe épaisse, et l'autre interne mince (**Figure 5**).

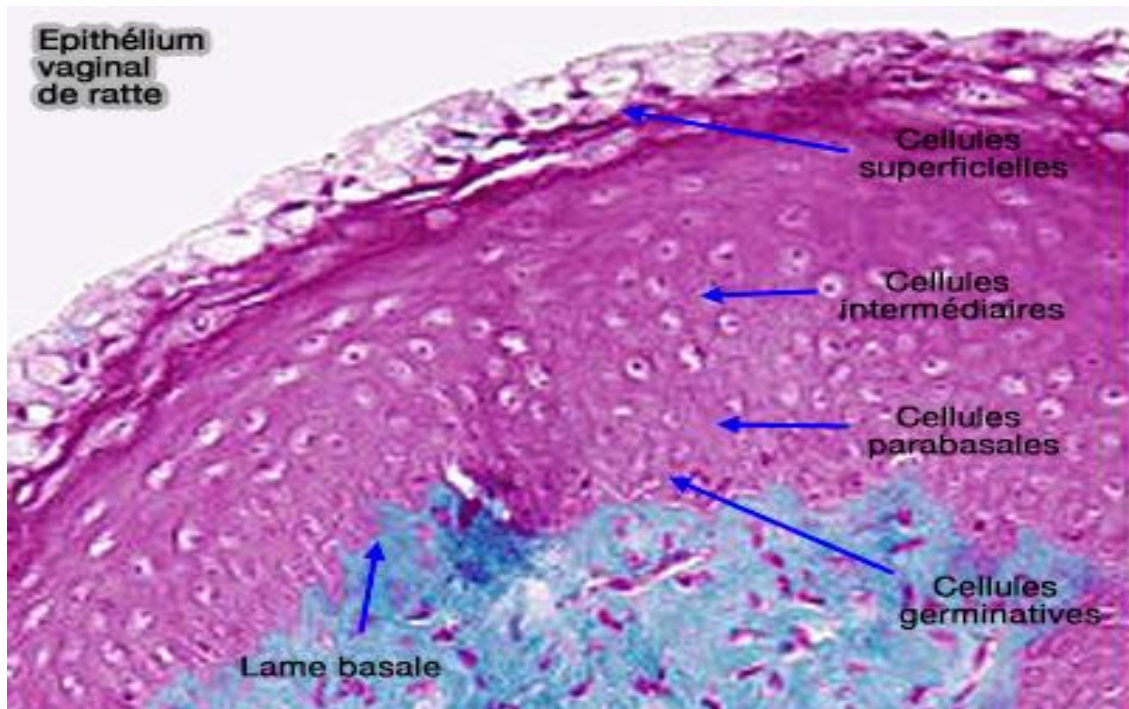


Figure 5 : Coupe histologique d'un vagin d'une ratte (**kim et al, 2023**)

1.1.5. Vestibule vaginal

Situé entre les petites lèvres, il reçoit le méat urinaire et est recouvert d'un épithélium pavimenteux stratifié (**Vân Nguyễn et Nathalie Ferry, 2007**).

1.2 Organes génitaux externes

1.2.1. Vulve

La vulve est l'ensemble des organes génitaux externes de la femelle, elle est occupée par une cavité médiane, au fond de laquelle s'ouvrent l'urètre et le vagin. Cette cavité est limitée de chaque côté par deux replis cutané-muqueux : la grande lèvre et la petite lèvre (**Rame et Therond, 2009**).

1.2.2. Glande mammaire

Est en effet un organe important des organes génitaux externes chez la femme. Elle est responsable de la production et de la sécrétion du lait maternel, essentiel à l'alimentation du nouveau-né. Située dans le sein, cette glande est composée de lobules qui contiennent des cellules spécialisées capables de produire du lait. Lors de la grossesse et après l'accouchement, l'action des hormones stimule l'augmentation du volume des seins et la mise en place du système lactifère.

Les changements hormonaux qui surviennent pendant la grossesse déclenchent la prolifération et la différenciation des cellules mammaires pour préparer la glande à la lactation. Après l'accouchement, la production de lait est déclenchée par la succion du bébé et régulée par la prolactine et l'ocytocine.

La glande mammaire est donc un organe clé dans la reproduction et la maternité chez les femmes. Elle est également sujette à des affections telles que les kystes, les tumeurs bénignes ou malignes, nécessitant une surveillance régulière et des traitements appropriés. (Gilbert *et al*, 2016).

2. Physiologie de l'ovaire

2.1. Stéroïdogénèse ovarienne

La stéroïdogénèse ovarienne est le processus de production des hormones stéroïdiennes dans les ovaires. La **figure 6** montre les principales étapes de la stéroïdogénèse ovarienne :

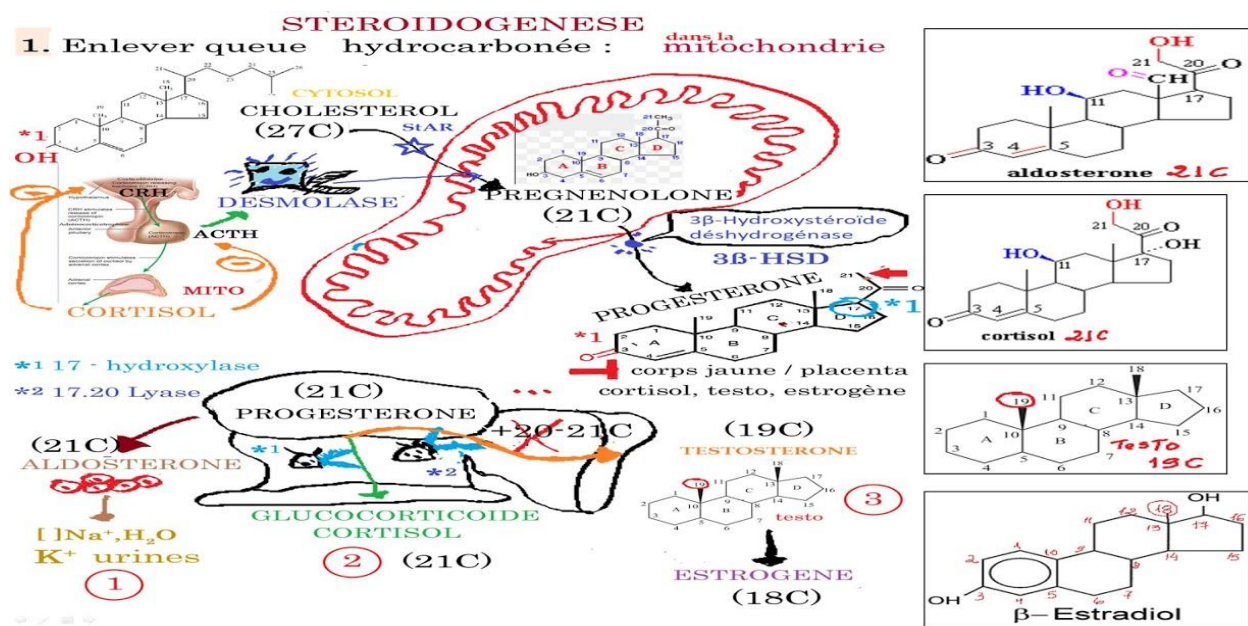


Figure 6 : La stéroïdogénèse ovarienne (Marsaud, 2019)

2.1.1 Stimulation hormonale

La production des hormones stéroïdes dans les ovaires est régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'hormone de libération des gonadotrophines (GnRH) est sécrétée par l'hypothalamus et stimule la sécrétion de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et de l'hormone lutéinisante (LH) par l'antéhypophyse. Ces hormones jouent un rôle clé dans la régulation de la stéroïdogénèse ovarienne (Santen *et al*, 2008).

2.1.2. Maturation folliculaire

Sous l'effet de la FSH, les follicules ovariens commencent à se développer et à mûrir. Ces follicules contiennent des cellules de la granulosa qui sont responsables de la production des hormones stéroïdes (Mandon-Pépin *et al*, 2003).

2.1.3 Conversion du cholestérol en précurseurs stéroïdiens

Les cellules de la granulosa synthétisent des enzymes telles que la P450_{scc} (stéroïde 20,22-désaturase) et la CYP17A1 (17 α -hydroxylase/17,20-lyase) qui catalysent les réactions biochimiques nécessaires pour convertir le cholestérol en précurseurs stéroïdiens tels que la prégnénolone (Payne *et al*, 2004).

2.1.4. Conversion des précurseurs en hormones stéroïdes

La prégnénolone produite est ensuite convertie en d'autres hormones stéroïdes telles que la progestérone, l'androstènedione et l'œstradiol, par l'intermédiaire de différentes enzymes stéroïdogéniques (Hiroi *et al*, 2006).

2.1.5. Régulation de la stéroïdogénèse

La production d'hormones stéroïdes dans les ovaires est finement régulée par des mécanismes de rétroaction négative. Par exemple, l'œstradiol inhibe la sécrétion de LH par l'antéhypophyse, tandis que la progestérone inhibe la sécrétion de FSH. Ces mécanismes aident à maintenir l'équilibre hormonal dans les ovaires (Filicori *et al*, 2005).

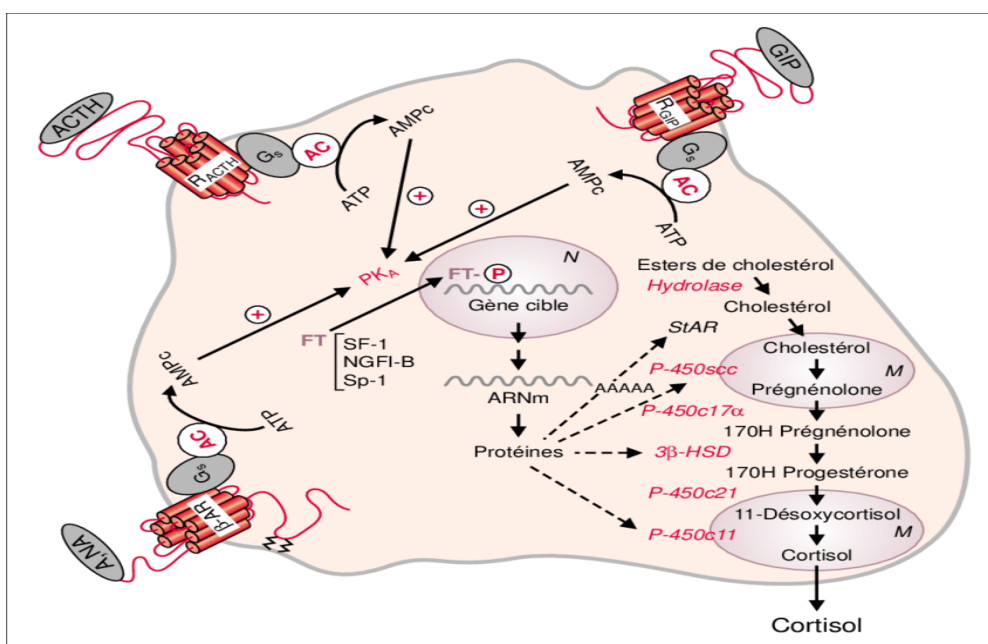


Figure 7 : Régulation de la stéroïdogénèse (Tremblay *et al*, 2012)

2.2. Folliculogénèse

La folliculogénèse débute par l'initiation de croissance folliculaire. Chaque jour des follicules quittent la réserve ovarienne, leur nombre varie en fonction de l'espèce concernée (10 par jour chez la ratte, un à trois par jour chez la brebis ou encore environ 20 par jour chez la femme) mais également en fonction de la taille de cette réserve. Plus la réserve vieillit, plus sa taille diminue et plus le nombre de follicules quittant la réserve chaque jour diminue lui aussi. L'initiation de la croissance débute lorsque le noyau de l'ovocyte atteint un certain diamètre (13 μ m chez la brebis, 19 μ m chez la femme). Le follicule va alors débiter sa croissance basale, caractérisée par une augmentation du diamètre de l'ovocyte, très intense durant cette phase, et une prolifération des cellules de la granulosa voir **Figure 8 (Driancourt *et al.*, 2001)**

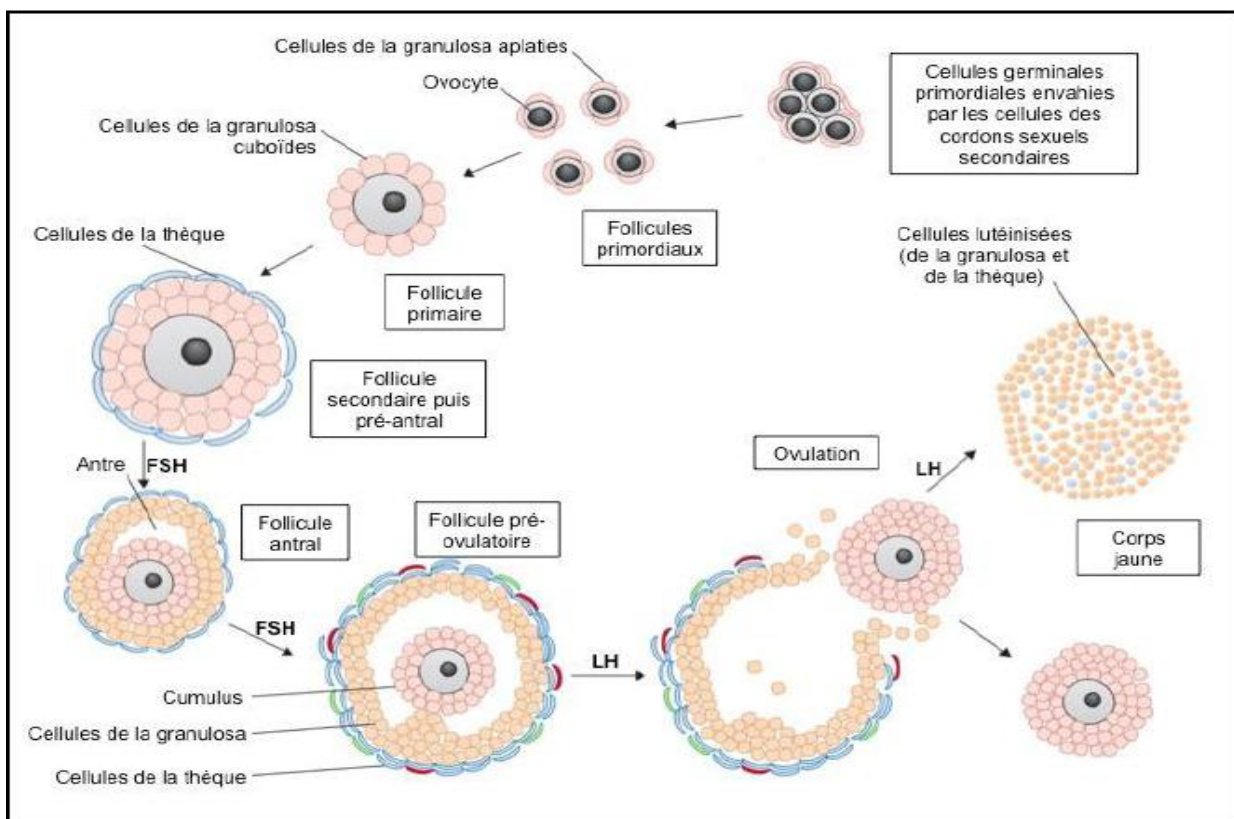


Figure 8 : Les différentes étapes de la folliculogénèse (George *et al.*, 2014).

2.3. Ovogenèse

L'ovogenèse est définie comme étant l'ensemble des processus conduisant à la formation et au développement des gamètes femelles ou ovules et les rendant aptes à être fécondés par les spermatozoïdes (Derivaux et Ectors, 1986).

2.4. Ovulation

Lorsque le follicule de De Graaf est mature, les couches de cellules de la granulosa qui entourent l'ovocyte forment un monticule qui fait saillie dans l'antrum et est appelé cumulus oophorus. Sous l'influence du pic de LH, le cumulus se sépare de la paroi du follicule et flotte librement dans le liquide antral. L'ovocyte quitte alors la phase d'arrêt méiotique et achève sa première division méiotique pour devenir un ovocyte de deuxième ordre. A ce stade, le follicule est très volumineux, les différentes couches de la thèque se rompent par action d'enzymes protéolytiques (plasmine). De plus des phénomènes contractiles dans la région de la thèque externe apparaissent sous la dépendance du système nerveux autonome. Le follicule de De Graaf s'ouvre alors et libère l'ovocyte fécondable en périphérie de l'ovaire, en direction de la trompe de Fallope (**Widmaier et al, 2013**).

2.4.1. Cycle ovarien

Le cycle ovarien peut être divisé en deux phases. La phase folliculaire pendant la première partie du cycle permet la croissance du follicule jusqu'à l'expulsion de l'ovocyte lors de l'ovulation. La deuxième phase débute de la fin de l'ovulation et se termine peu avant le cycle menstruel chez la femme (**Raymond, 2013**).

2.4.2. Phase folliculaire

La formation des ovocytes débute bien avant la puberté, puisqu'un nouveau-né féminin est déjà doté de l'intégralité de son capital de cellules germinales jusqu'à la ménopause, indépendamment du cycle menstruel (**Widmaier et al, 2013**).

La transformation d'un follicule primordial en follicule primaire puis secondaire s'effectue en plusieurs mois, sans stimulation nécessaire de la FSH ni de la LH (**Merviel et al, 2011**). Une période supplémentaire de 71 jours conduit le follicule secondaire jusqu'au stade pré-antral puis antral précoce. Ces follicules mesurent à ce moment entre 2 et 5 mm et sont visibles en échographie. Pour environ 500 follicules primordiaux débutant leur développement, seule une dizaine d'entre eux parviennent jusqu'au stade antral précoce. Durant cette période, les cellules de la granulosa prolifèrent et deviennent cuboïdes. Elles se différencient et s'organisent en plusieurs couches concentriques : la thèque se situe au niveau de la couche externe du follicule, autour des cellules de la granulosa à proprement parlé, qui sont elles-mêmes séparées de l'ovocyte par la membrane pellucide. L'ovocyte augmente de taille tout au long de ce processus mais demeure bloqué en prophase de première division méiotique. Peu à

peu, un espace rempli de liquide sécrété par les cellules de la granulosa apparaît pour former l'antrum (**Widmaier et al, 2013**).

Au-delà, l'œstradiol et la FSH agissent en synergie pour augmenter à la fois le nombre de cellules de la granulosa et le nombre de récepteurs à la FSH, conduisant le follicule sélectionné à augmenter de taille sous l'effet de la multiplication cellulaire et de l'accumulation de liquide dans l'antrum. L'augmentation du nombre de récepteurs à la FSH et de leur affinité, et la vascularisation périfolliculaire importante dans le follicule sélectionné permettent d'expliquer sa croissance ultérieure malgré la baisse de 50% de la sécrétion de FSH. Cette chute de la sécrétion de FSH, liée à la sécrétion d'inhibine et d'œstradiol par le follicule en croissance, entraîne l'arrêt du développement des autres follicules. Ce processus dégénératif est appelé atresie. C'est un exemple de mort cellulaire programmée ou apoptose. Les ovocytes contenus dans ces follicules en dégénérescence meurent également (**Merviel et al, 2011**). L'ovocyte sélectionné augmente de taille en deux phases, d'abord rapide jusqu'à la formation de l'antrum, puis plus lente jusqu'à l'ovulation. Sa taille passe de 30-35 μm à 120 μm . Sa croissance est directement liée au nombre de cellules de la granulosa qui l'entourent, ces dernières ayant un rôle à la fois protecteur et métabolique pour l'ovocyte. Par exemple, les cellules de la granulosa augmentent le taux de glutathion ovocytaire, nécessaire à la décondensation du sperme, la formation du pronucléus mâle, la protection de l'ovocyte contre le stress oxydatif et l'apoptose et qui permet plus tard l'obtention d'embryons au stade blastocyste.

De plus, les cellules de la granulosa interviennent dans le métabolisme du glucose en fournissant à l'ovocyte le pyruvate nécessaire à sa maturation. La maturation ovocytaire, cytoplasmique et nucléaire, est sous la dépendance de multiples facteurs de croissance (EGF (Epidermal growth factor, ou facteur de croissance épidermique), FGF (Fibroblast growth factor, ou facteur de croissance des fibroblastes), IGF-1 (Insulin-like growth factor), ou facteur de croissance analogue à l'insuline de type1) ,TGF- β (Transforming growth factor β , ou facteur de croissance de différenciation β), Kit ligand, inhibine et activine) (**Merviel et al, 2011**).

3. Régulation ovarienne de la fonction ovarienne

La régulation ovarienne est le processus complexe par lequel les ovaires contrôlent la maturation des follicules et l'ovulation, assurant ainsi la production régulière d'ovules et la sécrétion d'hormones essentielles à la reproduction (**Smith et al, 2015**). Cette régulation est essentielle à la fertilité et à la santé reproductive chez les femmes. Elle est orchestrée par un

réseau complexe d'interactions hormonales et cellulaires, qui implique principalement l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien (Richards *et al*, 2010)

3.1. Axe hypothalamo-hypophyso-ovarien

L'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien (Figure 9) est un système de régulation hormonal qui contrôle la production d'hormones sexuelles, notamment les œstrogènes et la progestérone, chez les femmes. Il implique trois composantes principales : (Johnson *et al*, 2021)

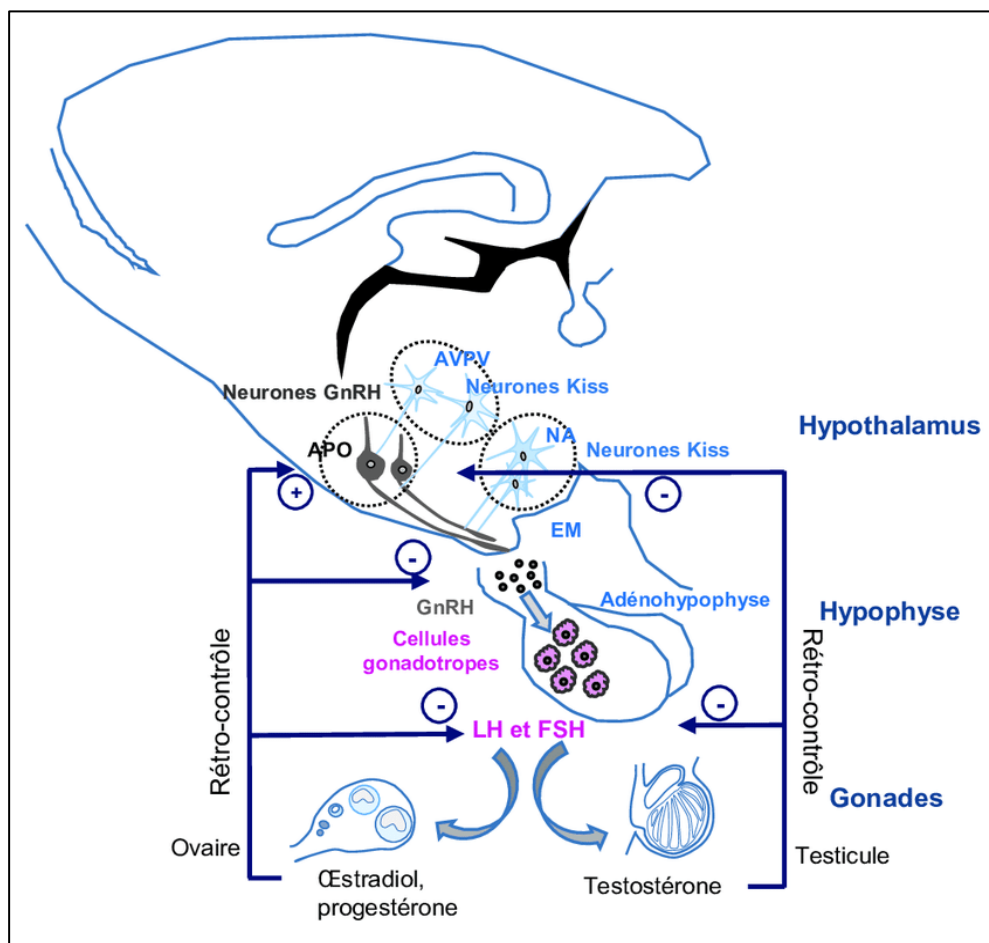


Figure 9 : Physiologie de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien (Derouiche, 2016)

3.1.1 Hypothalamus

L'hypothalamus est une région du cerveau située au-dessus de l'hypophyse. Il produit et sécrète des hormones de libération et d'inhibition, appelées neurohormones, qui contrôlent l'activité de l'hypophyse. Dans le cadre de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien, l'hypothalamus produit l'hormone de libération des gonadotrophines (GnRH), qui stimule la production et la libération des hormones folliculo-stimulante (FSH) et lutéinisante (LH) par l'hypophyse (Gerald *et al*, 2018).

3.1.2. Hypophyse

Une petite glande située à la base du cerveau. Elle est divisée en deux parties principales : l'adénohypophyse (lobe antérieur) et la neurohypophyse (lobe postérieur). L'adénohypophyse produit et libère des hormones jouant un rôle clé dans la régulation de la fonction ovarienne (Sperling, 2014).

3.1.2.1. GnRH

GnRH ou hormone de libération des gonadotrophines, est une hormone produite par l'hypothalamus, une petite région du cerveau. Elle joue un rôle crucial dans la régulation de la fonction reproductive. La GnRH agit en stimulant l'hypophyse pour produire et libérer les hormones folliculo-stimulante (FSH) et lutéinisante (LH). La GnRH est libérée de manière pulsatile par l'hypothalamus, c'est-à-dire par des sécrétions régulières et intermittentes. La sécrétion pulsatile est essentielle pour maintenir un fonctionnement normal du système reproducteur (Herbison *et al*, 2008).

3.1.2.2. FSH

FSH ou hormone folliculo-stimulante, joue un rôle essentiel dans la régulation de la fonction reproductive, en particulier dans la régulation du développement folliculaire chez la femme, elle agit sur les ovaires en stimulant la croissance et le développement des follicules. La FSH favorise également la production d'œstrogènes par les cellules folliculaires. La sécrétion de FSH est régulée par des mécanismes de rétroaction. Une diminution des niveaux d'hormones sexuelles stimule l'hypophyse à produire et à libérer plus de FSH, tandis qu'une augmentation des niveaux d'hormones sexuelles a tendance à inhiber la production de FSH (Santoro *et al*, 2011).

3.1.2.3. LH

La lutéinisante (LH), également connue sous le nom d'hormone lutéinisante, est une hormone produite et libérée par l'hypophyse antérieure, une petite glande située à la base du cerveau. Elle fait partie d'un groupe d'hormones appelées gonadotrophines, qui régulent la fonction reproductive chez les femmes. La LH joue un rôle essentiel dans le cycle menstruel et la fertilité. Au cours de la première moitié du cycle menstruel, stimule la croissance et la maturation des follicules ovariens dans les ovaires (Layman, 2018). Une fois que le follicule dominant s'est développé, la LH atteint son pic, déclenchant l'ovulation, c'est-à-dire la libération de l'ovule mature du follicule. Elle joue également un rôle dans la formation du

corps jaune, une structure qui se forme dans l'ovaire après l'ovulation et qui produit l'hormone progestérone (**Melmed et al, 2015**).

3.2. Ovaires

Les ovaires sont les organes reproducteurs féminins responsables de la production des hormones sexuelles, principalement les œstrogènes et la progestérone :

3.2.1. Œstrogènes

Les œstrogènes sont un groupe d'hormones stéroïdiennes, ils sont fabriqués en petites quantités chez les hommes (**Davis et al, 2019**). Ils contiennent 3 types (l'œstradiol, l'œstrone et l'œstriol).

Ils exercent divers effets biologiques, notamment :

- Développement des caractères sexuels secondaires féminins

Les œstrogènes contribuent au développement des seins, à la croissance des poils pubiens et axillaires, ainsi qu'à la redistribution des graisses corporelles chez les femmes (**Marie Lévesque, 2018**).

- Régulation du cycle menstruel

Les œstrogènes jouent un rôle clé dans le contrôle du cycle menstruel. Ils favorisent la croissance de l'endomètre, la muqueuse de l'utérus, en vue de la préparation à une éventuelle implantation de l'ovule fécondé (**Gerald et al, 2018**).

- Maintien de la santé des os

Les œstrogènes contribuent à maintenir la densité minérale osseuse et à prévenir la perte osseuse excessive, ce qui est particulièrement important chez les femmes ménopausées (**Michael et al, 2013**).

- Effets sur les tissus cardiovasculaires

Les œstrogènes peuvent avoir des effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire en augmentant le taux de cholestérol HDL et en améliorant la fonction endothéliale des vaisseaux sanguins (**Smith et al, 2019**).

3.2.2. Progestérone

La progestérone est une hormone stéroïdienne sécrétée principalement par le corps jaune, une structure qui se forme dans l'ovaire après l'ovulation (**Smith et al, 2019**).

Les fonctions de la progestérone comprennent :

- Préparation de l'endomètre

La progestérone agit sur l'endomètre pour le préparer à la nidation de l'ovule fécondé. Elle stimule la croissance des vaisseaux sanguins et des glandes de l'endomètre, créant ainsi un environnement favorable à l'implantation (**Woodworth K, .et al.2019**)

- Maintien de la grossesse

Si la fécondation a lieu, le corps jaune continue de produire de la progestérone pour maintenir la grossesse. La progestérone empêche les contractions utérines prématurées et inhibe le système immunitaire pour éviter le rejet de l'embryon (**Simpson et al,2012**)

- Régulation du cycle menstruel

La progestérone joue un rôle clé dans la régulation du cycle menstruel. Si la fécondation n'a pas lieu, la diminution des niveaux de progestérone déclenche la desquamation de l'endomètre, entraînant les menstruations (**Jennifer et al,2019**).

-Préparation des glandes mammaires à la lactation

Pendant la grossesse, la progestérone prépare les glandes mammaires à la production de lait maternel. (**Riordan et al, 2010**). La progestérone joue un rôle crucial dans la préparation des glandes mammaires à la lactation. Ce processus est orchestré par une série de changements hormonaux complexes :

- Stimulus initial : Dès le début de la grossesse, l'hormone gonadotrophine chorionique humaine (hCG) est sécrétée par le placenta. Elle stimule la production de progestérone par le corps jaune de l'ovaire.
- Progestérone et prolactine : La progestérone est produite en quantités élevées pendant la grossesse par le corps jaune ovarien, le placenta et les glandes surrénales fœtales. Cette hormone joue un rôle majeur dans le maintien de la grossesse et la préparation des glandes mammaires à la lactation. En parallèle, la prolactine, une autre hormone, est également produite en augmentation par l'hypophyse.
- Développement des glandes mammaires : Sous l'influence de la progestérone et de la prolactine, les glandes mammaires subissent une série de changements morphologiques et fonctionnels pour se préparer à la production de lait maternel.
- Alvéoles mammaires : Les alvéoles mammaires sont des structures en forme de sacs situées dans les glandes mammaires. La progestérone favorise leur développement et leur différenciation, ce qui les prépare à la sécrétion de lait.

- Canal lactifère : Les canaux lactifères sont les voies qui transportent le lait des alvéoles vers les mamelons. Sous l'effet de la progestérone, ces canaux se développent et se ramifient, augmentant la capacité de transport du lait.
- Maintien de la grossesse : La progestérone aide également à maintenir la grossesse en inhibant les contractions utérines excessives. Cela est essentiel pour la préservation de la gestation jusqu'à terme.
- Effets de la progestérone après l'accouchement : Après l'accouchement, les niveaux de progestérone diminuent, ce qui permet à la prolactine de prendre le relais pour stimuler la production de lait maternel (**Kent et al, 2006**).

3.3. Régulation paracrine

Régulation paracrine est un mécanisme de communication cellulaire où les cellules sécrètent des substances (facteurs de régulation) sont sécrétées dans le milieu extracellulaire et qui agissent localement sur les cellules voisines (**Johnson et al, 2022**).

3.3.1. Substances de régulation paracrine

Les facteurs de régulation paracrine peuvent être des hormones, des neurotransmetteurs, des cytokines ou d'autres molécules. Ils sont produits par divers types de cellules et ont des effets spécifiques sur les cellules voisines.

3.3.2. Effets locaux

Les substances de régulation paracrine agissent localement, dans les tissus ou les organes à proximité de la cellule sécrétrice. Elles modulent les fonctions cellulaires, telles que la croissance, la différenciation, la motilité et la réponse inflammatoire (**Lee et al, 2020**).

3.4. Régulation autocrine

Régulation autocrine est un mécanisme de régulation cellulaire dans lequel une cellule sécrète des substances qui agissent sur ses propres récepteurs, régulant ainsi sa propre fonction (**Zhang et al., 2020**).

3.4.1. Sécrétion de substances régulatrices

Les cellules qui utilisent la régulation autocrine sécrètent des substances, telles que des facteurs de croissance ou des cytokines, qui agissent sur les récepteurs présents sur leur propre surface cellulaire (**Williams et al, 2022**).

3.4.2 Réponse cellulaire

Lorsque les substances régulatrices autocrines se lient à leurs récepteurs, elles déclenchent des réponses peuvent inclure la croissance, la différenciation, la survie cellulaire ou la modulation de l'activité métabolique (**Wendell et al, 2014**).

3.4.3. Autosuffisance

La régulation autocrine permet aux cellules de réguler leur propre fonction indépendamment des signaux externes. Cela leur confère une certaine autosuffisance et peut être particulièrement important dans des contextes tels que la prolifération cellulaire, la cicatrisation des plaies et la défense immunitaire (**John Seymour ,2009**)

4. Perturbateurs Endocriniens

4.1. Généralités sur les perturbateurs endocriniens

4.1.1. Définition

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des substances chimiques ou des mélanges, d'origine naturelle ou artificielle, possédant la capacité d'interférer avec le système endocrinien. Ils peuvent avoir des effets nocifs sur des fonctions aussi essentielles que la reproduction, la croissance, le développement ou encore le métabolisme (**OMS, 2012**).

Les perturbateurs endocriniens sont présents dans un bon nombre de produits que nous utilisons au quotidien ; packaging de l'alimentation, bouteille en plastique, lingette pour bébé et même dans les produits cosmétiques (crèmes, parfums, vernis). Alors que leurs effets néfastes se font connaître au fur et à mesure que des études sur le sujet paraissent peu nombreuses, les mêmes analyses sont constatées par des rapports de l'OMS (**Gabelica, 2014**).

4.1.2. Nature chimique des perturbateurs endocriniens

Les PE peuvent être classés en deux grandes catégories, si l'on considère leur nature chimique : les substances synthétiques ou naturelles. Les substances synthétiques sont utilisées pour un usage industriel (agents de nettoyage, produits anti-rouille, plastifiants etc.), dans l'agriculture (pesticides, herbicides, insecticides, fongicides etc.), dans les produits de consommation courante (cosmétiques, produits d'entretien, emballages etc...). Tandis que la deuxième catégorie est constituée par les substances naturelles comme les phyto-estrogènes (soja), les iso-flavonoïdes et les lignanes retrouvées dans certains végétaux comestibles, elles ont généralement une activité oestrogénique. Toutefois, ces substances naturelles sont facilement

métabolisées par l'organisme, contrairement à la grande majorité des perturbateurs endocriniens d'origine synthétique (**Pillière, 2005**).

4.1.3. Mode d'action des perturbateurs endocriniens

Certaines substances chimiques peuvent agir sur le système endocrinien de plusieurs façons :

- En se fixant sur les récepteurs hormonaux et en imitant l'action des hormones naturelles (effet mimétique ou agoniste), tout dépendant du degré d'affinité entre le ligand et le récepteur.
- En bloquant les récepteurs hormonaux et en empêchant l'action des hormones naturelles (effet antagoniste).
- En modulant (altérant ou bloquant) le métabolisme (synthèse, excrétion), la régulation (stockage, libération, sécrétion) ou le transport des hormones (**Demeneix et al, 2019**) (**Pitollat et al, 2019**).

4.2. Reprotoxicité chez la femelle

La reprotoxicité comprend l'altération des fonctions et/ou de la capacité de reproduction et/ou pouvant entraîner des effets néfastes sur la descendance. La reprotoxicité peut se traduire par des effets sur la fertilité ou sur le développement embryonnaire (**Stadler, 2014**).

Sur la fertilité, la reprotoxicité comprend ; les effets néfastes sur la libido, le comportement sexuel, les différentes étapes de la gamétogenèse, l'activité hormonale ou la réponse physiologique qui perturberaient la fécondation ou l'implantation (**Stadler, 2014**).

Des études sur des modèles animaux révèlent que plusieurs classes de contaminants environnementaux, dont des pesticides, induisent une toxicité ovarienne à certaines doses. Ces contaminants induisent l'aneuploïdie des ovocytes, ils perturbent la stéroïdogénèse, font baisser le poids des ovaires et leur volume et font baisser également baisser le nombre de follicules. Les contaminants environnementaux peuvent aussi perturber les cycles œstral et menstruel (**Foster, 2003**).

4.3. Acétate de plomb

L'acétate de plomb est un composé chimique inorganique dont la formule chimique est $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$. Il est également connu sous le nom de sucre de plomb en raison de sa structure cristalline semblable à des cristaux de sucre. C'est un solide cristallin blanc qui est soluble dans l'eau. Il est principalement utilisé dans l'industrie chimique et dans les

laboratoires de recherche. Il est également utilisé comme réactif chimique, dans la fabrication de pigments, dans certains procédés de galvanoplastie et comme catalyseur dans certaines réactions chimiques. (Gary *et al*, 2014).

4.3.1 Propriété physico chimique du plomb

Le plomb est de configuration électronique [Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s² 6p² il possède 2 électrons non appariés sur la dernière couche, ce qui lui permet plusieurs degrés d'oxydations +2, +4, ou la forme métal (0), il peut être associé à plusieurs composés pour former des sels inorganiques ; les plus fréquentés sont des chlorures, chromates, nitrates, phosphates, carbonates et sulfates du plomb, les composés organiques du plomb sont le plomb tetraméthyle, et le plomb tetraéthyle qui est utilisé comme antidétonant dans l'essence et grâce à son bas point d'ébullition de 200°C, il est extrêmement volatil dans l'atmosphère (Missoun, 2012). Les principales caractéristiques physico chimiques du plomb sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques du plomb (Caillerie et François, 1993)

Symbole	Pb
Numéro atomique	82
Famille	Métal pauvre
Groupe	14
Période	6
Bloc	P
Masse volumique	11.35 g.cm-3
Dureté	1,5
Couleur	Blanc gris
Masse atomique	207,2 u
Rayon atomique	180 pm
Électron par niveau d'énergie	2/8/18/32/18/4
Système cristallin	Cubique à face centré
État ordinaire	Solide
Point de fusion	327,46 °C
Point d'ébullition	1749 °C
Densité	11,35
Rayon ionique pb2+	
Pb4+	0,94 à 1,49 Å° 0,78 à 0,94 Å°

4.3.2. Modes d'exposition humaine au plomb

4.3.2.1 Voie digestive

L'alimentation et l'ingestion de poussières inhalées sont les voies principales d'ingestion digestive du plomb chez l'homme :

- Végétaux contaminés par disposition du plomb ou accumulation depuis le sol.
- Faunes contaminées depuis leur alimentation et leur environnement ou par des méthodes de pêches.
- Eau de consommation contaminée par la corrosion du plomb des canalisations. Ecailles et poussières de peintures anciennes.

Le pourcentage du plomb absorbé est de 5% à 10% chez l'adulte alors qu'il peut atteindre 55% chez l'enfant moins de 2 ans en cas de carence en fer et en calcium (compétitions du plomb avec le calcium et le fer) (**Nriagu, 1978 ; Demichele, 1984**).

4.3.2.2 Voie respiratoire

Le plomb dans l'essence est la source la plus importante d'exposition, ainsi que son inhalation en voisinage des sources industrielles, en particulier à côté des industries minières et métallurgiques. La rétention pulmonaire varie entre 40 à 70%, selon la taille et la solubilité des vapeurs de plomb inhalés (**Morrow, 1980**).

4.3.2.3 Voie cutanée

Une rétention cutanée est rare, mais possible, le plomb organique liposoluble contenue dans certains produits peut traverser la peau, comme les pansements contenant de l'acétate du plomb (**Alain et al, 1980**), ainsi que certains composés inorganiques en cas de lésion cutanée (**Botta et al, 1976**).

4.3.3 Reprotoxicité du plomb

Une forte exposition au plomb est associée à un risque d'infertilité ou de mal formation, il peut atteindre l'appareil reproducteur mâle responsable par l'altération de la spermatogenèse et la diminution du niveau de testostérone (**Missoun, 2012**). Chez les sujets exposés au plomb (**Zenad et al, 2021**) ont rapporté une diminution des taux de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères associée à une atrophie partielle des tissus interstitiels des testicules.

Le plomb subit aussi un passage trans-placentaire expliquant le risque d'intoxication fœtale lorsque la mère est exposée, le passage du métal à travers la barrière hémato-encéphalique se traduit par la prédominance des manifestations encéphaliques chez l'enfant (**Gil-Sánchez et al, 2018**).

Matériel et Méthodes

L'objectif de notre étude est de déterminer l'effet de l'huile essentielle de *géranium rosa* sur la fonction gonadique (ovarienne) après traitement au plomb à des différentes doses chez les souris femelles de souche BALB/c (*Mus musculus*), ce travail a été réalisé au niveau de l'animalerie du département de Biologie (Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou).

1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Modèle animal

La souche BALB/c est une souche de souris de laboratoire largement utilisée en recherche biomédicale (Figure 10). Elle a été développée à partir d'une population de souris albinos BALB/c. Originellement élevée au laboratoire Animal Breeding and Research Center (ABRC) du National Cancer Institute (NCI) aux États-Unis dans les années 1920, sont connues pour leur prédisposition à développer des tumeurs, ce qui en fait un modèle animal fréquemment utilisé pour l'étude du cancer. Elles sont également utilisées dans d'autres domaines de recherche, tels que l'immunologie, la virologie, la génétique et la toxicologie. Ces souris présentent plusieurs caractéristiques phénotypiques spécifiques (Siraganian *et al*, 1979).



Figure 10 : Souris de souche BALB/c femelle.

Classification systématique de souris femelle de souche BALB/c

- Règne : **Animal**
- Embranchement : **Vertébrés**
- Classe : **mammifères**
- Super Ordre : **myomprpha**
- Ordre : **rodénita**
- Famille : **muridés.**
- Sous-famille **murinae**
- Genre : **mus**
- Espèce : ***Mus musculus***

1.2. Huile essentielle

Le *géranium* est une plante appartenant à la famille des Géraniacées et au genre *Pelargonium*. Il existe de nombreuses espèces de *géraniums*, mais l'une des plus couramment utilisées à des fins ornementaux et médicinaux est le *Pelargonium graveolens*. est une plante vivace qui se caractérise par ses feuilles aromatiques et ses fleurs colorées, généralement roses ou violettes. Les parties utilisées du géranium sont les feuilles et les fleurs, qui contiennent des huiles essentielles riches en composés chimiques bénéfiques (Prabakaran *et al*, 2014).



Figure 11 : Photo de l'huile essentielle *géranium rosat*

1.3. Conditions d'expérimentation

1.3. 1. Animalerie

L'étude s'est déroulée du 1^{er} Mai jusqu'au 30 Mai au niveau de l'animalerie du département de Biologie (Université de Mouloud Mammeri Tizi-ouzou). L'animalerie dispose de 3 chambres d'environ 3,5 M × 4.5 M de superficie et 3,5 M de hauteur. La chambre est équipée de 4 cage femelle muni d'un nourrisseur (capacité 1kg) et d'un biberon automatique muni d'une tétine à clapet.

Les souris sont soumises à un éclairage de 12H/24H. Système programmé à déclenchement automatique. L'éclairage est assuré par des tubes néons (72 Watts) répartis de façon homogène sur la surface de l'animalerie.

Les souris provenant de l'institut pasteur d'Alger, sont sélectionnées selon leur poids corporel, leur âge et leur état sanitaire. Ils reçoivent une nourriture sous forme de granulés secs (aliments de bétails ONAB) ainsi que de l'eau.

1.3.2 Régime alimentaire

L'aliment se présente sous forme de granulés secs, sa composition est déterminée par l'équipe de notre laboratoire de physiologie et de la nutrition puis il est fabriqué et commercialisé par l'unité de fabrication d'aliments de bétails ONAB» Alger.

L'aliment est composé de

36 % de luzerne, 25 % d'orge, 26 % de son de blé, 12 % de tourteaux de Soja et 1 % de complexe multi vitaminé (CMV):

Nutriments.....taux/Kg d'aliment brut

Matière sèche.....90.38

Protéines brutes.....21.21

Cellulose minérale.....11.66

Matière organique.....82.13

Energie brute (Kcal ou Mj/Kg).....4464.20 Kcal ou 18.07 Mj/Kg

1.3.3 Protocole expérimental

Les souris ont été réparties en 4 lots de 6 individus par cage, dont la période de traitement est de 30 jours et elles ont été sélectionnées selon un poids corporel varie de 26g à 29g.

- **Lot T (n=6)** représente le lot témoins ou les souris ont reçu une injection de l'eau physiologique par voie intra péritonéale chaque jours pendant j 7 – j 29
- **Lot DMSO (n=6)** représente le lot ou les souris ont reçu une injection de Dimethylsulfoxyde (**DMSO**) par voie intra péritonéale chaque jours pendant j 7 – j 29.
- **Lot AP (n=6)** représente le lot ou les souris ont reçu une injection de l'acétate de plomb (**AP**) par voie intra péritonéale à j 1.
- **Lot AP+HE1 (n=6)** représente le lot ou les souris ont reçu une injection de l'acétate de plomb par voie intra péritonéale à j 1 et une autre injection de l'huile essentielle (géranium) chaque jours pendant j 7 – j 29.

Les doses d'injection ont été respecté selon le poids des souris qui été réalisé a l'aide d'une balance et calculer selon la règle de $300\mu\text{l}/\text{kg}$.



Figure 12 : Les lots des souris



Figure 13 : Peser puis injection intra péritonéale des souris

1.3.4 Sacrifice et prélèvements d'organe

A la fin de l'expérience, les souris sont pesées puis sacrifiées par décapitation. Après une récupération du sang, on met l'animal sur le dos après la fixation de ses pattes à l'aide des aiguilles puis on pratique une incision horizontale de 1 cm environ juste au dessus de l'orifice urogénital. On extrait rapidement et délicatement l'appareil génital de cette femelle puis les autres organes qui suivent. Les ovaires débarrassés de leurs graisses sont pesés à l'aide d'une balance électrique (voir figure), mesurés, puis les ovaires sont rapidement plongés dans 30 fois au moins leur volume dans le liquide fixateur (Bouin Holland) dans des cassettes fermés identifiés et numérisés pour une étude histologique.

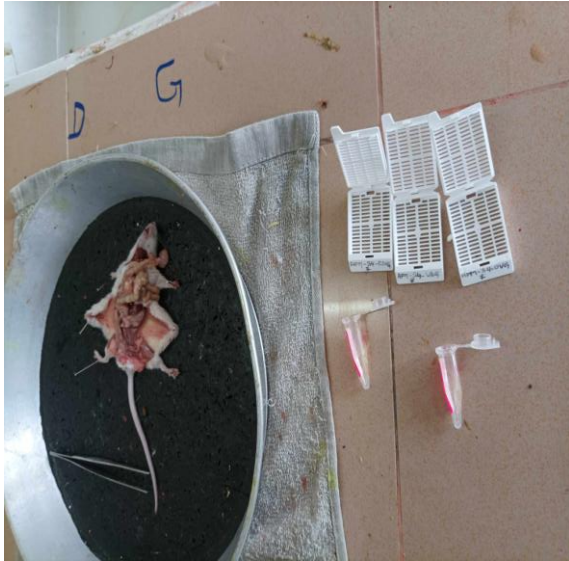


Figure 14: Moment de dissection



Figure 15 : Balance électrique de précision de type AXIS

2. Méthodes

2.1. Etude histologique

2.1.1 .Fixation

Les organes sont mis dans des cassettes numérotée et identifiées, ces dernières sont ensuite mises dans une solution de Bouin pour bien conserver les tissus dans un état le plus proche de l'état « in vivo » et éviter ainsi la dégradation de ces tissus.

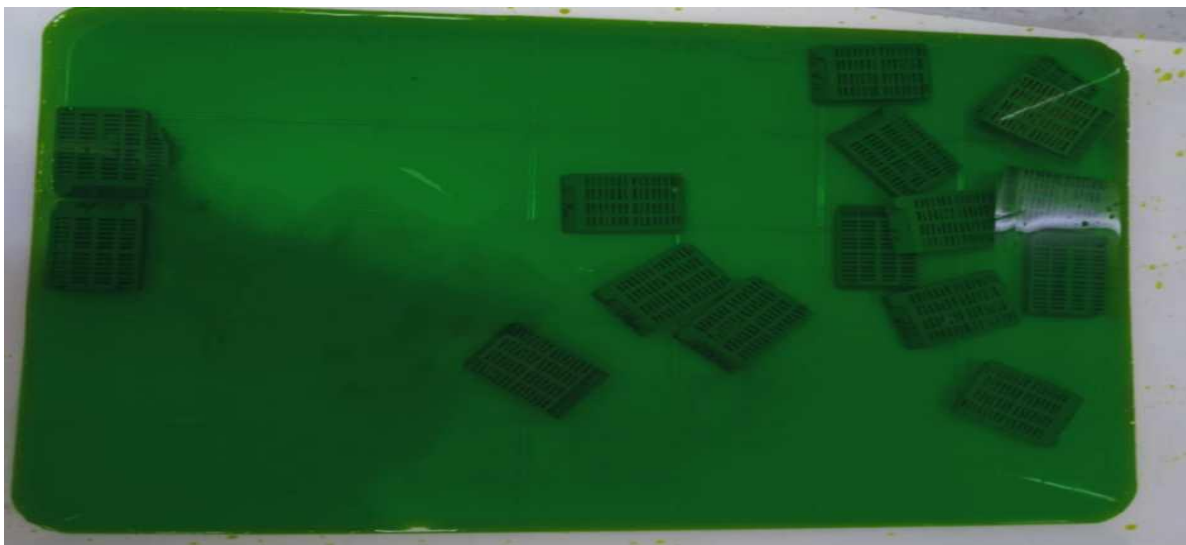


Figure 16 : Fixation des cassettes dans un bain de Bouin Holland

2.1.2. Déshydratation

Les échantillons fixés et rincés sont déshydratés par un passage dans 03 bains d'alcool à degré croissant (75-90-100) pendant 20-30mn ce qui permet l'élimination de l'eau contenues.

L'étape qui suivent est l'éclaircissement des échantillons est réalisé à l'aide de 02 bains de 15-20 mn de toluène qui permettent l'élimination de l'alcool et la préparation l'imprégnation.



Figure 17 : Bain d'alcool à degré croissant

2.1.3. Imprégnation a la paraffine

Les échantillons sont plongées dans 3 bains successifs de 2 heures chacun de paraffine liquide et maintenu à 59 °C à l'étuve. Puis un 3ème bain a duré toute une nuit.

L'imprégnation des tissus par la paraffine doit être longue afin d'éliminer totalement le toluène.

2.1.4. Confection des blocs

Une quantité de paraffine est versé dans un moule et une fois qu'une pellicule blanche commence à se former, on plonge l'échantillon à l'aide d'une pince fine sur lequel on remet la moitié de la cassette numérotée, on rajoute de la paraffine sur l'ensemble, on laisse refroidir puis on procède au démoulage.

2.1.5. Réalisation des coupes

Les blocs de paraffine formés sont ensuite coupés avec un microtome en coupe fine d'épaisseur de (5 µm) ou plus. Les coupes ensuite étalé dans un bain marie et récupéré par une lame de verre, sur laquelle on écrit l'identifiant de l'échantillon et pour finir elles sont ensuite mises à sécher dans une position inclinée.

2.1.6. Déparaffinage

Durant cette étape on met les lames séchées dans une étuve à 45-60°C pendant 15 à 30 minutes pour éliminer la paraffine périphérique.

2.1.7. Coloration

Le type de coloration employée est la coloration à l'HE (hématoxyline Eosine).

L'hématéine, qui est une substance basique, colore les noyaux en violet donc colore les acides nucléiques. L'éosine est une substance plutôt acide, qui colore le cytoplasme en rose donc colore les protéines. Le but est d'accentuer les contrastes afin de différencier les différents constituants tissulaires, suivi d'un rinçage pour éliminer l'excès des colorants.

2.1.8. Montage des lames

Nous avons utilisé une résine synthétique « Eukitt » pour le montage des lames. Cette résine a un indice de réfraction proche du verre pour coller la lamelle à la lame donnant ainsi une clarté très nette, elle confère aussi aux lames une résistance augmentée dans le temps.

2.1.9. Observation des échantillons

Les lames sont observées au microscope photonique de marque LEICA modèle DMLS au grossissement Gx400.

3. Analyse statistique

Avant l'abattage les animaux sont pesés. Après le sacrifice, les poids de l'appareil reproducteur et des ovaires sont enregistrés.

Les valeurs des paramètres du poids corporel et poids des gonades sont exprimées comme moyenne \pm erreur standard à la moyenne (Moy \pm SEM). Les différences entre les lots sont analysées par un test de variance ANOVA avec un test de significativité de 5%. Les tests sont réalisés en utilisation le logiciel R :

La différence entre deux moyennes est significative si :

✓ $p < 0,001$*** hautement significatif

✓ $p < 0,01$** très significatif

✓ $p < 0,05$* significatif

✓ $p > 0,05$non significatif

Résultats et discussions

Le but de notre travail est d'évaluer les effets de l'huile essentielles (*géranium rosat*) après une injection unique d'acétate de plomb chez la souris femelle de souche synthétique BALB/c.

1. Effet de *géranium rosat* sur le poids corporel moyen et ovarien après traitement à l'acétate de plomb

1.1. Effets de *géranium rosat* sur le poids corporel moyen après traitement à l'acétate de plomb

On observe un poids moyen de $28,032 \pm 0,5g$ pour le lot témoin, de $28,944 \pm 0,7g$ pour le lot DMSO, et de $29,171 \pm 0,5g$ pour le lot AP et $28,599 \pm 0,4g$ pour le lot AP+HE1.

Les résultats montrent que le poids des animaux exposés à l'acétate de plomb (AP) est significativement inférieur à celui des animaux témoins après l'injection qui se traduit par une diminution du gain corporel.

Ces modifications du gain corporelle sont expliquées par l'effet du plomb qui modifie le fonctionnement cellulaire et perturbe plusieurs réactions métaboliques et processus physiologiques (Haito *et al*, 2008) . Selon Ait-Hamadouche, (2010) la diminution du poids est directement associée à la baisse de la prise alimentaire. En effet le plomb induit un effet anorexigène par son interaction avec des structures cérébrales comme les neuromédiateurs de la sérotonine et la dopamine qui sont impliquées dans le processus de la régulation de la satiété et de la faim (Benlahcen, 2008)

Des études antérieures réalisées chez le rat pubère femelle, afin d'explorer les effets toxicologiques de l'exposition chronique au plomb sur les fonctions de reproduction ont montré également une diminution du poids corporel (Dhir et Dhand, 2010). Ces résultats concordent avec ceux obtenus dans notre étude.

Cependant, aucune différence significative n'est observée entre le poids final des animaux des différents lots ($P > 0.05$) (Figure 18).

Nathan *et al*, 1992 n'ont pas retrouvé également de différence significative du poids corporel avec des concentrations similaires à celles utilisées dans notre étude

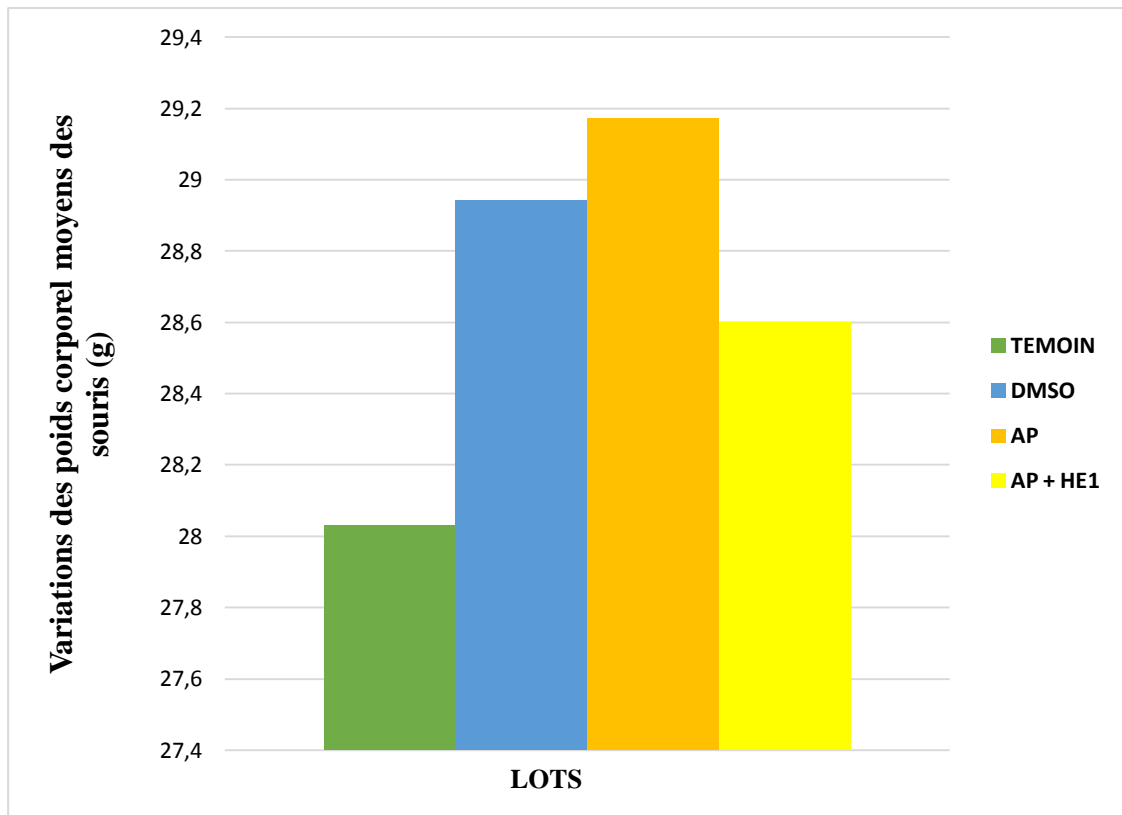


Figure 18 : Variations des poids corporel moyens des souris après traitement à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle

1.2. Effets de *géranium rosa* sur le poids ovarien moyen après traitement à l'acétate de plomb

Après sacrifice, les deux ovaires sont pesés. Le poids total des 2 ovaires obtenus sont de $0,0311 \pm 0,0006\text{g}$ pour le lot témoin, de $0,029 \pm 0,0004\text{g}$ pour le lot DMSO, de $0,0271 \pm 0,0005\text{g}$ pour le lot AP et de $0,0288 \pm 0,0005\text{g}$ pour le lot AP+HE1. Une diminution du poids moyen total des ovaires est observée chez le lot traité à AP par rapport au témoin, Alors qu'une légère augmentation du poids moyen des ovaires est observé chez le lot traité à l'huile essentielle, toutefois, cette augmentation est non significative ($P > 0,05$) (Figure19).

Certains auteurs n'ont relevé aucune modification significative du poids des organes sexuels du rat adulte mâle (testicules, prostate, épидидymes, vésicules séminales) après administration d'acétate de plomb dans l'eau de boisson : (Ronis *et al.*, (1996) à la concentration de 0.6%

pendant 14 jours, (Pinon-Lataillade *et al.*, 1993) à la concentration de 0.3% pendant 70 jours et (Kempinas *et al.*, 1990) à la concentration de 0.0275%.

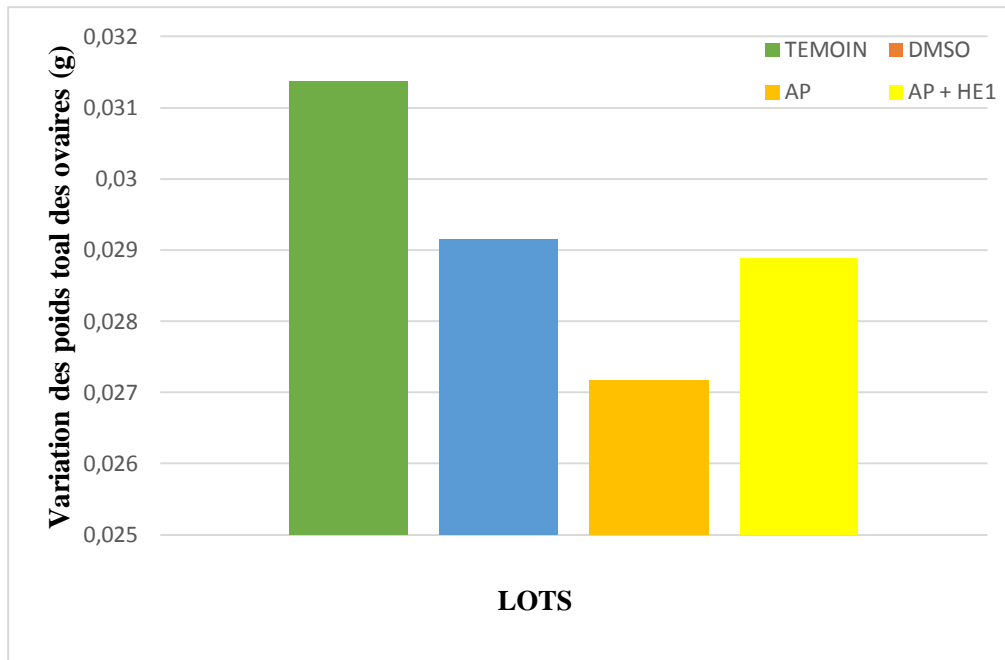


Figure 19 : Variations de poids total des ovaires des souris après traitement à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle

1.3. Effets de *géranium rosa* sur le poids ovarien moyen gauche après traitement à l'acétate de plomb

Les poids des ovaire gauche (OG) sont comme suit : $0,0161 \pm 0,0038$ g pour le lot Témoin, $0,0142 \pm 0,0038$ g pour le lot DMSO, $0,0139 \pm 0,003$ g pour le lot AP, $0,0148 \pm 0,0057$ g Pour le lot AP+HE1.

Les poids des ovaire droits (OD) sont comme suit : $0,0152 \pm 0,0034$ g pour le lot témoin, $0,0148 \pm 0,0047$ pour le lot DMSO, $0,0132 \pm 0,0030$ g pour le lot AP et de $0,0140 \pm 0,0068$ g pour le lot AP+HE1 (**Figure 20**).

Une diminution du poids moyen total des ovaires gauche et droit est observée chez le lot traité à AP par rapport au témoin, Alors qu'une légère augmentation du poids moyen des ovaires est observé chez le lot traité à l'huile essentielle, toutefois, cette augmentation est non significative entre les différents lots étudiés ($P > 0.05$).

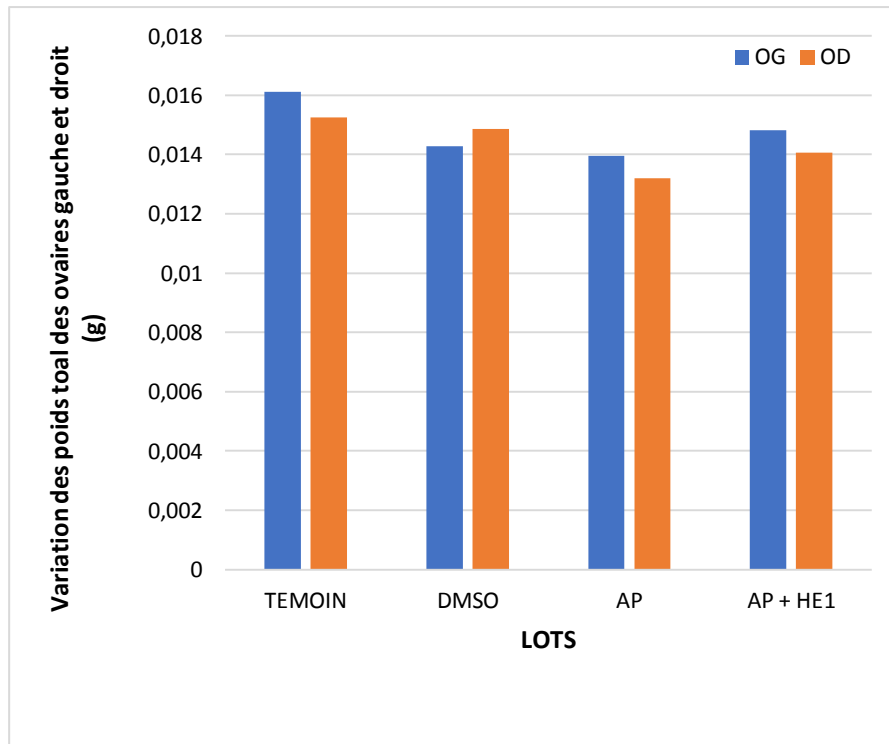


Figure 20 : Variations de poids des ovaires droit et gauche des souris après traitement à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle

1.4. Effets de *géranium rosa* sur le poids ovarien relatif après traitement à l'acétate de plomb

Les poids relatifs des ovaires sont plus élevés dans les groupes témoins suivie par le lot AP+HE1 ,et faible pour les lots AP et DMSO .Mais cependant aucune différence statistiquement significative ($P > 0.05$) n'est décelée entre les trois lots

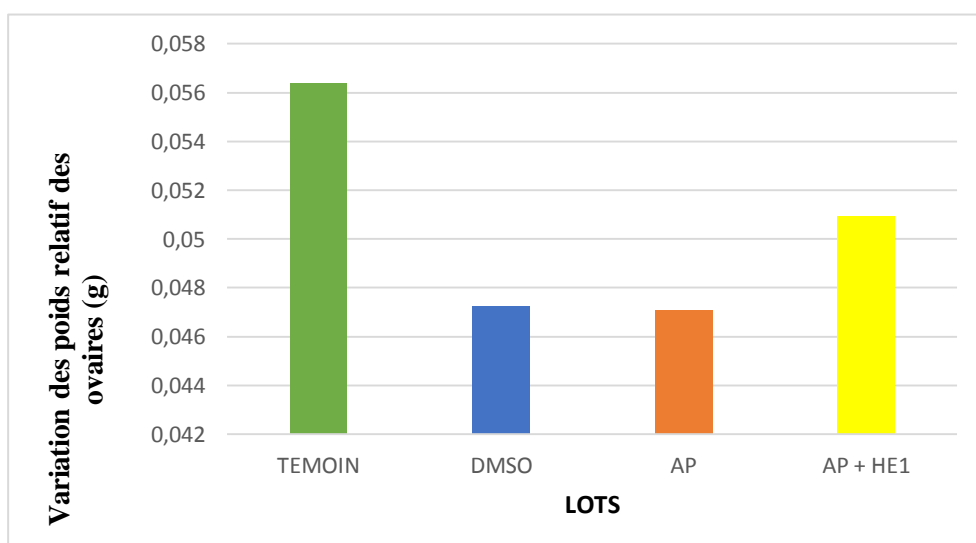


Figure 21 : Variations de poids relatifs des ovaires à 100 gr droit et gauche des souris après traitement à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle

2. Effets de *géranium rosat* sur La structure histologique de l'ovaire de souris après traitement à l'acétate de plomb

2.1. Histologie des souris du lot témoins et DMSO

Les résultats de l'étude histologiques réalisée chez des souris femelles issus des deux lots témoin et traité par le DMSO sont illustrés ci-dessous : les planches T et DMSO observés aux grossissements Gx400 (Figure 22) (Figure 23)

Les observations de la coupe transversale de l'ovaire des souris témoins et traitées par le DMSO révèlent les structures suivantes (Figure 22) (Figure 23) :

- A la périphérie, un épithélium formé d'une couche régulière de cellules cuboïdes de petites tailles
- Un tissu conjonctif formé de quelques couches de cellules fusiformes dont lequel sont noyés des follicules primordiaux, primaires et secondaires.
- Des masses, en lobules de grandes tailles délimitées par des septa (travées) conjonctivo-fibreux richement vascularisés correspondant à des corps jaunes qui résulte d'une bonne croissance folliculaire aboutissant à l'ovulation de ces derniers.
- Un tissu interstitiel avec de larges cellules polyédriques qui occupent les espaces compris entre les follicules en croissance et les corps jaunes gravidiques, il proviendrait en partie des thèques des follicules atrétiques.
- Un riche réseau de canaux lymphatiques.
- Présence de quelques lésions.

L'utilisation du DMSO dans l'étude n'a révélé aucune modification pondérale ou histologique chez les souris. D'après les travaux de (Valesca *et al*, 2008) l'injection du DMSO sur le tissu ovarien caprin, la morphologie folliculaire n'a pas été affectée négativement après avoir été exposé au DMSO. Bien au contraire, une quantité minimale de DMSO dans le tissu ovarien (0,63 mg) associée à un temps d'exposition court et optimal protégé les follicules à un stade précoce contre les blessures causées par le froid.

En revanche chez les souris femelles traité par l'acétate de plomb à raison d'une injection unique, les observations des coupe histologiques d'ovaires chez ces souris ont relevé une forte

dominance des corps jaunes ceci pourraient s'expliquer par un blocage du processus de la croissance et le développement des folliculaire chez les traitées .en effet on note la présence de très peu de follicules primaire, et l'absence des follicules secondaire et tertiaire. En parallèle on retrouve des lésions apparentes et une lumière présente sur la partie antérieure. A la surface, un épithélium irrégulier qui présente quelques cellule cubique simple accolé à un tissu conjonctif peu abondant, cette irrégularité est les résultats probablement de l'effet de l'acétate de plomb.

Nos résultats sont concordent avec les résultat (**Junaid et al, 1997**) sur des souris femelles traitées par différentes doses d'acétate de plomb. Les résultats ont montré que le développement et la maturation des follicules pouvait être affectés. Une diminution significative du nombre des petits follicules et des follicules intermédiaires même pour la plus faible plombémie a été observée, les grands follicules étant principalement affectés pour la plus forte plombémie. L'atrésie folliculaire est accrue pour les follicules intermédiaires et elle augmente avec la plombémie. Pour la plus forte plombémie les grands follicules montrent également différents degrés d'atrésie.

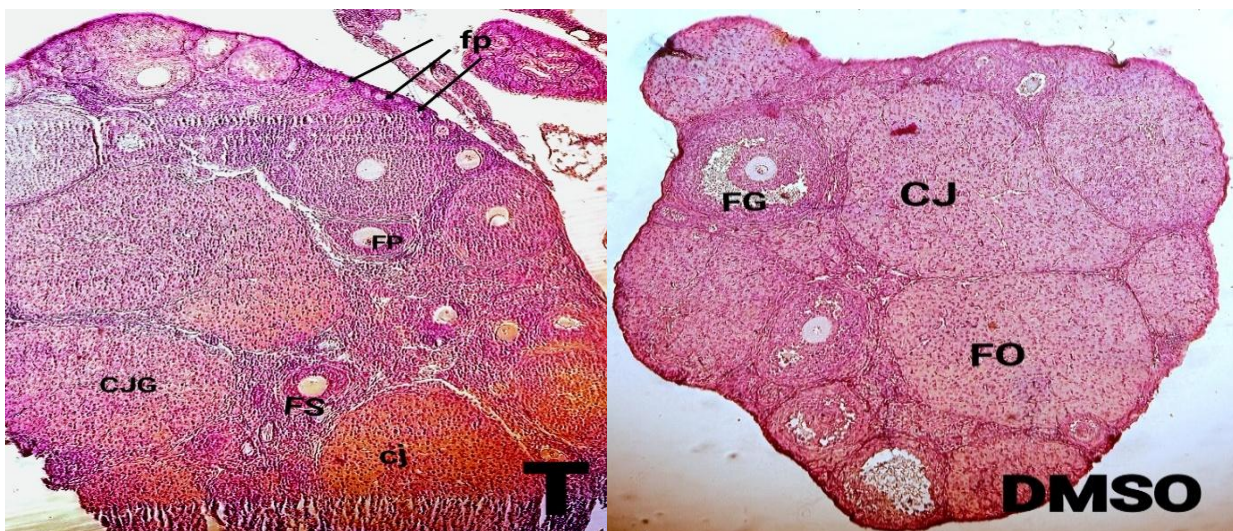


Figure 22 : Coupe histologique d'ovaire de souris témoins observées au microscope photonique au grossissement Gx400, ensuite traiter par le DMSO

fp : follicules primordiaux. **FP** : follicules primaire. **FS** : follicules secondaires. **CJ** : corps jaunes. **CJG** : corps jaunes gravidiques. **FO** : follicules en plein ovulation

2.2. Histologie des ovaires des souris du lot AP et HE1

Les résultats de la deuxième étape de l'expérience qui consiste à faire des injections de l'huile essentielle du *géranium rosat* (Figure 23 et 24).

Durant la deuxième étape de la présente étude, nous avons tenté corriger l'impact de l'acétate de plomb par administration d'une dose de l'huile essentielle du *géranium rosat* et de vérifier les répercussions de l'huile sur la structure histologiques des ovaires. Les résultats obtenus sont présentés par les Figure 23 et 24.

La coupe APHE1 qui représente les souris soumises au traitement par l'huile essentielle, après injection unique d'AP, on observe quelques follicules primordiaux qui ne sont pas du même degré d'abondance que chez les traitées par l'acétate de plomb, avec apparition des follicules à différents stades évolutifs, à savoir le primaire, le secondaire et surtout les follicules cavitaires.

Au grossissement Gx400, on constate la présence de follicules cavitaire à un stade très avancé proche du stade de De-Graaf, comparativement aux traitées par l'acétate de plomb représentées sur la coupe AP, nous n'observons que peu de follicules primordiaux et des corps jaune.

Ces différences de croissance folliculaires constatées sur les structures des ovaires des traitées par l'acétate de plomb et les traitées par le *géranium rosat* pourraient être attribuées aux effets des deux traitements administrés.

Contrairement aux effets néfastes induits par l'acétate de plomb et qui consistent à un blocage de la croissance folliculaire, l'huile essentielle semble avoir un effet inverse, il a permis la reprise de l'activité ovarienne qui reflète la présence de follicules à différents stades évolutifs.

En ce qui concerne l'histologie de l'ovaire, L'acétate de plomb a clairement affecté la structure ovarienne par la diminution de nombre des follicules et déclenche une atresie folliculaire. Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par différents auteurs (**Junaid et al, 1997**).

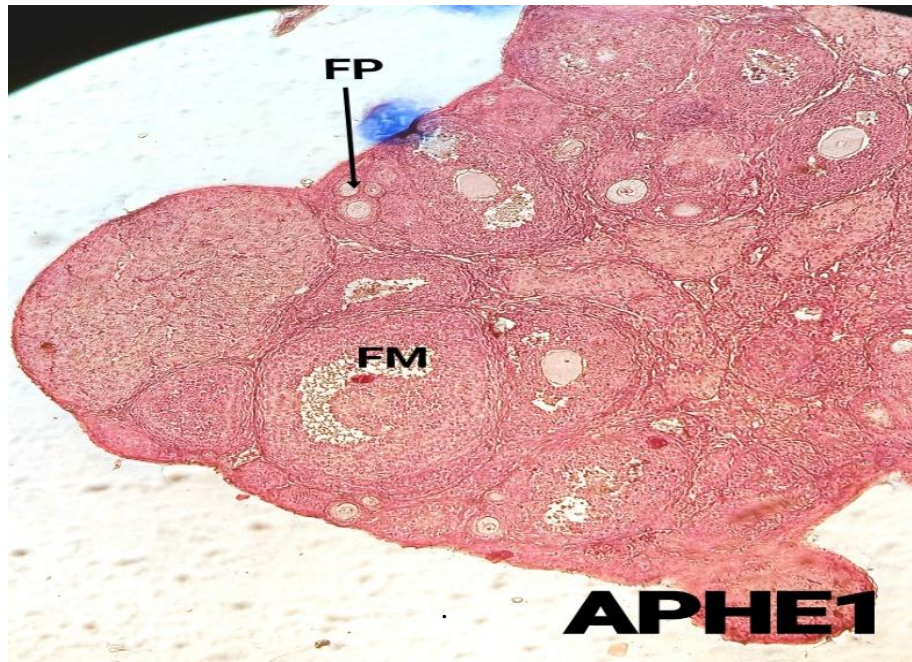


Figure 23 : Coupe histologique d'ovaire de souris traité par l'acétate de plomb

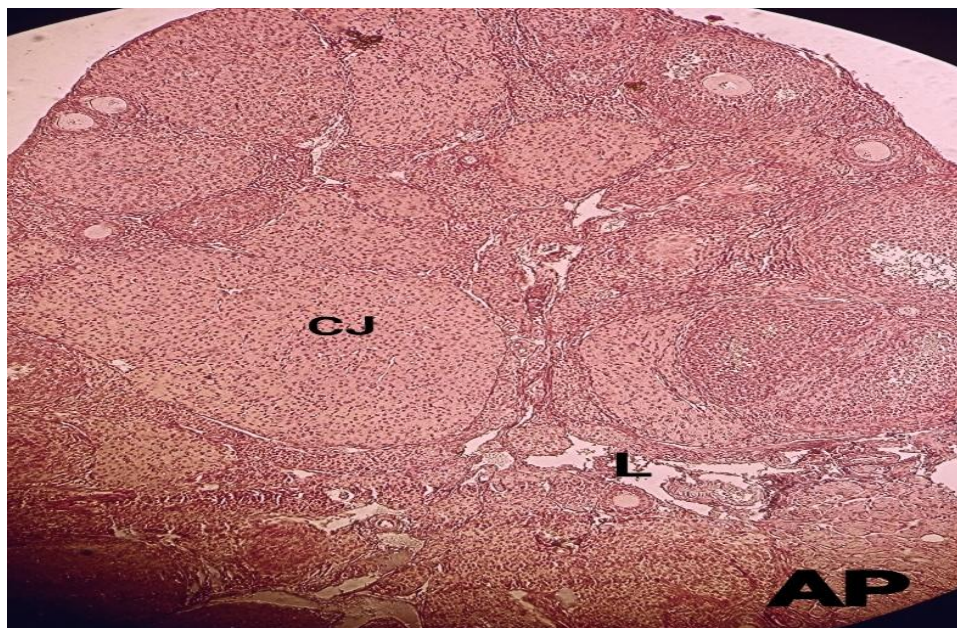


Figure 24 : Coupe histologique d'ovaire de souris traite par l'huile essentielle après traitement au plomb

CJ : corps jaune. L : lumières. FP : follicules primaire. FM : follicule mûre.

Conclusion

Aujourd'hui, les effets des perturbateurs sur l'environnement, la santé humaine et animale constituent une préoccupation majeure. L'objectif de la présente étude était d'évaluer l'effet thérapeutique de l'huile essentielle du *géranium rosat* sur les structures ovariennes des souris de souche synthétique BALB/c après avoir été traité par l'acétate de plomb.

A la lumière des résultats obtenus on peut conclure que :

- L'exposition aigue avec des doses de 300µl/kg de l'acétate de plomb entraîne :

Des modifications histologiques au niveau des ovaires et ses structures notamment les follicules ovariens et les tissu conjonctif dans les lots traités en faveur du lot témoins non traité comme une prolifération anormale du tissu au sein du cortex ovarien, les épaisseurs des différentes couches des ovaires des lots traités sont plus réduites et variations non significative du poids des ovaires.

- L'huile essentielle du *géranium rosat* semble avoir des effets thérapeutique sur les structures ovariennes et l'ovaire et ceci à été démontré par :

La réapparition de tous les follicules ovariens, la réorganisation de l'épithélium ovarien après avoir été traité par l'AP et la disparition de lésions provoquées par l'acétate de plomb.

En perspective ; il serait intéressant de :

- Etudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus ;
- Réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses différentes sur un effectif plus grand et à des âges distincts ;
- Etudier l'effet de l'huile essentielle sur l'axe hypothalamo–hypophysaire ;
- Renforcer cette étude par une étude histomorphométrique ;
- Etudier les effets des autres huiles essentielles ;
- Etudier l'effet de cette huile essentielle sur l'appareil reproducteur masculin ;
- Des études précliniques et des essais cliniques chez l'homme sont nécessaires pour trouver une place possible dans les thérapies des troubles de la fertilité.

Références bibliographiques

Ait-hamadouche, N. (2010). Effets de l'exposition chronique au plomb sur le système reproducteur et l'axe hypothalamo-hypophysaire chez le rat male wistar ; étude histologique et biochimique, université d'oran.

Akinmoladun, A. C., Ibukun, E. O., Afor, E., Akinrinlola, B. L., Onibon, T. R., Akinboboye, A. O., ... & Farombi, E. O. (2007). Chemical constituents and antioxidant activity of *Alstonia boonei*. *African Journal of Biotechnology*, 6(10).

Alain, B.B., Bernard, M., Fourestier, M. (1980). Dictionnaire des constantes biologiques et physiques: applications cliniques et explorations paracliniques. 5 éd. Paris. ISBN 2-224-00637-3 (Rel.). p2201-2205.

Anonyme (2019). BS média. [En ligne]. Mise à jour le (19/01/2019). Disponible en ligne sur <<https://www.bioscience.com.pk/topics/zoology/item/418-reproductive-system-of-female-rabbit>>. Consulté le 22/10/2021.

Benlahcen, K. (2008). Etude neurobiochimique et histologique de l'intoxication chronique à l'acetate de plomb chez le rat wistar

Boukhatem, M. N., Saidi, F., Hamaidi, M. S., Hakim, Y., & Mekarnia, M. (2011). Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) en Algérie: état des lieux et perspectives. *Phytothérapie*, 9(5), 304-309.

Botta, A., Poyen, D., Sigouret, M., Mathias, A. (1976). Les différents tests de dépistage d'une imprégnation saturnine applicables en médecine du travail. *Arch Mal Prof*, vol 37, p437-443.

Binson G., Cariot A. et al. (2020). Exposition des nouveau-nés aux parabènes via les médicaments administrés durant leur hospitalisation. *Ann Pharm Fr.* 78(4), pp. 343-350.

Caillerie, J.L., Francois, W. (1993). Le plomb et alliages de plomb

Cardenas, J. (2017). *Pélargonium. Doctissimo.*

Derivaux J., et Ectors F., (1986). Reproduction chez les animaux domestiques. Eds de Boeck, 4eme Edition, p1149-1200.

Dhir V., & Dhand P., (2010). Toxicological approach in chronic exposure to lead on reproductive functions in female rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicology International*, 17(1), 1

Driancourt M.A., Gougeon A., Monniaux D., Royere D., Thibault C., (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme. Edite par Thibault C., Eds Ellipse, Paris, p316-347.

Davis, M. C., & Johnson, K. L. (2019). "Estrogen receptors in breast carcinoma: an overview" *Journal of the American Medical Association*, Volume : 320 Numéro : 7, Pages : 687-688.

Derouiche (2016). "https://www.researchgate.net/figure/Laxe-hypothalamo-hypophysogonadique-adapte-de-Derouiche-2016_fig2_320073014".

Demeneix B. & Slama R. (2019). Endocrine Disruptors: from Scientific Evidence to Human Health Protection. Policy Department for Citizens' Rights and Constitutional Affairs, Directorate General for Internal Policies of the Union.

Demichele, S.G. (1984). Nutrition of lead. *Comp. Biochem. Physiol*, vol 78, p401-408.

Delmarche P., Dufor M., Multon F et Perlemuter L. (2002). Anatomie et physiologie humaine. Edition Masson. 297 p.

Derrickson et Tortora. (2007). Principe d'anatomie et de physiologie, éd deboeck, paris : 1245 p.

Elisa Marsaud (2019). " la stéroïdogénèse ovarienne" Académie Elisa Marsaud.

Frang H., (2001). Structure-activity relationships for a large diverse set of natural, synthetic, and environmental estrogens. *Chem. Res .toxicol*, 14 : 280-294.

Filicori M, et al. (2005). Mechanisms in endocrinology: The HPG axis in PCOS: a unifying hypothesis. *Eur J Endocrinol*, 152(6): 769-776.

Georges Suh, Larsen, Letombe, (2014). *J Mol Endocrinol*.

Gilbert, S. F., & Barresi, M. J. (2016). *Developmental Biology* (11th ed.). Sinauer Associates.

Gerald B. Lynn (2018). "The Menstrual Cycle and Its Disorders: Influences of Nutrition, Exercise, and Neurotransmitters" Éditeur : Springer.

Gil-Sanchez, J.M., Molleda, S., Sanchez-Zapata, J.A., Bautista, J., Navas, I., Godinho, R., Garcia-Fernandez, A.J., Moleon, M. (2018). From sport hunting to breeding succes : Patterns of lead ammunition ingestion and its effects on an endangered raptor. Science of The Total Environment, Février 2018.p483-491.

Gabelica A.M. (2014). Les 13 perturbateurs endocriniens à éviter en cosmétique. Ed: oolution: <https://www.oolution.com/bloog/blog/2014/02/13/perturbateurs-endocriniens-eviter-cosmetiques/>

Haito, L., Ruian, N., Jinming, W., Ying, H.F.(2008). Changes caused by fluoride and lead energy metabolic enzyme activities in the reproductive system of male offspring rats. Research report fluoride ; 41(3) p184-191

Herbison AE, Porteous R, Pape JR, et al. (2008). "Gonadotropin-releasing hormone (GnRH): A master regulator of reproduction" Revues : Endocrine Reviews ;Volume : 29,Numéro : 6,Pages : 761-94DOI : 10.1210/er.2008-0015.

Hiroi H, et al. (2006). Aromatase in the brain. J Steroid Biochem Mol Biol, 95(1-5): 27-35.

Johnson, C., Williams, D. (2021). "Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis".

Journal : Journal of Endocrinology. Volume : 50 Numéro : 2 Pages : 127-141

Jennifer M. et al. (2019). "Regulation of the Menstrual Cycle: Implications for Reproductive Health" The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. Volume : 104. Numéro : 9 Pages : 1-13DOI : 10.1210/jc.2018-02579.

Johnson, A. B., & Parker, E. F. (2022). "Paracrine Regulation of Cell Function: Concepts, Mechanisms, and Applications" Revue : Journal of Cell Biology. Volume : 189,Numéro : 3,Pages : 275-286.

John Seymour (2009). "L'autosuffisance au quotidien" par John Seymour ,Éditeur : Rustica Éditions.

Juberg D.R., Kleiman CF, Simona CK. (1997). Position paper of the American Council on Science and Health: lead and human health. *Ecotoxicol Environ Saf* ; 38:162–80.

Junaid M., Chowdhuri D.K., Narayan R., Shanker R. and Saxena D.K. (1997). Lead- induced changes in ovarian follicular development and maturation in mice. *J Toxicol Environ Health*, 50, 1, 31-40.

Kempinas WG, Favaretto AL, Melo VR, Carvalho TL, Petenusci SO, Oliveira-Filho RM (1994). Time-dependent effects of lead on rat reproductive functions. *J Appl Toxicol* ;14:427–33

Lee, S. M., Schelcher, C., & Demmel, M. (2020). "Local paracrine factors guide adipose tissue regeneration time-dependently." *Revue: Stem Cells*. Volume : 38; Numéro : 2. Pages : 252-265 DOI : 10.1002/stem.3082.

Livre: "The Hypothalamus-Pituitary Axis: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Disorders".

Layman, L. C. (Ed.). (2018). *Handbook of Neuroendocrinology*. Academic Press.

Lee *et al.* (2019). New Evaluation of Isoflavone Exposure in the French Population. *Nutrients* 11(10), p. E2308.

Levasseur MC, Thibault E. (2001). *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. 2^e Édition, Ellipses Edition Marketing SA, Paris, France.

Mandon-Pépin B, *et al.* (2003). Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biol Reprod*, 68(2): 444-454.

Michael F. Holick (2013). "Nutrition and Bone Health: With particular reference to calcium and vitamin D" *Public Health Reviews*. Volume : 34(2). Pages : 1-22. Page(s) : 7473, DOI : 10.3390/ijms21207473.2020

Melmed, S., Polonsky, K. S., Larsen, P. R., & Kronenberg, H. M. (Eds.). (2015). *Williams Textbook of Endocrinology*. Elsevier.

Merviel P, Cabry R, Brzakowski M, Dupond S, Boulard V, Lourdel E, *et al.* (2011). Cycle menstruel. *Emc – gynécologie*, 6(1) : 1-17.

Morrow, H., Friberg, L., Nordberg, G.F, Vouk, V.B. (1980). Handbook on the toxicology of metal editions, Elsevier Publ, Amsterdam.

Marco J., Zabay J., Garcia-Marco M. A., Gomez G., Mulet J. M., Munar M. A., Soler J. and Viader C. (2005). AngiotensinogeneT174M polymorphism: opposite relationships with essential hypertension and obesity in a homogenous population from Majorca (Beleric islands, spain). *Nefrologia*, 25: 629-36.

Missoun, F. (2012). Impact d'une intoxication au plomb au niveau hépatique, rénale et cérébrale. Etude histologique, biochimique et neuro-comportementale. Université d'oran.161p

Mughal B.B., Fini J-B., Demeneix B.A. (2018). Thy-roid-disrupting chemicals and brain development: an up- date. *Endocrine Connections* 7(4), pp. 160-186.

Nassar J., Bazot M., Jonard S., Rocourt N., Robert Y. (2004). Imaging of normal ovaries, physiological variations and functional disorders, *EMC-radiologie*, volume 1, issue 6, P647-664.

Nriagu, J.O. (1978). Biogeochemistry of lead in the Environment. Elsevier, Amsterdam.

Nassan, F.L., Korevaar T.I.M. et al. (2019). Dibutyl-ph- thalate exposure from mesalamine medications and serum thyroid hormones in men. *Int. J. Hyg Environ Health* 222(1), pp. 101-110.

Nguyen S H. (2007). Manuel d'anatomie et de physiologie, édition LAMAREE, Paris : 283 p

O.M.S. (Organisation mondiale de la Santé) (2012). Programme des nations unies pour l'environnement (pnue) : Rapport OMS/PNUE sur les effets pour l'homme de l'exposition aux perturbateurs endocriniens : State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals.

Payne AH, et al. (2004). Steroidogenic enzymes in Leydig cells. In: Payne AH, Hardy MP, Russell LD, eds. *The Leydig Cell in Health and Disease*. Humana Press, 9-25.

Parrish (9 juin 2000). "Animal Science 434 - reproductive physiology", University Wisconsin-Madison URL: www.wisc.edu/JanscLrepro.

Pinon-Lataillade G, Thoreux-Manlay A, Coffigny H, Masse R, Soufir JC(1995). Reproductive toxicity of chronic lead exposure in male and female mice. Hum Exp Toxicol ;14:872–8

Richards JS, Pangas SA. (2010). The ovary: basic biology and clinical implications. J Clin Invest. 120(4): 963-972. doi:10.1172/JCI4130

Ronis MJ, Badger TM, Shema SJ, Roberson PK, Shaikh F(1998). Effects on pubertal growth and reproduction in rats exposed to lead perinatally or continuously through- out development. J Toxicol Environ Health A ;53: 327–41.

Santen RJ, et al. (2008). Aromatase and breast cancer. Endocr Rev, 30(5): 106-128.

Santoro N, Filicori M, Crowley WF Jr. T. (2011). "Follicle-Stimulating Hormone: Physiology and Role in Female and Male Reproductive Health" Revues : Endocrine Reviews Volume : 32(4)Pages : 481-94DOI : 10.1210/er.2010-0013.

Simpson KR, Knox GE. (2012). "Nursing care of high-risk pregnant women." Journal of Obstetric, Gynecologic, & Neonatal Nursing; 41(2):175-315.

Smith A, et al. (2019). Effects of cardiovascular exercise on cardiovascular health: A systematic review and meta-analysis. J Cardiol ; 75(5):439-445.

Smith P, Steckler T. (2015). Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. Reproduction; 149(4):R179-R193. doi:10.1530/REP-14-0441

Smith, J. K., & Jones, A. B. Progestérone (2019). Une hormone clé dans la régulation de la reproduction et au-delà Revue : Journal of Endocrinology, Volume : 245(3)

Sperling MA. (2014). "Endocrinology: Adult and Pediatric" (Endocrinologie : Adulte et Pédiatrique).

Shah-Kulkarni S., Kim B.M. et al. (2016). Prenatal expo- sure to perfluorinated compounds affects thyroid hormone levels in newborn girls. Environ Int. 94, pp. 607-613

Tortora et Derrekson (2007). Manuel d'anatomie et de physiologie humaine, éd de renouveau pédagogique.

Wang J., Pan L., Wu S. et al. (2016). Recent Advances on Endocrine Disrupting Effects of UV Filters. *Int. J. Environ Republic Health* 13, p.782.

Wendell Lim, Bruce Mayer, Tony Pawson (2014). Garland Science. ISBN: 978-0815345284.

Williams, C. D. (2022). "Regulation of Secretory Processes in Cells: A Comprehensive Review", *Revu : Journal of Cellular Biology*,. Volume : 48,.Numéro : 3,.Pages : 215-240,.DOI : 10.xxxxxx/xxxxxx.

Woodworth K, Shi S, et al. (2019). "Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer in women with regular menstrual cycles: a systematic review and meta-analysis" *Journal: Fertility and Sterility* Volume : 112,Numéro : 6,Pages : 1043-1056.

Widmaier EP, Raff H, Strang KT. (2013). *Physiologie de la reproduction féminine. Physiol Hum Mecanisme Fonc ORG.* 6^{ème} ed. Maloine, p. 603-631.

X. Zhang, Y. Huang, Y. Shi "Autocrine regulation of cell signaling" *Source : International Journal of Molecular Sciences*,. Volume : 21, Numéro : 20.

Zenad W. (2021). L'évaluation de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale 'bovins et ovins' par les métaux lourds 'plomb et cadmium' et l'étude de leurs impacts sur l'organisme.

Résumé

Notre travail a pour objectif d'évaluer les effets d'une huile essentielle (*géranium rosat*) sur la fonction ovarienne de la souris femelle de souche synthétique BALB/c traitées par l'acétate de plomb. Notre étude a été réalisée sur 24 souris femelles réparties en 4 lots ; un lot Témoin traité avec de l'eau physiologique, un lot DMSO traités avec du Diméthylsulfoxyde. un lot AP traitées par acétate de plomb et un lot AP+HE1 reçu une injection de l'acétate de plomb puis une injection de l'huile essentielle du *géranium rosat* (toutes les doses sont prises à 300µl/kg). Tous les animaux sont suivis et pesés sur une période de 29 Jours. A la fin de l'expérimentation, les souris sont sacrifiées et les ovaires sont prélevés et fixés dans du formol à 10% pour l'étude histologique. Les résultats relatifs au poids des animaux et aux poids des ovaires ne varient pas en fonction du lot et de la dose administrée. L'étude histologique montre des signes de toxicité au niveau du tissu ovarien dans le cas du lot AP .Le nombres de follicules varient significativement entre les lots traités et le lot témoin. L'épaisseur de l'albuginée, de l'épithélium germinatif et du cortex ovarien varient également entre le groupe témoin et les groupes traités. Cependant, chez le lot traité par l'acétate de plomb et qui ont reçu une injection de HE1 juste après le traitement, on constate un retour à la normale de la structure ovarienne notamment les follicules et l'épithélium. Les résultats obtenus dans le présent travail représente l'effet de l'huile essentielle du *géranium rosat* sur l'ovaire après un traitement au plomb ainsi de déterminer son rôle thérapeutique et pharmaceutique.

Mots clés : Acétate de plomb, *géranium rosat*, Diméthylsulfoxyde.

Abstract

Our work aims to evaluate the effects of an essential oil (rose geranium) on the ovarian function of female BALB/c synthetic strain mice treated with lead acetate. Our study was conducted on 24 female mice divided into 4 groups: a Control group treated with physiological water, a DMSO group treated with Dimethylsulfoxide, a Lead Acetate (AP) group treated with lead acetate, and an AP+HE1 group that received an injection of lead acetate followed by an injection of *rose geranium* essential oil (all doses administered at 300µl/kg). All animals were monitored and weighed over a period of 29 days. At the end of the experiment, the mice were sacrificed, and their ovaries were removed and fixed in 10% formalin for histological analysis. The results related to the weight of the animals and the weight of the ovaries did not vary by group or administered dose. Histological analysis showed signs of ovarian tissue toxicity in the AP group. The number of follicles varied significantly between the treated groups and the control group. The thickness of the tunica albuginea, germinal epithelium, and ovarian cortex also varied between the control group and the treated groups. However, in the group treated with lead acetate and received an injection of HE1 immediately after treatment, there was a return to normal ovarian structure, especially in the follicles and epithelium. The results obtained in this study represent the effect of rose geranium essential oil on the ovary after lead treatment and aim to determine its therapeutic and pharmaceutical role.

Keys words : lead acetate, *rose geranium*, Diméthylsulfoxyde.