

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

**UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU**



**FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

En vue de l'obtention du diplôme de :

**Master en Sciences Biologiques**

**Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction**

**Thème**

**Effets d'un pesticide de nouvelle génération sur  
l'histophysiologie de l'axe surrénalien chez le rat  
Wistar**

Réalisé par :

M<sup>elle</sup> AIT GUENISSAID Wassila

M<sup>elle</sup> LAMALI Lamia

Soutenues le 20-09-2023 devant le jury composé de :

Présidente	Mme ZERROUKI N	Pr-UMMTO
Promotrice	Mme BENABDESSELAM R	Pr-UMMTO
Co-Promotrice	Mme TOUNSI F	Doctorante-USTHB
Examinatrice	Mme GUENDOUZI S	MAA-UMMTO

**Année universitaire : 2022 / 2023**

## Remerciements

Nos remerciements les plus sincères vont à **Mme BENABDESSELAM R**, professeure à l'université de Tizi Ouzou ; nous tenons à vous témoigner toute notre gratitude pour avoir accepté de diriger ce travail, pour votre aide, vos conseils, ainsi que pour nous avoir enrichi de votre savoir et surtout votre sagesse. Nous vous remercions très sincèrement pour votre patience

Nous tenons à remercier tout particulièrement notre co-promotrice **Mme TOUNSI F** pour sa grande disponibilité et son aide lors de la réalisation de la partie pratique de ce mémoire.

Nous remercions tout particulièrement **Mme ZERROUKI N** pour sa disponibilité et pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider ce jury et de même nos remerciements vont à **Mme GUENDOUI S** pour avoir pris le temps d'examiner notre travail

Nous remercions la technicienne du laboratoire de Physiologie Animale de la FSBSA de l'UMMTO, ainsi que le personnel du Laboratoire d'Anatomo-Pathologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Nous remercions toutes les personnes que nous n'avons pas mentionné mais qui ont contribué de près ou de loin à faire aboutir ce mémoire.

## **Dédicaces**

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes parents ; qui m'ont soutenue et aidé tout au long de mon parcours universitaire:*

*Ma mère, qui est à l'origine de ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils.*

*Mon père qui m'a toujours soutenue et encouragé.*

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils me comblent.*

*A mes chers frères AZIZ et LYES.*

*A mes chères sœurs LEILA et SOUHILA qui sont ma source de Bonheur.*

*A ma chère binôme WASSILA que je remercie d'avoir partagé avec moi ce projet Que notre amitié dure à jamais.*

*A Mes oncles et tantes et leurs enfants.*

*A mes chères copines : ASSIA, KAMELIA, LIZA, SILINA, NADIA, NESRINE, SARA, WASSILA et IMENE.*

*A toute la promo BPR 2022/2023 que j'aime.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de mon projet.*

***Lamia***

## *Dédicaces*

Je dédie ce travail à mes chers parents, sans votre soutien, vos encouragements, je ne serai jamais là où je suis. Papa chéri, ma douce maman, les mots ne suffisent pas pour décrire ma gratitude, ma reconnaissance et mon amour envers vous. Merci pour tout ce que vous faites pour moi.

A mes chers frères que j'aime beaucoup. Et à la belle âme qui m'a toujours soutenu. Merci pour les ondes positives et la joie que vous m'inspirez.

A mes grands-mères ainsi qu'à mes tantes et oncles. Particulièrement à ma tante Nadia, Linda et à mes chers oncles Kamel et Hocine je sais que vous serez très fiers de moi.

A ma chère binôme Lamia, ensemble on a pu surmonter tous les défis que nous avons rencontré durant la réalisation de notre mémoire, je te remercie de tout mon cœur.

A mes chères Sarah et Imane que j'adore, ainsi qu'à toutes mes adorables copines. Merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble, je ne vous oublierai jamais mes douces.

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

***Wassila***

## Résumé

Un pesticide est une substance ou un mélange de substances capable de détruire un organisme nuisible ou encore prévenir ou réduire les dommages qu'un organisme nuisible peut causer. Cependant, un pesticide peut présenter des effets nuisibles sur les animaux non ciblés et même sur l'homme. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet du Thiamétoxame (TMX), un pesticide de la famille des néonicotinoïdes, sur l'histophysiologie des glandes surrénales des rats de la souche « Wistar ».

Des rats mâles adultes ont été répartis en quatre lots : témoins recevant 1ml d'eau/jour et traités ayant reçu du TMX par gavage pendant 10 semaines et à différentes doses, notamment ; DJA : 0,026mg/kg de poids corporel (PC), NOEAL : 2,6mg/kg de PC et NOEAL x 2 : 5,2mg/kg de PC. Par la suite, ces derniers ont été accouplés avec des femelles traitées pendant la gestation, mise-bas et l'allaitement. Les rats de la descendance ont été aussi regroupés en quatre lots selon les doses administrées aux parents : (T, DJA, NOAEL et NOAEL.2) et selon les âges : (20 jours, 60 jours et 90 jours).

Les rats parents et leurs descendance ont été sacrifiés au bout du temps de traitement. Leurs glandes surrénales ont été prélevées, fixées au Paraformaldéhyde à 4 et coupées au microtome. Les coupes histologiques colorées à l'hématoxyline éosine (HE) sont ensuite prises en photos et sur ces dernières des mesures histomorphométriques sont réalisées et ce à l'aide du logiciel Axio Vision Rel.4.8.

Les altérations observées sont vérifiées à travers une étude histomorphométrique qui illustre que la dose N2 du thiamétoxame a entraîné un épaississement du cortex surrénalien. La dose de DJA a provoqué une augmentation de l'épaisseur de la médullosurrénale. L'administration de doses de DJA et de N a entraîné une augmentation observable de l'épaisseur de la zone glomérulée. Et en raison de quantités variables de TMX administrées aux rats parents, la zone fasciculée a présenté une augmentation de sa surface cellulaire. L'épaisseur de la zone réticulée et sa surface cellulaire ont diminué suite à l'exposition aux doses N et N2. Cependant, il n'y a eu aucune altération perceptible de sa surface nucléaire.

**Mots clés** : pesticide, néonicotinoïde, thiamétoxame, rat Wistar, glande surrénale, histomorphométrie.

## **Abstract**

Pesticides have harmful effects on humans and animals. The aim of this study was to evaluate the effect of Thiametoxam (TMX), a pesticide belonging to the neonicotinoid family, on the histophysiology of the adrenal glands of Wistar rats.

Adult male Wistar rats were divided into four batches: controls (1ml/J) and treated rats given TMX by gavage for 10 weeks at various doses: ADI: 0.026mg/kg of corporal weight (CW), NOEAL: 2.6 mg/kg of CW and NOEAL.2: 5.2 mg/kg of CW. Then, these were mated with treated females, and the resulting rats were also grouped into four batches according to doses (T, DJA, NOAEL and NOAEL.2) and age: (20 days, 60 days and 90 days).

The parental rats and their offspring were sacrificed, and their adrenal glands removed and fixed with Paraformaldehyde 4. After histological sections had been cut and stained, they were photographed and processed with Axio Vision Rel.4.8 software for histo-morphometric and statistical studies.

The observed alterations are verified by a histomorphometric study which illustrates that the N2 dose of thiametoxam resulted in a thickening of the adrenal cortex. The DJA dose increased the thickness of the adrenal medulla. DJA and N doses led to an observable increase in the thickness of the glomerular zone. And with varying amounts of TMX administered to parental rats, the fasciculated zone showed an increase in cell surface area. The thickness of the reticulated zone and its cell surface decreased following exposure to N and N2 doses. However, there was no perceptible alteration of its nuclear surface.

**Key words:** pesticide, neonicotinoid, thiamétoxam, Wistar rat, adrenal gland, histomorphometry.

## Liste des abréviations

**Ach** : Acétylcholine  
**ACTH** : Hormone Corticotrope Hypophysaire Ou Adrénocorticotrophine  
**AVP**: Vasopressin  
**CRH**: Corticoid Releasing Hormone  
**DHEA**: Déhydroépiandrostérone  
**DHEAS**: Déhydroépiandrostérone Sulfate  
**DDT**:Dichlorodiphényltrichloroéthane  
**DJA** : Dose journalière administrée  
**DZ**:Diazinon  
**FSH**: Hormone de stimulation folliculaire  
**Gnrh**: Gonado Releasing Hormone  
**GS** : Glande surrénale  
**HHS** : Hypothalamo-Hypophyso-Surrénalien  
**HHG** : Hypothalamo-Hypophyso-Gonadique  
**LH** : Hormone lutéinisante  
**N** : NOAEL  
**N2** : NOAELx2  
**OMS** : Organisation mondiale de la santé  
**PAF** : Paraformaldéhyde  
**PE** : Perturbateur endocrinien  
**PVN** : Noyau paraventriculaire  
**RNC** : Rapport nucléo-cytoplasmique  
**SC** : Surface cellulaire  
**SN** : Surface nucléaire  
**TMX** : Thiamétoxame  
**ZF** : Zone fasciculée  
**ZG** : Zone glomérulée  
**ZR** : Zone réticulée

## Liste des figures et tableaux

Figure1:Structure chimique du thiamétoxame (Adapté de Bouchema et al.,2016) .....	5
Figure2:Origine morphologique des glandes surrénales (Hoang,1996).....	8
Figure3:Anatomie des glandes surrénales (Dupont,2021) .....	9
Figure4:Zonation du cortex surrénalien (modifié de Fulla et al.,2009) .....	10
Figure5:Section transversale de la glande surrénale et ses hormones (Dupont,2021) .....	11
Figure6:Structure chimique des glucocorticoïdes.....	13
Figure7:Schéma de la biosynthèse et régulation des hormones surrénaliennes (Han et al .,2014).....	15
Figure 8 : Structure chimique de la 11B,21-dihydroxy-3,20-dione oxo pregn 4éne18 al (Aldostérone) .....	15
Figure9:Biosynthèse de l'aldostérone (Idelman,1993) .....	16
Figure10:Biosynthèse des sexocorticoïdes (Robin,2000) .....	17
Figure 11:Diagramme illustrant les étapes enzymatiques de la biosynthèse des catécholamines (Lefkowitz et al.,1998).....	18
Figure12: Représentation schématique de la biosynthèse des catécholamines au sein des cellules Chromaffines(Mustapha,2017) .....	19
Figure13:L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien( Fulla et al.,2009).....	20
Figure14:Système rénine-angiotensine-aldostérone(Rad,2016) .....	22
Figure 15: Diagramme schématique démontrant l'interaction réciproque entre les axes HHC et HHG(Oyola et Handa,2017) .....	24
Figure16:Photographie d'un rat Wistar .....	27
Figure17:fixation de la glande surrénale. ....	29
Figure18:Déshydratation de la glande surrénale dans des bains d'alcool. ....	30
Figure19:Microtome (Photo prise en 2023) .....	31
Figure20:Bain marie et plaque chauffante (Photo prise en 2023).....	32
Figure21:Coloration des lames par l'hématoxyline-éosine (Photo prise en 2023) .....	32
Figure22:Microscope optique muni d'une caméra liée à un ordinateur (Photo prise en 2023) .....	33
Figure 23 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats adultes témoins (T) et traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses au grossissementx100. ....	36
Figure 24 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats adultes témoins (T) et traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses au grossissementx400. ....	37
Figure25:Epaisseur de la corticosurrénale chez les rats témoins et traités.....	38
Figure26:Epaisseur des différentes zones corticales chez les rats témoins et traités .....	39
Figure27:Epaisseur de la médullosurrénale chez les rats témoins et traités.....	39
Figure 28:Diamètre cellulaire et nucléaire des différentes zones corticales chez les rats adultes témoins et traités .....	41
Figure 29: Surface cellulaire et nucléaire des zones corticales chez les rats adultes témoins et traités.....	42
Figure 30: Rapport nucléo cytoplasmique des trois zones corticales des rats adultes témoins et traités.....	43
Figure 31 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 20 jours issus des parents témoins(T) ou traités au thiamétoxame (TMX) au grossissement x100. ....	44

Figure 32 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 20 jours issus des parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) au grossissement x400.....	45
Figure33: Epaisseur de la corticosurrénale chez les rats témoins et traités(20j).....	46
Figure34:Epaisseur des trois zones corticales chez les rats témoins et traités(20j) .....	47
Figure35:Epaisseur de la médullosurrénale chez les rats témoins et traités(20j).....	47
Figure 36 : Diamètre cellulaire et nucléaire des différentes zones corticales chez les rats témoins et traités .....	48
Figure 37:Surface cellulaire et nucléaire des trois zones corticales chez les rats témoins et traités (20j).....	50
Figure 38: Rapport nucléo cytoplasmique des trois zones corticales chez les rats témoins et traités (20j).....	51
Figure 39 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 60 jours issus des parents témoins(T) ou traités au thiamétoxame(TMx) au grossissement x100.....	52
Figure 40 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 60 jours issus des parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame(TMx) au grossissement x400.....	53
Figure41:Epaisseur de la corticosurrénale chez les rats témoins et traités(60j).....	54
Figure42:Epaisseur des trois zones corticales chez les rats témoins et traités(60j) .....	55
Figure43:Epaisseur de la médullosurrénale chez les rats témoins et traités (60J) .....	55
Figure 44:Diamètre cellulaire et nucléaire des trois zones corticale chez les rats témoins et traités (60J).....	57
Figure 45:Surface cellulaire et nucléaire des trois zones corticales chez les rats témoins et traités (60J).....	58
Figure 46: Rapport nucléo cytoplasmique des trois zones corticales des rats témoins et traités(60J).....	59
Figure 47 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 90 jours issus des parents témoins(T) ou traités au thiamétoxame(TMx)augrossissementx100.....	60
Figure 48 : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 90 jours issus des parents témoins(T) ou traités au thiamétoxame (TMx) au grossissement x400.....	61
Figure49:Epaisseur de la corticosurrénale chez les rats témoins et traités (90j).....	62
Figure50:Epaisseur des différentes zones corticales chez les rats témoins et traités (90j) .....	63
Figure51:Epaisseur de la médullosurrénale chez les rats témoins et traités (90j).....	63
Figure 52: Diamètre cellulaire et nucléaire des différentes zones corticales des rats témoins et traités (90J).....	64
Figure 53:Surface cellulaire et nucléaire des différentes zones corticales chez les rats témoins et traités (90J).....	66
Figure54: Rapport nucléocytoplasmique des trois zones corticales (90J) .....	66
Tableau1:Abréviation des différentes formules des pesticides .....	1
Tableau 2 : Classification des pesticides selon la famille chimique et la cible (Boland et al.,2004).....	2
Tableau3:Les propriétés chimiques du thiamétoxame .....	5
Tableau 4: Liste des principales classe d'insecticides y compris les néoectinoides selon L'IRAC 2012(Adapté de Louat,2013) .....	7
Tableau 5 : Rappels anatomiques et embryo-histo-physiologiques sur les surrénales du rat Wistar adulte (Gude et al.,1982) .....	12
Tableau 6: Synthèse des facteurs de régulation de la sécrétion de l'aldostérone (Ader et al.,2006;Guénard,2009) .....	23

## Table de matières

### Introduction

#### Chapitre I: Rappels bibliographiques

<b>1. Pesticides et thiamétoxame</b> .....	1
1.1. Pesticides.....	1
1.1.1. Définition .....	1
1.1.2. Composition.....	1
1.1.3. Caractéristiques.....	1
1.1.4. Utilisation .....	2
1.1.5. Classes de pesticides.....	2
1.1.6. Exposition et effet de pesticides.....	2
1.1.6.1. Exposition.....	2
1.1.6.2. Effets .....	3
1.1.7. Toxicité .....	3
1.1.8. Perturbateurs endocriniens.....	3
1.2.Néonicotinoïdes.....	4
1.2.1 Définition et utilisation.....	4
1.2.2 Mode d'action.....	4
1.3. Thiamétoxame.....	5
1.3.1. Définition.....	5
1.3.2. Caractéristiques .....	5
1.3.3. Mode d'action.....	6
1.3.4. Utilisation.....	6
1.3.5. Exposition et toxicité.....	6
1.3.5.1. Exposition.....	6
1.3.5.2. Toxicité.....	6
<b>2. Glandes surrénales</b> .....	7
2.1. Aspects embryologiques .....	7
2.1.1 Embryologie de la corticosurrénale.....	8
2.1.2 Embryologie de la médullosurrénale.....	8
2.2. Anatomie et histologie.....	8
2.3. Vascularisation et innervation .....	10
2.4. Physiologie.....	11
2.4.1. Biosynthèse des hormones surrénales.....	13
2.4.1.1. Glucocorticoïdes.....	13
2.4.1.1.1. Structure .....	13
2.4.1.1.2. Biosynthèse .....	13
2.4.1.2.Minéralocorticoïdes.....	14
2.4.1.2.1. Structure .....	15
2.4.1.2.2. Biosynthèse .....	15
2.4.1.3. Stéroïdes sexuels.....	16
2.4.1.3.1. Structure des androgènes.....	16
2.4.1.3.2. Biosynthèse .....	17
2.4.1.4. Catécholamines .....	18
2.4.1.4.1Biosynthèse .....	18
2.4.2. Régulation de la sécrétion des hormones surrénales.....	20
2.4.2.1. Axe corticotrope.....	20

2.4.2.2 Régulation de la sécrétion des androgènes.....	21
2.4.2.3 Régulation de la sécrétion des minéralocorticoïdes .....	21
2.4.2.3. Régulation de la sécrétion des catécholamines .....	23
2.5. Interactions physiologiques entre l'activité surrénalienne et gonadique.....	23
<b>Chapitre II: Partie expérimentale</b>	
<b>1. Matériel et méthodes</b>	
1.1. Matériels.....	27
1.1.1 Matériel biologique .....	27
1.1.2. Matériel non biologique... ..	27
<b>2.Méthodes .....</b>	<b>27</b>
2.1. Traitements des animaux.....	27
2.2. Perfusion et prélèvement des organes... ..	28
2.3. Techniques histologiques .....	29
2.3.1. Fixation des organes... ..	29
2.3.2. Déshydratation... ..	30
2.3.3. Imprégnation et inclusion... ..	30
2.3.4. Enrobage et confection des blocs... ..	30
2.3.5. Confection des coupes.....	30
2.3.6. Déparaffinage et réhydratation des coupes... ..	31
2.3.7. Coloration... ..	32
2.3.8. Déshydratation et montage des coupes... ..	33
2.3. 9. Observation microscopique... ..	33
2.4. Etude histo-morphométrique.....	33
2.5Etude statistique .....	34
<b>2. Résultats</b>	
<b>2.1. Impact du thiamétoxame sur les aspects hismorphométriques de la glande surrénale des rats adultes .....</b>	<b>35</b>
2.1.1. Aspect histologique .....	35
2.1.2. Données morphométriques.....	35
2.1.2.1. Épaisseur de la corticosurrénale .....	35
2.1.2.2. Épaisseur des zones corticales.....	38
2.1.2.3. Épaisseur de la médullosurrénale... ..	39
2.1.2.4. Diamètre cellulaire et nucléaire des zones corticales.....	39
2.1.2.5. Surface cellulaire et nucléaire des zones corticales.....	40
2.1.2.6. Rapport nucléocytoplasmique des zones corticales .....	42
<b>2.2. Impact du traitement au thiamétoxame des parents sur le développement postnatal des glandes surrénales des rats de la génération1... ..</b>	<b>43</b>
2.2.1 Histomorphométrie de la glande surrénale des rats âgés de20j .....	43
2.2.1.1. Aspect histologique .....	43
2.2.1.2. Données morphométriques.....	46
2.2.1.2.1. Épaisseur de la corticosurrénale... ..	46
2.2.1.2.2. Épaisseur des zones corticales.....	46
2.2.1.2.3.Épaisseur de la médullosurrénale .....	47
2.2.1.2.4. Diamètre cellulaire et nucléaire des zones corticales.....	48
2.2.1.2.5. Surface cellulaire et nucléaire des zones corticale... ..	49
2.2.1.2.6. Rapport nucléocytoplasmique des zones corticales .....	50
2.2.2. Histomorphométrie de la glande surrénale desratsâgésde60 j .....	51
2.2.2.1. Aspect histologique .....	51
2.2.2.2. Données morphométriques.....	54

2.2.2.2.1. Épaisseur de la corticosurrénale .....	54
2.2.2.2.2. Épaisseur des zones corticales.....	54
2.2.2.2.3. Épaisseur de la médullosurrénale .....	55
2.2.2.2.4. Diamètre cellulaire et nucléaire des zones corticales .....	56
2.2.2.2.5. Surface cellulaire et nucléaire des zones corticales.....	57
2.2.2.2.6. Rapport nucléocytoplasmique des zones corticales .....	58
2.2.3. Histomorphométrie de la glande surrénale des rats âgés de 90J .....	59
2.2.3.1 Aspect histologique .....	59
2.2.3.2 Données morphométriques.....	62
2.2.3.2.1 Épaisseur de la corticosurrénale .....	62
2.2.3.2.2. Épaisseur des zones corticales.....	62
2.2.3.2.3. Épaisseur de la médullosurrénale .....	63
2.2.3.2.4Diamètre cellulaire et nucléaire de la glande surrénale .....	63
2.2.3.2.5. Surface cellulaire et nucléaire de la glande surrénale .....	65
2.2.3.2.6. Rapport nucléocytoplasmique des zones corticales .....	66
<b>3. Discussion .....</b>	<b>67</b>

Conclusion

Références

bibliographiques

Annexes

# **Introduction**

L'usage des pesticides a connu une augmentation constante à travers les pays du monde. Ils sont appliqués pour la lutte contre les organismes nuisibles (champignons, bactéries, ravageurs, moisissures) (Camard, 2010). Les pesticides ont contribué au développement, l'augmentation des rendements et à la régulation de la production agricole.

La consommation des pesticides au niveau mondiale a quasiment doublé entre 1990 et 2018, passant de 1,7 à 2,7 millions de tonnes.

Aujourd'hui, les pesticides présentent un risque pour la santé de l'homme et son environnement. Plusieurs études ont montré que l'exposition chronique à ces derniers engendre l'apparition de plusieurs pathologies (tels que les cancers, diabète, maladies cardiovasculaires et des troubles de reproduction et de développement), ainsi que des perturbations endocriniennes chez l'animal y compris l'homme.

Le Thiamétoxame est un insecticide organique qui appartient à la famille des néonicotinoïdes. Selon le comité des risques de l'agence européenne des produits chimiques (ECHA), cet insecticide est classé comme extrêmement toxique avec effets à long terme.

Ce TMX se fixe fortement sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine inhibant ainsi la transmission de l'influx nerveux.

Les propriétés de ce pesticide lui confèrent son implication dans la protection des plantes ainsi que la santé animale sous forme des produits phytosanitaires.

Dans ce travail, nous avons étudié l'impact de l'effet du thiamétoxame sur l'histophysiologie de la glande surrénale chez un rat Wistar.

Les glandes surrénales sont des organes pairs à fonction endocrine, assurant la sécrétion des hormones stéroïdiennes telles que les glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes, catécholamines et les androgènes. Ces dernières interviennent dans les processus physiologiques de reproduction comme la différenciation sexuelle et la régulation du fonctionnement de l'appareil reproducteur mâle. Cela prouve l'existence d'un lien entre l'axe hypothalamo-antéhypophyse surrénalien et l'axe hypothalamo-antéhypophyse gonadique.

En ce sens, l'objectif de ce travail d'initiation est d'évaluer les effets de l'exposition subchronique au Thiamétoxame des rats adultes sur l'histophysiologie de l'axe surrénalien chez des rats mâles adultes et la descendance de la première génération.

Ce manuscrit est présenté en deux chapitres. Le premier est un ensemble de données bibliographiques sur les pesticides, notamment, le Thiamétoxame ainsi que sur les glandes surrénales, leurs anatomie, fonctions et interaction avec la reproduction. Le deuxième chapitre est la partie expérimentale présentée en trois sous chapitres, en l'occurrence ; matériel et méthodes, résultats et discussion.

# **Chapitre I :**

## **Rappels bibliographiques**

## 1. Pesticides et thiamétoxame

### 1.1. Pesticides

#### 1.1.1. Définition

Le mot « pesticide » est dérivé des termes Latins « caedere » qui veut dire (tuer) et « pestis » (fléau), Il désigne toute substance ou association de substances chimiques ou biologiques, destinée à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles ou à être utilisée comme régulateur de croissances des plantes. En 1975, l'Organisation Mondiale de la Santé : OMS, a publié pour la première fois une classification qui est basée sur le degré de dangerosité des pesticides.

#### 1.1.2. Composition

Un pesticide est composé d'une ou plusieurs matières actives, un diluant et des adjuvants (**PuKri, 2019**). La matière active confère au pesticide une partie ou la totalité de la propriété toxique recherchée. Tandis que le diluant qu'il est soit sous la forme solide ou liquide, joue un rôle d'un solvant qui sert à dissoudre la matière active. Ainsi qu'aux adjuvants sont des substances qui ne présentent pas d'activités biologiques, ils servent à améliorer l'efficacité des propriétés chimiques d'un produit. (**Boland et al., 2004**).

#### 1.1.3. Caractéristiques

Les produits commerciaux qui contiennent des pesticides destinés à l'utilisation sous trois formes : liquide, solide ou gazeuse (**Baldi et al., 2013**). Parmi les formulations liquides on trouve : les suspensions, les solutions, les concentrés émulsifiables, les suspensions en microcapsules et les aérosols. et pour les préparations solides, on cite : les poussières, les particules, les granules, les pastilles, les granules solubles, les poudres solubles, les appâts, les tablettes, les comprimés, les pâtes granulées et les poudres mouillables. Lorsque les pesticides sont sous la forme gazeuse, ils sont souvent des fumigeants (**Cchst, 2017**). Sur l'étiquette de chaque pesticide, il y a une abréviation codée qui indique le type de formulation de ce dernier. Elle est généralement accompagnée du nom commercial (**Cchst, 2017**). (**Tableau 1**)

**Tableau 1** : Abréviations des différentes formulations des pesticides.

<b>D</b> – Poussière ou poudre	<b>SN</b> – Solution
<b>DF</b> – Pâte granulée	<b>SC</b> – Concentré pulvérisable
<b>E</b> ou <b>EC</b> – Concentré émulsifiable	<b>SP</b> – Poudre soluble
<b>F</b> – Suspension concentrée	<b>WDG</b> – Granulé soluble
<b>GR</b> – Granulé	<b>WP</b> – Poudre mouillable
<b>P</b> – Pastille	<b>WS</b> – Concentré soluble dans l'eau

### 1.1.4. Utilisation

Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines pour lutter contre les substances naturelles ou synthétiques qui peuvent altérer, contrôler, attirer, repousser, tuer ou arrêter le développement des organismes vivants. Selon l'utilisation on trouve quatre types de pesticides :

- Les produits phytopharmaceutiques destinés à la production et la conservation des cultures agricoles,
- Les biocides pour conserver les matériaux et désinfecter des locaux contre les moisissures,
- Les médicaments et produits à usage humain
- Les médicaments à usage vétérinaire pour la lutte contre les parasites et les vecteurs de maladies (Ayad-Moukhtari, 2012).

### 1.1.5. Classes des pesticides

Les pesticides sont classés selon différents critères : selon la cible visée et la famille chimique. (Tableau 2)

**Tableau 2** : Classification des pesticides selon la famille chimique et la cible.  
(Boland *et al.*, 2004)

Famille chimique	Exemples de molécules	Classement selon cible
Organochlorés	DDT, Chlordane, Lindane, Dieldrine, Heptachlore	Insecticides
Organophosphorés	Malathion, Paathion, Chlorpyrifosa, Diazinon.	Insecticides
Carbamates	Aldicarbe, Carbaryl, Carbofuran, Méthomy. Asulame, Diallylate, Terbutcarbe, Triallylate. Benthivalicarbe	Insecticides Herbicides Fongicides
Pyréthroïdes	Pyréthrine	Insecticides
Lactones Macrocycliques	Abamectine, Doramectine, Ivermectine.	Insecticides
Anthranilamides	Chlorantraniliprole, Rynaxypyr...	Insecticides

### 1.1.6. Exposition et effet de pesticides

#### 1.1.6.1. Exposition

L'exposition aux pesticides peut être directement et ou indirectement. L'exposition directe ou professionnelle : est observée chez les personnes exposées lors de la fabrication, formulation et l'épandage des pesticides.

L'exposition indirecte ou environnementale : se passe via l'air respiré, l'eau et les aliments consommés ou contact des surfaces contaminées (**Baldi et al., 2013**). Ces substances pénètrent dans l'organisme selon différentes voies : la voie cutanée (voie dermique), digestive et respiratoire. (**Baldi et al., 2013**).

### 1.1.6.2. Effets

Selon l'OMS (1990), Les facteurs déterminants de l'effet nuisible sur la santé sont basés selon le type de pesticide, la durée et la voie d'exposition ainsi que l'état de santé de l'individu (les carences nutritionnelles et l'état de la peau). Dans le corps humain ou animal, les pesticides peuvent être métabolisés, excrétés, stockés ou bio-stockés dans la graisse corporelle. Les pesticides ont des effets négatifs sur la santé tels que les effets dermatologiques, gastro-intestinaux, neurologiques, cancérigènes, respiratoires, reproductifs et endocriniens. Les conséquences d'une forte exposition aux pesticides peuvent entraîner une hospitalisation dans certains cas et peut être mortelles dans d'autres cas. Plusieurs pesticides sont considérés comme perturbateurs endocriniens (PE) qui peuvent empêcher le développement intra-utérin (**A.R.L.A.S.C, 2007**). Ces produits chimiques perturbent les fonctions cellulaires des différents systèmes de l'organisme.

### 1.1.7. Toxicité

Selon l'OMS (2018), les pesticides sont nocifs lorsqu'ils présentent des risques qui peuvent être aigus ou chroniques pour la santé de l'être humain et ou pour l'environnement. On distingue deux types de toxicité : la toxicité aiguë et la toxicité chronique.

#### 1.1.7.1. Toxicité aiguë

C'est l'exposition à un pesticide d'une façon ponctuelle ou pour une courte durée et ses effets nocifs apparaissent rapidement (quelques heures à une journée) (**Bencheikh, 2010**). La sévérité de ce type d'intoxication dépend de la dose absorbée ainsi qu'à la toxicité intrinsèque de pesticide. (**Samuel et Saint-Laurent, 2001**).

#### 1.1.7.2. Toxicité chronique

Est la conséquence de l'exposition répétée à un produit toxique d'une dose plus au moins faible dont les effets nuisibles apparaissent que quelques mois à quelques années plus tard (**Batsch, 2011**).

### 1.1.8. Perturbateurs endocriniens

Selon l'OMS : « les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle étrangères à l'organisme qui peuvent interférer avec le fonctionnement

des systèmes endocriniens et induire ainsi des effets délétères sur cet organisme ou sur ses descendants ». Selon l'union européenne, le PE est « Une substance ayant des propriétés perturbatrices du système endocrinien pouvant causer des effets néfastes chez l'homme si elle répond à tous les critères suivants, sauf si les effets indésirables identifiés ne sont pas pertinents pour l'homme :

- Effet néfaste dans un organisme intact ou sa progéniture, dans la morphologie, la physiologie, la croissance, le développement, la reproduction ou la durée de vie d'un organisme, d'un système ou d'une (sous-) population entraînant une altération de la capacité fonctionnelle, une altération de la capacité à compenser le stress supplémentaire ou une augmentation de la susceptibilité à d'autres influences.

### 1.2. Les néonicotinoïdes

#### 1.2.1. Définition et utilisation

Au début des années 1990, une classe d'insecticides est apparue qui est les néonicotinoïdes, caractérisés par leur haute efficacité, protection de longue durée, ses multiples voies d'application et sa systémicité (**Blottière, 2019 ; 2020**). Ces insecticides sont utilisés comme composants de produits vétérinaires tels que les traitements antipuces pour les chiens et les chats ainsi que dans le traitement des semences contre les insectes suceurs de sève. (**Goulson, 2017**). Le thiaméthoxame, Thiaclopride, et l'Imidaclopride sont les néonicotinoïdes les plus utilisés (**Viau, 2008**). De nombreuses études ont montré que ces derniers présentent un risque potentiel pour les mammifères et même les humains contrairement aux insecticides traditionnels.

#### 1.2.2. Mode d'action

Les néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine. Ils sont les agonistes des récepteurs cholinergiques nicotiques (l'acétylcholine) qui se trouvent au niveau de la membrane post-synaptique du système nerveux central. Ces récepteurs sont localisés dans le SN des vertébrés et des invertébrés et possèdent une grande affinité pour les néonicotinoïdes (**Soumis, 2018**). Les néonicotinoïdes se lient fortement aux récepteurs et entrent en compétition avec l'acétylcholine (**Blottière, 2019 ; 2020**). Les insecticides néonicotinoïdes ne peuvent pas être décomposés par l'acétylcholinestérase ce qui entraîne une surstimulation des nerfs, qui mène à la paralysie, il s'ensuit un arrêt des activités vitales et donc l'inévitable mort (**Tomizawa et Yamamoto, 1992**). Les vertébrés ont une faible quantité de récepteurs nicotiques ayant une haute affinité pour les néonicotinoïdes, c'est pourquoi les

néonicotinoïdes montrent une toxicité plus élevée chez les invertébrés que chez les vertébrés, y compris l'homme (Simon- Delso et al. 2014).

### 1.3.Thiamétoxame

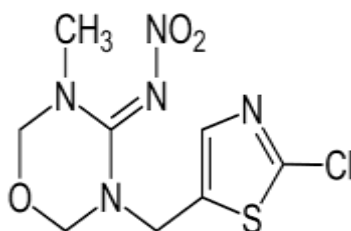
#### 1.3.1. Définition

Le thiamétoxame est un pesticide qui fait partie de la famille des néonicotinoïdes neurotoxiques. Il est absorbé et transporté par le xylème pour atteindre toutes les parties de l'organisme végétal ou il affecte les insectes par ingestion ou par simple contact. (Jeschke et Nauen, 2008). En 1991, le thiamétoxame a été synthétisé pour la première fois puis développé pour être utilisé dans différentes cultures (Maienfisch, 2005). Ce pesticide est absorbé, distribué dans le corps et même éliminé d'une façon rapide (MacBean, 2010).

#### 1.3.2. Caractéristiques

Les caractéristiques du thiamétoxame (Figure 01) sont les suivantes :

- La formule brute de thiamétoxame est :  $C_8H_{10}ClN_5O_3S$
- Son nom systématique est : 3-(2-Chloro-thiazol-5-ylméthyl) -5-méthyl-(1,3,5) oxadiazinan-4-ylène-N-nitroamine  $C_8H_{10}ClN_5O_3S$
- Sa structure chimique est représentée dans la figure 1 suivante



**Figure 1** : Structure chimique du thiamétoxame.  
(Adapté de Bouchema et al., 2016)

Les propriétés physico-chimiques du thiamétoxame sont regroupées dans le tableau 3 suivant :

**Tableau 3** : Les propriétés physico-chimiques du thiamétoxame.

Couleur et forme	- Poudre cristalline. (MacBean, 2010) - Granulés marron clair. (Meister, 2008)
Odeur	De moisi. (Meister, 2008)
Point de fusion	139.1 °C. (MacBean, 2010)
Solubilité	Dans l'eau, $4.1 \times 10^{-3}$ mg/L à 25 °C. (MacBean, 2010)

### 1.3.3. Mode d'action

Le TMX agit comme agoniste des récepteurs cholinergiques, il se fixe sur le récepteur de l'Ach empêchant la transmission de influx nerveux. Un organisme exposé perd le contrôle de son corps et souffre de symptômes tels que : des contractions musculaires, des convulsions, une paralysie et éventuellement la mort (**Maienfisch et al., 2001**).

### 1.3.4. Utilisation

Le TMX est un insecticide qui donne un très bon contrôle d'une grande variété de ravageurs tels que les suceurs et broyeurs. Il est fréquemment utilisé sur les cultures du maïs, riz et soja. Il existe trois modes d'utilisations de ce pesticide, soit via l'enrobage de la semence, pulvérisation sur les feuilles des plantes et par son application au sol vu que le TMX est absorbable par les racines. Les traitements vétérinaires par ce néonicotinoïdes peut être par l'administration orale de comprimés ou l'application de produits topiques (liquides et colliers) (**Dryden et Coll, 2001**). En 1998, le TMX est commercialisé sous les marques **Actara®** pour le traitement foliaire et du sol et **Cruiser®** pour le traitement des semences (**Maienfisch, 2005**).

### 1.3.5. Exposition et toxicité

#### 1.3.5.1. Exposition

L'exposition aux pesticides peut se produire soit directement ou indirectement. Il existe trois voies d'exposition ou ces produits peuvent pénétrer dans l'organisme (**Cchst,2017**) :

- Par contact dermique (absorption par la peau ou les yeux) : qui est la voie d'exposition la plus courante.
- Par inhalation (absorption par les poumons).
- Par ingestion (absorption par la bouche) : c'est la voie d'exposition la moins courante mais qui donne lieu aux intoxications les plus graves (**Cchst, 2017**).

#### 1.3.5.2. Toxicité

Tous les pesticides peuvent être responsables de l'apparition d'effets toxiques mais à différents degrés (**Samuel et Saint-Laurent, 2001**). En fonction de la concentration et la durée d'exposition de ces produits que le risque d'une intoxication causée par ces substances augmente (**Cchst, 2017**). Selon la **British Colombia Food and Fisheries, 2022**, les pesticides peuvent agir selon différents mode d'action en perturbant les propriétés biochimiques qui interfèrent avec les fonctions normales des cellules. (**Tableau 4**)

Il existe deux types de toxicité :

La toxicité aiguë quand les effets nocifs d'une substance se développent rapidement après l'exposition (quelques heures à un jour).

- La toxicité chronique quand les effets nocifs d'une substance apparaissent sur la santé suite à une exposition à long terme.

**Tableau 4 :** Liste des principales classes d'insecticides y compris les néonicotinoïdes selon L'IRAC 2012. (Adapté de Louat, 2013)

Cible	Action	Famille	Exemple de molécules
Croissance et développement	Biosynthèse de la chitine	Benzylourées	Chlorfluazuran Diflubenzuran
	Récepteur à l'ecdysone	dyacylhydrazines	Chromafénozide Halofénozide Tébufénozide
Respiration cellulaire	ATP synthétase mitochondriale		Azocyclotine Cyhexatine Diafenthiuron
	Transport des électrons dans la mitochondrie		Acequincyl, pyridabene , phosphine
Intestin			Bacillus thuringiensis
Système nerveux	Canal sodium voltage dépendent	Organochlorés	DDT,méthoxyclore
		Pyréthrinoïdes	Cyperméthrine Déltaméthrine Pyréméthrine,téfluthrine
	Acétylcholinestérases	organophosphorés	Chloropyrofos, diazinon Malathion,parathion
		Carbamate	Aldicarbe, carbaryl Carbosulfan ,thiocabe
	Récepteur nicotinique à l'acétylcholine	Néonictinoïde	Acétamipride, Imidaclopride, Nitenpyrame, Thiamétoxame
		Spinosines	Spinétorame,spinosad
	Récepteur GABA énergétique	Phénylpirazole	Ethiprol ,fipronil
		Organochlorés	Chlordane,endosulfan
	Récepteur à l'octopamine		Amitraze
	Récepteur à la ryanodine	Diamines	Flubendiamide, Chlorantraniliprode

## 2. Glandes surrénales

### 2.1. Aspects embryologiques

Les deux parties qui constituent la glande surrénale dérivent de deux tissus glandulaire d'origines embryologique distinctes : la corticosurrénale prend naissance à partir du mésoblaste, et la

médullosurrénale se développe à partir du neuroectoblaste. (Figure 2)

### 2.1.1. Embryologie de la corticosurrénale

L'ébauche corticale primaire se forme à partir de l'épithélium mésoblastique juxtacoelomique. Le cortex fœtal se constitue vers la cinquième semaine de développement par la prolifération des cellules mésoblastiques sous forme de travées cellulaires et en envahissant le mésenchyme sous-jacent, alors que l'épithélium cœlomique forme une nappe autour du cortex fœtal appelé cortex permanent (El Kasmi, 2012). Après la deuxième prolifération des cellules épithéliales qui enveloppent les cellules corticales primitives, il y aura la formation du cortex définitif (Langman et al., 1996). Et en ce moment (vers le troisième mois) il y aura une différenciation des zones glomérulée et fasciculée seulement, la zone réticulée va apparaître après la naissance (El Kasmi, 2012)

### 2.1.2. Embryologie de la médullosurrénale

Le développement des sympathogonies se déroule au niveau de la crête neurale. Ces dernières se différencient en deux types cellulaires : les sympathoblastes et les phéochromoblastes. La différenciation des phéochromoblastes débute dès le troisième mois de développement, et cela en chromaffines qui sont l'origine des cellules de la médullosurrénale (Chapuis et al., 1994). Les deux ébauches surréaliennes entrent en contact vers le cinquantième jour de développement, et à la fin de la huitième semaine il y'aura l'individualisation de la glande surrénale (Chapuis et al., 1994).

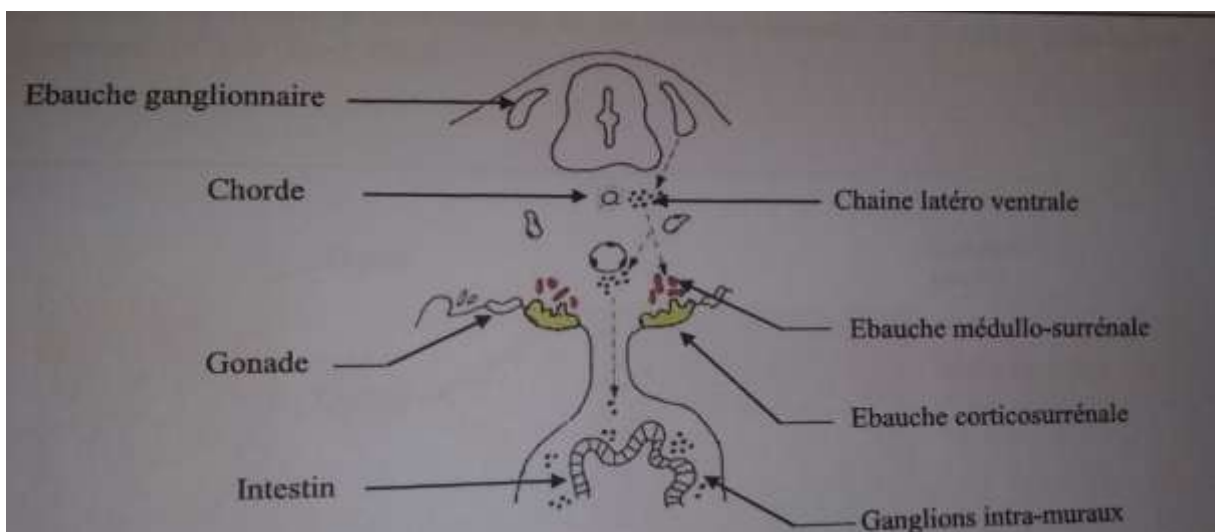
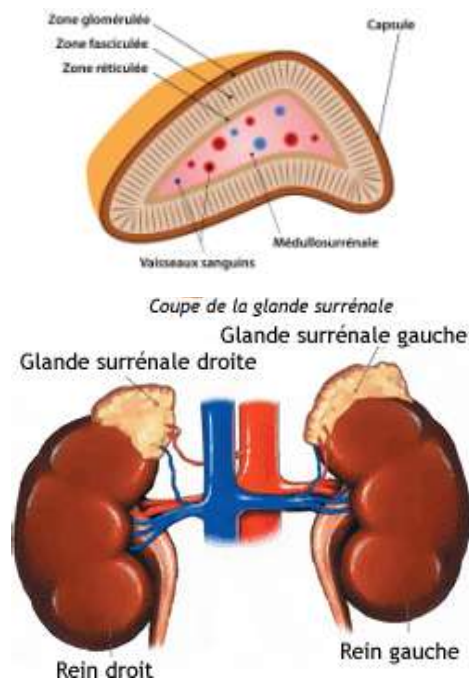


Figure 2 : Origine embryologique des surrénales. (Hoang,1996).

### 2.2. Anatomie et histologie

Les glandes surrénales ou supra surrénales sont situées à la partie supéromédiale du rein, très profondément dans l'abdomen, derrière le péritoine, proche de la paroi lombaire, de part et d'autre de la colonne vertébrale (Perlemuter *et al.*,2003 ; Opeyrin et Vandroux,1998). Les surrénales sont de petites dimensions : De 3 à 5 cm de hauteur, de 2 à 3 cm de largeur et un peu moins d'un cm d'épaisseur. Elles pèsent 6 à 10 g chacune (Tortora *et al.*2001).

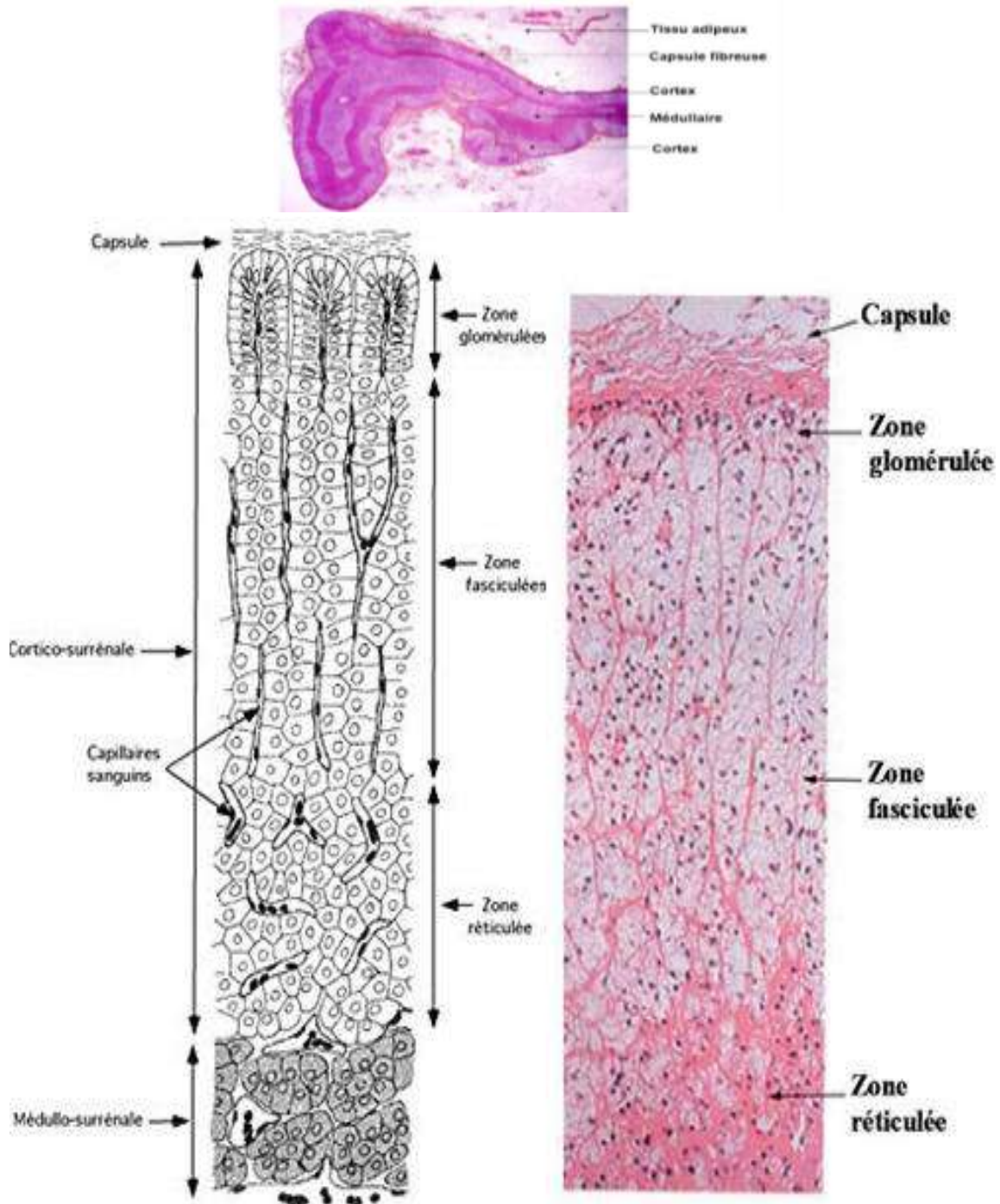
(Figure 03)



**Figure 03** :Anatomie des glandes surrénales. (Dupont, 2021)

Ce sont des compositions endocrines couplées, recouvertes d'une capsule de tissu conjonctif chacune. Comportant à la fois une zone interne, le cortex surrénalien qui représente 80% à 90% de la glande et une zone interne, la médullosurrénale qui occupe les 20% restants. La corticosurrénale est périphérique qui assure la synthèse de corticostéroïdes en alliance avec l'axe hypothalamo-hypophysaire. Elle est formée de trois couches (Figure 03 et 04) dont les sécrétions hormonales sont différentes. La couche externe, située immédiatement sous la capsule de tissu conjonctif, est appelée zone glomérulée (ZG). Ses cellules sont serrées les unes contre les autres en amas sphériques et en colonnes arquées, qui secrètent des hormones nommées minéralocorticoïdes. La couche du milieu dite zone fasciculée (ZF), est la plus large des trois couches ; elle est constituée de cellules qui forment de longs cordons droits. Ces cellules secrètent surtout des glucocorticoïdes. Les cellules de la couche interne, appelées

zone réticulée (ZR). Elles forment des cordons ramifiés. Elles synthétisent de petites quantités d'androgènes (Tortora *et al.*,2007). La médullosurrénale, centrale, est assimilée à un paraganglion sympathique. Ces cellules chromaffines de forme polyédrique produisent des catécholamines, comme l'adrénaline et la noradrénaline (Bremord-Gigna *et al.*,2009).



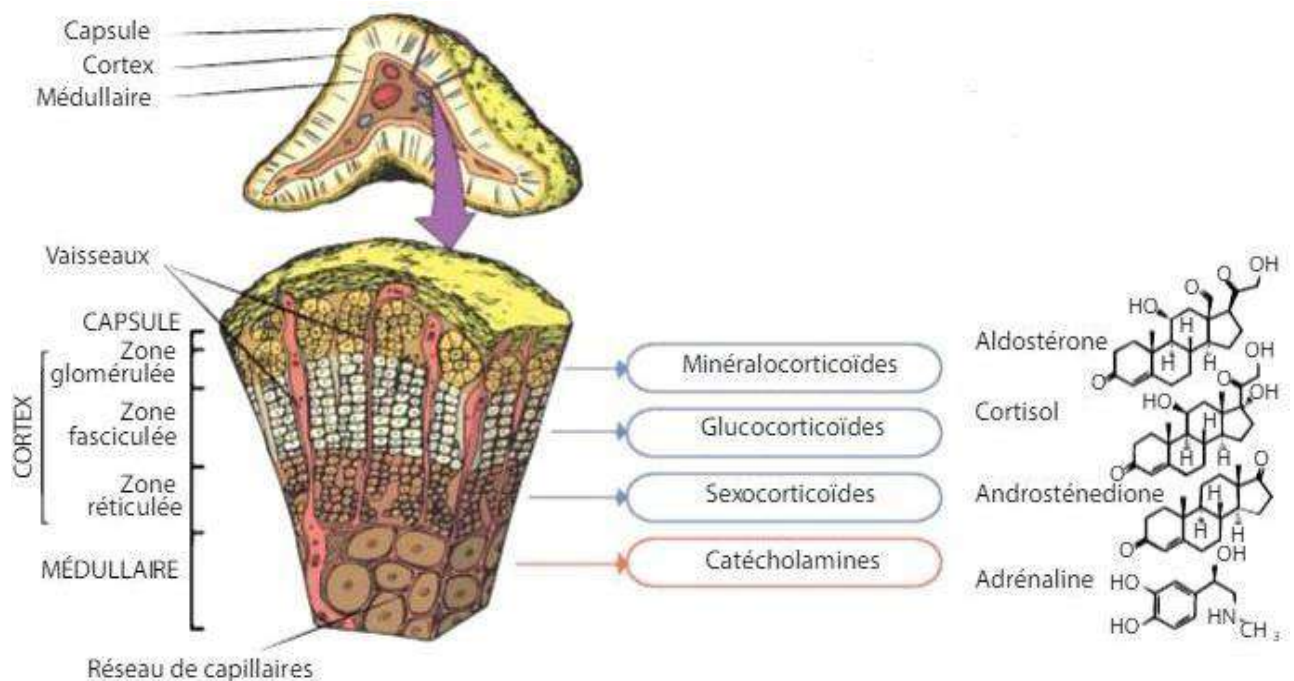
### 2.3. Vascularisation et innervation

Une douzaine de petites artères qui proviennent de l'aorte abdominale : artères phréniques inférieures et artères rénales, irriguent les glandes surrénales. La ramification de ces artères, forme un plexus subcapsulaire qui irrigue le cortex en s'écoulant dans le réseau capillaire. Ensuite, ces vaisseaux forment un plexus sinusoidal autour des cellules de la zone réticulée formant ainsi des veines. Ces dernières traversent la médulla pour se jeter dans la veine centrale (Hamaji et al.,1985).

Au niveau de la médulla, il existe un réseau de capillaires isolés, alimenté par des artères médullaires et qui pénètrent dans le cortex ; il se jette aussi dans la veine centrale. L'innervation de la glande surrénale se fait exclusivement par des fibres préganglionnaires qui sont destinées à la médulla. Le contrôle de la sécrétion du cortex n'est pas indépendant de toute stimulation nerveuse, terminaisons cholinergiques (Verdati et Idelman, 2000).

### 2.4. Physiologie

Chaque partie de la glande surrénale secrète des hormones différentes. (Figure 05)



**Figure 05** : Section transversale de la glande surrénale et ses hormones (Dupont, 2021).

Les cellules de la zone glomérulée de la corticosurrénale secrètent les minéralocorticoïdes : l'aldostérone qui a un rôle important dans l'homéostasie de l'eau et du sodium au cas d'hypertension artérielle et d'insuffisance cardiaque (Waeber, 2006). Les hormones secrétées par la zone fasciculée sont les glucocorticoïdes (cortisol, hydrocortisone, corticostérone). Ces derniers sont des anti-inflammatoires et jouent un rôle important dans l'équilibre du glucose

sanguin et la libération du sucre lors d'une demande accentuée en énergie, et dans le métabolisme de base (hyperglycémie, hyperlipémie...). Le cortisol agit aussi sur le métabolisme des protéines et des lipides (Waterman, 1990). La zone réticulée est l'origine de la sécrétion des stéroïdes sexuels ; androgènes (Waterman, 1990). La partie interne de la glande surrénale qui est la médullosurrénale, est responsable de la sécrétion des catécholamines (adrénaline et noradrénaline) par ses cellules dites chromaffines (Bremord-Gigna et al., 2009 ; Tableau 5).

**Tableau 5 :** Rappels anatomiques et embryo-histo-physiologiques sur les surrénales du rat Wistar adulte. (Gude et al., 1982 ; Banks, 1993 ; Dellman, 1993 ; Junqueira et al., 1995)

Histologie		Cytologie	Physiologie	Embryologie
Cortex 72%	<b>Zone glomérulée (15%)</b>  -Couche la plus externe -cellules disposées en boucles et arcades.	-Cellules hautes et étroites. -Noyau rond hyper chromatique. -Cytoplasme peu abondant riche en substratum de la synthèse stéroïde. Réticulum endoplasmique lisse, mitochondries et vacuoles lipidiques.	-Sécrétion des minéralocorticoïdes : Aldostérone et Désoxycorticostérone (DOC) chez le rat  -Couche germinative pour les cellules de la fasciculée.	Origine mésodermique
	<b>Zone fasciculée (50%)</b>  -Couche moyenne -cellules disposées longitudinalement en colonnes	-Grosses cellules polyédriques -Noyau rond volumineux vésiculaire à plusieurs nucléoles. -Cytoplasme abondant plus riche en organites que dans la glomérulée d'où l'aspect spumeux de la cellule.	-Sécrétion des glucocorticoïdes : -Cortisol, corticostérone et cortisone chez l'homme mais seulement la corticostérone chez le rat (Sandor et al., 1971)	
	<b>Zone réticulée (7%) :</b>  -Couche adjacente à la médulla. -Cellules disposés en cordons ramifiés	Petites cellules sombres -Noyau pycnotique -Cytoplasme éosinophile pauvre en vacuoles lipidiques.	Sécrétion de sexocorticoïdes : -Déhydroépiandrostérone (DHEA) et androsténédione.	
Médulla 28%	-Cellules chromaffines appartenant à la série des amines and précurseur uptake and décarboxylation (A P UD) et disposées en amas serrés	-Cellule à gros noyau granuleux -Cytoplasme abondant très basophile -Deux types de granules : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Grandes et peu denses (Cellules à adrénaline)</li> <li>• Petites et très denses (cellules à noradrénaline)</li> </ul>	-Sécrétion d'adrénaline (90% des cellules)  -Sécrétion de noradrénaline (10% des cellules)  -Sécrétion de dopamine (type cellulaire inconnu)	Origine neuroectodermique (crêtes neurales)

### 2.4.1. Biosynthèse des hormones surrénaliennes

#### 2.4.1.1. Glucocorticoïdes

Le cortisol est la principale hormone glucocorticoïde synthétisée et sécrétée par la corticosurrénale exactement par la zone fasciculée de la glande surrénale et est responsable dans le métabolisme glucidique et protidique. Sa sécrétion est régulée par les peptides hypothalamiques répondant au nom de corticolibérine (CRH) ainsi dépendant du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (HHC) (Fulla et al., 2009). Il est produit chez l'homme dans une proportion 6 à 8 fois supérieure à celle de la corticostérone qui elle, à l'inverse est le glucocorticoïde le plus abondant chez les rongeurs, comme le rat, la souris ou le lapin (Raff, 2016).

##### 2.4.1.1.1. Structure

Les glucocorticoïdes dérivent de la structure cyclo-penténophénanthrénique, commune à tous les stéroïdes. C'est un composant rassemblant trois cycles de cyclohexane et d'un cycle de cyclopentane dans un même plan. Les groupements fonctionnels se projettent sur l'un ou l'autre côté du plan de la structure principale. Le cortisol, stéroïde en C21, contient sur le carbone 17 de sa structure, un hydroxyle qui le différencie de la corticostérone où il fait défaut (Figure 06) (Labaune, 2002)

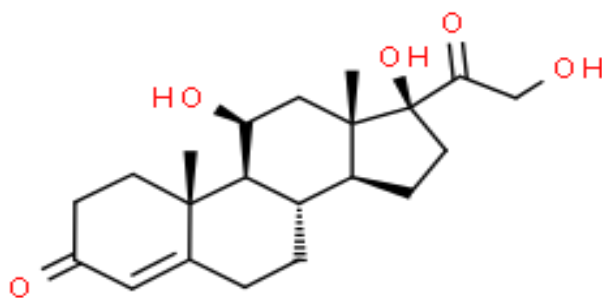


Figure 06 : Structure chimiques des glucocorticoïdes

##### 2.4.1.1.2. Biosynthèse

La synthèse du cortisol se déroule essentiellement au niveau de la zone fasciculée de la glande corticosurrénale. Le cortisol dérive du cholestérol endogène par le réticulum endoplasmique à partir des acétates ou exogène apportée par absorption intestinale ou synthèse hépatique. La série de conversions fait intervenir des enzymes parfois mitochondriales (11  $\beta$ -hydroxylase), parfois du réticulum endoplasmique (3  $\beta$ -déshydrogénase et 21- ou 17-hydroxylase) (Idelman et al., 2000). Le cholestérol est stocké dans la ZF et ZR sous forme d'Ester dans des vacuoles

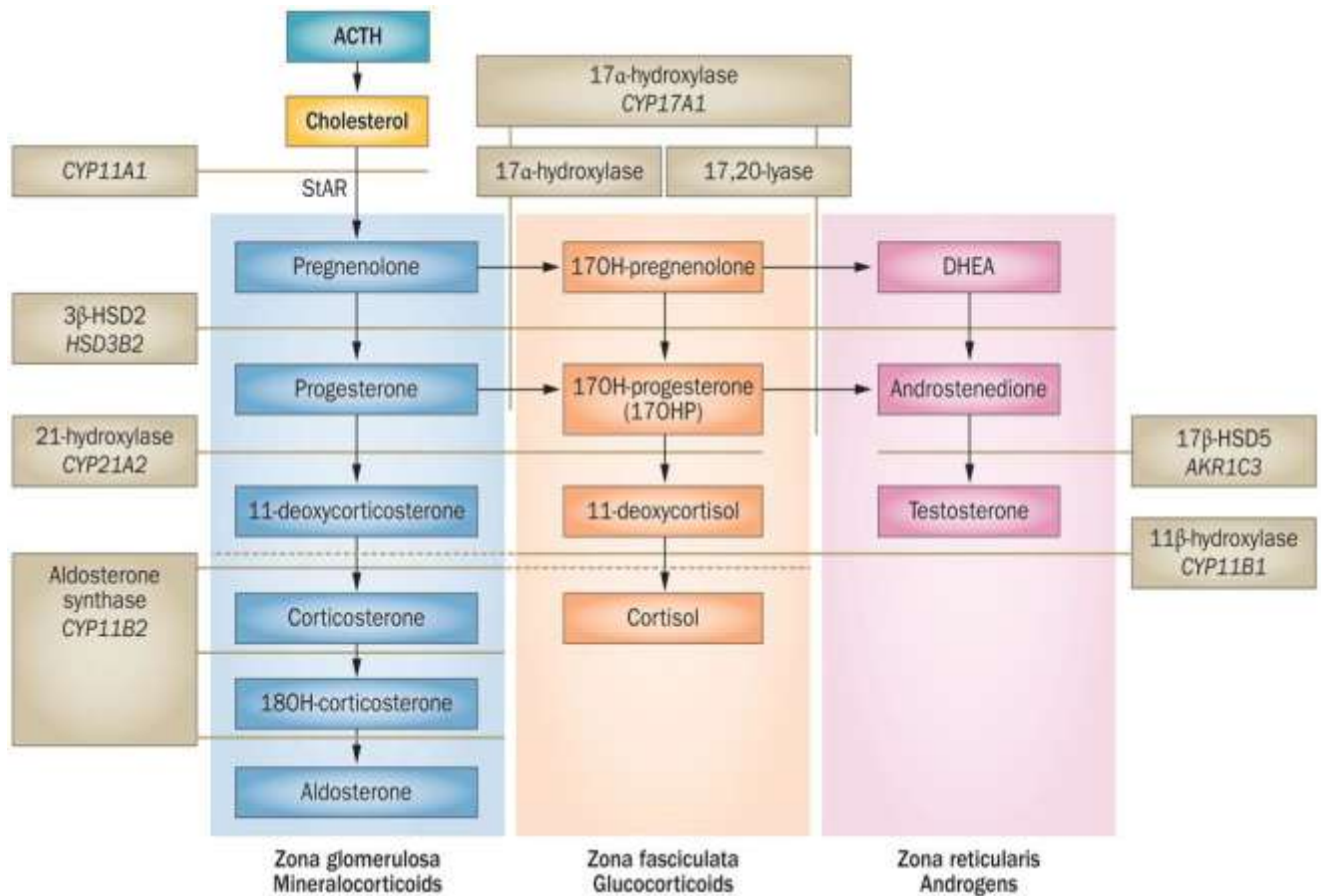
jusqu'à ce qu'elles seront stimulées par l'ACTH, qui va entraîner la formation d'adénosine mono phosphate cyclique (AMPc). L'AMPc est un second messenger qui va activer de la protéine kinase A (PKA), une enzyme qui permet la libération des esters de cholestérol au niveau du cytoplasme. Ces lipides estérifiés vont par la suite entrer en contact avec la lipase hormonosensible (HSL), une enzyme qui catalyse la conversion des esters de cholestérol en cholestérol libre pour ainsi permettre l'entrée du cholestérol au niveau de la mitochondrie grâce à une protéine nommée *steroidogenic acute regulatory protein* (StAR). StAR va interagir avec la protéine translocatrice (TSPO) pour assurer le transport du cholestérol de la membrane externe à la membrane interne de la mitochondrie et cette réaction est l'étape limitante de la synthèse des stéroïdes (**Walsh et al., 2000**), cette dernière se fait par deux voies l'une métabolique principale à partir de la progestérone et l'autre accessoire à partir de la prégnénolone comme suit :

- La voie principale implique trois hydroxylations successives de la progestérone par des hydroxylase NADPH dépendant, la première en C-17 conduit à la 17  $\alpha$ -hydroxy progestérone ; la deuxième en C-21 du 17  $\alpha$ -hydroxy progestérone responsable de la synthèse 17,21-dihydroxyprogestérone ou 11-désoxycortisol ; la troisième en C- 11 (11 B hydroxylation) le transformant en cortisol et par cette même voie se fait la production de corticostérone par des 21 et 11 hydroxylations qui vont transformer la progestérone en désoxycorticostérone (qui a des propriétés minéralocorticoïdes), puis en corticostérone, les deux produit de cette voies constituent le produit final de la chaîne.

- La voie accessoire fournit la 17  $\alpha$ ,21-dihydroxyprégnénolone, qui, sous l'action de la 3  $\beta$ -hydroxy stéroïde oxydoréductase et de la  $\Delta$  (5  $\rightarrow$  4) isomérase, donne le 11- désoxycortisol, puis le cortisol (**Simpson et al., 1976**). (**Figure 7**)

### 2.4.1.2. Minéralocorticoïdes

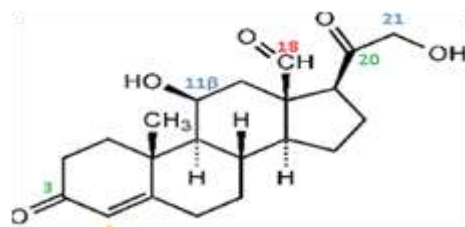
Ils sont exprimés exclusivement par l'aldostérone qui intervient dans la régulation du métabolisme du sodium et du potassium en vérifiant les échanges entre le Na<sup>+</sup> du tube rénal distal et le K<sup>+</sup> qui a été filtré, puis réabsorbé dans le tube contourné proximal. Sa synthèse s'effectue dans la zone glomérulée du cortex surrénalien à partir du cholestérol (**Idelman et al., 2000**).



**Figure 7** : Schéma de la biosynthèse et régulation des hormones surrénaliennes (Han et al .,2014)

### 2.4.1.2.1. Structure

Au niveau structurel l'aldostérone est similaire à celle du cortisol, quoique le groupe méthyle angulaire C-13 du cortisol est oxydé en un aldéhyde (COH) chez l'aldostérone, le groupe (COH) réagit avec le groupe 11 β-hydroxy pour former un hémiacétal une structure qui résiste à l'oxydation chimique et biologique (Figure 8 ; Ulick, 1996).

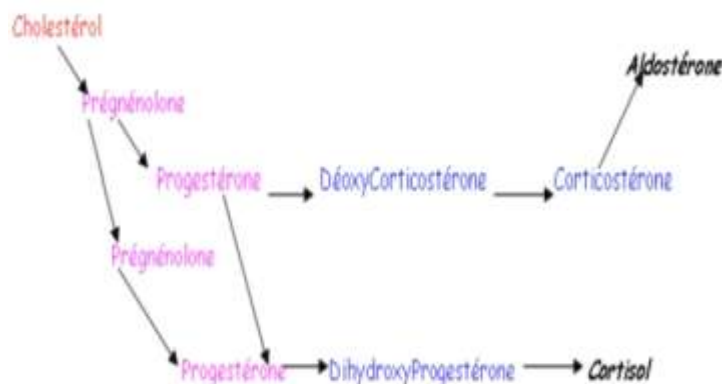


**Figure 8** : Structure chimique de la 11B, 21-dihydroxy-3,20-dione oxo pregn4éne18 al (Aldostérone).

### 2.4.1.2.2. Biosynthèse

La biosynthèse de l'aldostérone se fait exclusivement dans la zone glomérulée, car ces cellules sont les seules à exprimer l'aldostérone synthase, l'enzyme stéroïdogène codée par le

gène CYP11B2 et qui réalise les dernières étapes de la production. L'étape initiale se résume par la conversion du cholestérol en prégnénolone par l'enzyme de clivages des chaînes latérale du cholestérol (P450 scc) codée par le gène CYP11A1 et cela est induit par le transfert du cholestérol vers la membrane mitochondrial interne ce qui suit la conversion ultérieure de la prégnénolone en progestérone qui est catalysée par l'enzyme 3  $\beta$  hydroxy stéroïde déshydrogénase (3  $\beta$ -HSD) codée par le gène HSD3B2 (Miller et Auchus, 2011), ensuite la 21-hydroxylation de la progestérone en 11-déoxucorticostérone (DOC) est catalysée par la 21- hydroxylase codée par le gène CYP21A2 et au final les trois dernières étapes de la biosynthèse du DOC en aldostérone sont toutes catalysées par l'enzyme aldostérone synthase. Il s'agit de la 11  $\beta$ -hydroxylation du DOC, qui forme la corticostérone, de la 18-hydrocorticostérone ultérieure afin de synthétiser la 18 hydroxy corticostérone et de la 18-méthyloxidation pour produire l'aldostérone. (Figure 9)



**Figure 9.** Biosynthèse de l'aldostérone (Idelman,1993)

### 2.4.1.3. Stéroïdes sexuels

Les surrénales sécrètent les hormones sexuelles dont les androgènes, œstrogènes et progestérone. Leur importance physiologique est modérée, compte tenu de leur taux de sécrétion. Ils sont synthétisés au niveau de la zone réticulée et fasciculé du cortex surrénalien. L'hormone qui est principalement produite est la DHEA et sa forme sulfatée DHEAS, qui jouent un rôle précurseur dans la synthèse des androgènes.

#### 2.4.1.3.1. Structure des androgènes

Les androgènes comme la testostérone se caractérisent par une structure formée de 19 atomes de carbone (2 méthyles en position 10 et 13). Du fait de l'aromatation du cycle A, la structure de base de l'œstrogène ne comporte que 18 atomes de carbone. D'un point de vue de la structure, ces composés possèdent en général une fonction cétone en position 3, une double

liaison en 4 - 5, 2 méthyles en 10 et 13, et un groupement CO-CH 3 en position 17 (Coudert, 2014).

### 2.4.1.3.2. Biosynthèse

La production des déhydroépiandrotéstostérone (DHEA) se fait à partir de la 17-OH-prégnénolone Tandis que la production de la D4-androsténédione se fait via la 17-OH-progestérone. Ces conversions nécessitent la présence d'une enzyme clé nommée P450C17 qui possède une activité 17,20- lyase. La production de l'androstènedione est conditionnée également par la conversion de la DHSEA via la 17 $\beta$  hydroxy stéroïde déshydrogénase (17 $\beta$ -HSD) en androstènedione qui sera transformée par la suite en testostérone par la 17  $\beta$ -HSD(Figure 10 ; Oudet et al., 2010). Les œstrogènes sont principalement générés par l'action de l'aromatase, qui convertit la testostérone en œstradiol et l'androstènedione en œstrone (Ishikawa et al., 2006)

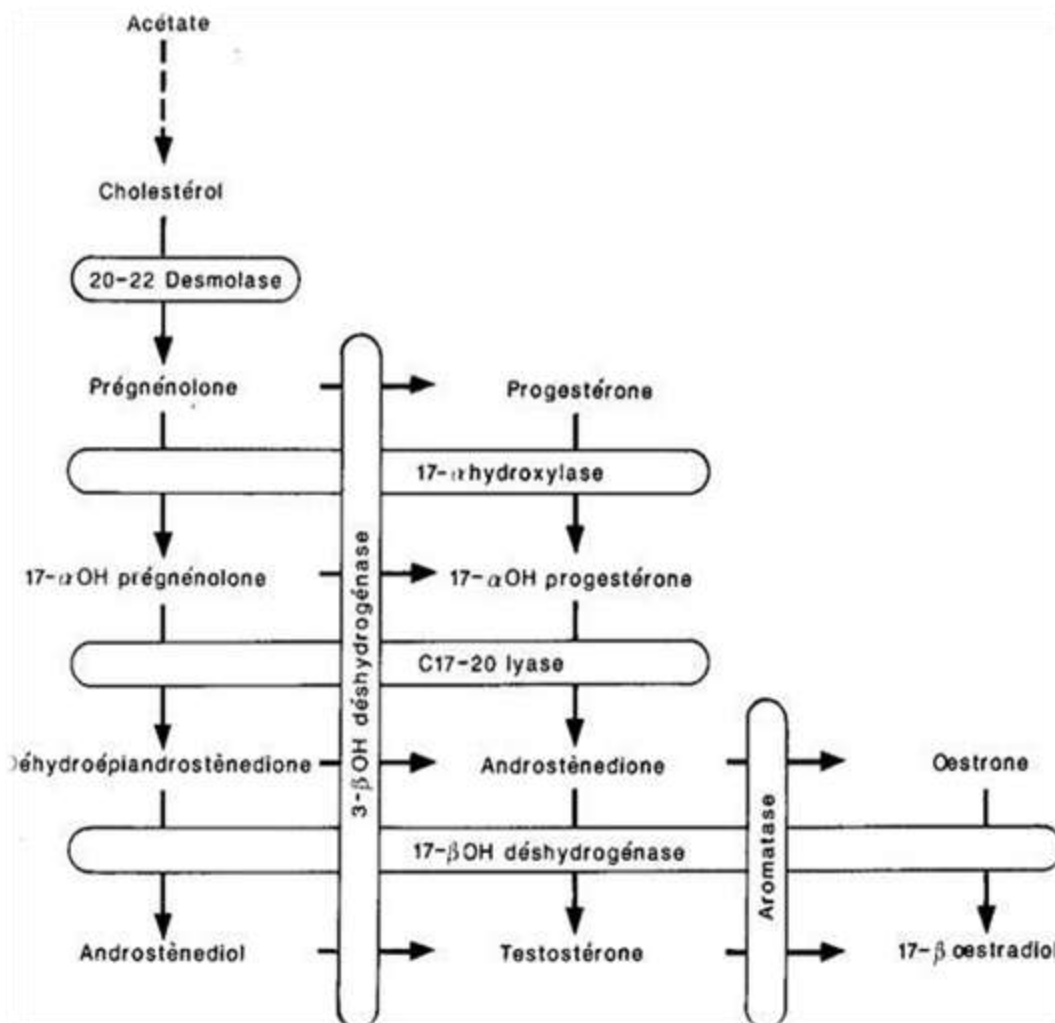
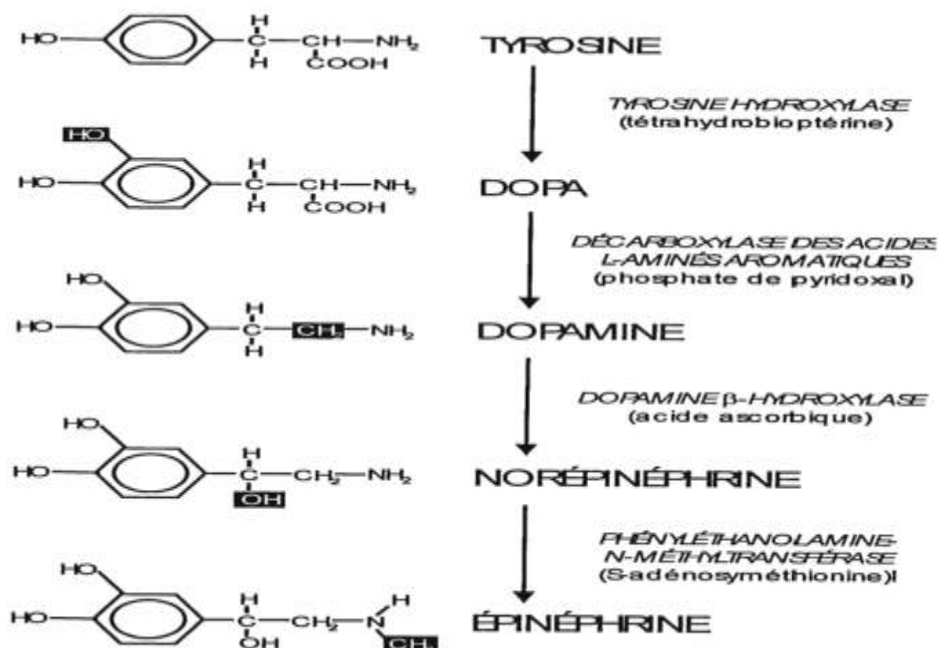


Figure 10 : Biosynthèse des sexocorticoïdes (Robin, 2000).

### 2.4.1.4. Catécholamines

La dopamine (DA), la noradrénaline (NA, appelée aussi norépinephrine) et l'adrénaline (AD, appelée aussi épinephrine) sont des amines biogènes dérivées du noyau catéchol (**Hennen, 2001**). La médullosurrénale sécrète l'adrénaline. La noradrénaline est le neuromédiateur des neurones sympathiques, elle accompagne aussi l'adrénaline dans la sécrétion médullosurrénalienne. La dopamine est le précurseur de la noradrénaline et de l'adrénaline.

La L-tyrosine est le précurseur des catécholamines (**Figure 11**), elle est captée par les cellules chromaffines de la médullosurrénale de façon active.

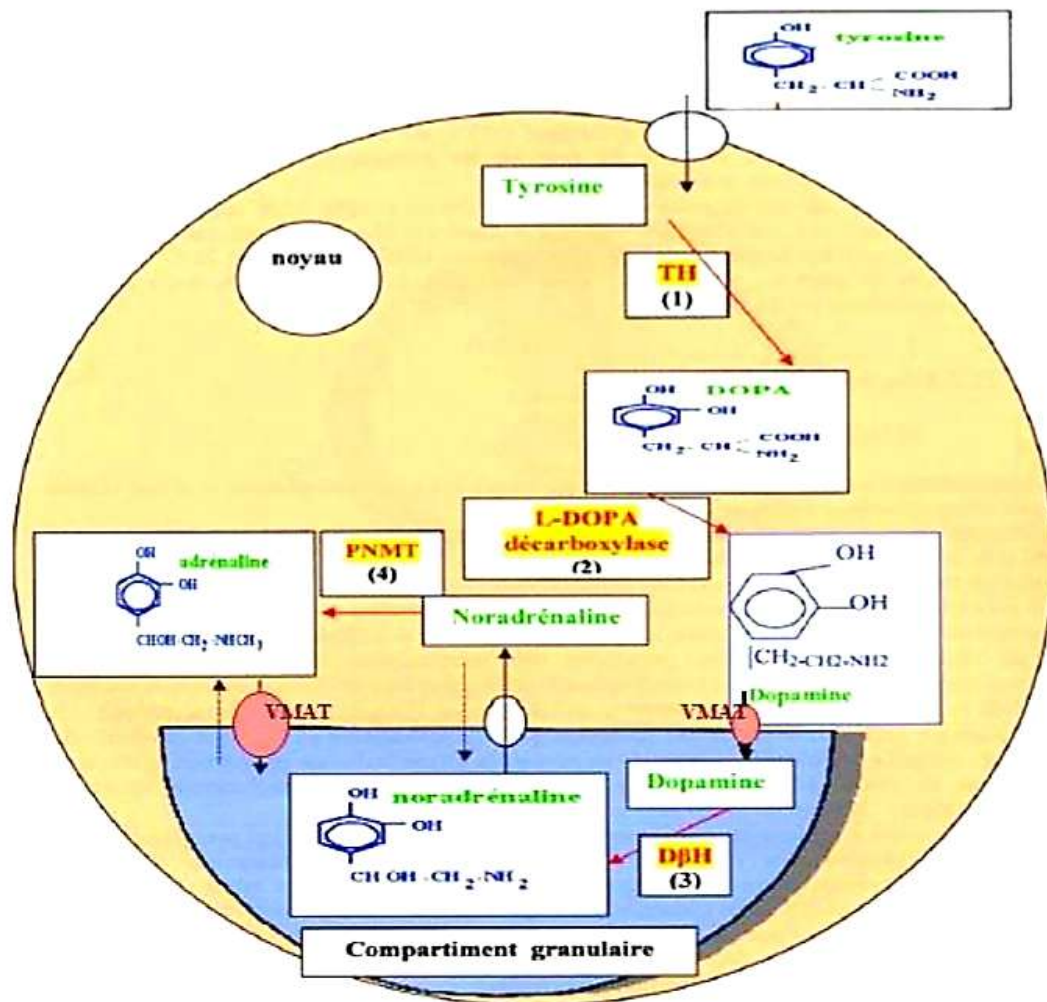


**Figure 11:** Diagramme illustrant les étapes enzymatiques de la biosynthèse des catécholamines (**Lefkowitz et al., 1998**)

#### 2.4.1.4.1. Biosynthèse

La synthèse des catécholamines au sein des cellules chromaffines, commence par la transformation de la tyrosine en dihydroxy-phényl-alanine (DOPA) par la tyrosine hydroxylase (TH). Cette dernière est l'enzyme limitante de la biosynthèse des catécholamines. La deuxième étape est la décarboxylation de la DOPA en dopamine via la DOPA décarboxylase. La dopamine est ensuite concentrée dans des granules de stockage par l'intermédiaire des transporteurs vésiculaires VMAT (transporteurs vésiculaires des monoamines). La troisième étape se déroule à l'intérieur du compartiment vésiculaire, c'est la β-Hydroxylation de la dopamine en noradrénaline par la dopamine β-Hydroxylase (D βH).

L'enzyme s'y trouve, en partie, sous forme liée à la membrane granulaire et, en partie, sous forme libre. La dernière étape est la N-méthylation de la noradrénaline en adrénaline via l'enzyme phényléthylamine-N-méthyl transférase (PNMT). L'adrénaline doit donc quitter les granules de stockage pour rejoindre le cytoplasme et cela par diffusion. L'adrénaline cytosolique sera ensuite concentrée dans des granules de stockage par l'intermédiaire des transporteurs vésiculaires. (Figure 12)

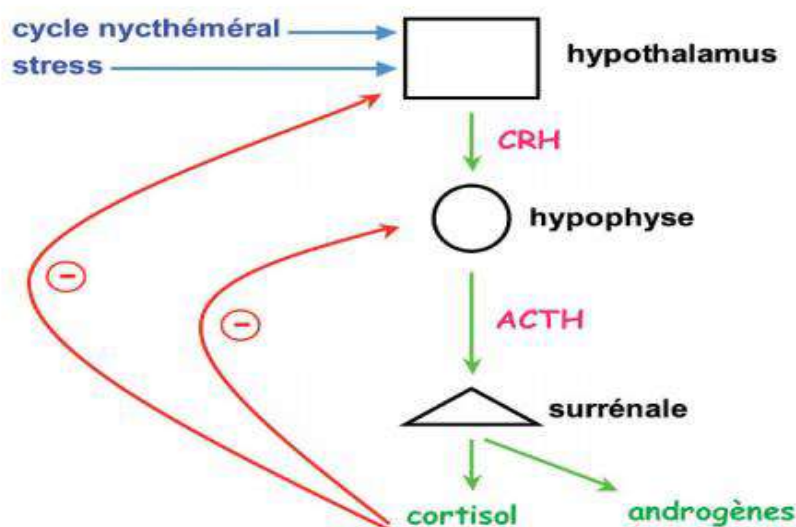


**Figure 12 :** Représentation schématique de la biosynthèse des catécholamines au sein des cellules chromaffines (Mustafa, 2017)

### 2.4.2. Régulation de la sécrétion des hormones surrénaliennes

#### 2.4.2.1. Axe corticotrope

L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien joue un rôle important dans le contrôle de la sécrétion des hormones par la glande surrénale. (**Figure 13**) La corticosurrénale synthétise les glucocorticoïdes après sa stimulation par l'adénohypophyse via l'hormone polypeptidique corticotrope qui est l'ACTH (adrénocorticotrope), et cela sous le contrôle de la corticolibérine CRH sécrétée par l'hypothalamus. Le stress stimule la sécrétion de la CRH et des faibles quantités de la vasopressine (AVP) par l'hypothalamus. Ces deux neuropeptides agissent sur l'adénohypophyse ce qui entraîne la synthèse et la libération de l'ACTH qui induit la sécrétion des glucocorticoïdes. Un rétrocontrôle négatif est exercé sur les hormones hypothalamo-hypophysaires par le cortisol (**Fulla et al., 2009**). La sécrétion de l'aldostérone résulte d'une hyperkaliémie qui dépolarise les membranes des cellules de la zone glomérulée dans le but d'augmenter la concentration intracellulaire de calcium qui stimule sa libération (**Gallo-Payet, 1993**). L'ACTH contrôle aussi la sécrétion de ce minéralocorticoïdes (**Harding et al., 1979**). L'activité de l'axe corticotrope est nycthémerale. La sécrétion du CRH et l'AVP dans le système porte hypophysaire se fait d'une façon pulsatile (**Chrousos,1995**). Elles atteignent leurs pics au début de la phase active du cycle circadien, le soir chez le rat et le matin chez l'homme, ce qui provoque l'augmentation de la sécrétion de l'ACTH et les glucocorticoïdes. Le système nerveux sympathique contrôle la sécrétion des catécholamines (**Koué-Folligan, 2010**).



**Figure 13** :L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (**Fulla et al., 2009**).

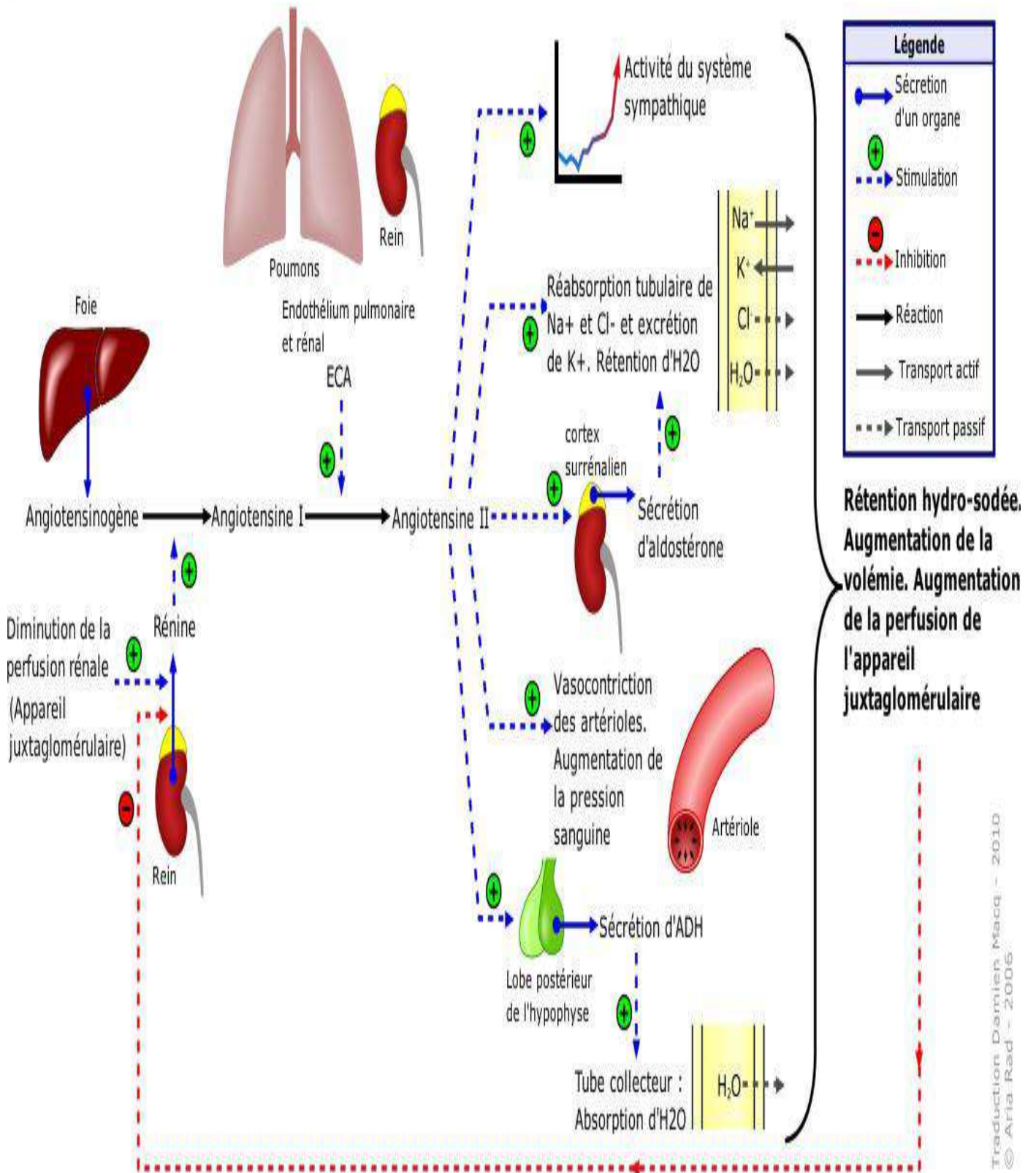
### 2.4.2.2. Régulation de la sécrétion des androgènes

L'ACTH joue un rôle très important dans la régulation de la sécrétion des androgènes, il stimule la corticosurrénale à sécréter ces hormones (DHEA, SDHEA et D4-androstènedione). Pour cela la DHEA et D4-androstènedione suivent un rythme semblable à celui du cortisol qui est nycthéral. La demi-vie de la SDHEA est longue ce qui explique que sa concentration plasmatique ne varie pas le long de la journée. La DHEA est un précurseur des hormones sexuelles. Elle est sous sa forme active après sa transformation qui se déroule au niveau des tissus périphériques par l'aromatase, la 3 $\beta$ -HSD et la 17 $\beta$ -HSD. La DHEA est produite en grande quantité durant la vie fœtale. Les concentrations de cette hormone sont élevées à la naissance, puis elles diminuent vite et restent basses jusqu'à l'âge de 7 ans à 8 ans. Et durant cette période la zone réticulée de la corticosurrénale commence à sécréter davantage cet androgène. Dans ce cas cette biosynthèse varie en fonction de l'âge, et elle est indépendante des variations de la sécrétion d'ACTH. Elle est associée à l'augmentation de l'épaisseur de la zone réticulée ainsi qu'à l'accroissement de l'activité de la 17,20- lyase (**Oudet, 2010**). Récemment, ils ont trouvé que la mélatonine stimule la DHEA à partir de culture d'hamster solitaire « *PhodopusSungorus* » (**Gallo-Payet et al., 2017 ; Figure 8**).

### 2.4.2.3. Régulation de la sécrétion des minéralocorticoïdes

La sécrétion d'aldostérone est régulée par plusieurs facteurs tel que : l'angiotensine II, l'augmentation de la concentration plasmatique en potassium, l'ACTH ainsi que le facteur natriurétique auriculaire (**William et al.,2004 ; Namita et al.,2012 ; Tableau 6**). Le système rénine-angiotensine : la rénine est libérée sous l'influence d'une diminution de la volémie, fuite du sodium et une rétention de potassium qui atteignent les capillaires juxtaglomérulaires. Cette enzyme libère dans le plasma l'angiotensine I à partir d'une  $\alpha$ 2-globuline. Ce décapeptide perd deux acides aminés et fournit par la suite l'angiotensine II active. L'angiotensine II régule la sécrétion d'aldostérone par la zone glomérulée, cette hormone a un effet au niveau du tube distal qui est la rétention du sodium pour s'opposer aux troubles de la volémie (**Mackenzie et al., 2018 ; Figure 14**).

L'augmentation de la concentration sérique en potassium cause une dépolarisation des membranes des cellules de la zone glomérulée. Cela entraîne l'activation des canaux calciques et permettent un afflux de calcium et donc la sécrétion de l'aldostérone (**Santelli et al., 2017**). D'autres modulateurs de la sécrétion d'aldostérone sont : l'ACTH et l'AVP qui la stimulent d'une façon mineure en agissant sur des récepteurs spécifiques de la zone glomérulée, et le peptide atrial natriurétique qui l'inhibe (**Santelli et al., 2017**).



Traduction Damien Macq - 2010  
© Aria Rad - 2006

Figure 14 :Système rénine -angiotensine-aldostérone (Rad,2016)

**Tableau 1:** Synthèse des facteurs de régulation de la sécrétion de l'aldostérone (**Ader et al.,2006;Guénard,2009**)

Facteurs		Sécrétion d'aldostérone	Mode d'action
Tension Artérielle	- Augmentation de la tension artérielle. - diminution de la tension artérielle.	- Freinage de la sécrétion.  - Stimulation de la sécrétion.	- L'ensemble de ces facteurs contrôle la sécrétion d'aldostérone par l'intermédiaire du rein en jeu de système rénine-angiotensine.  - Toutes les indications Stimulantes provoquent dans un premier temps la sécrétion de rénine laquelle déclenche la sécrétion d'aldostérone.  - Agit directement sur la zone glomérulée
Equilibre Sodé	- Apport sodé. - Déplétion sodé.	- Diminution.  - Stimulation.	
Volémie (volume de sang cerclant)	- Augmentation de la volémie (perfusion). - Diminution de la volémie (hémorragie).	- Diminution.  - Stimulation.	
Potassium	- Hyperkaliémie. - Hypokaliémie.	- Augmentation.  - Diminution.	

**2.4.2.4. Régulation de la sécrétion des catécholamines**

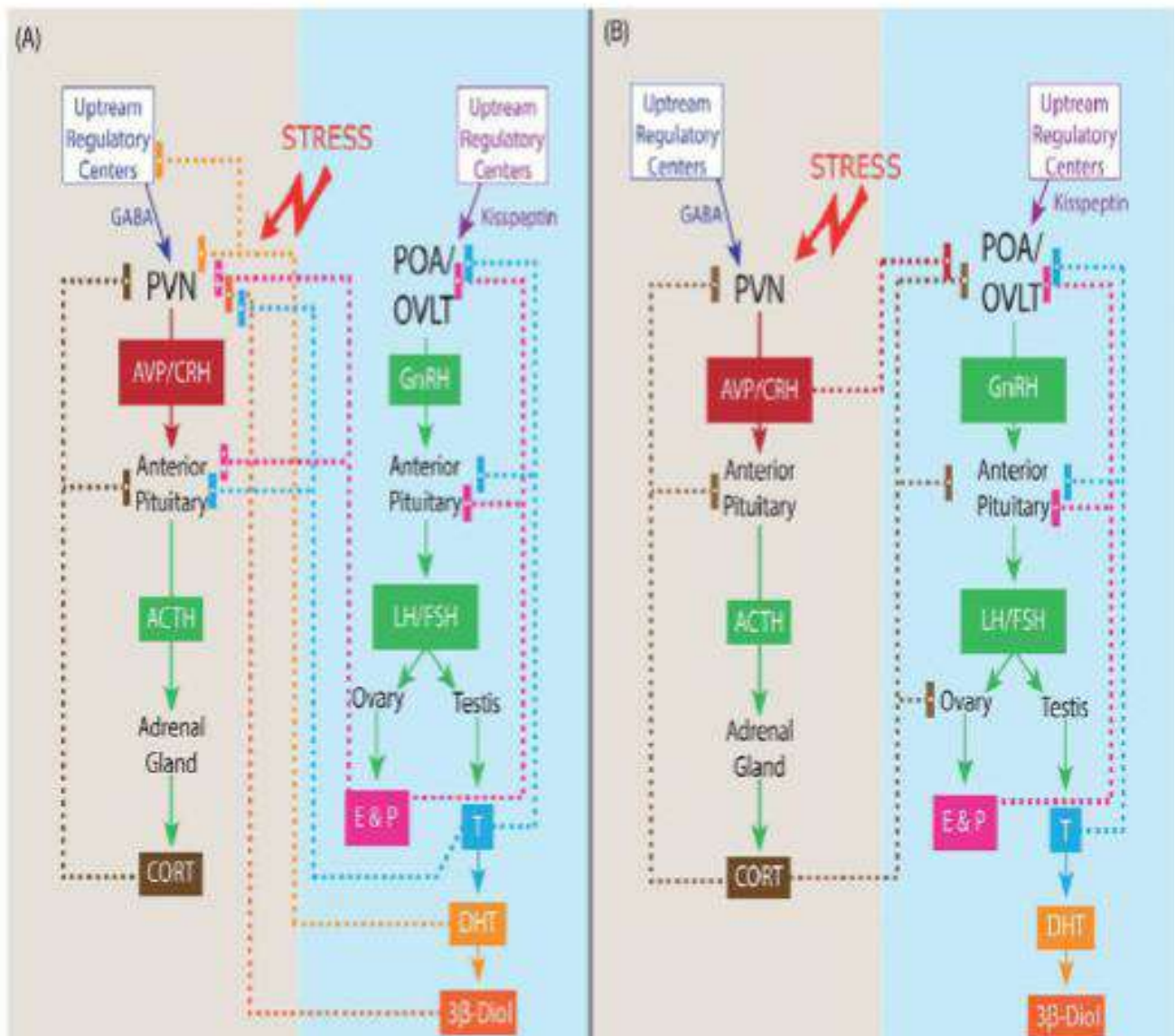
Des stimuli stressants activent les nerfs préganglionnaires sympathiques. Ces derniers libèrent de l'acétylcholine qui à son tour active les récepteurs des cellules chromaffines, ce qui engendre une augmentation de la sécrétion des catécholamines. L'acétylcholine se lie à ses récepteurs en leurs causant une dépolarisation. Des flux de  $Ca^{2+}$  entrent dans les cellules, cette élévation intracellulaire en  $Ca^{2+}$  active des protéines kinases (PKC). Ces dernières phosphorylent la tyrosine hydroxylase (TH) sur des résidus serine ce qui induit l'augmentation de son activité et la synthèse des catécholamines. Les chromaffines stimulées secrètent ces hormones par exocytose (**Hennen, 2001**)

**2.5. Interactions physiologiques entre l'activité surrénalienne et gonadique**

Plusieurs arguments sont en faveur d'interactions fonctionnels entre le système surrénalien et gonadique. Du point de vue origine embryonnaire, le mésoblaste est l'origine embryonnaire commune des gonades et la corticosurrénale. Les sécrétions des deux glandes ont aussi la même nature biochimique, ce sont toutes des hormones stéroïdiennes. Tout comme les hormones sexuelles, les glucocorticoïdes, ont des rythmes saisonniers chez de nombreuses espèces. Le cortex surrénalien des primates secrète un taux élevé de stéroïdes en C19 :

DHEA, DHEA sulfate (sDHEA) et l'androstènedione (androgènes). Ces hormones surrénaliennes ont une activité androgénique faible, mais sont considérées comme les précurseurs des estrogènes et des androgènes.

Chez l'homme, peu avant la puberté, la zone réticulée produit la DHEA et le SDHEA en quantité importante. Chez l'adulte, la sécrétion des androgènes au niveau de la glande surrénale est inhibée par les androgènes testiculaires (**Kandsi-Bouhadad et Hadj-Bekkouche, 2010**). La régulation de l'axe HHC à différents niveaux implique les hormones de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique (HHG) et vice versa. (**Figure 15**)



**Figure 15 :** Diagramme schématisant l'interaction réciproque entre les axes HHC et HHG (**Oyola et Handa, 2017**)

Les glucocorticoïdes ont un effet « anti-reproducteur », qui se traduit chez le mâle par l'inhibition de la biosynthèse de la testostérone par les testicules. Par ailleurs, le contact prolongé des glucocorticoïdes (le cortisol chez l'homme, ou la corticostérone chez les rongeurs) avec les cellules de Leydig peut engendrer l'apoptose de ces dernières (**Soltani, 2008**).

Le traitement par testostérone diminue les taux d'androsténédione chez le rat et augmente ceux de DHEA chez le macaque. L'existence d'une interaction testicule-corticosurrénale a été mise en évidence par différentes modifications constatées après une castration bilatérale chez le rat de sable : une augmentation pondérale des surrénales ; histologiquement, il y a eu une augmentation nette du volume du cortex due à l'augmentation de celui de la ZR ; une augmentation des teneurs surrénaliennes en GC totaux et cortisol alors que les concentrations plasmatiques sont diminuées ; une augmentation des concentrations plasmatiques du Cholestérol, triglycérides et lipides et diminution des protéines (**Benmouloud et al., 2006**).

## **Chapitre II : Etude expérimentale**

## **Matériels et méthodes**

### 1. Matériel et méthodes

L'expérimentation a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de physiologie de la FSBSA de l'UMMTO, le laboratoire de neurochimie (LBPO) de la FSB de Bab Ezzouar et le laboratoire d'anatomie pathologique de l'école nationale supérieure vétérinaire (ENSV). Dans cette étude nous avons évalué l'effet toxique du thiamétoxame sur l'histophysiologie de l'axe surrénalien chez le rat "Wistar".

#### 1.1. Matériel

##### 1.1.1. Matériel biologique

Pour notre étude, nous avons utilisé 24 rats Wistar mâles et femelles (**Figure16**) livrés par l'institut Pasteur d'Alger (Annexe de Kouba Rage) et accueillis à l'animalerie de l'USTHB. Les rats se reproduisent pendant toute l'année, leur période de gestation dure environ 21 jours. L'adulte mâle pèse de 100 à 400 grammes, sa longévité est de 2 à 3 ans (**Baker et al., 1980**) et sa position taxonomique est définie par **Chassé et Martel (2006)** :

**Règne** : Animal.

**Embranchement** : Vertébrés

**Classe** : Mammifères

**Famille** : Muridés

**Ordre** : Rongeurs

**Genre** : *Rattus*

**Espèce** : *norvegicus*



**Figure 16** : Photographie d'un Rat "Wistar"

##### 1.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé lors de notre expérimentation est résumé en annexe 1.

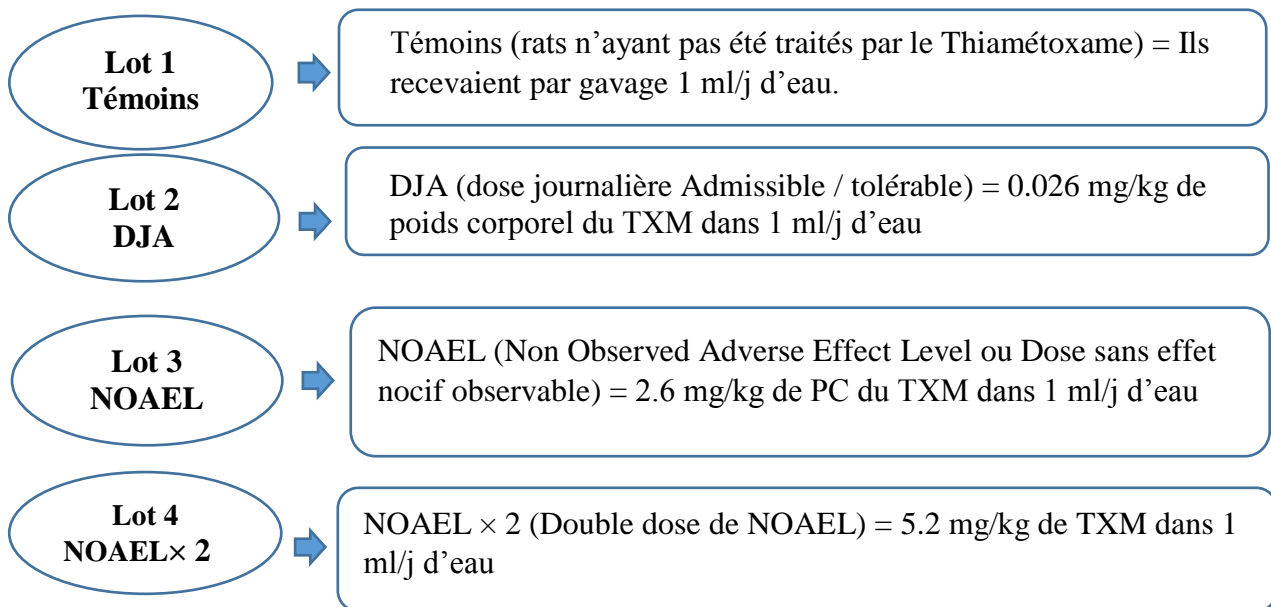
### 2. Méthodes

#### 2.1. Traitements des animaux

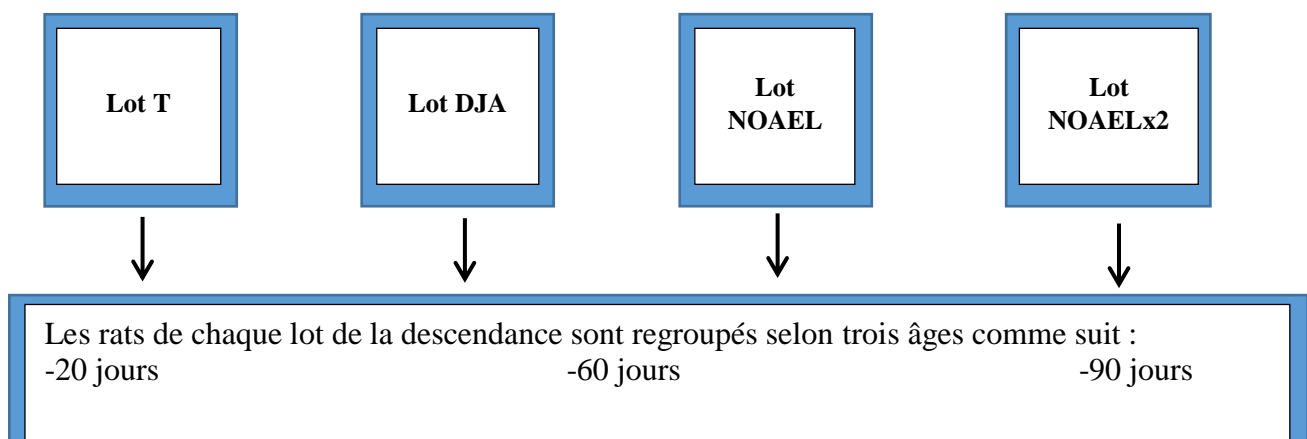
Les 24 rats utilisés ont environ 3 semaines et pèsent 120 à 130 grammes. A leur réception de pasteur rage, ils sont mis sous les conditions d'adaptation aux conditions de l'animalerie de l'USTHB pendant cinq jours. Pendant cette période, ils recevaient de la nourriture et l'eau à

volonté. La température ambiante moyenne est de 21-25°C, le cycle photopériodique était de 12 /12, et l'humidité relative de 30-70%. Par ailleurs, un bon état hygiénique des animaux a été assuré.

A l'issue des cinq jours d'acclimations, les rats sont répartis au hasard en quatre lots contenant 6 rats chacun. Les lots expérimentaux recevaient du TMX par gavage pendant 10 semaines selon les doses indiquées dans le schéma ci-dessous :



Les rats mâles traités sont accouplés avec des femelles traitées au TMX. Une fois la mise -bas a eu lieu, les petits ont été regroupés selon le schéma ci-dessous.



### 2.2. Perfusion et prélèvement des organes

Les rats sont mis à jeun la veille de l'autopsie et le lendemain, ils sont anesthésiés par injection intra-péritonéale d'Uréthane à 25% dans de l'eau distillée. La dose injectée est de 0.5 ml par 100 grammes de Poids corporel.

Ensuite, les rats sont perfusés selon une série d'étapes :

- Remplissage de deux flacons, l'un d'une solution saline à 0.9 % et l'autre d'une solution de Paraformaldéhyde (PAF) à 4%.

- Incision du thorax à l'aide des ciseaux de dissection pour accéder au cœur et aux principaux gros vaisseaux sanguins.

- Introduction d'une aiguille épicroténienne dans le ventricule gauche et son orientation vers l'aorte ascendante.

- Incision dans l'oreillette droite pour assurer l'évacuation des solutions de perfusion.

- Dans un premier temps, la perfusion s'est faite avec le NaCl 0.9 % afin d'évacuer tout le sang contenu dans les vaisseaux. Ensuite, elle est poursuivie avec la solution de fixation, le Paraformaldéhyde (PAF) à 4% (environ 150 à 200 ml / rat).

- Pour éviter l'introduction des bulles d'air dans le cathéter, il est nécessaire d'arrêter le débit lors du passage de la solution saline au PAF.

Une fois les rats perfusés, ils sont fixés sur une planche à dissection. Ensuite, les organes sont prélevés, mis très rapidement dans la solution de fixation (en post fixation).

**Remarque :** les étapes précédentes ont été réalisées par une équipe de chercheurs de l'USTHB.

### 2.3. Techniques histologiques

C'est un ensemble de traitements préparatoires qui ont pour objectif de rendre possible l'observation microscopique de tissus en vue d'études morphologiques (histologique).

Les traitements des échantillons de tissus se font en plusieurs étapes qui se suivent jusqu'à la confection de coupes observables au microscope optique.

#### 2.3.1. Fixation des organes

Dans notre expérimentation, nous avons utilisé du Paraformaldéhyde à 4% par perfusion intracardiaque et avons procédé à la post fixation dans la même solution, comme décrit ci-dessus.

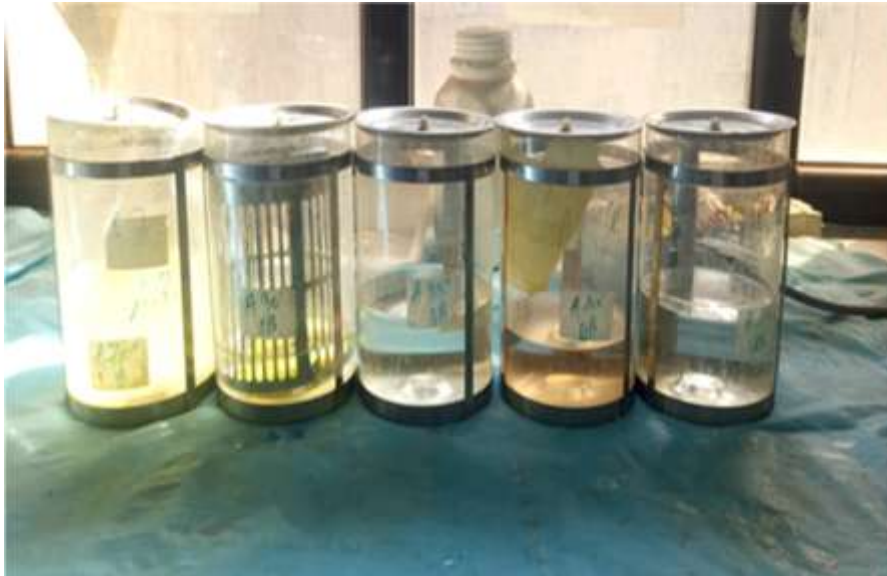
L'intérêt de cette étape est la conservation de tissus dans un état le plus proche que possible de l'état vivant. Il s'agit, en fait, d'insolubiliser les constituants cellulaires concernés par l'étude, empêcher les distorsions et préparer les structures aux traitements ultérieurs. (Martoja et Martoja-Pierson, 1967). (Figure 17)



**Figure 17 :** fixation des surrénales des rats Wistar.

### 2.3.2. Déshydratation

La déshydratation a pour but l'élimination de l'eau intracellulaire, et cela en mettant l'organe dans des bains d'alcool (éthanol) à concentrations croissantes (70°, 90°, 100°) pendant 30 min pour chaque bain. (**Figure18**)



**Figure18** : déshydratation de la surrénale dans des bains d'alcool.

### 2.3.3. Imprégnation et inclusion

Le principe de l'imprégnation est l'élimination des traces d'alcool absolu par le passage des organes dans deux bains de xylène pendant 1 heure chacun. Le but est de préparer l'étape d'inclusion à la paraffine.

L'inclusion permet la préparation des organes à la mise en bloc. Les organes sont immergés dans deux bains de paraffine à 60 degré, d'une heure et 12 heures successivement.

### 2.3.4. Enrobage et confection des blocs

Le but de cette étape est de transformer le tissu hétérogène en une masse homogène facile à découper.

Lors de cette étape, la paraffine est versée au fond d'un moule en inox ; ensuite, l'objet (l'échantillon) est déposé au centre avant d'y placer au-dessus une cassette d'enrobage et enfin de recouvrir avec de la paraffine. Pour activer le durcissement du bloc, les cassettes sont déposées sur une plaque refroidissante.

### 2.3.5 Confection des coupes

Pour cette étape, nous avons utilisé un microtome (Leica ; **Figure19**). Cet appareil permet d'obtenir des coupes histologiques destinées à l'observation au microscopique optique. Le passage des pièces à couper devant le rasoir permet l'obtention de coupes en séries régulières

sous forme de rubans, d'une épaisseur de  $5\mu\text{m}$ . Ces dernières sont déposées dans un bain marie, étalées sur des lames en verre qui sont placées directement sur une plaque chauffante à  $41\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 15 minutes afin de leurs permettre de bien adhérer au verre. (**Figure 20**)

### 2.3.6. Déparaffinage et réhydratation des coupes

Les lames obtenues sont mises dans deux bains de xylène pour 5 et 7 minutes consécutives. Cela permet le déparaffinage, autrement dit, l'élimination du milieu d'inclusion, la paraffine. L'étape suivante est la réhydratation. Elle sert à remplacer le toluène par l'eau pour effectuer la coloration. En pratique, les lames sont mises dans des bains d'éthanol de degrés décroissants ( $100^{\circ}$ ,  $90^{\circ}$ ,  $70^{\circ}$ ) d'une minute chacun, puis plongées dans l'eau distillée pendant 3 min.



**Figure19** : Microtome (Photo prise en 2023)



**Figure 20** : Bain marie et plaque chauffante (Photo prise en 2023).

### 2.3.7. Coloration

La coloration que nous avons utilisée est celle à l'hématoxyline éosine (HE). Cette dernière fait apparaître les noyaux en violet et le cytoplasme en rose.

En pratique, elle se fait par un passage manuel des lames dans une série de bains, commençant par celui d'hématine pendant 1 min 30secondes, suivi d'un rinçage à l'eau dans plusieurs bains pendant 3 min. (**Figure 21**) Ensuite, les lames sont plongées dans un bain d'éosine pendant 3min, puis rincées à l'eau distillée. (**Figure 21**)



**Figure21** : Coloration des lames par l'hématoxyline-éosine  
(Photo prise en 2023)

### 2.3.8. Déshydratation et montage des coupes

Les lames sont passées dans des bains d'éthanol à des degrés croissants (70°,90°, 100°) pendant 30secondes pour le premier bain et 1min pour les deux restants. Ensuite, elles sont plongées dans deux bains de xylène pendant 5min pour chacun. A la fin, le montage des lames se fait avec l'EUKIT, une résine synthétique protégeant les tissus de la dégradation.

### 2.3.9. Observation microscopique

L'observation des coupes histologiques a été faite au microscope à différents grossissements et ce, en utilisant différents objectifs (x40, x100 et x400). La prise de photos des régions d'intérêt au niveau tissulaire a été faite à l'aide d'un appareil photo adapté au microscope optique, qui lui-même est connecté à un ordinateur. (Figure22)

### 2.4. Etude histo-morphométrique

Après la prise des photos, nous avons effectué un examen histo-morphométrique grâce au logiciel de traitement et d'analyses d'images Axio Vision Rel. 4,8. Ce dernier permet de faire des mesures de distance, de contour et de surface des structures histologiques. Sur la base de la comparaison des valeurs relevées chez les différents groupes, il est possible de conforter d'éventuelles modifications histologiques observées sous microscope.



**Figure22** : Microscope optique muni d'une caméra liée à un ordinateur  
(Photo prise en 2023)

Les mesures faites en  $\mu\text{m}$  ou  $\mu\text{m}^2$  sont les suivantes :

- L'épaisseur de zone corticale et médullaire,
- L'épaisseur de chacune des trois zones corticales,

- La surface cellulaire et nucléaire de chaque zone corticale (ZG, ZF, ZR),
- Le diamètre cellulaire et nucléaire de chaque zone,
- le volume et rapport nucléo-cytoplasmique

### 2.5. Etudes statistique

Les résultats obtenus pour le groupe témoins et les trois groupes traités au TMX sont représentés graphiquement en se servant du logiciel graph pad prism. Chaque valeur est représentée par la moyenne  $\pm$  l'écart type.

La comparaison de la moyenne entre les 4 groupes a été faite comme suit :

- Si la normalité et l'homogénéité sont vérifiées, on utilise un test paramétrique de l'ANOVA.
- Si la normalité et l'homogénéité ne sont pas vérifiées, on utilise un test non paramétrique qui est le test de Kruskal-wallis.

Le degré de significativité de la différence entre les valeurs moyennes est défini par une probabilité P :

Si  $P \geq 0.05$  : la différence est non significative

Si  $P \leq 0.05$  : la différence est peu significative \*

Si  $P \leq 0.01$  : la différence est très significative \*\*

## 2. Résultats

### 2.1. Impact du thiamétoxame sur les aspects histo-morphométriques de la glande surrénale des rats adultes

#### 2.1.1. Aspect histologique

- **Au faible grossissement (x100)**

Les données histologiques ont révélé des altérations caractéristiques du cortex et de la médullosurrénale dans les groupes traités par le TMX par rapport au groupe témoin (T). Les lames histologiques du groupe témoin montrent une médullosurrénale et un cortex bien placés (les trois régions : réticulaire, fasciculée et glomérulée) étant nettement visibles. Concernant les lames des groupes traités au TMX, L'augmentation de l'épaisseur du cortex. **(Figure 23)**

- **Au fort grossissement (x400)**

L'étude histologique de la glande surrénale au fort grossissement (G400) des rats adultes du groupe DJA n'a pas révélé de grands changements comparativement aux témoins. Les trois zones corticales sont bien visibles. Les cellules sont allongées sous formes de cordons avec des noyaux d'une taille moyenne.

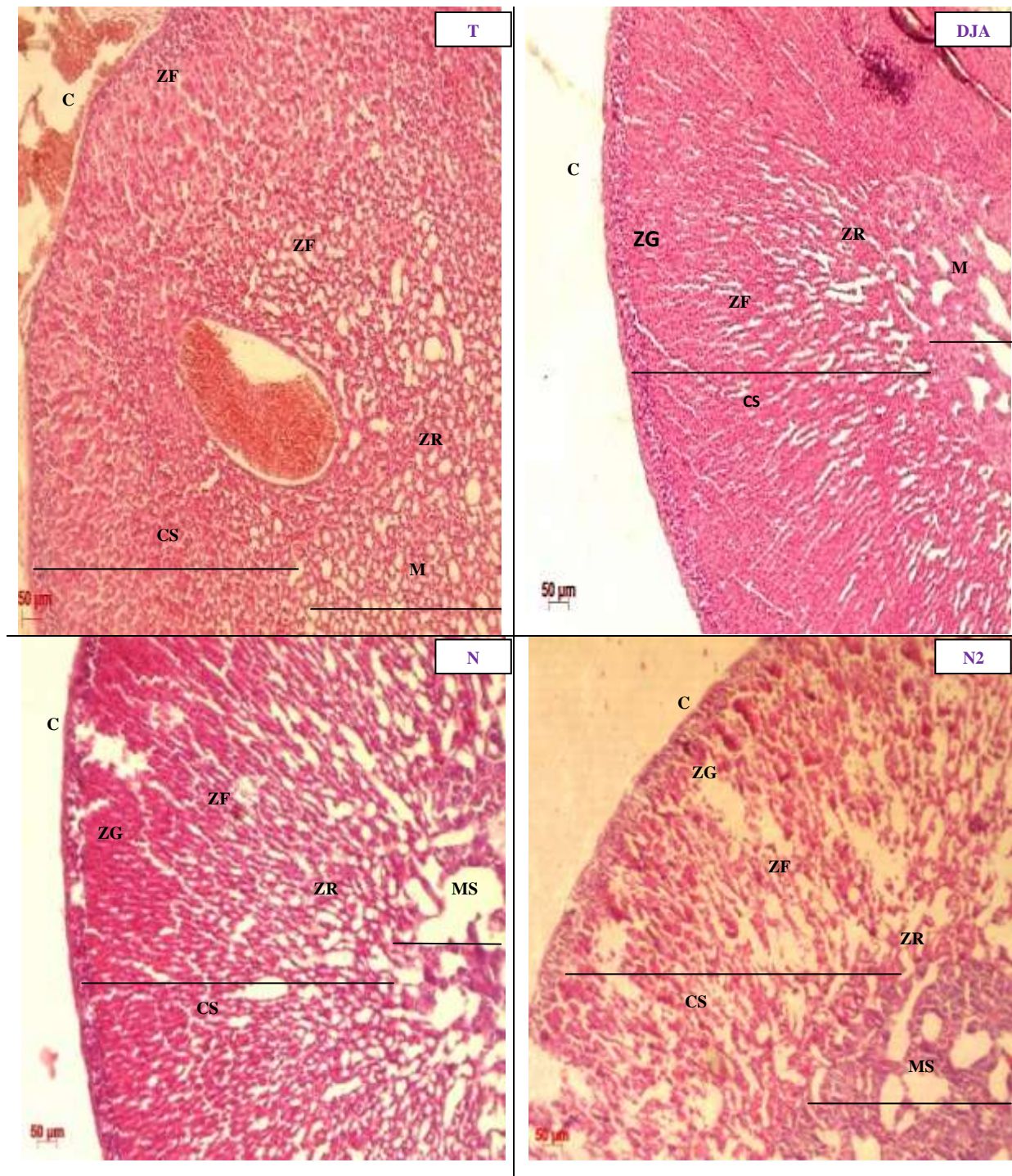
Concernant les lots N et N2, on observe des modifications structurelles qui se manifestent par des cellules qui se sont disséminées, la taille des noyaux est petite comparativement aux témoins et un rétrécissement de lumière. **(Figure24)**

#### 2.1.2 Données histo-morphométriques

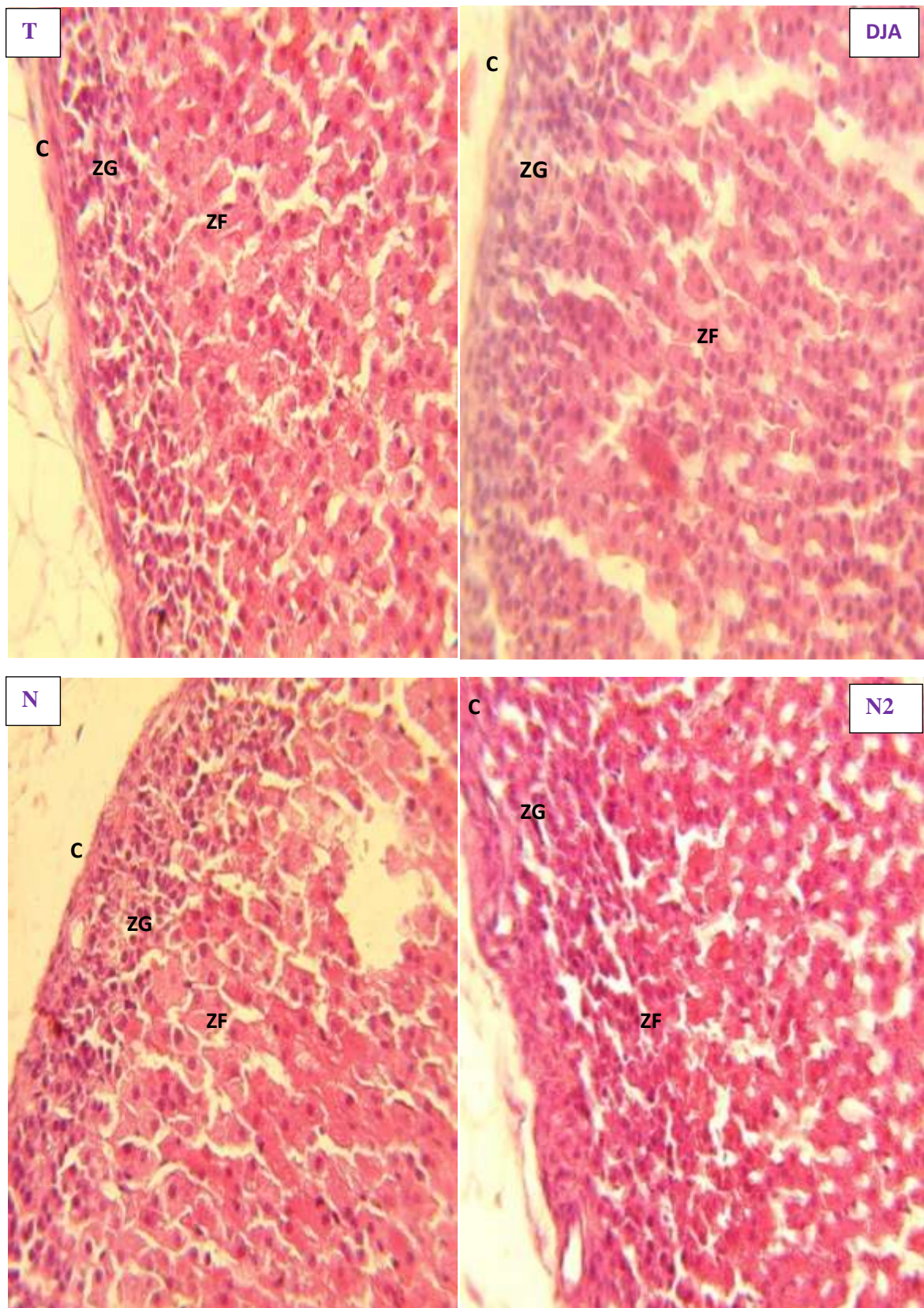
##### 2.1.2.1. Épaisseur du cortex surrénalien

L'épaisseur moyenne de CS chez les rats témoins est de  $726,5 \pm 132,5 \mu\text{m}$ . Pour les trois lots de rats traités avec différentes doses de TMX, nous constatons que l'épaisseur moyenne des rats du lot DJA est de  $681,0 \pm 171,3 \mu\text{m}$ . Cette valeur est supérieure à celles de N et N2, où l'épaisseur moyenne de CS est de  $740,92 \pm 59,14 \mu\text{m}$  et  $871,7 \pm 54,41 \mu\text{m}$ , respectivement. **(Figure 25)**

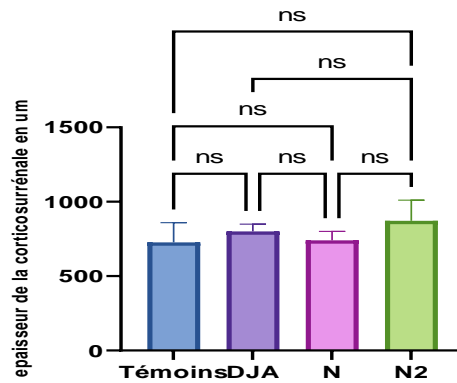
Le lot N2 a la plus grande épaisseur corticale, tandis que les rats témoins ont la plus petite épaisseur corticale.



**Figure 23 :** Coupes histologiques de la glande surrénale des rats adultes témoins (T) et traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noel (N) ou Noel x 2 (N2).  
 C : capsule, CS : corticosurrénale, ZG : zone glomérulée, ZF : zone fasciculée, ZR : zone réticulée, M : médullosurrénale.



**Figure 24** : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats adultes témoins (T) et traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noel (N) ou Noel x 2 (N2) au grossissement x400.  
 C : capsule. CS : corticosurrénale. ZG : zone glomérulée. ZF : zone fasciculée.



**Figure 25** : Epaisseur de la corticosurrénale des rats témoins et ceux traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.1.2.2. Epaisseur des différentes zones corticales

- **Epaisseur de la zone glomérulée**

L'épaisseur moyenne du ZG des rats témoins est de  $56,24 \pm 21,7 \mu\text{m}$ . Cette dernière correspond à la valeur mesurée chez les rats traités avec la dose N2 et porte sur  $48,61 \pm 2,88 \mu\text{m}$ . Dans le lot de rats traités par DJA, l'épaisseur moyenne de ZG était de  $48,81 \pm 12,63 \mu\text{m}$ , ce qui est plus fin que l'épaisseur observée de  $43,6 \pm 3,40 \mu\text{m}$  dans le lot N. (**Figure 26**)

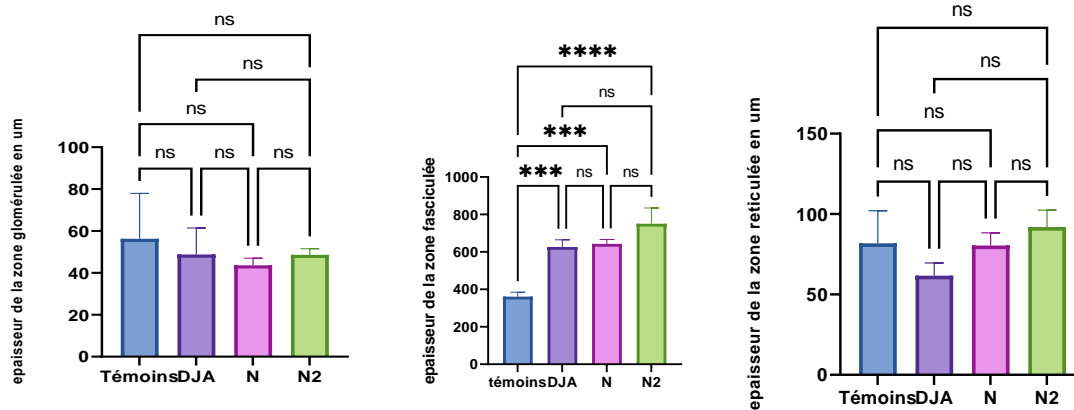
- **Épaisseur de la zone fasciculée**

L'épaisseur moyenne de ZF des rats témoins a atteint une valeur de  $360,84 \pm 25,19 \mu\text{m}$ . Les valeurs pour différents rats traités avec différentes doses de TMX sont respectivement les suivantes :  $626,2 \pm 37,98 \mu\text{m}$  pour le lot DJA,  $642,7 \pm 23,22 \mu\text{m}$  pour le lot N et  $750,81 \pm 83,76 \mu\text{m}$  pour le lot N2. (**Figure 26**)

Chez les rats témoins. La différence entre T et N2 est statistiquement très significative ( $P < 0,0001$ ).

- **Epaisseur de la zone réticulée**

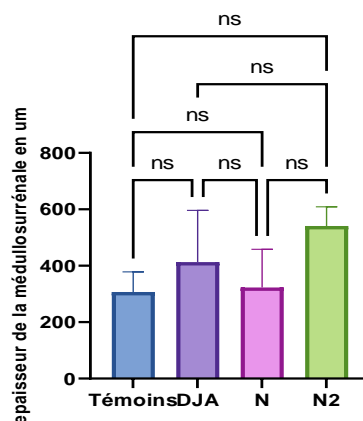
Chez les rats témoins, l'épaisseur moyenne atteint  $81,8 \pm 20,24 \mu\text{m}$ . Différents lots de rats traités ont des valeurs différentes. Une épaisseur moyenne de  $61,74 \pm 7,82 \mu\text{m}$  est observée chez les rats du lot DJA. Cette valeur est inférieure par rapport aux valeurs des lots N et N2 respectivement  $79,89 \pm 11,07 \mu\text{m}$  et  $91,98 \pm 10,41 \mu\text{m}$ . (**Figure 26**)



**Figure 26** : Epaisseur des trois zones de la corticosurrénale des rats témoins et ceux traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noael (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.1.2.3. Épaisseur de la médullosurrénale

Chez les rats témoins, l'épaisseur moyenne de la médullosurrénale (MS) est de  $306,9 \pm 71,60$  µm. Cette valeur est inférieure à celle des rats traités avec différentes doses de TMX. En effet, la valeur relevée pour DJA est de  $412,78 \pm 183,69$  µm, celle de N est de  $323,3 \pm 135,0$  µm et la valeur max de  $540,9 \pm 68,16$  µm est enregistrée pour Nx2. (**Figure27**)



**Figure 27** : Epaisseur de la médullosurrénale des rats témoins et ceux traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noael (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.1.2.4. Diamètre cellulaire et nucléaire des zones corticales

- **Zone glomérulée**

Le diamètre cellulaire (DC) moyen de la zone glomérulée (ZG) du rat témoin est égal à  $4,48 \pm 1,23$  µm. Pour les rats traités, des valeurs presque similaires ont été enregistrées, avec pour DJA :  $4,14 \pm 2,6$  µm et pour N :  $4,39 \pm 1,23$  µm, tandis qu'une valeur inférieure de  $3,35 \pm 0,67$  µm a été enregistrée pour le lot N2.

Le diamètre nucléaire (DN) moyen enregistré chez les rats témoins est de  $2,9 \pm 0,21 \mu\text{m}$ . Des valeurs similaires ont été relevées pour les rats traités avec différentes doses de TMX, où pour DJA, la valeur est de  $2,73 \pm 0,67 \mu\text{m}$  ; pour N de  $2,53 \pm 1,43 \mu\text{m}$  et pour N2, elle est de  $2,76 \pm 0,32 \mu\text{m}$  (**Figure 28**).

- **Zone fasciculée**

Pour les rats témoins, le DC moyen de la zone fasciculée (ZF) est de  $7,45 \pm 2,76 \mu\text{m}$ , similaire à la valeur de  $7,87 \pm 3,6 \mu\text{m}$  pour DJA. Pour les deux lots N et N2, les valeurs sont inférieures, avec  $6,85 \pm 2,55 \mu\text{m}$  et  $5,83 \pm 2,81 \mu\text{m}$  respectivement.

Le DN moyen de la ZF des rats témoins est égal à celui du lot N2 avec les valeurs suivantes :  $3,12 \pm 1,86 \mu\text{m}$  pour T et  $3,14 \pm 1,94 \mu\text{m}$  pour N2. Des valeurs similaires ont été enregistrées pour les deux lots autres lots, à savoir  $2,5 \pm 1,09 \mu\text{m}$  pour DJA et  $2,48 \pm 0,76 \mu\text{m}$  pour N. (**Figure 28**)

- **Zone réticulée**

Le DC de zone réticulée (ZR) des rats témoins est égal à  $6,15 \pm 3,16 \mu\text{m}$ . Pour les rats traités au TMX, nous avons relevé des valeurs de  $6,35 \pm 2,75 \mu\text{m}$  pour la DJA, de  $5,61 \pm 2,09 \mu\text{m}$  pour N et seulement  $3,61 \pm 0,7 \mu\text{m}$  pour N<sub>x</sub>2. Quant au DN, il est de  $5,26 \pm 1,5 \mu\text{m}$  pour les témoins, de  $5,57 \pm 2,09 \mu\text{m}$  pour DJA,  $5,61 \pm 1,98 \mu\text{m}$  pour N<sub>x</sub>2 et presque le double  $9,75 \pm 3,43 \mu\text{m}$  pour N. (**Figure 28**)

### 2.1.2.5. Surfaces cellulaire et nucléaire des zones corticales

- **Zone glomérulée**

Pour les rats témoins, la SC moyenne est de  $15,63 \pm 3,18 \mu\text{m}^2$ . Cette valeur semble être influencée par le traitement. En effet, nous avons obtenu  $12,62 \pm 1,61 \mu\text{m}^2$  pour le lot DJA, et seulement  $9,68 \pm 3,37 \mu\text{m}^2$  et  $8,9 \pm 1,00 \mu\text{m}^2$  pour respectivement N et N2. (**Figure 29**)

La SN moyenne des rats témoins est de  $4,04 \pm 1,20 \mu\text{m}^2$ . Cette valeur ne montre pas de changement chez les rats du lot DJA où elle est de  $4,29 \pm 0,74 \mu\text{m}^2$ , mais elle baisse sensiblement chez les rats de N et N2, avec  $2,63 \pm 0,66 \mu\text{m}^2$  et  $2,47 \pm 0,1 \mu\text{m}^2$ , respectivement pour les deux lots (**Figure 29**).

- **Zone fasciculée**

La SC moyenne pour les rats témoins est de  $16,43 \pm 3,68 \mu\text{m}^2$ . Elle passe à  $17,26 \pm 8,88 \mu\text{m}^2$  chez les rats traités du lot DJA. Ensuite, la valeur de la SC augmente davantage pour atteindre  $19,03 \pm 9,28 \mu\text{m}^2$  chez les rats du lot N puis baisse pour enregistrer  $17,27 \pm 3,63 \mu\text{m}^2$  chez mâles rats de N2. (**Figure 29**)

Quant à la SN moyenne, elle est de  $4,04 \pm 1,19 \mu\text{m}^2$  pour les témoins. La valeur de la SN ne change pas avec le traitement à la dose DJA  $4,043 \pm 0,42 \mu\text{m}^2$ , mais baisse sensiblement avec des doses plus fortes pour atteindre  $2,62 \pm 0,66 \mu\text{m}^2$  chez les rats N et  $2,47 \pm 0,10 \mu\text{m}^2$  chez les rats N2. (Figure 29)

• Zone réticulée

La SC moyenne pour les rats témoins est de  $62,04 \pm 24,17 \mu\text{m}^2$ . Elle ne change pas significativement sous l'effet du traitement à différentes doses de TMX, en effet, les SC enregistrées sont de  $65,12 \pm 6,20 \mu\text{m}^2$ ,  $50,21 \pm 0,99 \mu\text{m}^2$  et  $61,03 \pm 7,95 \mu\text{m}^2$  chez les rats des lots DJA, N et N2 respectivement. (Figure 29)

Concernant la SN moyenne, elle est de  $19,24 \pm 6,58 \mu\text{m}^2$  pour les témoins.  $16,26 \pm 5,73 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $19 \pm 4,19 \mu\text{m}^2$  pour N et  $16,68 \pm 1,54 \mu\text{m}^2$  pour N2 (Figure 29). Elle ne semble pas changer sous l'influence du traitement au TMX.

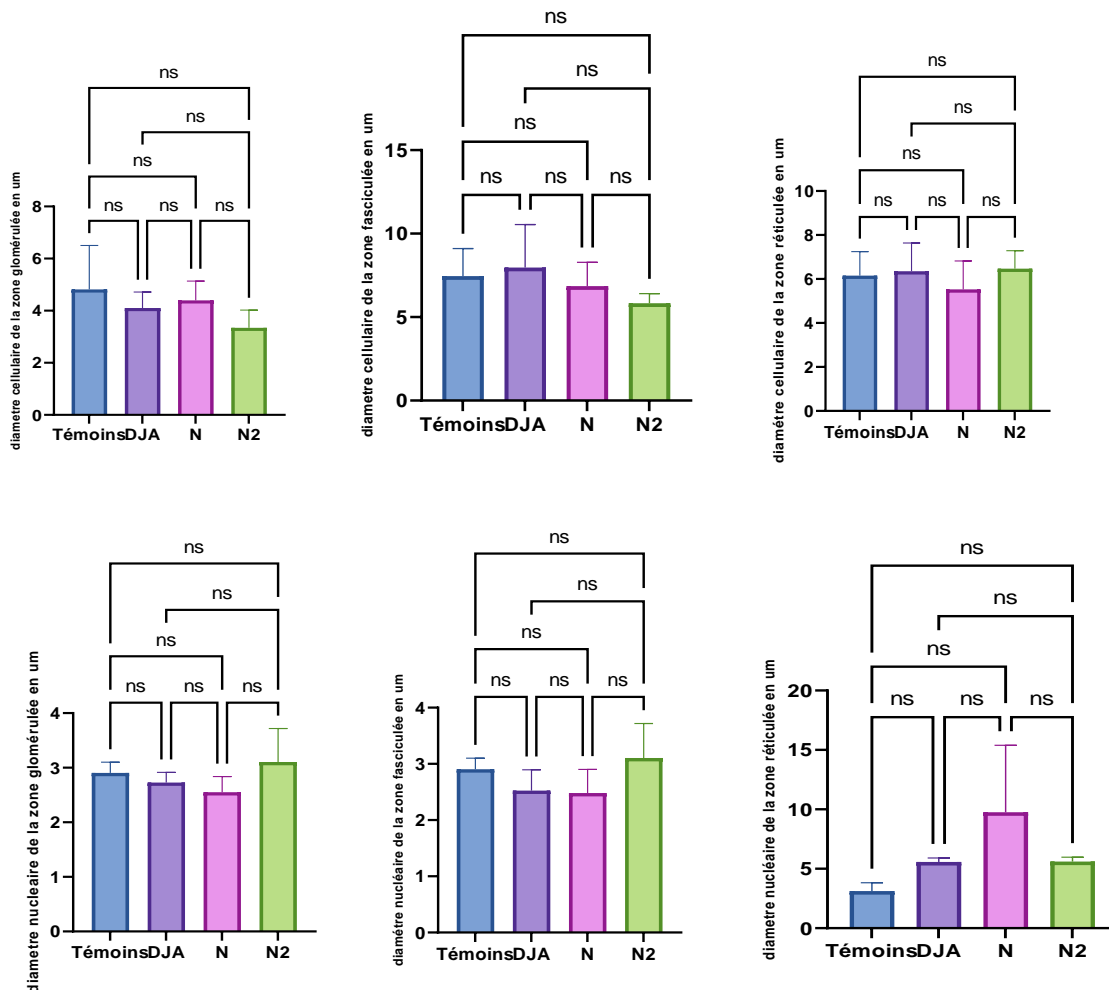
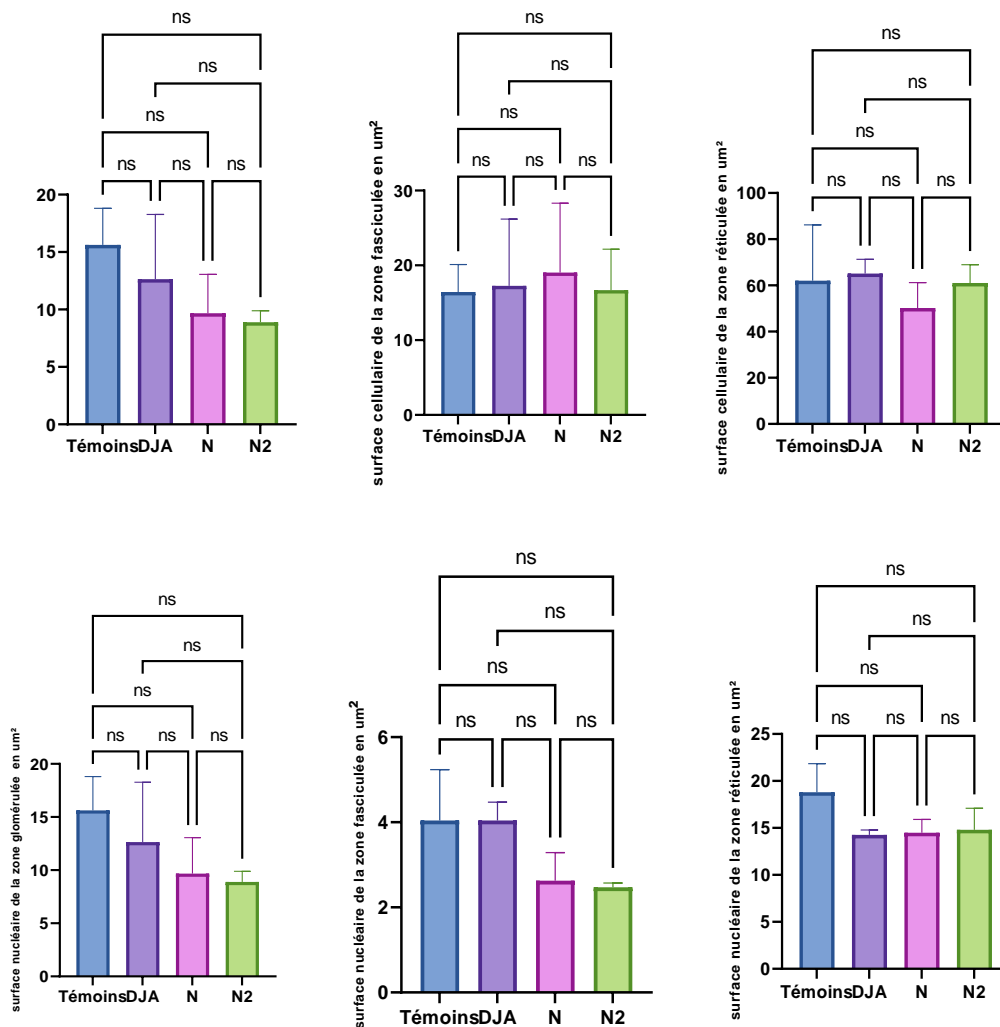


Figure 28 : Diamètres cellulaires et nucléaires des trois zones corticales des rats témoins et ceux traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).



**Figures 29 :** Surfaces cellulaires et nucléaires des trois zones corticales des rats témoins et ceux traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.1.2.6. Rapport nucléo-cytoplasmique des trois zones corticales

- **Zone glomérulée**

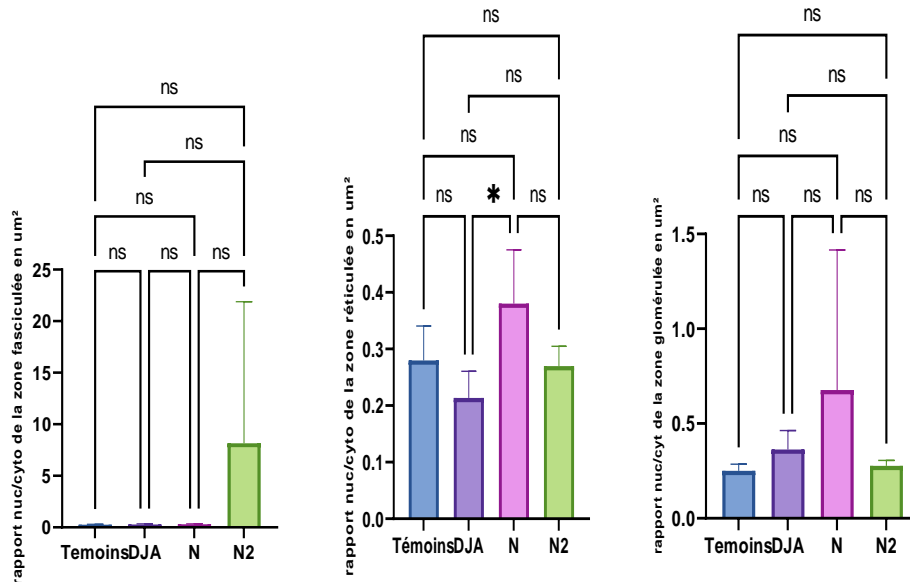
Le rapport nucléo-cytoplasmique moyen dans la ZG chez les témoins est de  $0,25 \pm 0,03$ . Il ne change pas significativement après traitement au TMX où les valeurs sont de  $0,36 \pm 0,1$  pour le lot DJA,  $0,67 \pm 0,79$  pour N et  $0,27 \pm 0,02$  pour N2. **(Figure 30)**

- **Zone fasciculée**

Pour la ZF, le rapport nucléo-cytoplasmique moyen est de  $0,25 \pm 0,05$  pour les témoins. Cette valeur est similaire à celle obtenue pour les lots DJA  $0,28 \pm 0,06$  et N  $0,29 \pm 0,05$ . La valeur obtenue pour N2  $8,17 \pm 13,71$  est supérieure à celles des lots autres lots même si la différence reste non significative. **(Figure30)**

• **Zone réticulée**

Au niveau de la ZR, le rapport nucléo-cytoplasmique moyen est de  $0,28 \pm 0,06$  pour les témoins. Les valeurs obtenues pour les lots traités avec le TMX sont de  $0,21 \pm 0,04$  pour DJA,  $0,38 \pm 0,09$   $\mu\text{m}^2$  pour N et  $0,27 \pm 0,03$  pour N2. Ces valeurs ne sont pas différentes statistiquement de celle des témoins. (**Figure 30**)



**Figure 30** : Rapport nucléo-cytoplasmique des trois zones corticales des rats témoins et ceux traités au thiamétoxame (TMX) à différentes doses ; la dose journalière admissible (DJA), la dose sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

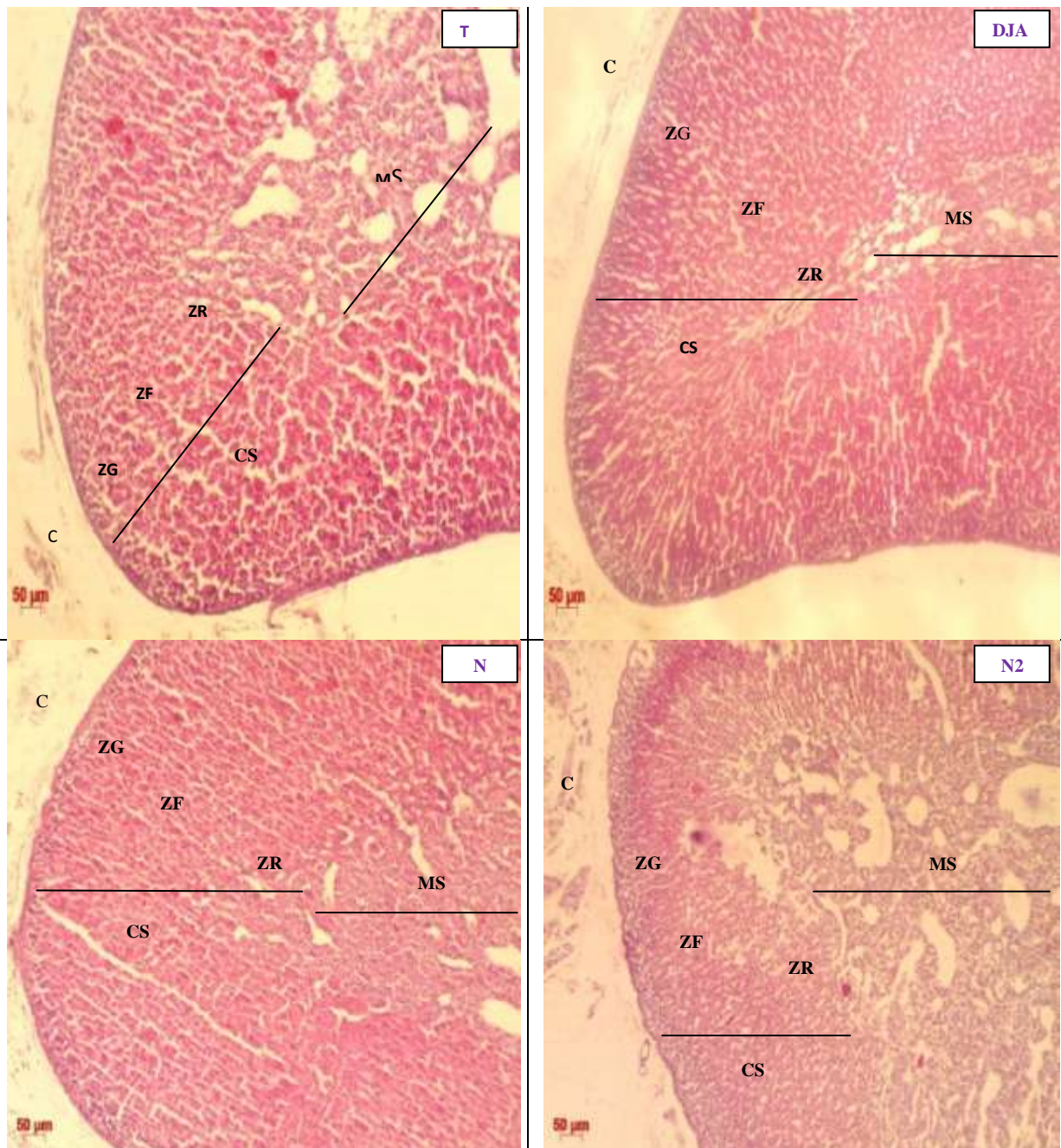
**2.2. Impact du traitement au thiamétoxame des parents sur le développement postnatal des glandes surrénales des rats de la génération 1**

**2.2.1. Histo-morphométrie de la glande surrénale des rats âgés de 20 jours**

**2.2.1.1. Aspect histologique de la surrénale des rats de 20 jours**

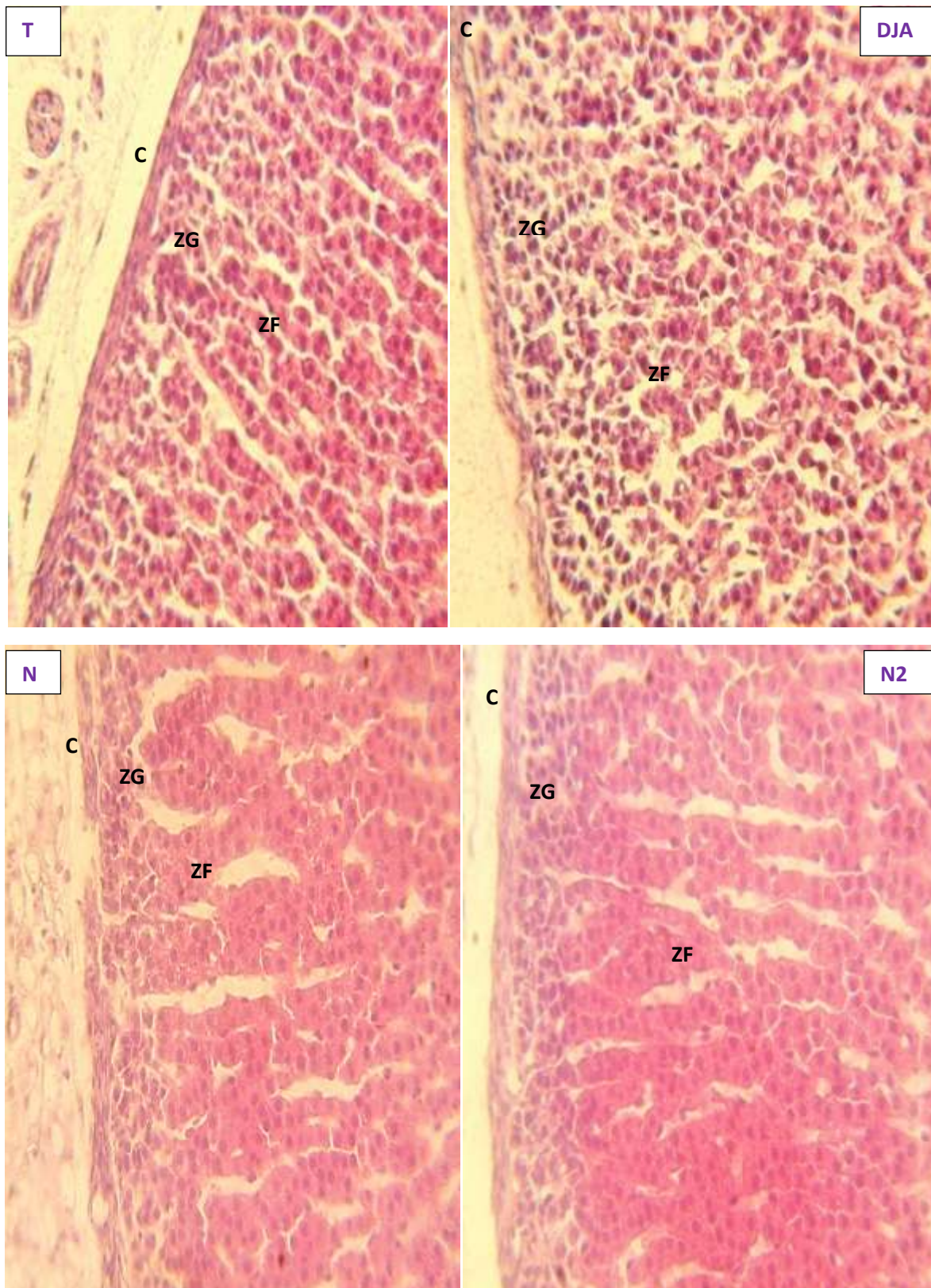
Le grossissement x100 nous a permis de voir la morphologie générale de la glande surrénale et ses constituants chez les jeunes rats de 20 jours. (**Figure 31**)

L'examen histologique des coupes de la surrénale des rats de 20j observées au fort grossissement (x400) a révélé des altérations chez les rats des lots traités au TMX (DJA, N et N2) comparativement au lot témoins (T). En effet, pour le lot DJA, les cellules sont disséminées dans la mesure où elles n'adhèrent pas suffisamment les unes aux autres, aussi, leurs noyaux semblent plus petits comparativement à ceux des rats témoins. Concernant les deux lots N et N2, les cellules sont allongées, petites et regroupées en amas. Toutefois, une déstructuration du cortex surrénalien (CS) apparaît chez les groupes traités par différentes doses du TMX. (**Figure 32**)



**Figure 31 :** Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

C : capsule, CS : corticosurrénale, ZG : zone glomérulée, ZF : zone fasciculée, ZR : zone réticulée, MS : médullosurrénale.

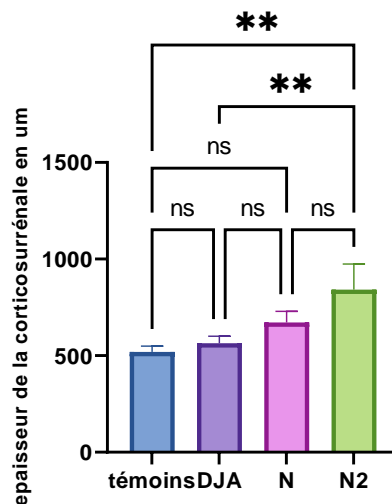


**Figure 32 :** Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2) au grossissement x 400.  
 C : capsule, ZG : zone glomérulée, ZF : zone fasciculée.

### 2.2.1.2. Données morphométriques de la surrénale des rats de 20 jours

#### 2.2.1.2.1. Épaisseur du cortex surrénalien des rats de 20 jours

Chez les rats de 20 jours, l'épaisseur moyenne du cortex surrénalien chez les témoins est de  $519,27 \pm 30,02 \mu\text{m}$ . Elle ne change pas significativement chez le lot DJA, où elle est  $564,87 \pm 36,01 \mu\text{m}$ , ainsi que chez le lot N, où elle est de  $671,9 \pm 57,92 \mu\text{m}$ . En revanche, l'épaisseur du cortex des rats recevant la dose N2  $841,94 \pm 132,22 \mu\text{m}$  est largement supérieure ( $P < 0,02$ ) à celle des témoins et DJA. (Figure 33)



**Figure 33 :** Epaisseurs de la corticosurrénale des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

#### 2.2.1.2.2. Epaisseur des trois zones corticales des rats de 20 jours

- **Zone glomérulée**

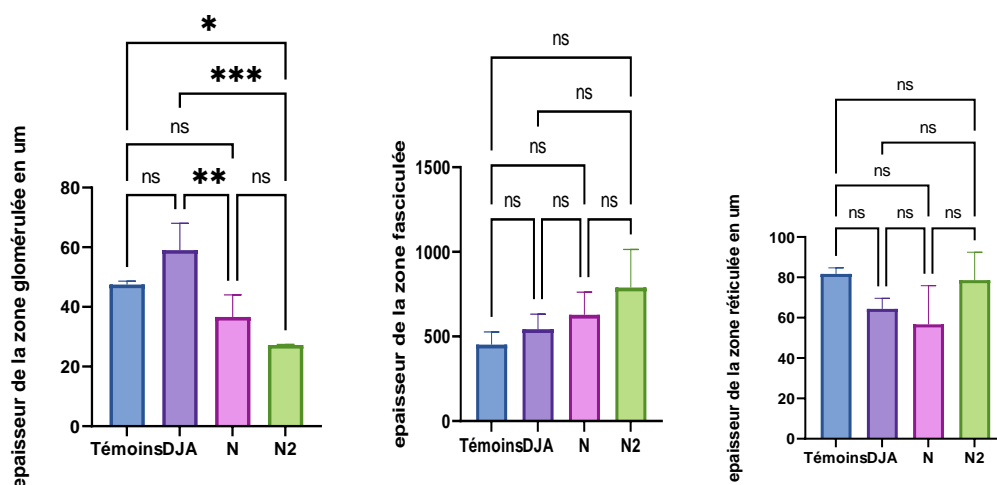
L'épaisseur de la zone glomérulée chez les rats témoins est de  $47,47 \pm 1,18 \mu\text{m}$ . Cette valeur ne change pas statistiquement avec la DJA  $59,00 \pm 9,01 \mu\text{m}$ . Pour les deux lots N et N2, les épaisseurs moyennes de la ZG sont quasiment les mêmes avec les valeurs suivantes :  $36,63 \pm 7,42 \mu\text{m}$  et  $27,25 \pm 0,16 \mu\text{m}$ . (Figure 34)

- **Zone fasciculée**

L'épaisseur moyenne de ZF des rats témoins est de  $451,8 \pm 75,09 \mu\text{m}$ . Les valeurs enregistrées pour les trois lots de rats traités au TMX, en l'occurrence  $542,75 \pm 88,98 \mu\text{m}$  pour DJA,  $628,67 \pm 133,44 \mu\text{m}$  pour lot N et  $789,28 \pm 224,77 \mu\text{m}$  pour N2, ne sont différentes ( $P > 0,05$ ) de celle des témoins. (Figure 34)

### • Zone réticulée

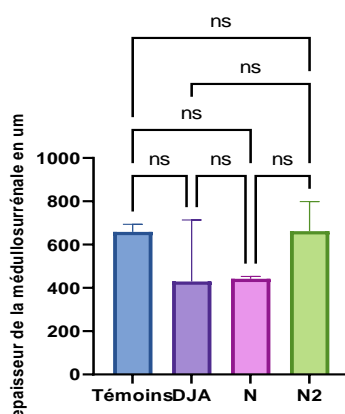
L'épaisseur moyenne de ZR chez les rats du lot T est de  $81,70 \pm 3,05 \mu\text{m}$ . Le TMX ne semble pas avoir un impact sur ce paramètre ( $P > 0,05$ ), en effet, les valeurs relevées pour DJA, N et N2 sont respectivement de  $64,3 \pm 5,24 \mu\text{m}$ ,  $56,73 \pm 19,14 \mu\text{m}$  et  $78,61 \pm 13,88 \mu\text{m}$ . (**Figure 34**)



**Figure 34** : Epaisseurs des trois zones corticales des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.2.1.2.3. Epaisseur de la médullosurrénale des rats de 20 jours

L'épaisseur moyenne de la médullosurrénale (MS) chez les rats témoins est de  $658,9 \pm 35,00 \mu\text{m}$ . Elle n'est statistiquement pas différente ( $P > 0,05$ ) des valeurs enregistrées chez les rats traités avec du TMX, aussi bien chez DJA  $429,54 \pm 284,11 \mu\text{m}$  que chez N  $442,32 \pm 10,83 \mu\text{m}$  ou encore N2  $661,65 \pm 137,01 \mu\text{m}$ . (**Figure 35**)



**Figure 35** : Epaisseur de la médullosurrénale des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

2.2.1.2.4. Diamètres cellulaire et nucléaire des zones corticales des rats de 20 jours

• Zone glomérulée

Le diamètre cellulaire (DC) moyen de la ZG des rats témoins est  $4,05 \pm 0,01 \mu\text{m}$ , valeur qui ne change pas sous l'effet du traitement au TMX. En effet, le DC est de  $3,85 \pm 0,40 \mu\text{m}$  pour XDJA,  $4,84 \pm 1,03 \mu\text{m}$  pour N et  $4,46 \pm 0,81 \mu\text{m}$  pour N2. (Figure 36)

De même, le diamètre nucléaire (DN) moyen des cellules de la ZG des rats du lot T ( $2,95 \pm 1,70 \mu\text{m}$ ) n'est pas significativement différents de celui de DJA ( $2,85 \pm 0,10 \mu\text{m}$ ), N ( $2,93 \pm 0,31 \mu\text{m}$ ) et N2 ( $3,06 \pm 0,47 \mu\text{m}$  ; Figure 36).

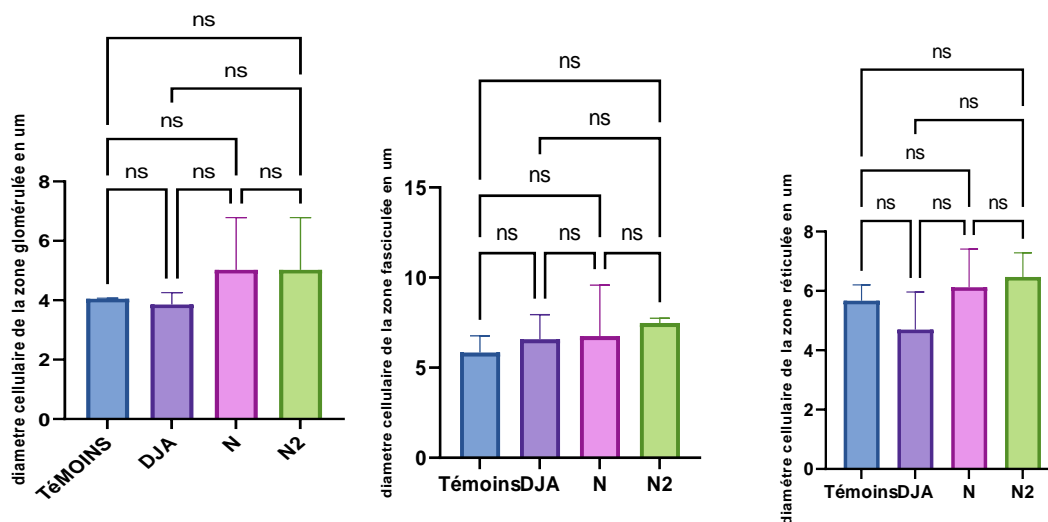
• Zone fasciculée

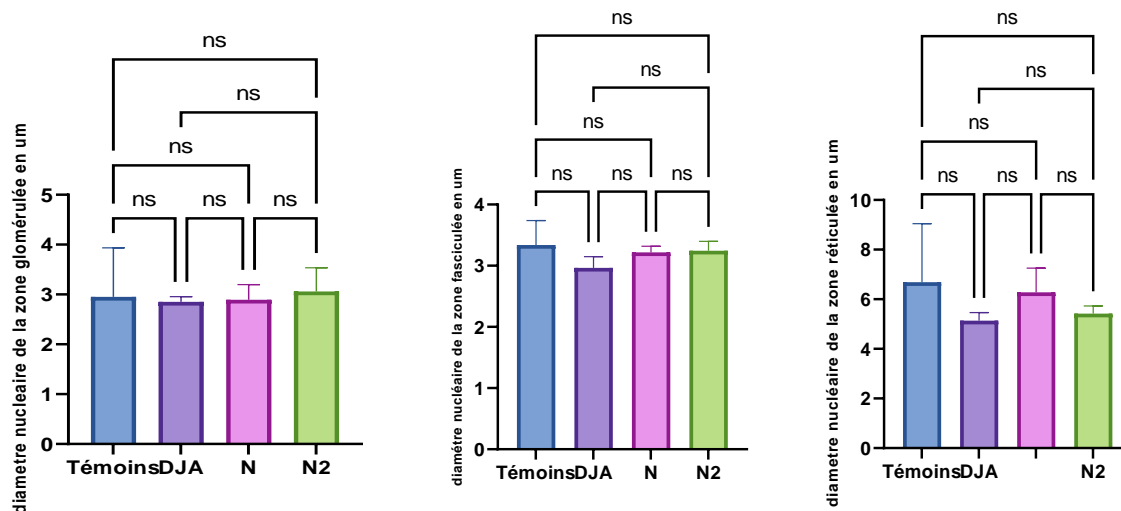
Le DC moyen de la ZF des rats témoins est de  $5,84 \pm 0,92 \mu\text{m}$ . Pour les rats traités, la valeur obtenue pour DJA  $6,58 \pm 1,36 \mu\text{m}$ , celle de N est  $6,75 \pm 2,82 \mu\text{m}$  et enfin  $7,47 \pm 0,26 \mu\text{m}$  pour N2. Quant au DN, il est de  $3,34 \pm 0,39 \mu\text{m}$  pour les rats T,  $2,96 \pm 0,18 \mu\text{m}$  pour DJA,  $3,21 \pm 0,10 \mu\text{m}$  pour N et  $3,24 \pm 0,15 \mu\text{m}$  pour N2. (Figure 36)

Cependant, la comparaison aussi bien des DC que des DN entre les rats témoins et les lots de rats traités ne montre aucune différence significative ( $P > 0,05$  ; Figure 36)

• Zone réticulée

Le DC moyen de la ZR est de  $5,67 \pm 0,52 \mu\text{m}$  pour les rats témoins,  $5,32 \pm 1,18 \mu\text{m}$  pour DJA,  $6,12 \pm 1,28 \mu\text{m}$  pour le lot N et  $6,43 \pm 0,87 \mu\text{m}$  pour N2. La comparaison de ces valeurs ne révèle aucune différence ( $P > 0,05$ ). Il en est de même pour les diamètres nucléaires ( $P > 0,05$ ), avec des valeurs de  $6,68 \pm 2,35 \mu\text{m}$ ,  $5,14 \pm 0,32 \mu\text{m}$ ,  $6,27 \pm 0,67 \mu\text{m}$ ,  $5,42 \pm 0,3 \mu\text{m}$  pour Les lots témoin, DJA, N et N2, respectivement. (Figure 36)





**Figure 36 :** Diamètres cellulaire et nucléaire des trois zones corticales des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noael (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.2.1.2.5. Surface cellulaire et surface nucléaire des zones corticales des rats de 20 jours

- **Zone glomérulée**

La surface cellulaire moyenne de la ZG est de  $14,1 \pm 3,86 \mu\text{m}^2$ ,  $12,23 \pm 1,19 \mu\text{m}^2$ ,  $9,36 \pm 1,08 \mu\text{m}^2$  et  $10,55 \pm 1,87 \mu\text{m}^2$ , respectivement pour les lots T, DJA, N et N2. La comparaison de ces valeurs ne montre aucune différence notable ( $P > 0,05$ ).

Pour la même zone, la SN moyenne est des rats DJA  $3,92 \pm 0,35 \mu\text{m}^2$  est proche de celle des rats témoins  $4,31 \pm 0,07 \mu\text{m}^2$ . Cependant, les valeurs enregistrées pour N  $3,12 \pm 0,20 \mu\text{m}^2$  et N2  $3,41 \pm 0,73 \mu\text{m}^2$  sont inférieures ( $P < 0,2$ ) à celles des témoins. (**Figure37**)

- **Zone fasciculée**

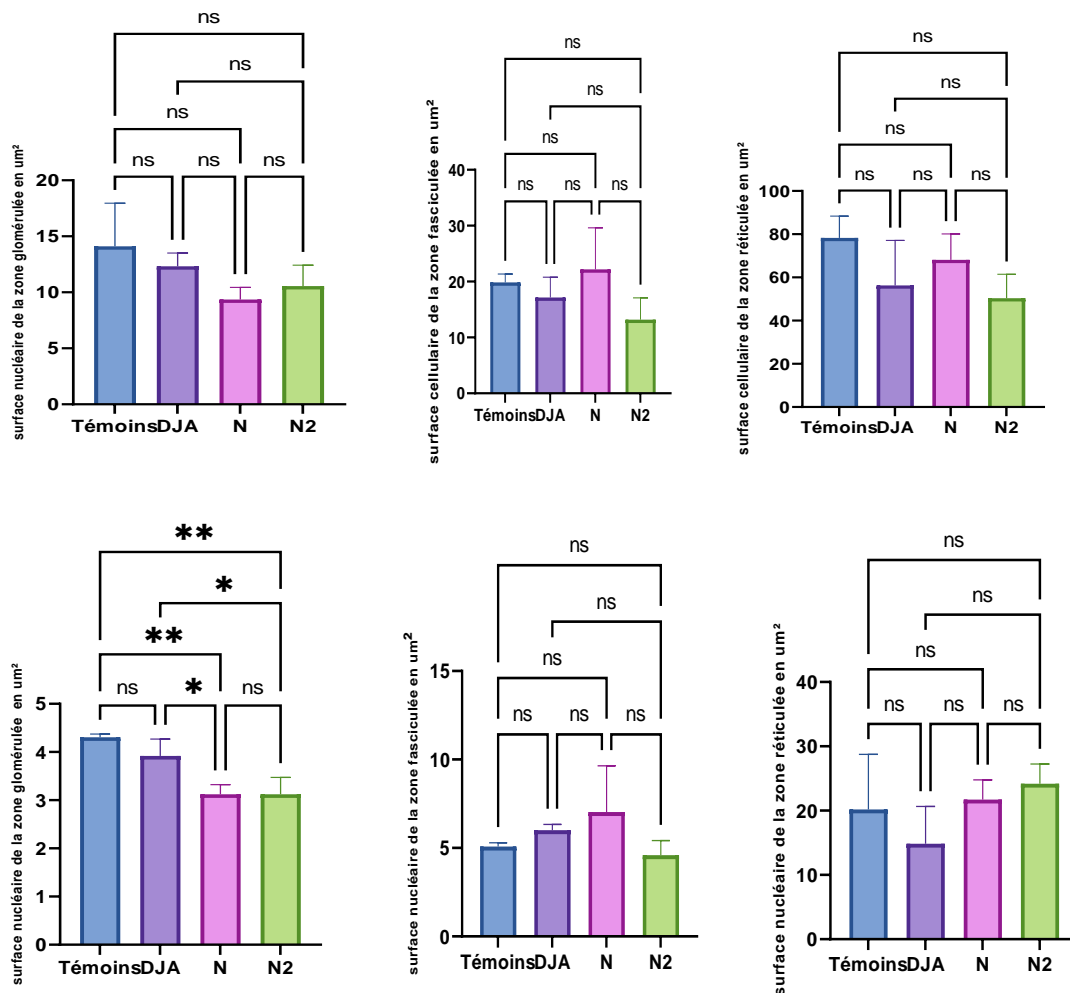
La SC moyenne de la ZF des rats témoins est de  $20,02 \pm 2,32 \mu\text{m}^2$ . Les valeurs relevées pour les rats traités ne sont significativement différentes de celle des témoins. Elles sont de  $17,14 \pm 3,64 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $22,18 \pm 7,44 \mu\text{m}^2$  pour N, et  $13,18 \pm 3,89 \mu\text{m}^2$  pour N2.

Pour ce qui est de la SN, elle est de  $5,08 \pm 0,2 \mu\text{m}^2$  pour le lot T,  $5,2 \pm 1,25 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $7,03 \pm 2,61 \mu\text{m}^2$  pour N et  $4,59 \pm 0,82 \mu\text{m}^2$  pour N2. Toutes ces valeurs sont proches les unes des autres. (**Figure37**)

- **Zone réticulée**

La SC moyenne de la ZR est de  $78,3 \pm 10,11 \mu\text{m}^2$  pour T,  $51,52 \pm 27,1 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $68,14 \pm 11,98 \mu\text{m}^2$  pour N et enfin  $50,36 \pm 27$  pour N2. Concernant la surface nucléaire, les valeurs moyennes enregistrées sont  $20,19 \pm 11,99 \mu\text{m}^2$  pour T,  $16,67 \pm 0,51 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $21,72 \pm 2,56$

$\mu\text{m}^2$  pour N et  $24,2 \pm 2,15 \mu\text{m}^2$  pour N2. Aucune différence significative entre le lot et les traités n'est relevée (aussi bien pour la SC que pour la SN. (Figure 37)



**Figure 38** : Surfaces cellulaire et nucléaire des zones corticales des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

#### 2.2.1.2.6. Rapport nucléo-cytoplasmique

- **Zone glomérulaire**

Les valeurs moyennes enregistrées pour les quatre lots sont :  $0,31 \pm 0,08$  pour T,  $0,0316 \pm 0,04$  pour la DJA,  $0,32 \pm 0,02$  pour N et  $0,31 \pm 0,01$  pour N2. (Figure 38)

La comparaison de ces moyennes ne révèle aucune différence significative ( $P > 0,05$ ).

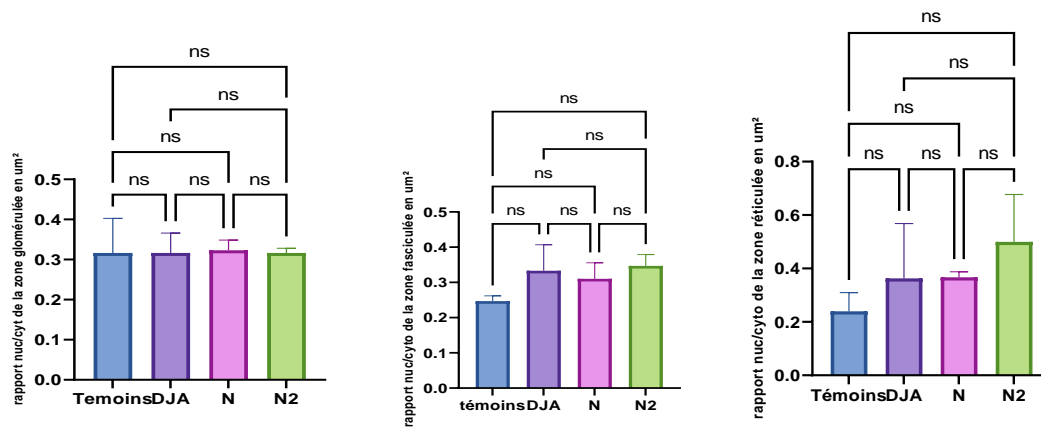
- **Zone fasciculée**

Le rapport nucléaire/cytoplasmique moyen de la ZF chez les rats témoins est de  $0,24 \pm 0,01$ . Cette valeur est légèrement inférieure à celle des rats traités au TMX : DJA, N et N2, avec respectivement  $0,33 \pm 0,07$ ,  $0,31 \pm 0,04$  et  $0,34 \pm 0,03$ . (Figure 38)

Cependant, statistiquement les différences ne sont pas significatives ( $P > 0,05$ ).

• **La Zone réticulée**

De même le traitement ne semble pas influencé le rapport N/ C de la ZF. Les valeurs relevées sont  $0,24 \pm 0,07$  pour T,  $0,36 \pm 0,2$  pour DJA et  $0,36 \pm 0,02$  pour N, et  $0,5 \pm 0,17$  pour N2. (**Figure 38**)



**Figure 38 :** Rapport nucléo cytoplasmique des trois zones corticales des rats âgés de 20 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

**2.2.2. Histo-morphométrie de la glande surrénale des rats âgés de 60 jours**

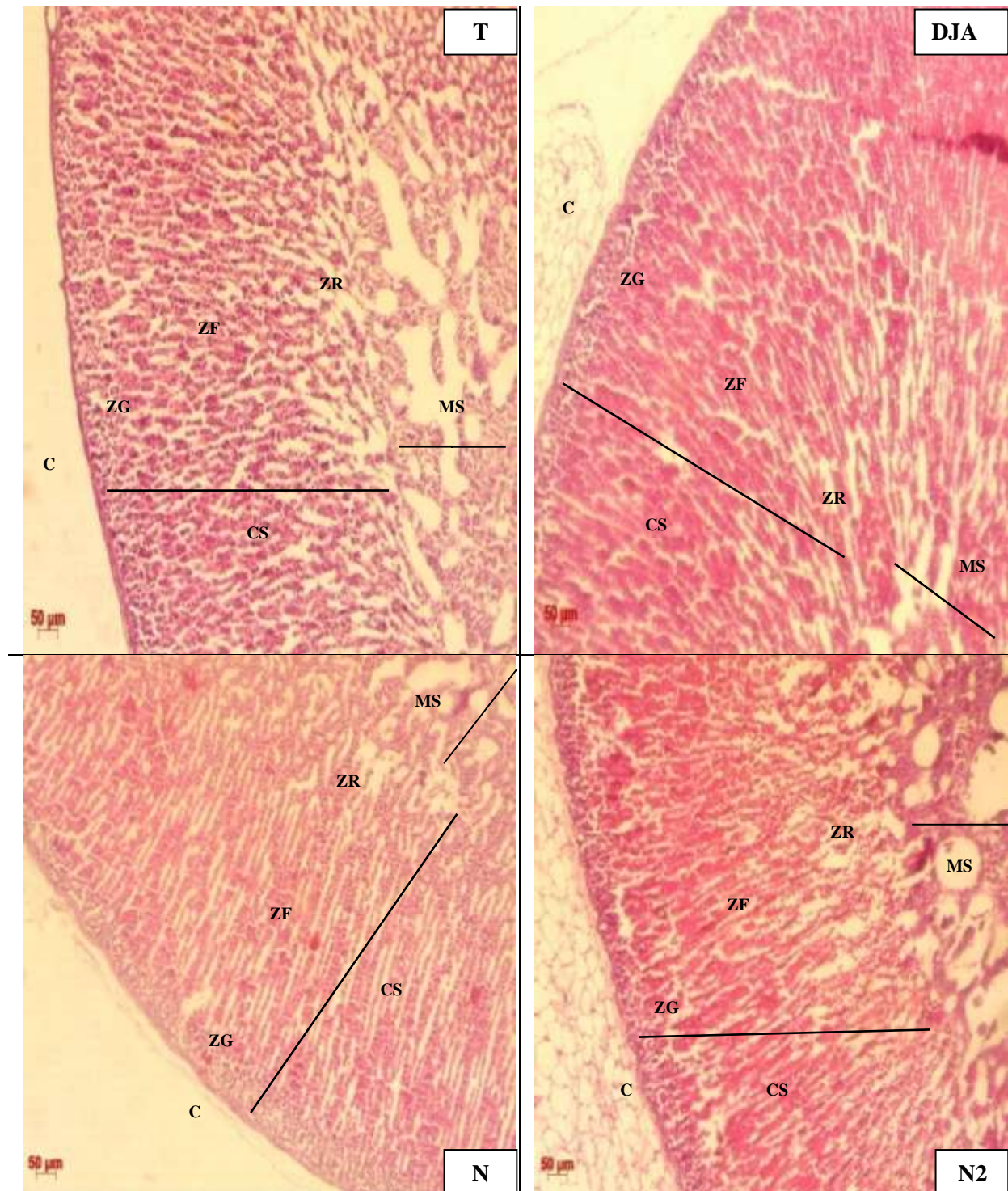
**2.2.2.1. Aspect histologique de la surrénale des rats de 60 jours**

Le grossissement x100 nous a permis de distinguer les couches qui constituent la glande surrénale chez les rats âgés de 60 jours. Nous avons remarqué une augmentation de l'épaisseur de la zone glomérulée des lots DJA, N et N2 par rapport à celle du lot témoin. (**Figure 39**)

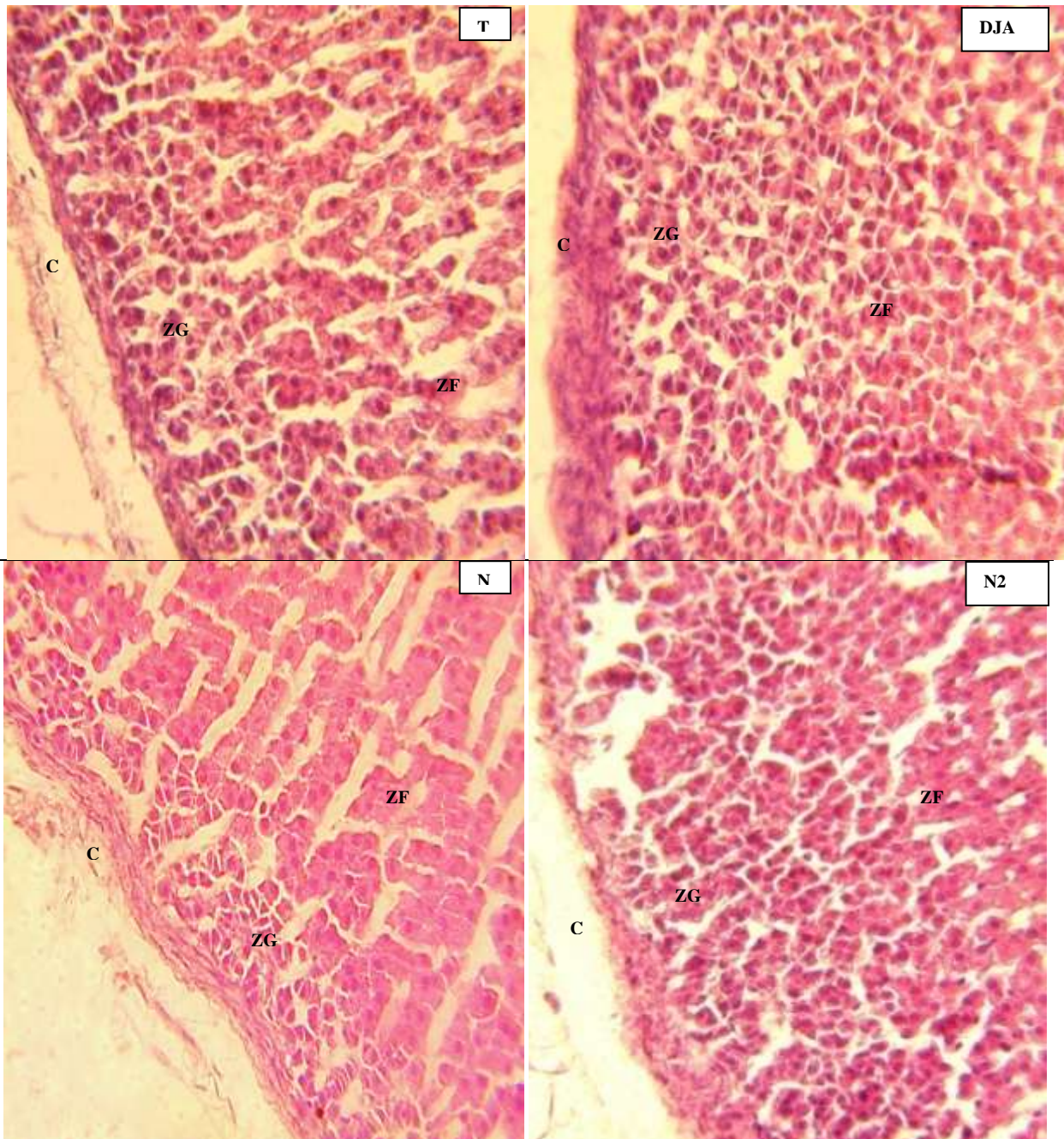
Avec le grossissement x400, nous avons confirmé l'observation citée ci-dessus. Les cellules qui constituent la zone glomérulée sont bien regroupées en amas avec des noyaux bien visibles pour les lots T et DJA. En revanche, pour les lots N et N2 les cellules de cette région sont petites, disséminées avec des noyaux peu visibles.

Et par rapport à la zone fasciculée, on peut bien remarquer chez les lots T et DJA que les cellules sont allongées, regroupées en amas avec des noyaux arrondis et bien visibles. Contrairement aux lots N et N2 dont cette zone a connu des modifications structurelles qui se manifestent par : la diminution de la taille des cellules avec des noyaux difficilement visibles ainsi qu'un élargissement de la lumière autour d'elles.

On peut aussi remarquer l'augmentation de l'épaisseur de la capsule surtout chez les lots DJA, N et N2 par rapport à celle du lot T. (**Figure 40**)



**Figure 39** : Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2)  
 C : capsule, CS : corticosurrénale, ZG : zone glomérulée, ZF : zone fasciculée, ZR : zone réticulée, MS : médullosurrénale



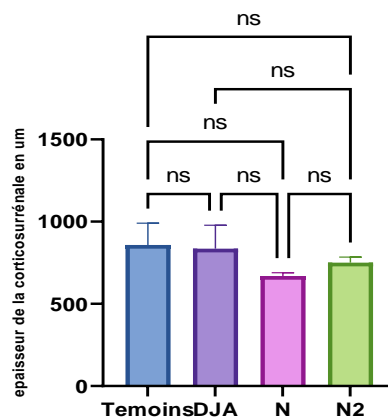
**Figure 40 :** Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noel x 2 (N2) au grossissement x400. C : capsule, ZG : zone glomérulée, ZF : zone fasciculée.

### 2.2.2.2. Données morphométriques de la surrénale des rats de 60 jours

#### 2.2.2.2.1. Épaisseur du cortex surrénalien des rats de 60 jours

- **Épaisseur de la corticosurrénale**

L'épaisseur de la corticosurrénale des rats des lots T qui égale à  $716,83 \pm 57,80 \mu\text{m}$  est presque la même avec celle du lot DJA qui est de  $669,37 \pm 20,11 \mu\text{m}$ . Par contre, elle a connu une légère diminution chez lots N avec  $556,05 \pm 34,15 \mu\text{m}$  et N2 avec  $653,28 \pm 130,79 \mu\text{m}$ . (**Figure 41**)



**Figure 41** : Épaisseur de la corticosurrénale des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

#### 2.2.2.2.2. Épaisseur des trois zones corticales des rats de 60 jours

- **Épaisseur de la zone glomérulée**

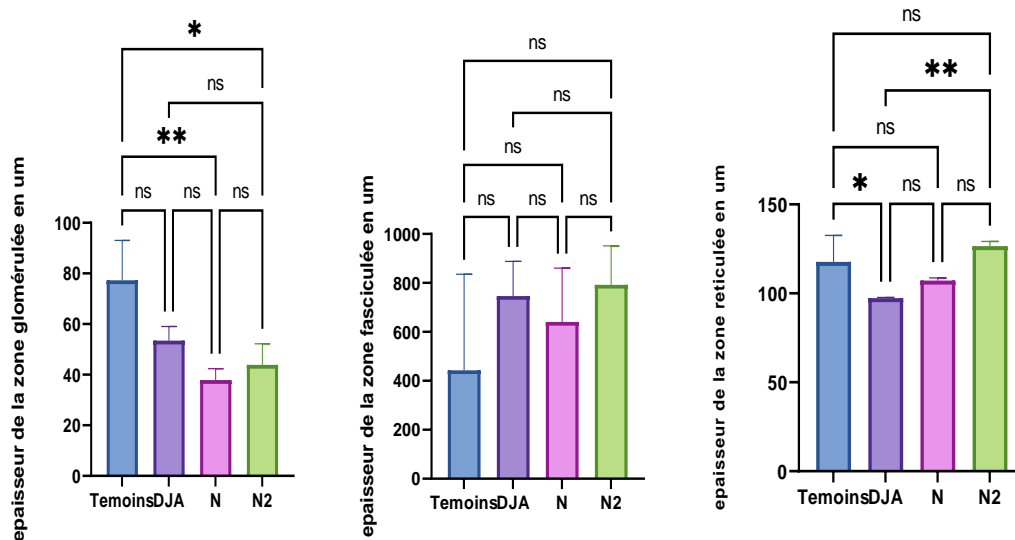
L'épaisseur de la zone glomérulée chez le lot T est de  $73,92 \pm 14,03 \mu\text{m}$ . Les valeurs de ce paramètre ont connu une diminution avec une valeur minimale qui égale à  $38,02 \pm 4,35 \mu\text{m}$  chez le lot N,  $43,88 \pm 8,28 \mu\text{m}$  chez lot N2 et  $53,13 \pm 6,13 \mu\text{m}$  chez lot DJA. La comparaison montre une différence statistiquement très significative ( $P < 0,01$ ). (**Figure 42**)

- **Épaisseur de la zone fasciculée**

L'épaisseur moyenne de la zone fasciculée du lot T est  $442,06 \pm 102,94 \mu\text{m}$ . Cette valeur est inférieure par rapport à celles des lots DJA, N et N2 qui sont respectivement les suivantes:  $760,22 \pm 130,89 \mu\text{m}$  ;  $792,19 \pm 159,02 \mu\text{m}$  et  $640,79 \pm 220,01 \mu\text{m}$ . (**Figure 42**)

• **Épaisseur de la zone réticulée**

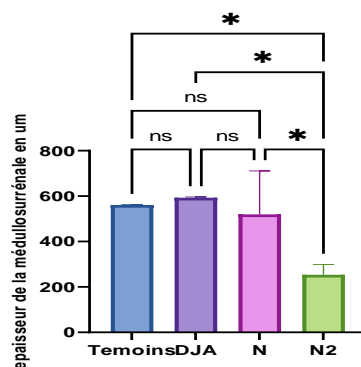
L'épaisseur moyenne de la zone réticulée du lot T égale à  $114,62 \pm 19,60 \mu\text{m}$ . Cette valeur est approximativement la même chez les lots N avec  $108,75 \pm 1,02 \mu\text{m}$  et N2 avec  $128,34 \pm 0,95 \mu\text{m}$ . Et elle a légèrement diminuée chez le lot DJA avec  $97,17 \pm 1,29 \mu\text{m}$ . la différence étudiée est significative ( $P < 0,01$ ). (**Figure 42**).



**Figure 42** : Épaisseur des trois zones corticales des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

**2.2.2.2.3. Épaisseur de la médullosurrénale des rats de 60 jours**

Le lot T a enregistré une épaisseur moyenne qui égale à  $560,01 \pm 3,54 \mu\text{m}$ . Cette valeur n'est pas statiquement ( $P > 0,05$ ) différente de celle du lot DJA avec  $592,24 \pm 0,88 \mu\text{m}$  et N avec  $387,78 \pm 0,86 \mu\text{m}$ . En revanche, la valeur enregistrée pour N2  $267,23 \pm 55,17 \mu\text{m}$  est largement inférieure ( $P \leq 0,05$ ) par rapport à celles des autres lots (**Figure 43**).



**Figure 43** : Épaisseur de la médullosurrénale des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

2.2.2.2.4. Diamètres cellulaire et nucléaire des zones corticales des rats de 60 jours

- **Zone glomérulée**

Le diamètre cellulaire moyen de la ZG des rats du lot T est de  $6,16 \pm 1,54 \mu\text{m}$ . Le traitement au TMX n'a pas d'effet significatif sur le DC ; les valeurs enregistrées sont de  $4,79 \pm 0,26 \mu\text{m}$ ,  $6,76 \pm 0,53 \mu\text{m}$  et  $6,31 \pm 0,71 \mu\text{m}$ , respectivement pour DJA, N et N2. (**Figure 43**)

Concernant le diamètre nucléaire moyen de la ZG, il est de  $3,20 \pm 0,63 \mu\text{m}$ ,  $2,70 \pm 0,21 \mu\text{m}$ ,  $3,02 \pm 0,46 \mu\text{m}$  et  $3,33 \pm 0,49 \mu\text{m}$  pour les lots T, DJA, N, N2, respectivement. La différence est peu significative ( $P < 0,05$ ). (**Figure 43**)

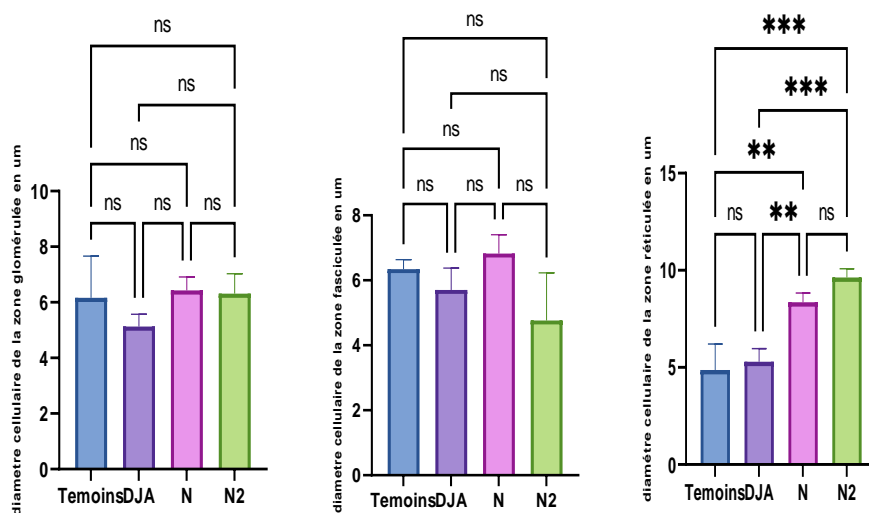
- **Zone fasciculée**

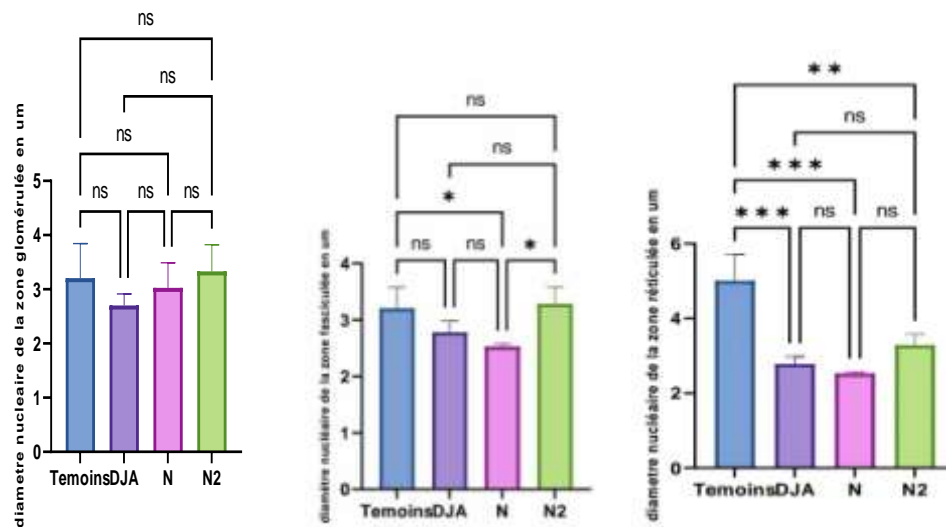
Le diamètre cellulaire moyen de la zone fasciculée du lot T est  $6,34 \pm 0,29 \mu\text{m}$ . Cette valeur est presque semblable à celles des lots DJA avec  $5,7 \pm 0,67 \mu\text{m}$  et N avec  $6,82 \pm 0,57 \mu\text{m}$ . La même valeur a légèrement diminué chez le lot N2  $4,76 \pm 1,47 \mu\text{m}$ . (**Figure 44**)

- **Zone réticulée**

Le diamètre cellulaire moyen de la ZR est de  $4,87 \pm 1,33 \mu\text{m}$  chez les rats du lot T. Il ne change pas chez ceux de DJA  $5,29 \pm 0,68 \mu\text{m}$ . Cependant les valeurs enregistrées pour N  $7,69 \pm 0,72 \mu\text{m}$  et N2  $8,38 \pm 1,98 \mu\text{m}$  sont plus élevées ( $P \leq 0,001$ ) comparativement à celles des T et DJA. (**Figure 44**)

Quant au DN de cette zone, il est de  $5,01 \pm 0,88 \mu\text{m}$  pour T,  $5,40 \pm 0,73 \mu\text{m}$  pour DJA,  $5,37 \pm 0,38 \mu\text{m}$  pour N et  $9,16 \pm 0,18 \mu\text{m}$  pour N2. La comparaison de ces valeurs a révélé une augmentation chez tous les lots traités comparativement au lot témoin. (**Figure 44**)





**Figure 44 :** Diamètres cellulaire et nucléaire des trois zones corticales des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

#### 2.2.2.2.5. Surface cellulaire et nucléaire des zones corticales des rats de 60 jours

- **Zone glomérulée**

La surface cellulaire moyenne de la zone glomérulée chez le lot T égale à  $14,58 \pm 2,75 \mu\text{m}^2$ . Cette valeur est supérieure à celle observée au niveau des lots DJA et N2 dont leurs valeurs sont respectivement les suivantes  $13,24 \pm 1,66 \mu\text{m}^2$ ,  $9,79 \pm 3,34 \mu\text{m}^2$ . Par contre, elle occupe une valeur maximale chez le lot N avec  $17,4 \pm 3,42 \mu\text{m}^2$

La surface nucléaire de la zone glomérulée est semblable chez les lots T, DJA et N2 dont les valeurs sont respectivement les suivantes :  $3,90 \pm 0,31 \mu\text{m}^2$ ,  $3,92 \pm 1,03 \mu\text{m}^2$  et  $2,26 \pm 0,39 \mu\text{m}^2$  s. tandis que le lot N enregistre une valeur maximale qui égale à  $5,43 \pm 0,81 \mu\text{m}^2$ . (**Figure 45**)

- **Zone fasciculée**

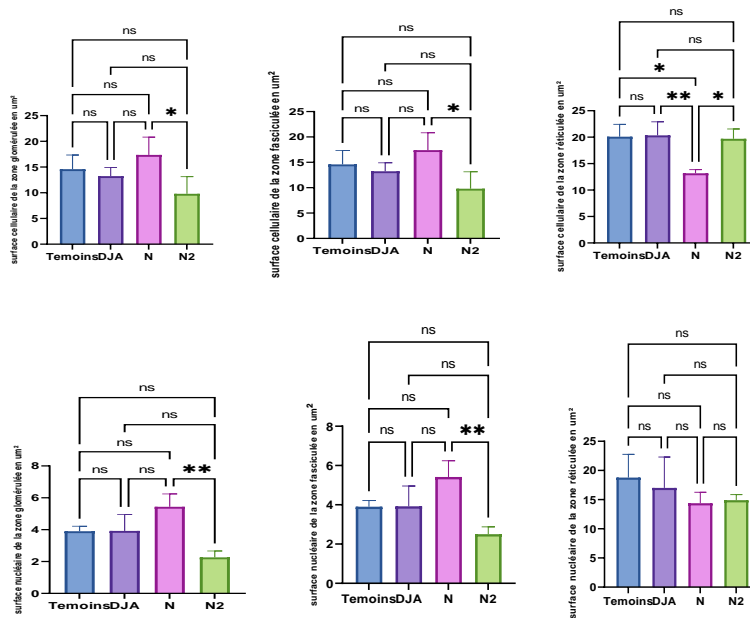
La surface cellulaire moyenne de la zone fasciculée enregistrée chez le lot T est égale à  $14,58 \pm 2,75 \mu\text{m}^2$ . Pour les rats traités, le lot N occupe une valeur maximale qui égale à  $17,4 \pm 3,42 \mu\text{m}^2$ , qui est supérieur à celles N et DJA dont leurs valeurs sont respectivement les suivantes  $9,79 \pm 3,34 \mu\text{m}^2$ ,  $13,24 \pm 1,66 \mu\text{m}^2$ . (**Figure 45**)

La surface nucléaire moyenne de la zone fasciculée des rats Test égale à  $3,90 \pm 0,31 \mu\text{m}^2$ , concernant les rats traités, la SN est presque la même chez les rats du lots N2  $2,50 \pm 0,37 \mu\text{m}^2$ ) et DJA  $3,92 \pm 1,03 \mu\text{m}^2$  tandis que le lot N enregistre une valeur supérieure qui est à  $5,41 \pm 0,83 \mu\text{m}^2$ . La différence étudiée est statistiquement très significative ( $P < 0,01$ ). (**Figure 45**)

- **Zone réticulée**

La surface cellulaire de la zone réticulée des lots T avec  $20.10 \pm 2.32 \mu\text{m}^2$ , DJA qui égale à  $20.35 \pm 2.54 \mu\text{m}^2$  et N2 avec  $19.69 \pm 1.86 \mu\text{m}^2$  ; est presque la même. Par contre, cette valeur occupe une valeur minimale avec  $13.18 \pm 0,68 \mu\text{m}^2$  chez le lot N. (**Figure 45**)

La surface nucléaire moyenne de la ZR des lots T est à  $18,79 \pm 3,86 \mu\text{m}^2$ . Elle est presque la même avec celle du lot DJA avec  $17,01 \pm 5,28 \mu\text{m}^2$ . Pour N et N2, les valeurs diminuent à  $14,39 \pm 1,87 \mu\text{m}^2$  et  $14,91 \pm 0,95 \mu\text{m}^2$ . (**Figure 45**)



**Figure 45** : Surface cellulaire et nucléaire des trois zones corticales des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.2.2.2.6. Rapport nucléo-cytoplasmique des zones corticales des rats de 60 jours

- **Zone glomérulée**

Le rapport moyen nucléo cytoplasmique a enregistré des valeurs presque similaires dans tous les lots et qui sont :  $0.28 \pm 0.05$  pour les témoins,  $0.29 \pm 0.1$  pour DJA,  $0.31 \pm 0.03$  pour N et  $0.28 \pm 0.09$  concernant N2. (**Figure 46**)

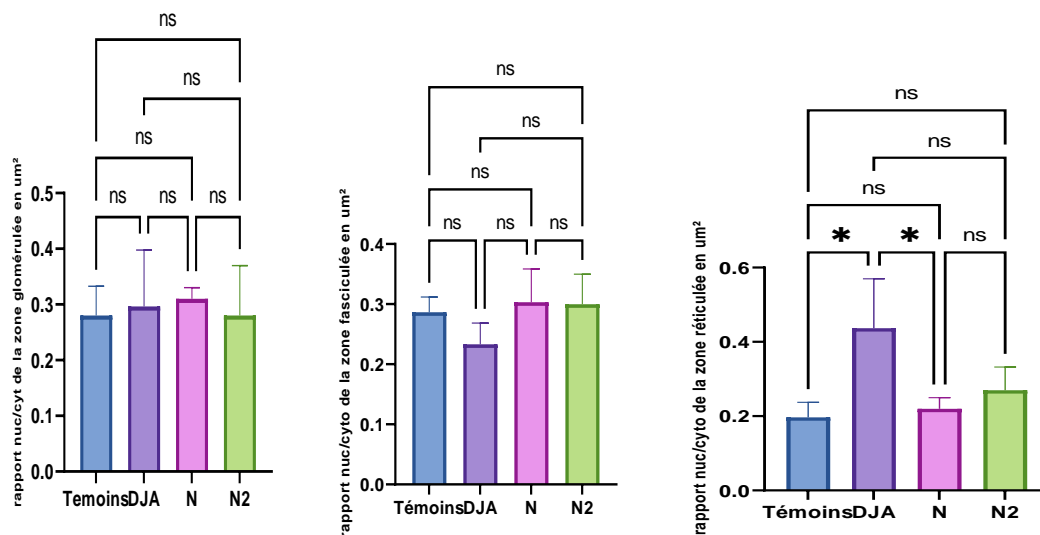
- **Zone fasciculée**

Le rapport nucléo cytoplasmique des rat T, N et N2 qui sont respectivement comme suit :  $0.28 \pm 0.02$ ,  $0.3 \pm 0.05$  et  $0,29 \pm 0,02$  est presque le même. Par contre, le DJA est légèrement diminué avec  $0.23 \pm 0.03$ . (**Figure 46**)

- **Zone réticulée**

Le rapport moyen nucléo cytoplasmique de la zone réticulée chez le lot T est  $0.19 \pm 0.04$ . Cette valeur est presque la même avec celle des lots N et N2 avec  $0.22 \pm 0.03$  et

0.27±0.06. Et elle est maximale chez le lot DJA avec 0.43±0.1. (Figure 46)



**Figure 46** : Rapport nucléocytoplasmique des trois zones corticales des rats âgés de 60 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.2.3. Histo-morphométrie de la glande surrénale des rats âgés de 90 jours

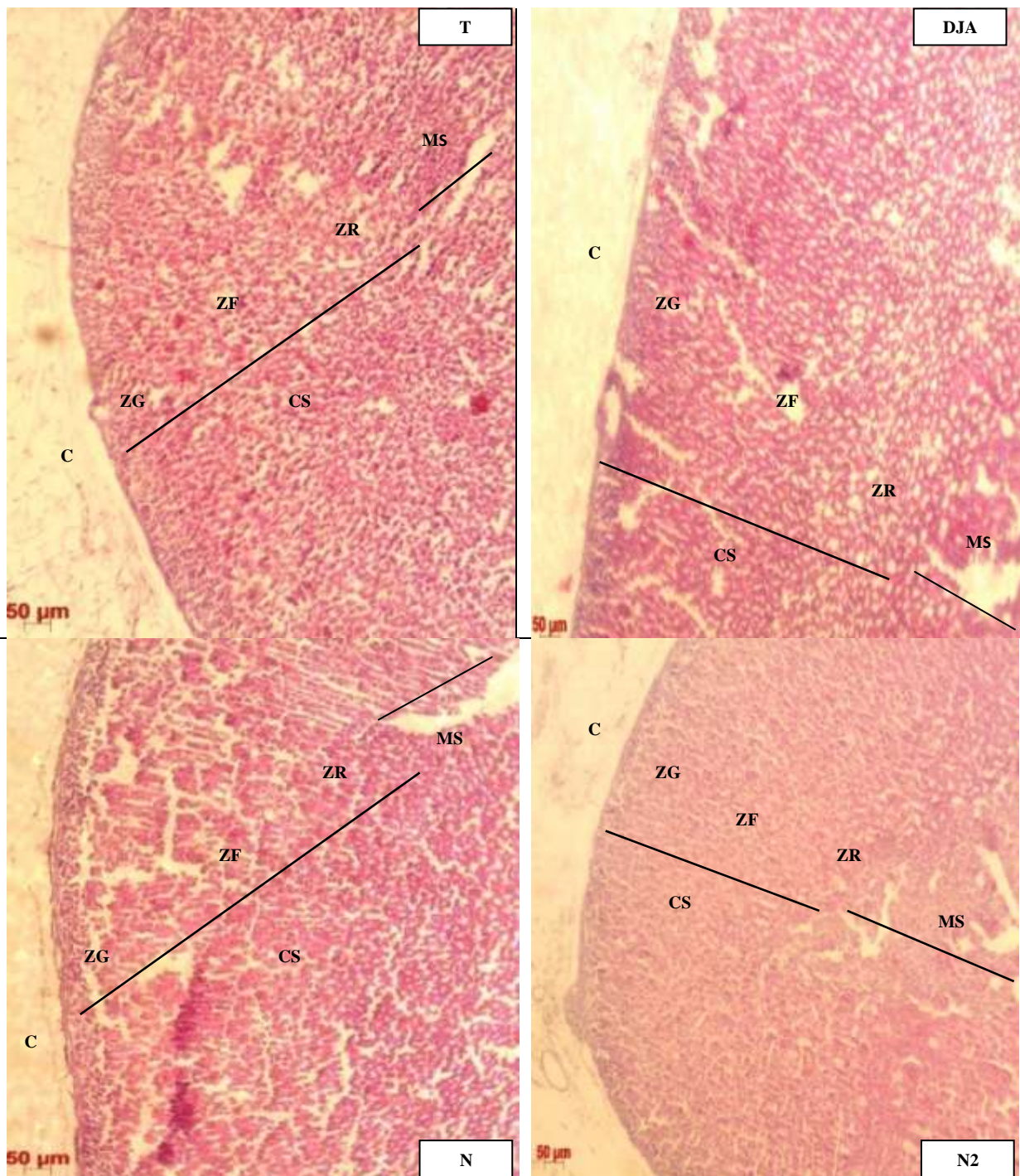
#### 2.2.3.1. Aspect histologique de la surrénale des rats de 90 jours

L'observation microscopique des coupes histologiques de la glande surrénale au grossissement 100 nous a permis de voir la forme générale de cet organe chez les rats âgés de 90 jours. On peut bien reconnaître les deux tissus glandulaires qui le constituent. (Figure 47)

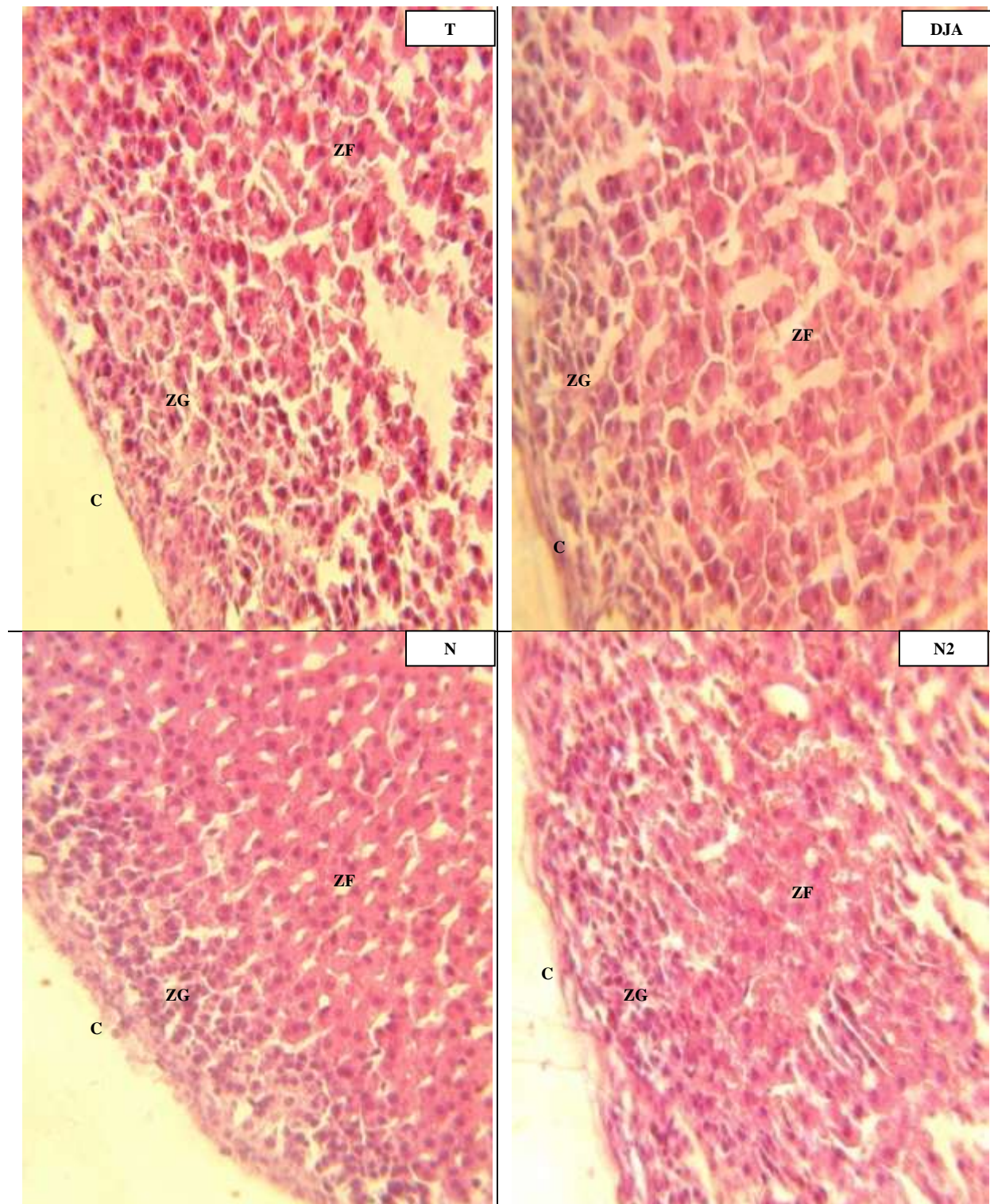
Au grossissement 400 on peut bien remarquer l'augmentation de l'épaisseur de la capsule surtout chez les rats du lot N et N2 et cela comparativement aux témoins.

Les cellules qui constituent la zone glomérulée sont regroupées en amas avec des petits noyaux bien visibles, et cela chez le lot T. Par contre, pour les lots DJA et N les cellules ont augmenté de taille. Tandis que, pour le lot N2 elles sont disséminées et présentent des petits noyaux.

Pour la zone fasciculée des lots T et DJA, les cellules sont allongées avec des petits noyaux visibles et une lumière large entre les amas cellulaires. Et pour les lots N et N2, les cellules de la même zone (ZF) ont diminué de taille comparativement au lot T, avec des petits noyaux peu visibles et un rétrécissement de lumière. (Figure 48)



**Figure 47 :** Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2)  
 C : capsule, CS : corticosurrénale, ZG : zone glomérulée, ZF : zone fasciculée, ZR : zone réticulée, MS : médullosurrénale

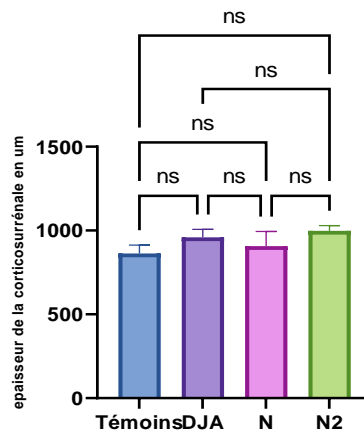


**Figure 48 :** Coupes histologiques de la glande surrénale des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2) au grossissement x400.  
 C : capsule, ZG : zone glomérulée, ZF : zone fasciculée.

### 2.2.3.2. Données histomorphométriques de la glande surrénale des rats de 90

#### 2.2.3.2.1. Epaisseur de la corticosurrénale des rats de 90 jours

L'épaisseur moyenne de la corticosurrénale chez le lot T égale à  $862,58 \pm 49,95 \mu\text{m}$ . Cette valeur n'est pas statistiquement significative, et elle est presque la même avec les lots : DJA qui est  $959,45 \pm 47,17 \mu\text{m}$ , N avec  $906,97 \pm 87,31 \mu\text{m}$  et  $998,66 \pm 30,17 \mu\text{m}$  pour N2. (**Figure 49**)



**Figure 49** : Epaisseur de la corticosurrénale des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noeal x 2 (N2).

#### 2.2.3.2.2 Epaisseurs des trois zones corticales des rats de 90 jours

- **Epaisseur de la zone glomérulée**

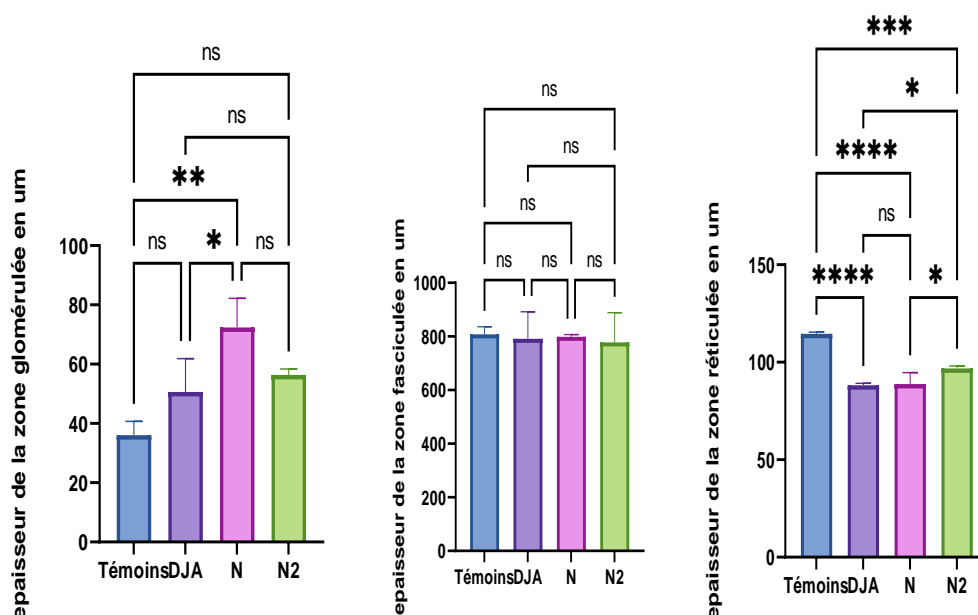
L'épaisseur de la ZG du lot T est  $37,71 \pm 5,16 \mu\text{m}$ . Cette valeur a connu une augmentation chez les lots DJA avec  $56,37 \pm 2,02 \mu\text{m}$ ,  $72,35 \pm 9,88 \mu\text{m}$  pour N et  $50,66 \pm 11,20 \mu\text{m}$  pour N2. Cette comparaison montre une différence peu significative ( $P < 0,05$ ). (**Figure 50**)

- **Epaisseur de la zone fasciculée**

L'épaisseur de la ZF des lots T, DJA, N et N2 est :  $802,09 \pm 27,97 \mu\text{m}$ ,  $798,90 \pm 72,65 \mu\text{m}$ ,  $798,26 \pm 110,04 \mu\text{m}$  et  $777,63 \pm 3,68 \mu\text{m}$  respectivement. Ces valeurs sont proches est donc il n'y a aucune différence significative. (**Figure 50**)

- **Epaisseur de la zone réticulée**

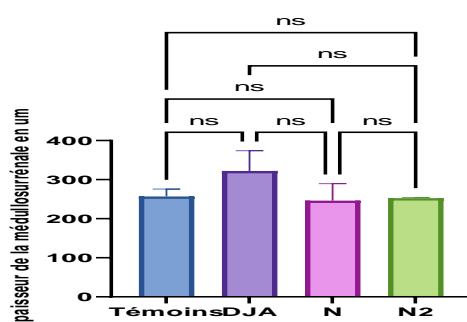
L'épaisseur moyenne de la ZR du lot T a une valeur de  $115,56 \pm 0,31 \mu\text{m}$ . Cette valeur est supérieure de celles des lots DJA, N, N2 dont les valeurs sont :  $88,74 \pm 0,31 \mu\text{m}$ ,  $89,25 \pm 8,15 \mu\text{m}$  et  $98,58 \pm 6,06 \mu\text{m}$ . Statistiquement, les différences sont très significatives ( $P < 0,01$ ). (**Figure 50**)



**Figure 50 :** Epaisseur des trois zones corticales des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.2.3.2.3. Epaisseur de la médullosurrénale des rats de 90 jours

L'épaisseur de la médullosurrénale des rats du lot T est  $269,69 \pm 10,39 \mu\text{m}$ . Les valeurs enregistrées pour les lots DJA, N et N2 qui sont respectivement :  $307,58 \pm 63,86 \mu\text{m}$ ,  $235,76 \pm 55,51 \mu\text{m}$  et  $235,33 \pm 0,47 \mu\text{m}$  ne changent pas statistiquement de celle du lot T (Figure 51).



**Figure 51 :** Epaisseur de la médullosurrénale des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.2.3.2.4. Diamètre cellulaire et nucléaire des zones corticales des rats de 90 jours

- **Zone glomérulée**

La comparaison entre le diamètre cellulaire de la ZG des lots T, DJA, N et N2 qui sont respectivement comme suit :  $5 \pm 0,51 \mu\text{m}$ ,  $5,54 \pm 0,71 \mu\text{m}$ ,  $6,3 \pm 1,64 \mu\text{m}$  et  $8,05 \pm 0,21 \mu\text{m}$  ne

montre aucune différence significative. (**Figure 52**)

Il en est de même pour les diamètres nucléaires ( $P>0,05$ ), avec des valeurs  $2,89\pm 0,85\mu\text{m}$ ,  $3,51\pm 1,07\mu\text{m}$ ,  $3,46\pm 0,25\mu\text{m}$  et  $3,59\pm 0,29\mu\text{m}$  pour les lots T, DJA, N et N2. (**Figure 52**)

- **Zone fasciculée**

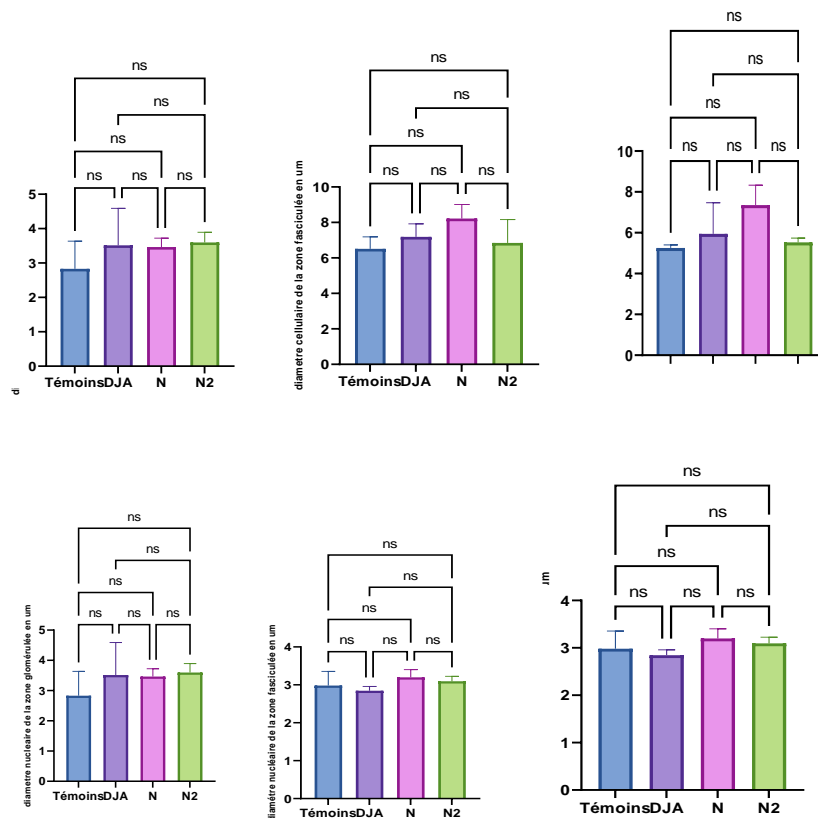
Le traitement au TMX n'influence pas le DC de la zone fasciculée avec des valeurs qui sont :  $6,84\pm 1,31\mu\text{m}$  pour T,  $8,22\pm 0,79\mu\text{m}$  pour DJA,  $7,19\pm 0,72\mu\text{m}$  pour N et  $6,51\pm 0,76\mu\text{m}$  pour N2. Et donc la différence n'est pas significative (**Figure 52**)

Pareillement pour le diamètre nucléaire avec des valeurs de  $3,44\pm 0,37\mu\text{m}$ ,  $2,84\pm 0,11\mu\text{m}$ ,  $3,2\pm 0,2\mu\text{m}$  et  $3,09\pm 0,13\mu\text{m}$  pour les lots T, DJA, N et N2 respectivement. (**Figure 52**)

- **Zone réticulée**

Le diamètre cellulaire de la ZR du lot T est  $5,25\pm 0,14\mu\text{m}$ . Cette valeur est proche de celles des lots DJA avec  $5,94\pm 1,52\mu\text{m}$ , N avec  $7,35\pm 0,97\mu\text{m}$  et  $5,52\pm 0,21\mu\text{m}$  pour N2. (**Figure 52**)

Le diamètre nucléaire de la zone réticulée égale  $6,68\pm 0,26\mu\text{m}$  chez le lot T. celui de DJA est  $6\pm 0,28\mu\text{m}$ , N est de  $5,62\pm 0,68\mu\text{m}$  et  $5,72\pm 0,29\mu\text{m}$  pour N2. Cependant, statistiquement les différences ne sont pas significatives. (**Figure 52**)



**Figure 52 :** Diamètre cellulaire et nucléaire des trois zones corticales des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

2.2.3.2.5. Surface cellulaire et nucléaire des zones corticales des rats de 90 jours

• **Zone glomérulée**

La surface cellulaire de la ZG est  $8,62 \pm 0,75 \mu\text{m}^2$ ,  $10,48 \pm 2,15 \mu\text{m}^2$  et  $10,35 \pm 3,1 \mu\text{m}^2$  respectivement pour les lots : T, N et N2. Et le lot DJA a une valeur maximale avec  $13,70 \pm 2,11 \mu\text{m}^2$ . Cette comparaison ne montre aucune différence significative (**figure 53**).

De même pour la surface nucléaire, la valeur enregistrée chez le lot T, N et N2 sont proches avec :  $3,58 \pm 0,27 \mu\text{m}^2$ ,  $3,60 \pm 0,77 \mu\text{m}^2$  et  $3,367 \pm 1,03 \mu\text{m}^2$ . En revanche, la SN du lot DJA est légèrement supérieure par rapport aux autres lots. (**Figure 53**)

• **Zone fasciculée**

Le traitement ne semble pas influencer la SC de la ZF avec des valeurs qui sont :  $21,59 \pm 2,53 \mu\text{m}^2$  pour T,  $20,92 \pm 3,88 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $23,6 \pm 11,39 \mu\text{m}^2$  pour N et  $18,13 \pm 3,16 \mu\text{m}^2$  pour N2.

Pareil pour la SN de cette zone dans laquelle on révèle les valeurs suivantes :  $4,86 \pm 1,02 \mu\text{m}^2$  pour le lot T,  $5,57 \pm 1,10 \mu\text{m}^2$  pour DJA,  $5,28 \pm 1,16 \mu\text{m}^2$  pour N et  $5,88 \pm 0,52 \mu\text{m}^2$  pour N2.

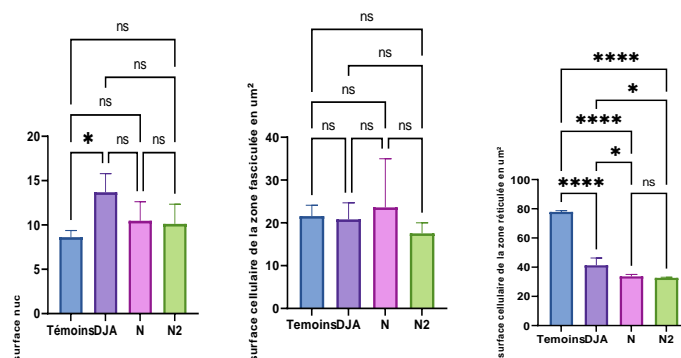
(**Figure 53**)

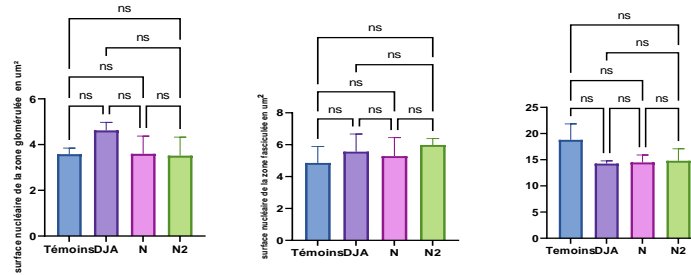
• **Zone réticulée**

La surface cellulaire de la ZR est  $78,88 \pm 1,33 \mu\text{m}^2$  chez le lot T. cette valeur est maximale par rapport à celles des DJA avec  $40,2 \pm 14,01 \mu\text{m}^2$ , N avec  $34,68 \pm 19,26 \mu\text{m}^2$  et N2

$32,39 \pm 0,43 \mu\text{m}^2$ . Cette comparaison montre une différence statistiquement significative ( $P < 0.01$ ). (**Figure 53**)

La surface nucléaire de la ZR du lot T égale à  $18,72 \pm 0,68 \mu\text{m}^2$ . Et les lots DJA, N et N2 ont des valeurs très proches qui sont respectivement comme suit :  $14,38 \pm 0,67 \mu\text{m}^2$ ,  $15,14 \pm 1,21 \mu\text{m}^2$  et  $15,77 \pm 0,38 \mu\text{m}^2$ . (**Figure 53**)





**Figure 53 :** Surface cellulaire et nucléaire des zones corticales des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 2.2.3.2.6. Rapport nucléo cytoplasmique des trois zones corticales des rats de 90 jours

- **Zone glomérulée**

Le rapport N/C du lot T est  $0.41 \pm 0.01$ . Cette valeur est légèrement supérieure à celles des lots DJA, N et N2 qui sont respectivement les suivantes :  $0.34 \pm 0.07$  pour DJA,  $0.346 \pm 0.09$  pour N et  $0.36 \pm 0.11$  pour le lot N2. (**Figure 54**)

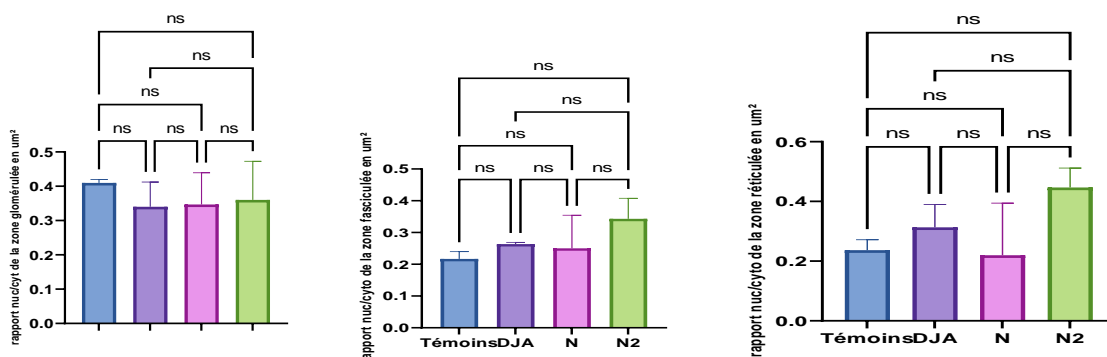
Cette comparaison ne montre aucune différence significative.

- **Zone fasciculée**

Le rapport nucléo-cytoplasmique de la ZR chez les lots T, DJA et N sont presque les mêmes et sont respectivement les suivants :  $0.21 \pm 0.02 \mu\text{m}$ ,  $0.26 \pm 0.05$  et  $0.25 \pm 0.1$ . Par contre, la valeur du lot N2 est légèrement supérieure avec  $0.34 \pm 0.06$ . (**Figure 54**)

- **Zone réticulée**

De même, le TMX ne semble pas influencer le rapport N/C de la ZR. Les valeurs sont :  $0.23 \pm 0.03$  pour T,  $0.31 \pm 0.07$  pour DJA,  $0.22 \pm 0.17$  pour N et  $0.44 \pm 0.06$  pour N2 (**Figure 54**).



**Figure 54 :** rapport nucléo cytoplasmique des trois zones corticales des rats des rats âgés de 90 jours issus de parents témoins (T) ou traités au thiamétoxame (TMX) à dose journalière admissible (DJA), sans effets toxiques = Noeal (N) ou Noael x 2 (N2).

### 3. Discussion

Le thiamétoxame est parmi les néonicotinoïdes les plus utilisés (**Viau, 2008**). Cet insecticide devient neurotoxique en interagissant d'une façon spécifique aux récepteurs de l'acétylcholine (**Yamamoto et Casida, 1999 ; Azevedo-Pereira et al., 2011**).

De nombreuses études toxicologiques ont montré des effets toxiques du thiamétoxame chez les mammifères tels que le rat, causant ainsi des altérations histophysiologiques des organes tel que les glandes surrénales.

Dans notre présente étude, nous avons évalué l'effet direct du TMX à différentes doses sur l'histophysiologie de la glande surrénale chez les rats adultes et indirect sur leurs descendances (20j, 60j et 90 j).

D'après une étude statistique suivie d'une étude histologique, nous avons démontré que ce pesticide affecte certaines structures histologiques de la glande surrénale.

#### 1. Effets du Thiamétoxame sur la surrénale des rats adultes

Les différentes doses administrées (DJA, N et N2) aux rats parents ont engendré une amplification de la zone fasciculée. Les doses N et N2 ont engendré une dissémination des cellules, diminution de la taille des noyaux ainsi qu'un rétrécissement de lumière au niveau des zones corticales (ZG et ZF).

D'une part, ces résultats sont semblables à ceux obtenus par l'étude de (**Raees et al., 2012**) basée sur l'effet du Diazinon qui est un insecticide non systémique agissant comme inhibiteur de l'enzyme acétylcholinestérase, avec des doses de 9 et 18 mg/kg sur la glande surrénale chez des souris vierges. Cette dernière a montré une diminution générale de la taille moyenne des cellules dans la région corticale en fonction de la dose et de l'exposition ainsi que des altérations caractéristiques de la corticale.

D'autre part, nos résultats sont différents de ceux trouvés par (**Yaglova, et al. 2018**) après une exposition des rats au DDT qui est un organochloré possédant le même mode d'action que le TMX. Ces derniers présentent différents changements dans la structure fine au cours de l'âge pubertaire. Dans la zone fasciculée externe, des changements dystrophiques et la mort cellulaire ont été enregistrés, en particulier dans les zones présentant des troubles de la microcirculation. Dans la zone fasciculée interne, les cellules étaient plus grandes, avaient des noyaux plus gros et un plus grand nombre de mitochondries, y compris celles avec une matrice gonflée, ainsi qu'un réticulum endoplasmique plus développé.

### 2. La surrénale des rats issus de parents males traités avec du Thiamétoxame

Concernant les modifications histologiques observées chez les rats âgés de 20,60 et 90 j on cite :

Une hypertrophie du cortex surrénalien suite à l'effet indirect de la dose Nx2 du thiamétoxame administrée aux parents contrairement aux résultats obtenus par **Nyska et Maronpot (19991)**, **Capen (2002)** qui démontrent la rareté de L'hyperplasie de cette partie de la glande.

De plus, le travail fait par **Le Dudal (2016) et Rosol et al., (2001)** a révélé des changements morphologiques qui se traduisent au sein de cette partie de la glande surrénale suite à une toxicité aiguë.

Selon nos résultats, les doses DJA et N ont un effet sur la zone glomérulée sur toute les générations en élargissant son épaisseur, ses cellules sont petites, allongées et n'adhèrent pas suffisamment les unes aux autres. Ces résultats sont différents de ceux obtenus dans l'étude de **Yaglova et al., 2021** basée sur l'effet de DDT ont présenté une défragmentation et un rétrécissement de la zone glomérulée. Les données morphométriques de la surface cellulaire et nucléaire de la zone glomérulée, ont montré qu'il n'y a aucun effet considérable des différentes doses chez les rats âgés de 20j, 60j et 90j comparativement à celles des parents, avec un rapport nucléo-cytoplasmique qui est semblable à celui des rats parents.

La surface cellulaire de la zone fasciculée a connu une augmentation chez les rats de la première génération causée par les différentes doses administrées aux rats parents. Tandis que, nous n'avons pas révélé un effet considérable de ces dernières sur la surface nucléaire de cette zone ainsi que sur le rapport nucléo-cytoplasmique. Cette zone présente une diminution de la taille des cellules.

En revanche Chez les rats exposés postnatalement au DDT, les cellules étaient plus petites et l'œdème de la matrice mitochondriale plus prononcé, ce qui semble être la principale raison de leur augmentation de taille. L'examen de la structure fine et des taux sériques de corticostérone a montré que la suppression de la production hormonale était due à des troubles de la microcirculation et à la mort cellulaire dans la partie externe de la zone fasciculée. Une production adéquate de corticostérone était soutenue par une régulation positive compensatoire de la stéroïdogénèse due à l'augmentation du nombre de mitochondries et à l'activation d'enzymes stéroïdogènes dans les cellules de la zone fasciculée interne (**Tsomartova D,2018**).

L'étude de **Raees et al., 2012**, la biosynthèse et la libération des glucocorticoïdes ainsi qu'une hyperplasie des cellules fasciculaires provoquent des appauvrissements de stockage dans le cytoplasme, ainsi qu'une transformation des cellules réticulaires en cellules fasciculaires dans le cadre de cette exposition au diazinon.

L'épaisseur de la zone réticulée a subi une diminution chez les rats âgés de 20j, 60j et 90j.

Les doses N et N2 ont un effet rétrécisseur sur la surface cellulaire de cette zone.

Tandis que les résultats obtenus de la surface nucléaire de la même zone ont montré aucun effet significatif comparativement aux rats parents. Par contre, les valeurs du rapport nucléocytoplasmique sont augmentées chez ces rats sous l'effet des doses N et N2.

Nos résultats sont semblables à ceux de **Rosol et coll.2001 ; Shah et Iqbal2010** suite à une exposition de la zone réticulée au diazinon qui semble être liée en partie avec un effet anti-androgène.

La dose journalière administrée (DJA) a un effet délateur sur la médullosurrénale chez les rats à différents âges. Et en augmentant la dose (N, N2), ce paramètre a connu une diminution de l'épaisseur de cette zone.

Les cellules chromaffines de la médullosurrénale libèrent des catécholamines sous l'action directe du sympathique cholinergique. (**Tischler et al. 2010**). La situation hypercatécholaminergique augmente la sécrétion d'aldostérone dans la région corticale. Ainsi, la stimulation par multiples traitements Diazinon (DZ) est une autre raison attendue pour la réponse proliférative de la zone fasciculée et la diminution significative de la taille moyenne des cellules dans le cortex surrénalien.

## **Conclusion**

Dans cette étude introductive des méthodes et techniques expérimentales dans le domaine de la biologie et de la physiologie de la reproduction, nous avons exploré l'impact Thiamétoxame sur les caractéristiques histologiques de la glande surrénale et sa fonction physiologique.

Les résultats obtenus lors d'une exposition sub-chronique des rats parents au Thiamétoxame, provoque des modifications histologiques importantes directes sur eux et indirectes sur la descendance (20, 60 et 90 j), aux doses DJA, N et NOAELx2 qui se déroulent au niveau des deux parties qui constituent la glande surrénale : le cortex et la médullosurrénale.

Les modifications observées sont confirmées par une étude histo-morphométrique qui montre :

- L'augmentation de l'épaisseur de la corticosurrénale et les deux zones qui la forment (zone fasciculée et réticulée).
- Augmentation de l'épaisseur de la médullosurrénale.
- L'augmentation de l'épaisseur de la zone glomérulée.
- La zone fasciculée montre une augmentation de la surface cellulaire.
- l'épaisseur de la zone réticulée ainsi que sa surface cellulaire a exprimé une diminution. En revanche, sa surface nucléaire n'a pas présenté des changements.

D'après cette étude, ça nous semble que le TMX a un effet sur la descendance que sur les parents.

Notre étude d'initiation aux méthodes de recherche dans le domaine de la reproduction n'a pas abouti à des résultats concluants. Pour évaluer d'une façon plus persuasive l'impact de la molécule testée, il serait donc intéressant de la reprendre en augmentant le nombre d'animaux et par d'autres approches, comme :

- Une étude immuno- histochimique ciblant des marqueurs de fonctionnalité.
- Un dosage des hormones surrénaliennes.
- Des études de toxicité chronique du Thiamétoxame pour évaluer et prévenir des risques probables chez l'être humain.

## **Références bibliographiques**

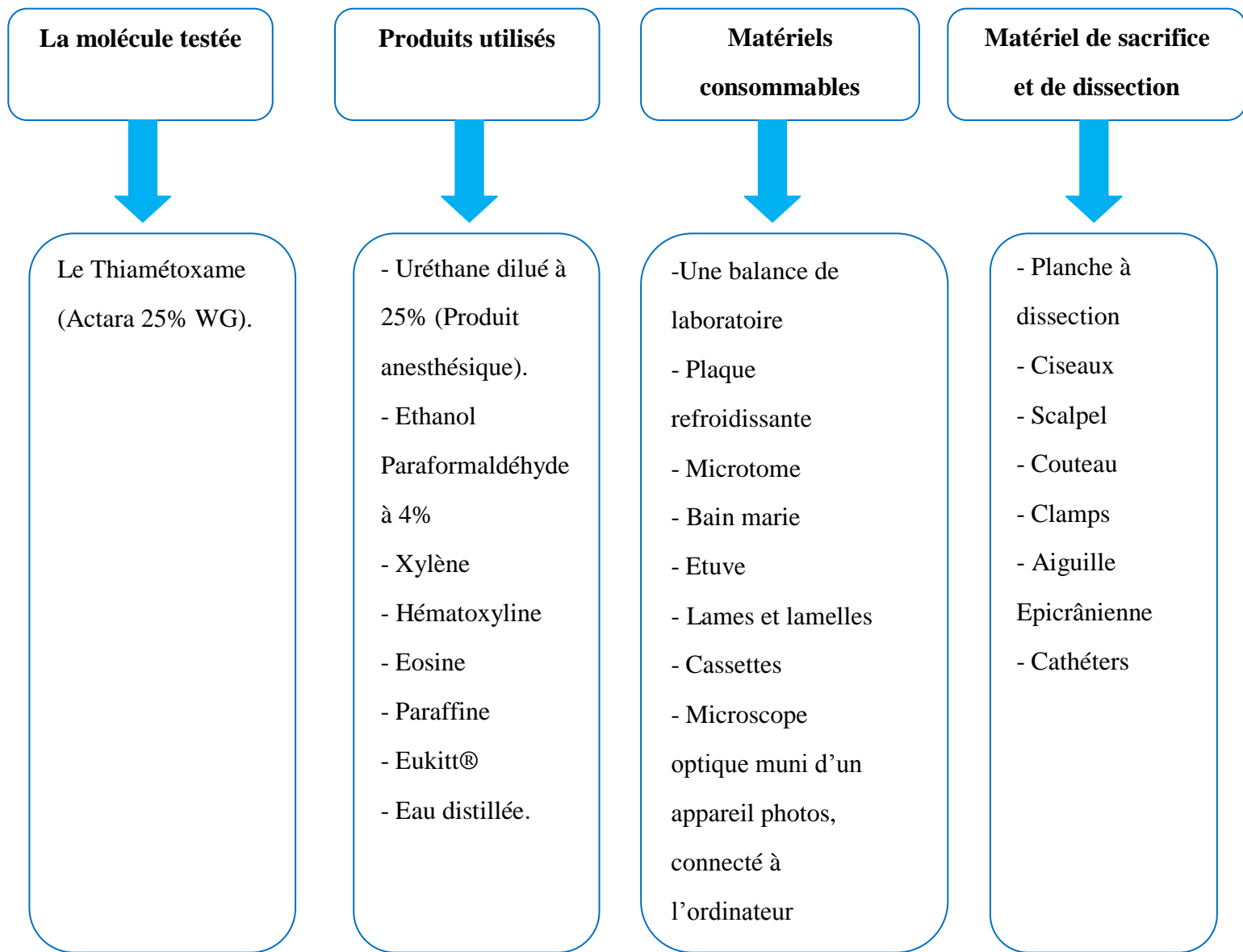
## Références bibliographiques

- **A.R.L.A.S.C, (2007).** Rapport d'évaluation. (Agence de réglementation de la lutteantiparasitaire de Santé Canada). (13) : 8-11.
- **Ayad-Mokhtari N. (2012).** Identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister, Université d'Oran, Algérie.
- **Baker HJ., Lindsey JR. and Weisbaath SH. (1979).** The laboratory Rat. Volume 1. Research applications. Academic. press, new york.
- **Baldi I, Cordier S, Coumoul X, Elbaz A, Gamet-Payraastre, Lebailly P, Multigner L, Rahmani R, Spinosi J, van Maele-Fabry G, (2013).** Pesticides : Effets sur la santé.[Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale(INSERM).Paris: Inserm: Editions EDP Sciences (ISSN : 1264-1782) / 1014 p.inserm-02102981.
- **Benmouloud A., Zahaf S., Khammar F., & Amirat Z., (2006).** P2-160 -Interaction testicule-corticosurrénale chez le rat des sables psammomys obesus adulte. Annales d'Endocrinologie, 67(5), 531–532. doi:10.1016/s0003-4266(06)72991-2.
- **Blottière E, (2019-2020).** L'impact des néonicotinoïdes sur les abeilles et leurs alternatives. Master en médecine vétérinaire. Faculté de Médecine Vétérinaire.
- **Boland J, Koomen I, van Lidth J, Oudejans J, (2004).** Les pesticides : composition, utilisation et risques. Pays Bas. Fondation Agromisa, Wageningen, 2004.ISBN: 90-77073-01-9
- **Bouchema W F, Menail A H, Ayad–Loucif W, (2016).** Effets de deux insecticides(Spinosad et Thiaméthoxame) sur l'activité enzymatique de l'Abeille Apis mellifera intermissa.[Conférence].46ème Congrès du Groupe Français des Pesticides. Annaba, Algérie.
- **BRITISH COLOMBIA. Ministry of agriculture, Food and Fisheries. (2022, Février).** Pesticide Toxicity and Hazard.
- **Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail (CCHST), (2017).** Fiches d'information Réponses SST : Pesticides – Généralités.
- **Chappuis, P. (1991).** Les oligoéléments en médecine et biologie. Lavoisier Tee & DocPalis.
- **Chassé R et Martel L, (2006).** Paramètres d'exposition chez le mammifères – Rat surmulot. Fiche descriptive. CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec : 15 p.
- **Dryden MW, coll, (2001).** Speed of flea kill with nitenpyram tablets compared to imidacloprid spot on and fipronil spot on in dogs. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 23(3): 24-27.
- **Dupont S., (2021).** Elsevier Masson: L'anatomie et la physiologie pour les infirmier(e)s.
- **El Kasmi S., (2012).** Corticosurrénalome malin chez l'enfant. Thèse de Doctorat n° 51. Université Mohammed V. Faculté de médecine et pharmacie. Rabat, Maroc.
- **Endoh, A., Kristiansen, S. B., Casson, P. R., Buster, J. E., & Hornsby, P. J. (1996).** The zona reticularis the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex resulting from its low expression of beta hydroxysteroid dehydrogenase. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 81(10), 3558–3565.
- **Fulla Yvonne, Laurence Guignatb, Marie-Annick Duguea, Guillaume Assieb, Xavier Bertagnab, (2009).** Exploration biologique de la fonction corticotrope. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - N°416 – Elsevier Masson SAS Centre de référence des maladies rares de la surrénale, France. Doi :10.1016/s1773-035x (09)70249-7.
- **Gallo-Payet N. (1993).** Nouveaux concepts sur la régulation de la sécrétion d'aldostéron ; interactions endocrines, paracrines, autocrines et neurocrines. Méd. sci., 9:943-951.
- **GOULSON D, (2017).** Les néonicotinoïdes : nuisent-ils réellement aux abeilles ? abeilles & cie 3-2017 n°178.

- **Hennen George S (2001)**-Endocrinologie. Eds De Boeck, 1e eds, P:278-385
- **Hoang Catherine (1996)**-Endocrinologie. Eds scientifique et médicale Elsevier, P: 1-5
- **Ishikawa T., Glidwell-kenney C., Jameson L. J., 2006.** Aromatase –independent testosterone conversion into estrogenic steroids is inhibited by a 5 $\alpha$ -reductase inhibitor. The journal of steroid biochemistry and molecular biology, 98 : P.133-138.
- **Jeschke, P, Nauen R, (2008).** Neonicotinoids from zero to hero in insecticide chemistry. Pest Management Science, 64(11): 1084-1098.
- **Kandsi –Bouhadad F., Hadj-Bekkouche., 2010.** Evaluation du contenu surrénalien en androsténone et effet de la castration chez le lapin domestique (*Oryctolagus Cuniculus*). Comptes rendus biologies, 333(8) : P. 591- 596.doi:10.1016/j.crvi.2010.03.001
- **Labauve J-M, (2002).** Effet de l'exposition anténatale aux corticoïdes et de l'hypoxie sur l'expression du récepteur dopaminergique D1 dans la surrénale de lapin en développement. Thèse de doctorat : science du médicament. Université Henri Poincaré NANCY 1, 226 p.
- **Le Dudal M., (2016).** Les lésions de la corticosurrénale en relation avec le stress chez les mammifères : étude bibliographique et application une cohorte
- **Louat L, (2013).** Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster*. Sciences agricoles. Université d'Orléans. France. ffNNT 2013ORLE2062ff. fftel-01058781f
- **MacBean C, (2010).** Ed. Le Manuel e-Pesticide, 15 Ed., Version 5.0.1. Surrey UK, British Crop Protection Council. Thiaméthoxame (153719-23-4).
- **MacKenzie SM., Van Kralingen J C., Davies E., (2018).** Regulation of aldosterone secretion. Vitamins and hormones, 109 : P. 241- 263.
- **Maienfisch P, (2005).** Synthesis and Properties of Thiamethoxam and Related Compounds. Syngenta Crop Protection AG, Research & Technology, Schwarzwaldallee 215, CH-4002 Basel, Switzerland.
- **Maienfisch P, Huerlimann H, Rindlisbacher A, Gsell L, Ettwiler H, Haettenschwiler J, Syeger E, Walti M, (2001).** The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. Pest. Managem. Scien, London, 57 (2): 165-176.
- **Martoja, R., Martoja-Pierson, M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et Cie, éditeur. p163-199.
- **Mustafa T M, (2007).** Micro encapsulation de cellules chromaffines bovine dans le traitement des douleurs chroniques rebelles : Etude de faisabilité in vivo et in vitro. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse. 101p.
- **Organisation mondiale de la santé, (1990).** Impact sur la santé publique des pesticides utilisés en agriculture. Angleterre : Organisation mondiale de la santé.
- **Oudet B., Rigabert J., Young J., Raffin-Sanson L M., (2010).** Physiologie et exploration des sécrétions de cortisol et d'androgènes par la surrénale. Elsevier Masson SAS, 10-014-B- 10J : P. 16.
- **Perlemuter et al.,(2003) ; Opeyrin et Vandroux,(1998) PERLEMUTER L. et QUEVAUVILLIERS, (2000)**-Anatomie physiologie pour les soins infirmiers. Eds Masson, 2e Eds, pp187-205
- **Pukri Y, (2019).** "Fiches conseil" pour une meilleure utilisation des matières actives des produits insecticides et acaricides en vente au Niger. Consulté sur le site Réseau national des chambres d'agriculteurs au Niger.
- **Raees K., Ishfaq R., Ullah A., Tahir M Z., Abbas T., Tahir H M., Mukhtar M K., Arshad M., Khan S Y., Ahmad K R., (2012).** histological and micrometric effects of diazinon exposure on adrenal medulla and cortex in mice. Journal of applied animal research, 40: P. 267- 272.
- **Rainey, W. E., & Nakamura, Y. (2008).** Regulation of the Adrenal androgen biosynthesis. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 108(3-5), 281–286.
- **Robin J.M., (2000).** Ménopause : les solutions naturelles existent !. Naturanews, P. 1-11.

- **Samuel O , Saint-Laurent L, (2001).** Guide de prévention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraîchère. Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec(IRSSST), 85 p.
- **Santelli D., Martin C.(2017).** Physiologie humaine appliquée. 2ème édition, Arnette, Paris, France, 913 : p. 1185- 1187.
- **Saula A.,(2017).** Infertilité masculine et obésité : Etude rétrospective sur une cohorte de patients du Centre Médico-Chirurgical Obstétrique des Hôpitaux Universitaires de Starsbourg. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie de l'université de Lorraine. P 106.
- **Simon-Delso V, Amaral-Rogers L, Belzunces P, Jean-Marc Bonmatin, Chagnon M, et al.(2014).** Pesticides néonicotinoïdes. Tendances, usages et modes d'action des métabolites,10.1007/s11356- 014-3470-yff. hal-01171969
- **Soumis N, (2018).** Les néonicotinoïdes: une menace pour la biodiversité, les écosystèmes et la sécurité alimentaire. Association canadienne des médecins pour l'environnement ACME.
- **Tomizawa M, Yamamoto I, (1992).** Liaison des néonicotinoïdes et des composés apparentés au récepteur nicotinique de l'acétylcholine des insectes. Journal of Pesticide Science 17, 231–236.
- **Tortora et Derrickson(2007)-**Principe d'anatomie et de physiologie. Eds De boeck ,4e Eds, canada, p1179
- **Tortora Genard J., Sandra Keynolds et GraBowski D (2001)-**Principe d'anatomie et de physiologie. Eds De Boeck université, 3e Eds, P619-624
- **Ulick S., (1996).** Editorial : cortisol as mineralocorticoid. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 81 : P. 1307- 1308.
- **Verdati J., Idelman S.,(2000).** Endocrinologie et communications cellulaires, Collection Grenoble sciences, ISSN 0767-371X Édition 2, Éditeur :EDP Sciences,ISBN 2868834760, 9782868834768. 584 pages.
- **Viau R, (2008).** L'influence des insecticides néonicotinoïdes sur la stéroïdogénèse dans deux modèles cellulaires humains en co-culture physiologiquement représentatifs. Université du Québec Institut National de la Recherche Scientifique Institut Armand Frappier. P-145.
- **Walsh LP., McCormick C., Martin C., Stocco M D., (2000).** Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environmental health and perspectives*, 108 : p. 769- 776.
- **WATERMAN MoR, et SIMPSON E.R.,(1990).** Steroidogenic capacity in the adrenal cortex and its regulation. *Prog. Drug Res*, 34 : P. 359 - 381.
- **Yaglova N V., Obernikhin S S., Tsomartova D A., Nazimova S V., Yaglov V V., Tsomartova E S., Cheresheva E V., Ivanova M Y., Lomanovskaya T A., (2021).** Impaired morphogenesis and function of rat adrenal zona glomerulosa by developmental low-Dose exposure to DDT is associated with Altered Oct4 expression. *International journal of molecular sciences*, 22, 6324

## **Annexes**



**Annexe 1 :** Matériel non biologique utilisé.