

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

**Evaluation de la reprotoxicité de
l'Acétate de plomb chez la souris mâle
adulte *Mus musculus* (BALBc)**

Réalisé par : M^{lle} SAIB Dalida.

Soutenue devant le jury composé de :

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

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

Co-promotrice : M^{lle} BOULILA N. Doctorante.....(FSBSA-UMMTO)

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

2022/2023

Remerciements

Je remercie le bon Dieu 'ALLAH' de m'avoir donné la force et le courage de finaliser ce travail.

Je tiens à remercier et exprimer ma gratitude à ma promotrice **Mme AKDADER S.** Maitre de conférence B à l'UMMTO pour l'honneur qu'elle m'a accordé en acceptant de diriger ce travail. Je la remercie aussi pour sa disponibilité, sa patience et ses conseils avisés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je remercie **Mlle Boulila N.** co-promotrice du travail, doctorante à l'UMMTO.

Mes remerciements et gratitude s'adressent également au président du jury **Mme MEDJDOUB F.** Professeur à l'UMMTO , qui a accepté de présider le jury de cette soutenance .

J'exprime aussi ma reconnaissance à **Mme LAKABI L.** Maitre de conférence A à l'UMMTO, qui a bien voulu m'accorder une partie de son temps pour examiner et juger cet humble travail.

Je remercie aussi **Mr Madouche M.** doctorant à l'UMMTO, pour son aide et collaboration à la réalisation de ce travail.

Remerciements pour mes maîtres et enseignants du département de Sciences Biologiques tout au long de mon cursus universitaire.

Un grand merci pour toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents, mon très cher Père et ma très chère Mère.

Je vous offre ce travail avec un cœur plein de gratitude, j'espère que je vous ai rendus fiers. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre éducation, soutien, affection, et sacrifices pour me procurer confort et bonheur. Que Dieu vous bénisse.

A mes très chères adorables sœurs Lina et Ines. Que Dieu vous bénisse.

A ma famille et grands-parents.

A moi-même, après tous mon cursus universitaire, je m'auto-félicite d'avoir décroché une étoile aujourd'hui.

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Chapitre I : Rappels bibliographiques sur le testicule et l'épididyme	
1. Anatomie de l'appareil reproducteur de la souris mâle.....	3
1.1. Anatomie du testicule.....	3
1.2. Anatomie de l'épididyme.....	4
1.3. Canal déférent.....	5
1.4. Urètre.....	5
1.5. Glandes annexes.....	6
1.6. Vésicules séminales.....	6
1.7. Prostate.....	6
1.8. Glandes de Cowper.....	6
1.9. Organes génitaux externes.....	6
2. Histologie de l'appareil reproducteur de la souris mâle.....	6
2.1. Histologie du testicule.....	6
2.1.1. Tubes séminifères.....	7
2.1.2. Cellules germinales.....	8
2.1.3. Cellules de Sertoli.....	8
2.1.4. Cellules de Leidig.....	9
2.2. Histologie de l'épididyme.....	9
2.2.1. Cellules principales.....	10
2.2.2. Cellules en halo.....	10
2.2.3. Cellules basales.....	10
2.2.4. Cellules étroites.....	11
2.2.5. Cellules apicales.....	11

2.2.6. Cellules claires	11
3. Fonction du testicule	11
3.1. Fonction exocrine : élaboration des spermatozoïdes	11
3.2. Fonction endocrines : Hormones et autres substances Régulation de la fonction de reproduction	13
4. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique et autres hormones	14

Chapitre II : Stress oxydant

Stress oxydant	16
1. Définition	16
2. Radicaux libres	16
3. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	17
4. Source de production de radicaux libres	18
4.1. Origine endogène	18
4.2. Origine exogène	18
5. Rôle physiologique des radicaux libres	19
6. Système antioxydant	19
6.1. Systèmes antioxydants enzymatiques	19
6.1.1. Superoxydes dismutases (SOD)	19
6.1.2. Catalases	19
6.1.3. Glutathions peroxydases (GSHPX)	20
6.1.4. Glutathion réductase	20
6.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques	20
6.2.1. Vitamine E	20
6.2.2. Vitamine C	20
6.2.3. β -carotène	21
6.2.4. CoQ	21

6.2.5. Glutathion	21
-------------------------	----

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Matériel	22
1.1. Matériel biologique	22
1.2. Model animal	22
1.3. Matériel et produit utilisés	23
1.4. Conditions et traitement des animaux	23
1.5. Protocol expérimental	24
2. Méthodes	25
2.1. Sacrifice des animaux et prélèvement d'organes	25
2.2. Evaluation de la balance oxydative	26
2.2.1. Détermination des pro-oxydants/antioxydants	26
2.2.1.1. Préparation des homogénats testiculaires	26
2.2.1.2. Dosages des protéines	27
2.2.1.2.1. Méthode Bradford	27
2.2.1.2.1.2. Réalisation de la courbe étalon	28
2.1.2. Evaluation des activités anti-oxydantes enzymatiques et non enzymatiques	28
2.3. Analyse statistique	29

Chapitre VI : Résultats et discussions

Résultats	30
1. Effets de l'acétate de plomb sur les paramètres pondéraux	30
1.1. Effets de l'acétate de plomb sur le poids corporel	30

1.2. Poids corporel des lots de souris au jours à différents intervalle de jours (j1, j10 et j22).....	31
1.3. Effets de l'acétate de plomb sur le poids Testiculaire des souris en(g).....	32
1.4. Effets de l'acétate de plomb sur le poids total testiculaire en (g)	32
1.5. Effets de l'acétate de plomb sur le poids testiculaire relatif à 100g /poids corporel.....	33
1.6. Effets de l'acétate de plomb sur le poids épидидymaire des souris	33
1.7. Effets de l'acétate de plomb sur le poids épидидymaire total en (g)	34
1.8. Effet de l'acétate de plomb su le poids épидидymaire relatif des souris.....	35
2.Effets de l'acétate de plomb sur la balance oxydative (statut oxydant/antioxydant)	35
2.1. Variations des taux de glutathion réduit (GSH).....	35
2.2. Variations des taux du malondialdehyde (MDA).....	36
Discussion des résultats	38
3.1. Discussion des effets de l'acétate de plomb sur les paramètres pondéraux	38
3.2. Discussion des effets de l'acétate de plomb sur la balance oxydative.....	39
Conclusion	40
Références bibliographiques	41

Annexes

Résumé

Liste des figures

Figure 1 : Appareil génital de la souris mâle (Original, 2023).....	3
Figure2 :Schéma d'un testicule (Ophys,2015)....	4
Figure 3 : Schéma d'un épидидyme (Johnson et <i>al.</i> , 2005).....	5
Figure 4 : Détail d'une portion de tube séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007).....	7
Figure 5 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Grisworld , 1993).....	9
Figure 6 : L'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).....	10
Figure 7 : Différentes étapes de la spermatogénèse (Marieb,2006).....	12
Figure 8 : Etapes de la spermiogénèse (Gayard,2007).....	13
Figure 9 : Régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Harel et poirot,2010).....	15
Figure 10 : Balance radicaux libres/antioxydants (Shimizu,2004).....	16
Figure 11 : Origine extra et intracellulaires des radicaux libres oxygénés (Afonso et al .,2007).....	18
Figure 12 : Matériel et produits d'injection :micropipette, sereingue alcool et coton et acetate de plomb (Originale,2023).....	23
Figure 13 : Souris blanches <i>Mus musculus</i> (BALBc) mâles (Original,2023).....	25
Figure 14 : Injection de l'acétate de plomb dans la région intra-péritonéale de la souris <i>Mus musculus</i> (BALBc) mâle (Original,2023).....	25
Figure 15 :Dissection d'une souris mâle (Original,2023).....	26
Figure 16 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines réalisée par la BSA.....	27
Figure 17 : Formation d'adduit (TBA-MDA) (Collomb et <i>al.</i> 1996).....	29
Figure 18 : Représentation graphique des poids corporel des souris mâles <i>Mus musculus</i> (BALBc) témoins et , et traitées à l'Acétate de plomb.....	30
Figure 19 : Représentation des moyennes des poids corporels des souris aux jours j01,j10,j22.....	31

Figure 20: représentation graphique des poids testiculaires droit et gauche des souris en (g).....	32
Figure 21 : représentation graphique du poids testiculaires totale des souris.....	32
Figure 22 : représentation graphique des poids testiculaires relatifs à 100g.....	33
Figure 23 : représentation graphique des poids épидидymaires des souris	34
Figure 24 : représentation graphique des poids épидидymaires totaux des souris en (g).....	34
Figure 25: Représentation graphique des poids épидидymaires relatifs des souris.....	35
Figure 26 : Variation des taux de GSH ($\mu\text{mole/mg}$ protéines) testiculaire des rats contrôles et traités à l'acétate de plomb.....	36
Figure 27 : Variation des taux de MDA (nmole/mg) testiculaire des rats contrôles et traités à l'acétate de plomb.....	37

Liste des tableaux :

Tableau1 : Valeurs moyennes du glutathion réduit ($\mu\text{mole/mg prot}$) et de MDA (nmol/mg) testiculaire chez les groupes de souris Contrôles (T) et traités à l'acétate de plomb ($\text{Moy}\pm\text{ESM}$).....**37**

Abréviations

ABP : Androgen binding protein

AOX : antioxydant.

AP : Acétate de plomb

BALBc: Souris souche albinos , immunodéficiente ,élevée au laboratoire

BSA : Bovin serique albumin

CoQ10H2 : Ubiquinol-10

CoQH2 : Cytochrome c reductase

CuZn SOD : Superoxyde dismutase

DO : Densité optique

EOA : Bilan d'extension des épithéliomas baso-cellulaires

ERA : Espèces réactives à l'azote

ERO : Espèces réactives a l'oxygène

ESM : Erreur standard à la moyenne

FSH : Follicule Stimulating Hormone

G250 : Bleu de coomassie

GnRH : Gonadotropine Releasing Hormone

GSH : Glutathion réduit

GSHPX : Glutathion peroxydase

GSSD : Glutathion oxydé

GSSG : Disulfure de glutathion

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène

HHG : Hypothalamo-hypophyso-gonadique.

LH : Leutenizing Hormone

MDA : Malondialdehyd

MnSOD : Superoxyde dismutase dépendant du manganèse

MOY : Moyenne

Na(SDS) : Laurylsulfate de sodium

NaCl : Chlorure de sodium

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NaH₂PO₄ : Dihydrogénophosphate de sodium

NO* : Monoxyde d'azote

O₂- : Anion peroxydase

O₂*- : Anion super oxyde

OH : Hydroxyle

OH*- : Radical hydroxyl

ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail

ONOO- : Peroxynitrite

PB : Plomb

PMSF : Fluorure de phénylméthylsulfonyl

PROT : Protéine

SC : Sous-cutanée

Se-GPx : Selenium dependent glutathion peroxydase

SOD : Superoxyde dismutase

T : Témoin

TBA : Acide thiobarbiturique

UV : Ultra violets

Introduction

Les métaux lourds, également appelés éléments traces métalliques, sont naturellement présents dans l'environnement sous forme de traces. De nos jours, avec le développement des activités industrielles de l'homme, plusieurs substances toxiques sont propagées dans la nature, telles que les métaux lourds, substances nocives pour l'homme et l'animal et qui engendrent plusieurs lésions sur le plan anatomique, physiologique mais aussi reproducteur. Parmi ces métaux lourds, l'acétate de plomb qui peut être à l'origine d'une toxicité de l'organisme exposé, touchant ainsi les organes tels que les gonades (**Saka et al., 2011**).

Le plomb est l'élément chimique de numéro atomique 82, de symbole Pb avec une masse atomique standard de 207,2. C'est un métal malléable, gris bleuâtre, flexible et qui blanchit lentement en s'oxydant, il est aussi un élément toxique et mutagène (**Kabata-Pendias, 1992**). Une forte exposition au plomb est associée à un risque d'infertilité ou de mal formation, il peut atteindre l'appareil reproducteur responsable par l'altération de la spermatogenèse et la diminution du niveau de testostérone (**Missoun, 2012**).

Le stress oxydatif est un phénomène qui résulte d'un déséquilibre de la balance « prooxydants/antioxydants » en faveur des antioxydants, qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble cellulaire de l'organisme hôte tel que des altérations des protéines, enzymes, risque de mutations cancérogènes... Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les ERO (espèces réactives à l'oxygène) ou à une diminution du système antioxydant (**Sergent. Et al., 2000**).

Chez les mammifère, l'appareil reproducteur mâle regroupe les testicules l'épididyme, la prostate et les vésicules séminales. Il permet une fonction exocrine qui est de générer, stocker et transporter le matériel génétique contenu dans les cellules sexuelles mâles « spermatozoïdes ». Il est aussi doté d'une fonction endocrine représenté par la stéroïdogenèse sous le contrôle de l'axe hypothalamo-anthéhypophysaire. Les souris blanches *Mus musculus* sont des animaux de laboratoires très utilisés dans le monde en expérimentations diverses, en biologie ou en recherche médicale mettant en évidence plusieurs hypothèses. Ces mammifères sont choisis par le fait de la similarité très significative de leur organisme et leur physiologie avec l'homme.

Notre travail fait partie des travaux de recherche de Dr.Lakabi et Dr.Akdader, dont l'objectif est de rechercher et déterminer les effets reprotoxique de l'Acétate de Plomb chez la souris mâle adulte *Mus musculus*, sur les paramètres macroscopique pondéraux : poids des testicules et épидидymes ; ainsi que sur la balance du stress oxydatif.

Introduction

Ce travail se divise en quatre chapitres, le premier s'agit de rappels bibliographiques sur l'anatomie et l'histologie du testicule et l'épididyme de la souris mâle ainsi que la physiologie de la reproduction , le deuxième sur le stress oxydant et la balance oxydative. Le troisième comporte la partie expérimentale ainsi que les matériel et méthodes utilisées durant cette expérimentation. Le quatrième s'étend sur les résultats obtenus et discussions. Et enfin, le travail comportera une conclusion pour tirer une déduction et une perspective sur cette étude.

Chapitre I
Rappels bibliographiques sur le testicule
et l'épididyme

1. Anatomie de l'appareil reproducteur de la souris mâle

L'appareil reproducteur mâle est principalement constitué de testicule et épидидyme qui assurent la maturité biologique des gamètes mâles (figure1).

Il comprend également un certain nombre d'organes annexes ,ensembles de conduits tels que le canal déférent, urètre, pénis ainsi que des glandes annexes telles que la prostate, la vésicule séminale et les glandes de Cowper qui assurent ensemble le transport et la maturation biologique des spermatozoïdes (Poirier et Poirier, 1993).

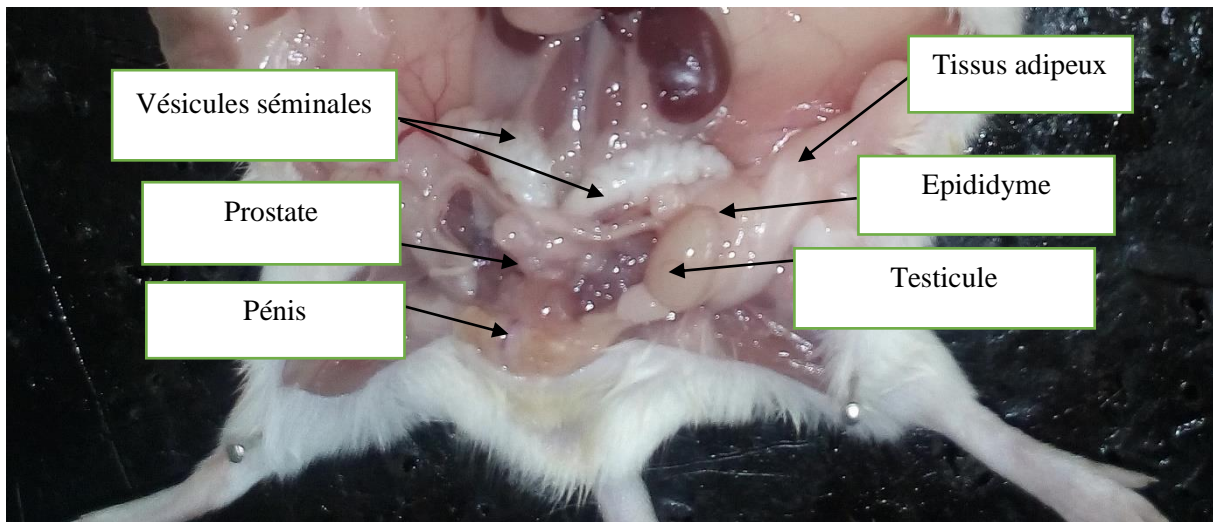


Figure 1 : Appareil génital de la souris mâle (Original, 2023)

1.1. Anatomie du testicule

Le testicule est un organe pair, ovoïde et producteur de gamètes mâles localisé dans le scrotum. Il est coiffé par l'épididyme et recouvert par deux tuniques : une tunique vaginale dérivée du péritoine et une tunique plus profonde fibreuse l'albuginée (Marieb, 2005). Le testicule se loge dans le scrotum qui est un sac de peau de fascia superficielle suspendu à l'extérieur de la cavité abdominale pelvienne au niveau de la racine du pénis ; la cloison médiane septum du scrotum le divise en deux moitiés qui logent chacune d'elle un testicule (figure2). La localisation superficielle du scrotum permet au testicule de maintenir une température inférieure à 3°C par rapport à celle du corps et donc représente une adaptation essentielle pour les spermatozoïdes. Ces modifications du scrotum qui se rétrécit au temps du froid pour réduire la chaleur en se relâchant en temps chaud pour augmenter la surface de refroidissement, sont essentielles pour maintenir

une température intra-scrotale stable qui sont permises par deux muscles : le dartos couche musculaire lisse située dans le fascia superficiel et le crémaster tissu musculaire squelettique bandé permettant l'ascension des testicules (Marieb,2005)

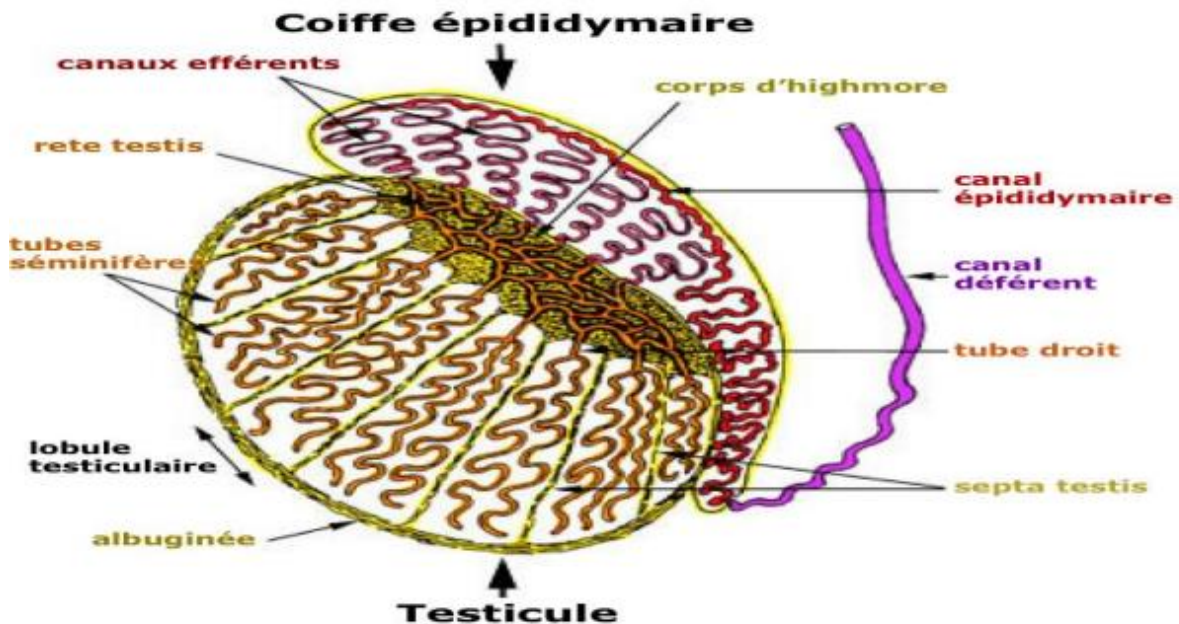


Figure 2 : Schéma d'un testicule (Ophys,2015).

Le testicule est composé par de nombreux lobules coniques (200 à 300), séparés par des fines cloisons conjonctives, chaque lobule renferme 3 ou 4 tubes séminifères longs de 1m chez l'homme (Poirier, 1976).

Les tubules séminifères contournés de chaque lobule convergent vers un tubule séminifère droit qui transporte les spermatozoïdes jusqu'au *rete testis* (un réseau de canaux). Les spermatozoïdes quittent le testicule par les canicules efférents et pénètrent dans l'épididyme qui épouse la surface du testicule (Marieb, 2005).

1.2 Anatomie de l'épididyme

L'épididyme est un long canal adhérent au testicule et pelotonné sur lui-même avec un attachement au pôle crânial du testicule par les conducteurs efférents et le tissu connectif de la tunique de la tête (figure 3). Il se compose de l'épididyme proximal et l'épididyme distal. L'épididyme s'épaissit au fur et à mesure qu'il s'éloigne de son origine de six ou sept branches

au sommet du testicule. Les conduits efférents qui communiquent de manière proximale avec le *rete testis* anastomosent distalement le long du tube **épididymaire** (Turner, 2005).

L'épididyme est divisé en trois parties :

- La tête : une partie renflée qui coiffe le pôle antérieur de testicule ;
- Le corps : une partie plus mince ;
- La queue : une partie plus dilatée de l'épididyme. Le transit épididymaire permet le transport (par contractions) le stockage (par la queue de l'épididyme) et l'acquisition de la motilité des spermatozoïdes (Lawrence et al., 2015).

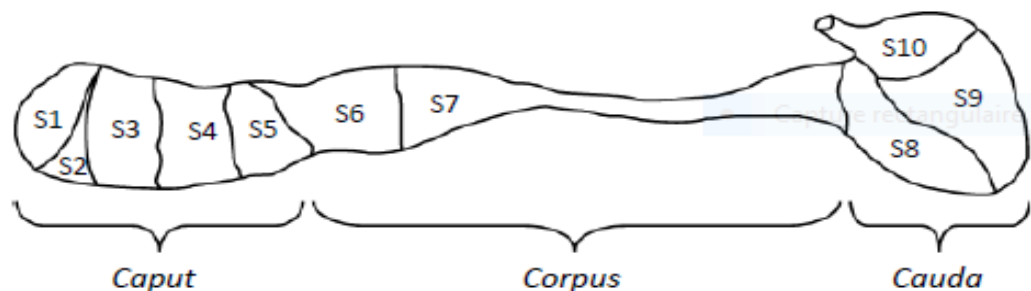


Figure 3 : Schéma d'un épididyme (Johnson et al., 2005)

1.3. Canal déférent

Appelé également spermiducte, le cana défèrent est le prolongement de l'épididyme qui lorsqu'il s'élargit à son extrémité il forme une ampoule (Setchell et Brooks, 1988). Le canal défèrent conduit les spermatozoïdes qui migrent de la paroi épididymaire grâce à leurs flagelle et contractions jusqu'aux ampoules du conduit défèrent pour le stockage (Thibault et Levasseur, 2001).

1.4. Urètre

L'urètre part de la vessie jusqu'à l'extrémité du pénis ; c'est un conduit pénien servant pour l'érection d'urine et du sperme (Baronne, 2001).

1.5. Glandes annexes

L'appareil reproducteur de la souris mâle comporte trois principales glandes annexes : la vésicule séminale droite et gauche ; la prostate impaire et médiane ; et les glandes de Cowper qui participent à l'élaboration du liquide séminal (sperme).

1.6. Vésicules séminales

Les vésicules séminales s'abouchent dans la partie proximale des canaux éjaculateurs. Elles secrètent un liquide clair visqueux qui contient en particulier du fructose indispensable à la vie des spermatozoïdes (**Robert et Vincent, 1993**).

1.7. Prostate

La prostate est traversée par l'urètre et c'est dans sa lumière que se déversent les canaux prostatiques. Le liquide prostatique est riche en enzymes (dont les phosphatases) et en prostaglandines (**Robert et Vincent, 1993**).

1.8. Glandes de Cowper

Les glandes de Cowper sont appelées glandes bulbo-urétrales, ce sont des glandes muqueuses qui se déversent dans l'urètre pénien (**Robert et Vincent, 1993**).

1.9. Organes génitaux externes

Les organes génitaux externes sont représentés par les bourses droites et gauches qui logent le testicule et le pénis organe copulateur et de miction et transfert de spermatozoïdes qui est traversé par l'urètre pénien ; il contient des corps caverneux (corps érectiles) et corps spongieux à son extrémité dorsale et s'élargit pour former le gland. Les corps caverneux qui permettent l'érection du pénis au cours de l'accouplement ou acte sexuel (**Robert et Vincent, 1993**).

2. Histologie de l'appareil reproducteur de la souris mâle

2.1. Histologie du testicule

Le testicule est délimité par une enveloppe épaisse et résistante et fibreuse : l'albuginée ; qui est une enveloppe dense tapissée par un tissu conjonctif jusqu'à la région *media timum testis* du testicule qui contient le réseau de canaux *rete testis* (**Jègou et al., 2014**).

Il est parcouru par les vaisseaux testiculaires et un tissu conjonctif fibreux ou sa partie supérieure s'épaissit pour former le corps d'Highmore qui est un prisme rectangulaire enfoncé dans le parenchyme testiculaire perforé par des canaux du *rete testis* contenant les tubes

séminifères et drainé par des canaux pelotonnés : cônes efférents qui se prolongent par le canal épидидymaire (Kohler, 2010).

Le testicule est composé de deux compartiments distincts : un compartiment germinale et cellules de Sertoli et un compartiment interstitiel qui contient les cellules de Leidig (Thibault et Levasseur, 2001).

2.1.2. Tube séminifère

Le tube séminifère est l'unité fonctionnelle principale du testicule, il est long, flexueux et entouré d'une enveloppe d'épithélium séminifère qui apparait stratifié reposant sur une lame basale (figure 4). Il est constitué par les cellules de la lignée germinale et par des cellules somatiques : les cellules de Sertoli (Kohler, 2010) ainsi que d'un tissu interstitiel renfermant l'innervation et l'irrigation du tube et de tissu interstitiel formé par de petites cellules dites cellules de Leidig à fonction endocrine (Johnson et Everitt, 2000).

Chaque tube séminifère est limité par sa propre paroi appelée gaine péri-tubulaire, entouré d'une fine couche de cellules myoïdes péri-tubulaire qui permet l'évacuation des spermatozoïdes dans le testicule (Dadoun et al., 2000).

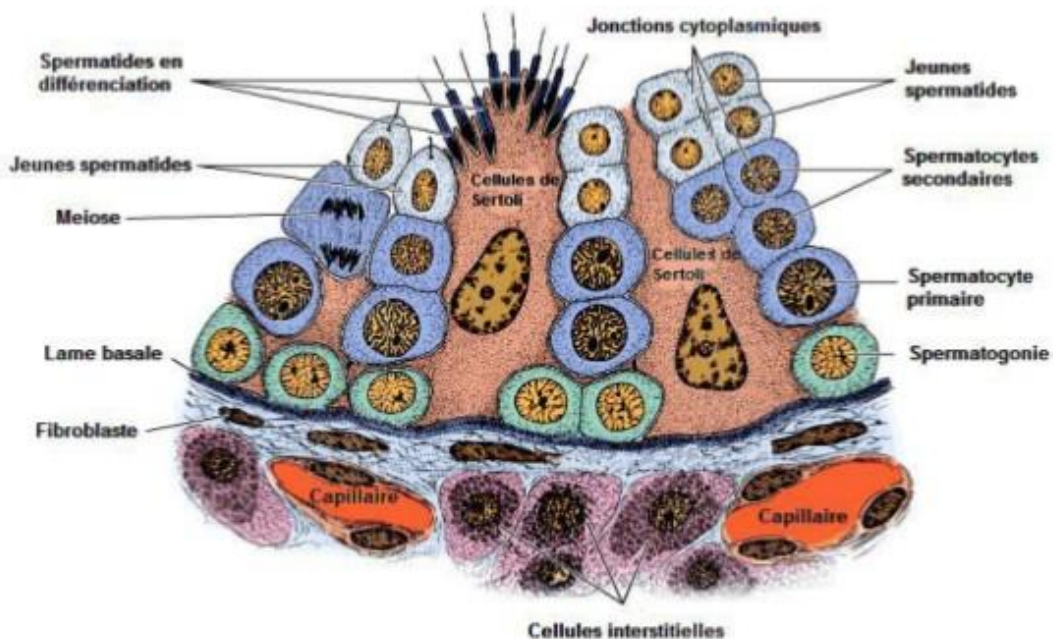


Figure 4 : Détail d'une portion de tube séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007).

2.1.3. Cellules germinales

Les cellules de la lignée spermatogénique se regroupent en 4 à 8 couches occupant l'espace situé entre la lame basale et la lumière du tube séminifère. Elles représentent les divers stades du processus de différenciation des cellules germinales masculines en spermatozoïdes, parmi lesquelles, spermatogonies, spermatocytes I, spermatocytes II, spermatides et spermatozoïdes (**Johnson et Everitt, 2000**).

2.1.4. Cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli sont des cellules allongées de forme pyramidale situées dans l'espace qui enveloppe les cellules germinales. Elles sont situées sur la lame basale et sa partie apicale est orientée vers la lumière du tube séminifère (figure5). Les cellules de Sertoli sont unies entre elles par des jonctions gap permettant le couplage ionique et chimique entre elles, et par des jonctions serrées réalisant ainsi le compartiment basal permettant un libre accès aux constituants élémentaires situés dans le sang. Durant la spermatogenèse, les cellules filles traversent ces jonctions et se retrouvent dans le compartiment luminal de la cellule de Sertoli qui est disposé d'une barrière sang-testiculaire permettant aux cellules spermatogoniques plus élaborées d'être à l'abri des constituants du sang .

Les cellules de Sertoli exercent les quatre principales fonctions suivantes :

- Support, protection et régulation nutritionnelle en développement : nutrition des cellules spermatides, spermatozoïdes et spermatocytes isolées de la circulation sanguine, et protection des cellules germinales contre les attaques immunitaires.
- Phagocytose du cytoplasme excédentaire des spermatides durant la spermatogenèse.
- Sécrétion d'un fluide continu dans les tubes séminifères qui circule vers les voies génitales et le transport des spermatozoïdes

La production de l'hormone anti-mulérienne qui est une hormone glycoprotéine exerçant l'action de régression des canaux de Muller chez le fœtus masculin et la testostérone qui permet l'évolution des canaux de Wolff durant le développement embryonnaire (**Junqueira et Carneiro, 2007**).

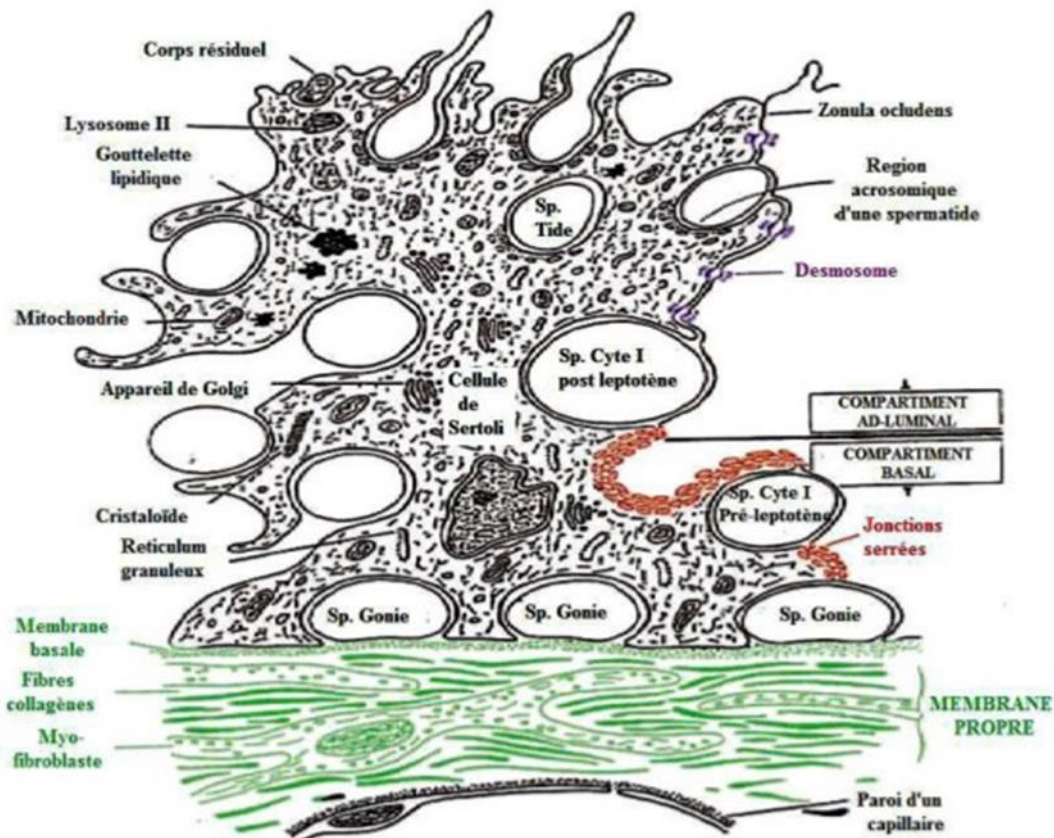


Figure 5 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Grisworld , 1993)

2.1.5. Cellules de Leidig

Les cellules de Leidig représentent le type cellulaire principal du tissu de soutien interstitiel situé entre les tubes séminifères ; elles synthétisent et secrètent les hormones sexuelles mâles telles que la testostérone qui est la principale hormone secrétée, ainsi que d'autres substances non stéroïdiennes. Elles sont soit isolées, soit regroupées en amas et sont entourées par un riche réseau de capillaires sanguins et lymphatiques qui entoure les tubes séminifères (Heath et al., 2006).

2.2. Histologie de l'épididyme

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

L'épithélium épидидymaire comporte différents types cellulaires (figure 6). Certaines cellules sont retrouvées sur toute la longueur du canal, alors que d'autres sont plus spécifiques d'une région : elles présentent des caractéristiques fonctionnelles et structurales très variées de la

région proximale à la région distale du tubule . Les types cellulaires retrouvés sont cellules claires, principales, apicales en halo et basales (**Robaire et Hermo, 1988**).

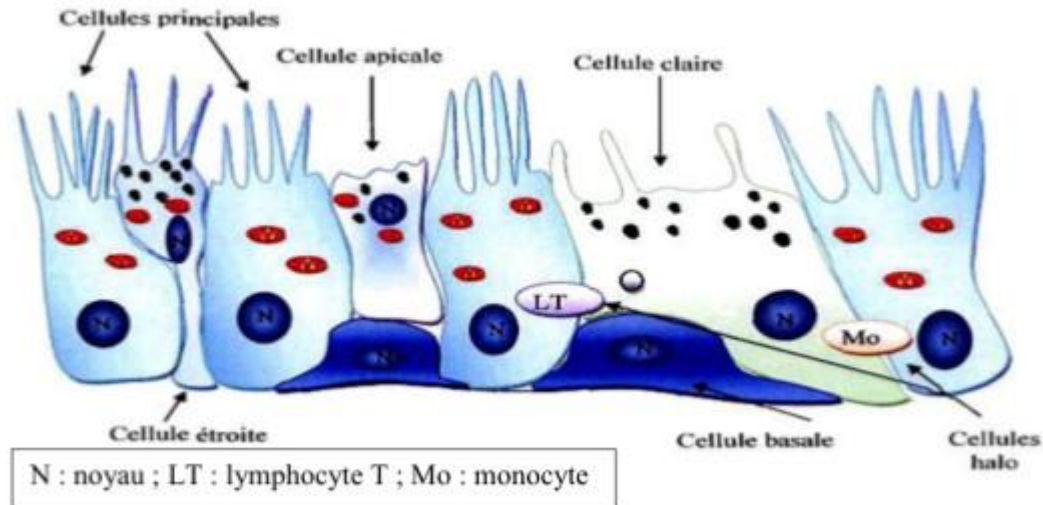


Figure 6 : L'épithélium épидидymaire (**Girouard, 2009**).

2.2.1. Cellules principales

Les cellules principales sont des cellules prismatiques à noyau basal avec des stérocils, leurs fonction et leur structure varient selon la région (**Hermo et Robaire, 2002**). Ces cellules sont caractérisées par la position basale de leur noyau, leur appareil sécrétoire et par un système endocytaire (**Robaire et Hinton, 2015**).

2.2.2. Cellules en Halo

Les cellules en Halo sont de petites cellules disséminées tout le long du canal épидидymaire avec un bord étroit, un cytoplasme clair et un noyau dense (**Robaire et al., 2006**).

2.2.3. Cellules Basales

Les Cellules Basales représentent 10 à 20 % de l'épithélium épидидymaire, ce sont de petites cellules allongées avec un noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites. Elles sont localisées tout le long du canal épидидymaire et reposent sur une membrane basale (**Soranzo et al., 1982**).

2.2.4. Cellules étroites

Les Cellules étroites se trouvent dans le segment initial et intermédiaire de l'épididyme, pourvues d'un noyau allongé en position apicale. Ces cellules se prolongent entre les cellules principales pour atteindre la région basale de l'épithélium épидидymaire qui leurs confère leurs aspect en calice. Elles sont riches en vacuoles, vésicules endocytiques et en mitochondries avec une membrane apicale courte épaisse et irrégulière à villosités (**Hermo et al., 2000**). Elles participent à l'acidification du fluide épидидymaire et sont capables de sécréter des protons dans la lumière (**Cohen et al., 1976 ; Hermo et al., 2005**).

2.2.5. Cellules apicales

Les Cellules apicales présentent un cytoplasme dense très riche en mitochondries et un noyau localisé au pôle apical de l'épithélium. Elles représentent 10% du type cellulaire du segment initial épидидymaire et ce nombre diminue jusqu'à 1% au niveau de la queue de l'épididyme (**Adamali et Hermo, 1996**). Elles participent à l'acidification du fluide épидидymaire grâce à la production d'anhydrase carbonique qui permet la sécrétion des ions H⁺ et la réabsorption des bicarbonates (HCO₃⁻) (**Martinez Garcia et al. 1995 ; Hermo et al., 2005**).

2.2.6. Cellules claires

Les Cellules claires sont de grandes cellules prismatiques présentes dans la queue et le corps de l'épididyme (**Soranzo et al., 1982**). Elles ont un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire (**Olson et Hinton, 1985**).

Les Cellules claires sont caractérisées par la présence de vésicules claires en position apicale, lysosomes en partie médiane et des inclusions lipidiques vers la base (**Robaire et Hermo, 1988**).

3. Fonction du testicule :

Le testicule est une glande amphicrine doué d'une double fonction, une fonction exocrine qui permet la production des gamètes par le processus de la spermatogenèse et une fonction de endocrine par la production des hormones stéroïdes masculines (androgènes spécialement la testostérone) (**Chocu, 2014 ; Dadoune et Démoulin, 2001**).

3.1. Exocrine : élaboration des spermatozoïdes

L'élaboration des spermatozoïdes ou spermatogenèse ,est le processus de production de gamètes mâles matures spermatozoïdes à partir de cellules souches sexuelles (spermatogonies)

au niveau des tubes séminifères se distingue en 3 principales phases : phase proliférative, phase méiotique et la spermiogénèse (figure7) , et qui s'amorce pendant la puberté et se produit tout au long de la vie (Tortora et Derrickson,2009).

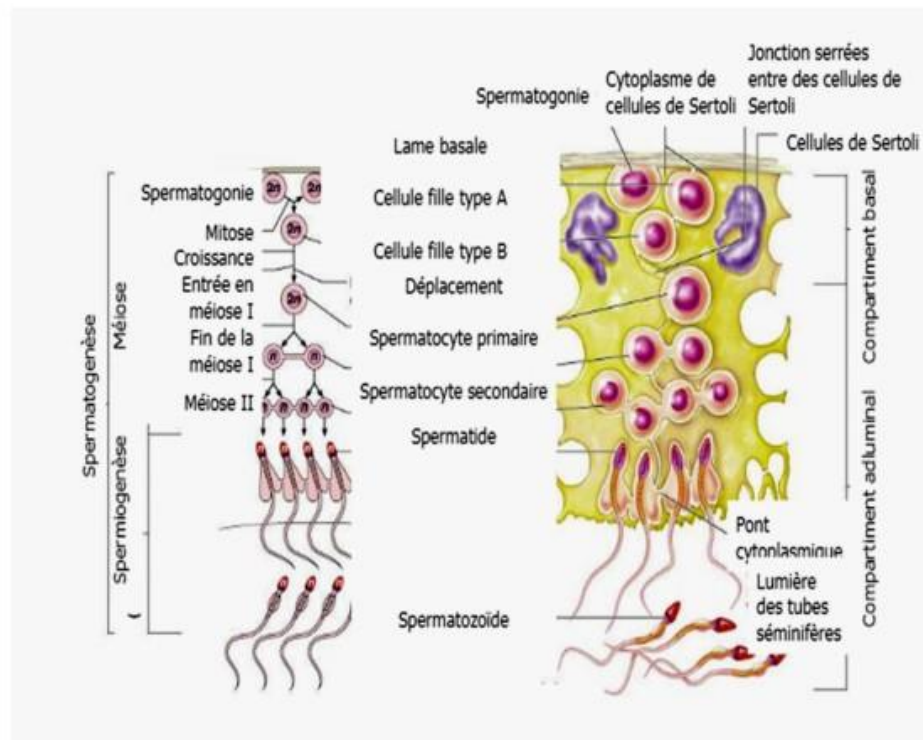


Figure 7 : Différentes étapes de la spermatogénèse (Marieb,2006).

- **La phase proliférative:** dans cette phase les spermatogonies se multiplient par des mitoses ses divisions permettent le renouvellement des spermatogonies constituant les cellules souches de réserve mais aussi la différenciation de ces cellules en spermatocytes I.
- **La phase méiotique :** cette étape permet la transformation des spermatocytes I (2n) en passant par deux divisions successives en spermatides (n) et ce par la réduction de moitié le nombre de chromosomes et de la quantité d'ADN. Chaque spermatocyte I subit un accroissement de taille et double sa quantité d'ADN puis entre en première division de méiose (division réductionnelle) pour former deux spermatocytes II haploïdes contenant 23 chromosomes chacun qui sont formés de deux chromatides et qui vont subir à leur tour la méiose II division équationnelle pour donner quatre spermatides contenant 23 chromosomes constitués d'une seule chromatide (Tortora et Derrickson,2009)

- **La spermiogénèse** : cette étape est une différenciation des spermatides en spermatozoïdes (figure 8). Le spermatide rond issu de la dernière division de méiose se différencie en un spermatide allongé par des modifications structurales et chimiques : une condensation du noyau, formation de la pièce intermédiaire et le flagelle puis l'acrosome, et enfin le spermatozoïde (**Sharma et Agarwal,2011**).

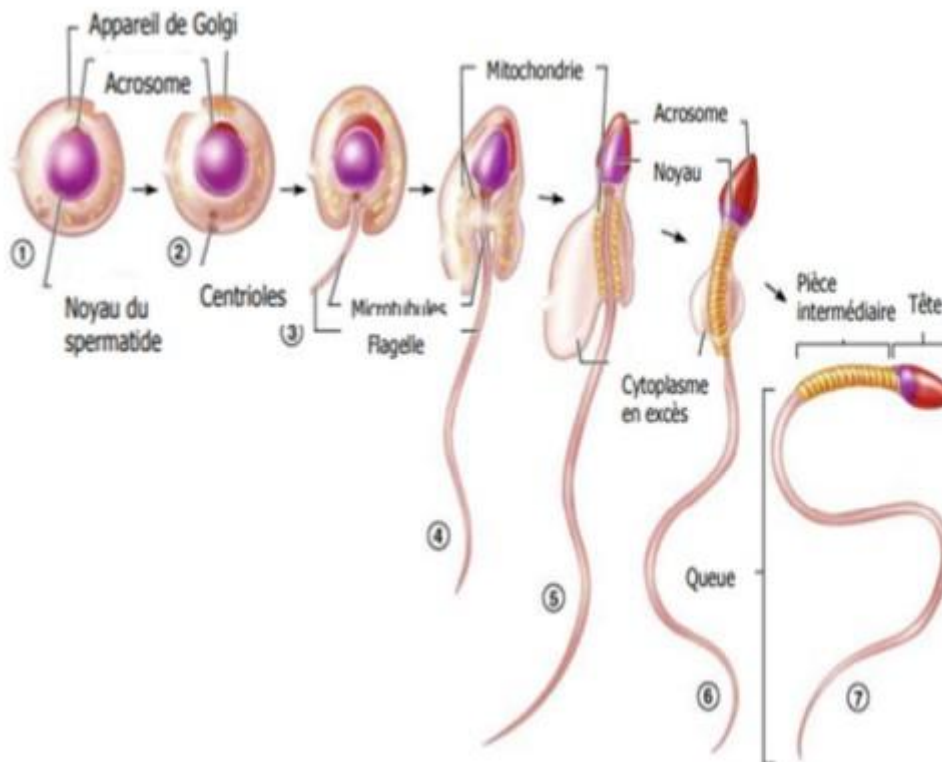


Figure 8 : Etapes de la spermiogénèse (**Gayard,2007**).

3.2. Endocrines hormones et autres substances

La stéroïdogénèse : la biosynthèse de la testostérone se fait se fait à partir du cholestérol et stimulé par la LH et HCG dans les cellules de Leidig situées dans les espaces interstitiels des cordons séminifères (**Harbert et Picon,1989 ; Gnessi et al.,2000 ; Tang et al.,2004**) .Le transport du cholestérol du cytoplasme vers la membrane mitochondriale est une étape clef ,qui fait intervenir plusieurs protéines dont la plus importante est la protéine STAR (Steriodogenic Acute Regulatory protein) (**Clark et al., 1994**) . La transformation du cholestérol en prégnénole par le cytochrome p450 au niveau de la membrane de la mitochondrie (**O'Shaughnessy et Murphy, 1991**).

La 5 α -dihydrotestostérone est aussi une hormone gonadique mâle qui cible des tissus elle est produite à partir de la testostérone sous l'influence de l'enzyme 5 α -réductase qui participe à la différenciation des organes génitaux externes au cours du développement embryonnaire (**Shimazaki et al .,1965**) et l'œstradiol également produit suite à la conversion de la testostérone par l'acromatase cytochrome P450 (**Ryan et al.,1972 ; Simpson et al.,1994**). En association avec la FSH, la testostérone est essentielle pour l'initiation et le maintien de la spermatogénèse et agit sur les cellules de Sertoli , et les cellules péri tubulaires via des récepteurs spécifiques pour stimuler indirectement la spermiogénèse par une voix paracrine (**Wosnitzer et Paduch,2013**).

4. Régulations de la fonction de reproduction

4.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HHG) et autres hormones

L'hypothalamus situé à la base de l'encéphale fait partie du système nerveux central, permet la transmission d'informations à l'hypophyse par l'intermédiaire de neurohormones via le système porte hypothalamo-hypophysaire (**Thibault et Levasseur,2001**). La sécrétion pulsatile de la gonadolibérine GnRH par L'hypothalamus dans la circulation porte hypothalamo-hypophysaire stimule l'hypophyse antérieure (adénohypophyse qui répond par la production et sécrétion de l'hormone lutéinisante LH et la folliculostimuline FSH qui sont des gonadotrophines (figure9) (**Hammond et al.,1997**).

Ces hormones sont libérées dans la circulation sanguine pour atteindre l'organe cible qui est le testicule. Elles contrôlent la production des spermatozoïdes ainsi que la production de la testostérone. La FSH agit sur les cellules de Sertoli en se fixant sur son récepteur et ainsi produire les facteur sertolien tel que l'ABP ,la transferrine..., pour le bon déroulement de la spermatogénèse. (**Widmaier et al .,2009**).

La LH à son tour agit sur les cellules de Leidig pour la sécession de la testostérone pour favoriser la spermatogénèse et le développement des organes génitaux masculins et caractères sexuels secondaires (**Nguyen et Bourouina, 2008**).

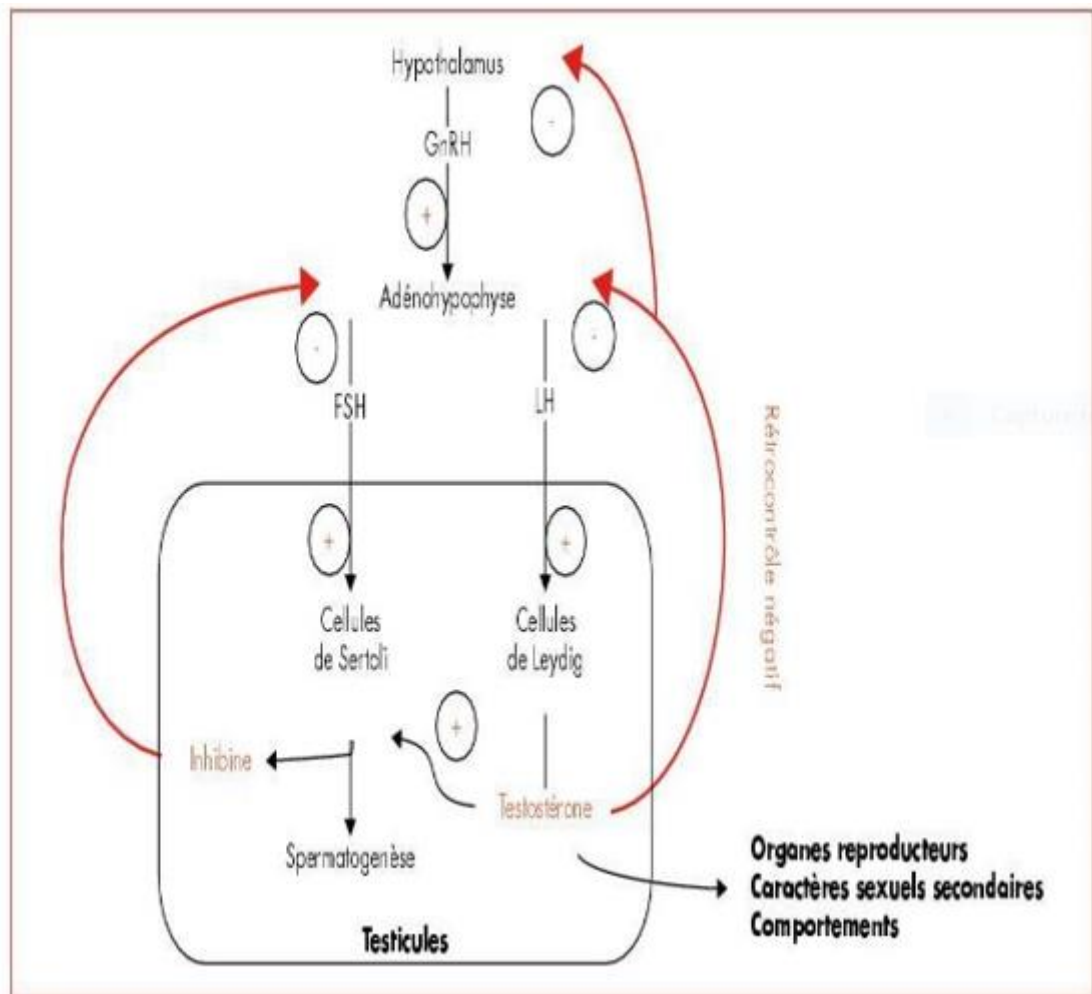


Figure 9 : Régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique (Harel et Poiriot, 2010).

Par ailleurs, la testostérone contrôle à son tour les sécrétions gonadotropes de l'axe hypothalamo-hypophysaire. En effet quand ses taux circulants augmentent dans le sang, elle exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et l'adénohypophyse, qui en pic de libération de la GnRH se réduit, ce qui induit une diminution des sécrétions adénohypophysaires.

L'inhibine qui est une hormone peptidique sécrétée par la cellule de Sertoli exerce également un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de la FSH. L'action de l'inhibine et de la testostérone entraînent une suppression maximale de la libération de la FSH (Heffner, 2003).

Chapitre II Stress oxydant

Stress oxydant

1. Définition

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défenses antioxydants de l'organisme (figure 10) (**Baudeux,2011**).

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense ; dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier,2003**).

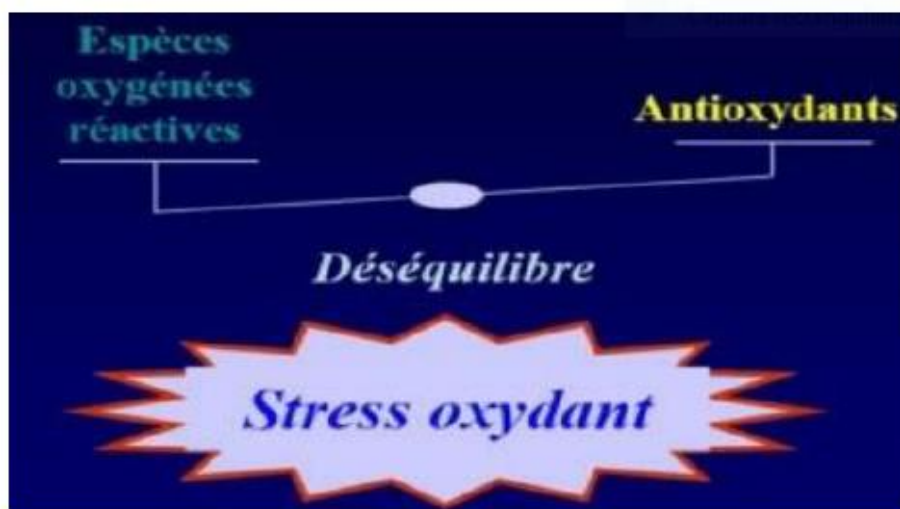


Figure 10 : Balance radicaux libres/antioxydants. (**Shimizu,2004**).

2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont espèces chimiques caractérisées par une structure électronique équilibrée (**Arousseau 2002**) dont la couche périphérique contient un électron non couplé (dit célibataire) qui les rends très instables (**De la charrière ,1987**).

Les radicaux libres peuvent être dérivés de l'oxygène (espèce réactive de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèce réactive de l'azote) ERA . La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité (demi-vie courte) ils peuvent être aussi bien des espèces oxydantes que réductrices (**Delattre et al., 2005**). L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de

l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques (**Meziti,2007**).

Selon la définition proposée par **Haliwell et Guetteridge (1996)**, les radicaux libres sont des espèces capables d'exister indépendamment, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux libres peuvent se former par transfert mono-électronique ou par scission homolytique de liaison covalente. Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule. Ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants. En jouant le rôle d'accepteur ou de donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis -à vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie courte (de nanoseconde à la mille seconde) (**Koehler-Ramonatxo,2006**). Les radicaux libres sont très instables de par leur configuration électronique et leur durée de vie est très courte de (de 4à10 secondes).

Leur réactivité réside dans le fait qu'ils recherchent un électron pour rapparier leur électron célibataire, entraînant la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical libre, il produit ainsi des réactions en chaîne qui peuvent aboutir à des dénaturations ou destructions au niveau cellulaire (**Gardes et Albert, 2003**).

3. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

L'oxygène est normalement transformé en molécule d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, mais une faible partie de cet oxygène produit en permanence au niveau de la mitochondrie des espèces oxygénées activées (**Collard, 2014**). Ces dernières sont générées de façon permanente dans l'organisme car elles sont impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme et redox physiologique pour l'expression des gènes). Les espèces réactives de l'oxygène sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante (anion peroxyde O_2^{2-} , peroxyde d'oxygène H_2O_2 et peroxydrite $ONOO^-$). Ainsi que les radicaux libres oxygénés (espèces chimiques possédant un électron non apparié comme anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, radical hydroxyle $OH^{\bullet-}$ et monoxyde d'azote NO^{\bullet} . (**Belkheiri,2010**).

4. Sources de production des radicaux libres

4.1. Origine endogène

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, d'ailleurs, la plus part des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'O₂ moléculaire en eau) dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons.

L'inflammation est considérée comme une source importante de radicaux libres puisque une grande quantité d'ERO sont produites par les cellules immunitaires plus particulièrement les cellules phagocytaires (figure 11). Ces cellules produisent de des O₂ et des H₂O₂ pour éliminer les micro-organismes pathogènes et les cellules cancéreuses. Afin d'assurer la défense de l'organisme, les cellules phagocytaires utilisent le phénomène d'explosion oxydative, qui consiste à l'activation du complexe NADPH oxydase. Cette dernière utilise l'oxygène pour produire des O₂ en grande quantité au niveau de la membrane cytoplasmique (Carange, 2010).

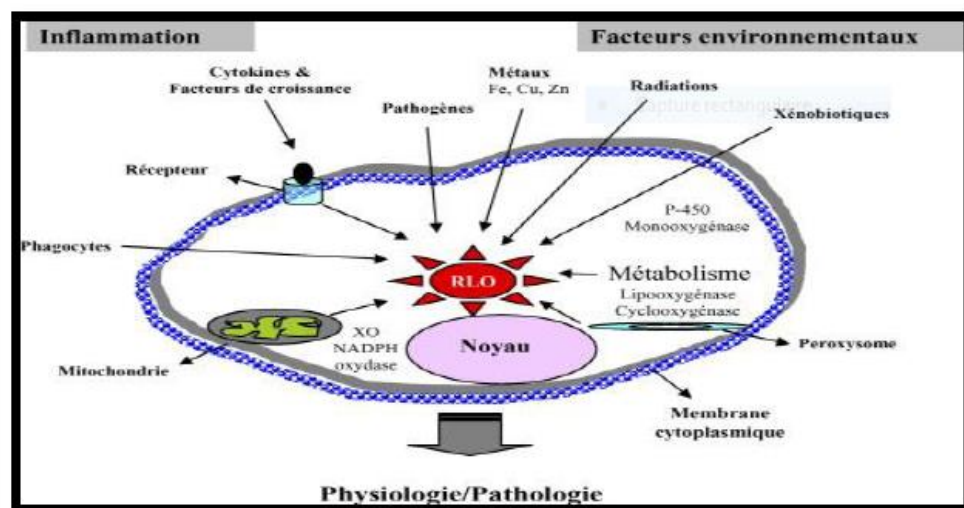


Figure 11: Origine extracellulaire et intracellulaires des radicaux libres oxygénés (Afonso et al., 2007).

4.2. Origine exogène

L'organisme humain est soumis à l'agrégation de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygène réactives : les rayonnements UV (par l'intermédiaire d'agents photons sensibilisants) et les radiations ionisantes qui induisent à la synthèse des radicaux libres de l'oxygène tel que l'O₂ et l'OH (Favier, 2003). Les rayonnements ultraviolets (UV) (figure 11), induisent la synthèse de radicaux libres de types Oh, O₂⁻ et O₂ et de molécules génératrices de radicaux libres tel que H₂O₂ par l'interphotosensibilisant. Par ailleurs, les

radiations ionisantes provoquent également la production des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Seidle et al.,2010).

5. Rôle physiologique des radicaux libres

Les radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance ou de la défense de l'organisme. En effet, ils participent au fonctionnement de certains enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à l'apoptose des cellules tumorales au cycle cellulaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, et à la régulation des gènes (Favier,2003).

6. Système antioxydant

Le système antioxydant est un ensemble d'antioxydants, voire substances qui neutralisent les radicaux libres ou leur action (Sies, 1996). Ainsi notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra et extracellulaires. Un (AOX) antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Halliwell et Guetteridge ,1990). Ces systèmes antioxydants se divisent en systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

6.1. Systèmes anti-oxydants enzymatiques

Plusieurs substances existent parmi lesquelles : les Superoxydes dismutases (SOD), les catalases , les glutathion peroxydases et les glutathion réductases.

6.1.1. Superoxydes dismutases(SOD)

éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H₂O₂ et en OH⁺ et OH⁻ (Mn SOD dans la mitochondrie, CuZn SOD dans le cytosol et les erythrocytes). Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en Zinc (Haleng et al.,2007).

6.1.2. Catalases

elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en libérant de l'oxygène et de l'eau (Goudable et Favier,1997). Elles sont localisés dans le peroxydosome de cellules de nombreux types

tissulaires, mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges (**Lahouel et al.2010**).Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène , mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès du peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puissent pas s'amplifier .Elles sont quantitativement moins efficaces que le système des glutathions peroxydases (**Haleng et al,2007**).

6.1.3. Glutathions peroxydases (GSHPX)

Ils réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et les hydroxy peroxydes lipidiques. Il s'agit d'un séléno enzyme (Se- GPx) utilisant le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur et localisé dans le cytosol et mitochondries des cellules et sur lequel elles transfèrent l'oxygène , le transformant en glutathion oxydé (GSSD).Dans la cellule, dans les conditions physiologiques , la forme glutathion réduit est prédominante (95%). Les GSHPX connues sont des enzymes à sélénium (**Haleng et al.,2007**).

6.1.4. Glutathion réductase

Appartient à la famille des flavoprotéines, elle catalyse la réduction du glutathion oxydé (GSSG) en Glutathion réduit (GSH) en utilisant des NADPH provenant de la voie des pentoses phosphates .Elle à un rôle essentiel dans le cycle redox, car elle permet le maintien d'un milieu intracellulaire réducteur avec un taux élevé de GSH et un faible taux de GSSG (**Poisson ,2013**).

6.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques :

6.2.1. Vitamine E

Agit in vivo et in vitro en neutralisant les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. La réduction de la vitamine E oxydée est assuré par la vitamine C, référence le caractère hydrophobe de la vitamine E qui lui permet de s'insérer au sein de la membrane biologique riches en acides gras polyinsaturés (RH) ou elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les espèces oxygénées activées. La vitamine E est l'antioxydant liposoluble qui a la plus grande concentration molaire cellulaire , elle est très active dans la résistance à l' oxydation des LDL.

6.2.2. Vitamine C

Acide ascorbique, la vitamine C avant tout est un excellent piègeur des EOA (HO* ou O₂*-) .Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme

radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques . Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolismes du fer (**Haleng et al.,2007**). In vivo, elle est maintenue sous forme réduite par l'action de la deshydroascorbate réductase qui utilise le glutathion comme cofacteur (**Pincemail et al., 1998**).

6.2.3. β -carotène

il est apporté par l'alimentation, il est doué de plusieurs capacités : il est précurseur de la vitamine A , il capte l'oxygène singlé sous faible pression d'oxygène, et avec d'autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaine de lipopéroxydation. Il protégé les structures cellulaires contre l'agression oxydante : il s'oppose à la cyto- et à la génotoxicité de nombreux agents (**Goudable et Favier ,1997**).

6.2.4. CoQ

le Co -enzyme Q, aussi appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est une molécule anti-oxydante considérée comme étant l'agent antioxydant membranaire le plus efficace après l' α -tocophérol. Sous le terme CoQ10, sont regroupés trois états d'oxydation de la molécule : une forme réduite (CoQH₂ ou UQH₂), appelé ubiquinol -10, une forme oxydée (CoQ10 ou UQ) appelée ubiquinol-10 , et une forme intermédiaire le radical ubisémiquinone (Q°). Parmi ces formes, c'est la seule forme réduite CoQ10H₂ qui est dotée de propriétés anti-oxydantes (**Pincemail et al.,2003**).

6.2.5. Glutathion

Il joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme de GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection anti-oxydante tel que la vitamine C ou la vitamine E (**Goudable et Favier , 1997**)

Chapitre III Matériel et méthodes

Ce travail fait partie des activités de recherche de Dr Akdader et Lakabi au sein du laboratoire de l'UMMTO, et s'inscrit dans le cadre de l'étude de la reprotoxicité des métaux lourds sur les organes reproducteurs chez la souris et de la relation du poids corporel et du poids gonadique.

L'objectif de cette expérimentation est de déterminer l'effet du stress oxydatif causé par un métal lourd qui est l'Acétate de Plomb, sur les organes génitaux reproducteurs testicule et épидидyme de la souris mâle.

1. Matériels

1.1. Matériel biologique :

Ce travail a été modéré avec un modèle animal qui est la souris mâle et un métal lourd qui est l'acétate de plomb.

1.2. Modèle animal :

Le modèle animal utilisé dans cette expérimentation est la souris mâle *Mus musculus* (BALBc) souche adulte. La souris *Mus musculus* (BALBc) souche est une souris de laboratoire contenant plus de 200 générations qui sont distribuées dans le monde pour leur utilisation vaste dans les expérimentations physiologiques et cancéreuses. (Souris BALBc). L'expérimentation s'est déroulée du 1^{er} mai jusqu'au 29 mai 2023.

La position taxonomique de la souris blanche (*Mus musculus*) d'après (**Linnaeus, 1758**) est comme suite :

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

1.3. Matériel et produits utilisés :

Cette expérimentation a nécessité l'utilisation de gants et bavette, micropipette, seringues., bécher , eppendorfs , ciseaux , épingles et lames à disséquer .Une balance électronique et une balance à précision. (voir annexe) :



Figure 12 : Matériel et produits d'injection : micropipette, seringue, alcool, coton et acétate de plomb en solution.(Original,2023).

Les produits utilisés sont : Acétate de plomb qui est le métal lourd utilisé dans cette expérimentation pour voir son effet sur les organes reproducteurs.(acétate de plomb ou tétra-acétate de plomb ,composé chimique de formule $Pb\ Ch_3COOH$ marque : Biopheme Chimopharma , propriétés du produit Lid Acétate Trihydrate).

Ainsi que le Sérum physiologique : solvant (solution pour perfusion : Biolyse à 0.9% .)

1.4. Conditions et traitement des animaux :

Les animaux issus de l'institut Pasteur d'Alger sont hébergés au niveau de l'animalerie de la faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'UMMTO. Ils ont d'abord été mis en acclimatation pendant 15 jours dans des cages (en lots) avec un changement de litière chaque 3 jours et procuration d'eau et d'alimentation chaque jour. La température moyenne était de 25°C au sein de l'animalerie avec un taux d'humidité moyenne de 78 % et un éclairage à 12/24 h par jour. Il sont nourris et abreuvés, ad libitum. L'aliment est de type granulé sec, destiné à l'élevage cunicole fabriqué par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de bétail). L'abreuvement s'effectue par un système de tétines individuelles pour hamsters et petits animaux contenant 125 ml d'eau.

1.5. Protocole expérimental :

Les expérimentations animales ont été réalisées pendant une durée de 29 jours, avec un protocole expérimental de pesée et injection unique d'acétate de plomb au premier jour: dose / poids corporel considéré a environ 26g pour une souris.)

- Les souris *Mus musculus* (BALBc) mâles sont divisées en 2 lots contenant un effectif(n) de 6 souris pour chaque lot :
 - Un lot contrôle (T) : effectif=6 souris témoins, dans une cage avec eau en tétine et alimentation *ad libitum*) : traité avec une injection (SC) d'eau physiologique (Biolyse : solution pour perfusion à 9.0%) : pour crée le même état de stress que les traités.
 - Un lot traités (AP) : effectif=6 souris dans une cage avec eau en tétine et alimentation (*ad libitum*) : ayant reçu le jour 1 une injection unique, intra-péritonéale de 8 mg d' Acétate de Plomb « Lid Acétate trihydrate) » par poids corporel de la souris (26g environ), dilué avec un solvant d'eau physiologique .
- Après avoir fait une injection unique d'acétate de plomb le jour 1, une surveillance des lots de (souris BALBc) à été effectuée, avec une procuration d'alimentation et d'eau ,ainsi que la pesée des souris avec une balance électronique pour voir les variations du poids corporel et ce chaque jour durant 29 jours ,avant de les sacrifier le jour 30.



Figure 13: Souris blanches *Mus musculus* (BALBc) mâles. (Original,2023).



Figure 14 : Injection de l'acétate de plomb dans la région intra-péritonéale de la souris *Mus musculus* (BALBc) mâle. (Original,2023).

2. Méthodes

2.1. Sacrifice des animaux et prélèvement d'organes :

Les animaux sont sacrifiés par décapitation le jour 30. Les testicules des animaux contrôles et traités sont rapidement excisés, pesés par balance à précision. Le testicule droit est fixé au Bouin Hollande (fixateur qui appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Ce fixateur fabriqué au laboratoire est un mélange de formol et d'acide picrique) ; et ce pendant 48 h afin de pouvoir effectuer des analyses histopathologique. Le testicule gauche est préservé

pour la détermination du statut pro-oxydant /antioxydant et le sang est d'abord centrifugé puis congelé à -80°C .

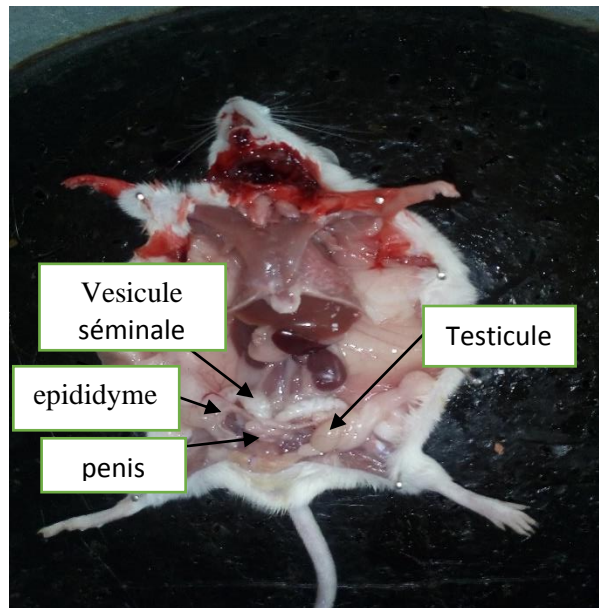


Figure 15 : Dissection d'une souris mâle (Original,2023).

2.2.Evaluation de la balance oxydative

2.2.1. Détermination des pro-oxydants /antioxydants

2.2.1.1.Préparation des homogénats testiculaires

Les testicules gauches préalablement congelés sont broyés dans un volume de 100 à 900 μl de tampon de lyse froid contenant Triton X-100 à 0.1%, NaCl 0.12M, NaH_2PO_4 (30 mM, pH 7.4) et PMSF à 0.3mM à l'aide d'un broyeur (Staufen), le broyat obtenu est ensuite centrifugé 1000 g pendant 5min à 4°C afin de séparer les noyaux et les débris cellulaires du surnageant. Les surnageant sont récupérés et sont conservés à -20°C jusqu'au jour du dosage. Les homogénats testiculaires ainsi obtenus sont récupérés afin de suivre différents protocoles décrits ci-dessous.

2.2. 1.2. Dosage des protéines

2.2.1.2.1. Méthode Bradford (1976)

2.2.1.2.1.1. Principe

Le taux de protéine dans les échantillons est dosé par l'emploi de la méthode colorimétrique de **Bradford et al. (1976)**, en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

Cette méthode est basée sur les propriétés d'adsorption de la molécule du bleu de coomassie G250 (Figure 10). En milieu méthanolique acide, cette molécule s'adsorbe sur les protéines en les complexant. Ceci provoque un transfert de son pic d'absorption qui passe du rouge au bleu. Elle se fait principalement par des liens ioniques avec les trois acides aminés basiques (Arginine, Histidine et Lysine) et des interactions hydrophobes (acides aminés hydrophobes). C'est une méthode très sensible qui détecte jusqu'à 2-5 µg de protéines. Elle est très rapide, relativement fiable et peu coûteuse. Elle est aussi assez résistante à la plupart des interférents, seuls les détergents et autres surfactants, comme le Triton et le dodécylsulfate de Na (SDS) et des bases fortes interfèrent fortement avec cette méthode.

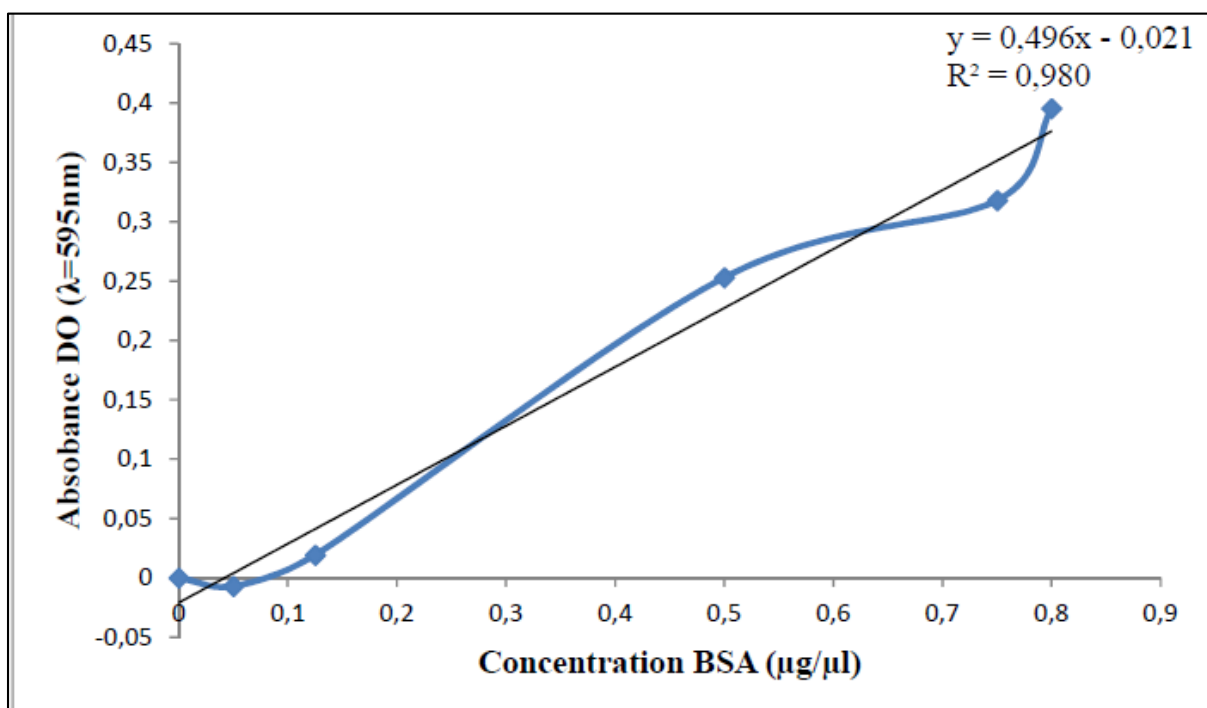


Figure 16: Courbe d'étalonnage du dosage des protéines réalisée par la BSA

2.2.1.2.1.2. Réalisation de la courbe étalon

La courbe étalon des protéines est établie à partir d'une solution mère d'une protéines standard le sérum albumine bovine (BSA) à 1µg/µl (annexe 10) dans des tubes à hémolyse de 5 ml.

Les points de la gamme à obtenir après dilution (annexe 18) sont respectivement :

0.05, 0.125, 0.5, 0.75 et 0.8 µg/µl.

L'équation utilisée pour calculer les dilutions à effectuer dans l'eau distillée et la solution de Bradford pour un volume final de 2 ml est la suivante :

$$\text{Volume BSA (à prendre)} = [\text{BSA}] \times \text{volume final}$$

Le contenu des tubes à hémolyse est mélangé à l'aide d'un vortex (Figure 11), puis incubé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant quelques minutes.

Avant le dosage, le spectrophotomètre est étalonné par un échantillon Blanc à 595nm pour le mettre à zéro avant de lire l'ensemble des points de la gamme étalon (Figure11). Ainsi les densités optiques (DO) obtenues (annexe 19) permettent de tracer une courbe d'étalonnage $DO = f(C)$ (Figure11).

L'analyse spectrophotométrique des échantillons permet de déterminer la concentration exacte des protéines contenues dans chaque épendorfs contenant un extrait protéique (annexe...). Cette dernière est obtenue en déterminant graphiquement par extrapolation.

2.1.2. Evaluation des activités anti oxydantes non enzymatiques et enzymatiques

2.1.1.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde (MDA) testiculaire représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thiobarbiturique. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm). 100µl du surnageant des homogénats sont prélevés et mélangés avec 800 µl de tampon MDA (TBA 0.6%, acide orthophosphorique 1%) puis placés pendant 45min dans un bain marie à 95° après refroidissement, 900µl de butanol sont ajoutés avant d'être centrifugés à 3000 tours/min pendant 30 min à 4°C. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm) et exprimée en nmoles/mg de prot.

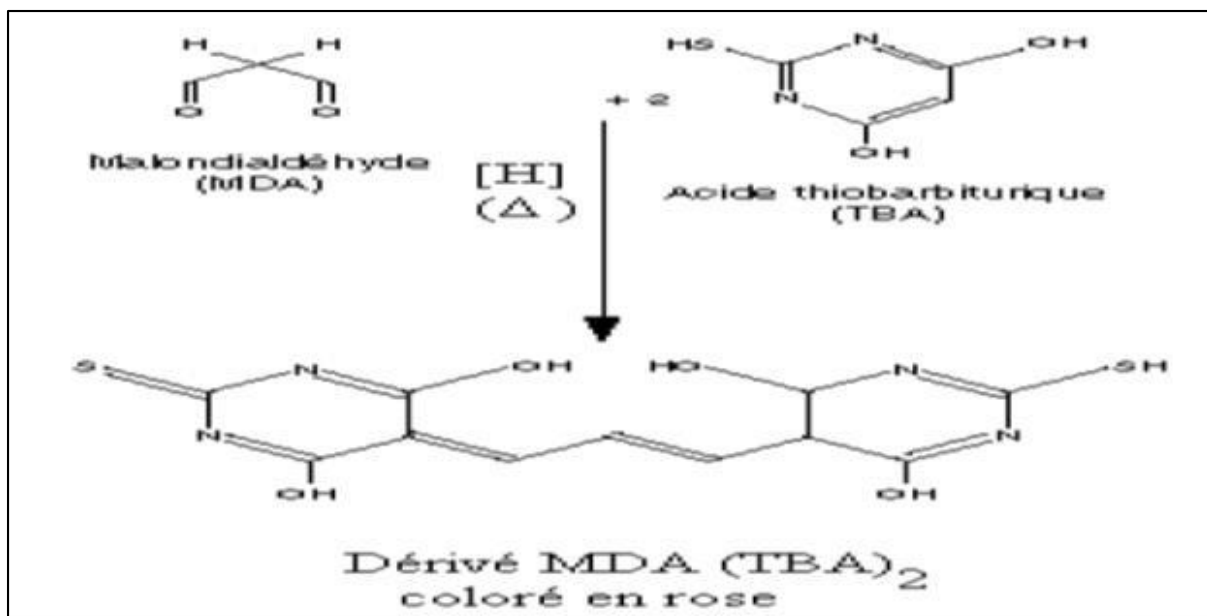


Figure 17 : Formation d'adduit (TBA-MDA) (Collomb *et al.* 1996).

2.3. Analyse statistique

Les valeurs des paramètres du stress oxydatif sont exprimées comme moyenne \pm erreur standard à la moyenne (Moy \pm ESM). Les différences entre les lots sont analysées en utilisant le test de student-fisher avec un seuil de significativité de 5% avec utilisation des tests de comparaison non paramétriques (test d'ANOVA) Tous les tests statistiques sont réalisés en utilisant le logiciel. La validation statistique des différences entre les moyenne est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisés à l'aide d'un logicielle informatique « OriginLab »2007 et la valeur des probabilités « p » :

La différence entre deux moyennes est significative si :

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

✓ $p < 0,01$ **très significatif

✓ $p < 0,05$ * significatif

✓ $p > 0,05$ non significatif

Chapitre IV Résultats et discussions

Les souris mâles *Mus musculus* (BALBc) ont été pesées chaque jour durant 29 jours d'expérimentation, afin de déterminer l'effet de l'Acétate de Plomb sur le développement pondéral des souris (poids corporel, testiculaires et épидидymaire) ; et les résultats obtenus ont exprimés ci-joint.

1.Effets de l'acétate de plomb sur les paramètres pondéraux

1.1. Effets de l'acétate de plomb sur le poids corporel

Le poids corporel est exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM) pour les souris *Mus musculus* (BALBc) mâles traitées à l'Acétate de plomb, et témoins (Figure 18). Les résultats obtenus dans le graphe montrent que les valeurs moyennes des poids corporels du lot AP (acétate de plomb) augmentent en fonction du temps depuis le début de l'expérimentation jusqu'à sa fin par rapport au lot témoins avec une différence non significative ($P > 0.543$).

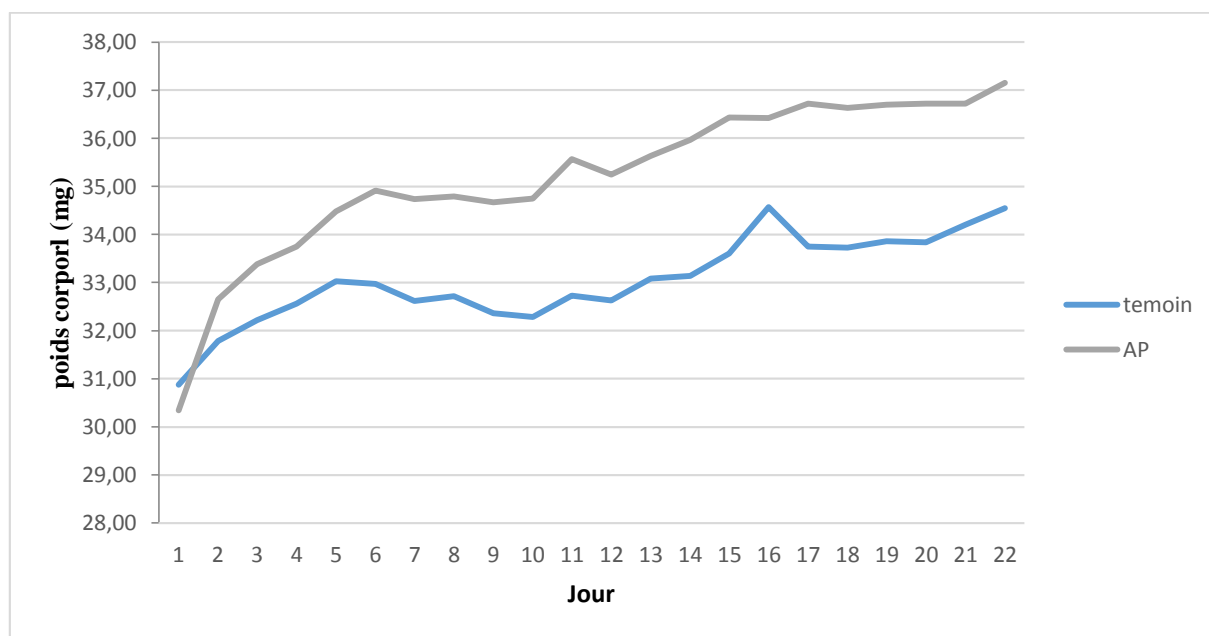


Figure 18: Représentation graphique du poids corporel des souris mâles *Mus musculus* (BALBc) témoins et traitées à l'Acétate de plomb. **T** : témoin ; **AP** : Acétate de Plomb à dose 8mg/ kg.

1.2. Poids corporel des lots de souris au jours à différents intervalle de jours (j1, j10 et j22)

Le poids corporel des lots de souris aux jours j01, j10, j22 sont représentés dans la figure suivante : figure 19

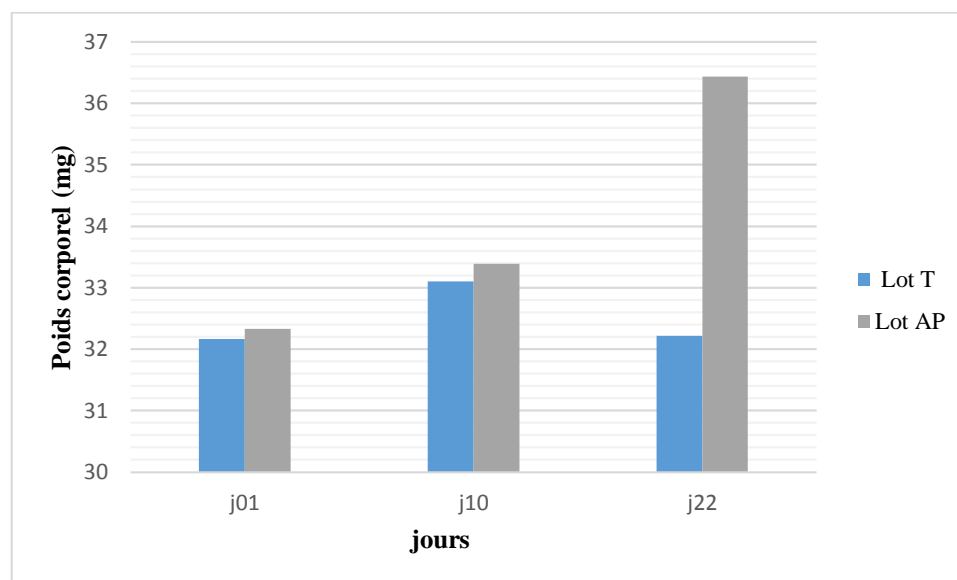


Figure 19: Représentation des moyennes des poids corporels des souris aux jours j1, j10, j22 . **T** : Témoin , **AP** : Acétate de Plomb à dose 8mg/kg

Le graphe montre que les poids corporels des souris augmente progressivement avec les jours dans tous les lots entre j1 et j22 avec une différence non significative de $P > 0.05$.

1.3. Effets de l'acétate de plomb sur le poids Testiculaire des souris en (g) :

Le poids des testicules gauches et droits des souris sont représentés dans la figure 20.

Chez les souris du lot (AP) traitées à l'acétate de plomb, la valeur moyenne des testicules droit et gauche est inférieure par rapport aux autres lots, elle est de 0.12 ± 0.02 g pour le testicule droit et de 0.12 ± 0.01 g pour le testicule gauche. Ces valeurs sont inférieures au lot témoin (T) dont les valeurs sont estimées à 0.23 ± 0.2 g pour le testicule droit et de 0.20 ± 0.2 g pour le testicule gauche. Aucune différence significative n'est observée entre lots étudiés ($P > 0.05$).

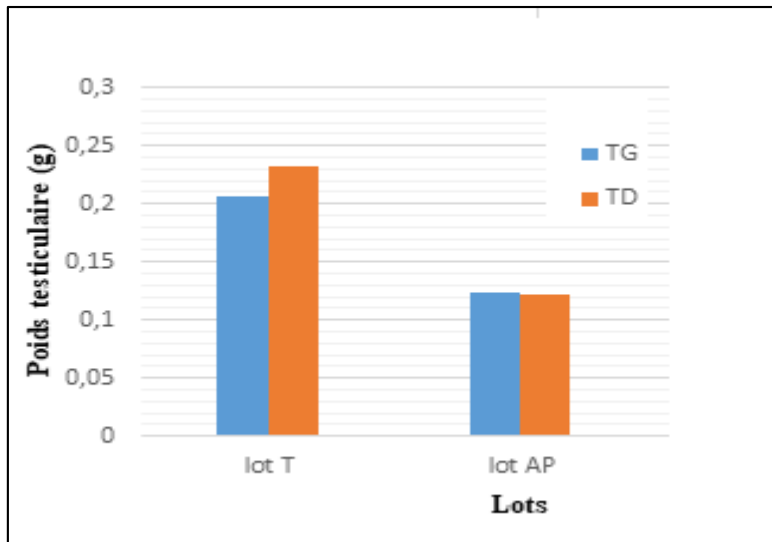


Figure 20: représentation graphique des poids testiculaires droit et gauche des souris en (g).

T : Témoin , **AP :** lot Acétate de Plomb à dose de 8mg/kg. **TG :** Testicule gauche ; **TD :** Testicule droit.

1.4. Effets de l'acétate de plomb sur le poids total testiculaire en (g)

Les valeurs des poids testiculaires total des souris mâles *Mus musculus* (BALBc) sont représentées dans la figure 21.

Chez les souris témoins, la valeur du poids testiculaire total est de $0.43 \pm 0.5g$, cette même valeur est inférieure chez les souris traitées à l'acétate de plomb et sont estimées à $0.245 \pm 0.03g$

. Aucune différence significative n'est observée entre les différents lots étudiés ($P > 0.05$).

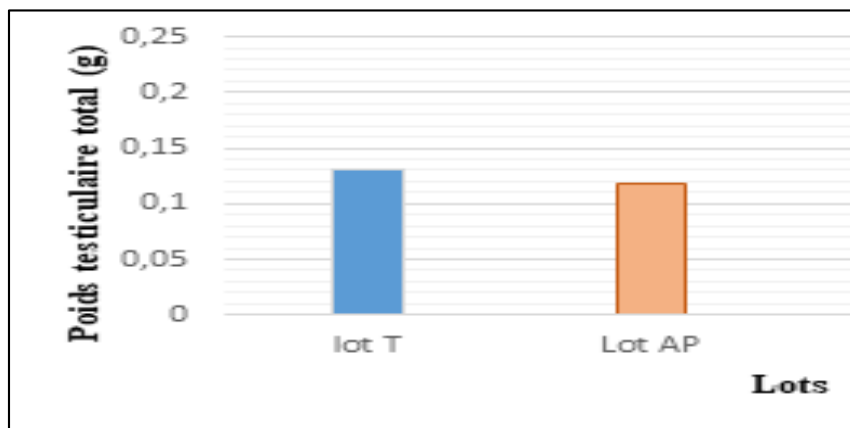


Figure 21 : représentation graphique du poids testiculaires totale des souris.

T : Témoin ; **AP :** Acétate de Plomb à dose de 8mg/kg.

1.5. Effets de l'acétate de plomb sur le poids testiculaire relatif à 100g /poids corporel

Les valeurs des poids testiculaires relatifs à 100g des souris sont représentées dans la figure 22. Le poids testiculaire relatif est plus élevé chez le lot témoin exclusivement au testicule gauche que le droit. Le lot témoin la valeur du poids relatif des testicules droits est de $0.37 \pm 0.1g$ et de $0.62 \pm 0.7g$ pour le testicule gauche. Contrairement au lot AP le poids testiculaire relatif présente des valeurs inférieures à celles du témoin. Elle est estimée à $0.33 \pm 0.05g$ pour le testicule gauches à et de $0.33 \pm 0.05g$ pour le testicule droits.

Aucune différence significative n'est observée entre les différents lots étudiés ($P > 0.05$).

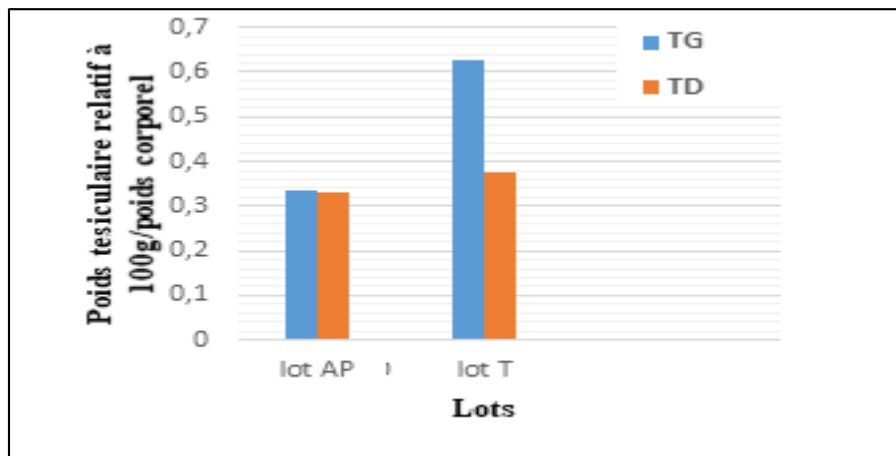


Figure 22 : représentation graphique des poids testiculaires relatifs à 100g.

T : Témoin ; **AP** : Acétate de Plomb à dose de 8mg/kg. **TG** : testicule gauche, **TD** : testicule droit.

1.6. Effets de l'acétate de plomb sur le poids épидидymaire des souris

Les poids épидидymaires des souris *Mus musculus* (BALBc) sont représentés dans la figure 23. Chez les souris témoins, la valeur moyenne du poids de l'épididyme gauche et droit sont respectivement de $0.064 \pm 0.012g$ et de $0.065 \pm 0.008g$.

Chez les souris traitées à l'Acétate de plomb la valeur moyenne du poids de l'épididyme gauche et droit sont respectivement de $0.060 \pm 0.006g$ et $0.058 \pm 0.005g$. Aucune différence significative n'est observée entre lots étudiés ($P > 0.05$).

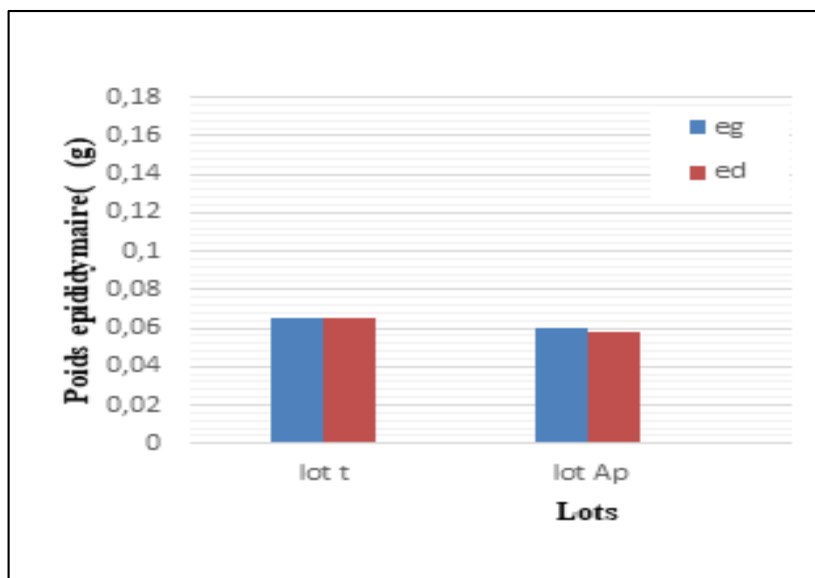


Figure 23 : représentation graphique des poids épидидymaires des souris .

T : Témoin ; **AP** : Acétate de plomb à dose de 8mg/kg. **EG** : Epididyme gauche ; **ED** : Epididyme droit .

1.7. Effets de l'acétate de plomb sur le poids épидидymaire total en (g) :

Les valeurs de poids épидидymaire total en (g) des (souris BALBc) sont représentées dans le graphe suivant, figure 24.

Chez les souris du lot témoin, le poids épидидymaire total est estimé à 0.130 ± 0.01 g. Chez les souris traitées à l'acétate de plomb (AP), la valeur du poids épидидymaire total diminue par rapport aux groupes témoins, elle est estimée à 0.118 ± 0.01 g. Une différence significative est observée entre le lot traité et les témoins $p=0.293$.

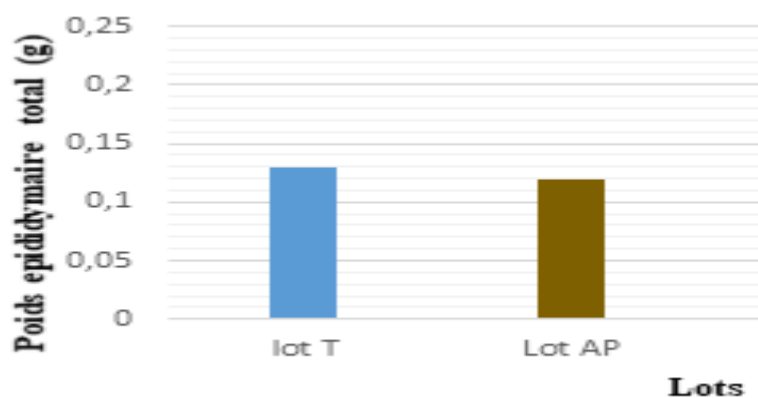


Figure 24 : représentation graphique des poids épидидymaires totaux des souris en (g).

T : Témoin ; **AP** : Acétate de plomb à dose de 8mg/kg.

1.8. Effet de l'acétate de plomb sur le poids épидидymaire relatif des souris

Les valeurs du poids épидидymaires relatifs chez le lot (T) est estimée à $0.193 \pm 0.03g$ pour l'épididyme gauche et de $0.192 \pm 0.03g$ pour l'épididyme droit (figure 25).

Chez les souris traitées à l'acétate de plomb (AP) les valeurs diminuent par rapport à l'autre lot. Elles sont estimées à 0.16 ± 0.03 pour l'épididyme gauche et de $0.15 \pm 0.02g$ pour l'épididyme droit. Une différence significative est observée entre le lot traité et les témoins et les traités $p=0.148$.

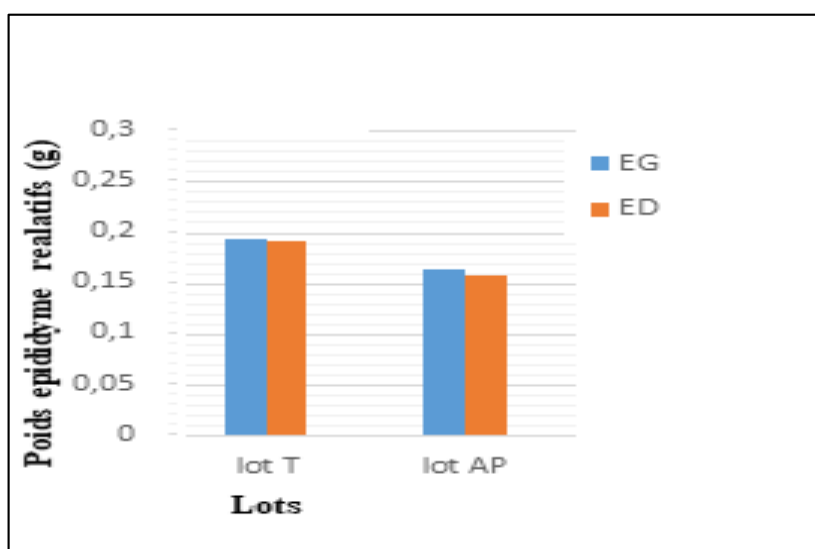


Figure 25: Représentation graphique des poids épидидymaires relatifs des souris. **AP** : Acétate de plomb à dose 8mg/kg ; **T** : témoin, **ED** : épидидyme droit ; **EG** : épидидyme gauche .

2. Effets de l'acétate de plomb sur la balance oxydative (statut oxydant/antioxydant)

2.1. Variations des taux de glutathion réduit (GSH)

Les résultats des variations des taux du marqueurs antioxydant GSH sont représentés dans la figure 26.

Le traitement à l'acétate de plomb a provoqué une diminution non significative des taux de GSH chez le lot traité par rapport aux lots témoin.

Elles sont estimées à 99.75 ± 2.98 ($\mu\text{mole/mg prot}$) chez le traité, alors qu'elles sont de 115.71 ± 2.98 ($\mu\text{mole/mg prot}$) et 119.16 ± 3.91 ($\mu\text{mole/mg prot}$) respectivement chez le lot témoin (Tableau I).

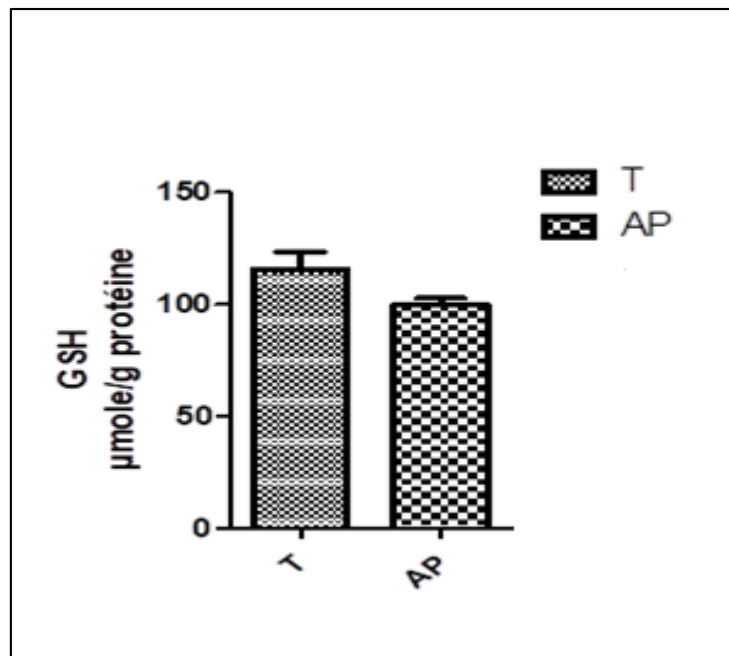


Figure 26 : Variation des taux de GSH ($\mu\text{mole/mg}$ protéines) testiculaire des rats contrôles et traités à l'acétate de plomb, **T** : témoin ; **AP** : Acétate de plomb.

2.2. Variations des taux du malondialdéhyde (MDA)

Les teneurs en MDA testiculaires des souris témoins sont à 8.45 ± 0.83 (nmol/mg), elles sont à 10.25 ± 0.79 (nmol/mg) pour le lot AP.

Les teneurs en marqueurs oxydants sont plus élevés chez le traité à l'acétate de plomb par rapport aux témoins. Aucune différence significative n'est observée entre les différents lots ($P > 0.05$).

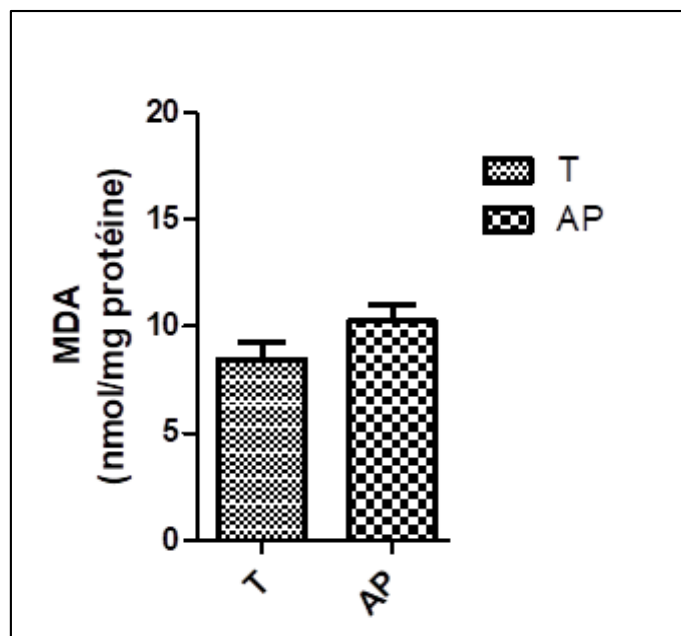


Figure 27 : Variation des taux de MDA (nmole/mg) testiculaire des rats contrôles et traités à l'acétate de plomb.

T : témoin ; **AP :** Acétate de plomb ;

Tableau I : Valeurs moyennes du glutathion réduit GSH (μ mole/mg prot) et de MDA (nmol/mg) testiculaire chez les groupes de souris Contrôles (T) et traités à l'acétate de plomb (Moy \pm ESM).

	GSH (μ mole/mg prot)	MDA (nmole/mg)
T	115.71 \pm 2.98	8.45 \pm 0.83
AP	99.75 \pm 2.98	10.25 \pm 0.79

MDA: Malondialdehyde ; **GSH :** Glutathion réduit.

3.1. Discussion des effets de l'acétate de plomb sur les paramètres pondéraux

L'acétate de plomb est un métal largement utilisé chez l'homme. Les résultats de la présente étude chez les souris après une exposition à l'acétate de plomb a entraîné certaine modification notamment une diminution des poids testiculaires ainsi qu'une perturbation de la balance du stress oxydant engendrant une perturbation de la fonction de reproduction.

Nos résultats sont en accord avec l'étude menée par **Konan. et al. (2017)** qui rapporte qu'une exposition chronique au plomb induit une diminution des hormones sexuelles et des perturbations de la spermatogenèse chez les rats mâles Wistar.

Kara et al en 2005 rapportent une diminution de poids de ces organes après une exposition au cadmium autre metal lourd comme le plomb. Cette diminution peut s'expliquer par une atrophie cellulaire ou une diminution de la prolifération cellulaire, en effet le cadmium est un métal lourd qui affecte la viabilité la prolifération et la différenciation cellulaire.

L'exposition aux métaux lourds a été associé à des effets néfastes sur le développement des gonades (**Sharma et Garu, 2011**). Chez les animaux, plusieurs études expérimentales ont rapporté une altération de la spermatogenèse (**Gorbel et al., 2002 ; Houas et al., 2015**) mais les mécanismes impliquées dans cette pathogenèse ne sont pas encore complètement élucidés.

A l'opposé, les travaux de **Gobrel, (2002)** et **Missoun, (2012)** ont rapporté une diminution dans le gain corporel de rats traités au plomb et une réduction significative des niveaux d'hormones sexuelles et des perturbations de la spermatogenèse chez les rats exposés ainsi qu'une augmentation significative de cet organe chez les rats exposés. Ces résultats sont à l'opposés de plusieurs auteurs (**Adibomoradi et al., 2015 ; Shubina et Dudenkova, 2016**). Ces auteurs ont rapporté une diminution du volume des testicules chez les rats exposés au plomb sur une période allant de 7 à 35 jours. Par ailleurs, les études menées par **Gorbel et al en (2002)** ont montré que les rats exposés au plomb avaient une diminution du testicule entre 15 et 45 jours alors qu'après 60 jours d'exposition, les testicules retrouvaient des valeurs comparables à celles des rats contrôles.

Ces observations ont été confirmées par les travaux de **Lamina et al.(2008)**, cette équipe de chercheurs a remarqué que les rats exposés à 0.3% d'acétate de plomb comme dans cette étude avaient des testicules atrophiés après un mois de traitement mais des testicules hypertrophiés après deux mois d'exposition. Ils ont conclus : que l'accumulation de plomb dans le sang affecte

la fertilité masculine en perturbant la biosynthèse des gonadotrophines et de la testostérone ainsi que le processus de la spermatogénèse.

3.2. Discussion des effets de l'acétate de plomb sur la balance oxydative

L'analyse statistique des concentrations de MDA montre une augmentation non significative des taux de malondialdéhyde testiculaire chez les souris traitées à l'acétate de plomb comparés au lot témoin ce qui suggère une perturbation de la peroxydation lipidique.

Nos résultats sur l'évaluation des marqueurs antioxydant GSH testiculaire montrent que l'injection intrapéritonéale de l'acétate de plomb n'a pas provoqué un changement statistiquement significatif de ces marqueurs de défense.

Nos résultats sont comparable aux travaux menés par **Saka et al en 2011** qui rapporte qu'une exposition intra péritonéale à l'acétate de plomb pendant une période de courte durée à des doses quotidiennes suffisamment élevées (25, 50 et 100 mg/kg), provoque systématiquement une modification des rapports organocorporels, une altération du métabolisme biochimique et une perturbation du système de détoxification du glutathion suggérant ainsi les effets nocifs de l'acétate de plomb sur les organes et pouvant ainsi être à l'origine de la reprotoxicité chez l'homme et l'animal.

Conclusion

Notre étude intitulée « Evaluation de la reprotoxicité de l'acétate de plomb chez la souris mâle adulte *Mus musculus* (BALBc) », après un traitement de 29 jours qui s'étend sur l'injection intrapéritonéale unique d'une dose de 8mg/kg d'acétate de plomb pour le lot traité et le surveiller avec un lot témoin de la souris *Mus musculus* , on a obtenus le résultat d'une :

Augmentation du poids corporel et une diminution du poids testiculaire et épидидymaire , une diminution non significative de la GSH et une augmentation non significative de la MDA en rapport avec une perturbation de la balance oxydative et un début d'installation d'un stress oxydatif chez les souris traitées à l'acétate de plomb.

Il serait intéressant d'approfondir d'avantage nos recherches sur les effets de l'acétate de plomb sur l'appareil reproducteur afin de prévenir ses effets sur la reprotoxicité en augmentant la dose administrée ou en prolongeant la durée du traitement , ou bien par des techniques immunohistochimiques au niveau des testicule et l'épididyme ,et de rechercher les mécanismes de défense radicalaire par le dosage d'autres marqueurs du stress oxydatif afin de renforcer nos connaissance actuelles sur l'utilisation quotidienne de l'acétate de plomb et de prévenir les risques associés à son utilisation.

Références bibliographiques

- **Adamali H.L et Hermo L.(1996).** Apical and narrow cells are distinct cell types differing in their structure, distribution, and functions in the adult rat epididymis .*J.Androl.*17 : 208-222.
- **Arousseau B.(2002)** . Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA . Production animales: 15 : 67-82.
- **Barone R (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot Frères, Paris :896 p.
- **Beaudeau J.L., Durand G. Biochimie médicale – Marqueurs actuels et perspectives (2° ed.),** Medecine science publications / Lavoisier, France,2011.
- **Belkhairi N. (2010).** Dérivés phénoliques à activité antiathérogènes. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.
- **Bridges N.A.,Hindmorsh P.C ., Pringle P.J., Matthews D.R et Brouk C.G (1993).** **The relationshipbetween endogenous testosterone and gonadotrophin secretion.(edition oxford) Clin Endocrinol, 38 : 373-378.**
- **Carange J. (2010).** Rôle antioxydant et anti apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Mémoire de fin d'étude, Université du Québec à trois rivières .
- **Cohen J.P., Hoffer A.P . et Rosen S.(1976)** .Carbonic anhydrase localization in the epididymis and testis of the rat : histo chemical an biochemical analysis. *Biol Reprod.*14 : 505-517
- **Collard J.(2014)** .Stress oxydant .([WWW.Labocollard](http://WWW.Labocollard.be) .be J. Collard : Stress Oxydant . 2014).
- **Dadoun J.P., Hadjisky P .,Siffroi.JP. et Vendrely G. (2000).** In Histologie : de la biologie à la clinique. 2éme édi.Méd.sci. flammarion , Paris : 960p.
- **Dadoune J.P et Demoulin A. (2001).** **Structure et fonction du testiculein Thibault C. et Levasseur M.C (2001) . La reproduction chez les mammifères et chez l'homme.Edition INRA, Paris : 256-289.**
- **De la charrier,O.(1987).** Vieillesse cutanée aspects morphologiques et physiologiques. Encyclopédie de Med Chir Dermatologie, 12235, 1-8.
- **Dellattre J., Beaudeau J.L, et Bonnement-Rousselot D.,** Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques).2005.
- **Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, l'actualité chimique, p 108-115. 2003.**
- **Goudable J. and Favier A. (1997).** Radicaux libres oxygénées et antioxydants. Nutr clin Mdtabol. 11 : 115-20.

- **Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C and Chapelle JP .(2007).** Le stress oxydant .Rev.Méd .Liège .62 : 10 : 628-638.
- **Halliwell B, Guettridje JMC. Free radicals in biology and medecine , 2° ed.** Oxford, UK : Clarendon,1989.
- **Halliwell B. and Gueterridge JMC. (2007).** Free radicals in Biology and Medecine . In : Oxygene is as a toxic gas- an introduction to oxygene toxicity and reactive species ., forth edition ., New York , pp. 1-28.
- **Hammond GL, Koivisto M, Vikhor R, Abdulkarim J, Khalaf JM , (2017).** Histopathologie du système reproducteur des souris albinos suisses mâles en raison des effets toxiques du thiaméthoxame. Septembre 2018 Journal d'études d'entomologie et de zoologie 5 (3) : 1201-1206.E-ISSN : 2320-7078. P-ISSN : 23-49-6800.
- **Harbert R. et Picon R. (1984). Testostérone , dihydrotestostérone and estradiol-17 beta levels in maternal and fetal plasma in fetal testes in the rat .J.Steroid.Biochem.,21 : 193-198.**
- **Heffner LJ, (2003). Reproduction humaine. Edition De Boeck Supérieur, 1ère Ed, Paris , 128.**
- **Hermo L, Robaire B, (2002).** Epididymal cell types and their functions. In : Robaaire B, Hinton BT. The epididymis :From molecules to clinical practice. Kluwler Academic/Plenum Publishers,New york : 81-102
- **Hermo L., Adamali H.I. et Andonian S. (2000).** Immunolocalization of CA II ans H+V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis .J Androl 21 : 376-391.
- **Hermo L., Chong D.L., Moffatt P., Sly W.S., Waheed A. et Smith C.E. (2005).** Region and cell- specific differences in the distribution of carbonic anhydrases II,III, XII, and XVI in the adult rat epididymis. J. Histochem. Cytochem., 53 : 699-713.
- **Hermo L.et Robaire B (2002).** Epididymal cell types and their functions ; In : The Epididymis : From Molecules to clinical practice. Kluwer Academic/Plemun.,42 : 81-102 .
- **Heath J.W.,Lowe J ,Stevens A, and B.Young.(2006) . Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater.Edition De boek .2ème édition .467p.**
- **Jégout B., Rolland A., et Albert O., 2014.** Le testicule . In : SAINT-DIZIER M et CHASTAN-MAILLARD S .Edition quae.
- **Jonhson M.H et Everitt.J.B . REPRODUCTION. Edition Sciences Medicales Collections.5 éme éd. (2000). (Pages)**
- **Junqueira L.C et Carneiro J. (2007) . Basic histology .11th edition.Copyright Edition The Mc Grow Hill companies.,Chicago 260-265.**
- **Kabata-Pendias,A. 1992.** Trace Metals in Soils of Poland. Trace Subs, vol 25 ,p 53.

- **Koechlin-Ramonatxo C.** Oxygène, stress oxydant et supplémentation anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20,2006.
- **Kohler.C,(2010).** Université médicale virtuelle francophone ,college universitaire et hospitalier des embryologistes et cytogénéticiens (CHEC),2010 ,2011.Consulté sur :
- **KONAN K.M., ADON M.A.,ZOUGROU N.E., OBRO K.A., N’GUESSAN A.A.J., DJAMAN A.J., DOSSO M., N4GESSAN J.D.** L’exposition chronique au plomb induit une diminution des hormones sexuelles et des perturbations de la spermatogenèse chez les rats mâles Wistar. *Revue Bio-Africa- N° 16 . pp.55-63. EDUCI*
- **Lahouel L, Boutabet K, Kebsa W and Alyane M. (2010)** . Polyphénolic fractions of algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. *Afr J Pharm.* 4 (10) : 712-720.
- **Lawrence Lamoth, Michele Theau-Clement, Sylvie Combes ,Daniel Allain, François Lebas , et al.,(2015)** . *Physiologie générale. Le lapin.De la biologie à l’élevage*,1ère édition Quae , 270p., Savoir faire Quae , 978-2759-22416-6. hal-01618403.
- **Linnaeus C. (1758)** : *Mus musculus* : Mammal Species of the World .(3^e ed.,2005).
- **Marieb.E.N , (2005).**Anatomie et Physiologie Humaines.6ème édition. Edition Pearson .Rénouveau pédagogique : 1096p.
- **Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P ., Palacios J., Paniagua R. et Nista I.M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalien epididymis .*Andrologia*,27 : 199-206.
- **Meziti A.,** Activité antioxydante des extraits des grains de *Nigella sativa* L.étude in vitro et in vivo, mémoire de magistère, Université de Batna ,2007.
- **Missoun,F. 2012.** Impact d’une intoxication au plomb au niveau hépatique, rénal et cérébrale. Etude histologique , biochimique et neuro-comportementale. Université d’Oran. 161p
- **Nguyen S.Y. et Bourouina R.(2008)** .**Manuel d’anatomie et de physiologie : Les fondamentaux.** Edition Lamarre,Paris : 421p.
- **O’Shaughnessy.P.J et Murphy L .(1991).**Structure and regulation of steriodogenic enzymes in the leiding cells.
- **Olson G.E et Hinton B.T.(1985).** Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two dimentional gel electrophoresis. *Journal of Andrology*.,volume 6 :20-34.
- **Pincemail J and Defraigne JO , (2003).** Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier . *VCP.8 (2) : 55-60.*

- **Pincemail J, Meurisse M, Limet R and Defraigne JO.(1998).** Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. Medi Sphere (MS).
- **Poirier.J.(1976).** HISTOLOGIE HUMAINE. Edition maloine,3ème édition. Fascicule 6-glandes endocrines.(pages)
- **Poisson C .(2013).**Role du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat de l'université Paris-sud 11.
- **Robaire B & Hinton BT. (2015).** The epididymis . In Knobil and Neil's Physiology of reproduction (Eds TM Plant & AJ Zeleznik), pp.691-771. Elsevier/Academic Press, Massachusetts.
- **Robaire B, Hinton B.T ,Orgebin-Christ M.C, (2006).** The epididymis. In :Neil J.D. (ed).Physiol.Of Reprod,New York : 1071-1148
- **Robaire B. et Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis and vas deferens : structure,functions , and their regulation. In : The physiology of Reproduction. Edition Knobil E. et Neill, J. Rav. Pres., New-York : 999-1080
- **Robert.C. et Vincent P.(2004).** Biologie et Physiologie Humaines .Edition VUIBERT, Paris (pages)
- **Ryan K.J., Naftolin F., Reddy V., Flores. Et Petro Z.(1972).** Estrogen formation in the brain .Am.J Obstet. Gynecol., 114 : 454-460.
- **Saka, S., Bahi, A., & Aouacheri, W. (2011).** L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats. In Annales de Toxicologie Analytique (Vol. 23, No. 3, pp. 139-145). EDP Sciences.
- **SEIDLE T., ROBINSON S., HOLMES T.& AL.(2010).** Cross-sector review of drivers and available 3Rs approaches for acute systemic toxicity testing. Tox.Sci. 16,382-396.
- **Sergent O., Griffon B., Cillard J.(2000) .** Alcool et stress oxydatif . Pathol. Bio/.49. Pp : 689-695.
- **Setchell B.P ; Brooks D.E (1988) .** Anatomy ,vasculature innervation and fluids of the male reproductivite tract. In E. Knobil et J. Neil edition.The Physiology of Reproduction. New York : Raven Press Ltd : 753-836.
- **Sharma R,, and Agarwal A, (2011).** Spermatogenesis : An Overview.Dans Sperm Chromatin : Biological and clinical Applications in Male Infertility an Assisted Reproduction, A ini, et A .Agarwal, ed (Nrw York : Springer),pp.19_44.
- **Shimazaki J., Kurihara H., Ito Y et Shida K. (1965).**Metabolismof testosteronein prisate.2.Separation of prostatic 17-beta-ol-dehydrogenase and 5-alpha-reductase.Gunma.J Med. Sci., 14 : 326-333.
- **Sies H.(1996).(ed).**Antioxydants dans la maladie, des mécanismes et la thérapie, édition académique , New York .

- **Soranzo L., Dadoune J.P et Fain-Maurel M.A (1982).** [Segmentation of the epididymal duct in mouse : an ultrastructural study].Reprod.Nutr.Dev.,22 :999-1012
- **Thibault C ; Levasseur M.C(2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme.Nouvelle édition,édition Ellipses Paris : 928.
- **Thibault C. et Levasseur M.C (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme.Edition Quae (Paris) 940 p.
- **Tortora G.J, Derrickson (2009). Manuel d'anatomie et de physiologie humaine (Paris) : 311-322.**
- **Tortora G.J., Derrickson,(2009). Manuel d'anatomie et de physiologie humaine. Hoboken, N.J Wiley : 1174p.**
- **Turner T.T.(2005).** The epididymal transcriptome : transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. Biol.Reprod.,vol.73 : 404-413p.
- **Widmaier H.,Raff K.et Paduch D.A. (2013).Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. Am. J. Med. Genet.Semin.,163 (1) : 16-26.**
- **Wosnitzer M.S et Paduch D.A .(2013).Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. AM J Med Genet C Semin Med Genet. 163 .(1),pp : 16-26.**

Résumé :

Les métaux lourds sont des éléments nuisibles à la nature et les organismes vivants. Parmi eux on compte l'acétate de plomb qui peut aussi causer des conséquences néfastes sur l'appareil reproducteur comme des altérations des organes reproducteurs (atrophie) ou bien une infertilité en raison de sa reprotoxicité. Le but de cette étude est de déterminer l'effet de l'acétate de plomb sur la fonction de reproduction de la souris mâle *Mus musculus* (BALBc). Notre étude porte sur deux lots de souris mâles : un lot traité à l'acétate de plomb (AP) et un lot control témoin (T), avec un effectif de 6 souris pour chaque lot, et chaque souris pèse environ 27g. Le lot traité à l'acétate de plomb a reçu une dose d'injection unique intrapéritonéale de 8mg/Kg d'acétate de plomb le jour 1 de l'expérimentation, quant au deuxième lot contrôle il a reçu une injection sous cutanée au sérum physiologique. Les souris ont été pesées et sacrifiées le jour 30. Après sacrifice, les organes reproducteurs testicules et épидидymes ont été pesés par une balance à précision, les testicules et épидидymes droits fixés pour une étude ultérieure, tandis que les testicules et épидидymes gauches ont été congelés pour un dosage des du stress oxydant. Les résultats ont montré une augmentation du poids corporel des souris, et une variation de la concentration des marqueurs de stress MDA et GSH. En conclusion, cette étude démontre qu'une injection unique de l'acétate de plomb à induit une variation des valeurs des poids de souris *Mus musculus*, et des perturbations de la balance oxydative.

Mots clés : Acétate de plomb, *Mus musculus*, stress oxydant, reprotoxicité.

Abstract:

Heavy metals are elements harmful to nature and living organisms. Among them is lead acetate which can also cause harmful consequences on the reproductive system such as damage to the reproductive organs (atrophy) or infertility due to its reprotoxicity. The aim of this study is to determine the Effect of lead acetate on the reproductive function of male mouse *Mus musculus* (BALBc). Our study concerns two batches of male mice: a batch treated with lead acetate (AP) and a control batch (T), with a population of 6 mice for each batch, and each mouse weights approximately 27g. The batch treated with lead acetate received a single intraperitoneal injection dose of 8mg/Kg of lead acetate on day 1 of the experiment, while the second control batch received a subcutaneous injection with physiological serum. The mice were weighed and sacrificed on day 30. After sacrifice, the reproductive organs testes and epididymis were weighed by a precision balance, the right testes and epididymis fixed for later study, while the left testes and epididymis were frozen. for an assay of oxidative stress markers. The results showed an increase in the body weight of the mice, and a variation in the concentration of the stress markers MDA and GSH. In conclusion, this study demonstrates that a single injection of lead acetate induced a variation in the weight values of *Mus musculus* mice and disturbances in the oxidative balance.

Keywords: Lead acetate, *Mus musculus* , oxidative stress , reprotoxicity .