

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique*  
*Université Blida -1-*

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie des Populations et des Organismes*



*Mémoire de Fin d'Etude en vue de l'obtention du diplôme de*

*Master en Biologie*

*Option : Reproduction Animale*

**THEME**

***Effets du STERIDIL® « Contraceptif œstro-progestatif » sur  
l'histologie des organes de reproducteur femelle de la souris  
N.M.R.I.***

*Présenté par :*

*M<sup>lle</sup> GASMI KHALIDA*

*Devant le jury composé de :*

*M<sup>me</sup> ROUAKI .F.*

*MAA*

*Présidente*

*M<sup>me</sup> KHALDOUN .H.*

*MCB*

*Examinatrice*

*M<sup>me</sup> BENAZOUZ. F.*

*MAA*

*Promotrice*

*M<sup>me</sup> NEGHAB .I.*

*Ingénieure de  
labo Pharmacotoxico*

*Co-promotrice*

## Remerciements

Tout d'abord, louange à « Allah » le tout généreux qui nous a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à **M<sup>me</sup> BEN AZOUZ FELLA**, directrice de ce mémoire, qui ma a guidé tout au long de ce travail. Je la remercie particulièrement pour ses conseils éclairés dans l'orientation des travaux, ses nombreuses idées, ainsi que pour son soutien moral. Je la remercie de m'avoir fait confiance pour réaliser ce travail et d'avoir largement participé à ma formation scientifique.

Je remercie vivement **M<sup>me</sup> IMANE NEGUAB**, ma Co-promotrice, le chef de département de pharmacotoxicologie de l'unité **antibiotical SAIDAL de Médéa**, qui a très généreusement accepté d'apporter son aide et pour que ce travail puisse être achevé et soutenu dans les meilleures conditions. Je la remercie également pour son aide technique au cours de la réalisation de ce travail.

Je remercie vivement **M<sup>me</sup> ROUAKI .F** d'avoir accepté, de présider le jury de ce mémoire.

Mon gratitude va également à **M<sup>me</sup> KHALDOUN .H** d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tient à remercier particulièrement le docteur **RAHMANI**. Spécialiste en anatomie et cytologie pathologique au service d'anatomie et cytologie pathologique de l'hôpital de Médéa d'avoir accepté de gérer l'analyse histologique.

Un merci chaleureux **Mr BESSAD AMINE**, chef d'option reproduction animale au département **BPO** à l'université de **Blida 1**, faculté des sciences de la nature et de la vie pour son soutien et son aide tout au long de mon cursus.

Enfin, à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de ma profonde sympathie.

## *Dédicace*

*J'ai le grand plaisir de dédier ce mémoire de fin d'étude :*

*A ma mère, l'être le plus chère pour moi, celle qui me donne le courage et l'espoir pour vivre ; la plus tendre au monde, celle qui me soutient et qui veille sur moi pour me donner la joie et effacer la tristesse, la fatigue, et les moments de faiblesse tout au long ma route.*

*A mon cher père, mon modèle et mon idole, qui a souffert sans se plaindre pour mon bien-être et ma réussite.*

*A ma sœur Siham bien aimée, qui ne cesse de m'encourager.*

*A mes frères : Hicham, Abed elwahabe, Abdelhak et Hamza qui partagent avec moi, les meilleurs et les plus difficiles moments de ma vie*

*Khalida*

## ***LISTE DES TABLEAUX***

<b><i>N° du tableau</i></b>	<b><i>Titre du tableau</i></b>	<b><i>page</i></b>
<b><i>I</i></b>	Posthypophyse sécrète principalement 2 hormones. <b><i>(CHRISTIAN, 2005)</i></b>	<b><i>Annexe I</i></b>
<b><i>II</i></b>	Antéhypophyse sécrète principalement 6 hormones. <b><i>(CHRISTIAN, 2005)</i></b>	<b><i>Annexe I</i></b>
<b><i>III</i></b>	Liste des oestrogénostatifs actuellement disponible. <b><i>(PIERRE LECOMTE, 1988)</i></b>	<b><i>Annexe I</i></b>
<b><i>I</i></b>	Matérielsles souris femellesissue de l'animalerie du groupe SAIDAL de Médéa.	<b><i>19</i></b>
<b><i>II</i></b>	Taille des ovaires chez deux lots de souris femelles témoins <b><i>(Figure 12A)et souris femelles traitées (Figure 12B).</i></b>	<b><i>32</i></b>
<b><i>IV</i></b>	Table de STUDENT.	<b><i>Annexe II</i></b>
<b><i>V</i></b>	Valeurs moyennes des poids corporels chez les souris femelles adultes témoins.	<b><i>Annexe II</i></b>
<b><i>VI</i></b>	Valeurs moyennes des poids corporels chez les souris femelles adultes traitées.	<b><i>Annexe II</i></b>
<b><i>VII</i></b>	Comparaison entre les poids corporels de souris témoins et traitées et leur signification statistiques.	<b><i>Annexe II</i></b>

**LISTE DES FIGURES**

<i>N° des figures</i>	<i>Titre</i>	<i>page</i>
<b>01</b>	Posthypophyse secrète deux hormones de l'hypothalamus endocrine. (CHRISTIAN, 2005)	<b>05</b>
<b>02</b>	Antéhypophyse sécrète six de l'hypothalamus endocrine.(CHRISTIAN, 2005)	<b>06</b>
<b>03</b>	Structure chimiques de l'œstrogène. (PIERRE et al, 1988)	<b>08</b>
<b>04</b>	Biosynthèse des hormones stéroïdiennes au niveau de l'ovaire ( KULH et al, 1990 /MASHCHAK et al, 1998 )	<b>09</b>
<b>05</b>	Structure chimiques de la progestérone. (PIERRE et al ,1988)	<b>11</b>
<b>01</b>	Différentes méthodes de contraception hormonale«< pilules >>. (LANSAC et al. 1988)	<b>Annexe I</b>
<b>06</b>	Plaque de la pilule STEDIRIL®. (Photo personnelle)	<b>20</b>
<b>07</b>	Différentes étapes du protocole expérimental	<b>21</b>
<b>08</b>	Préparation la dose journalière de la pilule <b>STEDIRIL</b> ®.	<b>24</b>
<b>09</b>	Aspects macroscopiques des appareils reproducteurs chez les souris femelles adultes témoin(a) et traitée avec $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$ mg/g/j de la pilule STEDIRIL® (b et c) (après fixation). (Photo personnelle)	<b>26</b>
<b>10</b>	Disposition des prélèvements dans des cassettes. (Photo personnelle)	<b>26</b>
<b>11</b>	Coupes histologiques colorées et fixées sur des lames.	<b>29</b>
<b>11</b>	Evolution du poids corporel (g) des souris femelles adultes témoins et traitées par $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$ mg/g/j de la pilule <b>STERDIRIL</b> ®.	<b>30</b>
<b>12</b>	Aspect macroscopique de l'appareil reproducteur de la souris femelles adulte témoin(A) et traitée de la pilule STEDIRIL®(B) (avant fixation). (Photo personnelle)	<b>31</b>

**LISTE DES PLANCHES**

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	<b>Coloration : HE ; Gr: x40 (A) et x200 avec zoom (B) :</b> Coupes histologiques des ovaires chez les souris femelles témoins dans la phase pré-ovulation (A) et la phase post-ovulation (B)	<b>34</b>
<b>02</b>	<b>Coloration : HE ; Gr: x40 (a) et x100 avec zoom (b) :</b> Coupes histopathologiques de l’ovaire chez les souris femelle traitées avec $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$ mg/g/j de la pilule STERIDIL® .	<b>34</b>
<b>03</b>	<b>Coloration : HE ; Gr:100x avec zoom (A) et X 400 (B):</b> Coupes histologiques de l’oviducte chez les souris femelles témoins	<b>36</b>
<b>04</b>	<b>Coloration: HE; Gr: x100 (a) et (b) :</b> Coupes histopathologiques de l’oviducte chez les souris femelles traitées avec $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$ mg/g/j de la pilule STEDIRIL®	<b>36</b>
<b>05</b>	<b>Coloration: HE; Gr: x100 (A) et x400 (B) :</b> Coupes histologiques d’une partie de la corne utérine chez les souris femelles témoins	<b>38</b>
<b>06</b>	<b>Coloration : HE ; Gr: X 200 (a) et X 400 avec zoom (b) :</b> Coupes histopathologiques d’une partie de la corne utérine chez les souris femelles traitées avec $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$ mg/g/j de la pilule STEDIRIL®	<b>38</b>
<b>07</b>	<b>Coloration : HE ; Gr: X 200 (A) et X 400 avec zoom (B):</b> Coupes histologiques d’une partie de l’épithélium vaginal chez les souris femelles témoins.	<b>40</b>
<b>08</b>	<b>Coloration : HE ; Grx200 (a) et x400 (b):</b> Coupes histopathologiques d’une partie de l’épithélium vaginal chez les souris femelles traitées avec $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$ mg/g/j de la pilule STEDIRIL®.	<b>40</b>

## Liste des Abréviations

Abréviation	Signification	
ACTH	Adrénocorticotrophique hormone.	
ADH	Antidiurétique hormone	
ADN	Acide désoxyribonucléique.	
CRH	Corticotrophin-releasing hormone.	
EE2	Éthinylestradiol.	
ER $\alpha$	Récepteur aux œstrogènes $\alpha$ .	
ER $\beta$	Récepteur aux œstrogènes $\beta$ .	
FSH	Hormone folliculo-stimulante.	
GH	Hormone de croissance.	
GH-RH	Growth hormone- releasing hormone.	
GnRH	Gonadotrophine releasing hormone.	
HDL	Lipoprotéines de haute densité.	
H.E	Hématoxyline-Éosine.	
HSP	HeatShockProteins.	
L H	Hormone lutéinisante.	
LDL	Lipoprotéines de faible densité	
N.M.R.I.	Naval medicalresearchinstitute.	
NA	Noyau arqué.	
NSO	Noyau supra-optique	
NPV	Noyau para-ventriculaire.	
Œstrogènes	E1	Œstrone.
	E2	17 $\beta$ -Œstradiol.
	E3	Œstriol.
O.N.A.B	Organisme national des aliments de bétail.	
IH	Inhiting hormone.	
RF	Releasing factor.	
RH	Releasing hormone.	
PRL	Prolactine.	
PRF	Prolactine- releasing factors.	
PIF	Prolactine- inbiting factor.	
SHBG	Sex hormones binding globuline.	
SRIF	Somatotropin-releasing factor.	
TSH	Thyroid –stimulating hormone.	
TRH	Thyrotropin-releasing hormone.	

*Effets du STERIDIL® « Contraceptif œstro-progestatif » sur l'histologie des organes de reproducteur femelle de la souris N.M.R.I.*

*Effets du STERIDIL® « Contraceptif œstro-progestatif » sur l'histologie des organes de reproducteur femelle de la souris N.M.R.I.*

<b>Introduction</b> .....	<b>01</b>
---------------------------	-----------

## Chapitre I : Partie bibliographique

I-1- Aspect anatomo-physiologique du système génital de la femme .....	02
I-2- Contrôle par le complexe hypothalamo-hypophysaire .....	05
I-2-1- Œstrogènes .....	08
I-2-2- Progestérone .....	11
I-2-3- Régulation hormonale du cycle sexuel .....	13
I-3- Contraception hormonale .....	13
I-3-1- Méthodes .....	14
I-3-2- Contraception orale .....	14
I-3-2-2- Différents types de pilules .....	14
✓ Pilules œstro-progestatifs .....	14
✓ Pilules progestatifs seuls .....	14
I-3-2-3- Effets métaboliques des œstro - progestatifs .....	16
I-3-2-4- Mécanisme d'action des oestro-progestatifs .....	15
I-3-2-5- Effets bénéfiques des œstro – progestatifs .....	16
I-3-2-6- Inconvénients de la pilule œstro-progestative .....	17

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### II-1- MATERIEL

II-1-1- Matériel biologique .....	19
II-1-2- Matériel non biologique .....	20

### II-2- METHODES

II-2-1- Choix et préparations des doses.....	21
II-2-2- Sacrifices des souris et prélèvements des appareils reproducteurs .....	25
II-2-3- Etude histo-pathologique .....	25
II-2-3-1- Eude macroscopique .....	25
II-2-3-2- Etude histologique .....	26
II-2-7- Etude statistique .....	29

## Chapitre III : Résultat et Discussion

<b>III-1-Résultats</b>	<b>30</b>
<b>III-1-1- Evolution du poids corporel</b>	<b>30</b>
<b>III-1-2- Etudes anatomopathologiques</b>	<b>31</b>
<b>III-1-2-1- Eude macroscopique</b>	<b>31</b>
<b>III-1-3-2- Etude histologique des organes de l'appareil reproducteur</b>	<b>33</b>
III-1-3-2-1-Au niveau des ovaires	33
III-1-3-2-2-Au niveau des oviductes	35
III-1-3-2-3-Au niveau des cornes utérines	37
III-1-3-2-4- Au niveau du vagin	39
<b>III-2-Discussion</b>	<b>41</b>
<b>Conclusion</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>45</b>
<b>Annexes.</b>	

# Glossaire

---

D'après **LAROUSSE médicale (2006)**

**Anatomopathologie** : Médecine spécialisée dans le diagnostic des malades d'après l'aspect des tissus au microscope.

**Androgènes** : Hormones sexuelles masculinisantes sécrétées avant tout par les testicules, chez l'homme, ainsi que par le cortex surrénal chez l'homme et la femme.

**Corps jaune** : Formation résultant de la transformation du follicule mûre après ovulation.

**Cycle menstruel** : Période de préparation du corps féminines à la fécondation contrôlé par les hormones LH et FSH, ce cycle dont la durée variée selon l'espèce.

**Endomètre**: Membrane muqueuse tapissant la cavité utérine.

**Épithélium** : Les cellules épithéliales forment des tissus dont les cellules sont jointives et unies les unes aux autres grâce à des jonctions intercellulaires.

**Fécondation** : Fusion entre un élément mâle (spermatozoïde) et un élément femelle (ovule) pour donner une cellule unique (zygote).

**Follicule** : Formation qui contient le gamète femelle des mammifères.

**Grossesse** : Ensemble des phénomènes se déroulant entre la fécondation et l'accouchement, durant lesquels l'embryon, puis le fœtus, se développe dans l'utérus maternel.

**Hormones** : Substance biologique hautement activée synthétisée par des cellules spéciales et directement sécrétée dans le sang.

**Hormone stéroïde** : Substance dérivée du cholestérol et sécrétée par certaines glandes endocrines (placenta et ovaires).

**Insuline** : Hormone produite par la cellule bêta des îlots pancréatiques et qui diminue la concentration de glucose dans le sang.

**Ocytocine** : C'est une hormone post-hypophysaire intervenant en particulier dans l'éjection du lait et les contractions de l'utérus.

**Ovule** : Gamète femelle.

**Ovulation** : Rupture d'un follicule ovarien mûr accompagnée de l'expulsion d'un ovocyte de deuxième ordre dans la cavité pelvienne.

**Mucus (glaires cervicales)** : Sécrétion liquide et épaisse des cellules caliciformes, des cellules muqueuses, des glandes muqueuses et des muqueuses.

**Prolactine** : Cette hormone est sécrétée par l'hypophyse. Son rôle principal est de stimuler la sécrétion du lait.

**Placenta** : Organe reliant l'embryon à l'utérus maternel pendant la grossesse.

## Résumé

Les pilules contraceptives sont considérées comme l'une des méthodes les plus efficaces de la contraception et leur utilisation généralisée chez les femmes correspondent à une grande classe par rapport aux autres moyens. Nous allons parler des types de pilules contraceptives et l'effet des hormones femelles sur l'appareil de reproduction.

Notre étude s'est portée sur 14 souris femelles adultes réparties en deux groupes : un groupe témoin (n=4) qui ont reçu de l'alimentation et de l'eau pendant quatre mois et un autre groupe traité (n=10) à  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule STEDIRIL® durant les mêmes périodes.

L'évaluation de l'effet de la pilule STEDIRIL® par administration orale pendant une période de quatre mois a eu un impact sur le comportement sexuel, accompagné d'une augmentation significative du poids corporel par rapport au témoin. Après leur prélèvement les organes reproducteurs de toutes les souris femelles sont fixés dans le formol afin de réaliser une étude histopathologique.

pour le groupe traité à des doses de  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j, les résultats histopathologiques ont montré la présence de troubles importants au niveau du système reproducteur « immaturité folliculaire ovarien, outre la présence de kystes ovariennes fonctionnelles dans les ovaires, la présence de quelques foyers hémorragiques et de plusieurs glandes utérines peu développées au niveau de la cornue utérine, l'épithélium pavimenteux stratifié est composé de plusieurs cellules pavimenteuses inflammatoires et inflammation vaginale ».

Selon les résultats obtenus, nous concluons que le STEDIRIL® peut avoir des effets cellulaires moléculaires chez les souris femelles adultes N.M.R.I.

**Mots clés :** Appareil reproducteur, kystes ovariennes fonctionnelles, hormone œstrogène, hormone progestérone, pilules contraceptives, souris femelles adultes, STEDIRIL®.

## Sammry

Contraceptive pills are considered one of the most effective methods of contraception and widespread use in women because they correspond to a high class compared to other means. Through this study, we will discuss the types of pills and the effect of female hormone on the reproductive device.

Our study included 14 adult female mouse divided into two groups: one control group (n = 4) who received the dose of alimentation and of water for four months and another treated (n = 10) of  $(1,73/1,91/2,1/2,4/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/d pills STEDIRIL® in the same periods.

Evaluation of the effect of pills STEDIRIL® by oral administration over a period of four months had an impact on sexual behavior, accompanied by a significant increase in body weight compared to control. While the reproductive system is fixed in formol to perform a histopathological study.

The group treated at  $(1,73/1,91/2,1/2,4/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/d , The results histomopathological showed the presence of significant disturbances in the reproductive system «follicular immaturity In addition to the presence of functional cysts in the ovaries by ovary and the presence of some foci hemorrhagic diseases and inflammations accompanied by the presence of lymphocyte cells in the uterus and the vaginal wall trivial no special » and abundant adipose tissue.

According the results collects, we concluded that the pills STEDIRIL® be to possess an impact cells molecules with the adult female mouse N.M.R.I.

**Key words:** birth control pills, female adult mouse, functional ovarian cysts, hormone estrogen, hormone progesterone, reproductive tract, pills STEDIRIL®.

المخلص

تعتبر حبوب منع الحمل من أكثر الوسائل منع الحمل انتشارا واستخداما بين السيدات لأنها تناسب فئة كبيرة كما انها من خلال هذه الدراسة سوف نتحدث عن انواع حبوب وتأثير الهرمونات . تتميز بعد مميزات عن باقي الوسائل الأخرى .  
الانثوية والمتمثلة على الجهاز التناسلي وخصوصا على التناسل

انثى الفئران بالغات موزعة على فوجين الجرعة من 14 أعطلها نفس: شملت دراستنا (4=ن) فوج شاهد يوم من ستيريديل /كغ/مغ (2.4\2.1\1.91\1.73)  $10^{-3}$  أعطيت لها (10=ن) بينما فوج مطعم , أشهر 4 الماء المقطر لمدة في نفس الفترات الزمنية

لتقيم مفعول ستيريديل عن طريق تجريع الفموي لمدة أربعة أشهر وتأثيرها على السلوك الجنسي يرافقها زيادة معتبرة بعد قطع رؤوسها يتم التقاط الجهاز التناسلي الذي قمنا بثنثته في محلول .في الوزن مقارنة بوزن انثى الفئران بالغات الشاهد فورمول لإنجاز دراسة نسيجية مرضيه

يوم وجود تغيرات مهمة على مستوى الجهاز /كغ/مغ (2.4\2.1\1.91\1.73)  $10^{-3}$  اظهر الفوج المطعم بجرعة , عدم نضج الجريبات الى جانب ذلك وجود أكياس وظيفية في المبيضين «التناسلي وهذا من خلال نتائج الفحص النسيجي بإضافة «وجود بعض البؤر النزفية والالتهابات مصحوبة بوجود خلايا مناعية وهذا على مستوى الرحم والجدار المهبلي الى الانسجة الدهنية بكثرة الفئران المعالجة اما الفئران الشاهدة تكون عادية

انطلاقا من النتائج المتحصل عليها اتضح ان استعمال ستيريديل له تأثير على مستوى الخلوي والجزيئي لدى فئران اناث .  
البالغة من الفصيلة البيضاء

,حبوب منع الحمل,هرمون بروجسترون ,هرمون الاستروجين ,الجهاز التناسلي ,اناث فئران بالغات :الكلمات المفتاحية  
ستيريديل ,أكياس مبيضية وظيفة

# Introduction

A titre de réflexion, depuis les temps plus reculés la limitation des naissances est présente. Dans l'antiquité, infanticide, avortement et contraception étaient pratiqués ; ils le furent ensuite et le sont encore de nos jours dans des proportions extrêmement variables selon les lieux et les époques. Ceci nous montre la constante volonté de l'espèce humaine d'échapper à la fatalité d'une reproduction naturelle, volonté individuelle ou collective, institutionnelle ou non mais ne trouvant une opposition que dans une structure morale d'essence religieuse ou politique. *(SERFATY, 1998)*

Cependant notre société actuelle privilégie sans doute la raison et la liberté de l'être, dans un espoir humaniste de progrès. L'homme, toujours, pense à son bien actuel et futur, et le contrôle de sa reproduction fait partie de ce souci, dans une vision, plus large de son devenir. *(PAPIERNIK et al, 1991)*

Divers moyens de contraceptions sont utilisés de nos jours : « Contraceptifs oraux , contraceptifs injectable et contraception vaginale » *(FERNANDEZ et al., 2011)* , moyens qui doivent respecter la santé des utilisateurs, c'est dans ce cadre, que nous nous sommes intéressés à la contraception orale qui est la méthode contraceptive hormonale et qui est plus utilisée chez les femmes malgré son influence à long terme sur le cancer du col utérin , le cancer du sein , l'appareil reproducteur et les maladies cérébro-vasculaires. *(AUSIAS PHARMA, 2011)*.

Poursuivant nos études sur l'effet d'un contraceptif oral de la **STEDIRIL®**, le présent travail a pour objectif de rechercher l'effet de la contraception hormonale à courte terme « 4mois » de très faibles doses journalières de  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule **STEDIRIL®** l'aspect morpho-fonctionnel de l'appareil reproducteur chez les souris femelles adultes **de souche N.M.R.I.**

Notre travail comporte trois chapitres : Le premier est consacré à la présentation de la partie bibliographique sur l'aspect anatomo-physiologique de l'appareil génital chez la femme, contrôle par complexe hypothalamo-hypophysaire et la contraception hormonale. Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés. Le troisième chapitre présente les résultats et leurs discussions, et une conclusion générale des propositions à la fin de ce travail.

## I-1- Aspect anatomo-physiologique de l'appareil génital chez la femme

L'appareil génital féminin est beaucoup plus complexe que celui de l'homme, il est à la fois le lieu de production des gamètes femelles, de la fécondation et du développement de l'embryon « étape précoce de développement se déroulant de la fécondation jusqu'à la huitième semaine de gestation », puis du fœtus « étape de développement entre la neuvième semaine de gestation et la naissance ». L'appareil génital de la femme comprend : **les organes génitaux externes** et **les organes génitaux internes**. (*LANGLOIS et LEPRESLE, 2001*)

### I-1-1- Organes génitaux externes (vulve)

La vulve est l'organe sexuel externe de la femme .C'est un repli cutané érogène de l'espace superficiel du périnée.

C'est un organe étendu, situé en grande partie entre les cuisses. Elle comprend : Le mont du pubis (mont de venus), Lèvres vaginales (les grandes lèvres et les petites lèvres), le clitoris, le vestibule, l'hymen et les glandes de Bartholin et les glandes vestibulaires majeures. Elle est constitué de. (*KAMINA ,2000*) :

#### ✓ **Mont du pubis (mont de venus)**

C'est une saillie, triangulaire à sommet inférieur, située devant la symphyse pubienne et limitée latéralement par les plis inguinaux. Elle se compose essentiellement d'une couche cellulo-adipeuse de 35 mm d'épaisseur en continuité avec celle de l'abdomen et des grands lèvres. (*KAMINA, 2000*)

#### ✓ **Lèvres vaginales** : Deux replis cutanés qui comportent selon (*KAMINA1990*) :

#### ✓ **Les grandes lèvres**

Sont deux grands replis cutanés, chaque lèvre présente une face latérale recouverte de poils, et une face médiale en regard des petites lèvres. La face latérale est séparée de la face médiale des cuisses par le sillon génito-cural. (*DELMAS, 2006*)

#### ✓ **Les petites lèvres**

Deux replis situés en dedans des grandes lèvres, ce sont deux replis muqueux qui limitent le vestibule .Elle ont un aspect rose lisse, mais prennent une coloration plus foncée pendant la grossesse et ont tendance à s'atrophier à la ménopause. (*CAMUS, 2006*)

### ✓ Clitoris

C'est une petite structure saillante, composée essentiellement de tissu érectile. Il est richement innervé par des terminaisons sensibles au toucher, et la stimulation tactile le fait gonfler de sang et entrer en érection ; ce phénomène contribue à l'excitation sexuelle chez la femme. (*MARIEB, 2005*)

### ✓ Vestibule

Un espace limité par les petites lèvres, qui contient le méat urétral à l'avant et l'orifice vaginal vers l'arrière. (*MARIEB, 2005*)

### ✓ L'hymen

Dans le vestibule, l'orifice vaginal est entouré à degrés variables par une membrane plissée en anneau. L'hymen, peut présenter une petite perforation centrale ou complète l'ouverture vaginale. À la suite de la rupture de l'hymen après le premier rapport sexuel ou «après traumatisme», des restes irréguliers de l'hymen frangent l'ouverture vaginale. (*DRAKE et al, 2010*)

Il peut être extensible, élastique et très tolérant d'où l'absence de saignement lors du premier rapport sexuel. (*BLANC et BUOBLLI, 1993*)

### ✓ Glandes de Bartholin et les glandes vestibulaires majeures

Ces glandes s'ouvrent de chaque côté de l'orifice vaginal et sécrètent dans le vestibule un mucus qui l'humidifie et le lubrifie, ce qui facilite le coït. Il existe aussi des glandes vestibulaires mineures, qui jouent le même rôle. (*MARIEB, 2005*)

## I-1-2 Organes génitaux internes

Les organes génitaux internes comprennent : Les ovaires, les trompes de Fallope, l'utérus et le vagin. Située à l'intérieur de la cavité pelvienne. (*MARIEB, 2005*)

### ✓ Ovaires

Les ovaires sont deux petites billes de 4 cm de longueur et 2cm de largeur et de 1cm d'épaisseur, ils sont situés de part et d'autre de l'utérus et leur face interne correspond au pavillon de la trompe. Des ligaments les relient aux organes voisins (utérus et trompes de Fallope), mais ils restent mobiles. Le rôle de l'ovaire est double : D'une part de la puberté à la ménopause il libère tous les

mois chez la femme, un ovule mûr dans le follicule. D'autre part il sécrète les hormones sexuelles féminines «œstrogènes / progestérones». (AMARESCO et al, 1995)

### ✓ Trompes de Fallope

Aussi appelées trompes utérines, elles forment la portion initiale des voies génitales de la femme. Une trompe utérine capte l'ovocyte après l'ovulation ; elle constituera généralement le siège de la fécondation. Chaque trompe mesure environ 10cm de long. (MARIEB, 2005)

Situé dans le bassin, entre le rectum et base de la vessie. Il s'agit d'un organe creux et musculueux, à paroi épaisse, destiné à accueillir, à héberger et à nourrir l'ovule fécondé. Il a peu près la forme et la grosseur d'une poire renversée chez la femme ayant eu qui n'a jamais été enceinte, et deux fois plus gros chez les femmes ayant eu des enfants. (MARIEB, 2005)

### ✓ Utérus

C'est un organe creux qui ressemble à une poire renversée vers le bas, de 6 cm de longueur, 4 cm de largeur et 2 cm d'épaisseur, à l'intérieur duquel vit et se développe le fœtus pendant la grossesse et où il se dilate pour atteindre 30 fois sa taille initiale pour enfin expulser le bébé au terme de la grossesse. L'utérus comprend deux parties :

- ✓ **La partie supérieure**, large, le corps de l'utérus, est composé d'une musculature puissante (myomètre). La cavité utérine est recouverte de la muqueuse utérine (endomètre).
- ✓ **La partie inférieure** de l'utérus pointe dans le vagin, il s'agit du col de l'utérus. Ce dernier est constitué de tissu conjonctif rigide et de musculature lisse qui entourent le canal cervical, d'où les glandes de la muqueuse cervicale forment un mucus épais de qui ferme l'orifice de l'utérus le protège contre les germes en provenance du vagin. Le col est formé de deux parties l'endocol et l'exocol et se termine en bas par l'orifice externe du col de l'utérus. (LANGLOIS et LEPRESLE, 2001 /BARNAUD et WANERT, 2008 / MENCHE, 2009).

### ✓ Vagin

Conduit musculo-membraneux qui s'étend de l'utérus à la vulve et mesure de 8 à 12cm de longueur. Le sommet de sa cavité est occupé par la saillie du col de l'utérus, qui est entourée d'un manchon, le cul-de-sac vaginal. Son extrémité inférieure est séparée de la vulve par une membrane, l'hymen. La paroi vaginale, souple et contractile, forme des replis longitudinaux et transversaux très extensibles qui permettent le rapport sexuel et le passage du fœtus pendant

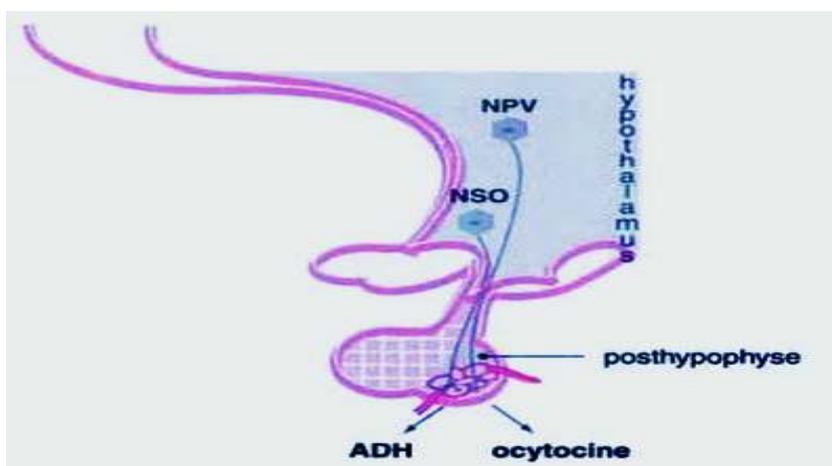
l'accouchement, son humidité est entretenue par une substance onctueuse et blanchâtre, secrétée par les cellules vaginales. (AMARESCO, 1995)

## I-2- Contrôle par le complexe hypothalamo-hypophysaire

Classiquement tenu «Le chef d'orchestre du concert endocrinien » pour le complexe hypothalamo-hypophysaire organise les réponses hormonales en réponse aux stimuli provenant des centres nerveux supérieurs et du milieu intérieur de l'organisme.

Il joue un rôle important dans la régulation de la croissance, du métabolisme, de l'équilibre hydrominéral, de la lactation et de la reproduction.

- **L'hypothalamus** forme le plancher et les parois ventrales du 3<sup>ème</sup> ventricule. Il comprend un grand nombre de noyaux distincts, dotés de connexions et fonctions propres, parmi lesquels le **noyau supra-optique (NSO)**, le **noyau para-ventriculaire (NPV)** et le **noyau arqué (NA)**.
- **L'hypophyse(HP)** est une glande endocrine dont la petite taille « celle d'un gros pois de moins de 1g » est sans commune mesure avec son importance physiologique .Située à la base du cerveau, comme un fruit pendu à sa branche, elle est protégée par la selle turcique de l'os sphénoïde. L'hypophyse est constituée de deux parties distinctes, à la fois embryologiquement, anatomiquement et fonctionnellement :
  - ❖ **Le lobe postérieur** ou hypophyse postérieure, appelé aussi neurohypophyse ou posthypophyse, émane de l'hypothalamus ; il est formé des axones de neurones neuro-sécréteurs « **ADH et ocytocine**» dont les corps cellulaires sont situés dans l'hypothalamus.(CHRISTIAN, 2005)



**Figure 01** : La posthypophyse secrète deux hormones de l'hypothalamus. (CHRISTIAN, 2005)

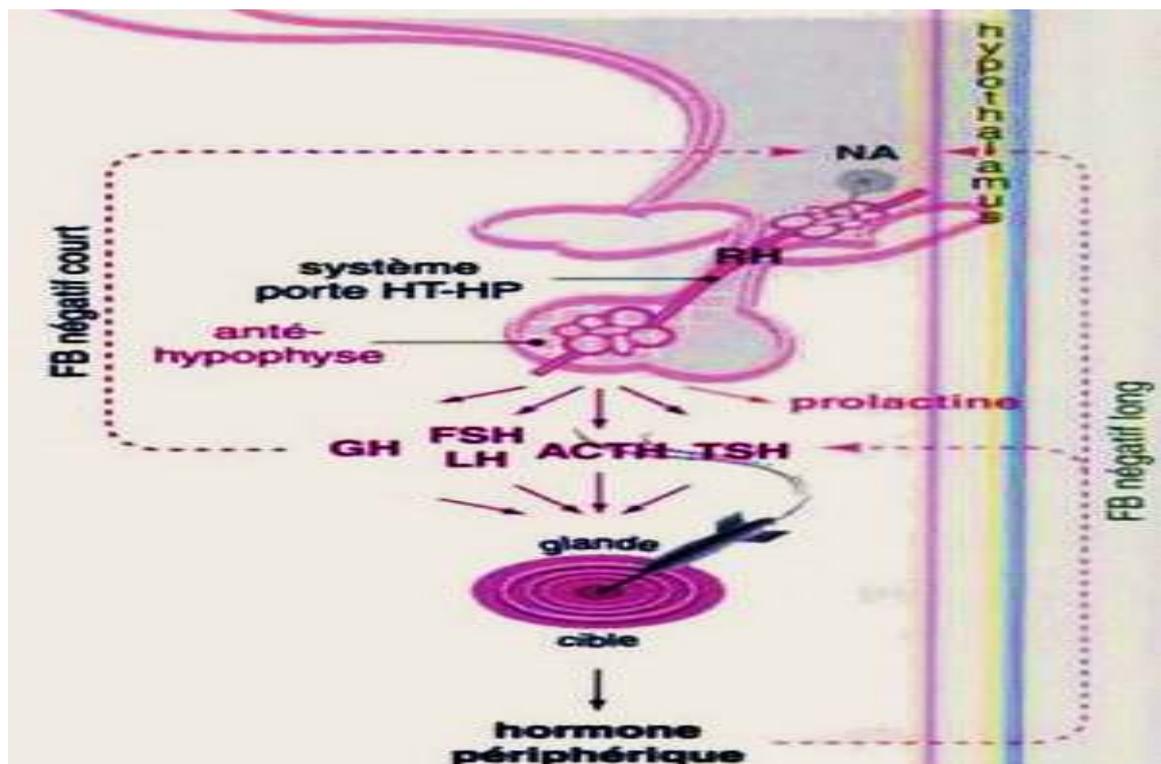
- **Tableau I** : La posthypophyse sécrète principalement 2 hormones (*Voir annexe I*).

Le **lobe antérieur** ou hypophyse antérieur, appelé aussi adénohypophyse ou antéhypophyse, d'origine ectodermique, est composé d'au moins 5 types de cellules épithéliales glandulaires, chaque groupe cellulaire étant responsable de la sécrétion d'une hormone antéhypophysaire « GH, LH, FSH, ACTH, TSH et prolactine ». (*Figure 02*)

- **Tableau II** : L'antéhypophyse sécrète principalement 6 hormones. (*Voir annexe I*)

La sécrétion hypothalamique a lieu essentiellement selon deux modalités : Pulsatile « la GnRH » et circadienne « la CRH ».

La sécrétion des hormones antéhypophysaires est sous le **contrôle d'hormones hypothalamiques** : **Releasing Hormone (RH)** ou **Inhibiting Hormone (IH)** « respectivement, **Releasing Factor (RF)** et **Inhibing Factor (IF)** ».



**Figure 02** : L'antéhypophyse sécrète six hormones de l'hypothalamus endocrine. (*CHRISTIAN, 2005*)

La sécrétion de la plupart des hormones antéhypophysaires, et celle des releasing hormones hypothalamiques, est soumise à un rétrocontrôle négatif exercé par les hormones périphériques

sécrétées par leur tissu cibles « les hormones thyroïdiennes et le couple TRH -TSH » ; ce feed - back long peut être complété par un feed-back court hypothalamo-hypophysaire.

Lorsque le tissu cible ne produit pas d'hormone, la sécrétion hypophysaire est également contrôlée par des inhibiteurs.

### A - Axe hypothalamo-hypophysaire et reproduction

La fonction de reproduction repose sur l'intégralité des interactions existant au sein de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique. Les différentes composantes de ce système se différencient très tôt au cours du développement embryonnaire et établissent des relations fonctionnelles in-utero qui s'avèrent nécessaires pour assurer la maturation sexuelle. Comme le fonctionnement gonadique dépend étroitement des hormones gonadotropes hypophysaires elles-mêmes sous le contrôle de l'hypothalamus et des gonadotropes (*QUESE et al ,2004*).

Trois hormones hypophysaires interviennent dans le contrôle de la reproduction «LH, FSH et la prolactine». La LH et la FSH sont sécrétées par les mêmes cellules de l'adénohypophyse, la LH stimule la stéroïdogenèse : Testostérone par les cellules de leydig chez l'homme, l'œstradiol par les cellules de la granulosa des ovaires chez femme, alors que, la FSH stimule la maturation des cellules germinales « Spermatozoïdes chez l'homme et ovules chez la femme »

Chez la femme, la pulsativité de sécrétion de LH varie en fonction du cycle menstruel, et les hormones produites par les ovaires ont une rétroaction sur les sécrétions de LH et FSH. De petites quantités d'œstrogènes inhibent ces sécrétions et la progestérone potentialise cet effet. Cependant, lorsque la concentration de l'œstradiol est élevée 36 à 48 heures, le rétrocontrôle sur LH et FSH est positif. L'inhibine sécrétée par les cellules de la granulosa du corps jaune a un effet inhibiteur sur la sécrétion de FSH et moindre sur celle de la LH. (*EVERITE et al , 2001*)

### B - Contrôle physiologie de LH et FSH

#### ❖ L'hormone folliculostimuline

L'hormone folliculostimulante (FSH), est transportée par le sang depuis l'adénohypophyse jusqu'aux ovaires, où elle déclenche, chaque mois, le développement de follicules qui contiennent des ovules .Ces follicules sont des cellules sécrètes qui les œstrogènes(*TORTORA et GRABOWSKI, 1994*).

## ❖ L'hormone lutéinisante

L'hormone lutéinisante (LH), en association avec la FSH, stimule la sécrétion d'œstrogènes par les cellules ovariennes et provoque la libération d'un ovocyte de deuxième ordre (futur ovule) par l'ovaire selon un processus appelé ovulation. La LH stimule également la formation du corps jaune qui sécrète de la progestérone par ce corps jaune (*TORTORA et GRABOWSKI, 1994*).

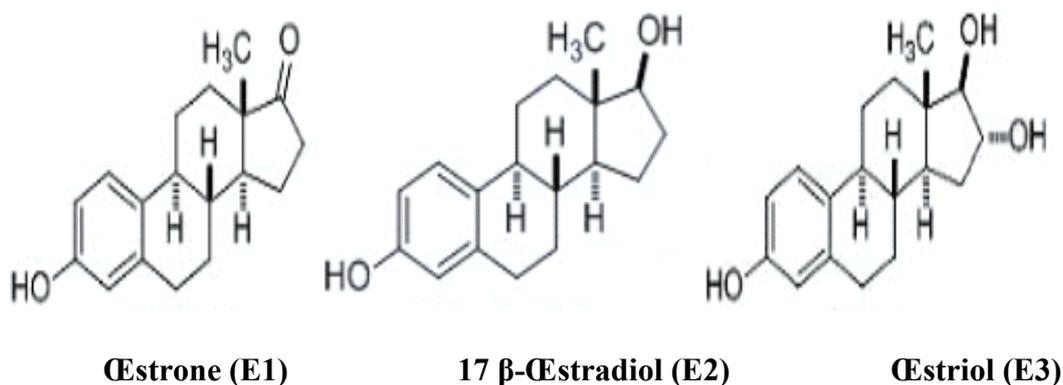
## I-2-1- Œstrogènes

Les œstrogènes sont synthétisés par les ovaires «cellules de granulosa du follicule pré-ovulation et cellules du corps jaune post-ovulation » et le placenta «après le 3<sup>ème</sup> mois». (*CHRISTIAN, 2005*)

## b)-Classification des œstrogènes

Les œstrogènes sont une classe d'hormones stéroïdiennes féminisantes sécrétée en grande quantité par les ovaires et le placenta. Les trois œstrogènes naturelles sont :

- ✓ L'œstrone (E1) est synthétisé par les ovaires et le placenta.
- ✓ Le 17 β-œstradiol (E2) est également synthétisé par les ovaires et le placenta, est le principal œstrogène du plasma.
- ✓ L'œstriol (E3) est produit par le placenta retrouvé habituellement chez les femmes enceintes.



*Figure 03* : Structures chimiques des œstrogènes. (*PIERRE et al, 1988*)

a)- Biosynthèse des œstrogènes

La synthèse ovarienne de ces œstrogènes s'effectue à partir du cholestérol (*MASHCHAK et al, 1998 / KUHLE et al, 1990*) qui donne la progestérone, la 17 $\alpha$ -hydroxy-progéstérone et la androsténone. À partir d'androsténone, deux voies sont possibles :

- 1)-L'aromatase directe qui aboutit à l'œstrone.
- 2)-La transformation de la androsténone en testostérone, puis par aromatase et passage à l'œstradiol. (*DAULIE, 1978 et HAZARD / PERLEMUTER, et al 1983*)(Figure 04)

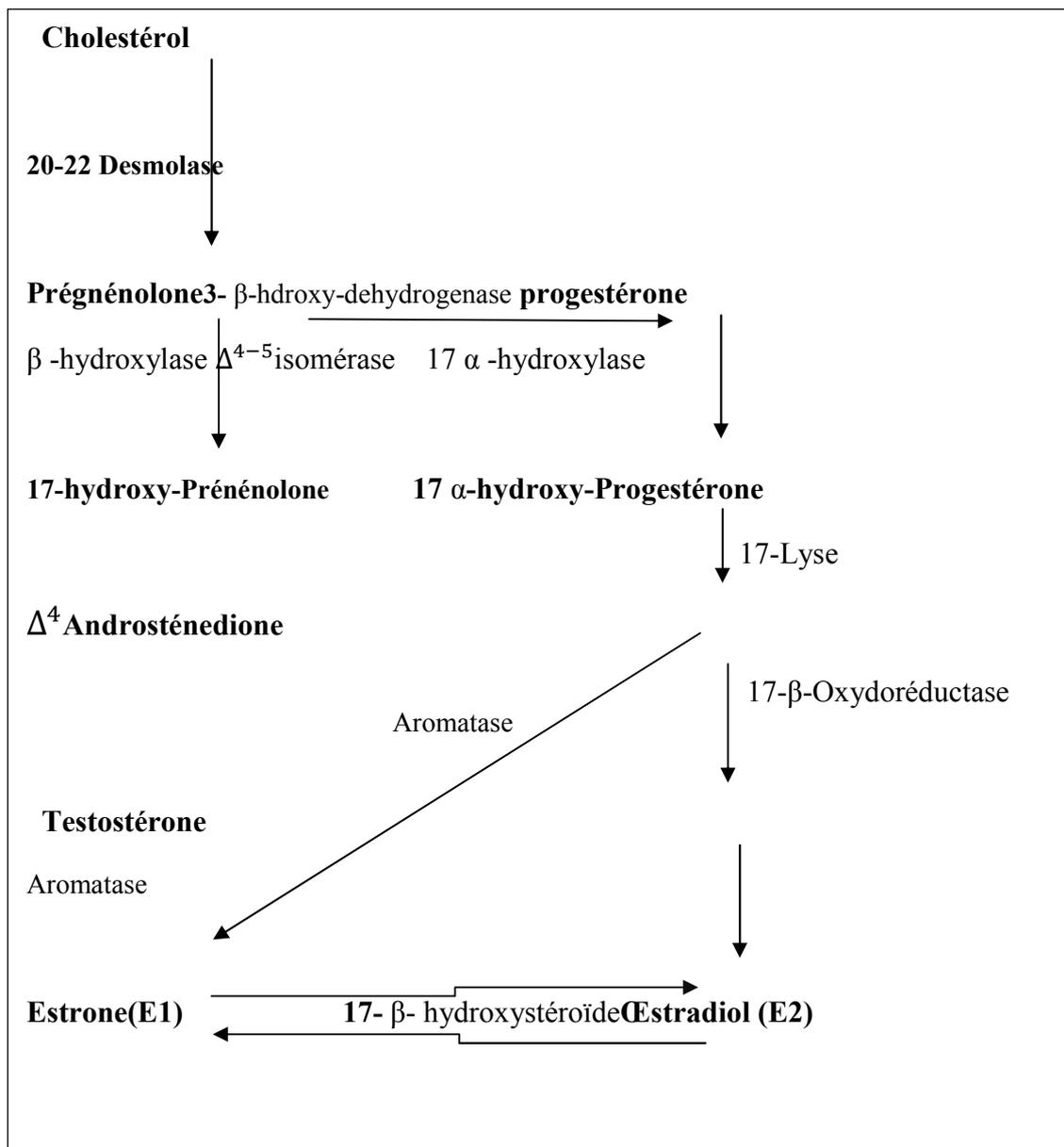


Figure 04: Biosynthèse des hormones stéroïdiennes au niveau de l'ovaire.(KULH et al, 1990 /MASHCHAK et al, 1998).

### c)- Régulation

La régulation de la biosynthèse est sous la dépendance des stimulines hypophysaires la FSH et la LH(CAYTON, 1980).La FSH agit sur les récepteurs ovariens en favorisant la croissance du follicule et la sécrétion des œstrogènes(ORSETTIS,1979 / PERONNET et al, 1980) .La LH provoque la sécrétion de la progestérone par le corps jaune.

### d)- Récepteurs œstrogénique

Les récepteurs des œstrogènes ER  $\alpha$  (le récepteur à œstrogènes alpha) et ER  $\beta$  (le récepteur à œstrogènes bêta) sont exprimés au niveau des glandes mammaires, des os, de l'utérus, des poumons, des testicules, de la prostate, de l'épididyme, des organes des systèmes nerveux et cardiaques. (COUSE et al, 1999 / NILSSON et al, 2001)

### e)- Mode d'action des œstrogènes : Cas du 17 $\beta$ -œstradiol :

Le 17  $\beta$  -œstradiol circule dans le plasma sous forme très liée (99%) à un transporteur : La SHBG «SexHormonBinding Globulin ».Seule la forme libre est active. L'hormone rejoint son récepteur, localisé dans le noyau, par simple diffusion passive au travers des membranes. En absence d'agoniste, ce récepteur est constitutivement bloqué par une protéine faisant partie de la famille des protéines induites par le stress thermique : Les «HeatShockProtréin»HSP, en particulier ici la HSP 90. Lors de la fixation du 17  $\beta$  -œstradiol, l'HSP 90 va être chassée, permettant l'interaction du complexe hormone/récepteur sur l'ADN, au niveau de structures promotrices.

Parmi ces protéines, peu sont spécifiques des effets de l'œstradiol mais, au contraire, certaines ne sont induites que par lui comme le récepteur de l'œstradiol lui-même ainsi que le récepteur de la progestérone. L'induction œstrogénique de la synthèse du récepteur de la progestérone est tout à fait fondamentale puisque l'effet de la progestérone ne peut se manifester que suite à une imprégnation œstrogénique préalable pénétrant l'expression du récepteur de la progestérone. (LAURENT,2013)

### f)- Effet physiologique

- ✓ Stimulent la croissance des ovaires et des follicules (effets locaux).
- ✓ Stimulent la croissance du muscle lisse et la prolifération du revêtement épithélial du tractus génital de plus :
  - ✓ Stimulent la croissance des organes génitaux externe, notamment à la puberté.

- ✓ Stimulation la croissance des seins, notamment des canaux, ainsi que les dépôts de graisse à la puberté.
- ✓ Stimulent le développement d'une morphologie corporelle féminine à la puberté : épaules étroites, hanches larges distribution féminine des graisses « dépôts dans les hanches et les seins ».
- ✓ Effet vasculaires «leur carence des provoque des « bouffées de chaleur »».
- ✓ Protègent contre l'athérosclérose en agissant sur le cholestérol plasmatique les vaisseaux sanguins et la coagulation.
- ✓ Stimulent la croissance osseuse et finalisent l'arrêt de la croissance osseuse «soudure des cartilages de conjugaison ».
- ✓ Stimulent une sécrétion plutôt liquidienne des glandes sébacées cutanées «glandes productrices de sébum ».
- ✓ Stimulent la sécrétion de prolactine mais inhibent ses effets sur la production de lait par les seins (*MECAIN et KUTTENNE, 1993*).
- ✓ Fluidification du mucus permet le passage des spermatozoïdes.
- ✓ Facilitent le transfert des spermatozoïdes dans l'oviducte grâce à la stimulation des concentrations ascendantes de celui-ci et de l'utérus.
- ✓ **Déclenchement du pic de LH à forte concentration.** (*NGUYEN et ALLIN PFISTER2005*)

### I-2-2- Progestérone

La progestéroneest synthétisée chez la femme essentiellement par les ovaires «cellules lutéales du jaune» après l'ovulation et dans le placenta «après le 3<sup>ème</sup> mois».(*CHRISTIA, 2005*)(*Figure 05*)



**Figure 05:**Structure chimique de la progestérone. (*PIERRE et al ,1988*)

### A)- Biosynthèse

À partir du cholestérol une (22-23)desmolase va couper la chaîne latérale pour donner la prénénolone. Puis survient une oxydation du carbone situé en 3 et enfin, sous l'action d'une isomérase pour donner la progestérone (BAULIEU et al 1972 / HAZARD et PERLEMUTER et al ,1980).

### B)- Régulation

La régulation de la sécrétion de progestérone sous la dépendance de la LH hypophysaire après action de la FSH (CAYTON et al , 1980).

### C)- Récepteurs progestatifs

Les récepteurs à la progestérone sont synthétisés dans les tissus ayant des récepteurs aux œstrogènes fonctionnels et stimulés (MARTY et al, 1994). Le gène de récepteur progestatif A (PRA) est une iso-forme de récepteur progestatif B (PRB). (THIBAUT et LEVASSEUR, 2001).

### D)- Effet pharmacologique

En association avec les œstrogènes, la progestérone freine la sécrétion des gonadostimulines hypophysaires «FSH et LH ». (CAYTON et al 1980)

#### La progestérone assure plusieurs rôles :

- ✓ Stimule la croissance des seins, notamment du tissu glandulaire.
- ✓ Inhibe les effets de la prolactine sur la sécrétion de lait.
- ✓ A des effets de rétrocontrôle sur l'hypothalamus et l'antéhypophyse.
- ✓ Augmente la température corporelle «hyperthermie ».
- ✓ Atténue les contractions des trompes de Fallope et du myomètre.
- ✓ Fait apparaître un mucus cervical épais et collant.
- ✓ Diminue la prolifération des cellules épithéliales vaginales.
- ✓ Convertit l'endomètre préparé par les œstrogènes en un tissu sécréteur actif, permettant la nidation de l'embryon. (SHERWOOD, 2006)

## I-2-3- Régulation hormonale du cycle sexuel

La production des œstrogènes par les ovaires est contrôlée par les hormones hypophysaires «LH et FSH », sous contrôle de la GnRH libérée par l'hypothalamus .La LH va augmenter la synthèse des œstrogènes à partir du cholestérol, lors de la phase lutéale du cycle ovarien, via la stimulation de l'expression des enzymes responsables de la conversion du cholestérol en progestérone et androstenedione. Par ailleurs, la FSH agit sur les cellules folliculaires granulaires, en y augmentant l'aromatase des androgènes en œstrogènes (œstradiol et œstrone).(POUTANEN et al, 1995 ; SIMPSON et al, 2000) (Figure 04)

## I-3- Contraception hormonale

La contraception hormonale ensemble des employés pour provoquer une infécondité temporaire chez la femme ou l'homme, c'est-à-dire les différentes méthodes qui ont pour but d'éviter une grossesse, que elles agissent en bloquant l'ovulation, en empêchant la fécondation d'un œuf. (SERFATY, 1998)

**I-3-1- Méthodes :** Il existe trois grands moyens de contraception :

### I-3-1-1- Contraception basée sur l'auto-observation féminine

Rares sont les femmes qui utilisent ce moyen qui comporte trois méthodes :

- ✓ **La méthode d'Ogino-Knauss.**
- ✓ **La méthode des températures.**
- ✓ **La méthode de Billings.**

Ces méthodes d'abstinences périodiques fondées sur la date des dernières règles et la durée présumée du cycle ou sur le décalage thermique témoignant l'ovulation cette méthode comprend une phase **hypothermique** aux alentours de 36,5 C° qui commence dès le début des règles ou vers le 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> jours elle dure 14 jours. Cette phase correspond au développement du follicule dure 14 jours ; cette **hyper-thermie** est liée à l'action de la progestérone sur le corps jaune ; enfin une phase intermédiaire correspond à l'ovulation.(LECHAT et al, 1992)

### I-3-1-2- Contraception orale

La pilule prise correctement sous prescription médicale est la méthode contraceptive la plus sûre ; son taux de réussite dépasse 98%. (SERFATY, 1998)

## I-3-1-3- Contraception vaginale

La contraception vaginale comprend l'utilisation de stérilets ; diaphragmes féminins avec gels spermicides ; préservatifs féminins et des mousses (des ovules spermicides).(LECHAT et al, 1992)

## I-3-2- La contraception orale « La pilule »

### I-3-2-1- Définition

C'est une méthode contraceptive hormonale efficace à 98 dès lorsqu'elle est prise régulièrement, les comprimés sont composés d'hormones féminines «œstrogènes synthétiques et progestatifs (substances chimiques dont l'action est semblable à celle de la progestérone) » qui bloquent l'ovulation. (SERFATY, 1998)

### I-3-2-2- Les différents types de pilules : Sont regroupés en deux groupes :

#### a) - Pilules œstroprogestatifs : Ce sont des pilules à base de stéroïdes de synthèse :

Ethinylestradiol, produit dérivés du 17 $\beta$ -estradiol ; et les progestatif sont des progestatifs de synthèse dérivés de la 17- hydroxy progestérone, on distingue les œstroprogestatifs combinés et les œstroprogestatifs séquentielles. (SERFATY, 1998) :

- **Les œstrogestatifs combinés** : Chaque comprimé renferme un œstrogène et un progestatif de synthèse ; ces produits se subdivisés en :
  - ✓ **Monophasiques** : Les doses sont constantes tout au long du cycle ; la pilule dites classiques ou normodosée contiendra 50 microgrammes d'œstrogène, la minipilule 30 à 40 microgrammes et de progestatif sont identiques durant tout le cycle.
  - ✓ **Biphasiques** : Les doses sont différentes entre la 1<sup>ère</sup> phase du cycle et la 2<sup>ème</sup> phase.
  - ✓ **Triphasiques** : Les doses sont différentes entre trois phase «trois paliers pour la dose d'œstrogènes et de progestatifs » durant le cycle.(PAPIERNIK et al, 1990)
- **Les œstroprogestatifs séquentielles** : Ils comportent l'administration successive de l'œstrogène seul pendant les premiers jours (7<sup>e</sup>-15<sup>e</sup> j), puis d'une association œstroprogestative les autres jours du cycle (*Figure 01/ Voir annexe I*) . (SERFATY, 1998)

#### b)- Pilules progestatifs

La contraception orale peut se faire en faisant appel aux progestatifs seuls, on distingue les progestatif macrodosés, et les progestatifs microdosés :

- **Les progestatifs macrodosés** : Sont administrés du 5<sup>e</sup> au 25<sup>e</sup> jour du cycle et permettent d'avoir une efficacité contraceptive presque équivalente aux œstroprogestatifs.

- **Les progestatifs microdosés** : Ces contraceptifs contiennent un progestatif de synthèse seul, à très faible dose (*Figure 01/Voir l'annexe I*). (LANSAC et HECOMTE, 1988)

### I-3-2-3- Les effets métaboliques des œstroprogestatifs

Le caractère synthèse des composants de la pilule, leur administration orale est leur forte concentration hépatique explique la plupart de leurs actions métaboliques :

- **Œstroprogestatifs et le métabolisme glucidique**

Les œstrogènes de synthèse, mais aussi les progestatifs modifient la tolérance glucidique. Dans qu'elle mesure ces molécules peuvent-elles induire l'apparition d'un diabète ou d'une intolérance au glucose, ces effet métaboliques sont fonction des molécules et des doses utilisées :

- ✓ Les œstrogènes de synthèse provoque l'hyperinsulinisme et peuvent être liés à l'augmentation du rapport insuline/ glucagon.
- ✓ Les progestatif d'un hyperinsulinisme, une diminution du nombre et de l'affinité des récepteur à l'insuline au niveau des hépatocytes. (SERFATY, 1998)

- **Œstroprogestatifs et le métabolisme lipidique**

- ✓ Les œstrogènes de synthèse provoquent une élévation de HDL cholestérol et une élévation du triglycéride.
- ✓ Le progestatif de synthèse entache d'androgénicité provoquant :
  - ✓ Une diminution du HDL cholestérol.
  - ✓ Une élévation du LDLcholestérol. (PAPIERNIK et al, 1990)

### I-3-2-4- Mécanisme d'action des œstroprogestatifs

**Les œstroprogestatifs ont une action contraceptive par la combinaison de trois effets principaux :**

- Ils bloquent la croissance folliculaire et l'ovulation en exerçant un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (SERFATY, 1998).
- La présence du progestatif dans l'association œstroprogestative de la pilule entraîne, de plus, une modification de la consistance du mucus cervical. Cette action résulte de modifications des mailles glycoprotéiques de la glaire, la rendant plus dense, visqueuse et imperméable aux spermatozoïdes. Leur passage au niveau du col utérin et leur ascension vers l'utérus sont donc arrêtés. La contractilité des trompes de Fallope est par ailleurs

diminuée, ce qui affaiblit encore les chances, pour un spermatozoïde ayant réussi à passer la barrière cervicale. (FRYE, 2006)

- Sous pilule, l'endomètre est rendu impropre à la nidation. La muqueuse devient rapidement hypoplasique (CHANEL, 2011). Les tubes des glandes de l'endomètre sont peu nombreux, étroits, rectilignes, et ne présentent une lumière parfois une peu dilatée qu'en fin de cycle. Les phénomènes sécrétoires sont très réduits. Le tissu conjonctif de soutien et d'emballage qui entoure les glandes endométriales. Aucune implantation d'un embryon n'est donc possible un tel environnement.

### I-2-2-5- Effets bénéfiques des oestro-progestatifs

La longue énumération d'effet indésirable ne doit pas faire oublier que les vraies complications sont rares et que la pilule oestro-progestatif a également des effets bénéfiques importants :

- La pilule convenablement choisie ; améliore les troubles menstruels
- Les règles plus régulières.
- Dysménorrhée moins fréquentes.
- Disparition du syndrome prémenstruel.
- Perte de sang menstruel le réduite de moitié ce qui protège l'anémie ferriprive. (SERFATY, 1998)

### I-3-2-6- Les inconvénients des pilules oestroprogestatives

- Prise de poids ; elle peut résulter :
  - ✓ De l'effet anabolisant des oestroprogestatifs fortement dosés.
  - ✓ D'une légère rétention hydro-sodée avec des produits fortement dosés en œstrogène.
  - ✓ Stimulation de l'appétit.
- **Métrorragies** : Généralement faibles pendant les premiers cycles sous oestroprogestatifs minidosés ; imposants dans les autres cas ; la recherche d'une infection génitale ou d'une lésion organique même en l'absence de douleurs.
- Glucose et l'existence d'un hyperinsulinisme, une diminution du nombre et de l'affinité des récepteurs à l'insuline au niveau des hépatocytes.
- **Les céphalées** : Si elles sont intenses, rebelles récidivants et de topographie, il faut les prendre en considération. Elles pourraient être le signe d'un accident cérébro-vasculaire.
- **Troubles veineux** : Peu fréquents avec les oestroprogestatifs minidosés, ils surviennent surtout chez les femmes prédisposées .Ils nécessitent la prescription d'un tonique veineux et feront

préférer les pilules faiblement dosées en stéroïdes et surtout en œstrogène. **(FERNANDEZ et al., 2011)**

- Diminution de la libido (désir sexuel).
- Modification de la fonction ovulatoire (pas ovulation)
- Kystes ovariennes fonctionnelles responsables de spotting « perte ponctuelles » par pilule STEDIRIL® **(AUSIAS PHARMA, 2011)**.

### III-1-3-2- Etude histologique des organes de l'appareil reproducteur

Les figures ci-après représentent des coupes histologiques de l'appareil reproducteur « deux ovaires ,deux oviductes , deux corne utérine et vagin »des souris femelles adultes, ces coupes ont été observées au microscope photonique à différents grossissements« x 40 , x100, x200 et x400 ».

#### III-1-3-2-1- Au niveau de l'ovaire

##### ➤ Chez les souris témoins

L'étude histopathologie de l'ovaire des souris femelles témoins montre une organisation classique avec un aspect général normal. Un ovaire dans la phase pré-ovulation chez la souris femelle *N.M.R.I.* est illustré par les **figures 01(A)**, et montre la présence de follicules à différents stades évolutifs avec des follicules de Graaf constitué d'ovocyte au centre du follicule et cavitaires, il contient du liquide folliculaire et est entouré de nombreuses cellules folliculaires, quelques corps jaunes constitués de cellules lutéales et artère hélicine dans médullaire .

**Dans la figure 01(B)**, montre à forte grossissement, des follicules ovariens primaires et secondaires et plusieurs corps jaunes constitués de cellules lutéales et caillot sanguin présent dans le stroma qui se trouve dans la phase post-ovulation (phase lutéale).

##### ➤ Chez les souris traitées

**Les figures 02 (a et b)** montre à faible grossissement, une coupe histo-pathologique au niveau de l'ovaire dans la phase pré-ovulation de souris femelles du lot traitée en comparaison avec les témoins dans les **figures 01(A) et (B)** :

Nous notons, la présence de tissu adipeux avec quelques follicules ovariens immatures avec kyste ovarienne fonctionnelle, sa taille atteint plus de 1,12mm **dans la figure 02(a)** qui est entouré d'une paroi kystique lisse alors que la forme des ovaires a changé.

**La figure 02 (b)** montre à fort grossissement, l'abondance de follicules ovariens immatures « follicules primaires et follicules secondaires » un aspect pas très clair alors la structure change chez les souris femelles traitées par  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule **STEDIRIL®**.

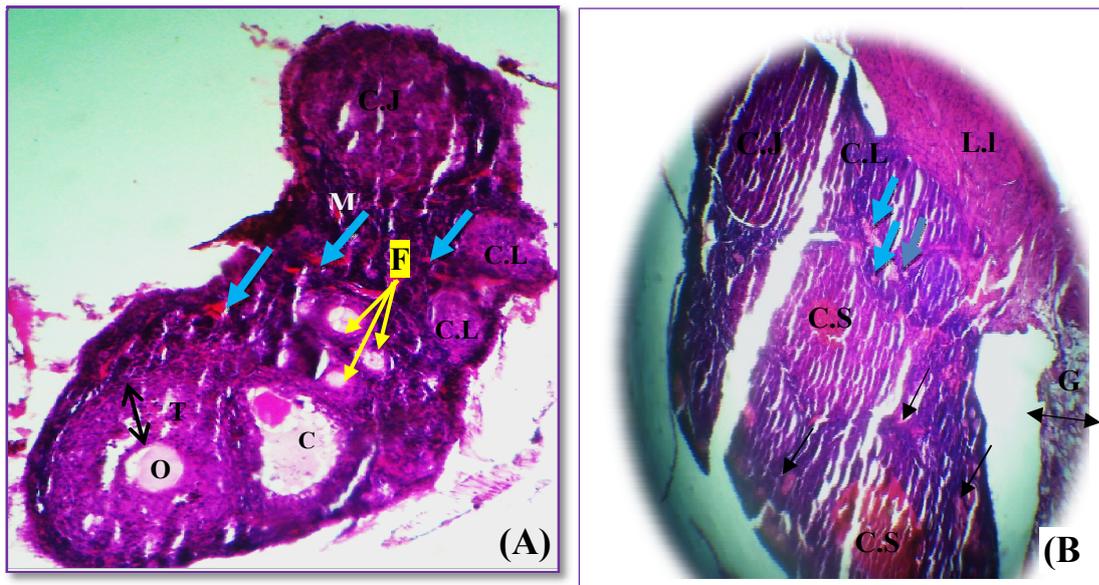


Figure 01 : Coloration:HE ; Gr x40 (A) et x200 (B) avec zoom : Coupes histopathologiques des ovaires chez les souris femelles témoins dans la phase pré-ovulation (A) et la phase post-ovulation (B).

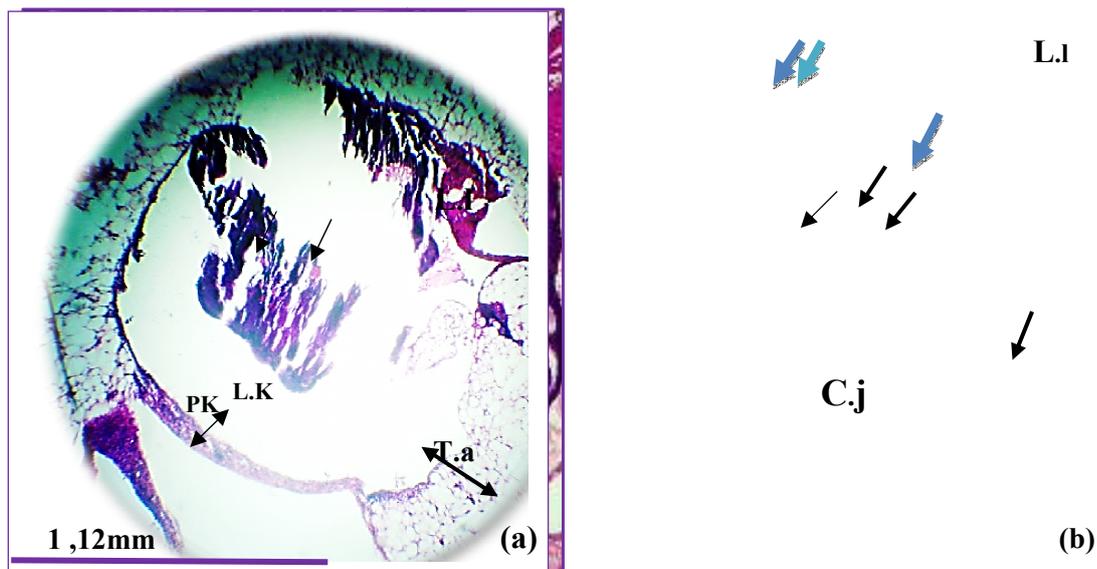


Figure 02 : Coloration: HE ; Gr x100 (a) et x400 (b) avec zoom : Coupes histopathologiques de l’ovaire chez les souris femelles traitées avec  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule STEDIRIL ® dans la phase pré-ovulation .

C.F :Cellules Folliculaire;C.J :Corps jaune;C.L :Cellules Lutéale; C:Cavitaires;F.G : Follicule de De Graaf ; **flèche jaune** :Follicules à différents stadesd’évolution; **flèche bleu** :artère hélicine ; **flèche noire** :folliculesovariens immature; L.a : Ligamant large ; M :Medullaire ;T.a:Tissu adipeux ; L.K :Liquide kystique;O :Ovocyte;T :Thèques.

**III-1-3-2-2- Au niveau de l'oviducte****➤ Chez les souris témoins**

L'observation des coupes histologiques de l'oviducte des souris femelles adultes témoins *figure 03 (A et B)* a permis de mettre en évidence une structure normale de l'organisation de l'oviducte. De la périphérie vers le centre :

Le séreuse plus fin est entouré d'une musculature lisse constituée de cellules musculaires (*Figure03A*) sous laquelle se trouve une muqueuse épaisse et condensée constituée du tissu conjonctif avec un épithélium simple cylindrique tubaire composé de nombreuses cellules ciliées et une présence des replis tubaires de l'épithélium utérin plus embranchés (*Figure03 B*). Le centre « la lumière de l'oviducte » a un aspect homogène et est peu large.

**➤ Chez les souris traitées**

En comparaison avec celle des témoins *Figure 03(A et B)*, l'oviducte des souris femelles traitées par  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule STEDIRIL® *Figure 04(a et b)* montre :

- **Les modifications signalées chez les souris femelles traitées dans la phase post-ovulation :**
  - La lumière de l'oviducte est plus large.
  - La musculature de l'oviducte lisse épaisse constituée de cellules musculaires.
  - La muqueuse de l'oviducte est plus fine.
  - Présence d'une petite quantité de replis tubaires de l'épithélium utérin.

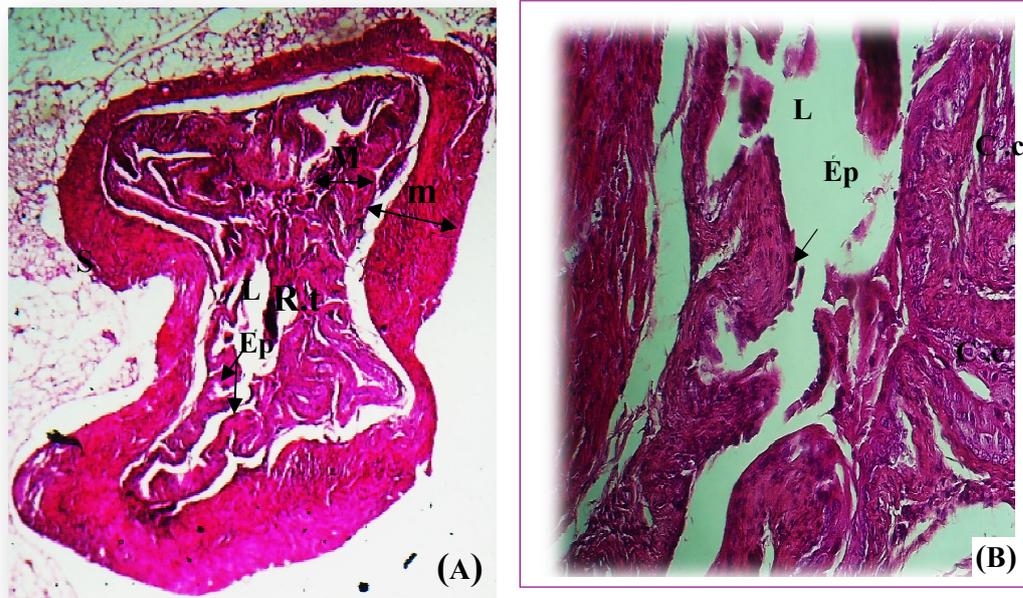


Figure 03 : HE ; Gr : x40 avec zoom (A) et X 100 (B): Coupes histologiques de l’oviducte chez les souris femelles adultes témoins

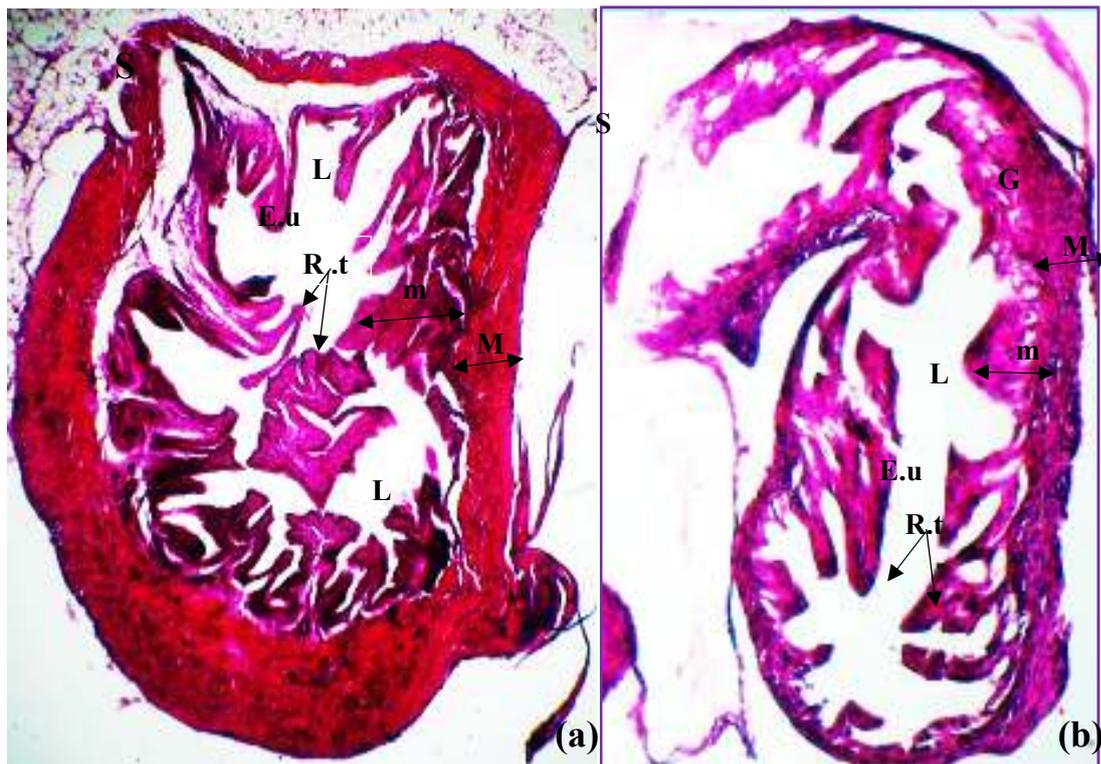


Figure 04: HE ; Gr: x100 (a) et (b): Coupes histo-pathologiques de l’oviducte chez les souris femelles adultes traitées avec  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/jde la pilule STEDIRIL®.

**E.u** : Epithélium utérine ; **R. t** : Replis tubaires ; **S** : Séreuse ; **M** : Musculeuse ; **m** : muqueuse ; **L** : Lumière.

### III-1-3-2-3- Au niveau de la corne utérine

#### ➤ Chez les souris témoins

*Les figures 05(A et B)*, représentent des coupes histologiques au niveau de la corne utérine chez les souris femelles adultes du lot témoin observés en microscopie photonique à des différents grossissements, montrent une séreuse de l'utérus très mince (*figure05 A*) avec une muqueuse utérine peu développées et un épithélium cylindrique en prolifération constitué de quelques glandes endométriales de petite taille, une lumière utérine réduite, seulement quelques vaisseaux sanguins dans l'endomètre *figure05(B)*.

#### ➤ Chez les souris traitées

*Les figures 06 (a et b)*, représentent des coupes au niveau de la corne utérine dans la phase lutéale (post-ovulation) chez les souris femelles du lot traitée par  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule STEDIRIL®, montrent un épithélium utérine mince et de nombreuses glandes endométriales petites de tailles avec une muqueuse utérine peu développée, et à lumière utérine réduite, quelques vaisseaux sanguins dans la musculature sont trouvés dans *la figure06 (a et b)* et une présence de foyers hémorragiques dans la pulpe rouge dans *la figures 06 (b)*

À fort grossissement *la figure 06 (f et e)*, montrent que l'épithélium utérin est mince en prolifération constituée de plusieurs glandes utérines peu développées au niveau de la couche myomètre (la couche muqueuse) avec l'épithélium glandulaire en prolifération constitué de cellules cylindriques et à lumière utérine réduite (*figure06e /Voir l'annexe II*), nous avons remarqué certains hémorragiques et noyau basal d'inflammation utérine (*figure06f*).

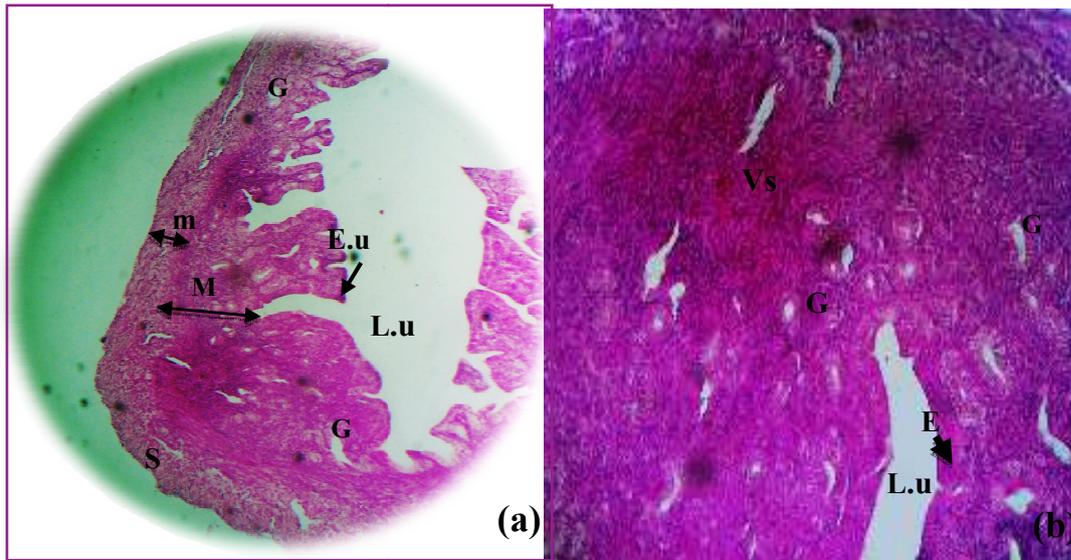


Figure 05:Coloration: HE ; GrX100 (A) et x400 (B) : Coupes histologiques transversales d’une partie de la corne utérine chez les souris femelles adultes témoins.

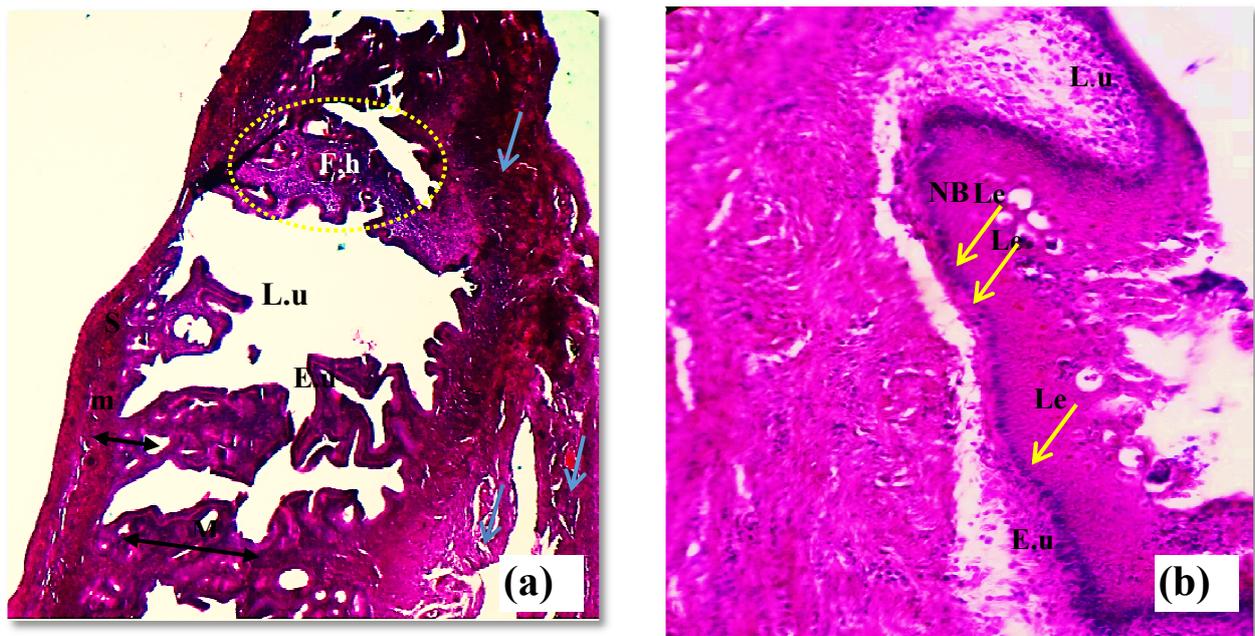


Figure 06:Coloration: HE ; Gr X 200 (a) et X 400 avec zoom (b) : Coupes histopathologiques transversales d’une partie de la corne utérine chez les souris femelles adultes traitées par  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule STEDIRIL®.

En :Endomètre ; E.u : Epithélium utérine; F.h:foyers hémorragiques ; flèches jaune :inflammation utérine ; flèches bleu :Vaisseaux sanguins; G: Glandes endométriales ;L.u: Lumièreutérine; NB : Noyau Basal ; m : musculouse ; M:Muqueuse; S :Séreuse.

**III-1-3-2-4- Au niveau du vagin****➤ Chez les souris témoins**

L'étude histologique d'une partie de l'épithélium vaginal (paroi vaginal) des souris femelles témoins (**Figure 07A et B**), montrent une structure classique avec un aspect général normal, une seule couche de l'épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé simple constituées de des cellules pavimenteuses normaux en surface, une couche épaisse de tissu conjonctif dense avec quelques des faisceaux de fibres musculaires lisses dans la lamina propria du vagin (**Figure 07A**).

**➤ Chez les souris traitées**

L'examen des coupes histopathologiques de l'épithélium vaginale dans la phase pré-ovulation des souris femelles traitées par  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule **STEDIRIL®** (**Figure08 a et b**), montre un aspect différent au celui des témoins (**Figure 07A et B**). Quelques altérations sont détectées :

- ✓ L'épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé est composé de des plusieurs cellules pavimenteuses inflammatoires abondants au sein de l'épithélium de surface, inflammation vaginale légère non spécifique peu des faisceaux des fibres pas lisses dans la lamina propria du vagin (**Figure08 a et b**).
- ✓ Présence quelques vaisseaux sanguins au niveau de la vaginite (**Figure 08 a**).
- ✓ Présence d'un aspect hémorragique avec quelques cellules pavimenteuses inflammatoires légère dans vaginite (**Figure 08a**) avec quelques foyers hémorragiques au niveau de l'épithélium pavimenteux stratifié (**Figure 08b**).

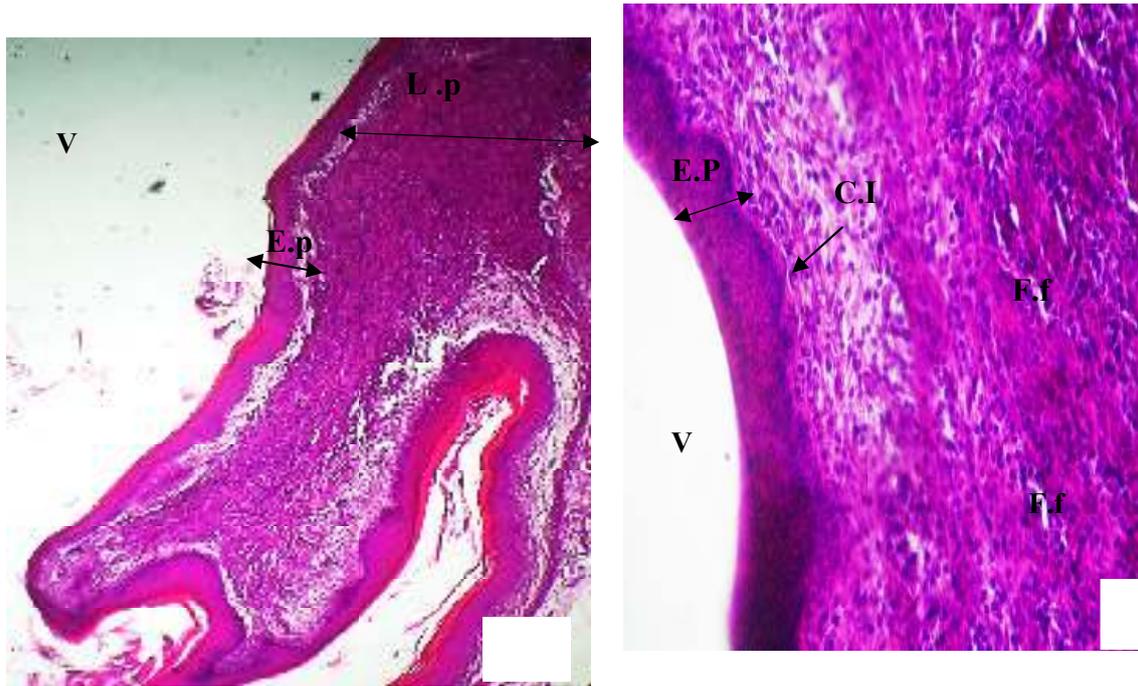


Figure 07: Coloration: HE ; Gr X200 (A) et x400 (B): Coupes histologique d'une partie de l'épithélium vaginal chez les souris femelles témoins.

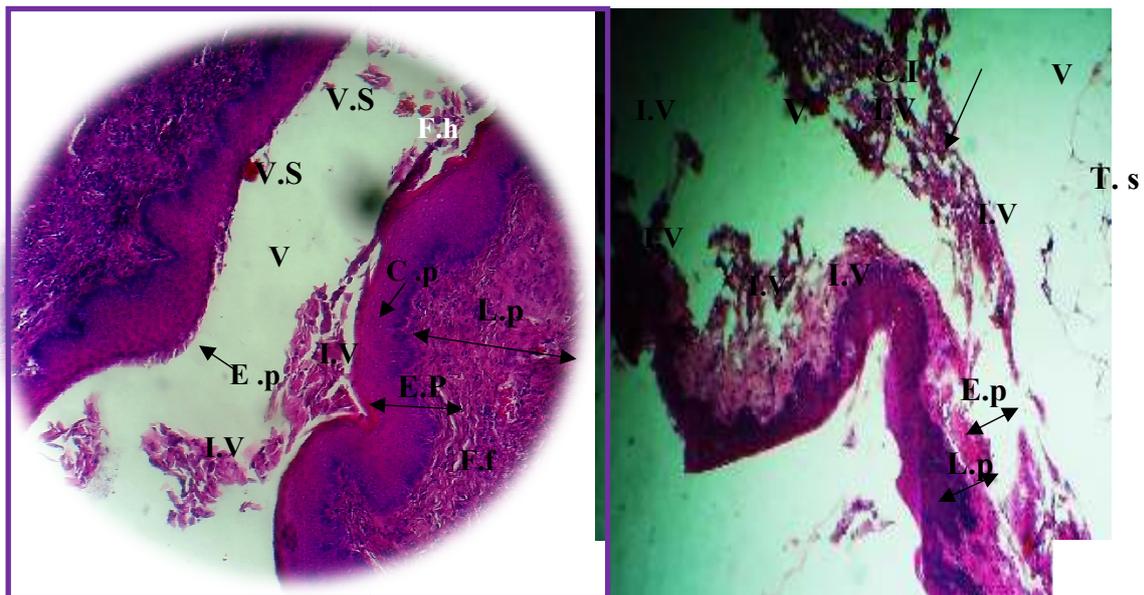


Figure 08 : Coloration :HE ; Grx200 (a) et x400 (b) : Coupes histopathologiques d'une partie de l'épithélium vaginal chez les souris femelles traitées avec  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule STEDIRIL®.

### II- Matériel et méthodes

#### Objectifs

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet des doses journalières de  $(1,73/1,91/2,1/2,43)10^{-3}$  mg/g/jde la pilule **STEDIRIL®** sur aspect anatomo-pathologique de l'appareil reproducteur chez les souris femelles adultes de souche Albinos Swiss race N.M.R.I après quatre mois d'exposition orale par gavage.

#### Lieu et durée d'expérimentation

- Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire SAIDAL de Médéa, au service de pharmacotoxicologie.
- Au niveau du laboratoire de l'anatomie et cytologie pathologique de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Médéa pour l'étude histo-pathologique.
- Notre étude s'est déroulée sur quatre mois, allant du 1<sup>er</sup> Avril 2016 au 29<sup>ème</sup> Juillet 2016.

### II-1- Matériel

#### II-1-1-Matériel biologique

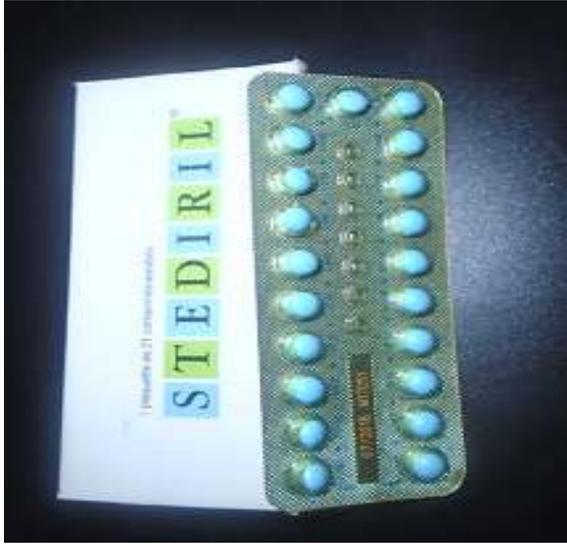
##### ➤ Animaux

Les souris femelles utilisées proviennent de l'animalerie du laboratoire de pharmacotoxicologie du complexe ANTIBIOTICAL (SAIDAL de Médéa). L'alimentation et l'eau sont fournies "ad-libitum" et acclimatés aux conditions d'élevage (**Tableau I**) en dessous:

**Tableau I** : Matérielsles souris femellesissue de l'animalerie du groupe SAIDAL de Médéa.

Sexe	Souche	Nombre	Poids corporel	Alimentation
Femelle	Albinos Swiss race N.M.R.I.	14 Souris adulte femelle	Entre 20 et 26 g	Granules à base de maïs (O.N.A.B).

- **Traitement par la pilule STEDIRIL® (Norgestre 0,05mg/ Ethinylestradiol 0,005mg) :**



### Definition:

La STEDIRIL® est un contraceptif oral combiné pilule combinée. Chaque comprimé contient une faible quantité de deux hormones féminines différentes, à savoir du norgestre « une hormone ayant une progestative » et de l'éthinylestradiol « une hormone ayant un effet estrogène ».

Figure 05: Plaquette de la pilule STEDIRIL®.

### II-1-2- Matériels non biologiques

- ✓ Appareillage, réactifs et solutions et autre matériel. (*Voir annexe II*)

## II-2-Méthodes

Après l'adaptation (3mois) des souris femelles adultes de souche N.M.R.I aux conditions du laboratoire, les 14 souris femelles ont été réparties en 2 lots qui ont reçu la même nourriture et de l'eau à volonté ; exposition par voie orale :

- **Le premier lot :** Il comprend 4 souris femelles adultes témoins qui ont reçu uniquement de l'alimentation et de l'eau.
- **Le deuxième lot :** Il comprend 10 souris femelles adultes traitées auxquelles nous avons administré des doses de  $(1,73/1,91/2,1/2,43)10^{-3}$  mg/g/j la pilule STEDIRIL® la matinée et ce pendant 03 jours suivis d'un arrêt de traitement de 1 jours à la fin de chaque plaquette de cette pilule. (*Figure 33 Voir l'annexe II*)
- La période d'administration des produits était toujours le même (entre 09h à 10h).

Il est à noter que les animaux de chaque lot ont été individuellement et hebdomadairement pesés tout au long de la période de cet essai afin de suivre l'évolution de la masse corporelle des souris durant le gavage.

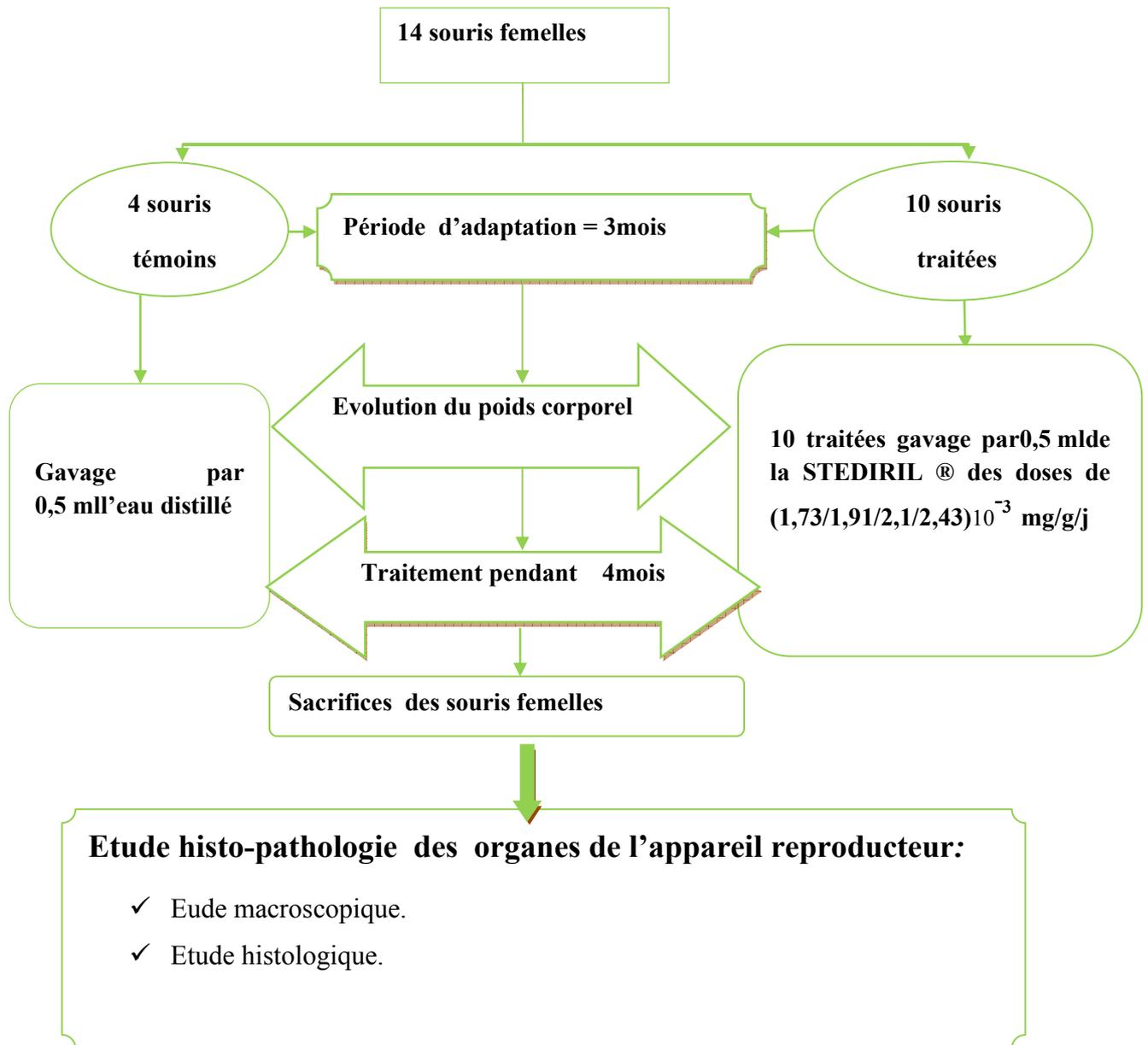


Figure 07: Différentes étapes du protocole expérimental. (Voir annexe II)

### II-2-1- Choix et préparations des doses

#### ➤ Marquage des souris

Les souris femelles sont identifiées par un marquage spécifique au moyen d'une numérotation individuelle sur la queue de chaque souris femelle (Figure 01/Voir annexe II). Chaque lot est mis dans une cage en plastique marquée avec une étiquette portant la mention témoin ou traité, le nombre des souris femelles, le nom de la pilule et dose administré. (Figure 33/ Voir annexe II)

## Chapitre II Matériel et méthodes

### ➤ Pesée des souris

Les souris femelles de chaque lot sont individuellement pesées chaque mois «un fois» et le poids corporel est enregistré le long du traitement afin de suivre l'évolution de la masse corporelle durant le gavage. (*Figure 02/Voir annexe II*)

### ➤ Préparation des doses du produit à administrer

La dose de pilule à administrer aux souris femelles a été calculée à partir de la dose journalière de la pilule **STEDIRIL**® prise par une femme normale de 65 kg et selon le poids vif des souris femelles (témoins et traitées) qui est au moyen 24 g. La formule de ce calcul est la suivante :

Dose (0,005 mg/kg/j)  $\xrightarrow{\hspace{10em}}$  65kg du poids corporel  
X (quantité de matière active nécessaire)  $\xrightarrow{\hspace{10em}}$  Poids corporel de la femme traitée (kg)

$$X = \text{Poids corporel (kg)} \times \text{dose (mg/kg/j)} / \text{poids corporel de la femme traitée (kg)}$$

### ➤ Calcul de la dose par kg chez la femme normale

$$\left. \begin{array}{l} 0.005 \text{ mg/kg/j} \xrightarrow{\hspace{2em}} 65 \text{ kg} \\ \mathbf{d=0.005 \text{ mg/kg/j} \times 1 \text{ kg} / 65 \text{ kg} = 7,6 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/j}} \\ \mathbf{d(\text{mg/kg/j})} \xrightarrow{\hspace{2em}} 1 \text{ kg} = 1000 \text{ g} \end{array} \right\}$$

### ➤ Calcul de la dose chez la souris femelle traitées pendant quatre

mois (mois 1, mois 2, mois 3 et mois 4)

✓ Calcule la Moyenne ( $M_1$ )

$$M_1 = \frac{26+24+25+22+20+22+23+24+20+19}{10} = 22,5$$

### ➤ Calcul de la dose par g chez la souris femelle (01)

$$\left. \begin{array}{l} 7,6 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/j} \xrightarrow{1 \text{ kg} = 1000 \text{ g}} \\ \mathbf{d_1(\text{mg/g/j})} \quad \mathbf{22,5 \text{ g}} \quad \mathbf{d_1 = 7,6 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/j} \times 22,5 \text{ g} / 1 \text{ kg} = 1,73 \times 10^{-3} \text{ mg/g/j}} \end{array} \right\}$$

### ➤ Calcul de la dose chez la souris femelle (01)

Calcule la Moyenne ( $M_2$ )

$$M_2 = \frac{25+26+25+24+25+25+26+25+26+22}{10} = 24,9$$

## Chapitre II Matériel et méthodes

### ➤ Calcul de la dose par g chez la souris femelle<sub>(02)</sub>

$$\begin{array}{l} 7,6 \times \text{mg/kg/j} \quad \longrightarrow \quad \downarrow \text{kg} = 1000 \text{ g} \\ \mathbf{d_2}(\text{mg/g/j}) 24,9 \text{g} \quad \longrightarrow \quad \mathbf{d_2} = 7,6 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/j} \times 24,9 \text{g} / 1 \text{kg} = 1,91 \times 10^{-3} \text{ mg/g/j} \end{array}$$

### ➤ Calcul de la dose chez la souris femelle<sub>(03)</sub>

✓ Calcule la Moyenne (M<sub>3</sub>)

$$\mathbf{M_3} = \frac{28+29+27+28+27+28+25+29+28+24}{10} = 27,3$$

✓ Calcul de la dose par g chez la souris<sub>3</sub>

$$\begin{array}{l} 7,6 \times \text{mg/kg/j} \quad \downarrow \text{kg} = 1000 \text{ g} \\ \mathbf{d_3}(\text{mg/g/j}) 27,3 \text{g} \quad \longrightarrow \quad \mathbf{d_3} = 7,6 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/j} \times 27,3 \text{g} / 1 \text{kg} = 2,1 \times 10^{-3} \text{ mg/g/j} \end{array}$$

### ➤ Calcul de la dose chez la souris femelle<sub>(04)</sub>

✓ Calcule la Moyenne (M<sub>4</sub>)

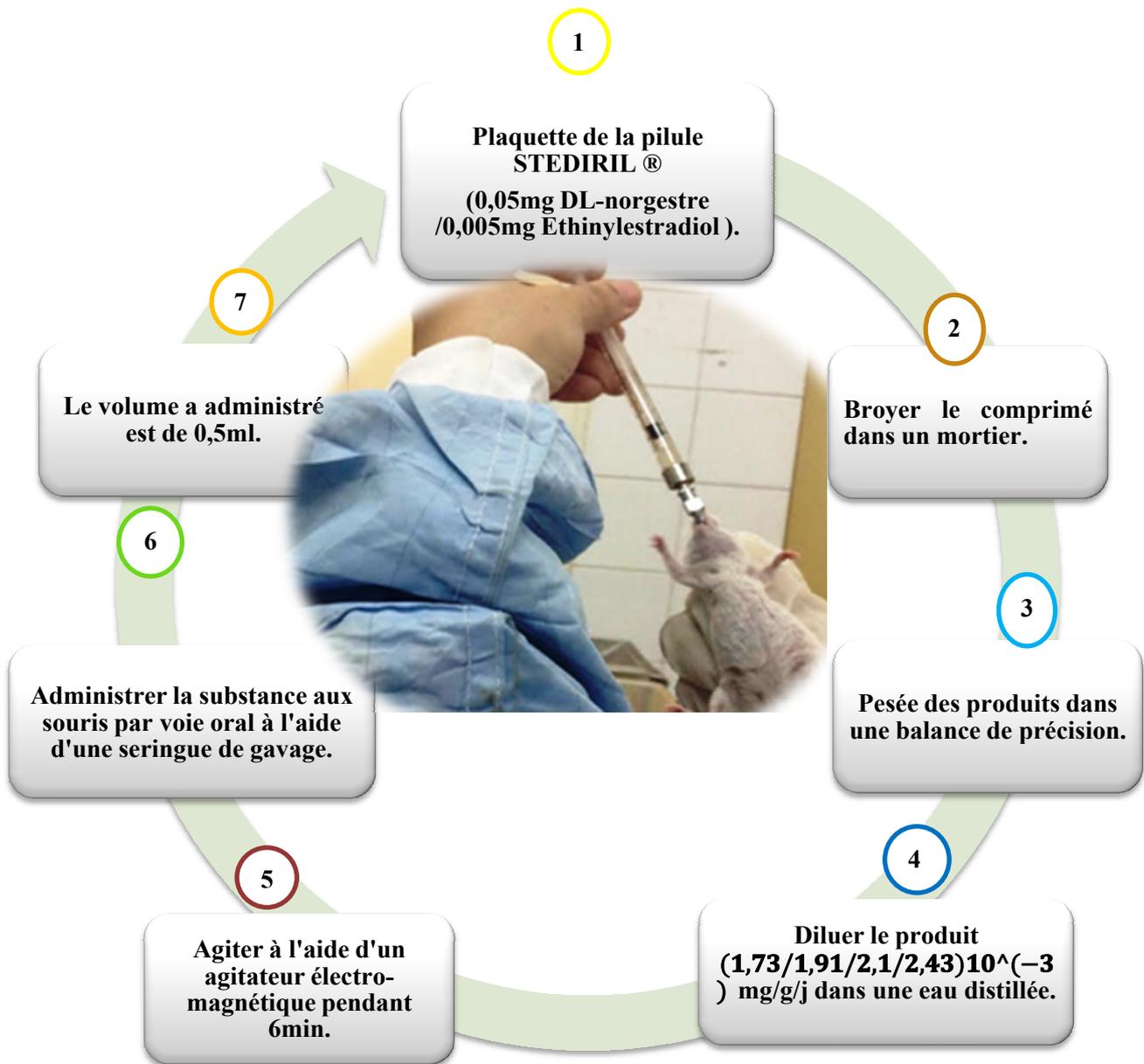
$$\mathbf{M_4} = \frac{37+34+30+33+32+30+29+31+31+29}{10} = 31,60$$

✓ Calcul de la dose par g chez la souris<sub>4</sub>

$$\begin{array}{l} 7,6 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/j} \quad \longrightarrow \quad \downarrow \text{kg} = 1000 \text{ g} \\ \mathbf{d_4}(\text{mg/g/j}) 31,60 \text{g} \quad \longrightarrow \quad \mathbf{d_4} = 7,6 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/j} \times 31,60 \text{g} / 1 \text{kg} = 2,43 \times 10^{-3} \text{ mg/g/j} \end{array}$$

## Chapitre II Matériel et méthodes

Les étapes de préparation et de l'administration de la pilule STEDIRIL<sup>®</sup> sont récapitulées dans la figure ci-après:



**Figure 08** :Préparation la dose journalière de la pilule STEDIRIL<sup>®</sup>.

(Figure 04/ Voir annexe II)

## **Chapitre II Matériel et méthodes**

### **II-2-2- Sacrifices des souris et prélèvements des appareils reproducteurs**

Les sacrifices sont réalisés par décapitation rapide sans anesthésie. Ils sont effectués la matinée entre 9h et 11h. Après sacrifices des souris femelles adultes par translocation cervicales et suivant les phases de dissection puis prélèvements des appareils reproducteurs était réalisé (*Figure 05 et 06 / Voir annexe II*) :

- Fixation de la souris femelle sur le dos à l'aide de 4 épingles enfoncées dans les pattes.
- On a fait une boutonnière dans la peau de l'abdomen, un peu en avant de l'orifice urinaire, à l'aide de la pince fine et des ciseaux, en coupant suivant l'axe proximo-distal.
- Engager la sonde cannelée dans la boutonnière, juste sous la peau, et, inciser le tégument suivant la ligne médiane jusqu'au voisinage de la bouche.
- Rabattre les volets cutanés vers l'extérieur.
- Réaliser une boutonnière dans la paroi musculaire de l'abdomen et inciser cette paroi suivant la ligne médiane.
- Prélèvements des appareils reproducteurs.

Après, nous avons prélevées les organes reproducteurs qui ont fait d'abord l'objet d'une observation macroscopique ayant pour objectif la comparaison et la détection des changements suite à la prise de la pilule **STEDIRIL®** et une observation microscopique qui a pour but la mise en évidence des modifications histo-pathologiques consécutives à ce traitement hormonal (*Figure 06/ Voir l'annexe II*).

### **II-2-3- Etudes histo-pathologiques**

#### **II-2-3-1- Eude macroscopique**

Réception du Prélèvement déjà fixé par l'opérateur (immersion de l'organe génitaux femelle dans un volume de formol 10 %, immédiatement après le prélèvement. Le but de la fixation est la conservation de structures (morphologie du tissu). C'est une étape très importante pour la qualité de l'étude histologique. (*Figure 06 / Voir l'annexe II*)

**Au cours macroscopique nous nous sommes intéressés à l'étude de :**

- Taille de l'appareil reproducteur dans deux dimensions (longueur x largeur ) chez deux lots de souris femelles témoins et souris femelles traitées (*Figure 09*)
- **Aspect externe** : Normal.
- **Couleur** : Blanche.



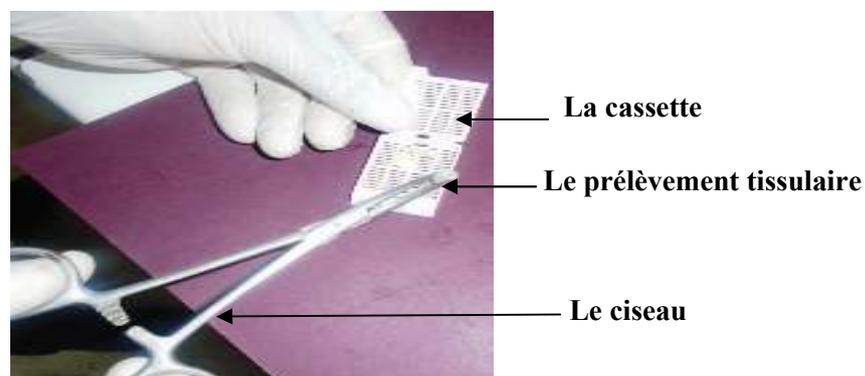
**Figure 09:** Aspects macroscopiques des appareils reproducteurs chez les souris femelles témoin(a) et traitée avec  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \cdot 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule STEDIRIL® (b et c) (après fixation).

### III-2-3-2- Etude histologique

Nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau des organes génitaux « ovaire, oviducte, corne utérine (utérus) et vagin ». La technique histologique utilisée est celle décrite par *MARTOJA et MARTOJA (1967)* :

#### Etape 01 : Fixation et rinçage

La fixation sert à assurer le maintien de la structure morphologique et de l'intégrité chimique des tissus tels qu'ils se présentent au moment de leur prélèvement. Après leur prélèvement les organes reproducteurs de tous les souris femelles « témoins et traités » sont fixés dans le formol à 10% pendant 48 heures puis rincés à l'eau courante pendant 24 heures (*Figure 06/Voir annexe II*). Ils sont disposés dans des cassettes en plastique numérotées numéro de pièce en chiffre avant la déshydratation. (*Figure 10*)



**Figure 10 :** Disposition des fragments dans les cassettes.

## ***Chapitre II Matériel et méthodes***

---

### **Etape 02 : Déshydratation et éclaircissement**

Les pièces sont imprégnées dans sept bains d'alcool éthylique à concentration croissante pour réaliser une déshydratation en douceur et non qui risque de rétracter les cellules :

- 1 bain d'alcool 70° pendant 30min. (Conservation illimitée)
- 2 bains d'alcool 70° pendant 30min.
- 2 bains d'alcool 95° pendant 30min.
- 2 bains d'alcool 100° pendant 30min.

L'éclaircissement est effectué dans deux bains de xylène pendant 1heure chacun. Cette étape permet d'éliminer l'alcool à partir des tissus. *(Figure 08/Voir annexe II)*

### **Etape 03 : Imprégnation**

Dans une étuve réglée à 58°C, les organes sont imprégnés dans deux bains successifs durant une heure chacun. Le premier bain est composé de 50% de xylène et 50% de paraffine et le deuxième bain ne contient que la paraffine pure. *(Figure 08/ Voir annexe II)*

### **Etape 04 : Inclusion et mise en bloc**

L'inclusion est réalisée selon les étapes suivantes :

- Ecoulement de la paraffine dans des moules métalliques.
- Inclusion et orientation des organes génitaux dans la paraffine.
- Placement des cassettes sur les quelles est inscrit le type d'organe et le numéro de la souris femelle.
- Refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque métallique réfrigérée pendant 10 min.

*(Figure 12 ,10 et 14/Voir annexe II)*

### **Etape 05 : Confection des coupes**

Les blocs obtenus sont coupés à l'aide d'un microtome de type « Leica » avec une épaisseur de 3 à 5µm. *(Figure 14/voir annexe II)*

### **Etape 06 : Collage des rubans des coupes et leur séchage**

Les rubans des coupes sont étalés dans un bain d'eau thermo statée (37°C) puis récupérés et collés sur les lames eaux et ensuite séchées dans l'étuve à 37°C pendant de 24 à 48 heures. *(Figure 16/Voir annexe II)*

### **Etape 07 : Déparaffinage et réhydratation**

Cette étape sert à retirer la paraffine du tissu et la remplacer par de l'eau pour permettre la pénétration des colorants. Les coupes sont passées dans un bain de xylène pendant 30 secondes. Cependant, la réhydratation a pour but de retirer le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau. Ces organes sont imprégnés dans un bain d'alcool éthanol décroissant « 100°, 96° et 70° » d'une durée de quelques secondes chacun.

### **Etape 08 : Coloration**

Le but de la coloration est de visualiser des différents composants cellulaires. Dans notre étude, nous avons appliqué un type de coloration

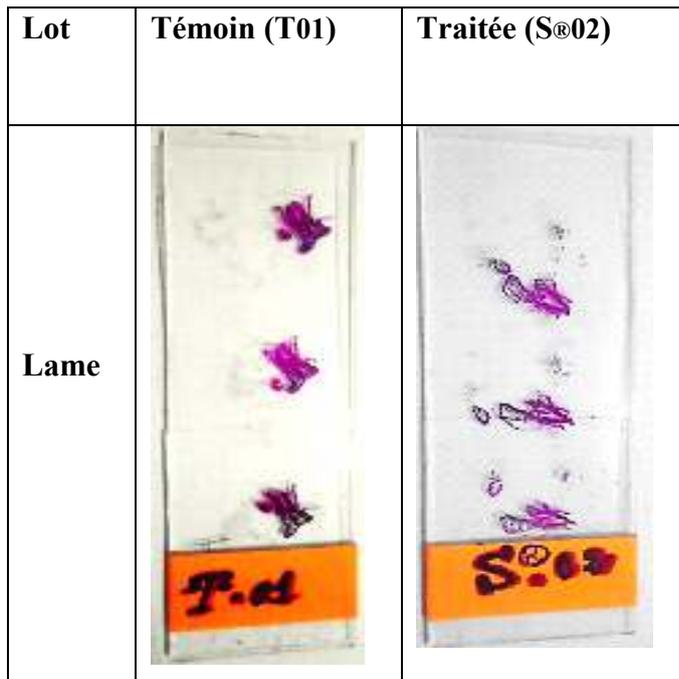
**La Coloration à l'hématoxyline-éosine est réalisée selon les étapes suivantes :**

- Coloration des lames par une solution d'Hémalun pendant 3 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'Eosine pendant 30 secondes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Différencier successivement dans les alcools jusqu'à l'alcool absolu.
- Passer dans deux bains de xylène.

C'est une coloration topographique qui permet de visualiser la morphologie des cellules « noyau violet et cytoplasme rose violacé » afin de déterminer leur répartition, architecture et structure. (*Fiche 03/voir l'annexe II*).

### **Etape 09 : Montage et observation**

Après la coloration, les lames sont prolongées dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. A la fin, les lames sont nettoyées au xylène puis séchées et observées au microscope photonique aux différents grossissements « x40, x100, x200 et x400 » (*Figure 09,15 et 20 /voir annexe II*). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un appareil photos numérique.



**Figure 11:** Coupes histologiques colorées et fixée sur des lames.

### II-2-7- Etude statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  Ecartype (*Tableaux V et VI/ Voir annexe II*). Les comparaisons intergroupes des témoins des traités sont réalisées selon le test de Student (*Tableaux VI / Voir annexe II*) et différences ont considérées statistiquement comme :

- Non significative lorsque  $P > 0,05$ .
- Significative (\*) lorsque  $0,05 \geq P \geq 0,02$ .
- Très significative (\*\*) lorsque  $0,02 \geq P \geq 0,01$ .
- Hautement significative (\*\*\*) lorsque  $0,01 > P$ .

### III-2- Discussion

Cette étude a pour but de rechercher les effets de la contraception orale d'une très faible dose de la pilule **STEDIRIL®** à raison de  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j chez les souris femelles adultes de souche N.M.R.I. Sur l'aspect morpho-fonctionnel de la structure de l'appareil reproducteur.

Dans des conditions expérimentales le **pourcentage de gestation** chez les souris femelles est nul. Des résultats similaires sont obtenus chez des femmes traitées avec les pilules contraceptifs oraux pris correctement sous prescription médicale est la méthode contraceptive la plus sûre ; son taux de réussite dépasse 98% (*SERFATY, 1998*). Cela signifie que, théoriquement, sur un total de mille femmes traitées par contraception œstroprogestative pendant un an, entre zéro et huit d'entre elles seraient enceintes. Les mêmes résultats sont obtenus par *REV PRESCRIRE, (2009) ; SERFATY, et al (2011)*.

Le suivi de la variation du **poids corporel** des souris femelles au cours du traitement a montré que pour les souris femelles traitées par  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule **STEDIRIL® (les quatre doses)** une progression du poids reste non significative au bout de quatre mois comparativement aux témoins, indiquant que le traitement de la pilule **STEDIRIL®** favorise l'acquisition de poids corporel. Des résultats similaires sont rapportés par *CARPENTER et al, (1986) ; MOORE et al, (1995) ; YOUSSEF, (2010)*. Chez les femmes traitées par 0,002 à 0,005 mg/kg/j par ces contraceptifs oraux du poids corporel. Souvent, on remarque dès les premiers mois l'augmentation de l'appétit et du poids corporel.

L'augmentation du poids corporel de nos souris femelles montre que la dose utilisée a un effet sur la croissance des souris.

L'étude au microscope photonique a révélé des modifications structurales remarquables au niveau de **l'ovaire** chez presque toutes les souris femelles traitées:

Ces altérations sont marquées par plusieurs follicules ovariens à différents stades d'évolutions immatures et quelques des kystes ovariens fonctionnelles résultent de l'activité hormonale avec blocage de l'ovulation. Des résultats similaires sont retrouvés chez des femmes traitées par œstro-progéstatives (*MARIONS et al, 2002 ; DURAND et al 2001 ; HAPANGAMA et al, 2001 ; CROXATTO et al ,2004; OKEWOLE et al, 2007*). Et sur des femmes traitées par l'association à des concentrations variées de molécules proches des

œstrogènes et de la progestérone, elles exercent un rétrocontrôle négatif sur le complexe hypothalamo-hypophysaire et conduisent à freiner la libération de LH et FSH, ce qui provoque une faible maturation folliculaire (inhibition du cycle ovarien) et bloque l'ovulation ; action au niveau de l'ovaire. (*SERFATY et al, 2011*). Comme dans la phase lutéale d'un cycle menstruel normal, les fortes concentrations plasmatiques en hormones stéroïdiennes agissent sur l'hypothalamo-l'hypophysaire et inhibent leurs sécrétions de FSH et de LH. Sans sélection d'un follicule antral dominant qui produirait des œstrogènes, il n'y a pas de pic d'œstrogène, donc pas de pic de LH, et pas d'ovulation. Ce dernier ayant préservé une architecture normale indique que la très faible dose administrée,  $(1,73/1,91/2,1/2,43) \times 10^{-3}$  mg/g/j de la pilule **STEDIRIL®**, pendant 4 mois n'induisent pas d'effets délétères apparents.

L'étude au microscope photonique a révélé des modifications structurales remarquables au niveau de l'**oviducte (trompes de Fallope)** chez presque toutes les souris femelles adultes traitées :

Une lumière plus large, une musculature lisse constituée des cellules musculaires. Présence d'une petite quantité de replis tubaires de l'épithélium utérine. Des résultats similaires sont retrouvés chez des femmes traitées (*FRYE, 2006*) et sur les femmes traitées par les contraceptifs oraux.

L'étude en microscope photonique des **cornes utérines (utérus)** des souris femelles adultes traitées montrent des altérations au niveau de l'endomètre. Ces altérations sont marquées par une lumière large et épithélium simple, Plusieurs glandes endométriales rectilignes signent la phase œstrogénique riche des vaisseaux sanguins et présence quelques de foyers hémorragiques. La pilule **STEDIRIL®** montre des altérations au niveau de l'endomètre. Ces résultats concordent avec ceux retrouvés par **CHANEL. (2011)**, où l'examen histopathologique des utérus des femmes exposées à l'oestro-progesterone l'endomètre est rendu impropre à la nidation. Une muqueuse devient rapidement hypoplasique. Des tubes, des glandes de l'endomètre sont peu nombreux, étroits, rectilignes, et ne présentent qu'une lumière parfois dilatée. Les phénomènes sécrétoires sont très réduits. Le tissu conjonctif de soutien et d'emballage qui entoure les glandes endométriales. Il prend parfois un aspect décidu forme. On n'observe pas d'artérioles spiralées.

La prise d'oestroprogestatifs séquentiels fortement dosés, tels qu'ils étaient utilisés au début de la contraception orale, augmente le risque de l'hyperplasie de l'endomètre puis de

cancer par ceux LANSAC et HECOMTE. (1988); LANSAG et al (1988); COURTIEU et al.(1992) ; QUEREUX.(1992).

**Au niveau du vagin**, l'analyse des coupes histopathologiques montre la présence de certains foyers hémorragiques et la présence de plusieurs cellules pavimenteuses inflammatoires légères non spécifiques et vaisseaux sanguins qui sont secondaire aux troubles hormonaux chez les souris femelles adultes traitées. Ces résultats ne corroborent pas ceux qui sont retrouvés chez des femmes traitées par les pilules oestro-progéstatives avec ceux QUEREUX et al. (1992) et ont rapporté la présence de sécheresse vaginale.

## Conclusion

Le but de l'utilisation de la pilule contraceptive est le blocage de l'ovulation car les hormones sexuelles (œstrogène/ progestérone) ont la même structure de base que les hormones de synthèse (**Ethinylestradiol /DL-Norgestre**) C'est pour cela qu'il n'y a pas rejet de la pilule contraceptive par l'organe cible, bien que l'effet de la progestérone naturelle est de stimuler l'ovulation, tandis que la progestérone de synthèse bloque l'ovulation.

L'étude des effets de l'ingestion de la pilule contraceptive de **STEDIRIL®** durant quatre mois de traitement menée sur les souris femelles adultes montre clairement qu'il entraîne des modifications morpho-fonctionnelles de l'appareil reproducteur et ceci même à très faible dose de la pilule **STEDIRIL®**. D'après les résultats nous pouvons conclure que la pilule **STEDIRIL®** provoque :

- ✓ La pilule **STEDIRIL®** augmente le risque d'apparition des kystes ovariens fonctionnels (folliculaire ou lutéale).
- ✓ La désorganisation de l'architecture tissulaire qui constituée de follicules ovariens à différents stades d'évolution immature, qui sont généralement secondaire au troubles hormonaux
- ✓ Présence de des kystes ovariennes fonctionnelles différent de tailles. D'autre part, l'abondance du tissu adipeux.
- ✓ Les lumières sont plus larges et la couche musculuse lisse constituée des cellules musculaires.
- ✓ Présence de la muqueuse plus fine avec plusieurs glandes utérines peu développées avec présence d'une petite quantité de replis tubaires de l'épithélium utérine.
- ✓ Présence de l'épithélium glandulaire est peu développée, il est constitué de cellules cylindriques avec une lumière de La corne utérine large.
- ✓ Présence des foyers hémorragiques épithélium vaginal avec cellules d'inflammation.
- ✓ L'épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé est constitué des cellules pavimenteuses inflammatoires abondantes avec des inflammations vaginales légères non spécifiques et peu de faisceaux de fibres lisses.

Il serait intéressant de rechercher les effets de ces doses sur le taux des hormones sexuelles de synthèse et complexe hypothalamo-hypophysaires. La réalisation de la morphométrie permettant le calcul de nombre et du diamètre des follicules peut donner plus de détails sur l'effet la pilule **STEDIRIL®** par voie orale sur l'appareil reproducteur.



N°	Auteurs
<b>A</b>	<b>AMARESCO G ,1995 .Larousse médical.masson (Ed) 1090p</b> <i>AUSIAS PHARMA, 2011 : contraception orale STEDIRIL®, la decision : 98/11H 032/030/C, Prifzer Holding France 23-25, Av.75014PARIS.</i>
<b>B</b>	<b>BARGINEAR M.F., BRADLEY T., SHAPIRA I.,</b> Implication of applied research for prognosis and therapy of breast cancer, Crit Rev Oncol Hematol., <b>2008;65(3):223-34.</b> <b>BARNAUD A. et WANERT A, 2008 :</b> Manuel d'anatomie et de physiologie 4 <sup>ème</sup> édition. <b>BAULIEU EE, LASNITZKI I, ROBEL P:</b> Metabolism of testosterone and action of metabolites on prostate glands grown in organ culture Nature 219:1155-1155-1156, 1974. <b>BOGHOG H, Doolan C.M., Harvey B.J., 2007:</b> AG alphas protein-coupled membrane receptor, distinct from the classical oestrogen receptor, transduces rapid effects of oestradiol on (Ca2+) in female rat distal colon. Mol CellEndocrinol 199, 87-103. <b>BOCCON-GIBORD L., LANSAC J, 1992 :</b> Pathologie chirurgicale : chirurgie urologie et gynécologique . <b>Masson (Ed).431p</b> <b>BLANC et BUOBLI ,1993 :</b> gynécologie clinique en gynécologie .Pradel <b>(Ed) .214p</b>
<b>C</b>	<b>CAMUS,. Heim N .,Nisand I, 2006:</b> Génécologie obstétrique soins infirmiers Masson (Ed) 290P <b>CAYTON PJ, MARTIN and W. V. Roberts, 1980:</b> Psychiatric Status after Hysterectomy One Year Follow Up. JAMA 244, 350. <b>Couse, J.F.,et al 1999:</b> ((oestroen receptor nul mice : what have we learne and where will they lead us ?)). Endocrine reviews 20(3): 358-417. <b>CHANEL S, de Roquancourt A.</b> Histologie et cytologie de l'appareil génital féminin : modifications liées aux méthodes contraceptives. Contraception. 4ème éd. Elsevier Masson; <b>2011.</b> p. 32,40. <b>CHRISTIAN MOUSSARD, 2005 :</b> Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires. 175, 176,228 ,229p
<b>D</b>	<b>DAULIE H, 1978:</b> Dissertation Abstracts International: The sciences and engineering <i>p: 998.</i> <b>DRAKE ., ADAM W MICHEL L ET WAYNE VOGL A,2010 :</b> Grays anatomie pour les étudiant .Elsevier (Ed).1103P. <b>DELMAS, 2006 :</b> Dictionnaire d'anatomie .Masson Ed <b>.389p</b>

<b>E</b>	<b>EVERITE:</b> Fainstein Day p , Guitelman M, Artese R et al .Retrospective multicentric study of pituitary incidentalomas .Pituitary 2001 ;7 : 145-8 .
<b>F</b>	<b>FERNANDEZ E., LA VECCHIA C., BALDUCCI A., CHATENOUD L., FRANCESCHI S., NEGRI E. (2011) :</b> Oral contraceptives and colorectal cancer risk: ameta-analysis. Br J Cancer 84: 722.  <b>Frye CA.</b> An overview of oral contraceptives : Mechanism of action and clinical use. Neurology. <b>2006</b> ; 66(6).
<b>H</b>	<b>Hennen G. ,3oct .2001.</b> Endocrinologie .Edition De boeck Supérieur ,520p.
<b>J</b>	<b>HAZARD J, PERLEMUTER L, GUILHAUME B, CENAC AGELINAT M, 1983 :</b> <i>Concours médical (Endocrinologie et communications cellulés) Masson , Paris p : 33 à 40</i>
<b>K</b>	<b>KAMINA PRERRE ,2000 :</b> Anatomie opératoire : gynécologie et obstétrique .édition, Maloine ,217p <b>KAMINA, P :</b> Anatomie gynécologique et obstétricale. Maloine, paris :1990 ,513 et 217 p <b>KUHL-HABICH D .,DINGER J., HEINEMANN L., (1990e):</b> The safety of a drospirenone-containing oral contraceptive: final results from the European Active Surveillance study on oral contraceptives based on 142,475 women years of observation. Contraception <b>75: 344–354.</b>
<b>L</b>	<b>LAURENT MONASSIER,Janvier 2013, DCEM3 :</b> Bases pharmacologiques du maniement des contraceptifs et des I antagonistes des oestrogines et de la progesterone(Module E04 Pharmacologie Clinique 47) -.  <b>LANGLOIS .I. et LEPRESLE E, 2001 :</b> Le corps humain etude, structure et fonction le rôle infirmier dans la pratique clinique, 2 <sup>ème</sup> édition de Deboeck.  <b>LANSAC.J., HECOMTE.P, 1988 :</b> «gynécologie pour le praticien» .3 <sup>ème</sup> Edition SIMEP, paris, 508.p.  <b>LECHAT.P ., CALVO .F., DE CREMOUX.P., GIROUD.JP., LAGIER.G. ,1992 :«</b> pharmacologie médicale» .5 <sup>ème</sup> Edition, p192
<b>M</b>	<b>MECAIN C ; KUTTENNE F ., 1993 .</b> Histoires naturelles de la monepeuse .La revue du patieicien N°20 .2579-2602.  <b>MARIEB E, 2005 :</b> Anatomie et physiologie humaines . <b>Masson (Ed) 1289p.</b>  <b>MARTY M., extra J-M., 1994:</b> Calvof –Biologie du cancer sein -Education Techniques-Encycl.MedChir ,Gynécologie. <b>865-F -20,6p.</b>  <b>MASHCHAK F, Carey M.P., Deterd C.H., Koning de J., Helmerhorst F., Kloetde E.R., 1998:</b> <i>The influence of ovarian steroids on hypothalamic–pituitary–adrenal regulation in the female rat, J. Endocrinol. 144, 311–321.</i>

	<b>MENCHE NICOLE N, 2009</b> : Anatomie, physiologie, biologie. 4 <sup>ème</sup> édition.
<b>N</b>	<b>NGUYEN,S-H ., Allinpfister A-C.</b> , 8juin 2005 .Manual d'anatomie et de physiologie , 3 <sup>ème</sup> édition , Editeur lamanrre , 768p.  <b>NILSSON, S et al ., 2001.</b> ''Mechanisms of estrogèn action '' <i>physiol rev</i> .81(4): 1535-1565.
<b>O</b>	<b>ORSETTIS ,1979</b> : Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales : 157, Partie1.
<b>P</b>	<b>PAPIERNIK N, MARCHBANKS PA, Curtis KM, Mandel MG, Wilson HG, JENG G, FOLGER SG, et al.</b> Oral contraceptive formulation and risk of breast cancer. <i>Contraception</i> .1990; <b>85(4):342350</b> .  <b>PERLEMUTER, 1983</b>  <b>PERONNET F, et al 1980</b> :Pediatric Sports MedicinePsychoneuroendocrinology ; 5:121. 6.  <b>PIERRE LECOMTE</b> : Contraception hormonale féminine ; Encyclopédie Pratique de Médecine, 1998. 3-0690.  <b>PIERRE M.,AGNRARY J.,FERARDG.,PRUCHART(J-C),JARDILIER C.,REVOLA.,SIEST G.,STAHLA ,1988</b> : .biochimie clinique, biochimie fonctionnelle. Paris :mimepsa , :642p  <b>POUTANEN M., 1995.</b> ((Regulation of oestrogen action: role of 17 betahydroxysteroiddehydrogenases)) <i>Annals of medicine</i> 27(6) : 675- 682.
<b>Q</b>	<b>QUESE D ,Canfield , Marro B, Zouaui A, Sahel M ,Croat N Gerber S , Sourour N, Sag P,2004</b> :MarsaultC.MRI of pituitary adenomas in acromegaly . <i>Neuroradiology</i> jun1997, 39,6,p.394-399.
<b>R</b>	<b>RUSIECKI J.A., HOLFORD T., ZAHMS. , S.H et al .,</b> Breast cancer risk factors according to joint estrogen receptor , <i>Cancer Detect prev</i> .2005;29(5) and progestrone receptor status , <b>2005</b> .
<b>S</b>	<b>SERFATY D, 1998</b> : «la contraception ». Edition MASON, paris ,364p.  <b>SHERWOOD L août2006,</b> physiologiehumain: A human perspective .Edition de boecksuperieur , <b>768p</b> .  <b>SIMPSON E., 2000</b> : The role of local estrogen biosynthesis in malesandfemales. <i>Trends inendocrinology and metabolism</i> 11 (5):184-188

- |          |   |
|----------|---|
| <b>T</b> | <p><b>THIBAUT C et LEVASSEUR (M-C) 2001:</b> la reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris: Ellipses marketing A: 929p.</p> <p><b>TORTORA G et GRABOWSKI B, 1994 :</b> Principes d'antomie et de physiologie .2<sup>ème</sup> édition de boek .ISBN : 2-8041-1024-9,923p.</p> <p><b>TSAI FY, KELLER G, KUOF C, WEISSM, CHEN J, 1994:</b> Molecular mechanisms of action of steroid/ thyroid receptor superfamily members.' <i>Annu Rev Biochem</i>36:451-486.</p> |
|----------|---|

Annexe II : Aspect pratique

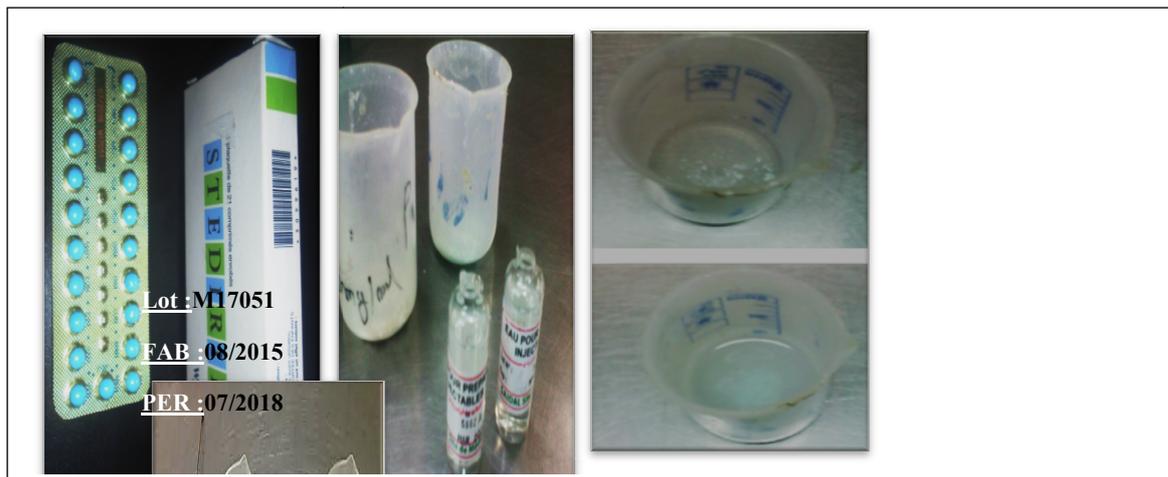


**Figure01:** Marquage spécifique des souris. souris.



**Figure 03:** Organes génitaux externes et les mammaire chez la souris.

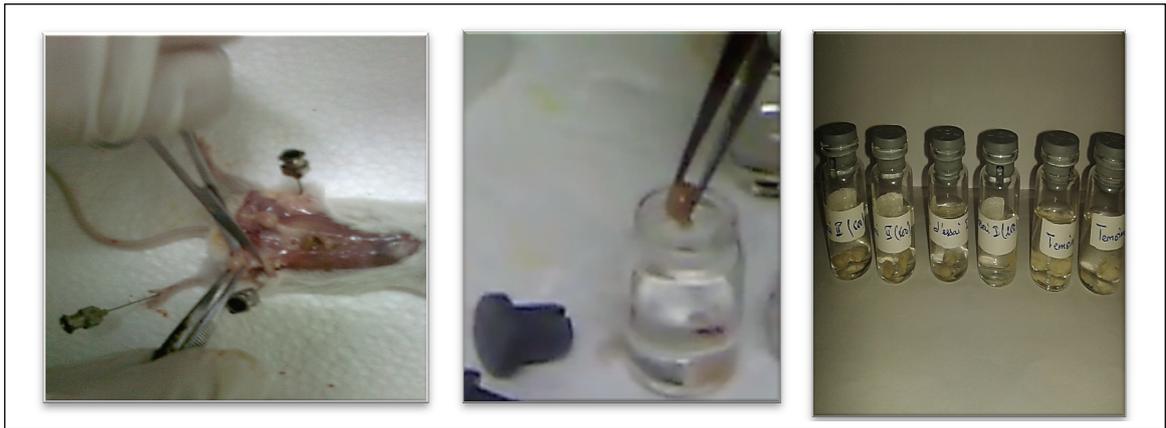
Mamelles (flèches jaunes), Vagin avec frottis vaginal d'une souris après un coït (flèche noire), Papilleurinaire (flèche vert).



**Figure 04 :** Préparation injectables de la solution de gavage



**Figure 05 :** Les étapes de dissection.



**Figure 06:**Prélèvements des appareils reproducteurs.

### I-1- Appareillage

- Appareil d'inclusion « Leica ».
- Automate coloration.
- Automate circulation« Leica ».
- Balance électronique.
- Balance de précision.
- Distributeur de paraffine de type « Leica ».
- Platine refroidissante de type « Leica ».
- Microtome de type « Leica ».
- Microscope photonique de type « Leica ».



**Figure 07:** Balance électronique. « Leica ». **Figure 08:** Automate circulation de coloration. **Figure 09:** Automate électronique.



**Figure 10 :**Appareil **Figure 11:** Hotte. **Figure 12:** Platine refroidissante à inclusion« Leica». « Leica ».



**Figure 13 :** Agitateur **Figure 14:** Microtomie **Figure 15 :** Microscope électromagnétique type« Leica». de types photonique.



**Figure 16:** L'étalement des coupes. **Figure 17:** Bain Marie. Sur une platine chauffante.

### **I-2- Réactifs et solutions**

- Hémalun.
- Eosine.
- Formol à 10% (un volume de formol 37% à 38% commercial pour 9 volumes d'eau).
- Alcool pur (70°, 90° et 100°).
- L'eau distillée H<sub>2</sub>O.
- Paraffine « Leica ».
- Hématoxyline

- L'Eukitt.
- Xylène.
- Liquide de montage (Eukitt).



**Figure 18: Hémalum, Figure 19: Eosine, Figure 20: Eukitt.**

### **I-3- Autre matériel**

- Ciseaux.
- Mortier.
- Lames et lamelles.
- Montage des lames colorées
- Panier de lames
- Lames colorées de lames.
- Entonnoir.
- Matériel de dissection.
- Eprouvette graduée et pince.
- Cages à Souris.
- Aiguilles de gavage.
- Cassettes en plastique.
- Gants stériles et à usage unique.
- Cassettes en plastique.
- Panier (porte lame).
- Moules en métal.
- Matériel de dissection.
- Tubes héparinés.





**Figure 21 :** Tubeshéparines. **Figure 22 :** Salle de lavage. **Figure 23 :** Lames d'étalement.



**Figure 24 :** Montage des lames colorées. **Figure 25 :** Lames colorées. **Figure 26 :** Panier de lames.

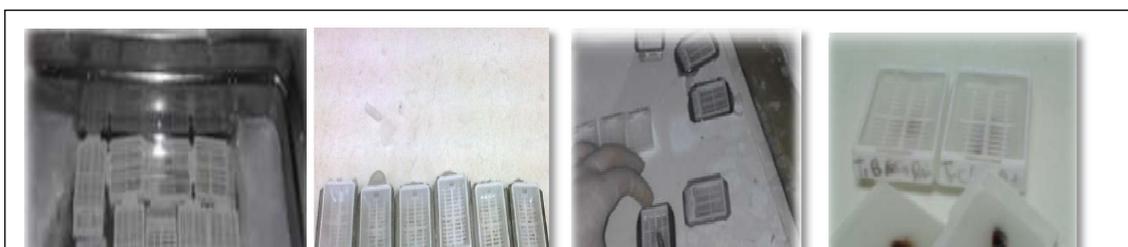


**Figure 27 :** Entonnoir. **Figure 28 :** Matériel de dissection. **Figure 29 :** Eprouvette graduée et pince.

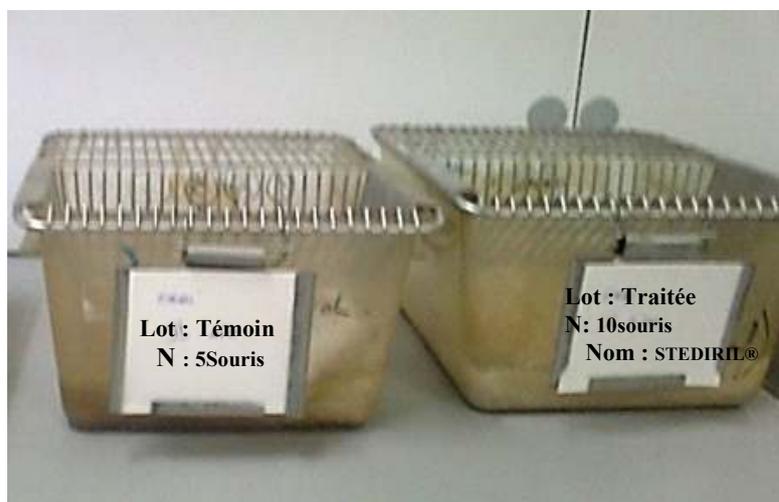


**Figure 30 :** Aiguille de gavage. **Figure 31 :** Les épingles.

gavage.



**Figure32** :Procédure d'inclusion et Confection des blocs de paraffines.



**Figure 33** : Cages représentant les 2 lots de souris (N: Nombre/ d. a:dose administre).

**I-4- Fiches techniques N°1 : Fixation Topographique : Para formol Aldéhyde.**

---

**Para formol Aldéhyde**

- Eau distillée 1000 ml.
- Para formol aldéhyde : 40g.
- Saccharose : 40g.
- Phosphate tampon 500ml.

**Phosphate tampon 500ml.**

- Eau distillée 1000 ml.
- Phosphate de sodium monobasique 280 ml (27,6g/1000ml).
- Phosphatesodium monobasique 720 ml (28,4g/1000 ml).

**I-5- FICHE TECHNIQUE N°2 : Déshydratation**

---

- 1 bain d'alcool 70° ..... Conservation illimitée.
- 2bains d'alcool 70° ..... 30min.
- 2 bains d'alcool 95° ..... 30min.
- 2 bains d'alcool 100° ..... 30min.

### I-6-Fiche technique N° 3: Colorationtopographique à l'hématoxyline-éosine

---

#### 1- Réactifs

##### 1-1-Hématoxyline-éosine de Groat(Préparation à froid)

##### 1-2-Eosine(Préparation à froid) (Conservation illimitée).

- Eosine 1g.
- Eau distillée 100ml.

#### 2- Mode opération

- Colorer par Hématoxyline pendant de Groat 5 min.
- Rince à l'eau.
- Colorer par l'Eosine
- Rince à l'eau.
- Déshydrater et monter à l'Eukitt.

**Remarque :** Les noyaux se colorent en violet, le cytoplasme en rose, certaines sécrétions restent incolores.

#### II-1-Calcul statistique

##### II-1-1- La moyenne

Soit :  $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$  une suite finie de nombres.

La moyenne arithmétique est le rapport :

$$m = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$m$  : La moyenne arithmétique

$n$  : L'effectif  $X$  : Caractère quantitatif

##### II-1-2- L'écart type :

L'écart type est la racine carrée de la variance

$$\delta = \nu^{1/2}$$

$\delta$  : L'écart type  $\nu$  : La variance

### II-1-3- La variance

La variance d'une série des valeurs du caractère est la valeur moyenne arithmétique des carrés des écarts de ces valeurs par à leur moyenne arithmétique.

$$\nu = \frac{\sum (x_i - m)^2}{n}$$

$\nu$  : La variance  $n$  : L'effectif

$m$ : La moyenne arithmétique  $x$ : Caractère quantitatif

### II-1-4- Test d'homogénéité de deux échantillons :

#### $n_1 < 30$ : Loi de STUDENT

Hypothèse nulle (Ho): Les deux échantillons sont semblables; le traitement n'a pas d'effet.

On va calculer la variance commune estimée :

$$\delta = \left[ \frac{n_1 \sigma_1^2 + n_2 \sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \right]^{1/2}$$

En suite écart réduit" :

$$t = \frac{|m_1 - m_2|}{\delta [n_1 - n_2 - 2]^{1/2}}$$

$t$ : L'écart réduit.

$m_1$ : La moyenne arithmétique de l'échantillon 1 (Lot témoin)

$m_2$  : La moyenne arithmétique de l'échantillon 2 (Lot traitée)

$S$ : La variance commune estimée

$n_1$ : nombre d'échantillon 1 (Lot témoin)

$n_2$ : nombre d'échantillon 2 (Lot traitée)

On compare ce (t) calculé avec la valeur de  $t\%(ddl=n_1+n_2-2)$  théorique tirée de la table de STUDENT :

- Si  $T_c < T_t \%$  : L'hypothèse nulle est retenue; la différence n'est pas significative, le traitement n'a pas d'effet.
- Si  $T_c > T_t \%$  : L'hypothèse nulle est rejetée; la différence est significative donc le traitement a un effet.

Tableau IV: Table de STUDENT.

$\alpha\%$ ddl	20%	10%	5%	2%	1%	0,10%
1	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	1,886	2,92	4,303	6,965	9,925	31,598
3	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,61
5	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	1,44	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	1,397	1,86	2,306	2,896	3,355	5,041
9	1,383	1,833	2,262	2,821	3,25	4,781
10	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	1,35	1,771	2,16	2,65	3,012	4,221
14	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,14
15	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	1,337	1,746	2,12	2,583	2,921	4,015
17	1,333	1,74	2,11	2,567	2,898	3,965
18	1,33	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,85
21	1,323	1,721	2,08	2,518	2,831	3,819
22	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	1,319	1,714	2,069	2,5	2,807	3,767
24	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	1,316	1,708	2,06	2,485	2,787	3,725
26	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,69
28	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	1,31	1,697	2,042	2,457	2,75	3,646
∞	1,282	1,645	1,96	2,326	2,576	3,291

Valeurs moyennes des poids corporels (g) chez les souris femelles adultes témoins et traitées et leur signification.

## ➤ Lot des souris femelles témoins

Tableau V: Valeurs moyennes des poids corporels chez les souris femelles adultes témoins.

Paramètres	Poids corporels (g)			
	M1	M2	M3	M4
<b>Souris</b>				
<b>01</b>	<b>20</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>28</b>
<b>02</b>	<b>24</b>	<b>27</b>	<b>25</b>	<b>27</b>
<b>05</b>	<b>26</b>	<b>30</b>	<b>31</b>	<b>34</b>
<b>Moyenne1</b>	<b>24,75</b>	<b>25,25</b>	<b>25,75</b>	<b>28</b>
<b>Ecartype1</b>	<b>5,85</b>	<b>6,24</b>	<b>5,57</b>	<b>4,56</b>

## ➤ Lot des souris femelles traitées de la pilule STEDERIL®

Tableaux VI: Valeurs moyennes des poids corporels chez les souris femelles adultes traitées.

Paramètres	Poids corporels (g)			
	M1	M2	M3	M4
<b>souris</b>				
<b>01</b>	<b>26</b>	<b>25</b>	<b>28</b>	<b>37</b>
<b>02</b>	<b>24</b>	<b>26</b>	<b>29</b>	<b>34</b>
<b>03</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>27</b>	<b>30</b>
<b>04</b>	<b>22</b>	<b>24</b>	<b>28</b>	<b>33</b>
<b>05</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>27</b>	<b>32</b>
<b>06</b>	<b>22</b>	<b>25</b>	<b>28</b>	<b>30</b>
<b>07</b>	<b>23</b>	<b>26</b>	<b>25</b>	<b>29</b>
<b>08</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>29</b>	<b>31</b>
<b>09</b>	<b>20</b>	<b>26</b>	<b>28</b>	<b>31</b>
<b>10</b>	<b>19</b>	<b>22</b>	<b>24</b>	<b>29</b>
<b>Moyenne 2</b>	<b>22,5</b>	<b>24,90</b>	<b>27,30</b>	<b>31,60</b>
<b>Ecartype 2</b>	<b>2,20</b>	<b>1,13</b>	<b>1,55</b>	<b>2,37</b>

**Tableau VII :** Comparaison entre les poids corporels de souris témoins et traitées et leur signification statistiques.

<b>Lots des souris</b>	<b>Témoin</b>		<b>Traitée</b>	
<b>Effectif</b>	n=4		n=10	
	Début	Fin	Début	Fin
<b>Moyenne</b>	24,75	28,5	22 ,5	31,6
<b>±</b>	±	±	±	±
<b>Ecartype</b>	5,85	4,56	2,20	3,37
<b>L'écart réduit(t)</b>	ddl = n1-1= 4-1= 3		ddl = n2-1=10-1=9	
<b>Tt =T tableau de student</b>	Tt = 2,776		Tt = 2,262	
<b>P (%) de risque</b>	P > 0,05		P > 0,05	
<b>La différence</b>	Non significative		Non significative	

## Annexe I : Aspect bibliographique

Tableau I : La posthypophyse sécrète principalement 2 hormones

Hormones	Cibles principales
<a href="#">Vasopressine</a> ou ADH	Reins
Ocytocine	Glande mammaire utérus

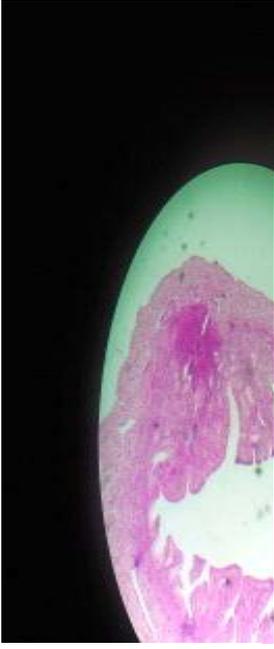
Tableau II: L'antéhypophyse sécrète principalement 6 hormones

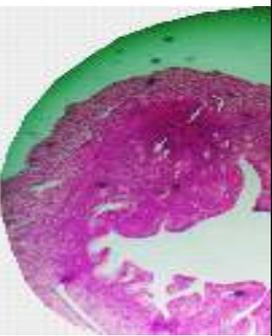
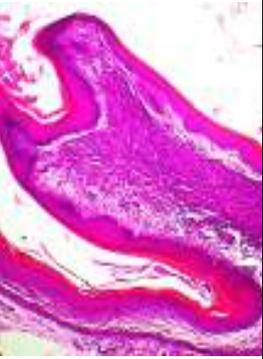
Hypothalamus	Antéhypophyse		
	Cellules	hormones	cibles principales
GHRH (+)	Somatotrope	GH	Tous les tissus
SRIF (-)	Gonadotrope	LH FSH	Gonades
GnRH (+)	Corticotrope	ACTH	Corticosurrénales
PRF (+) PIF (-)	Mammotrope	Prolactine	Glande mammaire
TRH (+)	Thyrotrope	TSH	Thyroïde

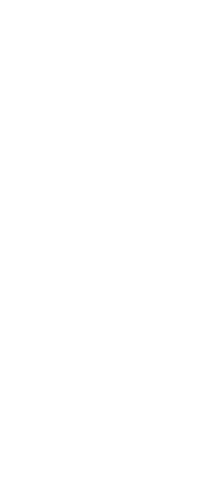
Tableau III: Liste des oestrogénostatifs actuellement disponible.(PIERRE LECOMTE, 1988)

Phases	Dose d'éthinylestradiol (ug)	Dose du progestatif (mg)	Nom commercial
Combiné monophasique nomodosé (classique)	<b>EE<sub>2</sub> (50)</b>	<b>Norgestrel (0.5)</b>	<b>STEDERIL®</b>
	EE <sub>2</sub> (50)	Norgestriénone(0.5)	PLANOR®
	EE <sub>2</sub> (35)	Norgestimate(0,25)	CILEST®
	EE <sub>2</sub> (30)	Lévonorgestrel(0,15)	MINIDRIL®
	EE <sub>2</sub> (30)	Désogestrel(0,15)	CYCLEANE 30®
Combiné biphasique.	EE <sub>2</sub> (20)	Désogestrel(0,15)	MERCILON®
	EE <sub>2</sub> (30/40)	Lévonorgestrel(0,15/0,20)	ADEPAL®
Combiné triphasique.	EE <sub>2</sub> (30/40)	Noréthistérone(1/2)	MINIPHASE®
	EE <sub>2</sub> (30/40/30)	Gestodène(0,05/0,07/0,1)	PHAVEA®
	EE <sub>2</sub> (35/35/35)	Noréthistérone(0,5/0,75/1)	TRIELLA®
	EE <sub>2</sub> (30/40/30)	Lévonorgestrel(0,05/0,075/0,125)	TRINORDIOL®

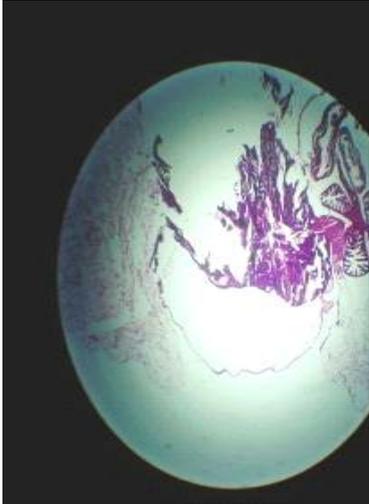
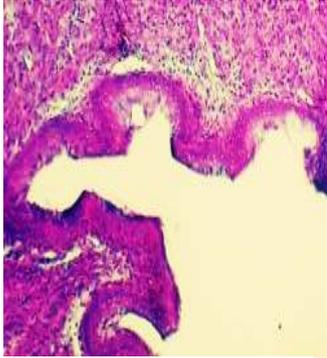
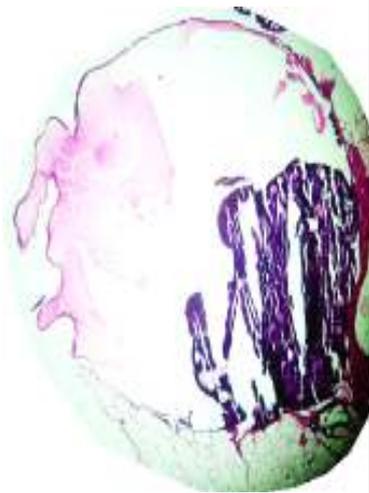
### Annexe III: Aspect histologique

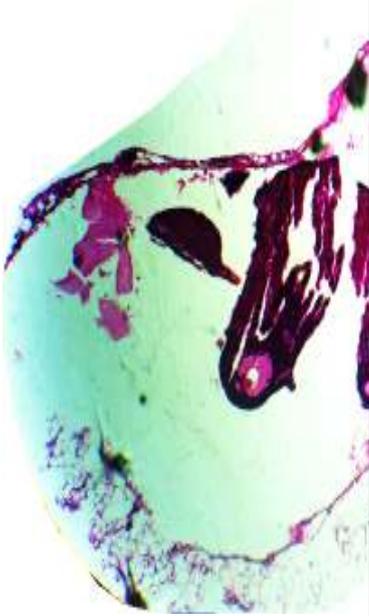
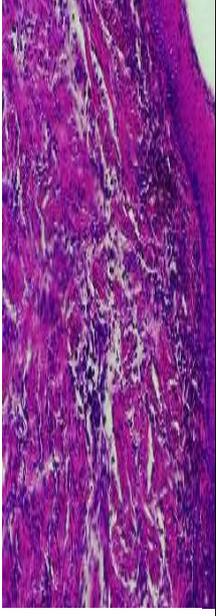
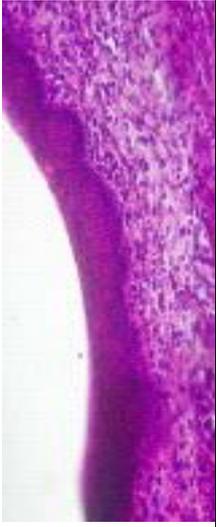
<i>Coupes histologiques Les appareils reproducteurs chez des souris femelles du lot témoin</i>				
N°	Ovaire	Oviducte	Corne utérine	Vagin
01	<p><b>Figure 09;G : x100</b></p> 	<p><b>Figure10 ;G :X200</b></p> 	<p><b>Figure11 ;G :X100</b></p> 	<p><b>Figure 12;G :X200</b></p> 
	<p><b>Figure13;G :x100 avec zoom</b></p> 	<p><b>Figure 14;G :X40</b></p> 	<p><b>Figure15 ;G : X100 avec zoom</b></p> 	<p><b>Figure16 ; G : x200 avec zoom</b></p> 
02				

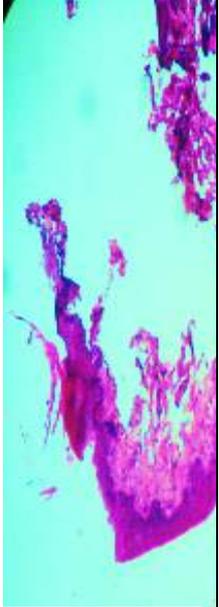
				
03	<p><b>Figure17 ;G : x 100 avec zoom</b></p> 	<p><b>Figure18 ; G : x40</b></p> 	<p><b>Figure19 ; G :X100</b></p> 	<p><b>Figure 20;G : X200</b></p> 
04	<p><b>Figure21 ; G : X 100</b></p>	<p><b>Figure 22 ;</b></p>	<p><b>Figure 23 ;G :X 200</b></p>	<p><b>Figure 24 ;</b></p>

				
<b>Coupes histologiques les appareils reproducteurs des souris du lot traitées par 000004mg/kg/j de la pilule STEDIRIL ®</b>				
N°	Ovaire	Oviducte	Corne utérine	Vagin
01	<b>Figure 25;G : X200</b> 	<b>Figure 26 :G :X 100</b> 	<b>Figure 27: G :X100</b> 	<b>Figure 28</b> 

<p>02</p>	<p>Figure 29 ;</p>	<p>Figure30 ; G :X100</p> 	<p>Figure 31;G :X100</p> 	<p>Figure32 ;G : x200</p> 
<p>03</p>	<p>Figure33 ;G :X100</p> 	<p>Figure 34</p>	<p>Figure35 ;G :X100</p> 	<p>Figure36 ;G :X 200</p> 

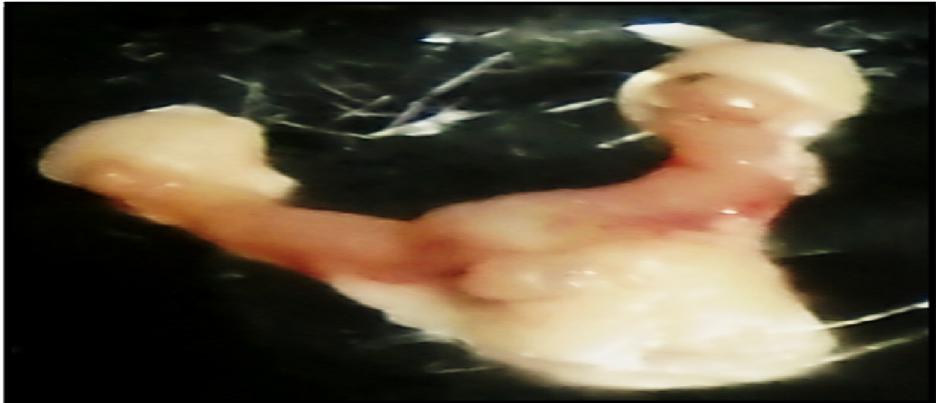
04	<p>Figure 37;G:X40</p> 	<p>Figure 38;G : x100</p> 	<p>Figure 39; G :X200</p> 	Figure 40
	<p>Figure 41 ;G :X40</p> 	<p>Figure42 ;G : :X100</p> 	<p>Figure43 ;G :x100</p> 	Figure 44
05	<p>Figure 45 ;G : X100</p>	<p>Figure 46 ;G :X40</p>	<p>Figure 47;G :X40</p>	<p>Figure 48;G :x200</p>

				
06	<p><b>Figure 49 ;</b></p>	<p><b>Figure 50 ;</b> <i>G x40</i></p> 	<p><b>Figure 51 ;G :x40</b></p> 	<p><b>Figure 52 ;G :</b> <i>X200</i></p> 

07	<p>Figure 53 ;G :X40 avec zoom</p> 	<p>Figure54 ;G :X200</p> 	<p>Figure55 ;G : X100</p> 	<p>Figure 56 ;G : X100</p> 
08	<p>Figure 57 ;G :X40</p> 	<p>Figure58 ;G : x40</p> 	<p>Figure 59 ;G: x100</p> 	<p>Figure 60 ;G : X200</p> 

Annexe III : Aspect macroscopique

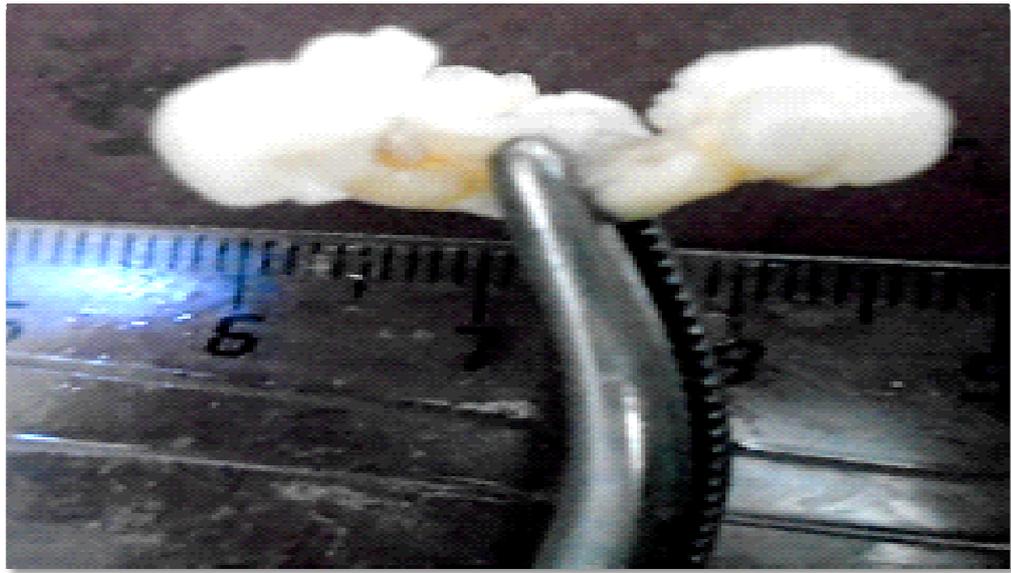
<b>Sacrifice et prélèvement des appareils reproducteurs</b>	
<b>Souris témoin</b>	<b>Souris traitée</b>
	
<b>Figure</b>	<b>Aspect macroscopiques des appareils reproducteurs chez les souris femelles adultes du lot témoin (avant fixation).</b>
<b>01</b>	
<b>Figure</b>	<b>Aspect macro-pathologiques des appareils reproducteurs chez les souris femelles adultes traitées avec <math>(1,73/1,91/2,1/2,3)10^{-3}</math>mg/g/jde la piluleSTEDIRIL®. (avant fixation)</b>
<b>01</b>	

02	
03	
04	

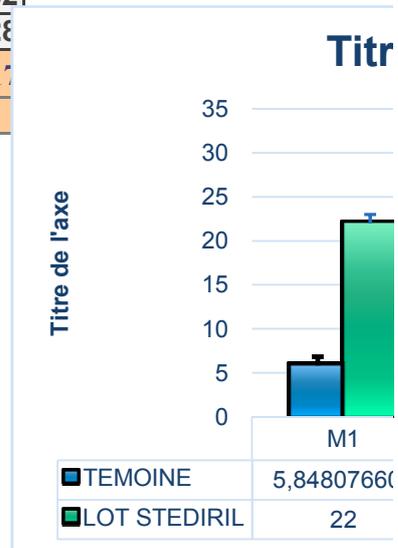
**Aspect macroscopiques des appareils reproducteurs chez les souris femelles adultes**

Figure	du lottémoin.(après fixation)
01	
<p>Aspect macro-pathologiques des appareils reproducteurs chez les souris femelles adultes du lot traitée avec <math>(1,73/1,91/2,1/2,43)10^{-3}</math> mg/g/j de la pilule STEDIRIL®.(après fixation)</p>	
01	
02	

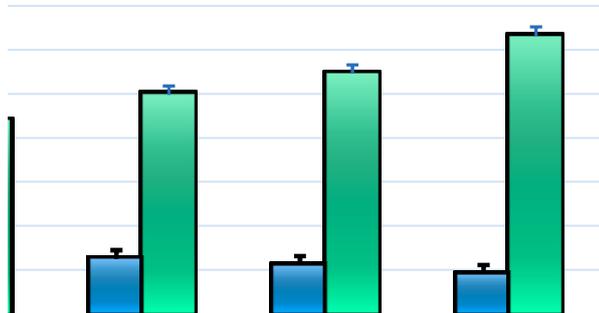
03



Colonne1	M1	M2	M3	M4
p1	20	23	24	28
p2	24	27	25	27
p3	29	21	23	25
p4	26	30	31	32
Moyenne	24,75	25,25	25,75	28
Ecartype	5,848076607	6,244997998	5,567764363	4,5607017

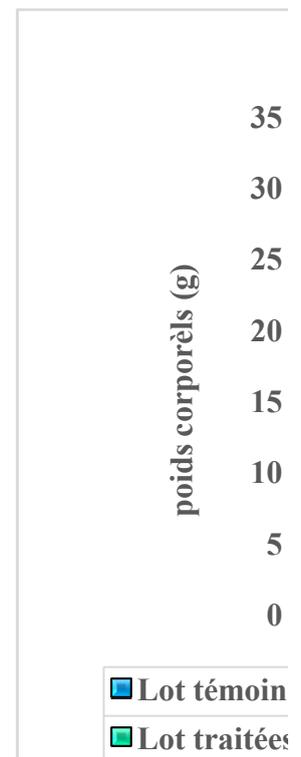


## e du graphique

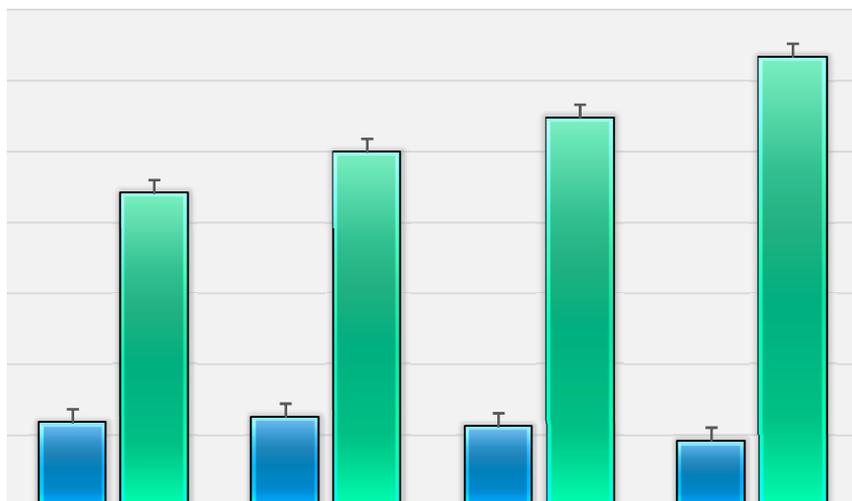


	M2	M3	M4
07	6,244997998	5,567764363	4,5607017
	24,9	27,3	31,6

	1 M	2 M	3 M	4 M
P1	26	25	28	37
P2	24	26	29	34
P3	25	25	27	30
P4	22	24	28	33
P5	20	25	27	32
P6	22	25	28	30
P7	23	26	25	29
P8	19	25	29	31
P9	20	26	28	31
P10	19	22	24	29
<b>Moyenne</b>	<b>22</b>	<b>24,9</b>	<b>27,3</b>	<b>31,6</b>
<b>Ecartype</b>	<b>1,13578167</b>	<b>1,55241747</b>	<b>2,37486842</b>	<b>2,37486842</b>



### LOT TEMOIN et LOT STEDIRIL



	1 M	2 M	3 M	4 M
	5,848076607	6,244997998	5,567764363	4,5607017
s	22	24,9	27,3	31,6

### Evolution du poids corporels

