REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHES CIENTIFQUE

Université BLIDA 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

Recherche des Effets d'Acétamipride et d'un extrait d'une Plante Médicinale sur la Structure du Testicule chez des Rats Wistar.

Présenté par :

M^elle SAHIL Ahlem

Soutenu le 08-07-2024

Devant le jury composé de :

M^me KADRI F.	*Maitre de Conférences A.*	*UB1*	*Présidente*
M^me SIFI M.	*Maitre de Conférences B.*	*UB1*	*Examinatrice*
M^me SAADI L.	*Professeur*	*UB1*	*Promotrice*
M^me MESSAOUAD NACER I.	*Doctorante*	*UB1*	*Co-promotrice*

2023-2024

REMERCIEMENTS

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers **Allah**, le plus puissant, le Miséricordieux pour m'avoir guidé et soutenu tout au long de mes études jusqu'à l'achèvement de ce document.*

*Mes remerciements les plus sincères aux honorables membres du jury, Mme la présidente **Dr. KADRI F.** et Mme l'examinatrice **Dr. Sifi.** D'avoir accepté de juger ce modeste travail.*

*Je tiens à exprimer mes profonds remerciements à Mme **Pr. Saadi**, ma promotrice et responsable d'option de Biologie Moléculaire et Cellulaire. Je la remercie d'avoir proposé ce thème de ce travail, ainsi que pour son suivi bienveillant et son vif intérêt. Je suis reconnaissante pour l'aide précieuse qu'elle m'a apportée et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer. Sa générosité et sa grande patience dont elle a fait preuve ont été très appréciées.*

*Je remercie Mme **Messaoud Nacer**, ma co-promotrice, d'avoir pris le temps et la peine de me guider tout au long de ce travail.*

Je souhaite également exprimer ma gratitude à tous mes enseignants, qui m'ont transmis les fondements de la science tout au long de mon cursus.
Je remercie également le médecin chef ainsi que tous les techniciens du service d'anatomie pathologique de PHE Docteur Faress Yahia à Koléa pour leur précieuse aident tout au long de ce travail.

*Mes sincères remerciements vont à Mr. **Megateli,** le Doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, ainsi qu'à Mme **Boudjemaa**, chef de département de biologie et à Mme **Dahnane**, responsable de la station expérimentale de la faculté SNV. Et à toute personne qui m'a aidé de près ou de loin durant tout le cursus universitaire.*

Je vous remercie toutes et tous.

DEDICACES

À mon cher papa,

Vos encouragements inébranlables, votre soutien et votre amour sans bornes ont été mon inspiration constante tout au long de ce parcours académique. Ce succès témoigne de votre influence positive dans ma vie. Merci restera toujours dans mon cœur.

À ma chère mama,

Ton dévouement, ta bienveillance et tes sacrifices ont été la force qui m'a guidé dans ma vie. Cette réussite est aussi la tienne. Merci pour ton amour infini et ton soutien.

À mon frère Younes,

Tes encouragements et ton soutien précieux ont été un soutien inestimable pour moi pendant mes études. Merci d'avoir toujours été là pour me motiver et m'inspirer.

À ma sœur Yesmina,

Ta compréhension, ton soutien affectueux et ta motivation constante ont été une source de réconfort et de force tout au long de ce parcours. Merci d'avoir été ma sœur et mon amie, et d'avoir partagé cette réussite avec moi.

À toute ma grande famille,

Je suis profondément reconnaissante pour votre soutien constant et votre amour inconditionnel.

À mes chères copines et amis,

Votre soutien inébranlable, vos encouragements sincères et votre présence joyeuse ont rendu ce parcours académique plus enrichissant et plus mémorable. Merci d'avoir été à mes côtés à chaque étape.

Ahlem

RESUME

L’objectif de cette étude est d’évaluer les effets de faible dose d'acetamipride 1/20 DL50 (9.9 mg/kg/j), sur la structure des testicules et vise à chercher l’effet de la solution aqueuse de l’extrait d’une plante médicinale *«Artemisia annua»*, sur la même structure chez des rats mâles de la souche Wistar ayant été exposés à l'acétamipride.

30 rats mâles adultes ont été repartit en 4 lots : témoins négatifs, témoins positifs, traités par l’acétamipride et d’autres traités par l’acétamipride et la plante médicinale dans une durée de 30 jours.

À la fin de l'expérimentation et après décapitation et l’application de la technique d’histopathologie, les résultats obtenus ont montré une augmentation notable de poids chez tous les groupes des rats qui est statistiquement significative seulement chez les rats traités avec l'extrait de la plante médicinale.

L’étude histopathologique du testicule a montré des anomalies au niveau de la plupart des tubes séminifères chez les rats traités par l’acetamipride telles que la dégénérescence et l'hypertrophie des cellules de leydig, ainsi qu'une vacuolisation et une rétention des spermatozoïdes dans l'épithélium séminifère. Ainsi des atrophies des cellules de Leydig. Nos résultats montrent également que *l'Artemisia annua* peut favoriser la régénération des cellules germinales et des cellules de Leydig en réduisant l’inflammation et protégeant le parenchyme contre le stress induit par l’acétamipride.

En conclusion, l'acétamipride a démontré des effets reprotoxiques sur l'histologie des testicules, tandis que la plante médicinale a montré des capacités régénératrices potentielles pour atténuer ces effets indésirables.

Mots clés : Acétamipride, *Artemisia annua*, Inflammation, Parenchyme testiculaire Histopathologie.

ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the effects of low dose of acetamipride 1/20 LD50 (9.9 mg / kg /d), on the structure of the testicles and aims to investigate the effect of the aqueous solution of the extract of a medicinal plant "*Artemisia annua*", on the same structure in male rats of the Wistar strain having been exposed to acetamipride.

30 adult male rats were divided into 4 batches: negative controls, positive controls treated with acetamiprid and others treated with acetamiprid and the medicinal plant for a period of 30 days.

At the end of the experiment and after decapitation and the application of the histopathology technique, the results obtained showed a noticeable increase in weight in all groups of rats which is statistically significant only in rats treated with the extract of the medicinal plant.

The histopathological study of the testis showed abnormalities in most of the seminiferous tubules in rats treated with acetamipride such as degeneration and hypertrophy of the leydig cells, as well as vacuolization and retention of spermatozoa in the seminiferous epithelium. Thus atrophies of Leydig cells. Our results also show that Artemisia annua can promote the regeneration of germ cells and Leydig cells by reducing inflammation and protecting the parenchyma against acetamipride-induced stress.

In conclusion, acetamiprid has demonstrated reprotoxic effects on the histology of the testicles, while the medicinal plant has shown potential regenerative abilities to mitigate theseadverse effects.

Key words: Acetamiprid, Artemisia annua, Inflammation, Testicular Parenchyma Histopathology.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم آثار جرعة منخفضة من الأسيتاميبريد 20/1 جرعة 50 (9.9 مجم / كجم /يوم) ، على بنية الخصيتين وتهدف إلى التحقيق في تأثير المحلول المائي لمستخلص النبات الطبي "شيح أنوا" ، على نفس البنية في ذكور الجرذان من سلالة ويستار التي تعرضت للأسيتاميبريد.

تم تقسيم 30 جرذا ذكرا بالغا إلى 4 مجموعات : شواهد سلبية، شواهد إيجابية ، مجموعة يتم علاجها بالأسيتاميبريد، وآخرون يتم علاجهم بالأسيتاميبريد ومستخلص النبات الطبي لمدة 30 يومًا.

في نهاية التجربة وبعد قطع الرأس وتطبيق تقنية التشريح المرضي ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها زيادة ملحوظة في الوزن في جميع مجموعات الجرذان والتي تعتبر ذات دلالة إحصائية فقط في الفئران المعالجة بمستخلص النبات الطبي.

أظهرت الدراسة النسيجية المرضية للخصية تشوهات في بعض الأنابيب المنوية في الجرذان المعالجة بالأسيتاميبريد ، ولا سيما نضوب الخلايا وتشوهات الحيوانات المنوية ضمور وتضخم خلايا ليديج. تظهر نتائجنا أيضا أن الشيح أنوا يمكن أن يعزز تجديد الخلايا الجرثومية عن طريق تقليل الالتهاب وحماية نسيج الخصية من الإجهاد الناجم عن الأسيتاميبريد.

في الختام ، أظهر الأسيتاميبريد تأثيرات سامة على أنسجة الخصيتين ، بينما أظهر النبات الطبي قدرات تجديد محتملة للتخفيف من هذه الآثار الضارة.

الكلمات المفتاحية : أسيتاميبريد ، شيح أنوا ، التهاب ، نسيج الخصية ، علم التشريح المرضي.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACE : L'acétamipride.

ANOVA : Analyse de variance.

C : Cortex.

Cg : Spermatogonie.

Cl : Cellule de Leydig.

Cs : Capillaire sanguin.

CM : Cellules myoïdes.

CS : Cellule de Sertoli.

DL50 : Dose létale 50 %.

DP : Dégénérescence/déplétion.

EC : Enveloppe conjonctive.

FL : Flagelles.

FSH : Hormone folliculo-stimulante.

GnRH : Hormone libérant des gonadotrophines.

Lb : Lame basale.

LH : Hormone lutéinisante.

LS (L) : Lumière de tube séminifère.

R : Rétentions spermatique.

Sg : Spermatogonie.

SPD : Spermatide.

SPI : Spermatocyte I.

Spz : Spermatozoïde.

Ti : Tissu interstitielle (cellule de leydig).

TS : Tube séminifère.

V : Vacuolisations.

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
Figure 1	Structure chimique de l'acétamipride	4
Figure 2	Schéma du testicule et des voies spermatiques chez l'homme	7
Figure 3	Schéma d'un modèle 3D d'anatomie d'un testicule humain	8
Figure 4	Photomicrographies présentant l'organisation générale des tubules séminifères chez l'homme.	9
Figure 5	Schéma montre les différentes étapes et composant de cycle spermato-génétique	10
Figure 6	Schéma du fonctionnement hormonal chez les hommes et les rats Wistar	11
Figure 7	*Artemisia annua*	11
Figure 8	Localisation de l'artémisinine au sein de la plante *Artemisia annua* L.	13
Figure 9	Rats males de souche Wistar (Photo originale)	15
Figure 10	Prélèvement des testicules (Photo originale)	18
Figure 11	Appareil de circulation (Photo originale)	19
Figure 12	Enrobage des testicules (Photo originale)	19
Figure 13	Appareil de coloration (Photon originale)	20
Figure 14	Observation microscopique à l'aide d'un microscope à caméra. (Photon originale)	21
Figure 15	Evolution du poids corporels des rats	22
Figure 16	Structure du parenchyme testiculaire des rats témoins	24
Figure 17	Structure du parenchyme testiculaire des rats traités par l'acétamipride	25
Figure 18	Structure du parenchyme testiculaire des rats traités par l'acétamipride et l'extrait de la plante *Artimisia annua.*	26

LISTE DES TABLEAUX

N°	TITRE	Page
I	Caractéristiques physico-chimiques de l'acétamipride	4
II	Effet de l'acétamipride sur la reproduction (tableau de synthèse)	5
III	Doses d'acétamipride administrées aux rats en fonction de leurs poids	16
IV	Dilutions de l'extrait mère de la plante dans l'eau distillée pour gavage	17
V	Evolution du poids corporels des rats	22
VI	Analyse de variance entre le lot des témoins négatifs et le lot traité par l'acétamipride	49
VII	Analyse de variance entre le lot des témoins négatifs et le lot des témoins positifs (plantes)	50
VIII	Analyse de variance entre le lot des témoins négatifs et le lot traité par l'acétamipride et la plante médicinale	51

SOMMAIRE

Résumé

Introduction

Chapitre I. Rappels bibliographiques

I.1Généralités sur l'acétamipride…….....3

I.1.1 Définition et domaines d'utilisation…….....3

I.1.2 Caractéristiques physico-chimique de l'acétamipride……..….3

I.1.3 Toxicité de l'acétamipride…….....4

I.1.4 Mode d'action de l'acétamipride……..6

I.2. Généralités sur le système reproducteur masculin……....6

I.2.1 Système reproducteur masculin……....6

I.2 Anatomie et structure du testicule……...7

I.2.3 Spermatogenèse……9

I.3.Généralistés sur l'*Artemisia annua L*……11

I.3.1 Classification botanique……..….12

I.3.2 Origine et aire de distribution…… ….12

I.3.3 Description botanique……...12

I.3.4 Constituants biochimiques……....13

I.3.5 Vertus traditionnelles……....14

I.3.6 Toxicité……14

Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....…….…15

II.1.1. Matériel biologique .....……...15

II.1.2. Appareillage et réactifs……15

II.2. Méthodes .....……...16

II.2.1. Elevage .....……...16

II.2.2. Préparation des produits chimiques .....……...……16

II.2.3. Expérimentation animale.....……...17

II.2.4. Sacrifice et prélèvement des testicules…….....18

II.2.5. Technique histologique…….....18

II.2.6. Analyse statistique…….…...21

Chapitre III. Résultats et Discussion

III.1. Résultats……22

III.1.1. Effet du traitement sur l'évolution du poids corporel des rats……....22

III.1.2. Analyse des résultats histologiques

Conclusion et Perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

INTRODUCTION

La toxicité aux insecticides synthétiques y compris l'acétamipride (ACE) constitue actuellement un véritable challenge et un problème majeur de santé publique. L'ACE, un membre de la famille des néonicotinoïdes, est fortement utilisé à travers le monde dans le secteur agricole pour le contrôle des ravageurs, dans le traitement des semences (Tjeerd 2012) et pour protéger les plantes de diverses maladies (Nicolopoulou et *al*., 2016). En Algérie, notamment à Blida, l'acétamipride est en tête de la liste des ventes au marché à cause de son meilleur rapport cout/efficacité.

Chez les insectes, l'ACE bloque leurs récepteurs nicotiniques, ce qui les paralyse et les éliminent (Delauney et *al*, 2010). Chez l'Homme, l'exposition au ACE peut provoquer des céphalées, des vertiges, des nausées, des problèmes de vision et des problèmes respiratoires (Guedegba et *al.*, 2019).

Plusieurs recherches portées sur les effets néfastes de l'exposition aigue et chronique de l'acétamipride sur la santé humaine et animale avaient montré la toxicité de l'ACE sur divers organes à l'échelle cellulaire et moléculaire (Chen et *al*., 2007 ; Zhang et *al*., 2011 Zoumenou et *al*., 2015 ; Kenfack et *al*., 2018). L'Agence canadienne pour la régulation de la lutte antiparasitaire (ARLA) avait considéré que l'acétamipride est un perturbateur endocrinien potentiel et suspect des effets sur la reproduction chez les animaux. Ainsi, l'étude de Zhang et *al*. (2011) sur la reprotoxicité de l'ACE avait révélé une atteinte à la fonction endocrine et des dommages au niveau des différentes parties du système reproducteur chez les rats de laboratoire. Devant ce problème de santé et avec le progrès de la médecine alternative plusieurs recherches étaient menées afin de trouver de nouvelles stratégies pour lutter contre la toxicité des pesticides. La phytothérapie, une alternative efficace a contribué depuis des siècles dans la recherche des molécules antitoxiques qui aident l'organisme à se protéger en éliminant les effets toxiques générés par les agents toxiques introduits via une ou différentes voies de contamination. Cette alternative basée sur les vertus des plantes médicinales et aromatiques a montré ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, analgésique à travers plusieurs recherches expérimentales.

Il est connu que l'utilisation des plantes médicinales dans le domaine de toxicologie est cruciale et donne des alternatives naturelles aux traitements médicaux traditionnels contribuant ainsi à la diversité des options de soins de santé disponibles (Bandiola, 2018).

Parmi les plantes médicinales, l'*Artemisia annua* est une espèce de plantes dicotylédones de la famille des *Asteraceae* qui possèdent une grande importance en médecine traditionnelle grâce à leur confinement de métabolites bioactifs secondaires (terpènes et huiles essentielles, polyphénol) ce qui en fait un sujet important de la recherche scientifique. Cette plante contient de l'artémisinine, un composé utilisé dans le traitement du paludisme (Sadiq, et *al.*, 2014) des infections parasitaires, des troubles digestifs et les maladies inflammatoires grâce à ses propriétés anti-inflammatoires (Owuna, et *al.*, 2013).

Dans ce contexte, le présent travail a pour but de chercher d'une part la reprotoxicité d'une faible dose d'ACE chez des rats males de souche wistar et plus particulièrement au niveau de la structure du parenchyme testiculaire, organes reproducteurs mâles qui jouent un rôle essentiel dans la production des spermatozoïdes et la sécrétion de la testostérone et d'autre part l'effet d'un extrait de l'*Artemisia annua* chez les rats intoxiqués.

Notre travail comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur l'insecticide acétamipride, sa toxicité et des informations sur l'*Artemisia annua*. Ensuite, nous verrons dans le chapitre suivant les matériaux et les méthodes appliqués dans cette étude. Et dans le troisième chapitre, nous exposerons les résultats obtenus, accompagnées avec leur discussion. En fin de compte nous terminerons notre travaille par une conclusion générale et perspectives.

Rappels bibliographiques

I.1. GENERALITES SUR L'ACETAMIPRIDE

Plusieurs travaux de fin d'études avaient rapporté toutes les informations sur l'acétamipride, telle que (Abdelaziz et Bencherchali, 2016 ; Houadeg, 2021 ; Bachirbey et *al.* 2023). Pour éviter les répétitions, nos généralités sur cet insecticide seront synthétisées.

I.1.1. Définition et domaines d'utilisation

L'acétamipride (ACE) est un insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes (Mikiko, 2012). Il est l'un des matières actives les plus utilisées pour la protection phytosanitaire selon les statistiques obtenues du Ministère de l'Agriculture et de l'Elevage (Delauney et *al*., 2010).

L'acétamipride est largement utilisé dans le monde entier pour lutter contre les insectes suceurs, tels que les thrips, les mouches blanches, les cicadelles, les cochenilles et les pucerons. Il est appliqué sur diverses cultures maraîchères telles que les tomates, les aubergines, les courges, les melons, les poivrons, etc… (Betticheet *al*., 2023).

ACE présente plusieurs caractéristiques (Mondal et *al*., 2009) qui lui confèrent l'avantage d'être le plus utilisé au monde notamment :

- Sa très haute toxicité pour les insectes.
- Son efficacité, (quelques grammes du produit suffisent à traiter un hectare de culture).
- Sa propriété systémique qui lui rend présent dans tous les compartiments de la plante traitée (protection globale).
- Sa propriété très hydrophile qui lui permet de diffuser facilement dans toute la plante et les eaux.
- Sa longue persistance dans les divers compartiments de l'environnement.

I.1.2. Caractéristiques Physico-chimique de l'acétamipride

L'acétamipride est un composé organochloré de formule brute $C_{10}H_{11}ClN_4$ (Figure 1). Ses caractères physico-chimiques sont représentés dans le tableau I.

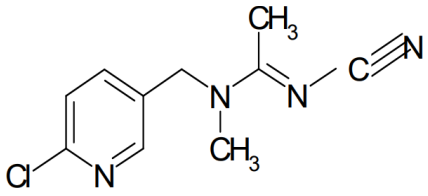


Figure 1: Structure chimique de l'acétamipride (Berny's et *al.*, 2015)

Tableau I : Caractéristiques physico-chimiques de l'acétamipride.

Paramètres	Propriétés
Nom commun	Acétamipride
Formule moléculaire	C10H11ClN4
Masse molaire moléculaire (g/mol)	222,68
Point d'ébullition (°C)	98,9 °C
Pression de vapeur (mm Hg)	1 x 10 -8
PKa	5,3x10-8
Constante de dissociation	0,7 at 25 °C

US-EPA, 2012

I.1.3. Toxicité de l'acétamipride

L'utilisation massive de l'acétamipride à travers le monde pourrait entraîner des problèmes de sécurité environnementale, alimentaire et sanitaire pour l'homme et les abeilles domestiques, ainsi que pour les apidés sauvages et de nombreux autres groupes (invertébrés terrestres et aquatiques, poissons, reptiles et amphibiens, oiseaux insectivores, rongeurs chiroptères) (Berny's et *al*., 2015 ; Bettiche et *al.*, 2023).

Des recherches antérieures ont montré que l'acétamipride était très toxique pour les rats et les souris intoxiqués oralement (Saadi et *al*., 2019), faiblement toxique pour une exposition cutanée et légèrement toxique pour une exposition par inhalation (Iwasa 2004 Blacquière et *al*., 2012). En outre, des études sur les animaux ont montré des signes cliniques de neurotoxicité (Guedegba et *al*., 2019).

Selon des études menées par Mondal et *al*. (2009), l'acétamipride a des effets néfastes sur la plupart des fonctions et des structures des organes, tels que la rate, le cœur, le foie, les poumons et les ovaires. Il entraîne une légère diminution de la taille de la rate, des hémorragies dans la rate et le cœur, ainsi qu'une légère nécrose du myocarde et du parenchyme médullaire des ovaires.

Chez les mammifères, l'acétamipride a un impact significatif sur les propriétés des spermatozoïdes, tels que la diminution du nombre de spermatides testiculaires, l'épidémie, la mobilité et la viabilité des spermatozoïdes, ainsi que l'augmentation du taux de spermatozoïdes anormaux. La non-disponibilité des androgènes et la diminution de la production de FSH et de LH hypophysaires peuvent expliquer ces modifications. Les conséquences néfastes de l'acétamipride sur la qualité des spermatozoïdes sont liées à une baisse du taux de testostérone dans le sang (Zhang et *al*., 2011 ; Kenfack et *al*., 2018 Mosbah et *al*., 2018 ; Bettiche et *al*., 2023).

Tableau II : **Effet de l'acétamipride sur la reproduction** (tableau de synthèse).

Recherches	**Animal**	**Dose / Durée**	**Effet D'acétamipride**
• **Kenfack et al. en 2018.**	• Etude sure des Cochons d'Inde mâle.	(26,67, 40 et 80 mg / kg de poids corporel) d'acétamipride pendant 90 jours. Par gavage orale.	• Réduction de poids des testicules de l'épididyme, du canal déférent et des glandes annexes.
• **Zhang et al en 2011.**	• Etude sur des Souris mâles MNRI	30 mg/kg pendant 35 jours. Par gavage orale.	• Une diminution de La concentration de testostérone dans le sang. • Le nombre de spermatozoïdes, la mobilité et l'intégrité de la membrane diminuent, tout en augmentant le taux de déformation acrosomique.
• **Mosbah et al en 2018.**	Etude sur des rats mâles adultes de la souche Wistar.	27 mg / kg pendant 45 jours. Par gavage orale.	

I.1.4. Mode D'action de l'acétamipride

Les néonicotinoïdes se lient aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (NAChR) et imitent l'action de l'acétylcholine par l'ouverture des canaux ioniques qui permettent l'entrée de Na+ et Ca2+ dans les cellules (EFSA, 2014). Chez les insectes, ces récepteurs se retrouvent sur les neurones du système nerveux central alors que chez les mammifères, ils sont présents dans le système nerveux périphérique et dans la jonction neuromusculaire. L'activation de NAChR se traduit souvent par une augmentation de Ca2+ libre intracellulaire tandis que leur suractivation génère un blocage engendrant une paralysie mortelle. La paralysie et la mort des insectes viennent suite à l'accumulation de l'acétylcholine au niveau du système nerveux central de l'insecte (Jianguo et *al*., 2007).

I.2. GENERALITES SUR LE SYSTEME REPRODUCTEUR MASCULIN

I.2.1. Système reproducteur masculin

Il comprend :

- **Deux testicules** qui assurent la production de spermatozoïdes (fonction exocrine) et la production des hormones sexuelles (fonction endocrinienne) (Setchell et Breed, 2006).
- **Tractus génital** formé d'une part des voies spermatiques Intra-testiculaires représentées par les tubes droits courts segments de 25 µm de diamètre faisant suite aux tubes séminifères. Leur paroi est constituée d'une seule assise de cellules cubiques (cellules de Sertoli transformée). Les tubes droits assurent la jonction entre les tubes séminifères et le Rete Testis (Bûlent, 2005) et le Rete Testis qui un réseau de canalicules anastomosés cheminant à l'intérieur du corps de Highmore (Griswold et Mclean, 2006). Le Rete testis s'étend jusqu'au pôle apical de l'organe par les canaux efférents qui quittent le testicule pour pénétrer dans l'épididyme (Creasy, 2002) et d'autre part, des voies spermatiques extra-testiculaires :
  - Cônes efférents : Ils sortent du testicule en traversant l'albuginée. Chaque canal est enroulé en spirale de plus en plus large (Yalcin, 2005 ; Hess, 2002).
  - Canal épididymaire : Un tube très long de 3 à 6 cm situé en arrière du testicule provenant de la confluence des cônes efférents (Hermo et Robaire, 2002). Il est composé de trois segments, pôle supérieur, corps et queue (Robaireet *al*. 2006). L'épididyme possède deux fonctions principales, le transport des spermatozoïdes et la maturation des spermatozoïdes (Nagano et *al*., 2002).

- Canal déférent : Il fait suite au conduit épididymaire, au niveau de la queue de l'épididyme, et se termine dans la prostate, en s'anastomosant avec le conduit de la glande séminale pour former le canal éjaculateur (Nagano et *al.*, 2002) (Figure 2).

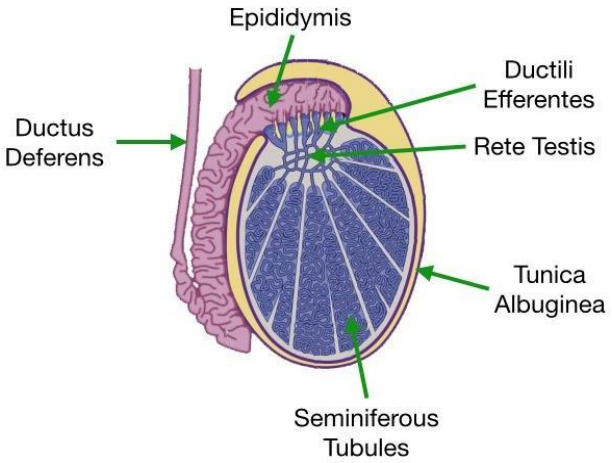


Figure 2: Schéma du testicule et des voies spermatiques chez l'homme (Peter, 2022).

- **Glandes accessoires** Elles comprennent les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales. Ces glandes exocrines sécrètent le liquide de transport et de nutrition des spermatozoïdes constituant avec ces derniers le sperme (Yalcin 2005).
- **Tractus urogénital :** Il est représenté par l'urètre, organe commun avec l'appareil urinaire, s'ouvrant à l'extérieure par le méat urinaires (Suwaet *al.*, 2001).

I.2.2. Anatomie et structure du testicule

Le testicule, glandes endocrines, a la forme d'un ovoïde aplati transversalement, avec un grand axe oblique en bas et en arrière (Dadoune et Demoulin, 2001). Chez l'homme, il mesure environ 4 cm de long, 2,5 cm d'épaisseur et 3 cm de diamètre antéropostérieur, pèse de 14 à 20g et ses dimensions évoluent avec l'âge (Yalcin, 2005) (Figure 3).

Le testicule est entouré par une membrane fibreuse et résistante, l'albuginée testiculaire. Elle augmente d'épaisseur au niveau du pôle supérieur, formant le médiastinum testis (corps d'Highmore). Le médiastinum testis partent des cloisons qui divisent le testicule en lobules. Il existe 250 à 300 lobules. Chaque lobule draine les canalicules séminifères (Dadoune et Demoulin, 2001).

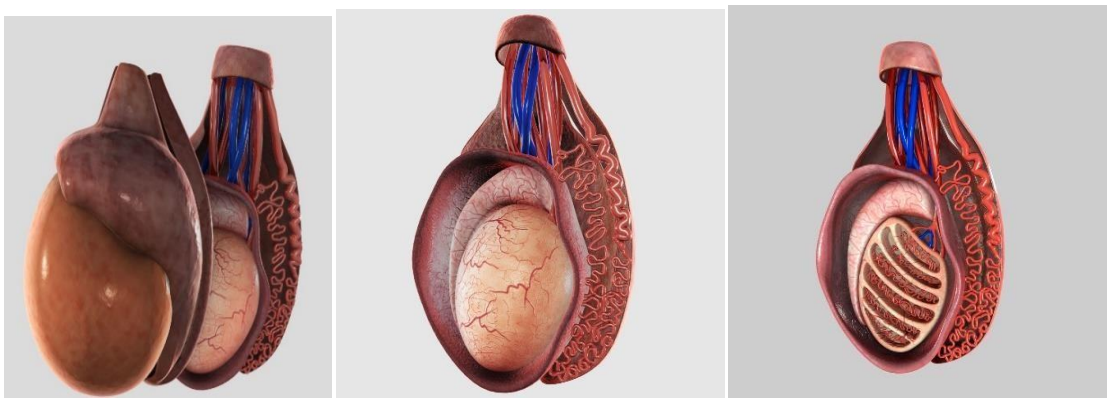


Figure 3 : Schéma d'un modèle 3D d'anatomie d'un testicule humain (Turbosquid, 2015).

L'albuginée, qui s'invagine et délimite des lobules testiculaires. Chaque lobule contient des tubes séminifères, lieu de la spermatogénèse. Chez l'homme, chaque lobule renferme 2 à 3 tubes séminifères (1000 tubes/testicule). Chaque lobule contient des tubes séminifères qui mesurent entre 30 cm et 1,5 m de long pour un diamètre de 250 à 400 µm. Les tubes séminifères dans un tube droit qui se jette dans le réseau du Rete Testis, assurant ainsi la continuité du processus de formation des spermatozoïdes dans les testicules (Dreef et *al.*, 2007). Ils sont centré par une lumière continue de diamètre variable ou cheminent les spermatozoïdes libérés (Dadouneet *al*., 2000). La paroi de chaque tube est constituée d'un épithélium qui apparaît stratifié fait de plusieurs couches de cellules qui comprend les cellules de la lignée germinale et les cellules somatiques : cellules de Sertoli ou cellules de soutien (Dreef, et *al.*, 2007). L'espace situé entre les tubes séminifères est occupé par des vaisseaux sanguins et des canaux lymphatiques ou sinusoïdes, des macrophages et des amas de cellules de Leydig produisant les androgènes (Suigizaki et *al*., 2005) (Figure 4).

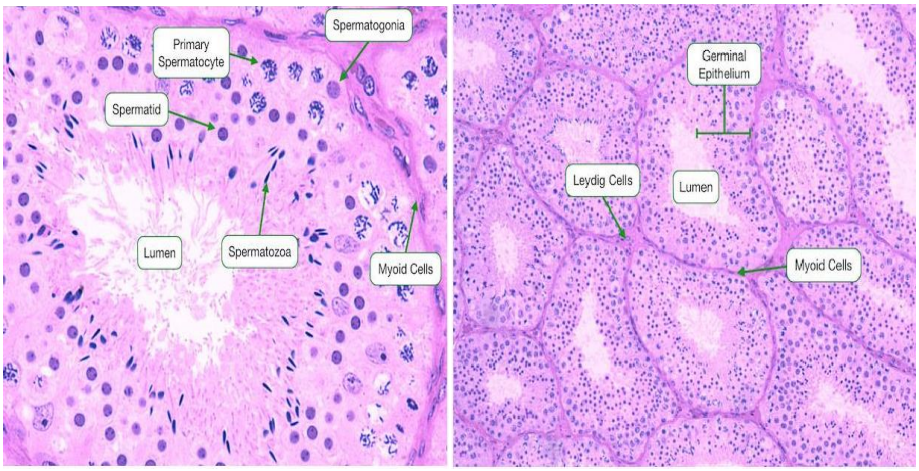


Figure 4: Photomicrographies présentant l'organisation générale des tubules séminifères chez l'homme. Vue en microscopie optique, coloration à l'hématoxyline-éosine ; Grossissement x10 et x40 (Peter, 2022).

I.2.3. Spermatogenèse

La spermatogenèse (Figure 5) est le processus de production des spermatozoïdes chez les hommes et les mammifères. Tout commence dans les testicules, plus précisément dans les tubes séminifères. Les cellules germinales primordiales se divisent et se transforment en spermatogonies. Ces spermatogonies subissent ensuite une série de divisions cellulaires pour former des spermatocytes primaires (Dreef et *al.*, 2007). Les spermatocytes primaires subissent une première division de méiose pour devenir des spermatocytes secondaires. Ces derniers subissent une deuxième division de méiose pour se transformer en spermatides. Les spermatides subissent ensuite une maturation supplémentaire et se transforment finalement en spermatozoïdes. Ces spermatozoïdes sont libérés dans l'épididyme, où ils acquièrent leur mobilité (Ndiaye, 2003).

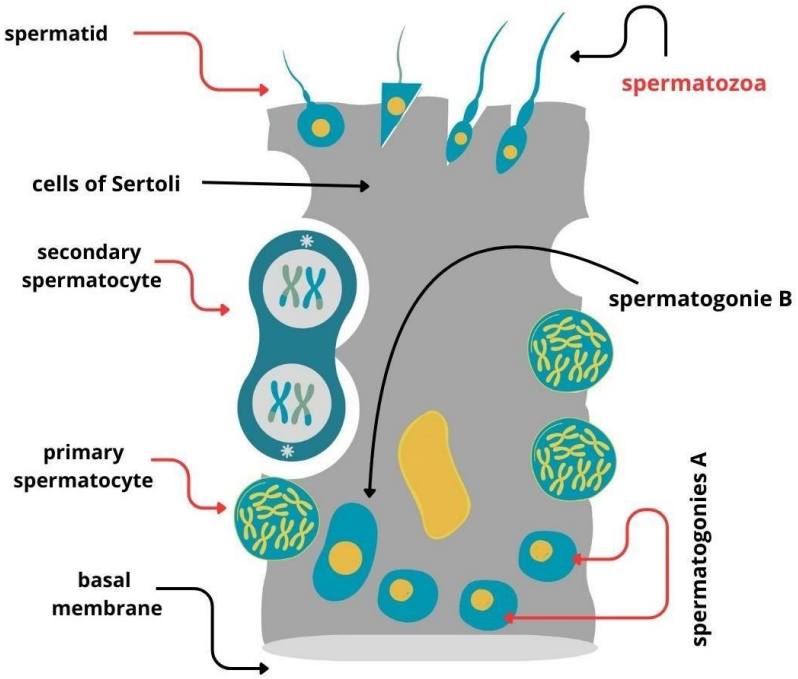


Figure 5 : Schéma montre les différentes étapes et composant de cycle spermato-génétique. (Schéma de synthèse réalisé par Sahil).

Les cellules de Sertoli jouent un rôle important dans le déroulement de la spermatogenèse (Boussouar et Benahmed, 2004 ; Ando, et *al.*, 2001) :

- Rôle mécanique de soutien et de protection des cellules germinale.
- Rôle de nutrition des cellules germinale.
- Rôle de la mise en liberté des spermatozoïdes matures dans la lumière des tubes

Séminifères.

- Rôle endocrinien : point d'impact des hormones gonadotropes.
- Sources hormonales, cellules cibles des endogènes.

Les cellules de Leydig sont des cellules polyédriques regroupées en petits amas dans le tissu conjonctif lâche entourant les tubules séminifères à l'intérieur des lobules, elles sont liées à de nombreux capillaires sanguins dans lesquels elles versent leur produit. Les cellules de Leydig synthétisent et libèrent des androgènes à partir de la vie embryonnaire, elles utilisent principalement le cholestérol fourni sous forme de lipoprotéines (Park et *al*., 2019).

I.2.4. Régulation hormonale de la fonction sexuelle

La régulation hormonale de la fonction sexuelle chez l'homme et les rats mâles de souche Wistar présente des similitudes intéressantes. Dans les deux cas, l'hypothalamus produit de la GnRH (hormone libérant des gonadotrophines), stimule l'hypophyse à libérer de la LH (hormone lutéinisante) et de la FSH (hormone folliculo-stimulante) .La LH stimule les cellules de Leydig dans les testicules, produisant de la testostérone, tandis que la FSH stimule les cellules de Sertoli, qui soutiennent la production de spermatozoïdes. Ces interactions hormonales complexes sont essentielles au maintien de la fonction sexuelle et de la fertilité chez les deux espèces (Burger et *al*., 2002 ; Cheung et Wong, 2008).

La testostérone a un effet sur le développement des caractères sexuels secondaires chez le male. Chez l'homme, elle influence la croissance des poils du visage et du corps l'approfondissement de la voix, l'augmentation de la masse musculaire et de la force, ainsi que le développement des organes reproducteurs (Hillet *al*., 2004 ; Mario er Robert, 2017).

La testostérone exerce un contrôle de rétroaction négatif (Figure 6) sur le système hypothalamo-hypophysaire en régulant la production et la libération de certaines hormones. Lorsque les niveaux de testostérone sont élevés, ils inhibent la production d'hormone lutéinisante (LH) et d'hormone folliculo-stimulante (FSH) dans l'hypophyse. Cela aide à maintenir un équilibre hormonal dans le corps (Adachi et *al*., 2007 ; Garcia et *al*., 2011).

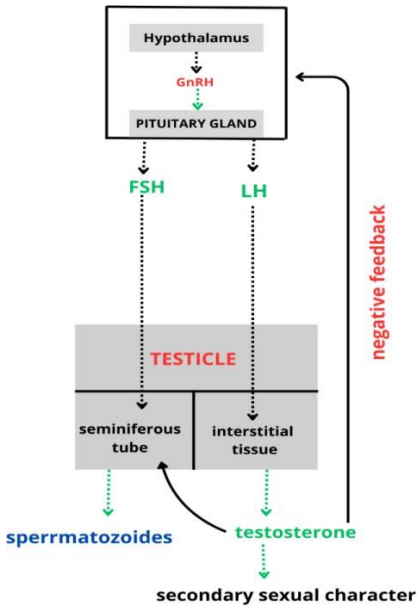


Figure 6 : Schéma du fonctionnement hormonal chez les hommes et les rats Wistar (Agath, 2009 ; modifié).

I.3. GENERALITES SUR L'*Artemisia annua L.*

L'*Artemisia annua L.* est une plante de la famille des *Asteraceae***.** Elle possède de nombreux noms communs**,** dont sweet wormwood, annual wormwood, sweet Annie, sweet sagewort annual mugwort en anglais ; armoise annuelle, absinthe chinoise en français et mohlaswapatla en Afrique du Sud. Elle porte le nom de Qing Hao dans la pharmacopée chinoise (Sanner 2008).

Figure 7 : *Artemisia annua*

Son nom " Armoise " provient du latin " Artemisia ", donné en hommage à la déesse Artémis, symbole de la nature sauvage, de la chasse et de la lune, et qui avait aussi pour réputation de protéger les femmes et de faciliter les accouchements dans la mythologie grecque (Staub et Bayer, 2013).

I.3.1. Classification botanique (World Flora, 2003)

Règne : Plantae
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Asterales
Famille : Asteraceae
Genre : Artemisia L.
Espèce : *Artemisia annua* L.

I.3.2. Origine et aire de distribution

L'*Artemisia annua* est une plante originaire des hauts plateaux de Chine**,** où elle pousse dans une végétation de steppes (40° latitude Nord – 1 000 à 1 500 m d'altitude). Elle s'est largement propagée dans le monde : Nord de la Chine, Europe, Nord de l'Afrique, Nord de l'Inde, Nord du Vietnam, USA, Argentine, … (Sanner, 2008).

I.3. 3. Description botanique

L'*Artemisia annua* est caractérisée par sa grande diversité morphologique (Maison de l'Artemisia, 2020).

- Plante herbacée annuelle**,** potentiellement bisannuelle, formant des buissons dont la hauteur peut dépasser 3 mètres.
- Système racinaire constitué d'une courte racine pivotante et de nombreuses racines secondaires.
- Généralement composée d'une seule tige principale – parfois plusieurs – fibreuse dressée, très dure, avec des ramifications alternées qui peuvent atteindre un niveau supérieur à n+4 (ramifications quaternaires).
- Tiges souvent nervurées et glabres (sans poil) – rarement lisses et poilues – dont la couleur peut être plus rouge, jaune, marron ou vert.

- Les feuilles dégagent une forte odeur aromatique caractéristique (fraîche et amère) due à la présence de trichomes glandulaires qui sécrètent une huile volatile.
- Feuilles alternes, vertes, le plus souvent glabres (sans poil).
- Fleurs jaunes, très petites et agencées en capitules de 2 à 3 mm de diamètre réunis dans les inflorescences.
- Les fruits sont gris clair, ovoïdes et lisses de 0,5 cm de long.

I.3.4. Constituants biochimiques

Cette plante est connue par sa composition biochimique variée :

- Artémisinine est le principe actif synthétisé au sein de groupes de cellules spécialisées, les trichomes glandulaires, situés principalement sur les feuilles d'*Artemisia annua* (Covello et *al*., 2007 ; Segura, 2010) (Figure 8).

- Cétones (majoritaires) : artemisiacétone (20-45%), camphre (6-10%)
- Monoterpènes : alpha-pinène (8%)
- Oxydes : 1,8 cinéole (10%)
- Lactones sesquiterpéniques
- Alcools terpéniques : isoartemisia alcool (4-5%)
- Esters

Figure 8 : Localisation de l'artémisinine au sein de la plante *Artemisia annua* L. (Segura, 2010)

I.3.5. Vertus traditionnelles

L'*Artemisia annua* est utilisée par les Chinois depuis des millénaires pour ses vertus thérapeutiques. Traditionnellement, ce sont les feuilles, voire les parties aériennes qui sont utilisées qui servaient principalement à

- soigner les hémorroïdes et à faire baisser la fièvre,
- soigner les troubles du cycle féminin,
- éliminer le parasite responsable du paludisme (Segura, 2010),
- une action anti-cancer, antibactérienne, antifongique, antivirales, cicatrisante et Fébrifuge (Staub et Bayer, 2013).

I.3.6. Toxicité

L'artémisinine administrée seule, montre plus de toxicité que la plante consommée dans sa version *totum* moléculaire, c'est-à-dire dans son intégralité et intégrité moléculaire. L'Académie Nationale de Médecine met en garde sur la consommation à grande échelle de tisanes d'*Artemisia annua*, serait susceptible d'entraîner l'apparition de résistances aux antipaludiques à base d'artémisinine (Dondorp et *al*., 2009)**.**

L'huile essentielle d'*Artemisia annua* est connu pour son effet neurotoxique (Covello et *al*., 2007).

MATERIEL ET METHODES

La présente étude est réalisée au sein de la station expérimentale de la Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Saad Dahlab, Blida 1 dans le but de chercher en premier lieu l'effet d'une faible dose d'acétamipride sur la structure des testicules chez les rats mâles de souche Wistar et d'examiner l'effet d'un extrait d'une plante médicinale *Artemisia annua* sur la même structure après intoxication par l'insecticide.

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. **A**nimaux

L'étude est faite sur 30 rats mâles adultes de la souche Wistar provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie, ayant un poids corporel compris entre 155-271g.

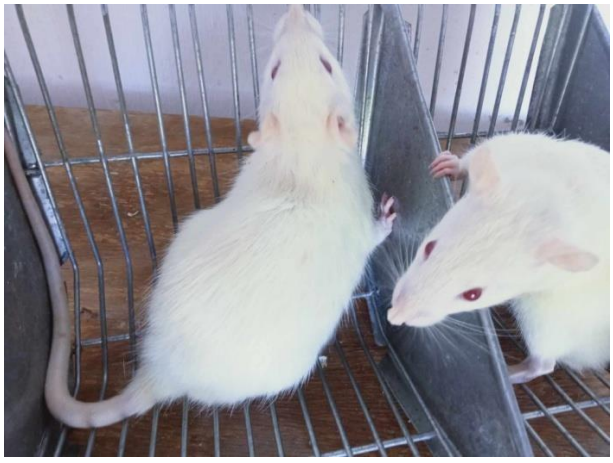


Figure 9 : Rats males de souche Wistar. (Photo originale)

II.1.1.2. Plante médicinale

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est une poudre préparée à partir des feuilles et des tiges de la plante *Artemisia annua* cultivée en Algérie.

II.1.2. Appareillage et réactifs

Le matériel est constitué de produits chimiques, de réactifs et d'appareillage. L'ensemble de ces éléments est présenté dans la partie Annexe.

II.2. METHODES

II.2.1. Elevage

Une période d'adaptation de deux semaines a été imposée aux rats mâles, aux conditions de l'animalerie. Les animaux ont été placés dans des cages en polyéthylène et nourris avec un régime alimentaire (50g) chaque jours, l'eau et la litière sont renouvelées chaque deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

II.2.2. Préparation des produits chimiques

II.2.2.1. Solution d'acétamipride

C'est un insecticide commercialisé par MOPISTOP et présenté dans un sachet d'aluminium contenant 50g de poudre à 20% de pureté.

Afin de préparer notre solution de gavage comme suit :

Nous avons choisie avec nos encadreurs la dose 1/20 DL50 soit 9,9 mg/kg/j) d'ACE. Cette dose appartient aux différentes doses utilisées dans notre laboratoire afin d'étudier son effet toxique.

Les rats Wistar ont reçu cette solution en fonction de leurs poids corporel, comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau III : Doses d'acétamipride administrées aux rats en fonction de leurs poids.

Poids corporel des rats	**Dose d'ACE**
Poids corporel est inférieur à 180g	0,2 ml de l'ACE (solution mère) avec 4,8 ml d'eau distillée.
Poids corporel supérieur à 180g	0,3 ml de l'ACE (solution mère) avec 4,7 ml d'eau distillée.

II.2.2.2. Extrait de la plante

La préparation de l'extrait de la plante se passe en plusieurs étapes après avoir séchage et broyage de la plante.

- Macération de la plante afin d'extraire les composés actifs des feuilles et des tiges. Nous avons plongé 100 g de la plante dans 400 ml de l'éthanol 96° puis macéré pendant 24h dans une température ambiante ensuite la filtré.
- Vaporisation afin d'obtenir un extrait avec un rendement de 15g. Nous avons employé un évaporateur rotatif régulé à une température de 45°C pendant 20 minutes pour vaporiser notre produit de macération.
- Dilution de l'extrait de la plante afin d'obtenir une solution mère de gavage. Nous avons diluée les 15g de l'extrait dans une solution de 75ml de l'éthanol 96° avec 25ml eau distillé (Tableau IV).

Tableau IV : Dilutions de l'extrait mère de la plante dans l'eau distillée pour le gavage.

Dose de l'extrait de la plante médicinale (ml)	Eau distillé (ml)
0,7	4,3
0,8	4,2
0,9	4,1
1	5

II.2.3. Expérimentation animale

Les rats ont été répartis comme suit :

- ✓ Lot n°01 : 05 rats témoins négatifs ont reçu 5 ml d'eau distillée deux fois par jour par gavage oral (deux heures entre le premier et le deuxième gavage) pendant 30 jours.
- ✓ Lot n°02 : Contient 10 rats traités qui ont reçu 1/20 DL50 d'acétamipride diluée dans l'eau distillée par gavage oral. Deux heures après le gavage initial, ils ont reçu 5 ml d'eau distillée.
- ✓ Lot n°03 : contient 10 rats traités ont reçu par gavage oral 1/20 DL50 d'acétamipride diluée dans de l'eau distillée et deux heures après de l'extrait de plante.
- ✓ Lot n°04 : 05 rats témoins positifs, recevaient par gavage oral 5 ml d'eau distillée et après deux heures de l'extrait de la plante.

L'expérimentation a duré 30 jours. Durant cette période, les rats ont été pesés quotidiennement à 9h du mâtin pour surveiller l'évolution de leurs poids corporels.

II.2.4. Sacrifice et prélèvement des testicules

A la fin de l'expérimentation, nous avons sacrifié les rats après décapitation rapide et les testicules ont été prélevés, pesés puis placés dans des cassettes (Figure 10). Ces dernières ont été placées dans une solution de formol à 10% (100 ml de formol 37% dilué dans 900ml d'eau distillée) pendant 24h. L'objectif de la fixation au formol est de maintenir les organes dans un état similaire à l'état normal.

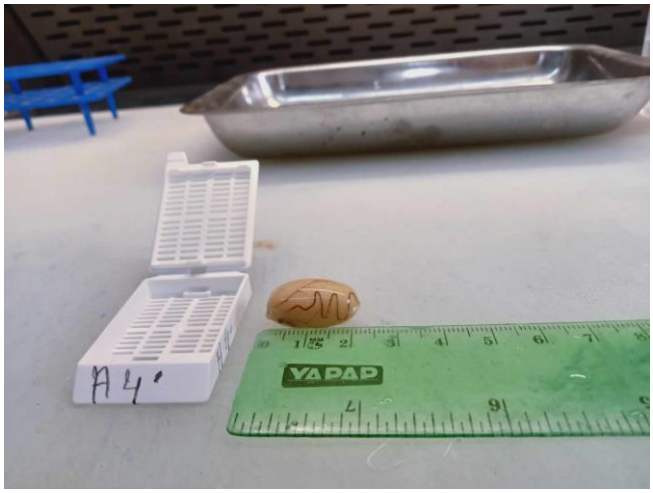


Figure 10 : Prélèvement des testicules (Photo originale).

II.2.5. Technique histologique

Nous avons effectué la technique histologique au sein du laboratoire d'anatomie pathologique du PHE de Docteur Fares Yahia à Kolea Tipaza.

II.2.5.1. Circulation

Le tissu devient rigide grâce à la circulation, ce qui lui permet de rester intact lors des manipulations et pouvoir être coupé en petites tranches avant d'être coloré et examiné au microscope optique. Les testicules ont été maintenus dans le fixateur jusqu'à ce que le cycle de circulation commence (Lester, 2010). Le programme de circulation englobe les étapes suivantes : la post-fixation, la déshydratation, la clarification et l'imprégnation (Figure 11).

- ✓ Post-fixation : Il permet de compléter la fixation. L'agent le plus couramment employé est le formol tamponné à 10 % et en général, un seul bain est suffisant.
- ✓ Déshydratation : Elle permet d'extraire toute l'eau du tissu. L'alcool éthylique est l'agent déshydratant le plus utilisé. Il est miscible dans l'eau et dans l'agent clarifiant.

Lors de cette étape, il est recommandé de passer le tissu par au moins trois bains d'alcool de concentration croissante : 70°, 95° et 100°. Le trempage dans le bain d'alcool à 100° à la fin du processus garantit une déshydratation pendant 4 heures 20°C permettant à l'alcool de bien pénétrer dans le tissu.

- ✓ Clarification (éclaircissement) : Elle permet d'augmenter la transparence du tissu. Le xylène a été employé suite à son excellent pouvoir clarifiant.
- ✓ Imprégnation : deux bains de paraffine ont assuré une bonne imprégnation. Cette étape permet de remplir efficacement toutes les cavités tissulaires, de donner une consistance homogène et de fournir un soutien interne au tissu (Lester, 2010).

Figure 11 : Appareil de circulation (Photo originale).

II.2.5.2. Enrobage/inclusion

Les testicules ont été inclus dans la paraffine fondue à 62°C avec un appareil d'inclusion et des moules. Après refroidissement, nous avons obtenu des blocs de paraffine durs qui ont été ensuite conservés au congélateur à -4 °C jusqu'à la réalisation des coupes.

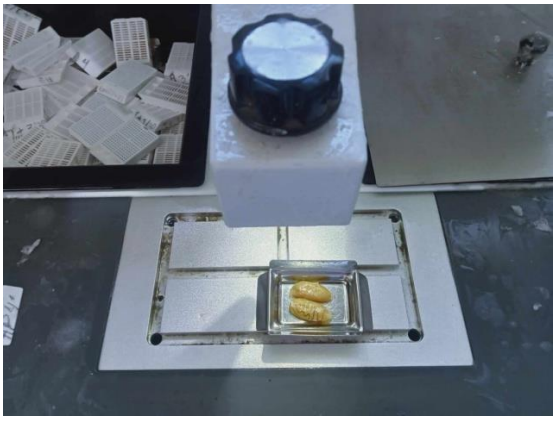


Figure 12 : Enrobage des testicules (Photo originale).

II.2.5.3. Confection des coupes

Les coupes ont été faites à l'aide d'un microtome qui permet d'obtenir des rubans très fins de 3 à 5 µm d'épaisseur, qui ont été ensuite récupérés à l'aide d'un bain-marie et étalés sur des lames, puis laissés sécher à une température ambiante.

II.2.5.4. Coloration

Les tissus ont été colorés à Hématoxyline-Eosine (H&E). Cette coloration est généralement utilisée pour identifier les caractéristiques histologiques des tissus, en combinant une coloration nucléaire en bleu avec l'hématoxyline de Harris et une coloration cytoplasmique en rose avec l'éosine. Les coupes ont été colorées à l'aide d'un appareil automatique (Figure 13) en suivant les étapes suivantes :

- Placement des lames dans un bain de xylène dans une durée de 20 minutes.
- Réhydratation des lames dans trois bains d'alcool de concentration décroissante : 100 %, 95%,70%. (1 minutes chacun).
- Rinçage à l'eau pendant 5 minutes.
- Placement des lames dans un bain d'hématoxyline (4 secondes).
- Rinçage à l'eau pendant 10 minutes.
- Placement des lames dans une solution d'ammoniac (15 secondes).
- Rinçage à l'eau pendant 5 minutes.
- Placement des lames dans un bain d'éosine (15 secondes).
- Rinçage à l'eau pendant 5 minutes.
- Placement des lames dans un bain d'alcool 90 % (30 secondes).

Figure 13 : Appareil de coloration (Photo originale).

II.2.5.5. Montage des lames

Le montage des lames consiste à appliquer une lamelle sur une lame à l'aide d'un milieu de montage. Ce procédé permet d'éviter la décoloration due à l'oxydation par l'air ambiant ou les vapeurs de certains produits chimiques, en plus de protéger le tissu des aléas de la manipulation. Il favorise l'examen microscopique en assurant une meilleure visualisation des détails structuraux.

II.2.5.5. Observation au microscope optique

Cette étape est considérée comme la dernière étape de l'examen histologique au cours de laquelle le parenchyme testiculaire de tous les rats a été observé et photographié à l'aide d'un microscope à camera (Figure 14). L'observation a été faite aux différents grossissements : x40 ; x100; x400 et x1000.

Figure 14 : Observation microscopique à l'aide d'un microscope à caméra. (Photon originale).

II.2.6. Analyse statistique

Les résultats des poids corporels ont été exprimés sous forme de moyennes ± écart type. Un test d'ANNOVA de deux facteurs sans répétition a été choisi pour comparer les poids entre les différents groupes.

L'analyse ANNOVA, ou analyse de variance, est une méthode statistique utilisée pour comparer les moyennes de trois groupes ou plus afin de déterminer s'il existe des différences significatives entre eux. Elle divise la variance totale des données en variance expliquée par le modèle et variance résiduelle, permettant ainsi de tester l'hypothèse nulle selon laquelle les moyennes des groupes sont égales (Howell, 2012).

Après avoir obtenu les résultats à partir de l'Excel, nous avons comparé la valeur de P avec un seuil de significativité de 0,05 pour déterminer si les résultats sont significatifs ou non (Annexes).

Résultats et Discussion

III.1. RESULTATS

Notre chapitre résultats et discussion comporte l'ensemble des résultats issus d'une étude qui seront présentés sous forme de figures et des micrographies puis comparer et discuter selon la littérature.

III.1.1. Effet du traitement sur l'évolution du poids corporel des rats

Selon les résultats obtenus, le poids corporel de tous les rats a subi une augmentation régulière durant la période de traitements. Les moyennes des poids ont été représentées par la figure 15 et tableau V. Le calcul statistique n'a pas montré un changement significatif entre les témoins négatifs et les traités par l'ACE (P value > 0,05). Cependant, une différence statistiquement significative a été observée entre les deux lots témoins et entre lot traité par l'acétamipride et la plante par rapport au lot des témoins (tableaux VI, VII et VIII en annex).

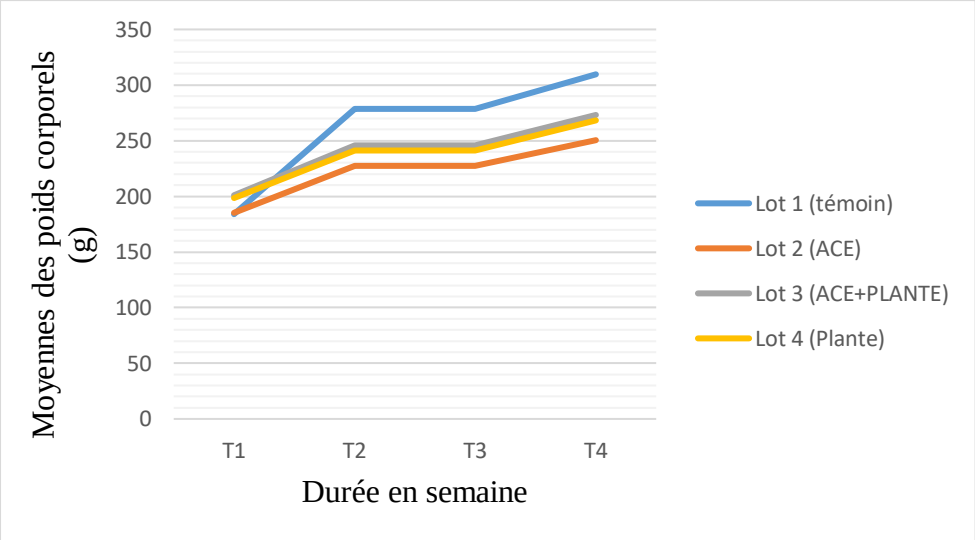


Figure 15 : Evolution du poids corporels des rats.

Tableau V : Montre Les moyennes des poids des rats.

Lots / Temps (semaine)	T1	T2	T3	T4	Ecartype
Lot 1 (témoin)	184	278,6667	278,6667	309,6667	39,375
Lot 2 (ACE)	185,25	227,5	227,5	250,5	18,71875
Lot 3 (ACE+PLANTE)	201	245,8571	245,8571	273,1429	20,23214
Lot 4 (Plante)	198,5	241,25	241,25	268,25	19,40625

III.1.2. Analyse des résultats histologiques

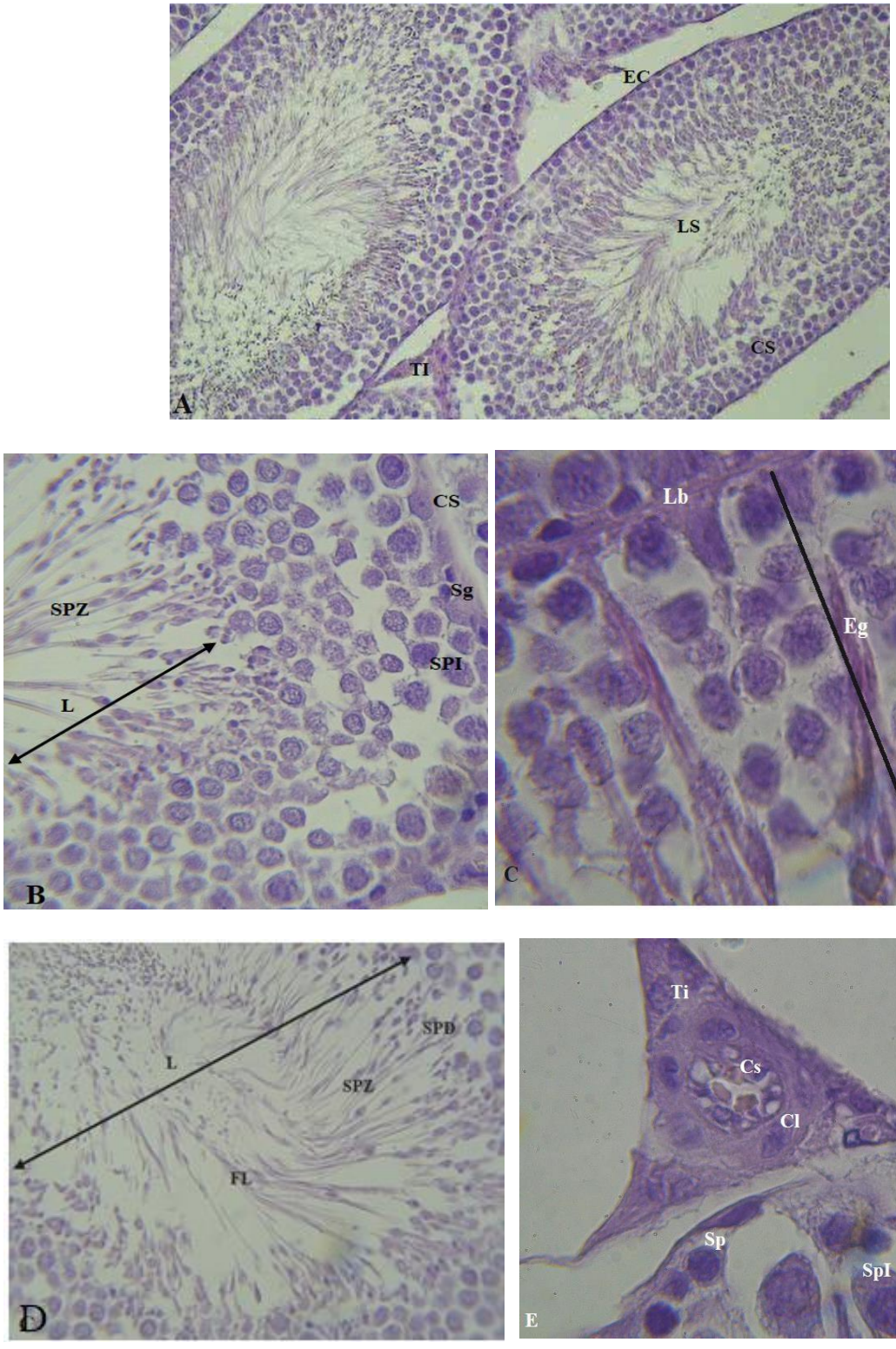
III.1.2.1. Histologie des testicules des rats témoins négatifs et positifs

Les coupes histologiques au niveau des testicules des rats témoins positifs et négatifs (Figure 16), à faible grossissement (x10) et à forts grossissements (x40 et x100), montrent une architecture structurale classique. Les tubes séminifères entourés d'une fine membrane basale ont présentés un cortex épais et une lumière relativement réduite (Figure 16 A). L'épithélium germinatif présente les différents stades de la spermatogenèse avec un ordre chronologique respecté (Figure 16 A et B). La lumière est riche en spermatozoïdes avec des flagelles long et bien visibles (Figure 16 A, B et D). Les têtes des spermatozoïdes sont petits et ovoïdes (Figure 16 A, B et D). Le tissu interstitiel sépare les tubes séminifères, riche en capillaires sanguins et est composé d'amas de petites cellules endocrines de Leydig ovoïde bien évident (Figure 16 E).

III.1.2.2. Histologie des testicules des rats traités par l'acétamipride

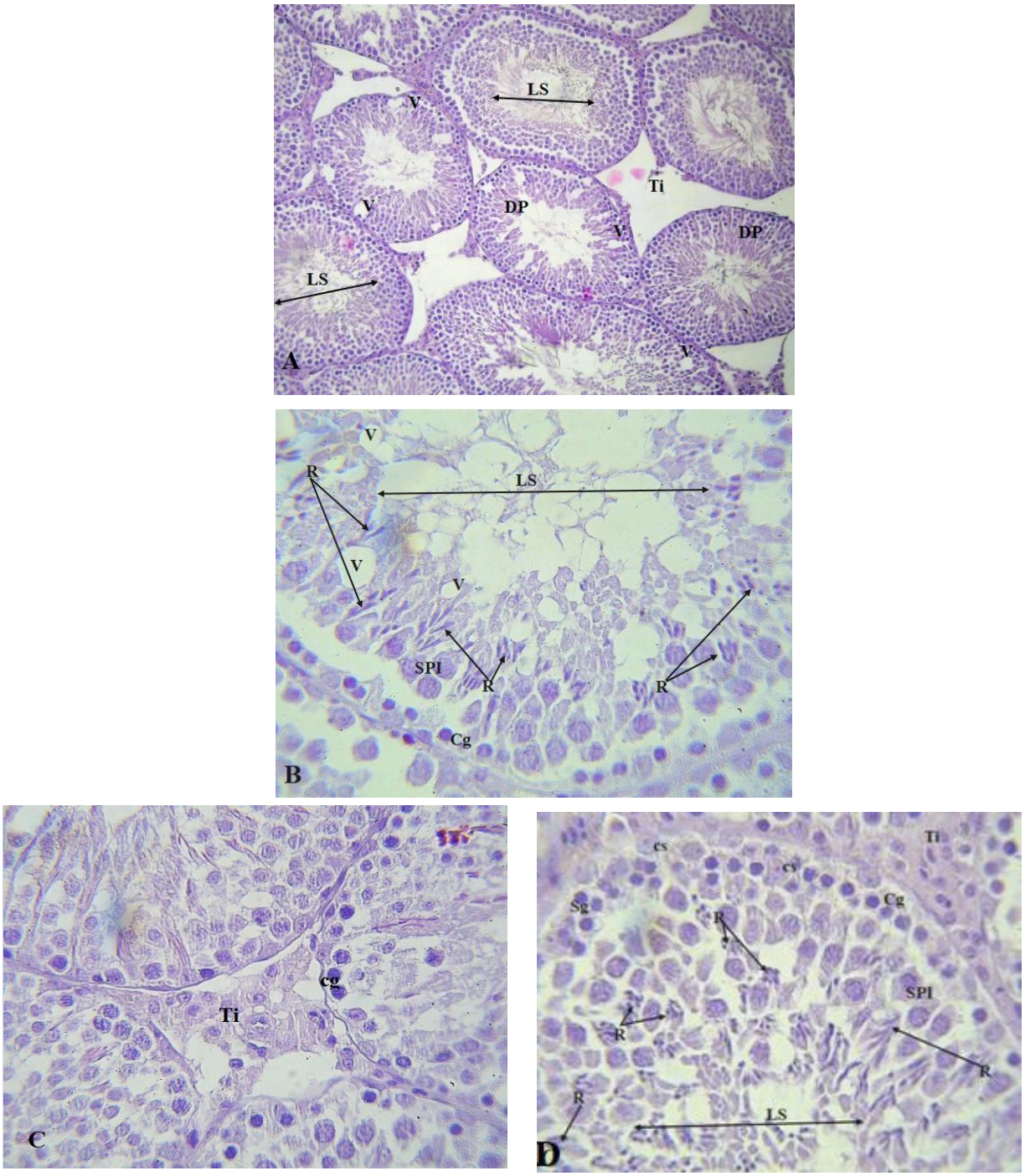
En comparaison avec celle des témoins, l'examen microscopique du parenchyme testiculaire des rats traités par l'ACE pendant 30 jours nous a permis d'observer une structure d'ensemble normal, un aspect général normal du parenchyme (Figure 17A). Cependant certains changements au niveau du cortex et de la lumière ont été révélés avec les forts grossissements.

- Certains tubes séminifères ont montré des signes de déplétion cellulaire, au niveau de l'épithélium cortical et blocage de la spermatogénèse suite à l'absence des spermatocytes I et des spermatides d'aspect arrondi dans certains endroits (Figure 17 B).
- Présence des vacuoles au niveau du cortex (Figure 17B).
- Absence de flagelles des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères (Figure 17B).
- Présence de petites têtes de spermatozoïdes dispersés dans l'épithélium germinatif de certainstubes séminifères (Figure 17B et D).
- Signes d'atrophie et d'hypertrophie importante de cellules de Leydig dans le tissu interstitiel (Figure 17C et D).



Cl : Cellule de Leydig ; Cs : Capillaire sanguin ; SP : Spermatogonie ; SpI : Spermatocyte I ; Ti : Tissu interstitielle; Ls (L) : lumière de tube séminifère
Lb : Lame basale ; C : Cortex ; FL : Flagelles ;Spz : Spermatozoïde.

<u>Figure 16</u> : Structure du parenchyme testiculaire des rats témoins.
Coloration: H&E; Grossissement: x100(A);x400(B et D); x1000 (C et E)

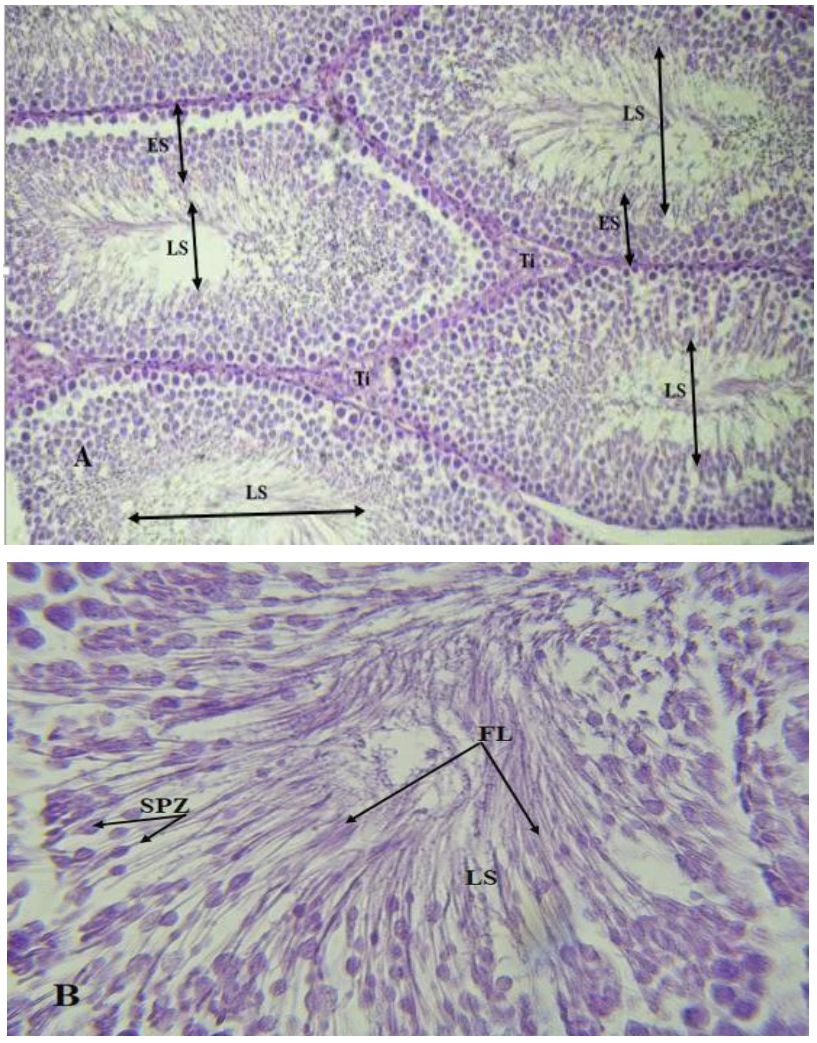


Ti : Tissu interstitielle ; Ls : Lumière de tube séminifère.
Cg (Sg) : Spermatogonie ; V : Vacuolisations.
R : Rétentions des spermatides mature.

Figure 17 : Structure du parenchyme testiculaire des rats traités par l'acétamipride. Coloration: H&E; Grossissements: x100 (A); x400 (B ; et C).

III.1.2.3. Histologie des testicules des rats traités par l'acétamipride et l'extrait de la plante

Chez les rats traités à la fois par l'acétamipride et l'extrait de la plante, nous avons observé des tubes séminifères retrouvent leur structure normale classique. Un cortex épais présentant un épithélium développé (Figure 18 A) et une lumière chargée de spermatozoïdes avec des flagelles longs et des têtes bien évidentes (Figure 18 B). Le tissu interstitiel est clair mais peu développé (Figure 18 A).



Ti : Tissu interstitielle (cellule de leydig) ; Ls : Lumière de tube séminifère.
ES : Epithélium séminifère ; FL : Flagelles ; Spz : spermatozoïde.

Figure 18 : Structure du parenchyme testiculaire des rats traités par l'acétamiprideet l'extrait de la plante *Artimisia annua.* Coloration: H&E; Grossissements: x100 (A) ; x400 (B).

III.2. Discussion

Le suivi régulier du poids corporel chez les rats est un critère important dans les études toxicologiques. Dans notre étude nous avons noté une augmentation du poids corporel des rats chez tous les groupes. Les analyses statistiques nous ont permis de confirmé qu'il n'ya pas de changement significatif du poids des rats traités par l'ACE en comparaison avec celui des témoins négatifs. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Saadi et *al*. (2019) dans une étude sur la toxicité de l'acétamipride chez des souris mâles intoxiquées pendant 15 jours. Au contraire l'étude de Zhu et *al*. (2017) a montré qu'une exposition chronique à l'acétamipride entraînait une diminution significative du poids corporel chez les rats mâles et femelles. Cette diminution peut être liée à divers mécanismes comme les modifications du métabolisme, du système hormonal ou encore du comportement alimentaire des animaux. D'autre part, une méta-analyse récente de Zhang et *al*. (2022) a synthétisé les résultats de plusieurs études sur les effets de divers néonicotinoïdes, y compris l'acétamipride, sur la croissance et le développement des animaux de laboratoire. Les résultats ont montré que l'exposition à ces substances pouvait affecter négativement le poids corporel des rats, bien que les effets spécifiques puissent varier en fonction de la dose, de la durée d'exposition et du sexe des animaux.

En parallèle, notre test statistique a montré qu'il existe un changement significatif du poids corporel des rats traités par l'extrait de la plante médicinale par rapport aux témoins négatifs. Des études menées par Gisèle et *al*. (2023) ont suggéré que certains extraits de l'*Artemisia annua* pourraient influencer le métabolisme énergétique, ce qui montre que cette plante pourrait avoir un impact indirect sur le poids corporel à travers ses effets métaboliques. Bien que les mécanismes précis restent à clarifier.

L'analyse microscopique des coupes de testicule des rats traités par l'ACE a montré des anomalies structurales au niveau de la plupart des tubes séminifères à divers degrés : déplétion cellulaire, hyperthrophie des cellules de Leydig, une vacuolisation et des rétentions des spermatides matures dans l'épithélium séminifère. Ainsi qu'une perturbation et diminution dans la ligne des cellules germinale et l'absence des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères qui est reliée à l'inhibition de la spermiogénèse. Plusieurs études ont montré que l'exposition à l'acétamipride peut perturber la spermatogenèse chez les rats. Abd El-Aziz et *al* . (2019) ont observé une diminution significative du nombre de

spermatozoïdes ainsi qu'une altération de la morphologie des spermatozoïdes après une exposition chronique à l'acétamipride. Ces effets pourraient résulter de l'activité neurotoxique de l'acétamipride, qui pourrait interférer avec les processus hormonaux et la maturation des cellules germinales dans les testicules. Les études de Dianne (1997) ont montré qu'après l'exposition à des toxines, le testicule peut présenter une dégénérescence des cellules germinales due à l'apoptose, entraînant ainsi une diminution de leur nombre et de leur organisation. Norman et *al*. (2003) ont expliqué la déplétion des cellules germinales par leur phagocytose par les cellules de Sertoli, ce qui efface toutes les preuves de leur existence antérieure. Bien que Dianne et Robert (2013) aient montré que l'atrophie tubulaire est due à la perte de toutes les cellules germinales et seules les cellules de Sertoli tapissent les tubules. Ils ont observé que les tubules sont atrophiques ou dégénérés de manière focale représentant ainsi une perte de cellules germinales dans une partie des tubules séminifères après une exposition à des doses répétées des toxiques testiculaires. Dans la même étude les chercheurs ont suggéré la réponse des cellules de Sertoli à une agression toxique se manifeste par la présence de vacuoles dans leurs cytoplasme. Ces vacuoles peuvent être de petite taille ou plus grandes situées à mi-hauteur de l'épithélium séminifère. Elles peuvent être intracellulaires et résulte de l'expansion des organites ou d'un œdème intracellulaire. Ce changement est généralement associé à une perturbation cellulaire et peut évoluer vers une dégénérescence ou une atrophie tubulaire. Donc cela peut expliquer la présence des vacuolisations dans le parenchyme testiculaire de nos rats.

La présence de la rétention spermatique dans l'épithélium testiculaire de nos rats traités avec l'ACE a été signalé par d'autre chercheurs y compris Bronwyn et Boekelheide (2007) qui ont observé des retenions spermatiques au niveau des testicules des rats exposés à des toxines ou les spermatides matures ne sont pas libérées du cytoplasme des cellules de Sertoli. Cela peut se produire en raison des perturbations dans les processus cellulaires de Sertoli, ou suite d'un taux réduit de testostérone ou d'un développement anormal des spermatides. Cette situation peut avoir un impact sur les paramètres du sperme et potentiellement sur la fertilité.

Nous avons observé au niveau du tissu interstitiel une atrophie et hypertrophie des cellules de Leydig. Ces anomalies structurales influencent directement la fonction endocrine des testicules. Les cellules de Leydig sont responsables de la sécrétion de testostérone nécessaire à la spermatogénèse (Lejeune et Saez, 1993).

D’autre part nos résultats histologiques des testicules des rats mâles traités par l’acétamipride et l’extrait de l’*artemisia annua* ont montré que la structure des tubes séminifères en comparaison avec le groupe traité par l’ACE est préservée et les spermatozoïdes se présentent au niveau des lumières tubulaires ce qui témoigne une spermatogénèse normale.

D’après Yang et *al*. (2021), l'*Artemisia annua* contient de l'artémisinine, un composé bioactif qui a démontré des effets anti-inflammatoires, antioxydants et potentiellement régénérateurs dans divers contextes. Alors ces propriétés pourraient être bénéfiques pour atténuer les dommages induits par des produits chimiques notamment l’acétamipride sur les tissus testiculaires.

Nous suggérons que l'administration d'extraits d'*Artemisia annua* pourrait favoriser la régénération des tissus testiculaires endommagés par des produits chimiques qui pourrait se traduire par une amélioration de la spermatogenèse suite à la réduction de l'inflammation.

Conclusion et Perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans cette étude, nous avons étudié les effets néfastes de l'acétamipride, un insecticide néonicotinoïde largement utilisé en Algérie sur la structure testiculaire des rats Wistar mâles.

Nos résultats confirment qu'un mois d'exposition à l'acétamipride provoque des changements significatifs, notamment des anomalies structurelles telles que déplétion cellulaire, qtriphie et hyperthrophie des cellules de Leydig, une vacuolisation et des rétentions des spermatides matures dans l'épithélium séminifère. Ces changements sont souvent associés à une spermatogenèse altérée, ce qui met en danger la fertilité potentielle des individus exposés.

L'observation de l'atrophie et l'hypertrophie des cellules de Leydig responsables de la production de testostérone met également en évidence les effets négatifs de l'acétamipride sur la fonction endocrinienne, importante pour le développement et le fonctionnement des organes reproducteurs masculins.

Cependant, nos recherches ne se limitent pas à documenter les effets indésirables de l'acétamipride. Nous avons également évalué l'efficacité potentielle de l'extrait *d'Artemisia annua* pour atténuer ces dommages.

L'*Artemisia annua*, riche en artémisinine et connue pour ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et régénératrices, semble jouer un rôle bénéfique dans la protection des tissus testiculaires contre les effets indésirables de l'acétamipride.

Nos résultats montrent que cette plante peut favoriser la régénération des cellules germinales et des cellules de Leydig, réduire l'inflammation et protéger contre le stress induit par les pesticides.

Il est important de déterminer les mécanismes exacts par lesquels l'acétamipride perturbe la spermatogenèse et induit des modifications structurelles dans les testicules. Des études moléculaires approfondies peuvent révéler les voies de signalisation impliquées notamment les effets sur les hormones reproductives et les processus cellulaires importants.

Étant donné qu'une exposition chronique aux pesticides peut avoir des effets cumulatifs des études à plus long terme sont nécessaires pour évaluer les effets à long terme de l'acétamipride sur la fertilité masculine et la santé reproductive en général. De plus, des études dose-réponse approfondies permettraient de déterminer les niveaux d'exposition critiques associés aux effets indésirables.

Bien que l'*Artemisia annua* ait montré des résultats prometteurs dans cette étude, il est important de comprendre les composants actifs responsables de ses effets régénérateurs sur les tissus testiculaires. Cela peut conduire au développement de formes posologiques spéciales ou d'extraits concentrés pour maximiser l'efficacité thérapeutique.

Références Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

"A"

1) Abdelaziz I et Bencherchali K, (2016). *Recherche des effets toxiques de l'acétamipride sur le foie et les poumons chez des souris femelles*. Université BLIDA 1, Faculté S.N.V Département de Biologie et Physiologie Cellulaire. Mémoire de fin d'étude master 2.

2) Augustave K ; Arthénice J ; Nounamo G ; Ferdinand N, Bertin N.V ; Freddy P ; Ngah O.B et Etienne T.P, (2018). *Reproductive toxicity of acetamiprid in male Guinea pig (Cavia porcellus)*, Journal de Animal Science and Veterinary Medicine 2485D72F3.Volume 3(4) pages 105-111.

3) Agathe, (2009). *Hormones et fonctionnement des organes mâles reproducteurs.* Disponible sur https://www.superprof.fr/ressources/svt/svt-tous-niveaux/appareil-reproduction-sexuel-homme-et-hormones.html

4) Abd El-Aziz T.M ; Abo El-Ela F.I et Hendawy S.F, (2019). *Sub-chronic oral exposure to acetamiprid induces histopathological and ultrastructural changes in the testes of rats*. Toxicol Res (Camb). 8(4) : 538-549.

5) Alexandre S, (2008). *L'Artémisinine et ses dérivés.* Apports de la médecine traditionnelle chinoise dans la lutte contre le paludisme chimiorésistant et perspectives contemporaines.Université de Lorraine, Faculté de médecine de Nancy. Disponible sur : http://docnum.univ- lorraine.fr/public/scdmed_t_2008_sanner_alexander. pdf

6) Ando S ; Sirianni R ; Forastieri P ; Casaburi I ; Lanzino M ; Rago V ; Giordano F Giordano C, Carpino A et Pezzi V, (2001). *Aromatase expression in prepubertalSertoli cells : effect of thyroid hormone Molecular and Cellular Endocrinology* 178. 11–21.

7) Adachi S ; Yamada S ; Takatsu Y ; Matsui H, Kinoshita M ; Takase K et Maeda K (2007). *Involvement of anteroventral periventricular meta-stin/kisspeptin neurons in estrogen positive feedback action on lutein-izing hormone release in female rats.* Journal de Reproduction ET Development. 53, 367–378.

“B”

8) Bandiola T.M, (2018). *Extraction and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants*: A Brief Summary. Int. J. Pharm, 8(1) : 137-143.

9) Bachirbey ; Mohamed C.H.B ; Tahar, (2023*). Impact de pesticide Acetamipride sur la population de l’abeille domestique Apismellifera intermissa (Buttel-Reepen 1906) Dans la région de Bouira*. Dépôt institionnel de l’univerrsité de Bouira. Mémoire de master 2.

10) Bettiche F ; Bengouga K ; Diab N ; Bakroune N ; Djoghma A ; Guesmia H ; Fadlaoui H Salemkour N ; Zaabta I ; Chaib W ; Mancer H ; Rechachi M.Z et Rouahna H, (2023). *Les risques des pesticides Néonicotinoïdes autorisés en Algérie sur les pollinisateurs.* Journal Algérien des Régions Arides, 16 (1) : 68–74.

11) Blacquière T ; Smagghe G ; Van Gestel C.A.M et Mommaerts V. (2012). *Neonicotinoids in bees: A review on concentrations, sideeffects and risk assessment.* Ecotoxicology, 21(4) 973–992. https : //doi.org/10.1007/s10646-012-0863-x

12) Bulent Y ; Gokhan H ; Yas A et Hasan O, (2005). *Vascular anatomy of normal and undescended testis: Surgical assessment of anastomotic channels betweentesticular and deferential arteries*, UROLOGY 66 : 854–857, © 2005 Elsevier Inc.

13) Boussouar et Benahmed, (2004) *Lactate and energy metabolism in male germ cells.* Le National Centre de Biotechnologies Information, 15(7) : 345-50. Doi 10.1016/j.tem.2004.07.00

14) Burger L.L ; Dalkin A.C ; Aylor K.W ; Haisenleder D.J et Marshall J.C, (2002). *GnRH pulse frequency modulation of gonadotropin subunitgene transcription in normal gonadotropes-assessment by primarytranscript assay provides evidence for roles of GnRH and follistatin*. Endocrinology, 143, 3243–3249. Doi : 10.1210/en.2002-220216

15) Bryant B.H ; et Boekelheide K, (2007). *Time-Dependent Changes in Post- MortemTestis Histopathology in the Rat*. Journal de Toxicologic Pathology, 35(5), 665–671. https://doi.org/10.1080/01926230701459994

"C"

16) Creasy D.M, (1997). Review Article : *Evaluation of Testicular Toxicity in Safety Evaluation Studies :* The Appropriate Use of Spermatogenic Staging. Journal de Toxicologic Pathology, 25(2), 119–131. https : //doi.org/10.1177/019262339702500201

17) Creasy D.M et Chapin R.E, (2013). *Mal Pathology, Reproductive System*. Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic 2493–2598. https : //doi.org/10.1016/b978-0- 12-415759-0.00059-5

18) Creasy D.M et Foster P.M.D, (2002). *Male reproductive system : W.M* Haschek et al Hanbbook of Toxicology Pathology, second ed., Academic Press, pp 785-846.

19) Cheung L.W et Wong A.S, (2008). *Gonadotropin-releasing hormone:GnRH receptor signalling in extrapituitary tissues.* The FEBS Journal, 275, 5479–5495. Doi : 10.1111/j.1742-4658.2008.06677.x

20) Covello P.S ; Teoh K.H et Polichuk D.R, (2007). *Functional genomics and the biosynthesis of artémisinine.* Phytochemistry, 68 : 1864-71.

"D"

21) Delauney T ; Gourdeau J ; Hulin A ; Monteirck Set Pernot P, (2010). *Atmospheric measurements of pesticides in France by the air quality monitoring networks*. Pollution Atmospherique. 208 : 437-452.

22) Dadoune J.P et Demoulin A, (2001). *Structure et fonctions du testicule* 257-285- Reproduction chez les mammifères et l'homme.- Paris : INRA.928p.

23) Dadoune J.P ; Hadjiisk Y et Vendrel Y, (2000). *Appareil de reproduction masculin* (237-243) In : Histologie : Paris-Masson.-432p.

24) Dondorp A.M ; Nosten F et Poravuth Y, (2009). *Artemisinin resistance in plasmodium falciparum malaria*. N EnglJ Med, 361 : 455-67.

25) Dreef H.C ; Van E.E ; et Rijk E.P, (2007). *Spermatogenesis in the cynomolgus monkey* (Macacafascicularis) : A practical guide for routine morphological staging. Toxicol. Pathol. 35, 395–404.

"E"

26) Edition Ultra. *Histologie-de-l'appareil-reproductif-masculin.* Créé le : 01/09/21 10:40 : 54 PM. Emplacement : www.univ-chlef.dz

27) EFSA (European food safety authority), (2015). *Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance lambda-cyhalothrin*. EFSA Journal 12(5): 3677.

"G"

28) Guedegba N.L ; Imorou T.I ; Agbohessi P.T ; Zoumenou B ; Douny C ; Mandiki S.N. M Schiffers B ; Scippo M.L et Kestemont P, (2019). *Comparative acute toxicity of two phytosanitary molecules, LambdaCyhalothrin, and Acetamiprid, on Nile tilapia* (OreochromisNiloticus) Juveniles. Journal of Environmental Science and Health, Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 54 : 580–589.

29) Gisèle E.L ; Lahngong M.S ; Olivia J ; Lúcia M ; Allison L ; Sandra F.N ; Suh N.A Stephen M.G ; Jacob S ; Annie R ; Kristiaan D et Michel F, (2023). *Secondary Metabolites Isolated from Artemisia afra and Artemisia annua and Their Anti-Malarial Anti-Inflammatory and Immunomodulating Properties—Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 13(5), 613 https : //doi.org/10.3390/metabo13050613

30) Griswold M.D et Mclean D, (2006). *The Sertoli cell*. In: Neill, J.D. (Ed.), *The Physiology of Reproduction*, third ed. vol. 1. Elsevier AcademicPress, San Diego, CA, pp. 949–976.

31) Garcia-Galliano D ; Pinilla L et Tena-Sempere M, (2011). *Sex steroids and the control of the Kiss-1 System : developmental roles and major regulatory actions.* J. Neuroendocrinol 24, 22–33.

"H"

32) Hess R.A, (2002). *The efferent ductules: structure and function* : Robaire B et Hinton B.T. (Eds), *the Epididymis: from Molecules to Clinical Practice*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, pp. 49–80.

33) Hermo L et Robaire B, (2002). *Epididymal cell types and their functions* : Robaire B et Hinton B.T. (Eds.), *the Epididymis: From Molecules to Clinical Practice.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, pp. 81–102.

34) Hill C.M ; Anway M.D ; Zirkin B.R et Brown T.R, (2004). *Intratesticular androgen levels, androgen receptor localization, and androgen receptor expression in adult rat Sertoli cells.* Biol. Reprod. 71, 1348–1358.

35) Houadeg I.E, (2021). *Evaluation de la toxicité aiguë et du comportement d'évitement chez le taxon Aporrectodea trapezoides (Duges, 1828) vis-à-vis de l'acétamipride (insecticide).* Université Frères Mentouri Constantine. Département Végétale Ecologie Et Biologie. Mémoire de fin d'étude master 2.

"I"

36) Iwasa T ; Motoyama N ; Ambrose J.T ; et Michael R, (2004). *Mechanism for the different toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, Apismellifera.*Crop Protection. 23 371–378.

"J"

37) Jallouli H ; Fakhfakh H ; Rebai N, (2007). *Intérêt de l'abaissement du testicule non descendu chez l'adulte*. Etude à propos de 259 patients. Journal d'Andrologie. 17, 230–235 (2007). https://doi.org/10.1007/BF03040732.

38) Jianguo T, (2007). *Agonist actions of neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors expressed by cockroach neurons*. Neurotoxicology, vol. 28 (2007) 829–842.

"L"

39) Lester ; Susan C, (2010). *Manual of Surgical Pathology, troisièmeédition, Philadelphia* PA, Elsevier Saunders, 2010, 565 p.

40) La Maison de l'Artemisia – http : //maison-artemisia. org/ - 2020

"M"

41) Mario G ; Oyola, et Robert J.H, (2017). *Hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes: sexdifferences in regulation of stress responsivity.* Department of Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA Vol. 20, No. 494. https : //doi.org/10.1080/10253890.2017.1369523.

42) *Male Reproductive System: Sertoli Cells*. Figure adaptée du Guide d'Histoire© Faculté des sciences biologiques, Université de Leeds 40. Disponible sur : https://www.histology.leeds.ac.uk/male/sertoli_cells.php.

43) Mikiko U ; Eiki W ; Shigekazu I ; Seiji I ; et Shiro M, (2012). *Development of immunoassaybased on monoclonal antibody reactedwith the neonicotinoid insecticideschlothianidin and dinotefuran.* Researchand Development Division, 54: 601-8510.

44) Mondal S ; Ghosh R.C ; Mate M.S ; et Karmakar D.B, (2009). *Effects of acetamiprid on immune system in female Wistar rats. In Proceedings of the Zoological Society* Vol. 62 No. 2, pp. 109-117. Springer-Verlag.

45) *Modèle 3D très détaillé et anatomiquement correct d'un testicule humain*. Site internet @TURBOSQUID. Ajoutée le 27 Décembre, 2015. Dernière mise à jour le 05 Décembre 2023. Disponible sur https : //www.turbosquid.com/fr/3d-models/testis-3d-model/990069.

46) Medar M.L.J ; Marinkovic D.Z ; Kojic Z ; Becin A.P ; Starovlah I.M ; Kravic-Stevovic T Andric S.A ; et Kostic T.S, (2021). *Dependence of Leydig cell's mitochondrial physiology on Luteini zing hormone signaling.* Life 11, 19.

doi.org/10.3390/life11010019.

47) Mosbah R ; Djerrou Z et Mantovani A, (2018). *Protective effect of Nigella sativa oil against acetamiprid induced reproductive toxicity in male rats.* Drug and Chemical Toxicology, vol. 41, no. 2, pp. 206–12 doi : 10.1080 / 01480545.2017.1337127.

"N"

48) Nagano M ; Patrizio P et Brinster R.L, (2002). *Long-term survival of human spermatogonial stem cells in mouse testes.* FertilSteril 78: 1225-1233, 2002.

49) Ndiye K, (2003). *Etude morphologique de certains aspects du processus de la maturation sexuelle chez les animaux hypotrophiques par restriction alimentaire postnatale : mise au point d'un modèle expérimental chez le rat* Th. Méd. Vét. Dakar n°13.

"O"

50) Owuna G ; Mustapha A.A ; Ogbonna C.I.C et Kaladi P.H, (2013). *Antimicrobial effects and Phytoconstituents of ethanolic extract of leaves of Artemisia annua L*. Journal de Medicinal Plants Studies, Vol. 1 Issue. 5, pp.: 97-101.

"P"

51) Park J.E ; Kim Y.J ; Lee S.G ; Kim J.Y ; Chung J.Y ; Jeong S.Y ; Koh H ; Yun J ; Park H.T ; Yoo Y.H et Kim J.M, (2019). *Drp1 phosphorylation is indispensable for steroidogenesis in Leydig cells.* Endocrinology 160, 729–743. https://doi. org/10.1210/en.2019-00029.

52) Peter T, (2022). *Testis and Sperm Development.* Director of Medical Studies. Department of Cell Biology.
Disponible sur : https : //medcell.org/histology/testis_sperm_development.php

"R"

53) Robaire B ; Hinton B.T et Orgebin-Crist M.C, (2006). *The epididymis* : Neill J.D, (Ed) *The Physiology of Reproduction,third* ed. Vol. 1. Elsevier Academic Press, San Diego CA pp. 1071–1148.

54) Richard M ; Sharpe ; Chris M ; Catrinan K et Jane S.F, (2003). *Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood,* Article in Reproduction (Cambridge, England) ·Doi: 10.1530/rep.0.1250769 125, 769–784, Source : PubMed.

55) Saadi L ; Bouazza M et Lebaili N, (2019). *Acetamiprid induced histopathological alteration in lung and liver of male mice. Revue Agrobiologia 9(2): 1499-1505.*

"S"

56) Setchell B.P ; et Breed W.G, (2006). *Anatomy, vasculature, and innervation, of the male reproductive tract* : Neill J.D ; Plant T.M ; Pfaff D.W ; Challis J.R, de Kretser D.M Richards J.S, Wassarman P.M, (Eds), *The Physiology of Reproduction*, third ed. vol. 1 Elsevier Academic Press, San Diego, CA, pp. 771–826.

57) Sadiq A ; Hayat M.Q, et Ashraf M, (2014). -*Ethnopharmacology of Artemisia annua L* : A Review : Aftab T ; Ferreira J ; Khan M ; Naeem M, (eds) Artemisia annua - Pharmacology and Biotechnology. Springer, Berlin, Heidelberg

58) Suwa T ; Nyska A ; Peckham J.C ; Hailey J.R ; Mahler J.F ; Haseman J.K, et Maronpot R.R (2001). *A retrospective analysis of background lesions and tissue accountability for male accessory sex organs in Fischer-344 rats.* Toxicol. Pathol. 29, 467–478.

59) Suigizaki M.M ; Brunoa , et Aragon F.F, (2005). *Exercise Training increases myocardial intropic response in food restricted rat* (Enligne). Accès internet http//www.ncbi.nlm.nih.gov.

60) Skinner M.K, (2005). *Sertoli cell secreted regulatory factors :* Skinner M.K, Griswold M.D, (Eds), Sertoli cell biology. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, pp. 107–129.

"T"

61) Tjeerd B ; Guy S ; Cornelis A.M.V et Veerle M, (2012). *Neonicotinoids in bees* : a review on concentrations, side-effects and risk assessment. Ecotoxicology, 21(4) : 973992.

62) *Traité approfondi de phyto-aromathérapie*, (2013). Hervé Staub et Lily Bayer – Editions Grancher. P 685

"U"

63) US-EPA (United States Environmental Protection Agency), (2012). *Acetamiprid Pesticide Tolerances.* EPA-HQ-OPP2011-0403; FRL-9340-7 Federal Register. 77(60) : 18710-18716. Available online : http : //www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2012-03-28/html/2012- 7461.htm.

"V"

64) Vincent S, (2010). *Génétique et amélioration d'Artemisia annua L. pour une production durable d'antipaludiques à base d'artémisinine*. Med Sci (Paris), 26 : 701–703- http://www.worldfloraonline.org/organisation/wfo. World Flora Online Data.

"Y"

65) Yalcin B ; Komesli G.H ; Ozgok Y et Ozan H, (2005). *Vascular anatomy of normal and undescended testes: surgical assessment of anastomotic channels between testicular and deferential arteries.* Urology 2005; 66 : 854–7.

66) Yang Y ; Zhang L et Fan X, (2021). *Artemisia annua L. prevents oxidative stress and inflammation by inhibiting the NLRP3 inflammasome activation in uric acid-induced gouty arthritis.J*Ethnopharmacol. 2021 Jan 10; 265 : 113284.
Doi : 10.1016/j.jep.2020.113284. Epub 2020 Sep 18. PMID : 32956688.

"Z"

67) Zhang J ; Tang Y ; Zhang H, et Zhang Y, (2022). *Effects of neonicotinoids on body weight and development of laboratory animals: A meta-analysis. Environmental Pollution,* 294 118868.

68) Zhu Q ; Mehmood K ; Zhang H ; Luo H et Lin H, (2017*). Effects of acetamiprid on the body weight, food consumption and biochemical parameters in male and female rats*. Environmental Toxicology and Pharmacology, 52, 222-227.

69) Zoumenou B, (2015). *Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin.* International Journal de Biological and Chemical Sciences, vol. 9, p. 2184 doi:10.4314/ijbcs.v9i4.38.

Annexes

ANNEXES

Annexes 1

Matériel et réactifs

I. Réactifs et solutions

- Acetamipride pur 20%.
- Solution aqueuse de l'extrait de la plante médicinale Artemisia annua.
- Ethanol 70%, 95%, 96% et 100%.
- Eau distillé et l'eau courant.
- Hématoxyline de Harris.
- Fixateur formaldéhyde à 36°.
- Eosine.
- Xylène.
- Ammoniac, solution 23%.
- Eukitt Specilab (résine synthétique de montage).
- Huile d'émersion type A.

II. Appareillages

- Microtome (Leica).
- Appareil automatique de circulation.
- Appareil de coloration Hématoxyline-Eosine (H&E).
- Appareil d'inclusion.
- Plaque refroidissante (Leica).
- Etuve (Binder).
- Microscope photonique (OPTIKA).
- Microscope photonique (Leica).
- Bain marie.
- Hotte pour le montage de classe II.
- Evaporateur rotatif

III. Autre matériel

- Cassettes d'inclusion en plastiques.
- Portes lames.
- Lames porte objet et lamelles.

- Graveur.
- Paire de ciseaux.
- Pinces.
- Moule en métal.
- Papier absorbant.
- Trousse de dissection.
- Eprouvette graduée.
- Cages.
- Béchers.

Figure 19 : Appareil d'inclusion

Figure 20 : Microtome rotatif

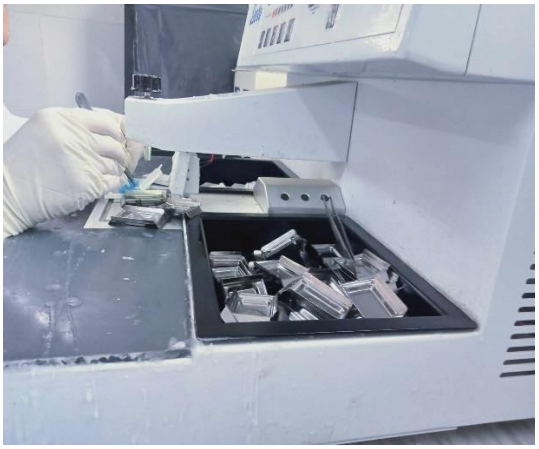


Figure 21 : Inclusion (Enrobage)

Figure 22 : Congélateur

Figure 23 : Microscope photonique (OPTIKA)

Figure 24 : Microscope photonique Leica

Figure 25 : L'étuve Binder

Figure 26 : Hotte pour le montage de classe II.

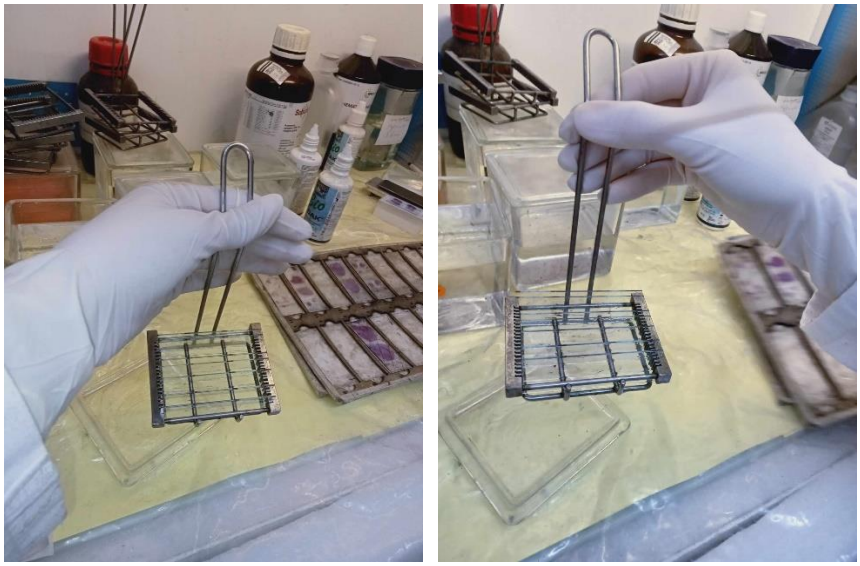


Figure 27 : Le montage des lames et lamelles

Figure 28 : Cassettes d'inclusion en plastiques

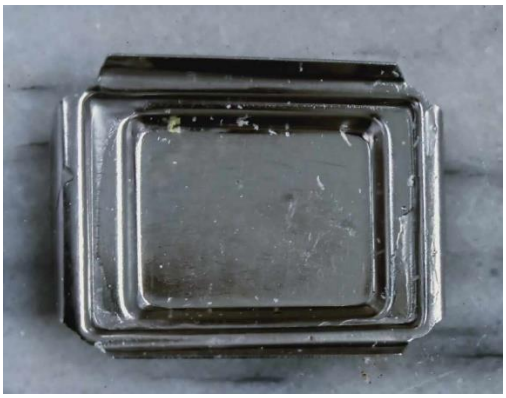


Figure 30 : Moule en métal

Figure 31 : Les testicules avant la circulation

Figure 32 : Les testicules après la circulation

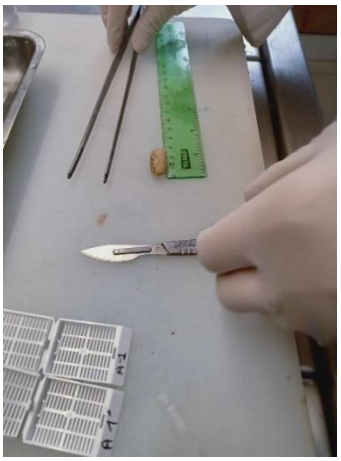


Figure 33 : La macroscopie et mis en cassettes les testicules

Figure 34 : Trousse de dissection

Figure 35 : Graveur

Figure 36 : Eukitt Specilab

Figure 37 : Acetamipride 20% et solution de gavage.

Figure 38 : Hématoxyline de Harris

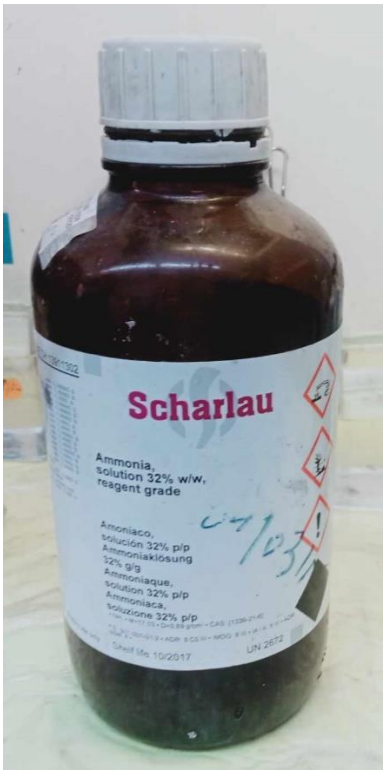


Figure 39 : Ammoniac, solution 23%

Annexes 2

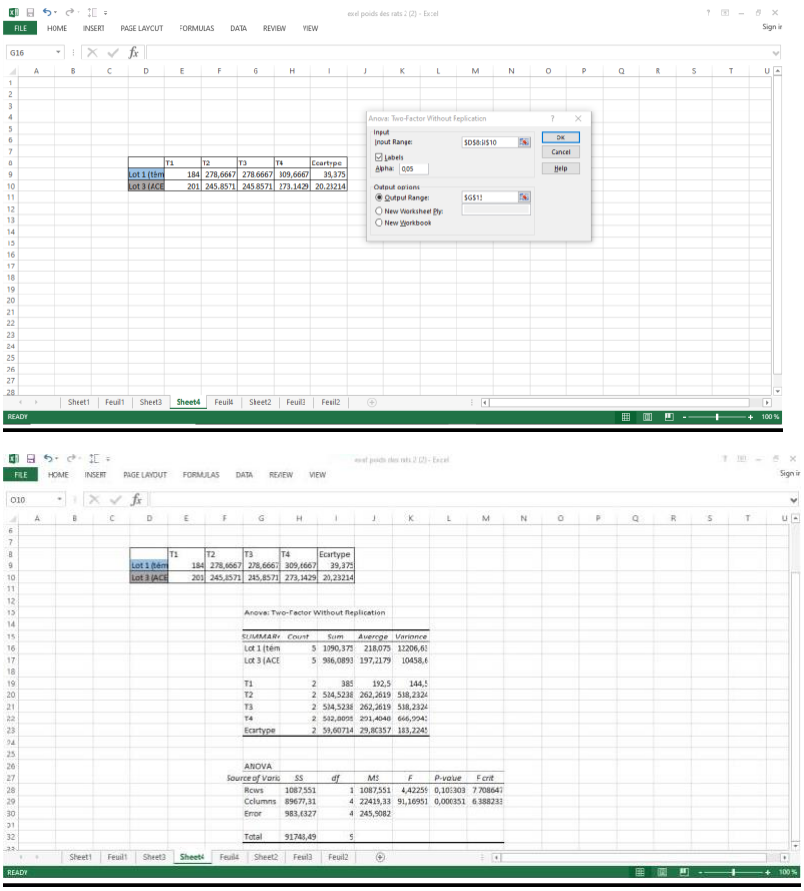


Figure 40 : Analyse de variance ANOVA

<u>Tableaux VI</u> : Analyse de variance entre le lot des témoins négatifs et le lot des rats traités par l'acétamipride

Lots/temps (semaine)	T1	T2	T3	T4
Lot 1 (témoin)	184	278,666667	278,666667	309,666667
Lot 2 (ACE)	185,25	227,5	227,5	250,5

Analyse de variance: deux facteurs sans répétition d'expérience

RAPPORT DÉTAILLÉ	*Nombre d'échantillons*	*Somme*	*Moyenne*	*Variance*
Lot 1 (témoin)	4	1051	262,75	2969,80556
Lot 2 (ACE)	4	890,75	222,6875	740,473958
T1	2	369,25	184,625	0,78125
T2	2	506,166667	253,083333	1309,01389
T3	2	506,166667	253,083333	1309,01389
T4	2	560,166667	280,083333	1750,34722

Source des variations	*Somme des carrés*	*egré de libert*	*yenne des ca*	*F*	*Probabilité*	*Valeur critique pour F*
Lignes	3210,007813	1	3210,00781	8,30784318	0,063408172	10,12796449
Colonnes	9971,690104	3	3323,8967	8,60259979	0,055234374	9,276628153
Erreur	1159,148438	3	386,382813			
Total	14340,84635	7				

- On accepte H0 car la valeur de p value est supérieure à 0,05, ce qui indique que les poids des rats dans les deux lots ne présentent pas de différence significative.

<u>Tableaux VII</u> : Analyse de variance entre le lot des témoins négatifs et le lot des témoins positifs (plantes)

Lots/temps (semaine)	T1	T2	T3	T4
Lot 1 (témoin)	184	278,666667	278,666667	309,666667
Lot 4 (Plante)	198,5	241,25	241,25	268,25

Analyse de variance : deux facteurs sans répétition d'expérience

RAPPORT DÉTAILLÉ	*Nombre d'échantillons*	*Somme*	*Moyenne*	*Variance*
Ligne 1	4	1051	262,75	2969,80556
Ligne 2	4	949,25	237,3125	831,515625
Colonne 1	2	382,5	191,25	105,125
Colonne 2	2	519,916667	259,958333	700,003472
Colonne 3	2	519,916667	259,958333	700,003472
Colonne 4	2	577,916667	288,958333	857,670139

Source des variations	*Somme des carrés*	*Degré de liberté*	*Moyenne des carrés*	*F*	*Probabilité*	*Valeur critique pour F*
Lignes	1294,13281	1	1294,13281	3,63292793	0,15272251	10,1279645
Colonnes	10335,2943	3	3445,09809	9,6711813	0,04730723	9,27662815
Erreur	1068,66927	3	356,22309			
Total	12698,0964	7				

● Nous acceptons l'hypothèse alternative (H1) parce que la valeur de p value est inférieure à 0,05, ce qui nous conduit à rejeter l'hypothèse nulle. Alors, il existe une différence significative entre les poids des rats dans les deux lots.

<u>Tableau VIII</u> : Analyse de variance entre le lot des témoins négatifs et le lot traité par l'acétamipride et la plante médicinale

Lots/temps (semaine)	T1	T2	T3	T4
Lot 1 (témoin)	184	278,666667	278,666667	309,666667
Lot 3 (ACE+PLANTE)	201	245,857143	245,857143	273,142857

Analyse de variance : deux facteurs sans répétition d'expérience

RAPPORT DÉTAILLÉ	*Nombre d'échantillons*	*Somme*	*Moyenne*	*Variance*
Lot 1 (témoin)	4	1051	262,75	2969,80556
Lot 3 (ACE+PLANTE)	4	965,857143	241,464286	893,161565
T1	2	385	192,5	144,5
T2	2	524,52381	262,261905	538,232426
T3	2	524,52381	262,261905	538,232426
T4	2	582,809524	291,404762	666,994331

Source des variations	*Somme des carrés*	*Degré de liberté*	*Moyenne des carrés*	*F*	*Probabilité*	*Valeur critique pour F*
Lignes	906,163265	1	906,163265	2,76889499	0,19470071	10,1279645
Colonnes	10607,1054	3	3535,70181	10,8037783	0,04078115	9,27662815
Erreur	981,795918	3	327,265306			
Total	12495,0646	7				

- P value < 0,05 donc, nous rejetons H0 et acceptons H1, alors les poids corporel des rats dans les deux lots pendant la période de traitement sont significativement différents.