

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

*Université de Blida 1*

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*



*Mémoire de fin d'étude*

*En vue d'obtention du diplôme de Master*

*Option : Biologie moléculaire et cellulaire*

*Thème :*

*L'effet de l'acétamipride et les grains de brocoli sur l'aspect  
structurel et cellulaires de la neurohypophyse chez le rat wistar mâle*

*Réalisé par :*

*M<sup>elle</sup> Alem Maroua.*

*et*

*M<sup>elle</sup> Hamadidi Rachida Bouchra*

*Soutenu le 03/07/2025*

*Devant le jury composé de :*

*Mme. SAADI L.*

*Professeur*

*Présidente*

*Université de Blida 1*

*Mme ZATRA Y.*

*Maitre de conférence*

*Examinatrice*

*Université de Blida 1*

*Mme SIFI M.*

*Maitre de conférence*

*Promotrice*

*Université de Blida 1*

*Année universitaire 2024 – 2025*

## **Remerciements**

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à **Allah**, le Tout-Puissant, pour la force, la patience et la volonté qu'Il nous a accordées tout au long de ce travail.*

*Nous remercions sincèrement a **Dr. SIFI**, notre promotrice, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité, ses conseils précieux et sa bienveillance. Son accompagnement a été fondamental, tant sur le plan scientifique que méthodologique.*

*Nos remerciements vont également à **Pr. SAADI**, chef d'option Biologie moléculaire et cellulaire, pour sa confiance, son suivi régulier tout au long de ce travail, ainsi qui nous fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous exprimons aussi notre gratitude à **Dr. ZATRA**, Maître de Conférences au département biologie, pour avoir accepté de faire partie du jury et pour ses remarques constructives et enrichissantes.*

*Nous remercions chaleureusement **Madame ARKAM** pour son accompagnement attentif et son soutien précieux tout au long de la phase expérimentale.*

*Nos remerciements vont à **Madame DEHNANE**, la responsable de la station expérimentale de la Faculté des Sciences de la Nature ainsi qu'à toute son équipe pour l'accueil, leur assistance technique et leur précieuse collaboration tout au long de la phase expérimentale.*

*Nous remercions également **Madame LAMROUSSI** ainsi que toute l'équipe du service d'anatomie pathologique de l'Hôpital Fares Yahia (Koléa, Tipaza) pour leur accueil, leur disponibilité et leur aide dans la réalisation des techniques histologiques.*

*Nos remerciements vont également à **Dr Ben LEMOU**, ainsi qu'à toute l'équipe du service d'anatomie pathologique de l'Hôpital Universitaire Nefissa Hamoud **ex-Parnet (Alger)**, pour leur disponibilité, leur expertise et leur soutien lors la réalisation des techniques immunohistologiques.*

*Enfin, nous exprimons notre profond remerciement à tous les techniciens, collègues et amis qui, de près ou de loin, nous ont soutenus, aidés ou encouragés dans la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers Allah, qui m'a donné la force quand j'étais faible, la patience quand j'étais épuisé, et l'espoir quand le chemin semblait interminable.*

*À mes grand-mères, qui ont quitté ce monde mais jamais mon cœur.*

*À mon chers père Ben Youssef, mon pilier, merci pour semé la confiance en moi, pour ta patience, ton amour inconditionnel. Tu es et tu resteras ma fierté.*

*À ma chère mère, mon repère et ma force, celle qu'aucun mot ne peut décrire, merci pour ton amour, pour tes prières sincères qui ont éclairé mes pas. Tu es mon trésor le plus précieux.*

*À mes chers frères, Amine et Anes, compagnons de vie, merci pour tous les beaux moments. Votre présence est ma plus grande force.*

*À ma chère sœur, Celle qui apporte les couleurs et la vie à nos journées. Merci pour ton encouragement permanent*

*À toute ma famille, merci pour votre amour et prières discrètes, merci du fond du cœur.*

*À ma chère binôme, Bouchra, merci d'avoir partagé ce chemin, merci pour ta patience, ta force et ton amitié sincère, à rendre chaque difficulté plus facile à surmonter.*

*À mes deux perles de cœur, Sara et Lina, merci d'avoir marché à mes côtés dans les hauts comme dans les bas, et d'avoir partagé les doutes, les joies et les fous rires tout au long de chemin.*

*À mes collègues, amis et proches, sans oublier mon petit chat, qui ont été là, pas à pas. Merci pour les moments heureux, le soutien, les encouragements et les souvenirs inoubliables.*

**MAROUA**

## ***Dédicaces***

*En premier lieu, je rends grâce à Allah le Tout-Puissant, qui m'a donné la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*À mes chers parents, Abd el karim et Hassiba, À vous qui m'avez offert un soutien indéfectible, fait tant de sacrifices silencieux et accordé une confiance inestimable : vous avez été les piliers de mon parcours. Grâce à votre présence, vos prières et vos encouragements, j'ai pu avancer avec force et sérénité. Ce mémoire est autant le fruit de votre amour que de mes efforts. Que Dieu vous protège et vous récompense pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

*À mon cher frère Hamza, qui m'a aidée dans les moments les plus difficiles et qui a toujours cru en moi. Merci pour ta présence discrète mais toujours précieuse, pour ton soutien. Tu as su, à ta manière, m'apporter de la force dans les moments de doute. Je dédie ces lignes avec tout l'amour profond, sincère et inconditionnel que je leur porte.*

*À ma chère binôme Maroua, avec qui j'ai partagé les hauts et les bas de ce travail. Merci pour ton soutien constant, ta présence bienveillante, ton engagement sans faille et ta gentillesse qui a rendu cette aventure plus douce.*

*À mes amis de cœur, Salma, Yasmine, Marwa, Amira, à mes chères cousines, Chahira, Rania, Salsabil, Alaa. Votre affection, votre présence joyeuse et vos mots réconfortants ont apporté de la lumière à mon chemin.*

*À mon cher compagnon à quatre pattes, À toi, mon chat, qui as partagé tant de moments de ma vie avec douceur et fidélité. Même si tu n'es plus là, ton souvenir continue de m'accompagner chaque jour.*

*Ainsi qu'à tous mes chers camarades, avec qui j'ai partagé des souvenirs inoubliables et des instants de complicité tout au long de mon parcours. À toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin, je leur exprime toute ma gratitude.*

**BOUCHRA**

## Résumé

La recherche de la toxicité de l'insecticide acétamipride (ACE) chez les mammifères au niveau des différents tissus a fait l'objet de plusieurs études. Dans le présent travail, nous cherchons à étudier la toxicité de l'ACE par voie orale (1/20 DL50, soit 10 mg/kg/jour) sur la structure cellulaires de la neurohypophyse (NH) chez des rats mâles Wistar, ainsi que de déterminer le rôle potentiel des grains de brocoli en tant qu'approche thérapeutique. Vingt-neuf rats wistar mâles adultes ont été répartis en quatre groupes : un lot témoin négatif et autre positif, un lot traité par l'ACE, un lot traité par l'ACE avec supplémentation en grains de brocoli, pendant 37 jours. À la fin de l'expérimentation, 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 par l'ACE avec supplément en grains de brocoli. L'étude histologique de la NH a révélé des modifications structurelles chez les rats exposés à l'ACE, présente une désorganisation cellulaire avec une hypertrophie des pituicytes. Tandis que, le supplément en grains de brocoli chez les rats traités par l'ACE peut favoriser la régénération de l'organisation des tissus. Nos résultats issu d'immunomarquage par les marqueurs cellulaire et moléculaires cible l'anti-CD68, anti-GFAP et anti-P53 confirmer la présence d'une inflammation réponse au stress toxique induit par l'ACE et l'effet préventif des gains de brocoli. En conclusion, ces résultats soulignent la nécessité de contrôler l'usage de l'ACE en raison de son effet toxique sur la structure de la NH, suggèrent que les graines de brocoli semblent une stratégie naturelle efficace qui préserver l'intégrité tissulaire contre les produits toxiques.

**Mots-clés :** Acétamipride, Neurohypophyse, rats wistar, Grains de brocoli, histologie, Immunohistochimie.

## Abstract

The investigation of the toxicity of the insecticide acetamiprid (ACE) in mammals has been the focus of numerous studies, particularly concerning its effects on various tissues. The present study aimed to evaluate the oral toxicity of ACE (1/20 of the LD50, i.e., 10 mg/kg/day) on the cellular structural integrity of the neurohypophysis (NH) in adult male Wistar rats, and to assess the potential protective role of broccoli seeds as a therapeutic strategy. A total of twenty-nine adult male Wistar rats were randomly divided into four groups: a negative control group, a positive control group, an ACE-treated group, and an ACE-treated group supplemented with broccoli seeds. The treatment period lasted 37 days. The results revealed an increase in body weight across all groups, which was statistically significant only in the group receiving both ACE and broccoli seed supplementation. Histological examination of the neurohypophysis demonstrated marked structural alterations in rats exposed to ACE, characterized by cellular disorganization and pituicytes hypertrophy. Conversely, supplementation with broccoli seeds in ACE-treated rats appeared to promote the restoration of normal tissue architecture. Immunohistochemical analysis using cellular and molecular markers (anti-CD68, anti-GFAP, and anti-P53) confirmed the presence of inflammation as a response to ACE-induced toxic stress, as well as the protective effects of broccoli seeds. In conclusion, these findings highlight the potential toxicity of ACE on the neurohypophysis and suggest that broccoli seeds may represent a promising natural strategy to preserve tissue integrity against toxic insults.

**Key words:** Acetamiprid, Neurohypophysis, wistar rat, Broccoli seeds, histology  
Immunohistochemistry.

## المخلص

شكلت دراسة سمية مبيد الحشرات أسيتامبيريد (ACE) لدى الثدييات، ولا سيما على مستوى الأنسجة المختلفة، محور العديد من الأبحاث. يهدف هذا العمل إلى تقييم السمية الفموية للأسيتامبيريد (20/1 من الجرعة المميطة 50، أي 10 ملغ/كغ/يوم) على البنية النسيجية للغدة النخامية العصبية (Neurohypophyse) لدى ذكور الجرذان البالغة من سلالة ويستار، بالإضافة إلى دراسة الدور الوقائي المحتمل لبذور البروكلي كنهج علاجي طبيعي. تم تقسيم تسعة وعشرين جرّدًا بالغًا من ذكور ويستار عشوائيًا إلى أربعة مجموعات: مجموعة شاهد سلبي، مجموعة شاهد إيجابي، مجموعة معالجة بالأسيتامبيريد، ومجموعة معالجة بالأسيتامبيريد مع مكملات بذور البروكلي، وذلك لمدة 37 يومًا. أظهرت النتائج ارتفاعًا في الوزن الجسماني لدى جميع المجموعات، حيث كانت الزيادة ذات دلالة إحصائية فقط في المجموعة المعالجة بالأسيتامبيريد والمكملة ببذور البروكلي. كما كشفت الدراسة النسيجية للغدة النخامية العصبية عن تغيّرات بنوية واضحة لدى الجرذان المعالجة بالأسيتامبيريد، تمثلت في اضطراب التنظيم الخلوي وتضخم الخلايا النخامية (Pituicytes) بالمقابل، ساهمت مكملات بذور البروكلي في تحسين تنظيم النسيج واستعادة بنيته الطبيعية لدى الجرذان المعالجة بالأسيتامبيريد. علاوة على ذلك، أكدت التحاليل المناعية النسيجية باستخدام المؤشرات الخلوية والجزئية (مضاد CD68 ، مضاد GFAP ، مضاد P53) وجود استجابة التهابية عصبية ناجمة عن الإجهاد السام الناتج عن الأسيتامبيريد، بالإضافة إلى التأثير الوقائي لبذور البروكلي. ختامًا، تبرز هذه النتائج التأثير السام المحتمل للأسيتامبيريد على بنية الغدة النخامية العصبية، كما تقترح أن بذور البروكلي قد تمثل استراتيجية طبيعية واعدة للحفاظ على سلامة الأنسجة في مواجهة التأثيرات السامة.

**الكلمات المفتاحية:** الأسيتامبيريد، الفص الخلفي للغدة النخامية ، جرد ويستار، بذور البروكلي، علم الانسجة، التأثير المناعي النسيجي.

# SOMMAIRE

## Résumé

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## CHAPITRE I Rappels bibliographiques

<b>I.GENERALITES SUR L'ACETAMIPRIDE</b> .....	3
---	---

I.1 Définition et domaines d'utilisation .....	3
--	---

I.2 Caractéristiques physico-chimique de l'acétamiprid .....	3
--	---

I.3 Mode d'action .....	5
-------------------------	---

I.4 Toxicocénitique .....	6
---------------------------	---

I.4.1 Absorption.....	6
-----------------------	---

I.4.2 Distribution .....	6
--------------------------	---

I.4.3 Métabolisme .....	6
-------------------------	---

I.4.4 Elimination .....	6
-------------------------	---

I.4.5 Les principales voies d'exposition .....	7
--	---

I.5 Toxicité de l'acétamipride .....	7
--------------------------------------	---

<b>II. GENERALITES SUR LA NEUROHYPOPHYSE</b> .....	8
--	---

II.1. Organisation générale.....	8
----------------------------------	---

II. 1.1 Composante nerveuse de la neurohypophyse .....	9
--	---

II.1.2. Composante gliale de la neurohypophyse .....	10
--	----

II.1.2.1 Les pituicytes .....	10
-------------------------------	----

II.1.2.2 Les microglie.....	10
-----------------------------	----

II.1.2.3 Les cellules endothéliales .....	10
---	----

II.2 Vascularisation de la neurohypophyse .....	11
---	----

II.3. La Physiologie de la neurohypophyse .....	11
---	----

<b>III. GENERALITES SUR LE BROCOLI BRASSICA OLERACEA VAR ITALICA</b> .....	12
--	----

III.1 Classification et description botanique .....	12
---	----

III.2 Origine et répartition géographique du Brocoli.....	13
---	----

III.3 Constituants biochimiques .....	14
---------------------------------------	----

III.3.1 Composantes Nutritionnelles.....	14
--	----

III.3.1.1 Protéines et acides aminés .....	14
III.3.1.2 Lipides .....	14
III.3.1.3 Les glucides .....	14
III.3.1.5 Vitamines et minéraux.....	14
III.3.2 Composantes phytochimiques .....	15
III.3.2.1 Les glucosinolates .....	15
III.3.2.2 Sulforaphane .....	15
III.3.2.3 Composés phénoliques .....	15
III.3.2.3.1 Flavonoïdes .....	16
III.3.2.5 Caroténoïdes .....	16
III.4 Les activités biologiques du brocoli .....	16
III.4.1 Activité antioxydant .....	16
III.4.2 Activités anti bactérienne : .....	17
III.4.3 Activité anti inflammatoire.....	17
III.4.4 Activité anticancéreuse :.....	18

## **CHAPITRE II Matériel et Méthodes**

<b>II.1 Matériel</b> .....	19
II.1.1 Matériel biologique .....	19
II.1.1.1 Animaux.....	19
II.1.1.2 Matériel végétal .....	19
II.1.2 Matériel non biologique.....	20
II.1.3 Préparation des produits chimiques.....	20
II.1.3.1 Solution d'Acétamipride.....	20
II.1.4 Préparation des croquettes à base de grains de brocoli .....	20
<b>II.2 Méthodes</b> .....	21
II.2.1 Expérimentation .....	21
II.2.2 Sacrifice des animaux et prélèvement des hypophyses .....	21
II.2.2.2 Fixation par perfusion .....	22
II.2.3 Etude histologique.....	23

II.2.3.1 Déshydratation.....	23
II.2.3.2 Inclusion et mise en bloc .....	23
II.2.3.3 Confection des coupes .....	23
II.2.3.4 Coloration et montage.....	23
II.2.3.5 Observation microscopique.....	24
II.2.4 Immunohistochimie .....	24
II.2.5 Analyse statistique.....	27
 <b>CHAPITRE III Résultats et Discussion</b>	
<b>III. 1 Résultats</b> .....	28
III.1.1 Evolution du poids corporel des rats.....	28
III.1.2 Analyse des résultats histologiques .....	29
III.1.2.1 L'analyse histologique de la neurohypophyse des rats témoins négatifs et positifs .....	29
III.1.2.3 L'analyse histologique de la neurohypophyse des rats traités par l'acétamipride.....	30
III.1.2.3 Histologie des neurohypophyses des rats traités par l'acétamipride supplémentés par les grains de brocoli.....	32
III.1.3 Analyse des résultats des marquages immunohistochimie.....	33
III.1.3.1 Marquage Anti-CD68.....	33
III.1.3.2 Marquage Anti-GFAP .....	35
III.1.3.3 Le marqueur Anti-P53.....	37
<b>III. 2 Discussion</b> .....	39
<b>Conclusion et Perspectives</b> .....	46
<b>Références bibliographiques</b> .....	48
<b>Annexes</b>	

## LISTE DES FIGURES

N°	Titres	Page
<b>Figure1</b>	La régulation des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine en présence d'acétylcholine ou de néonicotinoïdes.	5
<b>Figure2</b>	Voie de métabolisme de l'acétamipride dans l'organisme.	6
<b>Figure3</b>	Organisation histologique du lobe nerveux.	9
<b>Figure4</b>	Représentation schématique de la vascularisation de l'hypophyse	11
<b>Figure5</b>	les parties botaniques de brocoli.	13
<b>Figure6</b>	La structure générale des glucosinolates.	15
<b>Figure7</b>	La structure générale de sulforaphane.	15
<b>Figure8</b>	La structure des dérivés composés phénoliques.	16
<b>Figure9</b>	Rat wistar mâles.	19
<b>Figure10</b>	Les graines de Brocoli.	20
<b>Figure11</b>	Croquettes a base des grains de brocoli	21
<b>Figure12</b>	Méthodes d'immunréaction indirecte	25
<b>Figure13</b>	Automate Leica BOND-MAX spécialisé d'immunohistochimie.	25
<b>Figure14</b>	Représentation graphique de l'évolution du poids corporels des rats exprimée par la moyenne $\pm$ ESM	29
<b>Figure15</b>	structure générale de l'hypophysechez le rat wistar mâle.	29
<b>Figure16</b>	Aspect structurale de la neurohypophyse chez les rats témoins négatifs et positifs.	30
<b>Figure17</b>	Aspect structurale de la neurohypophyse chez les rats traites par l'ACE.	31

<b>Figure18</b>	Représentation graphique de la taille moyenne des noyaux des pittaicytes de NH exprimée par la moyenne $\pm$ ESM, *: $P < 0.05$ .	32
<b>Figure19</b>	Aspect Structurale de la neurohypophyse des rats traités par l'acétamipride supplémentés par les grains de brocoli.	33
<b>Figure20</b>	Immunomarquage deCD68dans la neurohypophyse chez les rats témoin.	34
<b>Figure21</b>	Immunomarquage deCD68dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE.	34
<b>Figure22</b>	Immunomarquage deCD68 dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ace supplémenté en grains de brocoli.	35
<b>Figure23</b>	Immunomarquage de GFAP dans la neurohypophyse chez les rats témoins.	36
<b>Figure24</b>	Immunomarquage de GFAP dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE.	36
<b>Figure25</b>	Immunomarquage de GFAP dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE supplémenté en brocoli.	37
<b>Figure26</b>	Immunomarquage de P53 dans la neurohypophyse chez les rats témoins.	38
<b>Figure27</b>	Immunomarquage de P53 dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE.	38
<b>Figure28</b>	Immunomarquage de P53 dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE supplémenté en brocoli.	39

## LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	
<b>I</b>	Les principales caractéristiques physicochimiques de l'acétamipride.	4
<b>II</b>	Fiche technique des anticorps primaires et secondaire utilisés.	26
<b>III</b>	Fiche technique d'anticorps secondaire utilisés.	27

## Liste des abréviations

**ACE** : Acétamipride.

**ACh** : Acétylcholine.

**AChE** : Acétylcholinestérase.

**AVP** : Arginine-Vasopressine ou Vasopressine

**CD68** : (Cluster of Différentiation 68) marqueur spécifique des macrophages et des microglies activées

**DL50** : Dose létale 50 d'une substance provoquant la mort de 50 % d'une population testée.

**DST** : Dilatations subterminales

**ER1** : Epitope Retrieval PH= 6 (citrate)

**ER2**: Epitope Retrieval PH= 9 (EDTA)

**GSL**: Glucosinolates

**iNOS** : Inducible Nitric Oxide Synthase

**nAChR** : Récepteur nicotinique de l'acétylcholine

**NF- $\kappa$ B**: (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

**NH** : Neurohypophyse

**NMCs** : Cellules neurosécrétoires magnocellulaires

**Nrf2**: (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2)

**OT** : Hormone Ocytocine

**P53** : Protéine suppresseur de tumeur p53.

**Récepteur OTR** : Récepteur de l'ocytocine (Oxytocin Receptor)

**Récepteurs de type V2**: Récepteurs de la vasopressine de type V2

**SFN** : Sulforaphane

**SNC** : Système nerveux central

**TN** : Tige pituitaire ou Tige nerveuse

**TNF $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale alpha

# *Introduction*

Les néonicotinoïdes constituent aujourd'hui la classe d'insecticides la plus utilisée mondialement, en particulier par enrobage des semences pour la protection des cultures. Parmi ces insecticides, l'acétamipride (ACE) le plus utilisé en Algérie par les agriculteurs grâce à son bon rapport qualité/prix. Il offre des avantages dans les activités agricoles pour contrôler remarquablement les insectes, notamment les pucerons et les moustiques, qui causent des dégâts à un grand nombre de cultures telles que le Cotton et le Chou (**Jeschk *et al.*, 2011**). Cependant, son utilisation doit être contrôlée, il est considéré comme un facteur de risque important pour l'environnement et l'homme en raison de sa toxicité. Plusieurs études expérimentales ont montré que l'acétamipride, présente une toxicité non seulement chez les insectes mais également, des symptômes immunotoxiques, néphrotoxiques, neurotoxiques et hépatotoxiques sont observés chez les mammifères (**Sandrock *et al.*, 2014 ; Raj and Joseph, 2015 ; Saadi et al., 2019 ; Shamsi *et al.*, 2021**).

Chez les insectes, l'acétamipride bloque leurs récepteurs nicotiques, ce qui les paralyse et les élimine (**Delauney *et al.*, 2010**). Chez les mammifères, l'acétamipride traverse la barrière hémato-encéphalique et agit comme agoniste des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR), perturbant la neurotransmission cholinergique et induisant un stress oxydatif neuronal. Cette perturbation du système cholinergique est susceptible d'entraîner des déséquilibres métaboliques intracellulaires, favorisant l'activation de voies pro-inflammatoires et la production de radicaux libres, ce qui pourrait compromettre la viabilité neuronale et gliale (**Terayama *et al.*, 2016 ; Albrakati, 2024**). La neurohypophyse (NH), riche, en cellules gliales (pituicytes), axones neuronale et capillaires fenestrés, peut être particulièrement sensible à ces perturbations, en réponse à un stress toxique.

Face à ce risque neurotoxique, les composés bioactifs du brocoli ont suscité un intérêt croissant. Les graines de brocoli (*Brassica oleracea var. italica*) présentent un puissant pouvoir anti-inflammatoire et antioxydant, par ses différents composants, telle que sulforaphane, flavonoïdes, caroténoïdes et autres phytonutriments (**Fahey *et al.*, 2025**). Ces composés sont capables de franchir la barrière hémato-encéphalique et de moduler les réponses neuro-immunes centrales, ce qui leur confère un potentiel neuroprotecteur significatif. Ces propriétés suggèrent que le brocoli pourrait atténuer les altérations neurotoxiques induites par des pesticides comme l'ACE

En absence de données précises sur l'axe hypothalamo-neurohypophysaire, la présente étude se focalise sur l'évaluation des effets de l'ACE sur la neurohypophyse des rats adultes et sur le rôle potentiel de protection conféré par les graines de brocoli. La NH, lobe postérieur de l'hypophyse, sécrète les neurohormones hypothalamiques (vasopressine, ocytocine) et joue un rôle clé dans l'homéostasie (**Fahey *et al.*, 2025**). Nous examinerons l'impact d'une exposition par voie orale de 1/20DL50 de l'ACE, avec ou sans supplément en graines de brocoli, sur la structure histologique de la NH et l'expression de marqueurs moléculaires.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'impact de l'acétamipride sur la structure cellulaires et la fonction de la neurohypophyse, ainsi que d'évaluer si les composants phytochimiques du brocoli peuvent offrir un effet protecteur contre les altérations induites par cette exposition.

Notre travail comporte trois chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur l'insecticide acétamipride, sa toxicité et des généralités sur *Brassica oleracea* var. *italica* et la neurohypophyses. Dans la deuxième partie nous décrivons le matériel et les techniques utilisés. Les résultats obtenus sont rapportés et discutés dans la troisième partie et on terminera par une conclusion et des perspectives.

# *CHAPITRE I*

## *Rappels bibliographiques*

## I.GENERALITES SUR L'ACETAMIPRIDE

### I.1 Définition et domaines d'utilisation

L'acétamipride (ACE) fait partie des sept insecticides néonicotinoïdes qui ont été exploitées depuis leur introduction sur le marché dans les années 90 (Elbert *et al.*, 1991). Il est classé dans la nouvelle classe des chloronicotines (c.à.d. insecticides chloré dérivé de la nicotine) des pesticides systémiques à large spectre, un composé chimique utilisé pour éliminer les insectes nuisibles dans les cultures agricoles et les espaces verts (Jeschke et Nauen, 2010).

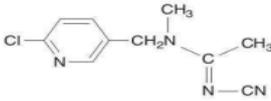
L'acitamipride est la matière active la plus utilisée pour améliorer la productivité et pour la protection phytosanitaire de l'élevage et de la pêche (Delauney *et al.*, 2010). Utilisée efficacement pour la protection des cultures dans les travaux agricoles, vise à lutter contre les hémiptères, principalement les pucerons, les thysanoptères et lépidoptères (Mateu-Sánchez *et al.*, 2003). L'ACE est largement utilisé pour contrôler les infections fongiques des cultures (Rasgele *et al.*, 2015), et pour lutter les puces (Tomizawa and Casida, 2003) et les insectes des feuilles, des légumes, des fruits, les arbres fruitiers, le riz et des plantes ornementales (Saha *et al.*, 2017 ; Moore *et al.*, 2021).

### I.2 Caractéristiques physico-chimique de l'acétamiprid

L'acétamipride ou (E)-N-1- [(6- chloro-3-pyridyl) méthyl] -N-2-cyano-N-1-methyl, un néonicotinoïdes de type cyanoamidine, est une substance soluble dans l'eau ainsi que dans divers solvants organiques, mais il ne s'évapore pas facilement. L'acétamipride est difficilement hydrolysable à un pH physiologique compris entre 4 et 7 (Zoumenou *et al.*, 2015).

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques physicochimiques et réglementaires de l'acétamipride.

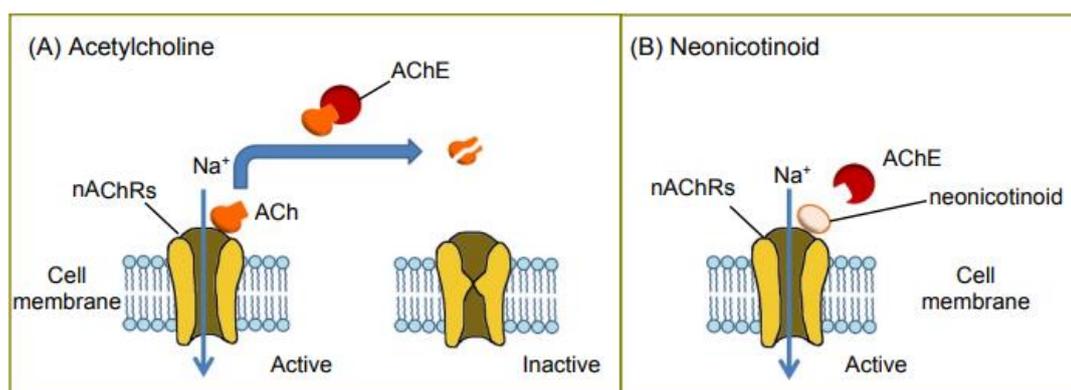
**Tableau I :** Les principales caractéristiques physicochimiques de l'acétamipride  
(Jeschke *et al.*, 2011 ; Testud, 2014).

Propriété	Résultat
État physique et couleur	Poudre blanche , blanc cassé , bleu
Odeur	Inodore
Formule chimique	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>
Structure chimique	
Nom chimique	(E)-N-[(6-Chloro-3-pyridyl)methyl]-N'-cyano-N-méthyléthanimid
Famille chimique	Chloronicotiniles (néonicotinoïdes)
Solubilité	Soluble dans l'eau (2,5 g/L à 25°C) et dans les solvants organiques ; hydrosoluble (3 à 4 g/L selon pH)
Tension de vapeur	< 1 μPa à 25°C
pH	Entre 4 et 7
Persistance d'action	Demi-vie dans le sol entre 1 et 8 jours
Délai avant récolte	3 à 14 jours selon le type de culture
Partage octanol/eau	Faible liaison à la matière organique, donc faible potentiel de bioaccumulation
Dose Journalière Admissible (DJA)	70 μg/kg/jour pour l'homme
Dose journalière (approche réglementaire)	0,07 mg/kg/jour
DL <sub>50</sub> (rat)	195 mg/kg par voie orale ; > 2000 mg/kg par voie dermique
Teneurs max en résidus dans les denrées	0,01 à 5 mg/kg selon le type de culture
Organes cibles	Système nerveux central (SNC) : ataxie, tremblements ; Foie : hypertrophie centro-lobulaire
NOAEL (dose sans effet nocif observé)	7 mg/kg/jour

### I.3 Mode d'action

L'acétamipride possède une forte affinité pour les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR). Chez les mammifères, les (nAChR) sont présents dans le système nerveux périphérique et central, où ils jouent un rôle clé dans la transmission des signaux nerveux, notamment en induisant la contraction des muscles squelettiques. Les nAChR sont également exprimés dans divers types cellulaires, notamment les cellules épithéliales bronchiques, les cellules endothéliales, les lymphocytes, les kératinocytes, les cellules ciliées cochléaires et les cellules chromaffines (Yamamoto and Casida, 1999 ; Kumar and Meizel, 2005). Chez les insectes, ces récepteurs se retrouvent sur les neurones du système nerveux central (Iwasa *et al.*, 2004).

Les insecticides néonicotinoïdes ont la capacité de se lier aux nAChR et imitent l'action de l'acétylcholine (Fig.01) par l'ouverture des canaux ioniques qui permettent l'entrée de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  et la sortie de  $\text{K}^+$  (Tomizawa and Casida, 2001 ; EFSA, 2013). L'activation de nAChRs se traduit souvent par une augmentation de  $\text{Ca}^{2+}$  libre intracellulaire (Zoumenou *et al.*, 2015), ce qui favorise la libération accrue de neurotransmetteurs majeurs tels que la dopamine, la sérotonine, le glutamate et le GABA, contribuant ainsi à des effets neurotoxiques notables (Taly *et al.*, 2009). Lorsque les récepteurs sont suractivés, cela peut conduire à une inhibition prolongée de la transmission synaptique, entraînant un blocage neuromusculaire, et une paralysie mortelle (Zoumenou *et al.*, 2015).



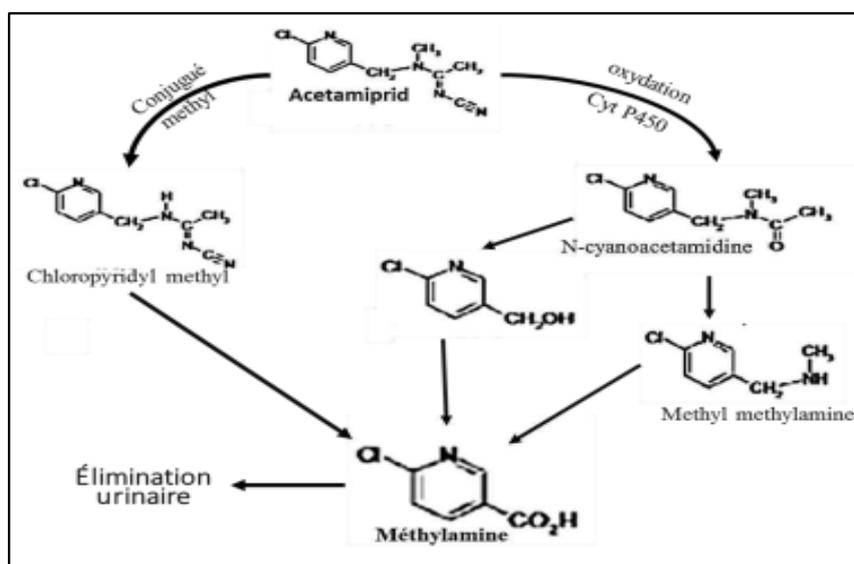
**Figure 01 :** La régulation des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine en présence d'acétylcholine ou de néonicotinoïdes (Chang *et al.*, 2013).

## I.4 Toxicocénitique

**I.4.1 Absorption :** Lors de l'ingestion orale, l'ACE est absorbé rapidement, avec une concentration maximale dans le sang étant atteinte dans environ 2-3 heures (Mattock, 2005), à près de 100 % dans le tractus intestinal (Brunet *et al.*, 2008).

**I.4.2 Distribution :** La distribution digestive est rapide et complète grâce à la nature lipophile de l'ACE qui facilite leur passage de toutes les barrières biologiques. La barrière hémato-méningée des mammifères est très peu perméable au l'acetamipride (Gasmi, 2018). Cet insecticide est largement distribué dans les tissus avec des concentrations plus élevées étant trouvés dans la glande surrénale, le foie et les reins après administration orale chez le rat (Mattock, 2005).

**I.4.3 Métabolisme :** Communes à l'ensemble des molécules, les voies métaboliques d'ACE passent par les enzymes cytochromes P450 cérébraux. Le principal métabolite conduit à N-méthyl-(6-chloro-3-pyridyl)-méthylamine, qui est conjugué au méthyl. L'oxydation d'ACE produit du N-[(6-chloro-3-pyridyl) méthyl] -N-cyanoacetamide, une voie accessoire donnerait naissance à du méthylamine (Gasmi, 2018).



**Figure 02 :** Voie de métabolisme de l'acétamipride dans l'organisme (Gasmi, 2018).

**I.4.4 Elimination :** Dans l'organisme, une fraction de l'ordre de 10% de cet insecticide est éliminée sous forme inchangée. L'ACE est converti en méthylamine, plus active

que la molécule mère. Il n'y a pas d'accumulation d'ACE dans l'organisme, plus de 90 % d'une dose orale sont éliminés en moins de 72 heures, la totalité en 96 heures. Les voies urinaire et fécale sont les principales voies d'élimination pour l'ACE (**Fig. 02**) (**Gasmi, 2018**).

#### I.4.5 Les principales voies d'exposition

✓ **La voie cutanée :** Les études animales de toxicité par voie dermique indiquent qu'elle est vraisemblablement extrêmement faible (**Gasmi, 2018**). Parmi les situations pouvant mener à une intoxication par la voie cutanée sont le mélange à mains nue, les éclaboussures de produit sur la peau et dans les yeux. (**Abdelaziz and Bencherchali, 2016**).

✓ **La voie respiratoire :** Négligeable compte tenu de l'absence de volatilité des molécules d'ACE, dont les tensions de vapeur sont toutes inférieures à 1 Pa à 25°C. Il peut néanmoins exister une déglutition secondaire de microgouttelettes d'aérosols inhalée (**Gasmi, 2018**). La voie respiratoire constitue la voie d'intoxication la plus rapide et la plus directe (**Abdelaziz and Bencherchali, 2016**).

✓ **La voie orale :** L'ACE est fortement toxique par voie orale. La contamination de la voie gastro-intestinale se produit principalement par un contact de la bouche avec les mains contaminées (**Abdelaziz and Bencherchali, 2016**).

#### I.5 Toxicité de l'acétamipride

L'acétamipride a une large gamme d'influence sur les fonctions physiologiques chez les mammifères présentant une toxicité aiguë et chronique. Cette toxicité reste inférieure à ce qu'elle est pour les insectes (**Tomizawa et Casida, 2005 ; Jeschke et al., 2011**).

Chez les humains, les manifestations cliniques d'empoisonnement aigu d'ACE après inhalation incluent des vomissements, l'hypotension, la tachycardie, le coma (**Chen et al., 2014**). L'inhalation des poussières d'ACE fait apparaître une irritation de bouche et des poumons avec hypersécrétion bronchique (**Woodcock et al., 2016**). Plusieurs études ont considéré l'ACE comme un perturbateur endocrinien principalement au niveau de la thyroïde (**Michel, 2015**), et suspecte des effets sur la reproduction chez les animaux (**Jeschke et al., 2011 ; Chen et al., 2014**).

En outre, des études sur les animaux ont montré des signes cliniques de neurotoxicité, conduise à des anomalies morphologiques du développement cérébral et des troubles du comportement chez les mammifères (**Guedegba et al., 2019**). Lorsque le taux d'un insecticide organophosphoré, est élevé chez la femme enceinte, le développement de fonctions cognitives de

l'enfant est altéré et cela est associé à des altérations anatomiques observées par imagerie cérébrale (Juricek et Coumoul , 2014).

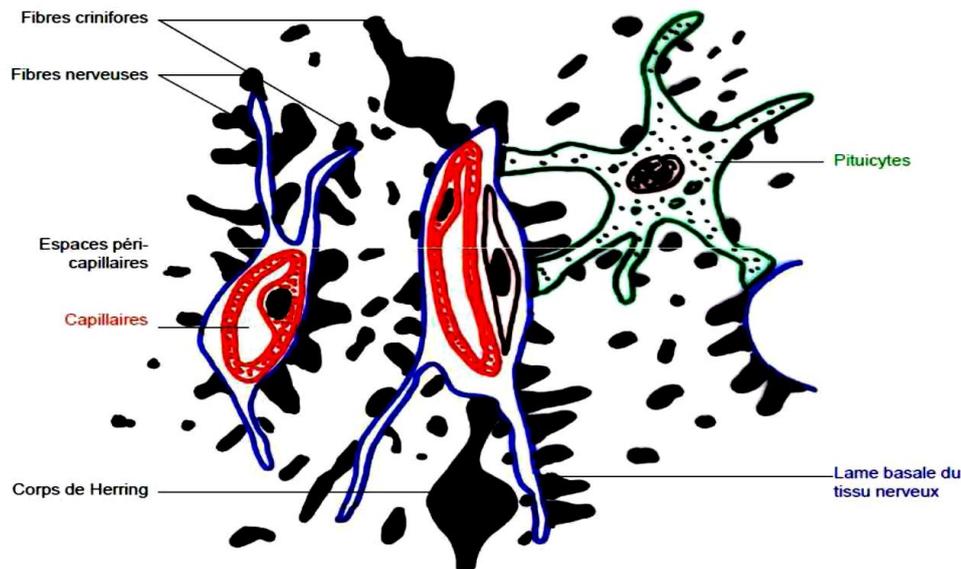
L'exposition à l'ACE au stade de développement réduit le nombre des cellules nerveuses, ce qui contribue à des déficits neurocomportementaux, et engendre un changement transcriptionnel des gènes du cycle cellulaire et favorisé l'apoptose neuronal (Gasmi, 2018).

Des recherches antérieures in vitro, montrent que l'ACE présente une génotoxicité et une cytotoxicité pour les lymphocytes du sang périphérique humain, ce qui indique que l'ACE peut induire des dommages à l'ADN (Li *et al.*, 2011).

## II. GENERALITES SUR LA NEUROHYPOPHYSE

### II.1. Organisation générale :

La neurohypophyse constitue l'un des trois lobes de l'hypophyse d'origine neuroectodermique (plancher du 3<sup>ème</sup> ventricule). La structure histologique de la neurohypophyse est composée d'un matériel fibrillaire de densité variable, dû à la présence des fibres amyéliniques et aux terminaisons nerveuses des NMCs issus des différents noyaux magnocellulaires. Ces derniers, rentrent en contact avec les capillaires sanguins fenestrés caractérisés par des cellules endothéliales discontinues doublées d'une lame basale. Ces capillaires sont entourés par des expansions de pituicytes qui sont des cellules gliales astrocytaires spécifiques et adaptées au neurohypophyse (Hatton, 1988). Les corps de Herring, dispersées dans le matériel fibrillaire, résultent de l'accumulation des produits de sécrétion (L'ocytocine et/ou vasopressine) dans les terminaisons dilatées des axones hypothalamiques (Fig. 3).



**Figure 03 :** Organisation histologique du lobe nerveux (Ribadeau et Poirier, 1974)

## II. 1.1 Composantes nerveuses de la neurohypophyse

La partie nerveuse de la neurohypophyse est constituée des terminaisons nerveuses (TN) et des dilatations subterminales (DsT) qui occupent la moitié de son volume (Nordmann et Morris, 1984). Ces deux structures contiennent une variété des structures membranaires comprenant des lysosomes, des vacuoles, des mitochondries, des microvésicules et des granules à « core » dense volume (Nordmann et Morris, 1984).

Les terminaisons nerveuses sont caractérisées par la présence massive de microvésicules et de mitochondries, de quelques granules denses aux électrons et des ARNm codant pour l'AVP et l'OT. Elles ont toujours été considérées comme étant les sites actifs de la sécrétion hormonale car le taux de sécrétion à partir des TN est trois fois plus important que celui à partir des DsT (Lemoullec *et al.*, 1997).

Les dilatations subterminales contiennent très peu de microvésicules mais sont enrichies en granules de sécrétion en contact étroit les uns avec les autres (Morris, 1976 ; Toescu and Morris, 1990). Les granules de sécrétion à « core » dense se divisent en deux populations qui se distinguent par leurs tailles, leurs PH, leurs densités et leurs localisations. Les granules de haute densité se localisent au niveau des terminaisons nerveuses et constituent la population des granules prêts à la sécrétion. Ces granules sont appelés « jeunes granules ». Ceux de faible densité sont retrouvés dans les dilatations subterminales et sont destinés au stockage. Les granules de cette population sont appelés « vieux granules » (Nordmann et Labouesse, 1981).

### II.1.2. Composante gliale de la neurohypophyse

La partie gliale de la neurohypophyse est formée essentiellement de :

**II.1.2.1 Les pituicytes** : qui constituent environ 30% du volume total de neurohypophyse (**Hatton, 1997**). Ces cellules sont caractérisées par une forme étoilée, un noyau allongé de grande taille et de nombreuses inclusions lipidiques (**Wittkowski, 1986**). Les pituicytes ont des contacts très rapprochés avec les TN (**Hatton, 1988**). Par des fins prolongements, les pituicytes s'intercalent entre d'une part, les terminaisons nerveuses des NMCs et d'autre part, entre ces terminaisons et les capillaires. La réorganisation structurale des pituicytes est en relation avec le stade fonctionnel de neurohypophyse (**Hatton, 1988**).

En microscope optique, on reconnaît le pituicyte à son noyau volumineux à importante euchromatine. Les pituicytes jouent un rôle de support, de nutrition. Ces cellules sont aussi capables de moduler la neurosécrétion par leur changement morphologique (plasticité) en rétractant leurs prolongements, pour faciliter la sécrétion hormonale (**Maolood, 2007**).

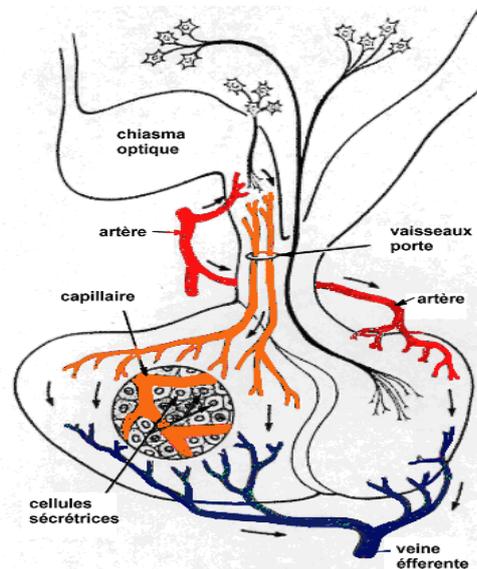
**II.1.2.2 Les microglies** : Ces cellules sont petites, à localisation péri vasculaire dans lesquelles les lysosomes secondaires sont communs (**Perez Figares et al., 1986**). Leur noyau est dense, arrondi ou ovalaire. Dans les coupes classiques, on les repère difficilement. En microscopie électronique, elles sont reconnaissables parce qu'elles possèdent de nombreux et volumineux lysosomes. Les cellules de la microglie sont l'équivalent dans le système nerveux central des macrophages trouvés dans les autres tissus. Elles interviennent en réponse à un stress hydrique ou inflammatoire (**Audinat et Arnoux, 2014**).

**II.1.2.3 Les cellules endothéliales** : Sont reconnaissables à leurs noyaux denses, allongés en coupes longitudinale, petits et ronds en coupe transversale. Leur cytoplasme limite la lumière des vaisseaux.

### II.2 Vascularisation de la neurohypophyse

La vascularisation de la neurohypophyse se caractérise par la présence de deux artères hypophysaires issues de la carotide interne : Une artère hypophysaire supérieure qui se résout à un complexe capillaire d'où émerge le vaisseau porte et qui irrigue les zones externes de l'éminence médiane, de la tige hypophysaire et l'hypophyse antérieure. Une deuxième artère hypophysaire, inférieure qui assure la vascularisation de la tige hypophysaire et de la neurohypophyse. Le retour sanguin est assuré par la veine jugulaire et par la veine hypophysaire

(**Paturet, 1964**). Le réseau post-hypophysaire provient de l'artère hypophysaire inférieure qui constitue la seule source artérielle de la NH (**Fig. 4**). Les capillaires de la neurohypophyse sont drainés par des veines efférentes qui se jettent également dans les sinus de la dure-mère (**Paturet, 1964**).



**Figure 04** : Représentation schématique de la vascularisation de l'hypophyse  
(**Ribadeau et Poirier, 1974**)

### II.3. La Physiologie de la neurohypophyse

La neurohypophyse, se concentre sur son rôle dans le stockage et la libération d'hormones synthétisées par l'hypothalamus. L'ocytocine (OT) impliquée dans la parturition et la lactation (**Richard et al., 1991**) et la vasopressine (AVP) qui participe à la régulation de l'équilibre hydrominéral et à la vasoconstriction (**Ludwig, 1998**). Ces deux neurohormones présentent une grande analogie structurale, différent que par deux acides aminés en position 3 et 8. Elle sont sécrétées principalement par les neurones magnocellulaires du système hypothalamo-neurohypophysaire, libérées au niveau de la NH et transportées par la circulation générale jusqu'aux tissus cibles périphériques, là où ils vont exercer leurs effets biologiques en interagissant avec des récepteurs spécifiques (**Brownstein et al., 1980 ; Sladek, 1999**).

Le rôle biologique le plus important de l'AVP est la régulation de l'excrétion de l'eau. L'AVP exerce son action antidiurétique au niveau du tubule collecteur du rein où sont exprimés des récepteurs de type V2. Quant à l'OT, bien qu'elle soit impliquée majoritairement dans la reproduction, elle exerce également une action natriurétique (**Verbalis et al., 1991 ; Ozaki et al.,**

2004). Elle exerce son effet via son récepteur OTR situé sur la macula densa et les tubules proximaux (Verbalis *et al.*, 1991).

### III. Généralités sur le brocoli *Brassica Oleracea var italica*

#### III.1 Classification et description botanique :

Le brocoli (*Brassica oleracea var. italica*) est un légume crucifère appartenant à la famille des Brassicaceae, reconnue pour sa diversité, comprenant environ 338 genres et 3709 espèces (Franzke *et al.*, 2011 ; Hasanuzzaman, 2020). Il est étroitement lié au chou-fleur, chou frisé et aux choux de Bruxelles (Ilahy *et al.*, 2020). Ce légume très recommandé pour la consommation en raison de son excellent potentiel nutritionnel, sanitaire et sa grande valeur économique (Gudiño *et al.*, 2024).

Sa classification taxonomique se présente comme suivant :

- **Règne** : Plantae Haeckel.
- **Sous-Règne** : Viridae Plantae.
- **Classe** : Equisetopsida C.
- **Sous-Classe** : Magnoliidae.
- **Ordre** : Brassicales.
- **Famille** : Brassicaceae.
- **Genre** : Brassica L.
- **Espèce** : Brassica Oleracea L.
- **Sous-Espèce** : Brassica Oleracea subsp. Botrytis (L.).
- **Variété** : Brassica Oleracea Var. Italica.

(Broccoli taxonomic hierarchy, 2022)

Le brocoli est une plante herbacée pouvant atteindre une hauteur de 40 à 80 cm. Il se compose de quatre parties principales : une racine pivotante, des feuilles vertes foncé, profondément découpées et pétiolées, une tige verdâtre. La quatrième partie est une inflorescence terminale appelée « fleur comestible », composée de boutons floraux regroupés en une masse globulaire lesquels forment la partie consommée du légume (Cheo *et al.*, 2001; Syed *et al.*, 2023). Selon le type variétal et les conditions climatiques de la région, cette espèce peut être cultivé

comme une culture annuelle, bisannuelle lorsqu'il fleurit la deuxième année ou encore pérenne (Gray, 1982 ; Martin et Sideman, 2012).



**Figure 05 :** les parties botaniques de brocoli (Quizhpe *et al.*, 2024).

### III.2 Origine et répartition géographique du Brocoli

*Brassica oleracea* est une espèce importante qui provient de la région méditerranéenne orientale, en particulier dans les zones au climat méditerranéen, tempéré ou froid de l'hémisphère nord (Dixon, 2006 ; Babula *et al.*, 2007). Ce légume populaire était connu des Grecs il y a 2 500 ans, puis introduit au Royaume-Uni dans les années 1700, puis aux États-Unis et en Chine dans les années 1800. Par la suite, il a été réparti dans le monde entier sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique (Buck, 1956 ; Franzke *et al.*, 2011 ; Han *et al.*, 2021). Le principal centre de diversité du brocoli se situe dans le sud de l'Italie, notamment en Sicile ainsi que dans d'autres îles italiennes, en raison de la grande variété de cultivars locaux encore présents aujourd'hui (Brinckmann et Williams, 2021).

A l'échelle mondiale, la production de brocoli a connu une augmentation notable. La majeure partie productrice est concentrée en Chine et en Inde, suivies par les États-Unis, l'Espagne, l'Italie et le Mexique (FAOSTAT, 2024).

### III.3 Constituants biochimiques

Ces dernières années, les légumes crucifères en général, et le brocoli en particulier, ont attiré l'attention en raison de leur réservoir en nutriments et également de riches sources de composés azotés soufrés (glucosinolates et isothiocyanates), et des teneurs élevées en composés phénoliques (Shankar *et al.*, 2019 ; Le *et al.*, 2020 ; Peña *et al.*, 2022).

#### III.3.1 Composantes Nutritionnelles

**III.3.1.1 Protéines et acides aminés :** le brocoli est riche en albumine, globuline, glutéline, prolamine (Sedlar *et al.*, 2021), avec un profil en acides aminés homogène de tyrosine entre ces parties botaniques, par contre dans les germes l'acide glutamique est le plus dominant (Dufoo-Hurtado *et al.*, 2020 ; Quizhpe *et al.*, 2024).

**III.3.1.2 Lipides :** sont distingué par une forte proportion d'acides gras polyinsaturés, en particulier l'acide  $\alpha$ -linoléique (43 %) suivi de l'acide palmitique et de l'acide linoléique avec respectivement 22 % et 20 % (Quizhpe *et al.*, 2024).

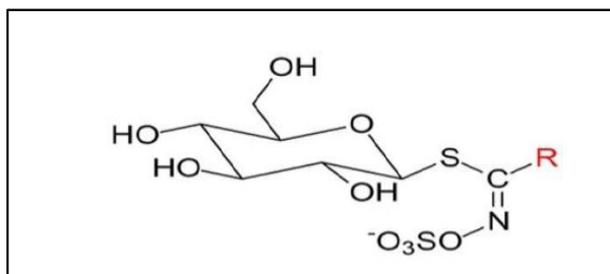
**III.3.1.3 Les glucides :** sont majoritairement constitués d'oligosaccharides, polysaccharidiques, de sucres simples et d'une faible proportion d'amidon (Shi *et al.*, 2019 ; Villaño *et al.*, 2023).

**III.3.1.4 fibres alimentaires :** il contient des fibres alimentaires totales (l'acide uronique, le glucose, le rhamnose et le galactose), fibres alimentaires insolubles (cellulose, d'hémicellulose et de lignine. Et enfin les fibres alimentaires solubles (les pectines, les gommés, les mucilages et les bêta-glucanes) (Rivas *et al.*, 2022 ; Gudiño *et al.*, 2024).

**III.3.1.5 Vitamines et minéraux :** le brocoli est une excellente source (C, K, A) et de minéraux dont le potassium, le calcium et le fer, manganèse, potassium et sélénium qui sont essentiels, aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires reconnues (Syed *et al.*, 2023 ; Gudiño *et al.*, 2024).

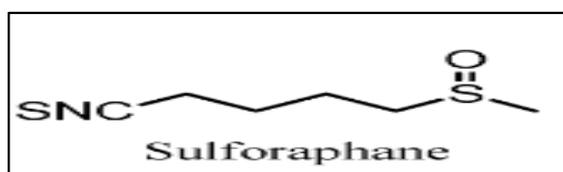
#### III.3.2 Composantes phytochimiques

**III.3.2.1 Les glucosinolates :** sont des composés métaboliques secondaires contenant du soufre organique, et peuvent être divisés en trois groupes principaux (glucosinolates aliphatiques, aromatiques aryles et aromatiques indoliques) selon la structure chimique de leur chaîne latérale (Halkier et Gershenzon, 2006 ; Moreno *et al.*, 2006). Ces composés sont responsables de l'arôme piquant caractéristique et du goût amer de ces légumes (Syed *et al.*, 2023).



**Figure 06 :** La structure générale des glucosinolates (Montaut *et al.*, 2012).

**III.3.2.2 Sulforaphane :** Les graines et les pousses de brocoli présentent une grande capacité à produire du sulforaphane, grâce à la présence de glucoraphanine et de l'enzyme myrosinase endogène. Cette formation résulte de la dégradation de la glucoraphanine, un processus contrôlé par la protéine épithiospécifiante, un cofacteur de la myrosinase, dont l'activité est spécifique à la température. Le rendement du SFN dépend également des conditions d'incubation sélectionnées, telles que le pH, le temps, la température, l'acide ascorbique et l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (Guo *et al.*, 2014 ; Pérez-Balibrea *et al.*, 2011).

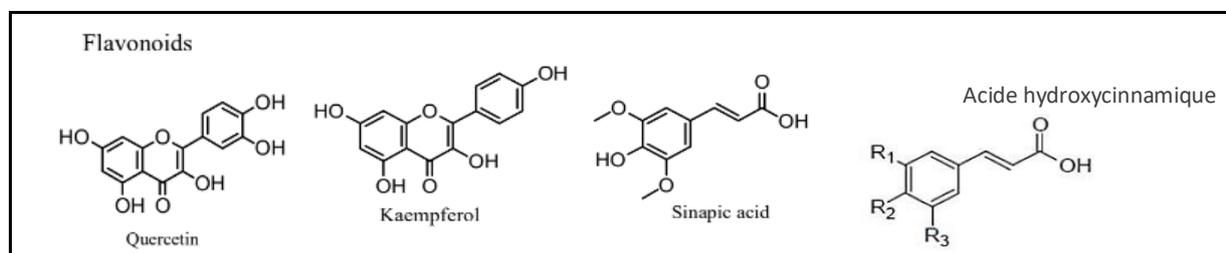


**Figure 07 :** La structure générale de sulforaphane (Ayadi *et al.*, 2022).

**III.3.2.3 Composés phénoliques :** L'intérêt nutritionnel des Brassicaceae est également lié à leur teneur en composés phénoliques. Les glycosides de kaempférol et de quercétine, leurs dérivés en combinaison avec les acides hydrocinnamiques ainsi que les dérivés de l'acide sinapique se sont avérés être les composés phénoliques les plus importants de la famille des brassicaceae (Martínez-Sánchez *et al.*, 2008).

**III.3.2.3.1 Flavonoïdes :** Le brocoli en particulier est une source notable de flavonoïdes notamment de flavonols tels que la quercétine et le kaempférol (Podsdek, 2007). Sont constitué une classe de métabolites secondaires naturels, synthétisés dans les plantes par la voie des phénylpropanoïdes. Par ailleurs, ils suscitent un intérêt croissant en raison de leurs divers

bienfaits pour la santé humaine, notamment leur puissant effet antioxydant et anti-inflammatoire (Pan MH *et al.*, 2010 ; Brunetti *et al.*, 2018).



**Figure 08** : La structure des dérivés composés phénoliques (Crozier *et al.*, 2007 ; Ayadi *et al.*, 2022)

**III.3.2.5 Caroténoïdes** : Le  $\beta$ -carotène, la violaxanthine, la néoxanthine et la lutéine ont été détectés dans les différents tissus du brocoli. Les feuilles présentaient les concentrations les plus élevées avec une grande proportion de la lutéine, représentant respectivement 47,2, 69,2 et 44,2 % dans la fleurette, la tige et la feuille (Liu *et al.*, 2018).

### III.4 Les activités biologiques du brocoli

Les graines de brocoli et leurs composants bioactifs ont un large éventail de propriétés bénéfiques potentielles pour la santé, parmi eux on trouve :

#### III.4.1 Activité antioxydant :

L'extrait de brocoli est un complément antioxydant puissant, capable d'activer certaines voies physiologiques impliquées dans la défense cellulaire contre des substances chimiques toxiques contribuant ainsi à restaurer les fonctions métaboliques normales dans les modèles vivants (Crissman *et al.*, 2004 ; Kikuchi *et al.*, 2015). Les produits de dégradation des glucosinolates (GSL) qui sont responsable de défenses antioxydantes endogènes *in vitro* et *in vivo* en stimulant l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) pour atténuer le stress oxydatif, ainsi que les dommages cellulaires et tissulaires induits par l'exposition à des composés xénobiotiques (Jeffrey et Araya, 2009 ; Danesh *et al.*, 2014). D'autre part, il y a les composés phénoliques, jouent un rôle essentiel dans la neutralisation des ROS, parmi ces composés la quercétine, représente le principale composant des flavonols, se distinguent par leur capacité à piéger les radicaux libres et à chélater les ions des métaux de transition, réduisant ainsi la production de ROS (Azeem *et al.*, 2022).

### III.4.2 Activités anti bactérienne :

Les composés bioactifs (les phénols, les glucosinolates ou les acides organiques) présentes dans certains extraits végétaux comme le brocoli possède des propriétés antibactériennes qui peuvent inhiber la croissance de divers agents pathogènes bactériens, entre autres, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* et *Listeria monocytogenes* (**Johansson et al., 2008 ; Le et al., 2020 ; Triska et al., 2021**). Ces composés pourrait agir comme un inhibiteur de la formation de biofilms et entraîner une réduction de la charge bactérienne (ex : le 3,3'-diindolylméthane (DIM)) (**Golberg et al., 2022**).

Dans ce contexte, l'activité antibactériennes des fluerons de brocoli a été confirmée à l'aide de la technique cryométrie en flux permet d'évaluer les cellules endommagées résultent à la rupture de la membrane cellulaire et à la libération du contenu intracellulaire (**Corrêa et al., 2014**). Par ailleurs, l'efficacité des fluerons contre les bactéries pathogènes, les levures et les champignons a également été démontré grâce à la présence de peptides antimicrobiennes (**Pacheco-Cano et al., 2018**).

### III.4.3 Activité anti inflammatoire

Le brocoli est une source de nutriments, réputé pour ses propriétés anti-inflammatoires significatives, leurs composés bioactifs impressionnants ont été largement étudiés pour leur potentiel thérapeutique notamment dans les conditions liées à l'inflammation. Ces composants phytochimique contribuent à ses effets protecteurs contre le stress oxydatif, l'inflammation chronique, en modulent les voies de signalisation clés, telles que NF- $\kappa$ B et Nrf2, réduisant les cytokines inflammatoires et renforçant les mécanismes de défense cellulaire (**Nallapareddy et al., 2025**). De plus, **Hwang et Lim (2014)** ont rapporté que la production des cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-6 était également inhibée par le brocoli de manière dose-dépendant.

### III.4.4 Activité anticancéreuse :

Il a été démontré que sulforaphane [SF, 1-isothiocyanato-4-(méthylsulfinyl)butane], agissant comme antioxydant, peut inhiber l'activité des facteurs mutagènes (phase I) et activer les enzymes de phase II impliquées dans la détoxification des cancérigènes. Cette action aide à prévenir les dommages à l'ADN, à inhiber l'initiation tumorale, à restreindre la prolifération des cellules cancéreuses et à limiter les métastases des cellules cancéreuses mutées (**Lv et al., 2020 ;**

**Kennelley et al., 2023**). Notamment on distingue différents taux de cytotoxicité contre plusieurs lignées cellulaires cancéreuses selon les diverses parties botaniques de brocoli, sans impact toxique sur les cellules normales (**Le et al., 2020**).

### III.5 Effet de brocoli sur les troubles pathologiques

La consommation de brocoli et d'autres aliments riches en antioxydants dans le cadre d'une alimentation équilibrée peut aider à réduire le stress oxydatif, à soutenir la santé cellulaire et à diminuer le risque de maladies chroniques associées aux dommages oxydatifs, telles que les maladies cardiovasculaires, certains cancers, et les troubles neurodégénératifs (**Ponnampala et al., 2022 ; He et al., 2023**).

Des études antérieures, ont montrés que le brocoli grâce à ses constituants, flavonoïdes et aux composés sulfurés possède une capacité hépatoprotectrice, et présente une valeur thérapeutique potentielle dans le traitement de certains troubles hépatiques (**Al-Howiriny, 2008**). Le brocoli est également utilisé pour traiter d'autres problèmes de santé, tels que le diabète et les troubles de photosensibilité (**Ares et al., 2013 ; Bahadoran et al., 2014**). Autre étude menée sur des rats anémiques induits par la phénylhydrazine a montré que l'extrait aqueux des inflorescences de brocoli possède un potentiel antianémique. Les alcaloïdes, saponines et terpénoïdes, présents dans le brocoli sont responsables de ce potentiel antianémique (**Nagraj et al., 2020**). Enfin, le brocoli a été associé à des effets neuroprotecteurs contre les maladies neurodégénératives incluant la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, l'anxiété (**Zaib et al., 2023**).

# *CHAPITRE II*

## *Matériel et Méthodes*

Notre étude est réalisée dans la période de mois de novembre jusqu'à mois de mai. L'expérimentation animale a été réalisée dans le but de chercher d'une part la toxicité d'une faible dose de l'insecticide acétamipride (1/20DL50 ACE) sur la structure cellulaire de la neurohypophyse chez les rats mâles de souche Wistar. D'autre part, nous avons cherché un probable effet protecteur des graines de brocoli (*Brassica oleracea var. Italia*), co-administrés avec l'ACE.

L'élevage et le traitement des animaux est effectué au niveau de la station expérimentale de la Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Saad Dahlab, Blida 1, Nous avons réalisé la technique histologique dans le laboratoire d'anatomie pathologique du PHE de Docteur Fares Yahia à Kolea Tipaza. Enfin la technique immunohistochimique a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital universitaire Nefissa Hamoud Ex Parnet.

## **II.1 Matériel**

### **II.1.1 Matériel biologique**

#### **II.1.1.1 Animaux**

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein de la station expérimentale de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Saad Dahlab, Blida 1. L'étude est faite sur 29 rats Wistar mâles provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie, ayant un poids corporel compris entre 150 g et 170 g. Parmi ces animaux 19 rats ayant une période d'adaptation de 3 mois.



**Figure 09 :** Rat Wistar mâles (photos originale).

### II.1.1.2 Matériel végétal

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre étude est les graines de brocoli (*Brassica oleracea* var *italica*) sont récupérées du centre Orpin situé à les Roses Blida, broyées en poudre très fine pour la préparation des croquettes.



**Figure 10 :** Les graines de Brocoli (photo originale)

## II.1.2 Matériel non biologique

### II.1.2.1 Appareillages et réactifs

Le matériel est constitué de produits chimiques, de réactifs et d'appareillage utilisée pour mener bien les techniques réalisées (voir annexe).

## II.1.3 Préparation des produits chimiques

### II.1.3.1 Solution d'Acétamipride

L'acétamipride est un insecticide commercialisé par Dekachim et présenté dans un sachet d'aluminium contenant 50g de poudre à 20%. L'acétamipride est utilisé sous forme des solutions pour gavage préparées à raison de 1/20 DL50.

La dose 1/20 DL50 soit 10mg/kg/j d'ACE (EC, 2004 ; EFSA, 2010 ; Williams, 2013).

$$\text{DL 50acétamipride} = 200\text{mg/kg}$$

$$\text{Donc : } 1/20 \text{ DL } 50 \text{ (AC)} = 10\text{mg / kg}$$

Cette dose 1/20DL50 appartient aux différentes doses utilisées dans autres travaux pour son effet toxique.

Les rats wistar ont reçu cette solution en fonction de leurs poids corporel par gavage orale (tableau dans annexe).

#### II.1.4 Préparation des croquettes à base de grains de brocoli

Une alimentation équivalente constituer de 15 g de bouchon alimentaire avec 15g de grains de brocoli broyer pour préparer des croquettes.

Pour chaque rat on a mélangé une quantité de 15 g des graines de brocoli broyées en poudre très fine, mixées avec 15 g de bouchon alimentaire imbibé d'un petit volume d'eau pour former des croquettes. Puis laisser sécher sur une plaque chauffante jusqu'à ce que les croquettes deviennent croustillantes et prêtes à la consommation.



**Figure 11 :** Croquettes a base des grains de brocoli (Photo originale).

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Expérimentation

Après la période d'adaptation, les rats ont été répartis comme suit :

- ✓ **Lot 01 :** 8 rats Témoin négatifs traités par 1ml d'eau distillé par gavage oral avec alimentation de 30g de bouchon alimentaire par rat.
- ✓ **Lot 02 :** 7 rats traités, ont reçu 1/20DL50 d'acétamipride diluée dans de l'eau distillée par gavage oral avec alimentation de 30g de bouchon alimentaire par rat.
- ✓ **Lot 03 :** 7 rats traités, ont reçu 1/20DL50 d'acétamipride diluée dans de l'eau distillée par gavage oral avec une alimentation équivalente de 30g constituer de bouchon alimentaire avec des grains de brocoli par rat.
- ✓ **Lot 04 :** 7 rats témoin positifs traiter par 1ml d'eau distillé par gavage oral avec une alimentation équivalente de 30g constituer de bouchon alimentaire avec des grains de brocoli par rat.

L'expérimentation a duré 37 jours. Durant cette période, les rats ont été pesés chaque semaine le matin pour surveiller l'évolution de leurs poids corporels.

## **II.2.2 Sacrifice des animaux et prélèvement des hypophyses**

A la fin de l'expérimentation, deux méthodes de sacrifice sont réalisées :

**II.2.2.1 le sacrifice par décapitation** : 24 rats sont sacrifiés par une décapitation suivie par dissection afin de prélever l'hypophyse immergés immédiatement dans des flacons étiquetés contenant le formol dilué à 10% pour l'étude histologique.

### **II.2.2.2 Fixation par perfusion**

Le plus souvent, les tissus sont préalablement fixés dans le but de figer les structures et immobiliser in situ les antigènes afin que les structures ne soient pas endommagées et que les antigènes ne soient pas élués par les différents bains réactionnels.

Cette fixation stabilise la structure et l'ultrastructure des échantillons. Elle permet, éventuellement, d'appliquer aux tissus un traitement perméabilisant pour favoriser la pénétration des anticorps à l'intérieur des cellules.

Un rat de chaque lot est anesthésié par injection intra péritonéale, d'une solution d'uréthane à 25%, à raison de 0.5ml par 100g de poids corporel.

Après incision au niveau de la cage thoracique, le cœur est dégagé afin de pratiquer une perfusion intracardiaque de 150 ml de formol 10%, à l'aide d'une pompe péristaltique. Une aiguille à embout rond, fixée au système de perfusion, est introduite dans le ventricule gauche poussé jusqu'à l'aorte où elle est immobilisée par un clamp. Une fente au niveau de l'oreillette droite est pratiquée pour se permettre une circulation ouverte. Le débit de la perfusion est d'environ 13ml/mn. Un clamage préalable de l'aorte descendante sous hépatique permet une fixation rapide de la partie antérieure de l'organisme et ainsi du cerveau, sans grande consommation du produit fixateur.

Après perfusion, les rats sont décapités ; L'hypophyse est délicatement prélevée, post fixée pendant 24h à + 4°C dans le même fixateur par immersion totale.

## **II.2.3 Etude histologique**

Les coupes histologiques des hypophyses des différents lots ont été réalisées au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital Dr. Fares Yahia (Koléa-Tipaza). La technique utilisée est celle proposée par **Martoja, (1967)** à l'héματοxyline-éosine.

Les fragments d'hypophyse sont nettoyés du liquide fixateur, formol 10 % pour conserver le tissu dans un état proche du vivant et sont mis dans des cassettes d'inclusions spéciales.

### **II.2.3.1 Déshydratation**

Les échantillons sont ensuite déshydratés par l'agitation rapide d'un automate spécial de traitement des tissus (LEICA), afin d'éliminer l'eau des tissus en faisant passer les tissus dans des bains successifs d'éthanol croissant (70°, 80°, 95° et 100°), puis dans des bains successifs de xylène pour l'éclaircissement. Enfin dans 2 bains de paraffine liquide qui occupera tous les espaces vides et lever les excès de solvant.

### **II.2.3.2 Inclusion et mise en bloc**

Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine. Les hypophyses baignent dans de la paraffine fondue (chauffée à 56°C pendant 4h dans une étuve) qui permet d'infiltrer toutes les cellules. La mise en bloc par écoulement de la paraffine dans des moules métalliques, puis l'orientation des fragments dans la paraffine, placement des cassettes, les blocs obtenus sont refroidis rapidement sur une plaque métallique réfrigérée pendant environ 15 min.

### **II.2.3.3 Confection des coupes**

Des coupes de 5µm, obtenues par un microtome de type LEICA, sont récupérées en séries régulières sur lames en verres. Les lames sont ensuite séchées dans une étuve au moins 24h avant la coloration.

### **II.2.3.4 Coloration et montage**

Après déparaffinage par un bain de xylène et réhydratation (Dans des bains d'alcool de degrés décroissant d'éthanol (100,90,70°). Les coupes ont été colorées avec une coloration topographique au l'hématoxyline-éosine, qui permet de mettre en évidence les principaux éléments morphologiques (noyaux, cytoplasme, collagène), sont réalisées dans un automate spécial pour coloration de type Amous.

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 et de protéger le tissu des aléas de la manipulation. Il favorise l'examen microscopique en assurant une meilleure visualisation des détails structuraux.

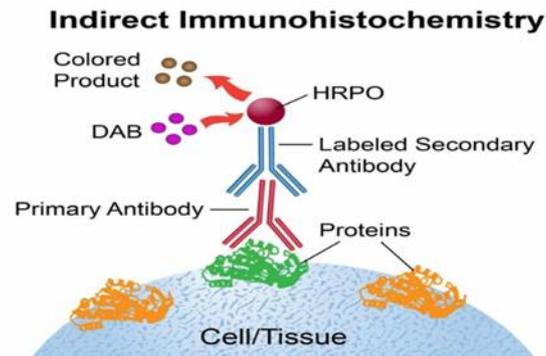
### **II.2.3.5 Observation microscopique**

Cette étape est considérée comme la dernière étape de l'examen histologique au cours de laquelle la NH de tous les rats a été observé et photographié à l'aide d'un microscope photonique de type Zeiss Axzio plan combiné à un appareil photo (Hirocam caméra). Les différents grossissements x10 ; x40 et x100 ont été calculés par un logiciel de traitement d'image « TSVIEW ».

### **II.2.4 Immunohistochimie**

Nous avons réalisé cette technique au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital universitaire Nefissa Hamoud Ex Parnet. Des coupes d'hypophyse sont traitées par un protocole d'immunohistochimie indirecte.

Cette technique implique la liaison d'un anticorps primaire (Ac I), au site antigénique de la molécule à localiser dans le tissu. Cet AcI est lui-même reconnu par un anticorps secondaire (AcII) dirigé contre les immunoglobulines (Ig) de l'espèce productrice de l'AcI. L'AcII est couplé à un marqueur qui le rend détectable et qui permet de visualiser le complexe Ag-AcI (**Fig.12**). Nous avons utilisé dans notre étude des AcII combinés à l'enzyme, la peroxydase de raifort (HRP). La révélation se fait par réaction à la diaminobenzidine (DAB) qui donne une réaction marron visible en microscopie photonique.



**Figure 12 :** Méthodes d'immunréaction indirecte.

Des coupes de paraffine au niveau des NH, de 3 $\mu$ m d'épaisseur, ont été réalisées à l'aide d'un microtome, et montés sur des lames silanisées. Enfin, les lames sont placées dans une étuve afin de favoriser l'adhésion complète du tissu et d'assurer un séchage optimal avant les étapes d'immunohistochimie. Toutes les étapes de l'Immunohistochimie sont réalisées à l'aide d'un automate (Automate spécialisé Leica BOND-MAX) (**Fig. 13**). Chaque lame est identifiée (codes-barres) selon le marqueur ciblé à l'étude pour une traçabilité totale.



**Figure 13:** Automate Leica BOND-MAX spécialisé d'immunohistochimie (photo originale)

Les lames sont chauffées dans des solutions tamponnées spécifiques appelées Bond Epitope Retrieval (citrate, EDTA) selon le pH (ER1=6 /ER2= 9) pour révéler les

épitopes. Cela se fait généralement à haute température (90–100 °C). Les sections obtenues ont été incubés pendant 10min dans une solution d'enzyme peroxydase pour inhiber l'activité des peroxydes endogènes naturelles du tissu. Ces coupes ont été incubées à température contrôlée (souvent 37°C), avec des anticorps primaires (anti-CD68, anti-GFAP, anti-P53) à différentes dilutions (voir tableau II). L'automate effectue des lavages tamponnés entre chaque étape pour éviter les contaminations croisées.

Les coupes sont ensuite incubées pendant 30min dans de la HRP (Horseradish Peroxydase), enzyme couplé à un anticorps secondaire polymère, permet le marquage et la visualisation des antigènes spécifiques présentes dans le tissu. Le substrat chromogène DAB (3,3'-diaminobenzidine) est ajouté, ce qui donne une couleur brune en présence de HRP à l'endroit où l'antigène est présent. Une Contre-coloration est applique par hématoxyline qui colorer les noyaux des cellules en bleu. Un lavage à l'eau est effectué ensuite. À la fin, les lames sont montées sur lamelle et milieu de montage permanent (Eukit), pour une observation au microscope photonique.

**Tableau II :** Fiche technique des anticorps primaires et secondaire utilisés

Marqueur	Nom complet	Clone	Type d'anticorps	Origine	Dilution	incubation
<b>Anti-p53</b>	Protéine du gène supprimeur de tumeur p53	<b>DO-7</b>	Monoclonal, IgG2b	Souris	1:100	30 min
<b>Anti-GFAP</b>	Glial Fibrillary Acidic Protein	<b>GA5</b>	Monoclonal, IgG1	Souris	1:500	30 min
<b>Anti-CD68</b>	Cluster of Differentiation 68 (macrophage)	<b>KP1</b>	Monoclonal, IgG1	Souris	1:100	30 min

**Tableau III :** Fiche technique d'anticorps secondaire utilisés

<b>Nom commercial</b>	Bond Polymer Refine Detection
<b>Nature</b>	anticorps secondaire anti-IgG souris couplé à un polymère contenant la peroxydase (HRP)
<b>Système de détection</b>	sans biotine, haute sensibilité
<b>Révélation chromogénique</b>	DAB (brun)
<b>Automate compatible</b>	Leica BOND-MAX

### II.2.5 Analyse statistique

Nos données sont traitées par le logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) et les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  ESM.

La comparaison de poids corporels entre les groupes expérimentaux et le groupe témoin à des temps similaires est déterminée par ANOVA. Les différences étaient considérées comme statistiquement significative si  $P < 0,05$ .

**II.2.6 Analyse morphométrique :** réalisée à l'aide du logiciel Image J 1.36b Software (NIH, États-Unis). Les mesures ont été faites sur 3 coupes de NH pour chaque groupe expérimental (grossissement X1000 ; barre d'échelle : 10 $\mu$ m).

# *CHAPITRE III*

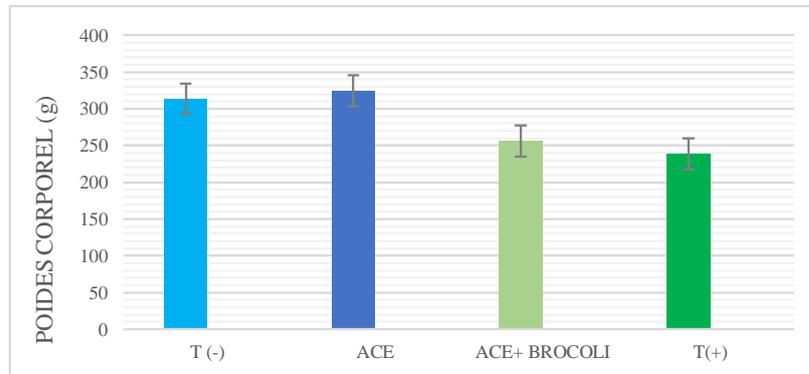
## *Résultats et Discussion*

### III. Résultats

L'objectif de notre étude était de rechercher des aspects de la toxicité par voie orale de l'ACE à raison de 1/20 DL50 pendant 37 jours au niveau de la neurohypophyse. Les résultats issus de notre expérimentation sont présentés sous forme de graphique illustre l'évolution du poids corporel, des coups histologiques mettant en évidence les altérations tissulaires, ainsi que des marquages immunohistochimiques. Ces observations constitueront la base de l'analyse critique qu'on va développer dans la partie discussion.

#### III.1.1 Evolution du poids corporel des rats

Selon les résultats obtenus, le poids corporel de l'ensemble des rats a augmenté de manière régulière au cours de la période de traitement. L'analyse statistique des poids finale n'a montré aucune différence significative entre les groupes témoin (positive et négative) et le groupe traité par l'ACE ( $P > 0,05$ ). En revanche, des différences hautement significatives ( $p < 0,001$ ) ont été relevées entre le groupe traité par l'ACE et le groupe traité par l'ACE supplémenté en brocoli. Ainsi que le groupe traité par l'ACE supplémenté en brocoli montre une différence significative avec le groupe témoin négatif.

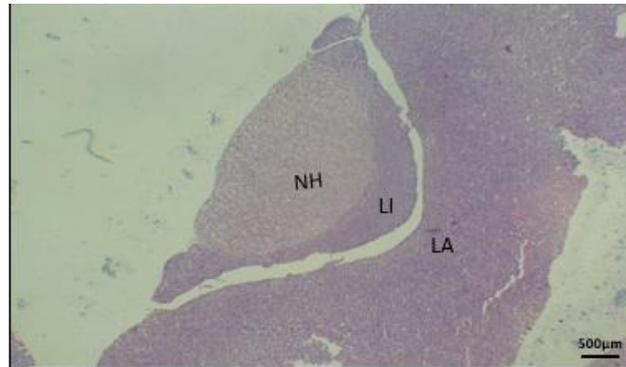


Lot/temps( semaine)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Ecart type
Lot Témoin négatif	271,38±3,69	281,13±4,50	302,25±5,31	309,13±5	313,63±4,85	313,75±5,19	16,46
Lot ACE	246,29±5,97	273,86±4,28	297,57±5,28	304,57±5,52	317,29±6,80	324,29±6,85	26,66
Lot ACE+ Brocoli	189±15,12	217,14±14,06	232,29±11,39	246,14±8,71	252,14±8,85	256,43±8,75	23,35
Lot Témoin positif	178,71±15,13	208,71±12,67	225,14±12,44	235,43±11,13	242,57±11,69	238,86±12,37	22,16

**Figure 14 :** Représentation graphique de l'évolution du poids corporels des rats exprimée par la moyenne ± ESM . S : 5jours, ACE : Traité par l'acétamipride, Témoin (+): supplémenté par le brocoli, ACE + Brocoli : Traité par l'acétamipride supplémenté par brocoli.

### III.1.2 Analyse des résultats histologiques

La coupe histologique présente la structure générale de l'hypophyse (**fig. 17**) avec une organisation tissulaire bien visible à un grossissement X4. La limite entre NH et les autres régions hypophysaires est bien définie chez l'ensemble des groupes expérimentaux.



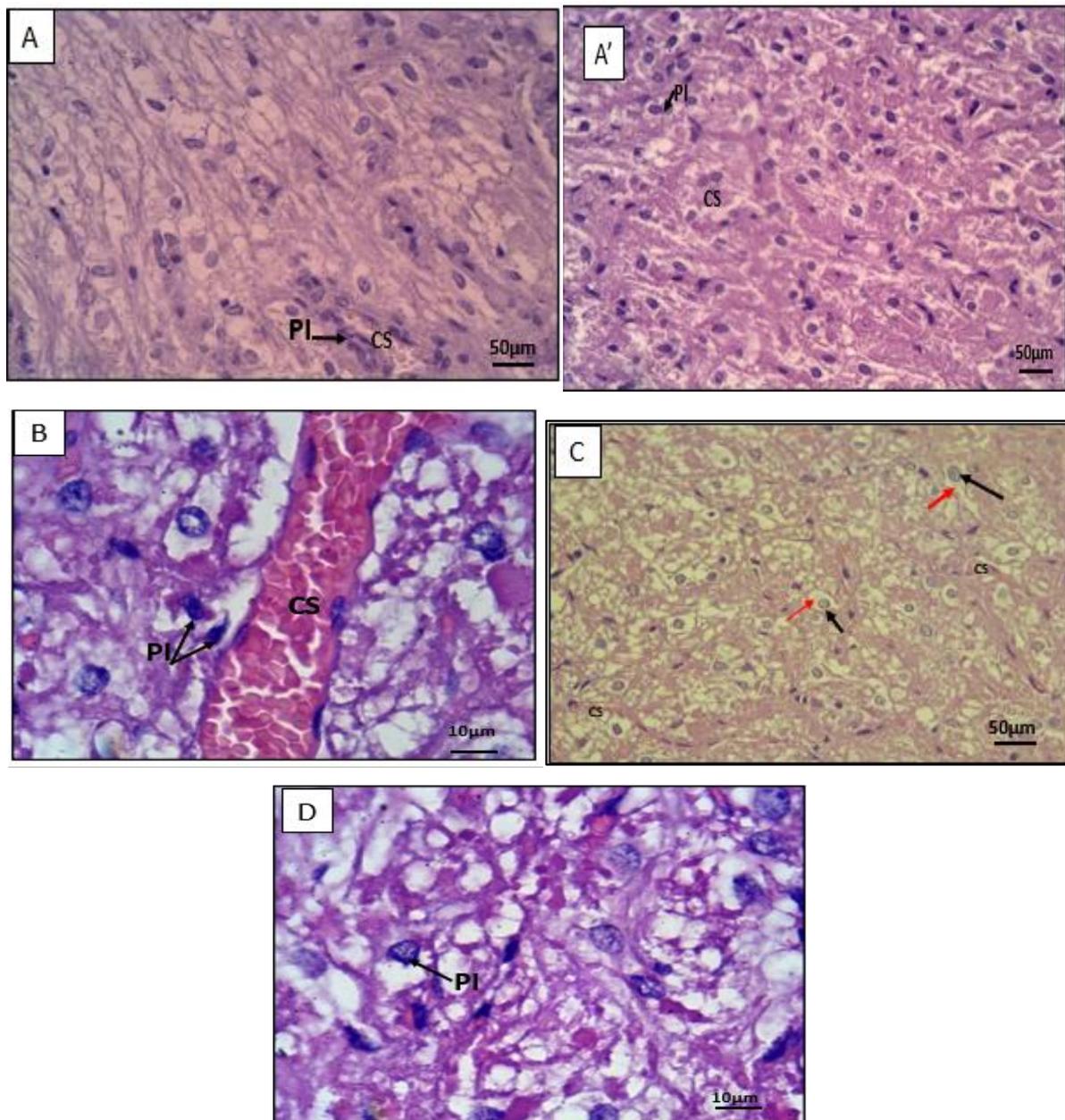
**Figure 15** : structure générale de l'hypophyse chez le rat wistar mâle témoin.

**Coloration** : Hématoxyline éosine ; **Grossissement** :  $\times 4$ .

**NH** : Neurohypophyse (ou posthypophysaire) ; **LI** : Lobe intermédiaire ; **LA** : lobe antérieur (ou antérohypophysaire)

#### III.1.2.1 L'analyse histologique de la neurohypophyse des rats témoins négatifs et positifs

Les coupes histologiques de la NH des rats témoins positives et négatives (**Fig.16 A/A'**) à différents grossissements ( $\times 40$  et  $\times 100$ ) montrent une organisation tissulaire intacte bien conservée, conforme à la morphologie typique de cette région. La NH offre un aspect fibreux correspondant aux fibres amyéliniques, et aux terminaisons nerveuses issues des différents noyaux magnocellulaires. La NH est richement vascularisée, présente des cellules gliales de type pituicytes (astrocyte-like) disposés de manière homogène dans l'ensemble de tissu, souvent en contact avec les capillaires sanguins (**fig16 B flèches noir**). Ces cellules sont bien développées, leurs noyaux sont denses (**Fig.16 C/D flèches noir**) et présentent un cytoplasme vacuolé (**Fig.16 C flèches rouge**).



**Figure 16:** Aspect structurale de la neurohypophyse chez les rats témoins négatifs et positifs.

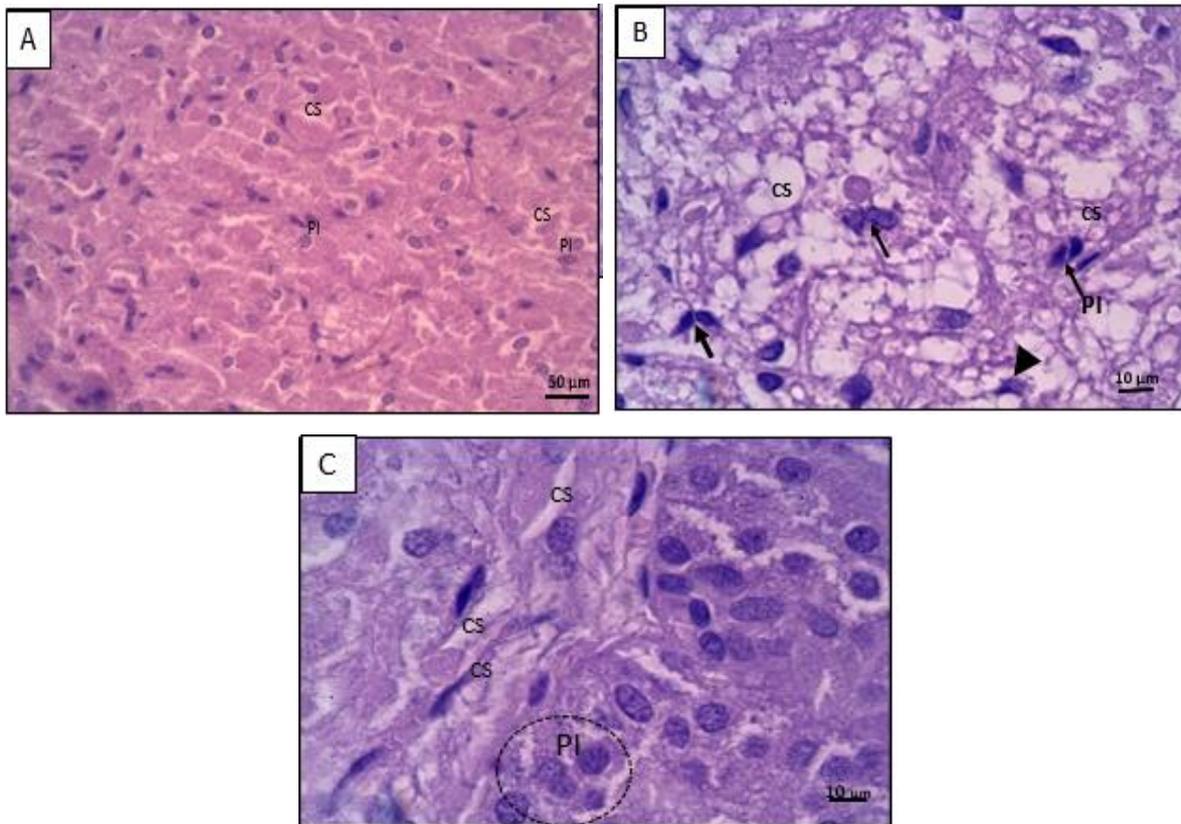
**Coloration :** Hématoxyline éosine ; **Grossissement :** X40 (A, A', C), X100 (B, D).

**PI :** Pituicytes ; **CS :** Capillaire sanguin

### III.1.2.3 L'analyse histologique de la neurohypophyse des rats traités par l'acétamipride

En comparaison avec celle des témoins, l'examen microscopique de la NH des rats traités par l'ACE pendant 37 jours a révélé un aspect général clair moins condensé que chez le témoin (**fig.17 A**). Les cellules pituicytaires se retrouvent fréquemment regroupés en amas, éloignées des zones péri-capillaires (**fig.17 C cercle**). Ces cellules se caractérisant par un noyau

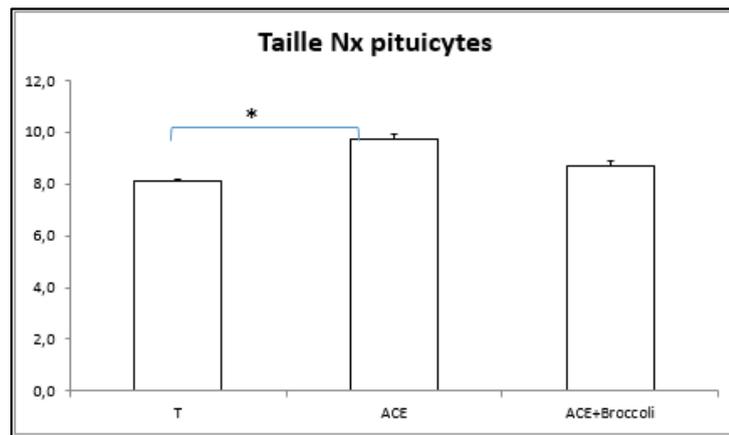
clair et volumineux, ainsi qu'un cytoplasme réduit et peu développé (**fig.17 B flèche noire**), La taille des noyaux pituicytaires augmente comparant aux témoin ( $9.7 \pm 0.2 \mu\text{m}^2$  chez traité d'ACE vs  $8.1 \pm 0.1 \mu\text{m}^2$  chez le témoin) (**Fig.18**). Par ailleurs, une dilatation notable des capillaires sanguins a été également observée (**Fig.17 C**). Nous avons observé également l'apparition des petites cellules étoilé qui semble être les microglies, (**fig.17 B tête de flèche**).



**Figure 17 :** Aspect structurale de la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE.

**Coloration :** Hématoxyline éosine, **Grossissement :** X40 (A), X100 (B, C).

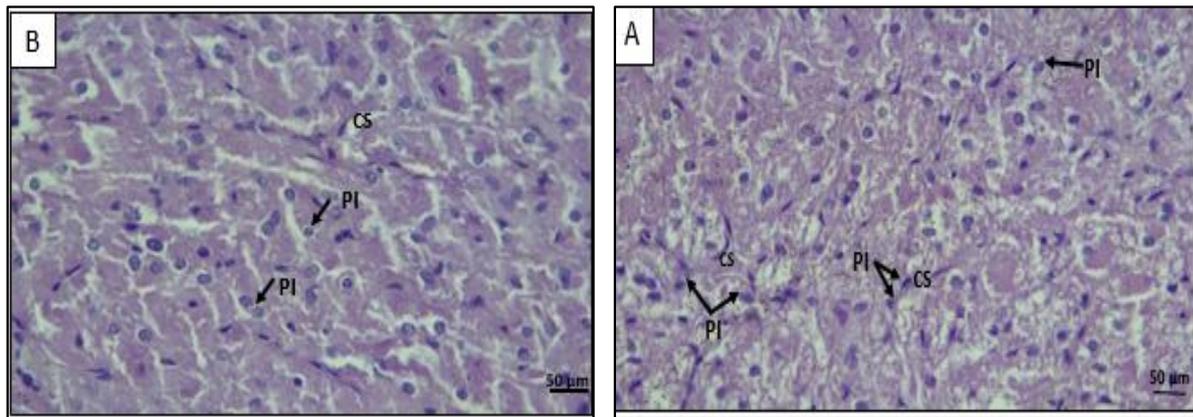
**PI :** Pituicytes, **CS :** Capillaire sanguin



**Figure 18** : Représentation graphique de la taille moyenne des noyaux des pituicytes de NH exprimée par la moyenne  $\pm$  ESM, \*:  $P < 0.05$  chez les rats témoins, les rats traité par l'ACE et les rats ACE+BROCOLI.

### III.1.2.3 Histologie des neurohypophyses des rats traités par l'acétamipride supplémentés par les grains de brocoli

Chez les rats traités par l'ACE et supplémentés avec des graines de brocoli, la NH présente un aspect général dense. Les pituicytes sont visibles en nombre modéré, dispersés sur la totalité de NH en contact avec les capillaires sanguins (**fig.19 A/B**). Les noyaux de ces cellules sont moins volumineux, en comparant avec le groupe traité par l'ACE. En effet, la taille des noyaux des pituicytes diminue comparant avec le groupe traité par l'ACE et se rapproche de celle du témoin ( $8.7 \pm 0.2 \mu\text{m}^2$  chez ACE-brocoli vs  $8.1 \pm 0.1 \mu\text{m}^2$  chez témoin) (**Fig. 18**).



**Figure 19 :** Aspect Structurale de la neurohypophyse des rats traités par l'acétamipride supplémentés par les grains de brocoli

**Coloration :** Hématoxyline éosine ; **Grossissement :** X40

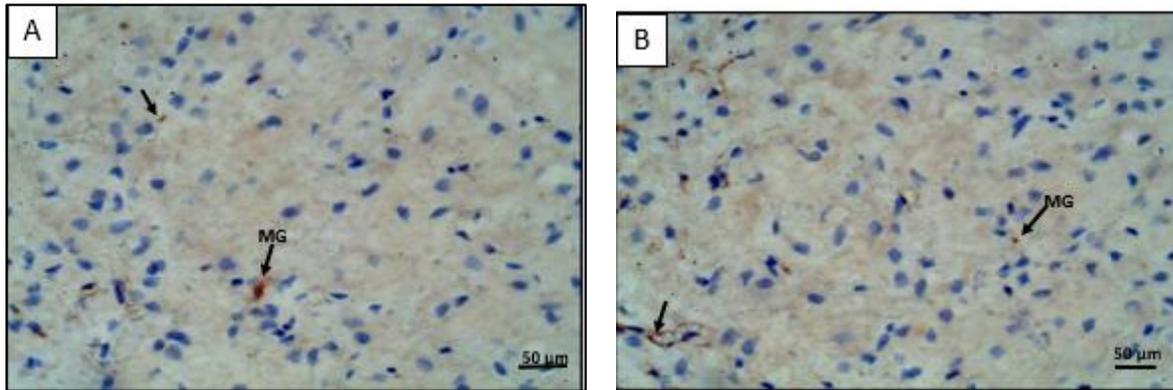
**PI :** Pituicytes, **CS :** Capillaire sanguin

### III.1.3 Analyse des résultats des marquages immunohistochimie

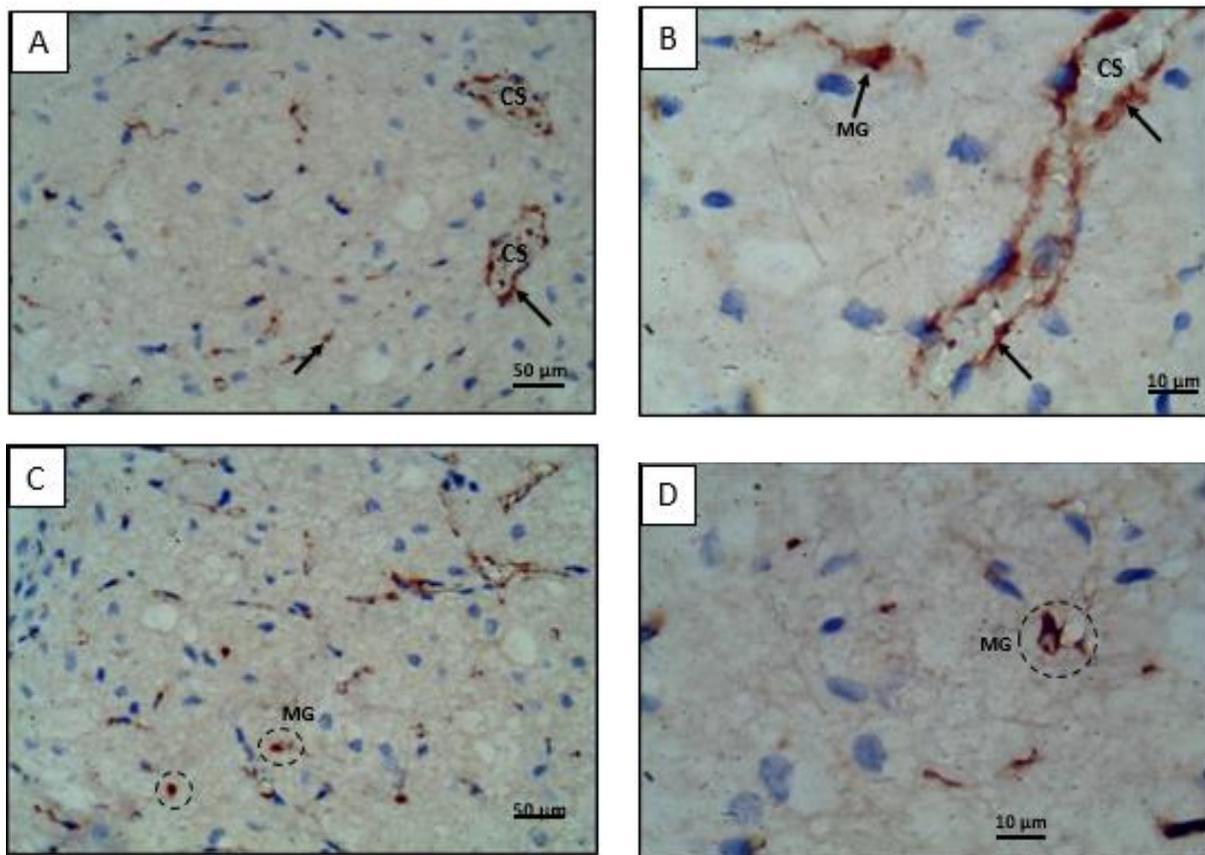
Dans cette section, Nous présentons les données obtenues par immunomarquage de la neurohypoppyse à l'aide des anticorps spécifiques utilisés qui sont : Anti-**CD68** (marqueur cytoplasmique des cellules microgliales/macrophagiques), Anti-**GFAP** (marqueur cytoplasmique des astrocytes) et Anti-**p53** (marqueur nucléaire de la protéine P53).

#### III.1.3.1 Marquage Anti-CD68

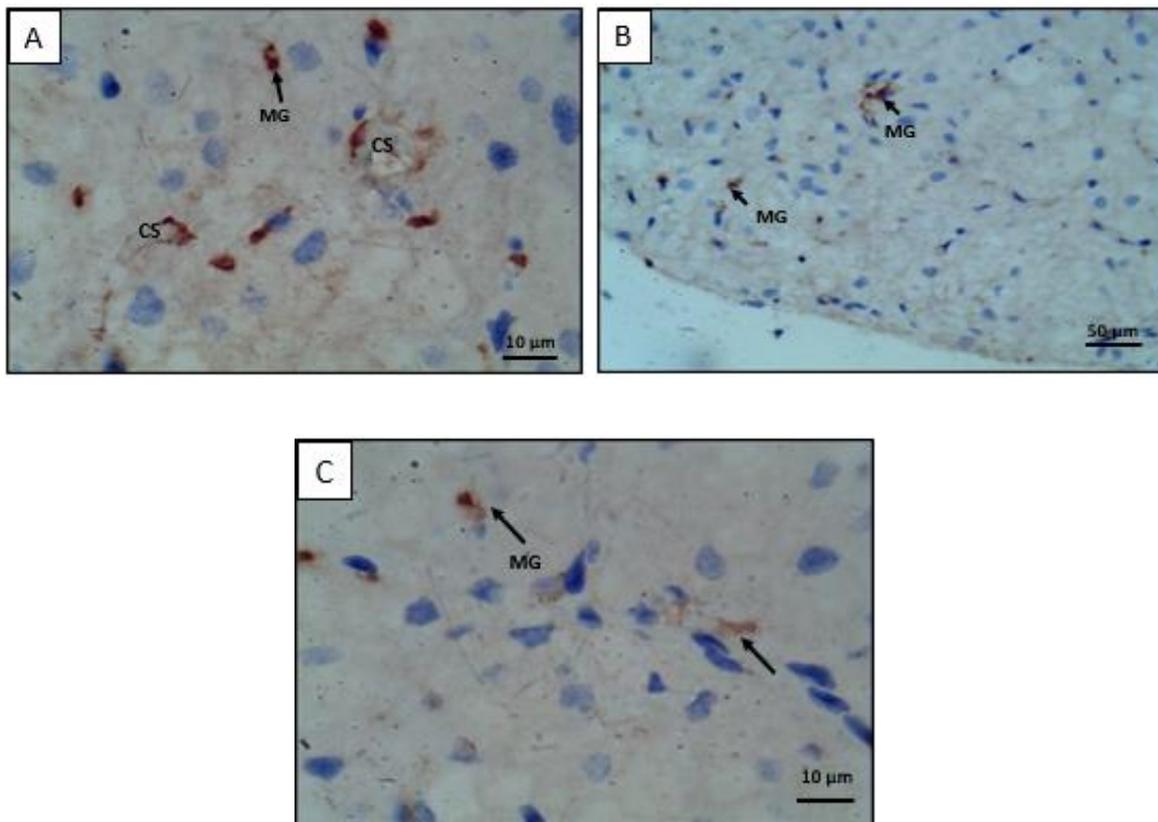
Les résultats immunohistochimiques obtenus dans la neuroypophyse suite à un marquage par l'anticorps anti CD68, met en évidence la présence des cellules macrophagiques, principalement les microglies sous forme d'une coloration cytoplasmique brun foncé. Chez le témoin, on distingue un marquage très faible (**fig.20 A/B flèches**). Par contre, chez les rats traités uniquement par l'ACE, on observe un marquage important au niveau de cellules gliales type microglie et autour des capillaires (**fig.21 A/B flèches**). Ces cellules présentent une forme amiboïde arrondie (**fig.21 C**) et hypertrophique avec des prolongement élargis (**fig.21 D**). Enfin, le groupe traité à l'ACE et supplémenté en brocoli, les cellules gliales marquées restent localisées autour des capillaires (**fig.22 A**), mais en nombre réduit, et la coloration apparaît moins intense (**fig.22 B flèches**).



**Figure 20 :** Immunomarquage de CD68 dans la neurohypophyse chez les rats témoin.  
**Coloration marquage :** DAB brun ; **contre coloration** Hématoxyline, **Grossissement :** X40.  
**MG :** les microglies



**Figure 21 :** Immunomarquage de CD68 dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE.  
**Coloration marquage :** DAB brun, **contre coloration** Hématoxyline,  
**Grossissement :** X40 (A, C), X100 (B, D).  
**MG :** les microglies



**Figure 22 :** Immunomarquage de CD68 dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ace supplémenté en grains de brocoli.

**Coloration marquage :** DAB brun, **contre coloration** Hématoxyline,

**Grossissement :**  $\times 40$  (B),  $\times 100$  (A, C).

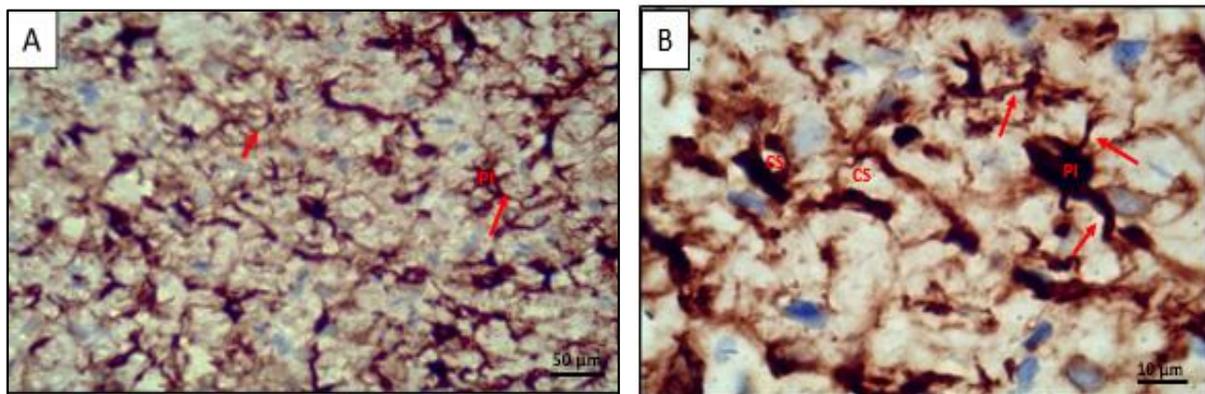
**MG :** les microglies ; **CS :** Capillaires sanguines

### III.1.3.2 Marquage Anti-GFAP

L'anticorps GFAP, dirigé contre la protéine spécifique des filaments intermédiaires. Ce marqueur est couramment utilisé pour détecter les cellules gliales en particulier les pituicytes au niveau de la neurohypophyse sous forme d'une coloration cytoplasmique brune.

Chez le témoin, l'immunomarquage par l'Anti-GFAP révèle la présence de cette protéine gliale, principalement localisée dans le corps cellulaire des pituicytes et au niveau de ses prolongements. Ces derniers ayant une morphologie fins, allongés et bien ramifiés, forment un réseau dense (**fig.23 A/B flèches**). Nous avons observé aussi un marquage de GFAP au niveau des expansions gliales péri-capillaires (**fig.23 B**). Tandis que, dans le groupe traité par l'ACE, on observe une augmentation de marquage de l'expression de GFAP (**fig.24 A**). On

remarque aussi une rétraction des prolongements pituicytaires, qui devient plus courts et moins ramifiés (**fig.24 B cercle**). Chez le groupe traité par l'ACE et supplémenté en brocoli, le marquage semble moins intense que celui observé chez le rat traité par ACE (**fig.25 A**). Le marquage est glial, au niveau des prolongement pituicytaire (**fig.25 B flèches**) et péri-capillaire (**fig.25 B**).

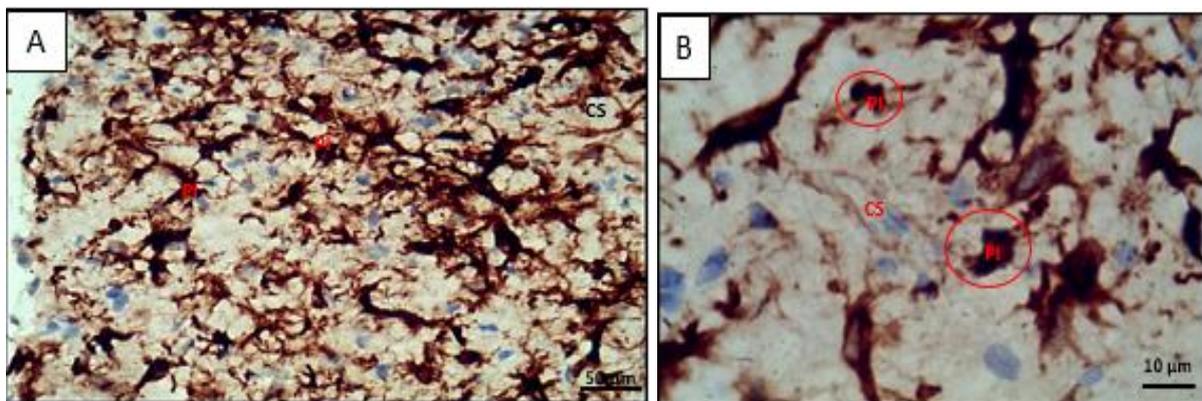


**Figure 23 :** Immunomarkage de GFAP dans la neurohypophyse chez les rats témoins.

**Coloration marquage :** DAB brun, **contre coloration** Hématoxyline,

**Grossissement :**  $\times 40$  (A),  $\times 100$  (B).

**PI :** pituicyte ; **CS :** Capillaire sanguins.

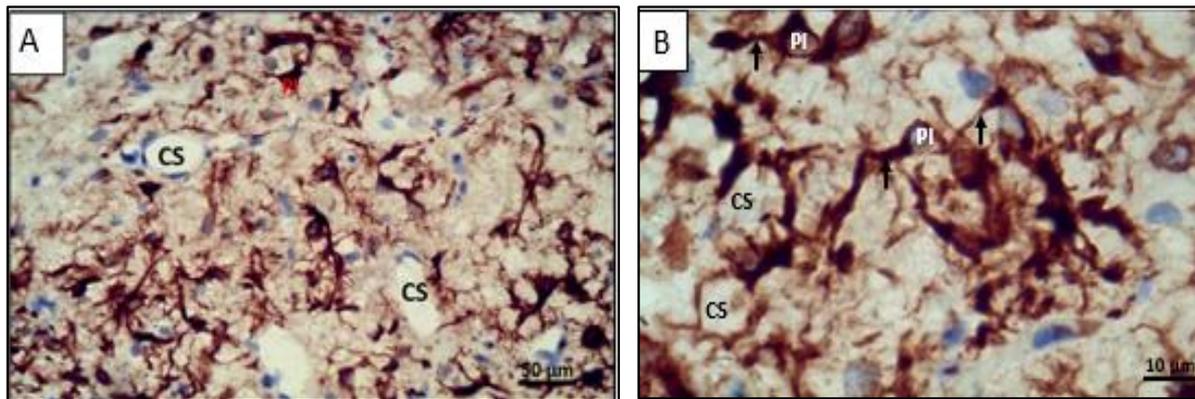


**Figure 24 :** Immunomarkage de GFAP dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE.

**Coloration marquage :** DAB brun ; **Contre coloration** Hématoxyline,

**Grossissement :**  $\times 40$  (A),  $\times 100$  (B).

**PI :** pituicyte ; **CS :** Capillaires sanguins.



**Figure 25 :** Immunomarkage de GFAP dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE supplémenté en brocoli.

**Coloration marquage :** DAB brun ; **Contre coloration** Hématoxyline,

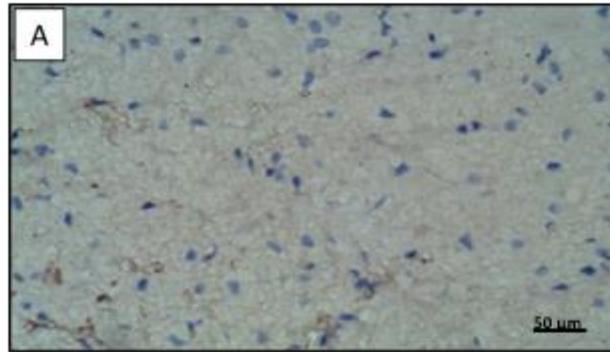
**Grossissement :** ×40 (A), ×100 (B).

**PI :** pituicyte ; **CS :** Capillaires sanguins

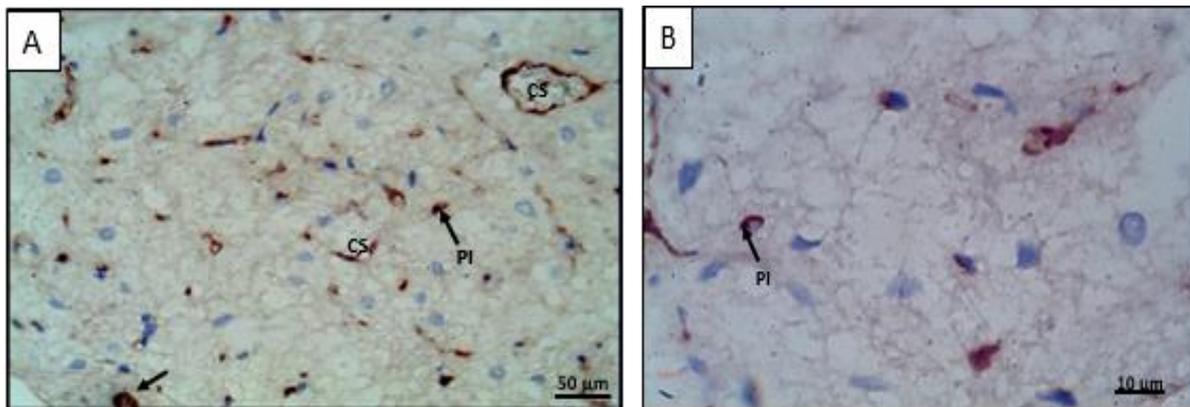
### III.1.3.3 Le marqueur Anti-P53

Le marqueur spécifique anti-P53, utilisé pour évaluer l'expression de la protéine nucléaire P53 dans les échantillons analysés. l'anticorps anti-p53 se manifeste par un marquage de type nucléaire sous forme coloration brun.

Chez le témoin, l'immunomarkage par l'anticorps anti-p53 révèle une expression faible ou absente de la protéine p53 (**fig.26 A**). La majorité des cellules ne présentent aucun marquage nucléaire détectable. Par contre, chez les rats traités par l'ACE, On remarque un marquage anti-p53 au niveau nucléaire des cellules gliales de la NH (**fig.27 A flèche**) et endothéliale des capillaires sanguins (**fig.27A**). Par ailleurs, l'architecture tissulaire semble altérée, on observe de cellules ayant des noyaux condensés ou pycnotiques, évoquant un début de dérégulation du processus apoptotique (**fig.27 B flèche**). Chez groupe traité par l'ACE et supplémenté en brocoli présente un marquage qui semble modérément atténuée comparant au groupe traité par l'ACE. On observe moins de cellules gliales marqué par l'anti-p53 (**fig.28 A/B flèche**).



**Figure 26** : Immunomarcage de P53 dans la neurohypophyse chez les rats témoins.  
Coloration marquage : DAB brun ; Contre coloration Hématoxyline,  
Grossissement : X40 (A).

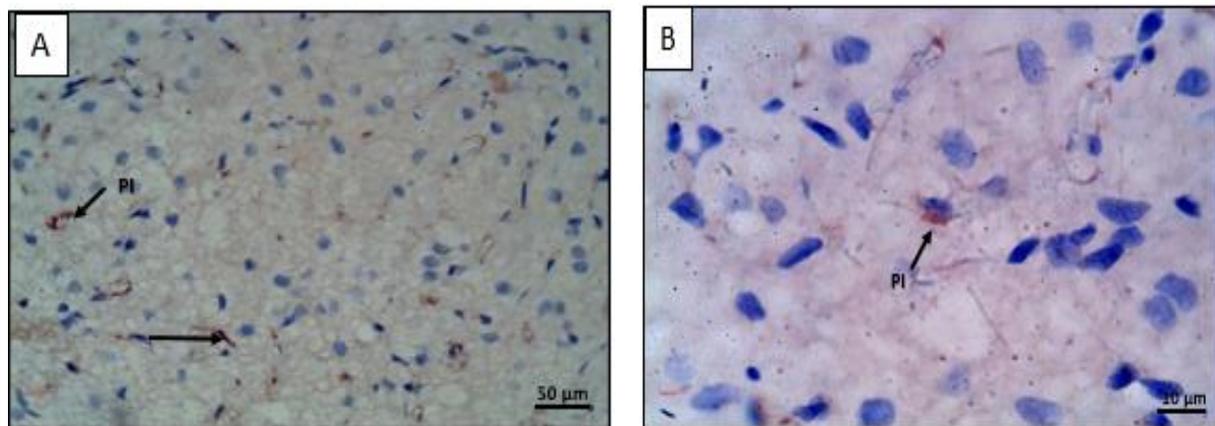


**Figure 27** : Immunomarcage de P53 dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE.

Coloration marquage : DAB brun ; Contre coloration Hématoxyline,

Grossissement : X40 (A), X100 (B).

PI : pituicyte ; CS : capillaire sanguin



**Figure 28 :** Immunomarquage de P53 dans la neurohypophyse chez les rats traités par l'ACE supplémenté en brocoli.

**Coloration marquage :** DAB brun ; **Contre coloration** Hématoxyline,

**Grossissement :** X40 (A) X100 (B). **PI :** pituicyte.

### III. 2 Discussion

Pour une production agricole plus élevée, l'utilisation des divers produits chimiques telle que les insecticides, est l'un des moyens les plus utilisés pour une préalable amélioration (Singh *et al.*, 2012). Environ 30% des pesticides commercialisés dans les pays en voie de développement ne sont pas conformes aux standards de qualité internationaux, car ils contiennent beaucoup d'impuretés très toxiques, selon FAO, (2001) (Bourbia-Ait Hamlet, 2012).

Dans notre étude qui porte sur la recherche de la toxicité à l'ACE à raison de 1/20 DL50 (10 mg/kg/j), nous avons noté une augmentation du poids corporel des rats chez tous les groupes. L'analyse statistique des poids finaux n'a révélé aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les rats du groupe témoin et ceux exposés à l'ACE. Ces résultats indiquent que, dans les conditions expérimentales appliquées (dose 1/20DL50 par voie orale, pendant 37 jours), l'ACE n'induit pas de toxicité systémique suffisante pour affecter de manière notable la croissance pondérale. Nos observations sont en accord avec plusieurs études antérieures parmi eux les travaux de Saadi *et al.*, (2019) qui ont rapporté une augmentation non significative du poids corporel chez des souris exposées à des doses subaiguës d'Acétamipride (9,9 et 18,9 mg/kg/j). De même, Shamsi *et al.*, (2021) ont montré aucune variation significative du poids chez des rats traités à 10 ou 20 mg/kg/j d'ACE. Par contre, Singh *et al.*, (2012) ont montré une

évolution biphasique du poids corporel, avec une augmentation initiale jusqu'au 15<sup>e</sup> jour suivie d'une diminution à partir du 28<sup>e</sup> jour. D'autres travaux montrent que les animaux qui ont reçu une dose de 40 mg/kg/j d'ACE, leur poids corporel diminue de manière significative (**Shamsi et al., 2021**). Soulignant l'importance de la durée d'exposition ainsi que la dose dans l'interprétation des effets toxiques.

En parallèle, notre étude statistique a révélé aussi une augmentation significative du poids corporel des rats traités par les grains de brocoli par rapport aux témoin négatifs et le groupe traité par ACE. On suggère que les grains de brocoli peuvent avoir un impact indirect sur le poids corporel en influençant le métabolisme énergétique, comme l'ont décrit **Bahadoran et al., (2014)**. Ces chercheurs ont en effet mis en évidence que les composés phénoliques, en régulant certaines voies métaboliques et en réduisant le stress oxydatif, peuvent influencer positivement l'utilisation de l'énergie métabolique.

L'étude histologique constitue une étape essentielle pour mettre en évidence les modifications morpho-structurale induites par l'exposition à des toxiques environnementaux tels que l'ACE et de la mise en place d'une approches phytothérapeutiques par le brocoli.

Nos observations chez le rat témoin présentent une abondance de pituicytes disposées de manière homogène dans l'ensemble du tissu neurohypophysaire. Ces pituicytes sont souvent en contact avec les capillaires sanguins (**Hatton, 1988 ; Wittkowski, 1986**).

Sur le plan structural, Nos observation microscopique de la NH des rats traités par l'ACE ont montré que les pituicytes sont fréquemment regroupés loin des capillaires sanguins. Ceci serait dû à une rétraction gliale qui se traduit par une diminution des contacts des processus gliaux avec la lame basale de l'espace péri-vasculaire, favorisant ainsi, l'augmentation de la couverture neuro-hémale. Cette organisation faciliterait la libération des neurohormones dans la circulation sanguine. En effet, Les pituicytes assurent un rôle de support et elles sont capables de moduler la sécrétion des neurohormones au niveau des terminaisons nerveuses (**Ferrandino et al., 2008**). De telles modifications structurales ont été déjà observées dans la NH dans des conditions de stress physiologique (**Tweedle et al., 1989 ; Miyata and Hatton, 2002 ; Theodosis et al., 2008**).

Le traitement par ACE pendant 37 jour par voie oral a révélé l'observation des cellules gliales de type microglie. Nos résultats, entraine par ailleurs, une hypertrophie des cellules

pituicytaires (astrocytes like). Les astrocytes subissent des modifications morphologiques (augmentation de taille et de nombre), moléculaires et fonctionnelles (production de facteurs de croissance, de cytokines, etc.), ils deviennent réactifs et peuvent aider à la réparation des tissus (**Poulot-Becq-Giraudon et al., 2022**). En effet, les astrocytes sont considérés, avec les cellules microgliales, comme des cellules immunocompétentes au sein du SNC. Cela signifie que ces cellules peuvent avoir un rôle important lors des phénomènes neuro-inflammatoires (**Méresse, 2023**). De plus, les cellules microgliales, les cellules immunitaires patrouilleuses du cerveau, réagissent aux inflammation et infection et interagissent étroitement avec les astrocytes et les neurones (**Szepesi et al., 2018**).

L'analyse histologique de la NH chez les rats traités par l'ACE et supplémentés en graines de brocoli révèle une organisation tissulaire relativement préservée par rapport à celle observée chez les rats exposés à l'ACE. Cette organisation structurelle s'accompagne d'une réduction notable du volume des noyaux des pituicytes, dont la taille se rapproche de celle observée dans le groupe témoin, suggérant ainsi une atténuation des modifications morphologiques induites par l'exposition toxique. Ces résultats expérimentaux corroborent les travaux de **Bingyong et al., (2023)**, qui ont montré la capacité de l'extrait de graines de brocoli à atténuer les lésions hépatiques aiguës provoquées par le lipopolysaccharide chez la souris. L'effet cytoprotecteur observé est attribué à la conversion de la glucoraphanine en sulforaphane (SNF) par le microbiote intestinal. Ce dernier exerce une action protectrice en activant la voie Nrf2, qui renforce les défenses antioxydantes endogènes, et en inhibe la voie NF- $\kappa$ B, impliquée dans la régulation des réponses inflammatoires. Ainsi, les résultats obtenus suggèrent que le supplément en graines de brocoli est capable de préserver l'architecture de la NH, réduisant les effets néfastes de l'ACE. Cela renforce l'hypothèse que les composés bioactifs du brocoli, en particulier le SNF, peuvent constituer une stratégie naturelle efficace pour la protection du tissu nerveux contre les toxiques environnementaux.

Dans le but de mieux caractériser les mécanismes cellulaires impliqués au niveau de la NH, nous avons réalisé une étude immunohistochimique ciblée, permettant de mettre en évidence et de confirmer la présence d'une réponse au stress toxique induit par l'ACE. Parmi les indicateurs de toxicité se trouve la Protéine Acide Glio Fibrillaire (GFAP), une protéine structurale spécifiquement produite par les cellules gliales astrocytaires du SNC (**Ransom et al., 2003**).

Chez le témoin, l'immunomarquage anti-GFAP a révélé un marquage au niveau des corps cellulaires des pituicytaires et leur prolongement et au niveau des expansions gliales entourant les capillaires. Les astrocytes présentent une hétérogénéité morphologique selon leur localisation et leur fonction dans le tissu nerveux dans les conditions physiologiques normal **(Ben et Rowitch, 2017)**.

Par la suite, après administration de l'ACE, Nous avons observé une augmentation de l'expression de GFAP, accompagnée par rétraction des prolongements pituicytaires, qui devient plus courts et moins ramifiés. Ceci témoigne d'une réactivité astrocytaire significative qui se manifeste par un épaissement de leur corps cellulaire ainsi que par des prolongements cytoplasmiques rétractés. Ce résultat corrobore avec l'étude de **Poulot-Becq et al., (2022)**, qui rapporte que tout stimulus pathologique, y compris les toxiques exogènes, peut induire une hypertrophie gliale et une surexpression de GFAP **(Escartin et al., 2019)**. D'autres travaux antérieurs ont révélé une augmentation de l'intensité de GFAP observée chez des rats traités par une substance toxique l'aluminium, confirme le processus de prolifération astrocytaire active qui pourrait être lié à la médiation modulatoire et protectrice **(Akinrinade et al., 2015)**. Les travaux de **Maragakis et Rothstein, (2006)** révèlent que l'augmentation de l'expression de GFAP suite à une lésion cérébrale affecte négativement la stabilité cellulaire. La protéine GFAP, du fait de sa sensibilité et de sa rapidité de réaction **(Eisenbrandt et al., 1994 ; Eng et al., 2000)**, peut témoigner du possible atteint du SNC par neurotoxique. En effet, une augmentation temporaire de la GFAP peut être le signe d'une inflammation (grossissement des cellules astrocytaires) alors qu'une augmentation permanente de la quantité de cette même protéine peut refléter une augmentation du nombre de cellules gliales, signe d'une gliose. **(De Seze, 2007)**.

Cependant, le traitement par l'ACE avec supplément en brocoli, révèle un marquage de GFAP moins intense que celui observé chez le rat traité par ACE. Ces observations suggèrent un effet protecteur du brocoli sur l'activation gliale. Ces résultats rejoignent l'étude de **Hernandez-Rabaza et al., (2016)** sur les rats hyperammonémiques traités par SFN, trouve que la morphologie des astrocytes est similaire à celle des témoins, ce qui indique que le SFN réduit l'activation des astrocytes. Par ailleurs, l'intensité de marquage de GFAP est normalisée, indiquant une inversion de l'activation des astrocytes des rats hyperammonémiques par le SNF.

Les résultats immunohistochimiques suite à un marquage par l'anticorps anti CD68, met en évidence chez le témoin, un marquage faible au niveau des microglies. La microglie constitue environ 10 à 15 % de toutes les cellules gliales. La microglie est souvent désignée comme correspondant aux macrophages résidant du SNC (**Legendre et Le Corronc, 2014**). Dans les conditions d'absence de stimulation toxique, la microglie présente un phénotype quiescent (état de repos) « resting microglia », présentant de fins prolongements ramifiés, sont dans un état de surveillance. Ces observations sont en accord avec les profils morphologiques décrits dans l'étude de **Kagawa et al., (2019)**, qui ont montré que, chez les souris témoins non exposées à l'ACE, la majorité des microglies conservaient une morphologie ramifiée ou transitionnelle. En revanche, le traitement par l'ACE révèle une augmentation de marquage CD68 au niveau des microglies, Ce résultat est en accord avec les travaux de **Janda et al., (2018)** et **Lier et al., (2021)**, qui confirment que la microglie phagocytaire exprime en effet la glycoprotéine spécifique CD68 à la surface de sa membrane plasmique, ce qui en fait un marqueur fiable de son activation. De plus, la morphologie amiboïde des cellules observées avec un corps cellulaire arrondi et des prolongements courts et épaissis, semble aux caractéristiques d'un phénotype à potentiel phagocytaire activé. Cette transformation témoigne d'une activation microgliale dans le cadre d'une réponse immunitaire à une agression toxique. Ces résultats expérimentaux s'inscrivent parfaitement dans le cadre des observations rapportées par **Sullivan et Nolan, (2009)**, **Hanisch et Kettenmann, (2007)**, ainsi que **Boche et al., (2013)**, qui décrivent une transition morphologique de la microglie vers un état active en réponse à des agressions neurotoxiques, se traduisant précisément par une forme amiboïde. D'autres travaux antérieur ont identifié la microglie comme une source prédominante d'inflammation et de stress oxydatif (**Amor et al., 2010 ; Di et al., 2012**). La microglie est en mesure de sécréter un ensemble de cytokines telles que l'IL-1 $\beta$  et le TNF $\alpha$  modulant les événements neuro-inflammatoires (**Akinrinade et al., 2015**).

Par la suite, la diminution du marquage glial par le marqueur anti-CD68 observée chez le groupe traité à l'ACE avec supplément en brocoli. Ce résultat, rejoint les travaux de **Hernandez-Rabaza et al., (2016)** sur les rats hyperammonémiques traités par SFN. Les chercheurs déterminent que SFN favorise la différenciation de la microglie de la forme pro-inflammatoire M1 à la forme anti-inflammatoire M2. De plus, les composants flavonoïdes modulent les réponses inflammatoires en réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires, notamment le TNF- $\alpha$  et l'IL-6, tout en atténuant simultanément l'activation

microgliale, contribuant ainsi à la réduction des processus neurodégénératifs. (**Ysrafil et al., 2023 ; Liu et al., 2023 ; Medrano-Jiménez et al., 2022**).

Le marquage avec un anti- p53 dans notre étude, contribue à évaluer spécifiquement l'éventuelle induction de stress cellulaire et les processus de régulation apoptotique au niveau de la NH. Les résultats obtenus chez le groupe témoin, montrent une expression faible, voire absente de la protéine p53 au niveau de la NH. Ces observations sont cohérentes avec les résultats de **Wu et Liu (2000)**, qui ont rapporté une faible expression de l'ARNm p53 dans le cortex et l'hippocampe de rats non traités. Ce résultat correspond à un état physiologique normal, sans activation de la voie apoptotique.

En revanche, chez les rats traité par l'ACE par voie orale montre une augmentation de l'immunoréactivité anti-p53, localisée dans les noyaux des cellules pituicytaires, et parfois dans les cellules endothéliales des capillaires sanguins. Ce marquage nucléaire, accompagné de noyaux condensés, évoque clairement l'activation de la voie apoptotique, Ces résultats concordent avec des travaux antérieurs, notamment ceux de **Wu et Liu (2000)**, qui ont mesuré l'expression de l'ARNm de p53 dans le cerveau. En particulier, il a été montré que certains insecticides (comme la deltaméthrine) provoquent une augmentation rapide et prolongée du niveau d'ARNm de p53, notamment dans le cortex et l'hippocampe de rats. Cette surexpression précède l'apparition des signes morphologiques de l'apoptose, suggérant un rôle central de p53 dans l'induction de la mort cellulaire programmée. Le p53, un facteur de transcription nucléaire, régule de nombreux gènes dans l'apoptose cellulaire. En particulier, voie intrinsèque dans les mitochondries. Régule aussi le cycle cellulaire en empêchant la croissance et la division rapides et incontrôlées des cellules (**Gokhan et al., 2022**). D'autres travaux, ont démontré une augmentation significative de l'expression de P53 au niveau de tissu rénal (le canala glomérulaire et épithélium sinusoidale), chez des rats traités par des doses croissantes d'ACE 10 et 15mg kg/j (**Gokhan et al., 2022**).

Chez le groupe traité par l'ACE avec supplément en brocoli, Nous avons observés diminution du marquage anti- P53 au niveau de la NH. Ce résultat, pourrait être médiée par les effets antiapoptotiques et antioxydants du sulforaphane (**Subedi et al., 2019**). Ainsi, la quercétine autre composé bioactif dérivés des flavonoïdes présents dans le brocoli, s'associer à ces mécanismes. Cette molécule module les marqueurs neuroinflammatoires en supprimant la surproduction d'oxyde nitrique (NO) et en réduisant l'expression de l'oxyde nitrique synthase

inductible (iNOS), améliorant encore la viabilité neuronale (**Saw *et al.*, 2014 ; Li *et al.*, 2019 ; Sharma *et al.*, 2020**). De plus, la quercétine régule également l'activité kinase, réduisant l'apoptose neuronale et le dysfonctionnement mitochondrial, et élimine les radicaux libres tels que OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et O<sub>2</sub> (**Park *et al.*, 2003 ; Tvrda *et al.*, 2016**).

Au vu de ces résultats, l'utilisation de l'acétamipride doit être contrôlée afin de réduire ses dommages aux mammifères, d'autant plus que son caractère toxique sur la neurohypophyse révéler par cette étude. Nous suggérant que les graines de brocoli sont capables de préserver l'architecture de la NH, réduisant les effets néfastes de l'ACE. Cela renforce l'hypothèse que les composés bioactifs du brocoli, peuvent constituer une stratégie naturelle efficace pour la protection du tissu nerveux contre les toxiques environnementaux.

# *Conclusion et Perspective*

L'exposition aux insecticides néonicotinoïdes, notamment l'acétamipride, représente un facteur émergent de risque neurotoxique, particulièrement préoccupant en raison de son usage croissant et de sa persistance dans l'environnement. Cette étude expérimentale a permis de mettre en évidence les effets délétères potentiels de l'ACE sur la neurohypophyse, une structure neuroendocrinienne clé dans le maintien de l'homéostasie hydrique et hormonale. Les modifications structurelles et cellulaires observées suggèrent une neurotoxicité. Nos résultats montrent que l'exposition à l'ACE pendant 37 jours provoque des modifications structurelles et fonctionnelles, telles que rétraction gliales, hypertrophie de taille des noyaux des cellules pituicytaires l'apparition de facteur apoptotique P53, augmentation de l'expression de GFAP et les microglies. Ces changements sont associés à une neuroinflammation, ce qui perturbe le fonctionnement de la neurohypophyse. Cependant, nos recherches ne se limitent pas sur les effets indésirables de l'ACE. Nous avons également évalué l'efficacité potentielle des graines de brocoli. L'administration concomitante de graines de brocoli a révélé un effet protecteur, traduisant le potentiel des composés bioactifs qu'elles contiennent à moduler les réponses neurotoxiques induites par les xénobiotiques.

### **Perspectives de recherche**

- Mettent en lumière l'intérêt d'explorer davantage les stratégies phytothérapeutiques dans la prévention des dommages neuronaux liés à l'exposition environnementale aux pesticides.
- Étendre l'expérimentation à d'autres structures du système nerveux central (hypothalamus, hippocampe) pour cartographier l'impact global de l'ACE.
- Réaliser des analyses moléculaires ciblées (expression génique des cytokines, activation des voies Nrf2/NF- $\kappa$ B) pour préciser les mécanismes d'action.
- Étudier d'autres composés végétaux à potentiel neuroprotecteur (curcumine, quercétine, resvératrol) en synergie ou en comparaison avec le brocoli.
- Explorer les effets de doses environnementales chroniques d'ACE, plus proches de l'exposition humaine réelle, pour une meilleure transposabilité des résultats.
- Développer des modèles intégratifs associant évaluation comportementale, histopathologique et biochimique pour mieux appréhender les conséquences neuroendocriniennes à long terme.

- Étudier la perturbation de la sécrétion de vasopressine par la neurohypophyse, liée aux déséquilibres hydro-électrolytiques et troubles métaboliques.
- Approfondir l'impact des néonicotinoïdes sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS), notamment la régulation du cortisol et la réponse au stress.
- l'utilisation de marqueurs spécifiques du stress oxydatif et de l'inflammation, permettrait d'enrichir la compréhension des mécanismes de toxicité.

## *Références bibliographiques*

Abdelaziz et bencherchali.(2016). Recherche des effets toxiques de l'acetamipride sur le foie et les poumons chez des souris femelles , Mémoire, Université BLIDA 1.

Akinrinade Ibukun Dorcas, Adejoke Elizabeth Memudu, Olalekan Michael Ogundelec,Olanrewaju Ibrahim Ajetunmobi. (2015). Interplay of glia activation and oxidative stress formation in fluoride and aluminium exposure. *PATHY-825*; No. of Pages 10

Albrakati, A. (2024). The potential neuroprotective of luteolin against acetamiprid-induced neurotoxicity in the rat cerebral cortex. *Frontiers In Veterinary Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1361792>

Al-Howiriny T. (2008): Evaluation of hepatoprotective activity of broccoli 'Brassica oleracea' in rats. *Hungarian Medical Journal* 2: 145-165.

AM Ares, MJ Nozal, J. Bernal, (2013), Extraction, caractérisation chimique et détermination de l'activité biologique des composés bénéfiques pour la santé du brocoli, *J. Chromatogr. A*, 1313, pp. 78-95, 10.1016/j.chroma.2013.07.051.and oxidative stress formation in fluoride and aluminium exposure. *PATHY-825*; No. of Pages 10

Amor.S, F. Puentes, D. Baker, P. van der Valk, (2010). Inflammation in neurodegenerative diseases, *Immunology* 129 154–169.

Audinat E, Arnoux I. (2014). La microglie : des cellules immunitaires qui sculptent et contrôlent les synapses neuronales. *Med Sci (Paris)*; 30 : 153-9.

Ayadi, J., Debouba, M., Rahmani, R., & Bouajila, J. (2022). Brassica Genus Seeds: A Review on Phytochemical Screening and Pharmacological Properties. *Molecules*, 27(18), 6008. <https://doi.org/10.3390/molecules27186008>

Azeem, M., Hanif, M., Mahmood, K., Ameer, N., Chughtai, F. R. S., & Abid, U. (2022). Aperçu des effets anticancéreux, antioxydants, antimicrobiens, antidiabétiques et anti-inflammatoires de la quercétine : une revue. *Polymer Bulletin*, 1–22.

Babula D, Kaczmarek M, Ziolkowski P, Sadowski J (2007) Brassica oleracea. In: Kole C (eds.) *Genome mapping and molecular breeding, Vol 5: Vegetables*. Springer, Heidelberg, Berlin, New York, Tokyo, pp 227–285

- Bahadoran, Z., Mirmiran, P., & Azizi, F. (2014). Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: A review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 13(1), 43. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-13-43>
- Ben Haim, L., & Rowitch, D. H. (2017). Functional diversity of astrocytes in neural circuit regulation. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(1), 31–41. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.159>
- Bingyong, L., Zhang, Y., & Wang, H. (2023). Advances in gene editing techniques for plant improvement. *Plant Biotechnology Journal*, 21(4), 567–58
- Boche, D., Perry, V. H., & Nicoll, J. A. (2013). Review: activation patterns of microglia and their identification in the human brain. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 39, 3–18.
- Bourbia.Ait hamlet Smina.,(2012).Evaluationdelatoxicitédemixturesdepesticidessurun bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa/ these en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat, Universite Badji mokhtar-annaba.*
- Brinckmann Josef, & Williams, Marisa. (2021). Broccoli - *Brassica oleracea var. italica* - Family : Brassicaceae. . <https://www.researchgate.net/publication/385312418>
- Broccoli taxonomic hierarchy (2022). Catalogue of Life, NCBI, GBIF, Invasive.org. Consulté le 16 juin 2025, sur Catalogue of Life, NCBI Taxonomy, GBIF Backbone Taxonomy, Invasive.org.
- Brownstein M.J, Russell J.T, Gainer H. (1980). Synthesis, transport and release of posterior pituitary hormones. *Sci.* 207: 373-378.
- Brunet JL, Maresca M, Fantini J, Belzunces LP. (2008). Intestinal absorption of the acetamiprid neonicotinoid by Caco-2 cells: transepithelial transport, cellular uptake and efflux. *J Environ Sci Health B.* 43:261–270.
- Brunetti C, Fini A, Sebastiani F, Gori A, Tattini M. (2018). Modulation de la signalisation des phytohormones : une fonction principale des flavonoïdes dans les interactions plante-environnement. *Front Plant Sci.* 9:1042. doi : 10.3389/fpls.2018.01042
- Buck, P. A. (1956). Origin and taxonomy of broccoli. *Economic Botany*, 10(3), 250-253. <https://doi.org/10.1007/bf02899000>
- C. Di, J.D. Fryer, C. Settembre, A. Ballabio, Astrocyte dysfunction triggers neurodegeneration in a lysosomal storage disorder, *PNAS* 109(2012)

Chang, H. ; Daugherty, L. ; Mitchell, A. Bee Afraid, Bee Very Afraid—Neonicotinoids and the nAChRs Family. InterPro Protein Focus. 2013. Disponible en ligne : (consulté le 3 avril 2023).

Chen M1, Tao L, McLean J, et al. (2014). Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: implication for dietary exposures. *J Agric Food Chem.* 2:62(26):6082-90.

Cheo TY, Lu LL, Guang Y, Al-Shehbaz IA. (2001). Brassicaceae (Cruciferae). In: Wu Z, Raven PH, eds. *Flora of China*. Vol 8. Beijing, China and St. Louis, MO: Science Press and Missouri Botanical Garden Press;:1-193 contrôlent les synapses neuronales. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 153-9.

Corrêa, C. ; Martin, J. ; Alencar, SM ; Porto, E. (2014). Activité antilistériale des tiges de brocoli ( *Brassica oleracea* ) par cytométrie de flux. *Int. Food Res. J.* 21 , 395.

Crissman JW, Goodman DG, Hildebrandt PK, Maronpot RR, PraterDA, et al. (2004) Best practices guideline: toxicologic histopathology. *Toxicol Pathol* 32: 126-131.

Crozier, a., jaganath, i. b., & clifford, m. n. (2007). phenols, polyphenols and tannins: an overview. in a. crozier, m. n. clifford, & h. ashihara (eds.), *plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet* (pp. 1–24). blackwell publishing.

Danesh E, Khatamsaz S, Shojaeifard M, Khabbaz Z (2014) Effects of hydro-alcoholic extract of broccoli (*Brassica oleracea*) on sensory threshold of pain using the formalin test in adult male rats. *J Biol Today's World* 3: 147-151.

De Seze R. (2007). Mobile phone and stress biomarkers in human volunteers. *Scientific book of the 29th Annual*, pp. 107-108.

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

Dixon, GR.(2006). Origines et diversité des Brassicacées et de leurs apparentées.

Dans *Vegetable Brassicas and Related Crucifers* ; CABI : Wallingford, Royaume-Uni, p. 1–33.

Dufoo-Hurtado, MD; Vazquez-Barrios, ME; Ramirez-Gonzalez, E.; Vazquez-Celestino, D.; Rivera-Pastrana, DM; Mercado-Silva, E.(2020). Propriétés nutritionnelles, nutraceutiques et

fonctionnelles des farines obtenues à partir de déchets de brocoli séchés à différentes températures. *Acta Hort.* 1292 , 137–144.

EFSA PPR Panel (EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues), (2013). Scientific Opinion on the developmental neurotoxicity potential of acetamiprid and imidacloprid. *EFSA Journal* 2013; 11(12):3471, 47 pp. doi:

Eisenbrandt D L 1 , S L Allen, P H Berry, W Classen, D Bury, W Mellert, R J Millischer, W Schuh, W J Bontinck . (1994). Evaluation of the neurotoxic potential of chemicals in animals. *Food Chem Toxicol*;32(7):655-69.doi: 10.1016/0278-6915(94)90010-8.

Elbert, A., Becker, B., Hartwig, J., & Erdelen, C. (1991). Imidacloprid — A new systemic insecticide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 44(2), 113–136.

Eng L F 1 , R S Ghirnikar, Y L Lee.(2000). Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years. *Neurochem Res*;25(9-10):1439-51. doi: 10.1023/a:1007677003387.

Escartin C, Guillemaud O. Carrillo-de Sauvage MA. (2019). Questions and (some) answers on reactive astrocytes. *Glia* ; 67 : 2221–2247.

Fahey, J. W., Liu, H., Batt, H., Panjwani, A. A., & Tsuji, P. (2025). Sulforaphane and Brain Health : From Pathways of Action to Effects on Specific Disorders. *Nutrients*, 17(8), 1353. <https://doi.org/10.3390/nu17081353>

Ferrandino I, Consiglio M, Grimaldi. (2008). Ultrastructural study of the pituicytes in the pituitary gland of the teleost *diploodus sargus*. *Brain Res. bulletin.* 75: 133-137.

Franzke, A. ; Lysak, MA ; Al-Shehbaz, IA ; Koch, MA ; Mummenhoff, K.(2011). Affaires familiales du chou : l’histoire évolutive des Brassicacées. *Trends Plant Sci.* 16 , 108–116.

Gasmi. (2018). Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat,, Thèse Doctorat,. 217p. Université de Tébessa

Gokhan Nur, Emrah Caylak\*, Pinar Aksu Kilicle, Safak Sandayuk, Ozlem Onen Celebi. (2022).Immunohistochemical distribution of Bcl-2 and p53 apoptotic markers in acetamiprid-induced nephrotoxicity. *Open Medicine*; 17: 1788–1796.

Golberg, K. ; Markus, V. ; Kagan, B.-e. ; Barzanizan, S. ; Yaniv, K. ; Terali, K. ; Kramarsky-Winter, E. ; Marks, RS ; Kushmaro, A.(2022). Activité antivirulence du 3,3'-diindolylméthane (DIM) : un composé phytochimique crucifère bioactif aux effets bénéfiques sur la cicatrisation accélérée des plaies. *Pharmaceutics* . 14 , 967.

Gray AR. (1982) Taxonomy and evolution of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Econ Bot.* 36(4):397-410.

Gudiño, I., Casquete, R., Martín, A., Wu, Y., & Benito, M. J. (2024a). Comprehensive Analysis of Bioactive Compounds, Functional Properties, and Applications of Broccoli By-Products. *Foods*, 13(23), 3918. <https://doi.org/10.3390/foods13233918>

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

Guo, L. P., Yang, R. Q., Wang, Z. Y., Guo, Q. H., & Gu, Z. X. (2014). Glucoraphanin, sulforaphane and myrosinase activity in germinating broccoli sprouts as affected by growth temperature and plant organs. *Journal of Functional Foods*, 9, 70–77.

Halkier, B. A., & Gershenzon, J. (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates. *The Annual Review of Plant Biology*, 57, 303–333

Han, F. ; Liu, Y. ; Croc, Z. ; Yang, L. ; Zhuang, M. ; Zhang, Y. ; Lv, H. ; Ji, J. ; Li, Z. ; Wang, Y. (2021). Progrès en génétique et sélection moléculaire du brocoli. *Horticulturae*.7 , 280.

Hanisch, U. K., & Kettenmann, H. (2007). Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nature Neuroscience*, 10, 1387–1394.

Hasanuzzaman, M. (2020). La famille des Brassicacées : biologie et réponses physiologiques aux stress environnementaux. Dans *La famille des Brassicacées : biologie et réponses physiologiques aux stress environnementaux* ; Springer : Singapour; p. 1–531.

Hatton G.I., (1988). Pituicytes, Glia and control of terminal secretion. *Exp. Biol.*, 139: 67-79

- He, W.-J.; Lv, C.-H.; Chen, Z.; Shi, M.; Zeng, C.-X.; Hou, D.-X.; Qin, S. (2023). Effet régulateur des composés phytochimiques sur les maladies chroniques en ciblant la voie de signalisation Nrf2-ARE. *Antioxydants*. 12 , 236.
- Hernandez-Rabaza, V., Cabrera-Pastor, A., Taoro-Gonzalez, L., Gonzalez-Usano, A., Agusti, A., Balzano, T., Llansola, M., & Felipo, V. (2016). Neuroinflammation increases GABAergic tone and impairs cognitive and motor function in hyperammonemia by increasing GAT-3 membrane expression. Reversal by sulforaphane by promoting M2 polarization of microglia. *Journal Of Neuroinflammation*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0549-z>
- HernándezRabaza, V., CabreraPastor, A., TaoroGonzález, L., Malaguarnera, M., Agustí, A., Llansola, M., & Felipo, V. (2016). Hyperammonemia induces glial activation, neuroinflammation and alters neurotransmitter receptors in hippocampus, impairing spatial learning: Reversal by sulforaphane. *Journal of Neuroinflammation*, 13(41).
- Hwang J.H. and Lim S.B. (2014): Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Broccoli Florets in LPS-stimulated RAW 264.7 Cells. *Prev. Nutr. Food Sci.* 19 (2): 89-97.
- Ilahy, Riadh, Imen Tlili, Zoltán Pék, Anna Montefusco, Mohammed Wasim Siddiqui, Fozia Homa, Chafik Hdider, Thouraya R'Him, Helyes Lajos, et Marcello Salvatore Lenucci.2020a. « Pre- and Post-harvest Factors Affecting Glucosinolate Content in Broccoli ». *Frontiers in Nutrition* .
- Iwasa T, Motoyama N, Ambrose JT, Roe MR (2004) Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Prot* 23:371–378
- Janda, E., Boi, L., & Carta, A. R. (2018). Microglial phagocytosis and its regulation: A therapeutic target in Parkinson's disease? *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 144.
- Jeffery EH, Araya M (2009) Physiological effects of broccoli consumption. *Phytochem Rev* 8: 283-298.
- Jeschke P, Nauen R (2010) Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Manag Sci* 64:1084–1098
- Jeschke P.,Nauen R, Schindler M et Elbert A.(2011). overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal and Agricultural and Food Chemistry*, 59:2897-2908.

Johansson, NL ; Pavia, CS ; Chiao, JW. (2008) Inhibition de la croissance d'un spectre d'agents pathogènes bactériens et fongiques par le sulforaphane, un isothiocyanate présent dans le brocoli et d'autres légumes crucifères. *Planta Med.* p. 74 , p. 747–750.

Juricek L, et Coumoul X.( 2014).Alimentation, pesticides et pathologies neurologiques. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 49(2) : 74-80.

Kagawa, N., & Nagao, T., Nakayama, A., Yoshida, M., (2019). The neonicotinoids acetamiprid and imidacloprid impair neurogenesis and alter the microglial profile in the hippocampal dentate gyrus of mouse neonates. *Journal of Applied Toxicology*, 39(6), 877–887.

Kennelley, G. E., Amaye-Obu, T., Foster, B. A., Tang, L., Paragh, G., & Huss, W. J. (2023). Mechanistic review of sulforaphane as a chemoprotective agent in bladder cancer. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, 11(2), 103–120.

Kikuchi M, Ushida Y, Shiozawa H, Umeda R, Tsuruya K, et al. (2015) Sulforaphane-rich broccoli sprout extract improves hepatic abnormalities in male subjects. *World J Gastroenterol* 21: 12457-12467.

Kumar, P. ; Meizel, S.(2005) Sous-unités du récepteur nicotinique de l'acétylcholine et protéines associées dans le sperme humain\*. *J. Biol. Chem.*280 , 25928–25935

Le, T. N., Sakulsataporn, N., Chiu, C., & Hsieh, P. (2020e). Polyphenolic Profile and Varied Bioactivities of Processed Taiwanese Grown Broccoli : A Comparative Study of Edible and Non-Edible Parts. *Pharmaceuticals*, 13(5), 82. <https://doi.org/10.3390/ph13050082>

Legendre, P., & Le Corrionc, H. (2014). Cellules microgliales et développement du système nerveux central chez l'embryon. *Médecine/Sciences*, 30(2), 147–152.

Lemoullec J.M, Jouquey S, Corvol P, Pinet F. (1997). A sensitive reverse transcriptase polymerase chain reaction assay for measuring the effects of dehydration and gestation on rat amounts of vasopressin and oxytocin mARNAs. *Mol. Cell Endocrinol.* 128: 151-159.

Li R, Li SC, Liu J (2011) Studies of hemocytes DNA damage by two pesticides acetamiprid and chlorpyrifos in predaceous spiders of *Pardosa astrigera* Koch. *Acta Ecol Sin* 31:3156–3162

- Li, Y. ; Tian, Q. ; Li, Z. ; Dang, M. ; Lin, Y. ; Hou, X. Activation de la signalisation Nrf2 par une association de sitagliptine et de quercétine contre la maladie d'Alzheimer induite par la  $\beta$ -amyloïde chez le rat. *Drug Dev. Res.* 2019, 80 , 837–845.
- Lier, J., Streit, W. J., & Bechmann, I. (2021). Beyond Activation: Characterizing Microglial Functional Phenotypes. *Cells*, 10(9), Article 2236.
- Liu, M., Zhang, L., Ser, S., Cumming, J., & Ku, K. (2018). Comparative Phytonutrient Analysis of Broccoli By-Products : The Potentials for Broccoli By-Product Utilization. *Molecules*, 23(4), 900. <https://doi.org/10.3390/molecules23040900>
- Liu, MY ; Casida, JE.(1993) Liaison à haute affinité de l'imidaclopride [3H] au récepteur de l'acétylcholine des insectes. *Pestic. Biochem. Physiol.* p. 46 , p. 40–46.
- Liu, W. ; Cui, X. ; Zhong, Y. ; Ma, R. ; Liu, B. ; Xia, Y.(2023). Métabolites phénoliques comme thérapeutiques dans l'inflammation et les néoplasmes : voies moléculaires expliquant leur efficacité. *Pharmacol. Res.* 193 , 106812.
- Ludwig M.(1998). Dendritic release of vasopressin and oxytocin. *J. Neuroendocrin.* 10(12): 881-95.
- Lv, X., Meng, G., Li, W., Fan, D., Wang, X., Espinoza-Pinochet, C. A., & Cespedes-Acuña, C. L. (2020). Sulforaphane and its antioxidative effects in broccoli seeds and sprouts of different cultivars. *Food Chemistry*, 316, 126216.
- Maolood N. (2007). Contrôle noradrénergique de la plasticité neurochimique et structurale dans le noyau supraoptique de l'hypothalamus chez la souris. Thèse de Doctorat. l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VI.
- Martin CA, Sideman RG.(2012) Survival and yields of fall-planted winter sprouting broccoli grown in high tunnels for spring harvest in the northeastern United States. *HortTechnology.* 22(3):345-352
- Martínez-Sánchez, A., Gil-Izquierdo, A., Gil, M. I., & Ferreres, F. (2008). A comparative study of flavonoid compounds, vitamin C, and antioxidant properties of baby leaf Brassicaceae species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2330–2340.
- Mateu-Sánchez, M., Moreno, M., Arrebola, F. J., & Martínez Vidal, J. L. (2003). Analysis of acetamiprid in vegetables using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Sciences*, 19(5), 701–704.

Medrano-Jiménez, E. ; Meza-Sosa, KF; Urbán-Aragon, JA; Secundino, I. ; Pedraza-Alva, G. ; Pérez-Martínez, L.(2022) Activation microgliale dans la maladie d'Alzheimer : le rôle des flavonoïdes et des microARN. *J. Leukoc. Biol.* 112 , 47-77.

Méresse Sarah., (2023). Étude in vitro des effets neurotoxiques et neuro-inflammatoires de trois toxiques environnementaux analogues d'acides aminés sur des modèles de culture de cellules souches neurales.Thèse de doctorat,Université d'Orléans, 2023. Français. NNT : 2023ORLE1013

Miyata S and Hatton G.I. (2002). Activity-related, dynamic neuron-glia interactions modulate PC12 cell adhesion. *J. Mol. Biol.* 362: 954-965.

Montaut, S., P. Rollin, G. R. De Nicola, R. Iori, et A. Tatibouët. (2012). « Composés bioactifs des Crucifères : un apport bénéfique dans notre quotidien ». *Phytothérapie* 10 (6) :342-49. .

Moreno, D. A., Carvajal, M., López-Berenguer, C., & García-Viguera, C. (2006). Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1508–1522

Morris J.F. (1976). Distribution of neurosecretory granules among the anatomical compartments of the neurosecretory processes of the pituitary gland: A quantitative ultrastructural approach to hormone storage in the neural lobe. *J. Endocrinol.* 68: 225-234

N.J. Maragakis, J.D. Rothstein, Mechanisms of disease: astrocytes in neurodegenerative disease, *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 2 (2006) 679–689,<http://dx.doi.org/10.1038/ncpneuro0355>.

Nagraj, G. S., Chouksey, A., Jaiswal, S., & Jaiswal, A. K. (2020). Broccoli. Dans Elsevier eBooks (p. 517).

Nallapareddy Saipratap Reddy, Saipratap, Krishnaveni Manubolu, Sanagapu Himabindu, Krishnagiri Deepthi, Mogal Karimulla Baig, & Lakshmi Prasanna. (2025). Unlocking the power of broccoli : anti-inflammatory and therapeutic potential of brassica oleracea var. *Italic*. <https://www.researchgate.net/>.

Nordmann J.J. and Labouesse J. (1981). Neurosecretory granules: evidence for an aging process within the neurohypophysis. *Sci.* 211: 595-597.

Nordmann J.J., and Morris J.F., (1984). Method of quantitating the molecular content of a subcellular organelle. Hormone and neurophysins content of newly formed and aged neurosecretory granules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 180-184

Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. (2024). Base de données statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

FAOSTAT. Disponible en ligne : (consulté le 8 octobre 2024). Ben Haim L, Rowitch DH. Functional diversity of astrocytes in neural circuit regulation. *Nat Rev Neurosci* 2017 ; 18 : 31–41.

Ozaki Y, Nomura M, Saito J, Luedke C.E, Muglia L.J, Matsumoto T, Ogawa S, Ueta Y, Pfaff D.W. (2004). Expression of the arginine vasopressin gene in response to salt loading in oxytocin gene knockout mice. *J. Neuroendocrinol.* 16(1): 39-44

Pacheco-Cano, RD ; Salcedo-Hernandez, R. ; Lopez-Meza, JE ; Bideshi, DK ; Barboza-Corona, JE.(2018) Activité antimicrobienne du cultivar Avenger de brocoli ( *Brassica oleracea* var. *italica* ) contre les bactéries pathogènes, les champignons filamenteux phytopathogènes et les levures. *J. Appl. Microbiol.* 124 , 126–135.

Pan MH, Lai CS, Ho CT.(2010). Activité anti-inflammatoire des flavonoïdes alimentaires naturels. *Food Funct.* 1:15–31. doi: 10.1039/c0fo00103a

Park, C. ; So, HS ; Shin, CH ; Baek, SH ; Moon, BS ; Shin, SH ; Lee, HS ; Lee, DW ; Park, R. (2003) La quercétine protège l'apoptose induite par le peroxyde d'hydrogène via l'inhibition du dysfonctionnement mitochondrial dans les cellules cardiomyoblastiques H9c2. *Biochem. Pharmacol.* 66 , 1287–1295.

Paturet G. (1964). *Traité d'anatomie humaine T.IV Système nerveux.* Masson Ed. Paris.

Peña, M. ; Guzman, A. ; Martínez, R. ; Mesas, C. ; Prados, J. ; Porres, JM; Melguizo, C. (2022) Effets préventifs de la famille des Brassicacées pour la prévention du cancer du côlon : un focus sur les études in vitro. *Bioméde. Pharmacother.* 151 , 113145.

Pérez-Balibrea, S., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2011). Genotypic effects on the phytochemical quality of seeds and sprouts from commercial broccoli cultivars. *Food Chemistry*, 125, 348–35

Perez-Figares J.M.,Fernandez-Liebrez P.,Perez J.,and Marin-Giron F.,(1986). Presence of microglia-like cells in the neurohypophysis in the normal and dehydrated rats. *Arch.Anat.*127,195- 200.

Podsedeck A. (2007): Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT* 40: 1-11.

Ponnampalam, EN ; Kiani, A. ; Santhiravel, S. ; Holman, BWB ; Lauridsen, C. ; Dunshea, FR.(2022) Importance des antioxydants alimentaires sur le stress oxydatif, la production de viande et de lait, et leurs effets conservateurs chez les animaux d'élevage : action antioxydante, santé animale et qualité des produits — Revue sur invitation. *Animals* , 12 , 3279.

PoulotBecqGiraudon, Y., Carrillode Sauvage, M.A., & Escartin, C. (2022). Astrocytes réactifs et maladies cérébrales : biomarqueurs et cibles thérapeutiques. *Médecine/Sciences*, 38(10), 786–794.

Quizhpe, J., Ayuso, P., De Los Ángeles Rosell, M., Peñalver, R., & Nieto, G. (2024). Brassica oleracea var italica and Their By-Products as Source of Bioactive Compounds and Food Applications in Bakery Products. *Foods*, 13(21), 3513.  
<https://doi.org/10.3390/foods13213513>

Raj S. J., Joseph B., (2015).Impact of acetamiprid toxicity on biochemical biomarkers (protein and carbohydrate) in some tissues of the fish *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Zoological Research*, 11: 222-227.

Ransom, B., Behar, T., & Nedergaard, M. (2003). New roles for astrocytes: Stars at last. *Trends in Neurosciences*, 26(10), 520–522.

Rasgele P. G., Oktay M., Kekecoglu M., Muranli F. D. G., (2015)- The histopathological investigation of liver in experimental animals after short-term exposures to pesticides. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 21: 446–453.

Ribadeau-Dumas J.L and Poirier J. 1974. *Abrégé d'histologie*. Edité par Masson, Paris

Richard R, Miselis S, kinly M.J. (1991). Median preoptique nucleus projections to vasopressin containing neurons of supraoptic nucleus in sheep. A light and electron microscopic study. *Brain. Res.* 542: 193-200.

Rivas, M.Á.; Benito, MJ; Martín, A.; Córdoba, MdG; Ruíz-Moyano, S.; Casquete, R. Améliorer les propriétés fonctionnelles des fibres alimentaires isolées des sous-produits du brocoli grâce à différentes technologies. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2022 , 80 , 103075.

- Saadi, L., Bouazza, M., & Lebaili, N. (2019). Acetamipride induced histopathological alteration in lung and liver of male mice. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1499–1505.
- Sandrock C., Tanadini M., Tanadini L.G., Fauser-Misslin A., Potts S.G., Neumann P., (2014). Impact of chronic neonicotinoid exposure on honeybee colony performance and queen supersedure. *PLoS. ONE*, 9: 1-13.
- Saw, CL ; Guo, Y. ; Yang, AY ; Paredes-Gonzalez, X. ; Ramirez, C. ; Pung, D. ; Kong, AN. (2014). Les constituants des baies, la quercétine, le kaempférol et le ptérostilbène, atténuent de manière synergique les espèces réactives de l'oxygène : implication de la voie de signalisation Nrf2-ARE. *Food Chem. Toxicol.* 72 , 303–311.
- Sedlar, T., Čakarević, J., Tomić, J., & Popović, L. (2021). Sous-produits végétaux comme nouvelles sources de protéines fonctionnelles. *Plants Foods Hum. Nutr.*, 76, 31–36.
- Shamsi, M., Soodi, M., Shahbazi, S., Omidi, A., & Behnam, R. (2021). Effect of Acetamiprid on spatial memory and hippocampal glutamatergic system. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(22), 27933–27941.
- Shankar, S., Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., & Sathiavelu, M. (2019). Brassicaceae : une revue classique de ses activités pharmacologiques. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 55, 107–113
- Sharma, A. ; Parikh, M. ; Shah, H. ; Gandhi, T. Modulation de Nrf2 par la quercétine chez des rats traités à la doxorubicine. *Heliyon* (2020) , 6 , e03803.
- Shi, M., Hlaing, M. M., Ying, D. Y., Ye, J. H., Sanguansri, L., & Augustin, M. A. (2019). Nouveaux ingrédients alimentaires issus de sous-produits du brocoli : propriétés physiques, chimiques et technologiques. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 1423–1432. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14073>
- Singh T. B., Mukhopadhyay S. K., Sar T. K., Ganguly S. (2012). Acetamiprid induces toxicity in mice under experimental conditions with prominent effect on the hematobiochemical parameters. *Journal of drug and metabolism toxicology*, 6: 1-5.
- Sladek C.D. (1999). Hormonal regulation of water and electrolyte balance. Antidiuretic hormone: synthesis and release. In: Fray JCS, ed. *Handbook of physiology*. Section 7, The

endocrine system. Vol III. Endocrine regulation of water and electrolyte balance; Oxford University Press: 436-495.

Subedi, S. C., Ross, M. S., Sah, J. P., Redwine, J., & Baraloto, C. (2019). Trait-based community assembly pattern along a forest succession gradient in a seasonally dry tropical forest. *Ecosphere*, 10(4), e02719. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2719>

Syed, R. U., Moni, S. S., Break, M. K. B., Khojali, W. M. A., Jafar, M., Alshammari, M. D., Abdelsalam, K., Taymour, S., Alreshidi, K. S. M., Taha, M. M. E., & Mohan, S. (2023). Broccoli : A Multi-Faceted Vegetable for Health : An In-Depth Review of Its Nutritional Attributes, Antimicrobial Abilities, and Anti-inflammatory Properties. *Antibiotics*, 12(7), 1157.

Szepesi, J., Ésik, Z., Soós, I., Novák, T. J., Sütő, L., Rózsa, P., Lukács, R., & Harangi, Sz. (2018). Földtani objektumok értékminősítése: módszertani értékelés a védelem, bemutatás, fenntarthatóság és a geoturisztikai fejlesztések tükrében. *Földtani Közlöny*, 148(2), 143–160. <https://doi.org/10.23928/foldt.kozl.2018.148.2.143>

Taly, A., Corringer, P.-J., Guedin, D., Lestage, P., & Changeux, J.-P. (2009). Récepteurs nicotiniques : transitions allostériques et cibles thérapeutiques dans le système nerveux. *Médecine/Sciences*, 25, 733–750.

Terayama, H., Endo, H., Tsukamoto, H., Matsumoto, K., Umezu, M., Kanazawa, T., Ito, M., Sato, T., Naito, M., Kawakami, S., Fujino, Y., Tatemichi, M., & Sakabe, K. (2016). Acetamiprid Accumulates in Different Amounts in Murine Brain Regions. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 13(10), 937. <https://doi.org/10.3390/ijerph13100937>

Testud F (2014) Insecticides néonicotinoïdes. EMC-Pathologie professionnelle et de l'environnement. EMC-Toxicologie-Pathologie. doi: 10.1016/S1877-7856(13)62786-5.

Theodosios D.T, Poulain D.A, Olié S.H. (2008). Activity-Dependent structural and functional plasticity of astrocytes-neuron interaction. *Physiol. Res.* 88: 983-1008

Toescu E.C and Morris J.F. 1990. Morphometric analysis of nerve endings isolated from bovine and rat neurohypophysis. *J. Anat.* 173: 1-17.

- Tomizawa M and Casida JE, (2003). Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu Rev Entomol*, 48, 339-364.
- Tomizawa, M. (2005). Chemical biology of the nicotinic insecticide receptor. In E. Cohen (Ed.), *Advances in insect physiology* (Vol. 44, pp. 63–99). Academic Press.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2001). Structure et diversité des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine chez les insectes. *Pest Management Science*, 57, 914–922.  
<https://doi.org/10.1002/ps.392>
- Triska, J., Balik, J., Houška, M., Novotna, P., Magner, M., Vrchotová, N., Hic, P., Jilek, L., Thorova, K., Snurkovič, P., et al. (2021). Facteurs influençant la teneur en sulforaphane dans les pousses de brocoli et l'extraction ultérieure du sulforaphane. *Foods*, 10, 1927.  
<https://doi.org/10.3390/foods10081927>
- Tvrda, E., Tušimová, E., Kovacik, A., Paal, D., Libova, L., & Lukáč, N. (2016). Effets protecteurs de la quercétine sur certains biomarqueurs oxydatifs chez les spermatozoïdes bovins soumis à l'ascorbate ferreux. *Reproduction in Domestic Animals*, 51, 524–537.  
<https://doi.org/10.1111/rda.12716>
- Tweedle C.D, Smithson K. G, Hatton G.I. (1989). Neurosecretory endings in the rat neurohypophysis are en passant. *Exp. Neurolo.* 106: 20-26.
- Verbalis JG., Mangione MP., Stricker EM., (1991). Oxytocin produces natriuresis in rats at physiological plasma concentrations. *Endocrinology*. Mar;128(3):1317-22.
- Villaño, D. ; Fernández-Pan, I. ; Arozarena, Í. ; Ibañez, FC ; Vírseda, P. ; Beriain, MJ.(2023) Revalorisation des excédents de cultures de brocoli et des résidus de culture : nouveaux ingrédients pour l'industrie alimentaire. *Eur. Food Res. Technol.* 249 , 3227–3237.
- Wittkowski W. (1986). Pituicytes. In *Development, Morphology and Regional Specialization of Astrocytes*. Eds. S. Fedoroff and A. Vernadakis, Academic Press, London. 1: 173-208.
- Woodcock BA, Isaac NJB, Bullock JM, Roy DB, Garthwaite DG, Crowe A, Pywell RF (2016) Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. *Nature* doi:10.1038/ncomms12459
- Wu, A. & Liu, Y. (2000, 1 mars). Deltamethrin induces delayed apoptosis and altered expression of p53 and bax in rat brain. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 8(3), 183–189.

Yamamoto, I.; Casida, J.E. (1999) ;Insecticides nicotinoïdes et récepteur nicotinique de l'acétylcholine ; Springer : Tokyo, Japon; 300 p.

Ysrafil, Y., Sapiun, Z., Slamet, N. S., Mohammed, F., Hartati, H., Damiti, S. A., Alexandra, F. D., Rahman, S., Masyeni, S., Harapan, H., et al. (2023). Activités anti-inflammatoires des dérivés flavonoïdes. *ADMET and DMPK*, 11, 331–359. <https://doi.org/10.5599/admet.2763>

Zaib, S., Javed, H., Khan, I., Jaber, F., Sohail, A., Zaib, Z., Mehboob, T., Tabassam, N., & Ogaly, H. A. (2023). Maladies neurodégénératives : apparition, épidémiologie, causes et traitement. *ChemistrySelect*, 8, e202300225.

Zoumenou, B. G. Y. M., Aïna, M. P., Imorou Toko, I., Igout, A., Douny, C., Brose, F., Schiffers, B., Gouda, I., Chabi Sika, K., Kestemont, P., & Scippo, M.L. (2019). Occurrence of Acetamiprid Residues in Water Reservoirs in the Cotton Basin of Northern Benin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102(1), 7–12

# *Annexes*

## **Annexe 1**

### **I. Matériel et réactifs**

#### **I.1 Réactifs**

- Acétamipride pur 20% ;
- L'eau distillé
- Ethanol (70°, 80°, 95° et 100°).
- Uréthane à 25%.
- Eukitt Specilab (résine synthétique de montage).
- Hématoxyline.
- Fixateur formaldéhyde à 10%.
- Eosine.
- Chloroforme.
- Xylène.

#### **I.2 Appareillage**

- Microtome (Leica).
- Automate spécial de traitement des tissus (LEICA)
- Automate spécial pour coloration de type AMOUS.
- Appareil d'inclusion.
- Plaque refroidissante (Leica).
- Etuve (Binder).
- Microscope photonique Zeiss Axzio.
- Bain marie.
- Hotte pour le montage de classe II.

#### **I.3. Autre matériel**

- Cassettes d'inclusion en plastiques.

- Portes lames.
- Lames porte objet et lamelles.
- Graveur.
- Paire de ciseaux.
- Pincés.
- Moule en métal.
- Papier absorbant.
- Trousse de dissection.
- Cages.
- Béchers.



**Cages d'hébergement des rats durant l'expérience**



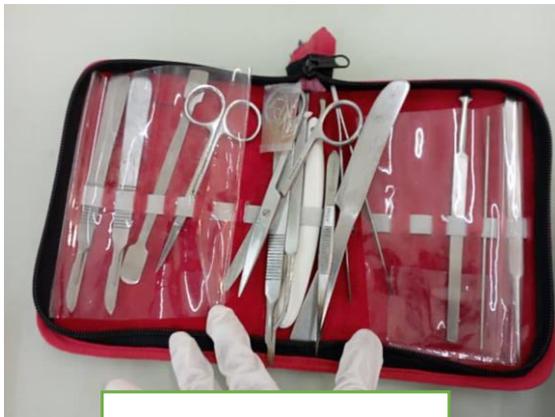
**Gavage**



**Micropipette**



**Balance de précision**



**Trousse de dissection**



**Microscope photonique de type Zeiss Axzio**



**Plan de travail  
macroscopique**



**Cassettes d'inclusion  
en plastiques**



**Automate spécial de  
traitement des tissus (LEICA)**



**Appareil d'inclusion  
(Leedo)**



**Démoulage des blocs  
de paraffine**



**Microtome de type  
LEICA**



**Etalement de  
ruban sur la lame**



**Etuve Binder**



Automate spécial pour coloration de type AMOUS.



Hôte de montage type 2.



Anti corps primaire : CD68, GFAP, P53.



Kit de révélation

## Annexe 2

**Tableau V :** Evolution de poids des rats durant l'expérimentation en (g)

**Rat P :** rat perfusé ; **S :** semaine ; **SAC :** sacrifice

lot	RAT	S1	S2	S3	S4	S5	SAC
ACE+B	Rat 01	168	195	220	238	250	262
	Rat 02	168	180	207	222	220	220
	Rat 03	166	206	233	258	266	264
	Rat 04	163	200	210	232	242	247
	Rat 05	163	199	208	225	232	242
	RAT P1	247	263	267	264	266	266
	Rat 06	248	277	281	284	289	294
ACE	Rat01	238	272	302	309	322	326
	Rat02	223	261	281	289	299	305
	Rat03	230	268	289	300	306	324
	Rat04	263	293	322	332	343	356
	Rat P2	255	278	297	300	307	307
	Rat05	255	263	286	291	304	314
	Rat06	260	282	306	311	340	338
T+	Rat P3	157	194	223	247	248	248
	Rat 1	237	267	280	284	292	286
	Rat 2	237	242	248	248	253	248
	Rat 3	150	202	230	237	251	252
	Rat 4	150	181	194	220	230	228
	Rat 5	160	175	181	189	189	178
	Rat 6	160	200	220	223	235	232
T-	Rat 01	270	283	300	303	309	302
	Rat 02	268	282	300	311	314	314
	Rat 03	270	287	316	324	335	333
	Rat 04	261	274	287	301	303	300
	Rat 05	290	298	330	335	332	338
	Rat 06	257	257	290	296	305	308
	Rat 07	275	275	288	294	296	300
	Rat P4	280	293	307	309	315	315

**Tableau VI :** Les doses administré durant l'expérimentation

LOT	n Cage	n Rat	Semaine	Moyen de poids (g)	Quantité d'ACE (mg)	Volume pour dissoudre
ACE+B	4	5	1	165.66	1.65 mg/rat/jrs	1ml d'eau distillé stérile
		2		247.5	4.94 mg/rat/jrs	
	4	5	2	197.66	1.97 mg/rat/jrs	
		2		270	2.7 mg/rat/jrs	
	4	5	3	218.5	2.185 mg/rat/jrs	
		2		274	2.74 mg/rat/jrs	
	4	5	4	238.83	2.382 mg/rat/jrs	
		2		274	2.74 mg/rat/jrs	
	4	5	5	245.66	2.456 mg/rat/jrs	
		2		277.5	2.775 mg/rat/jrs	

LOT	n Cage	n Rat	Semaine	Moyen de poids (g)	Quantité d'ACE (mg)	Volume pour dissoudre
ACE	2	3	1	230.33	2.30 mg/rat/jrs	1ml d'eau distillé stérile
		4		258.25	2.58 mg/rat/jrs	
	2	3	2	267	2.67 mg/rat/jrs	
		4		279	2.79 mg/rat/jrs	
	2	3	3	290.66	2.906 mg/rat/jrs	
		4		302.75	3.027 mg/rat/jrs	
	2	3	4	299.33	2.993 mg/rat/jrs	
		4		308.5	3.085 mg/rat/jrs	
	2	3	5	309	3.09 mg/rat/jrs	
		4		323.5	3.235 mg/rat/jrs	

**Exemple de calcule :**

**Lot ACE+B :**

- Nombre de rats : 5
- Poids moyen : 165,66 g

- Formule de calcul :  $(165,66 \times 10) / 1000 = 1,65 \text{ mg/jour/rat}$
- Volume de gavage par jour par rat : 1 ml
- Durée : 5 jours
- Solution totale à préparer :
- 50 ml  $\rightarrow (5 \text{ rats} \times 1 \text{ ml} \times 5 \text{ jours}) \times 2$  (par excès)
- 82,5 mg  $\rightarrow (5 \text{ rats} \times 1,65 \text{ mg} \times 5 \text{ jours}) \times 2$  (par excès)

**Lot ACE :**

- Nombre de rats : 3
- Poids moyen : 230,33 g
- Formule de calcul :  $(230,33 \times 10) / 1000 = 2,30 \text{ mg/jour/rat}$
- Volume de gavage par jour par rat : 1 ml
- Durée : 5 jours
- Solution totale à préparer :
- 30 ml  $\rightarrow (3 \text{ rats} \times 1 \text{ ml} \times 5 \text{ jours}) \times 2$  (par excès)
- 69 mg  $\rightarrow (3 \text{ rats} \times 2,30 \text{ mg} \times 5 \text{ jours}) \times 2$  (par excès)

**Tableau VIII :** Composition des bouchons alimentaires

<b>Composant</b>	<b>Teneur</b>
Protéines (%)	20 %
Matières grasses brutes (%)	4 %
Cendres brutes (%)	6,5 %
Cellulose brute (%)	5,5 %
Calcium (%)	1,1 %
Phosphore (%)	0,8 %
Vitamine A (UI/kg)	22 000
Vitamine D <sub>3</sub> (UI/kg)	2 200
Vitamine E (mg/kg)	100
Sulfate de cuivre penta-hydraté (mg/kg)	8

## Annexe3

### II. Calculs statistique

**II.1 Comparaison entre les poids corporel finale :** pes expérimentaux et le groupe Témoin à des temps similaires est déterminée par ANOVA, qu'été traitée par le logiciel SPSS. Les différences étaient considérées comme statistiquement significative si  $P < 0,05$ .

**ANOVA ACE+B VS T+**

LOT3 LOT4	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Intergroupes	1080,643	1	1080,643	1,344	0,269
Intragroupes	9646,571	12	803,881		
Total	10727,214	13			

**ANOVA ACE VS T-**

LOT2 LOT1	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
INTERGROUPE	414,405	1	414,405	1,547	0,236
INTRAGROUPE	3482,929	13	267,918		
TOTAL	3897,333	14			

**ANOVA ACE VS ACE+BROCOLI**

LOT2 LOT 3	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
INTERGROUPE	16116,071	1	16116,071	37,269	0,000
INTRAGROUPE	5189,143	12	432,429		
TOTAL	21305,214	13			



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'étude

En vue d'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème :

**L'effet de l'acétamipride et les grains de brocoli sur l'aspect  
structurel et cellulaires de la neurohypophyse chez le rat wistar mâle**

Réalisé par :

M<sup>lle</sup> Alem Maroua.

et

M<sup>lle</sup> Hamadidi Rachida Bouchra



Soutenu le 03/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme. SAADI L.	Professeur	Présidente	Université de Blida 1
Mme ZATRA Y.	Maitre de conférence	Examinatrice	Université de Blida 1
Mme SIFI M.	Maitre de conférence	Promotrice	Université de Blida 1

Année universitaire 2024 – 2025

A. F  
Zatra yamina  
ZATRA