

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
جامعة أمحمد بوقره بومرداس  
Université M'hamed Bougara de Boumerdes



Faculté des Sciences

Département de Biologie

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master académique en  
Biologie**

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie

**Thème**

**Etude physiologique et comportementale du rat jeune adulte  
traité à la dexaméthasone**

**Présenté par :**

**M<sup>elle</sup> BOUCHERBA Hadjer**

**M<sup>elle</sup> BELHADI Roukia**

**M<sup>elle</sup> DECHIR Asma**

**Soutenu le 28/10/2020 devant le jury :**

- |                    |     |      |              |
|--------------------|-----|------|--------------|
| • Mme Mellal G.    | MAA | UMBB | Présidente   |
| • Mme Belblidia H. | MCB | UMBB | Examinatrice |
| • Mme Guettaf H.   | MCB | UMBB | Promotrice   |

**Année Universitaire : 2019/2020**

# *Remerciements*

Tout d'abord, nous remercions dieu le tout puissant, de nous avoir donné la force, le courage, la santé, et la patience de terminer ce mémoire.

Nous adressant nos plus sincères remerciements à Mme GUETTAF, notre promotrice pour son encadrement, sa compréhension et sa confiance, pour nous avoir guidé et encouragé, conseillé pendant toute cette période.

Nous remercions tous les membres de juré de mémoire.

Nous tenons à remercier tous les enseignants de physiologie qui nous ont prodigué la formation de notre spécialité.

Enfin nous remercions tous nos familles et amis qui nous ont toujours encouragés au cours de réalisation de ce mémoire.

# *Dédicace*

Après avoir terminé ce travail je veux le

Dédier a :

D'abord à mes chers parents qu'ils ont été toujours derrière moi pour me soutenir.

A mes frères et ma sœur.

A tous ma famille et mes amis.

Ma promotrice et mes professeurs de physiologie.

DECCHIR A.

# *Dédicace*

Je dédie ce modeste travail :

D'abord à mes chers parents pour leur aide, et leur encouragement.

Mes frères et mes sœurs.

Mes amis

Ma promotrice et mes professeurs de physiologie.

BELHADI R.

# *Dédicace*

Je dédie ce mémoire a :

Mes chers parents, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu et leurs grands sacrifices.

Mon frère

A tous ma famille et mes amis.

Ma promotrice et professeurs de physiologie.

BOUCHARBA H.

# Résumé

Les glucocorticoïdes (GC) sont des hormones secrétées par la corticosurrénale, sous l'effet de l'ACTH ou d'un stress. Les GC de synthèse sont largement utilisés en clinique, pour leurs effets antiinflammatoire et immunosupresseur, des effets délétères sont cependant observés.

L'objectif de notre étude est de chercher les répercussions d'un glucocorticoïde de synthèse, la dexaméthasone sur le comportement et la fonction de reproduction. Cette étude a été menée sur les rats jeunes adultes, de souche wistar. Une dose quotidienne de dexaméthasone ( $100\mu\text{g}/200\text{g}$  PC) leur a été administrée durant 10 jours. L'étude comportementale est estimée par le test du labyrinthe en croix surélevés, le champ ouvert et de la nage forcée. Le comportement alimentaire est aussi suivi. A la fin du traitement, ils sont sacrifiés, le sang et les organes sont alors récupérés et analysés.

Les résultats pondéraux révèlent des modifications du poids corporel et de certains organes, soient une diminution du poids des testicules et des glandes surrénales, et une augmentation de l'épididyme. Le dosage hormonal montre une diminution des taux plasmatiques des gonadotrophines LH, FSH et de la testostérone et le spermogramme révèle une baisse du nombre de spermatozoïdes épididymaires.

Les résultats de l'étude comportementale montrent un état d'anxiété des rats traités par les GC : une diminution de l'activité motrice, l'évitement de certaines zones comme la partie centrale du champ ouvert et le bras ouvert du labyrinthe en croix surélevé. Ils présentent aussi un état de désespoir et d'échappement pour le test de la nage forcée. Une diminution de la prise alimentaire est également observée reflétant état de stress.

Nos résultats sont en faveur de l'action des glucocorticoïdes qu'ils soient endogènes ou exogènes sur la reproduction, le comportement alimentaire, ainsi que sur les comportements liés au stress.

## *Mots clés :*

Dexaméthasone, glucocorticoïdes, test comportemental, reproduction.

# *Abstract*

The glucocorticoids (GC) are hormones secreted by the adrenal cortex, under the effect of ACTH or stress (stress hormone). Synthetic GCs are widely used clinically, for their anti-inflammatory and immunosuppressive effects, deleterious effects are however observed.

The objective of our study is to investigate the repercussions of a synthetic glucocorticoid, dexamethasone, on behavior and reproductive function. This study was carried out on young adult rats of the wistar strain. A daily dose of dexamethasone (100 µg / 200 g EP) was administered to them for 10 days. The behavioral study is estimated by the raised cross maze, open field and forced swimming. At the end of the treatment, they are sacrificed; the blood and the organs are then recovered.

The weight results reveal changes in body weight and in certain organs, namely a decrease in the weight of the testes and adrenal glands, and an increase in the epididymis. The hormonal dosage shows a decrease in the plasma levels of LH and FSH gonadotropins and testosterone and the spermogram a decrease in the number of epididymal sperm.

Results of behavioral study show state of anxiety in rats treated with GC: a decreased in motor activity, avoidance of certain areas like the central part of the open field and the open arm of the raised cross maze. They also exhibit a state of desperation and exhaustion for the forced swim test. A decrease in food intake is also observed reflecting state of stress.

Our results are in favor of the action of glucocorticoids, whether endogenous or exogenous, on reproduction, feeding behavior, as well as on behavior linked to stress.

## *Keywords :*

Dexamethasone, glucocorticoids, behavioral test, reproduction.

# الملخص

الغلوكوكورتيكويدات هي هرمونات تفرزها قشرة الغدة الكظرية تحت تأثير ACTH أو الجهاد (هرمون الإجهاد). تستخدم الغلوكوكورتيكويدات الاصطناعية على نطاق واسع في العيادة، لتأثيراتها المضادة للالتهابات والمناعة، ومع ذلك لوحظت لها عدة آثار ضارة.

الهدف من دراستنا هو التحقيق في تداعيات الغلوكوكورتيكويد الاصطناعي، ديكساميثازون، على السلوك والوظيفة الإنجابية. أجريت هذه الدراسة على الجرذان البالغة من سلالة ويسترن. تم إعطاء جرعة يومية من ديكساميثازون (100 ميكروغرام/200جم) لمدة 10 أيام، تم تقدير الدراسة السلوكية باختبار المتاهة المتقاطعة المرتفعة والحقل المفتوح والسباحة القسرية، كما يتم مراقبة سلوك الأكل. في نهاية العلاج يتم التضحية بهم، ثم يتم استعادة الدم والأعضاء.

تكشف نتائج الوزن عن تغيرات في وزن الجسم وفي بعض الأعضاء، مثل انخفاض في وزن الخصيتين والغدة الكظرية وزيادة في البربخ. كما يظهر الفحص الهرموني انخفاضا في المستويات البلازمية لهرمونات الغدة التناسلية FSH و LH والتستوستيرون ويظهر مخطط الحيوانات المنوية انخفاضا في مستويات الحيوانات المنوية للبربخ.

تظهر نتائج الدراسة السلوكية المستخدمة حالة القلق في الجرذان المعالجة بالغلوكوكورتيكويدات : إنخفاض النشاط الحركي، تجنب بعض المناطق مثل الجزء المركزي من الحقل المفتوح والذراع المفتوح للمتاهة المتقاطعة المرتفعة، كما أنهم يظهرون حالة من اليأس والإرهاق في اختبار السباحة القسري. كما لوحظ إنخفاض في تناول الطعام يعكس حالة القلق.

تؤيد نتائجنا عمل الغلوكوكورتيكويدات، سواء كانت داخلية أو خارجية، على التكاثر وسلوك التغذية و أيضا السلوك المرتبط بالتوتر.

## الكلمات المفتاحية:

الديكساميثازون، الغلوكوكورتيكويدات، الاختبار السلوكي، التكاثر.

## Liste des figures

N° de la figure	Titre de la figure	Pages
1	Coupe sagittale médiane schématique de petit bassin et du périnée chez l'homme ( <a href="http://www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf">www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf</a> )	5
2	Représentation schématique de l'appareil reproducteur male du rat( <b>Roscoe et al., 1941</b> ).	6
3	Histologie des testicules ( <b>Ophys, 2015</b> )	6
4	Structure anatomique du testicule ( <a href="http://www.servier.fr">www.servier.fr</a> et <b>Rato et al., 2012</b> )	8
5	Coupe transversale du tube séminifère ( <b>Hôte, 2009</b> )	8
6	Les cellules de sertoli ( <b>Kohler, 2011</b> )	9
7	Régulation hypothalamo-hypophysaire des fonctions endocrines et exocrines de l'homme adulte ( <b>Schlosser et al., 2007</b> ).	10
8	Schéma représente les étapes de la différenciation des spermatogonies en spermatozoïdes ( <b>Bertrand-Delepine et al., 2016</b> ).	10
9	Voie de signalisation impliquée dans la spermatogenèse ( <b>Fei-Da et al., 2020</b> ).	11
10	Anatomie de la glande surrénale ( <b>Tortora et Derrickson, 2017</b> ).	12
11	Coupe histologique décrivant l'aspect schématique des trois couches de la corticosurrénale responsable de la synthèse des hormones stéroïdiennes ( <b>El-zaoui, 2013</b> ).	12
12	Structure et histologie de la glande surrénale ( <b>Marieb et al., 2010</b> ).	13
13	Schéma représente la vascularisation de la glande surrénale chez les mammifères ( <b>Stevens et Lowe, 2000</b> ).	14
14	Schéma de la régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes ( <b>Uchoa et al., 2014</b> ).	16
15	Biosynthèse des glucocorticoïdes ( <b>Funny, 2015</b> ).	17
16	Structure chimique du cholestérol et des principaux corticostéroïdes ( <b>Wechsler et Chosidow, 1997</b> ).	18
17	Récepteur aux glucocorticoïdes ( <b>Weikum et al., 2017</b> ).	20
18	Formation du complexe hormone-récepteur ( <b>Lindsay, 2015</b> ).	21
19	Action transcriptionnelle directe : effet positif ou négatif( <b>Weikum et al., 2017</b> ).	21
20	Photo des rats de laboratoire.	24
21	Photographie originale de la dissection d'un rat.	25
22	Dispositif utilisé dans le labyrinthe en croix surélevée.	27
23	Dispositif utilisé dans le champ ouvert.	28

24	Dispositif utilisé dans la nage forcée.	29
25	Cellule de Malassez.	30
26	Test de vitalité.	32
27	Centrifugeuse.	33
28	Photo réelle de l'analyse hématologique utilisée pour l'analyse des échantillons.	33
29	Evolution du poids corporels des jeunes rats adultes témoins et traités à la dexaméthasone.	37
30	Evolution de la prise alimentaire moyenne quotidienne des jeunes rats adultes témoins et traités à la dexaméthasone.	38
31	Evolution de la consommation d'eau quotidienne des jeunes rats adultes témoins et traités à la dexaméthasone.	38
32	Variation des paramètres (temps) du test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats adultes témoins et traités.	40
33	Variation des paramètres (nombres) du test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats adultes témoins et traités	40
34	Variations des paramètres (temps) du test du champ ouvert des jeunes rats adultes témoins et traités.	41
35	Variations des paramètres (nombres) du test du champ ouvert des jeunes rats adultes témoins et traités.	42
36	Variation des paramètres du pré-test de la nage forcée des jeunes rats adultes témoins et traités.	43
37	Variation des paramètres du test de la nage forcée des jeunes rats adultes témoins et traités.	44
38	Variation du poids absolu et relatif du testicule et des vésicules séminales chez les jeunes rats témoins et traités.	44
39	Variation du poids absolu et relatif des surrénale chez les jeunes rats témoins et traités.	45
40	Variation du poids absolu et relatif de l'épididyme et de canal déférent chez les jeunes rats témoins et traités.	45
41	Variation du poids absolu et relatif du tissu adipeux et testiculaire chez les jeunes rats témoins et traités.	46
42	Variation du taux plasmatiques en testostérone chez les jeunes rats témoins et traités.	47
43	Variation des taux plasmatique en LH et FSH chez les jeunes rats témoins et traités.	48

### Liste des tableaux :

<b>N° de tableau</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>Pages</b>
1	Variation de poids corporels des rats témoins et traités.	37
2	Variation de la prise alimentaire des rats témoins et traités.	38
3	Variation de la consommation d'eau pour les rats témoins et traités.	38
4	Les mesures des paramètres (temps en seconde) du labyrinthe en croix surélevées chez les rats témoins et traités.	39
5	Les mesures des paramètres (nombres) du labyrinthe en croix surélevées chez les rats témoins et traités.	40
6	Les mesures des paramètres (temps) de champs ouverte chez les rats témoins et traités.	41
7	Les mesures des paramètres (nombres) de champs ouverte chez les rats témoins et traités	42
8	Les mesures des paramètres du pré-test de la nage forcé chez les rats témoins et traités.	43
9	Les mesures des paramètres test de la nage forcé chez les rats témoins et traités.	43
10	Variation du poids des organes des rats témoins et traités.	46
11	Variation de taux plasmatique des hormones chez les rats témoins et traités	48

## Liste des abréviations :

- ACTH** : adrenocorticotropic hormone.
- ABP**: androgen-binding hormone.
- ADH**: antidiuretic hormone.
- ADN**: acide désoxyribonucléique.
- ARN**: acide ribonucléique.
- AVP**: vasopressine.
- BF**: bras fermé.
- BHT**: barrière hémato-testiculaire.
- BO**: bras ouverte.
- CGB**: corticosteroid-binding globuling.
- CMP**: cellule myéloide péritubulaire
- CRH**: corticotropin-releasing hormone.
- DBD**: domaine de liaison à l'ADN.
- DEXA** : dexamethasone.
- ECL** : L'electrochimiluminescence
- EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique.
- ESM** : erreur standard à la moyenne.
- FSH**: follicle-stimulating hormone.
- FST**: forced swimming test.
- GC**: glucocorticoïde.
- GnRH**: gonadotropin-releasing hormone.
- GR**: récepteur des glucocorticoïdes.
- GR  $\alpha$** : isoforme  $\alpha$  du récepteur des glucocorticoïdes.
- GR  $\beta$** : isoforme  $\beta$  du récepteur des glucocorticoïdes.
- GRE** : glucocorticoids responsive elements

**HHS**: hypothalamo-hypophysaire-surrénalien.

**HSP**: heat shock proteins

**IgE**: immunoglobulin E

**IP** : intrapéritonéale

**LBD** : domaine de liaison au ligand

**LDL**: low-density lipoprotein.

**LH**: luteinizing hormone.

**NaCl**: chlorure de sodium.

**nGRE**: negative glucocorticoid response-like element

**NTD**: domaine amino-terminal

**TeBG**: testicular-Binding-Globuline.

## Sommaire:

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre 1. Rappel bibliographique</b> .....	4
<b>I.1. L'anatomie de l'appareil génital male</b> .....	5
I.1.1. Testicule .....	6
I.1.2. Les voies génitales .....	7
I.1.2.1. L'épididyme .....	7
I.1.2.2. Le canal déférent .....	7
I.1.3. Les glandes annexes .....	7
<b>I.2. Physiologie de la reproduction chez le rat</b> .....	7
I.2.1. Les tubes séminifères .....	7
I.2.2. Les cellules de Sertoli .....	8
I.2.3. Les cellules de Leydig .....	9
<b>I.3. Régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique</b> .....	9
<b>I.4. La spermatogenèse</b> .....	10
<b>II. Anatomie de la glande surrénale</b> .....	11
II.1. La corticosurrénale .....	12
II.2. La médulosurrénale .....	13
II.3. Vascularisation de la glande surrénale .....	13
II.4. Innervation de la glande surrénale .....	14
<b>III. Les glucocorticoïdes</b> .....	15
III.1. Les glucocorticoïdes naturels .....	15
III.1.1. Généralités .....	15

III.1.2. Régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes par l'axe hypothalamo-hypophysaire .....	15
III.1.3. Biosynthèse des glucocorticoïdes .....	16
III.2. Les glucocorticoïdes de synthèses .....	17
III.2.1. Généralités .....	17
III.2.2. Les principaux corticoïdes .....	18
III.2.3. La dexaméthasone .....	19
III.3. Pharmacocinétique des glucocorticoïdes .....	19
III.4. Transport des glucocorticoïdes .....	19
III.5. Les récepteurs aux glucocorticoïdes GR .....	19
III.6. Mécanisme d'action du récepteur .....	20
III.7. Les effets physiologiques des glucocorticoïdes .....	22
❖ Le métabolisme .....	22
❖ Action anti-inflammatoire .....	22
❖ Effet immunosuppresseur et antiallergique .....	22
❖ Système nerveux centrale .....	22
❖ L'effet des glucocorticoïdes sur la reproduction .....	22
<b>Chapitre II. Matériel et méthodes .....</b>	<b>23</b>
I.1. Animaux d'élevage .....	24
I.2. Condition d'élevage .....	24
I.3. Lotissement des animaux .....	25
I.4. Mesure physiologique .....	25
❖ Evolution pondérale et suivi des animaux .....	25
❖ Prises alimentaires et hydriques des animaux .....	25
❖ Préparation du prélèvement .....	25
• Décapitation et dissection .....	25
• Récupération de plasma et prélèvement des organes .....	25
<b>II. Etude comportementale .....</b>	<b>26</b>
II.1. Procédure de labyrinthe en croix surélevée (Place Maze Test) .....	26

II.2. Procédure des champs ouverts (l'Open Field Test) .....	27
II.3. Procédure de la nage forcée (Forced Swimming Test) .....	28
<b>III. Spermogramme.....</b>	<b>29</b>
III.1. Le comptage des spermatozoïdes .....	30
III.2. La mobilité des spermatozoïdes .....	31
III.3. La vitalité des spermatozoïdes .....	31
<b>IV. Dosage hormonale .....</b>	<b>32</b>
<b>V. Analyse statistique .....</b>	<b>34</b>
<b>Chapitre III. Résultats .....</b>	<b>36</b>
1. Evolution du poids corporels durant le traitement .....	37
2. Evolution de la consommation d'eau et d'aliment au cours du traitement...	37
3. Etude comportementale .....	39
3. a-Test de labyrinthe en croix surélevée (Elevated Plus Maze) .....	39
3. b-Test du champ ouvert (Open Field) .....	41
3. c- Test de la nage forcée .....	42
4. Variation du poids des organes .....	44
4. a- Poids des testicules et des vésicules séminales .....	44
4. b- Poids de la glande surrénale .....	45
4. c- Poids de l'épididyme et du canal déférent .....	45
4. d- Poids du tissu adipeux testiculaire et tissu adipeux surrénalien .....	46
5. Valeurs du spermogramme .....	47
5. a- Test de comptage .....	47
5. b- Test de mobilité .....	47
5. c- Test de vitalité .....	47
6. Dosage des hormones plasmatiques .....	47
6. a- Dosage de la testostérone .....	47
6. a- Dosage du LH et FSH.....	48
<b>Chapitre IV. Discussion .....</b>	<b>49</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>54</b>
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>57</b>



# Introduction

## INTRODUCTION

Les glucocorticoïdes (GC) est une classe d'hormone stéroïde secrétée par la corticosurrénale, tel que le cortisol chez l'homme et la corticostérone chez les rongeurs.

Les glucocorticoïdes sont synthétisés sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophysosurrénalien (HHS). Ils ont des effets anti inflammatoire et immunosuppresseur, régulent de nombreuses fonctions physiologiques essentielles à la vie et jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie basale et liée au stress (**Dejean et Richard, 2013**).

En effet, l'activation de l'axe HHS en réponse au stress amène le système endocrinien à libérer des GC. Ces derniers et comme tous les médiateurs de l'activation de cet axe peuvent être considérés comme des marqueurs de stress. Ainsi chez l'animale à l'exemple des rongeurs, les concentrations plasmiques de corticostérone, d'ACTH, de catécholamines et d'AVP sont mesurés pour évaluer le stress (**Mormede et al., 2007**). Chez l'homme, le cortisol salivaire est généralement mesuré pour détecter le stress car son prélèvement est non invasif (**Duncko et al., 2007**).

La sécrétion de GC par le cortex surrénalien régule le mécanisme de rétroaction négative *via* les récepteurs des glucocorticoïdes (GR) pour réduire l'activation de l'axe HHS et mettre fin à la réponse au stress (**Burke et Miczek, 2014**). Les GC ont aussi un rôle centrale dans le processus biologique critique comme la croissance, la reproduction, les métabolismes, la réaction immunes, et aussi bien dans le système nerveux centrale que pour les fonctions cardiovasculaires (**Nicolaides et al., 2010**). De même, l'exposition au stress initie une variété de réponses comportementales, physiologiques et cellulaires pour préparer le corps aux altérations de l'homéostasie (**Stoney et al., 1987; Herman et Tasker, 2016**). Pour plusieurs auteurs, l'axe HHS médie les réactions autonomes, comportementales et cognitives de la réponse au stress (**Blank et al., 2002; Orozco-Cabal et al., 2006**).

Le stress engendre des modifications comportementales en induisant notamment une augmentation du niveau d'anxiété. Chez le rongeur, des tests de comportement ont été élaborés pour le mettre en évidence comme le test de « l'open field » ou de l' « elevated-plus maze » (**Prut et Belzung, 2003**).

Des études se sont plus particulièrement intéressées à la relation entre comportements et l'axe HHS. En effet, une étude réalisée sur le rat de laboratoire a démontré, qu'il soit en présence d'un élément stressant (manipulation par exemple) ou que son axe HHS est stimulé artificiellement (administration des corticoïdes), son comportement locomoteur est modifié (**Rushen, 2000**). Les

liens qui existent entre mécanismes motivationnels, sécrétion des corticoïdes et réaction émotionnelles de l'animal ne sont pas encore bien étudiés.

En expérimentation animale et en clinique, des GC de synthèse sont utilisés ; ils dérivent du cortisol, mais de durée d'action plus longue, d'activité anti inflammatoire plus importante et de propriété minéralocorticoïde moindre que la molécule mère (**Wechsler et Chosidow, 1997**).

En clinique, ils sont utilisés dans trois indications principales : le traitement anti-inflammatoire et immunosuppresseur et le traitement de substitution en cas d'insuffisance surrénalienne (**Gazengel et Orecchioni, 2013**).

La posologie (dose quotidienne, dose totale, durée de traitement) et la nature de corticoïde et de la voie d'administration, peut provoquer des effets indésirable telle que des complications métabolique et cardiovasculaire (**Fardet, 2013**), des troubles neuropsychiques fréquent (euphorie, insomnie, excitation) et ou rarement (accès d'allure maniaque, états confusionnels ou confusio-  
niriques, convulsions ou état dépressif à l'arrêt du traitement). Une altération de l'axe gonadotrope a également été rapportée (**Tsigos et Chrousos, 2002 ; Charmandari et al., 2005**)

A partir de ces données bibliographiques, nous tenteront dans notre étude d'évaluer l'action d'un glucocorticoïde de synthèse la dexaméthasone sur les rats jeunes adultes. Nous rechercherons les conséquences de ce GC exogène sur la réponse comportementale et la fonction de reproduction et tenteront d'établir la relation entre la réponse comportemental et l'activité gonadotrope.

# Rappels Bibliographiques

## Rappelle bibliographique

Le processus de la reproduction est un phénomène physiologique complexe, présentant des particularités pour chaque espèce (Dudouet, 2003).

### I.1. L'Anatomie de l'appareil génital male:

L'appareil reproducteur a pour rôle : la production, la nutrition et le stockage des gamètes, les spermatozoïdes ; l'émission et le dépôt dans les voies génitales femelles lors de l'accouplement, de la semence ; la synthèse d'hormones sexuelles. L'appareil génital male est divisé en trois parties qui possèdent des fonctions différentes (figure 2) :

- Les deux gonades ou testicules qui élaborent les gamètes et sécrètent des androgènes.
- Les voies spermatiques qui représentent l'ensemble des canaux d'excrétion du sperme testiculaire et assurent l'acheminement des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles.
- Les glandes annexes dont leurs sécrétions constituent la plus grande partie du sperme (liquide séminal) nécessaires à la survie des spermatozoïdes et leur transport (Kierszenbaum, 2006).

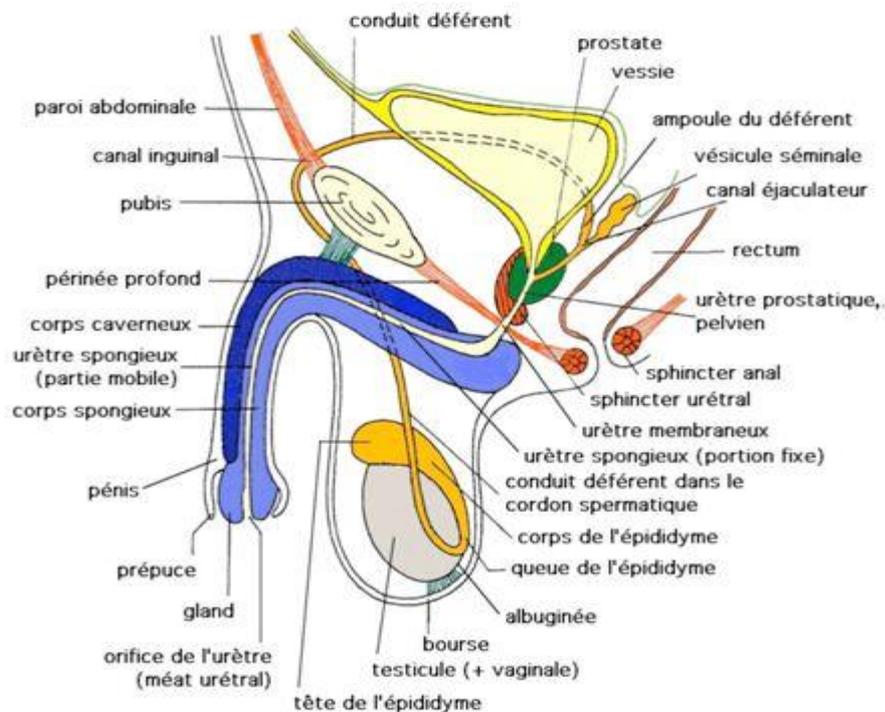


Figure 1: Coupe sagittale médiane schématisée du petit bassin et du périnée chez l'homme (d'après [www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf](http://www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf)).

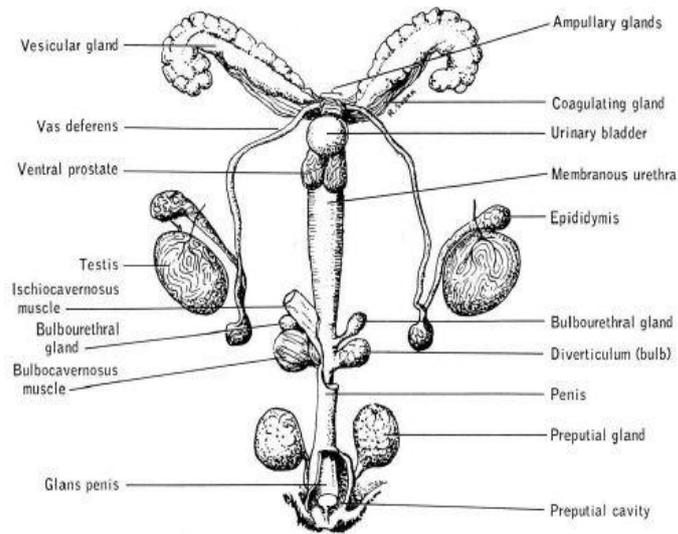


Figure 2 : Représentation schématique de l'appareil reproducteur mâle du rat (Roscoe *et al.*, 1941).

### I.1.1. Testicule :

Les testicules sont des organes génitaux masculins (figure 3). Ils sont doués d'une double fonction : une fonction exocrine de production des gamètes (la spermatogenèse), au niveau des tubes séminifères grâce aux cellules de Sertoli et la fonction endocrine, de synthèse d'hormones sexuelles male par les cellules de Leydig (Soler *et al.*,1994; Thibault, 2001; Zeriouh, 2011).

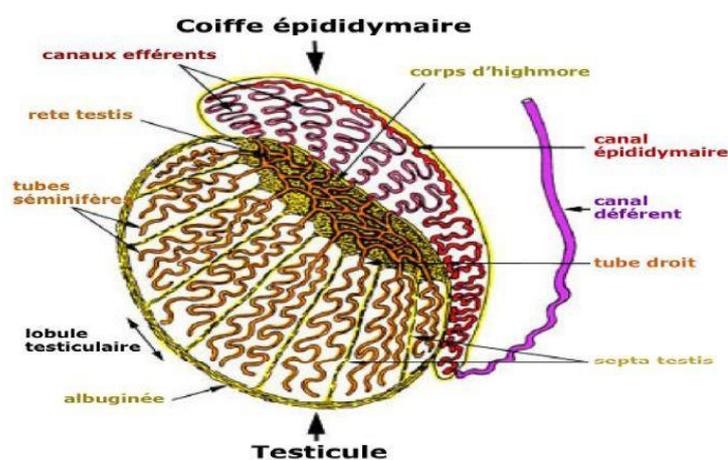


Figure 3 : Histologie des testicules (Ophys, 2015).

## **I.1.2. Les voies génitales :**

### **I.1.2.1.L'épididyme :**

L'épididyme est un organe pair allongé, plaqué le long du testicule, composé de trois parties : la tête, le corps et la queue. Il est formé d'un très long système canaliculaire pelotonné qui débute par les canalicules efférents qui se réunissent au niveau du corps de l'épididyme pour donner un conduit unique le conduit épидидymaire. La carnitine libre, l'alpha 1-4 glucosidase, la glycérphosphorylcholine sont des marqueurs biochimiques habituellement dosés et spécifiques de l'épididyme (**Schlosser et al., 2007**). L'épididyme assure le stockage, le transport vers les organes éjaculateurs, et la maturation (acquisition de la mobilité et de la fécondance) des spermatozoïdes.

### **I.1.2.2. Le canal déférent :**

Il fait suite au canal épидидymaire, ce canal s'engage dans le trajet inguinal où il contribue à former le cordon testiculaire. Il pénètre dans la cavité abdominale et atteint la face dorsale de la vessie formant un très léger renflement pelvien avant de se jeter dans l'urètre (**Bonnes et al., 2005**).

## **I.1.3. Les glandes annexes :**

Les glandes annexes sont au nombre de trois :

Les vésicules séminales qui fournissent le fructose qui est la source d'énergie des spermatozoïdes et élaborent plus de la moitié du volume du sperme, la prostate qui sécrète un liquide alcalin qui neutralise les sécrétions vaginales acides et les glandes bulbo-urétrales qui permettent la sécrétion de mucus pour la lubrification (**Sherwood, 2015**).

Les sécrétions des glandes annexes participent à la formation du plasma séminal. Leur rôle majeur est l'apport de substrats énergétiques aux spermatozoïdes ainsi que leur dilution en milieu liquide ce qui favorise leur mobilité et leur transfert dans les voies génitales femelles.

## **I .2. Physiologie de la reproduction chez le rat :**

Dans le testicule, chaque lobule est formé par le groupement de minuscules canaux (tubes séminifères) et une glande interstitielle (cellule de Leydig) (**Lacomba, 2009**).

### **I.2.1. Les tubes séminifères :**

Les tubes séminifères présentent une lumière centrale et des cellules qui ont desquamé et un épithélium de revêtement pluristratifié qui comprend des cellules de Sertoli et des cellules de la lignée germinale à différents stades de maturation (figure 4 et 5) (**Baronne, 2001**).

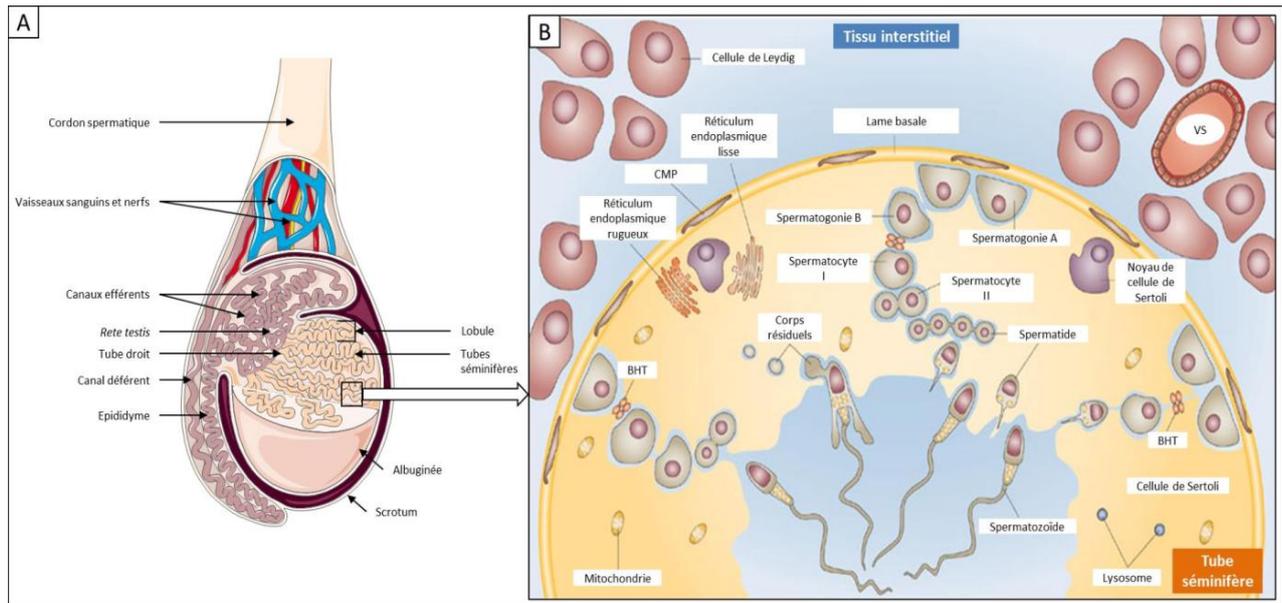


Figure 4: Structure anatomique du testicule (A). Organisation du tube séminifère et du tissu interstitiel (B). BHT : barrière hémato-testiculaire; CMP : cellule myéloïde péritubulaire; VS : vaisseau sanguin (adapté de [www.servier.fr](http://www.servier.fr) et Rato *et al.*, 2012).

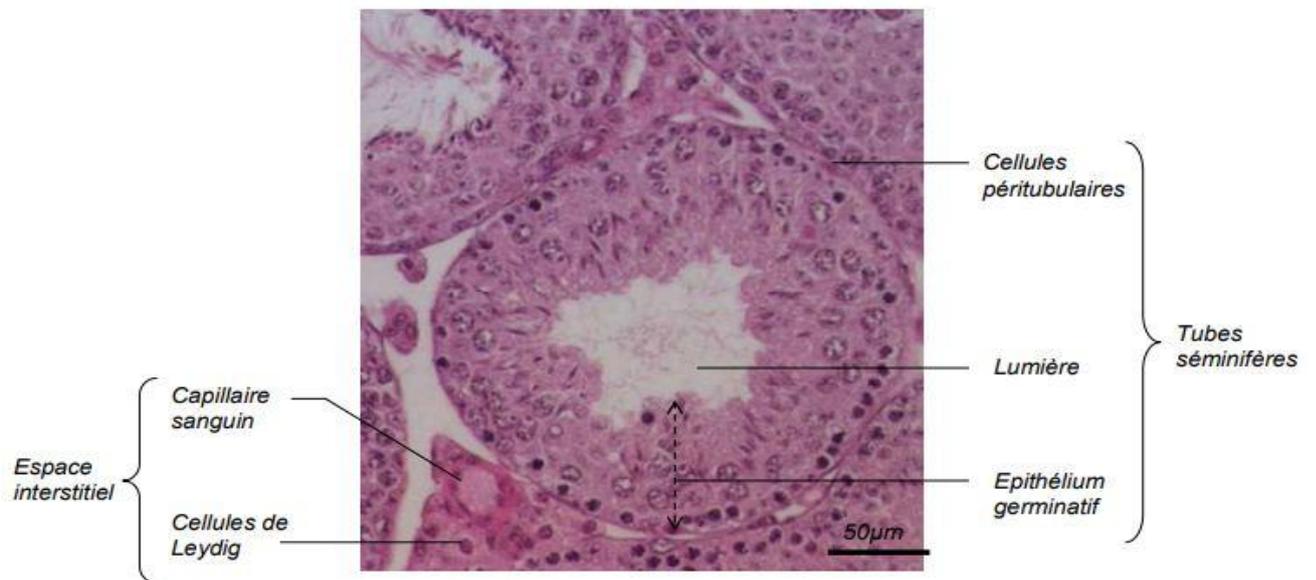


Figure 5 : Coupe transversale du tube séminifère (×20) (Hôte, 2009).

### I.2.2. Les cellules de Sertoli :

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale qui s'étend sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère (figure 6). Elle constitue le support des cellules de la lignée spermatogène et elle intervient dans la nutrition des cellules germinales. Elle sécrète l'inhibine B qui assure un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion hypophysaire de FSH, cette sécrétion est stimulée par la testostérone. Elle sécrète également une protéine de transport de la testostérone : ABP impliquée

dans l'initiation de la méiose et de la spermiation, et régulé positivement par la FSH, la testostérone, les cellules germinales (Schlosseret *al.*, 2007).

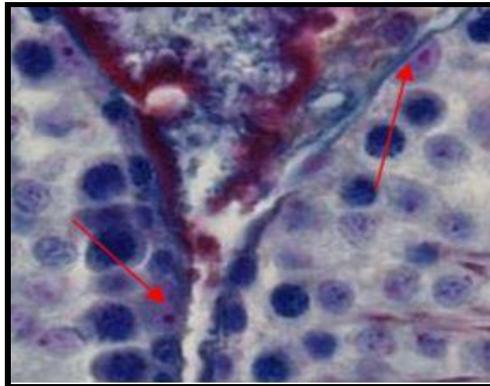


Figure 6 : Les cellules de Sertoli (Kohler, 2011).

### I. 2.3. Les cellules de Leydig :

Les cellules de Leydig sont des cellules polyédriques groupées par petits amas dans le tissu conjonctif lâche entourant les tubes séminifères à l'intérieur des lobules, elles sont en rapport avec de nombreux capillaires sanguins dans lesquels elles déversent leur produit de sécrétion (testostérone).

## I .3. Régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaires-gonadique :

Les deux fonctions testiculaires, endocrine et exocrine, sont sous le contrôle d'hormones et de molécules synthétisées à différents niveaux : hypothalamique, hypophysaire et testiculaire (Themmen et Huhtaniemi, 2000).

La GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) est produite par l'hypothalamus sous l'action des facteurs environnementaux, elle stimule la synthèse et la libération des gonadotrophines : la FSH (Follicle Stimulating Hormone) et la LH (Luteinizing Hormone) par l'hypophyse (figure 7). Ces dernières agissent au niveau du testicule : la FSH active la spermatogenèse et la production par les cellules de Sertoli, d'inhibine et d'ABP (Androgen Binding Protein). La LH stimule la synthèse d'androgènes par les cellules de Leydig (Derivaux et Ectors, 1985) en particulier la testostérone à partir du cholestérol qui est le précurseur des androgènes. La testostérone participe à la régulation de la spermatogenèse et contrôle les caractères sexuels spécifiques du mâle.

La libération de GnRH et des gonadotrophines est contrôlée par les stéroïdes sexuels par l'intermédiaire de rétrocontrôles positifs ou négatives sur l'hypothalamus et l'hypophyse *via* leurs récepteurs spécifiques (figure7) (Scott *et al.*, 2000).

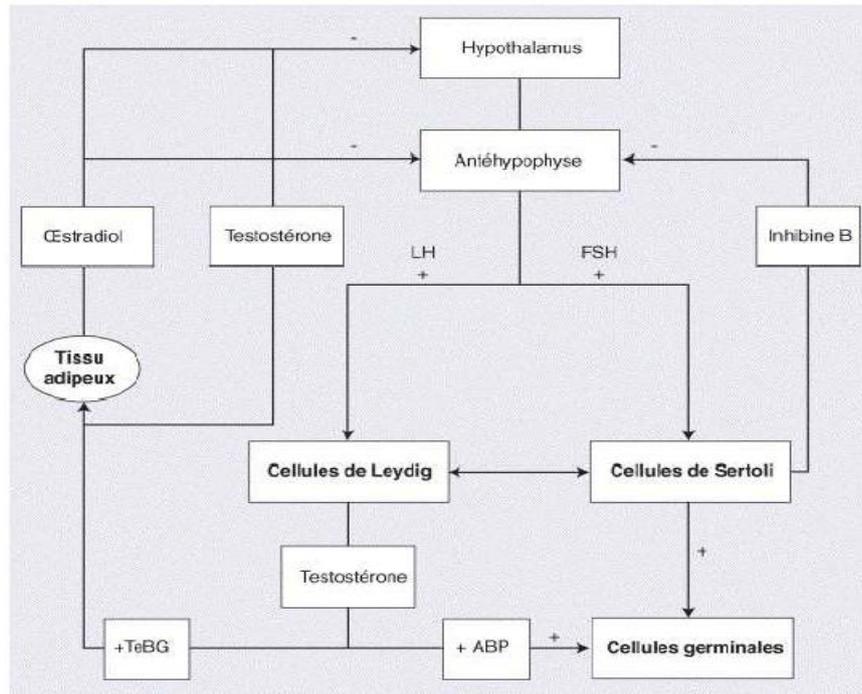


Figure 7 : Régulation hypothalamo-hypophysaire des fonctions endocrines et exocrines de l'homme adulte. LH: luteinizing hormone; FSH: follicle-stimulating-hormone; ABP: androgen-binding-protein; TeBG: testicular-binding-globulin (Schlosser *et al.*, 2007).

#### I .4. La spermatogénèse :

Elle se déroule au sein des tubes séminifères testiculaires, elle permet la différenciation des cellules germinales en spermatozoïdes. Elle est principalement régulée par la FSH. Les spermatozoïdes sont libérés dans la lumière des tubes séminifères, grâce aux cellules de Sertoli,

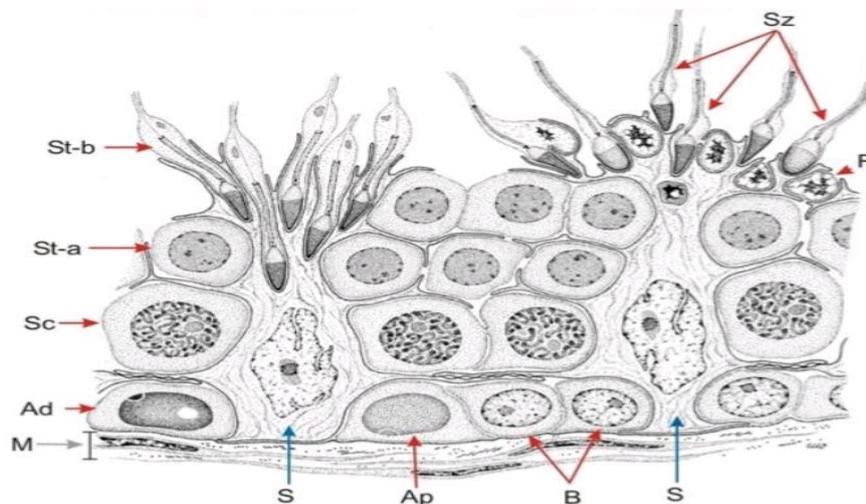


Figure 8 : Schéma représente les étapes de la différenciation des spermatogonies en spermatozoïdes : spermatogonies (Ad, Ap, B), spermatocytes pachytènes (Sc), spermatides

rondes (St-a), spermatoïdes allongées (St-b) et spermatozoïdes (Sz) (Bertrand-Delepine *et al.*, 2016)

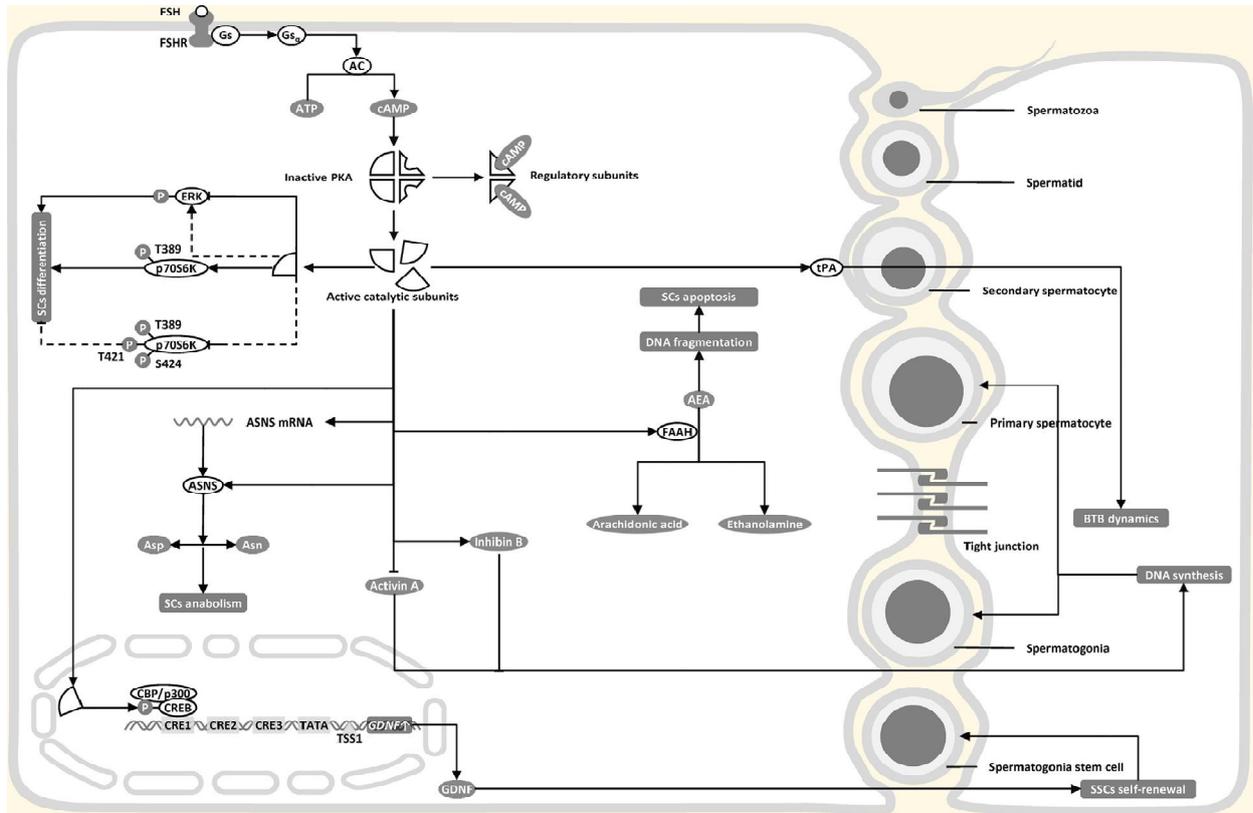


Figure 9 : Voie de signalisation impliqué dans la spermatogenèse (Fei-Da *et al.*, 2020)

Il existe des jonctions serrées entre les cellules de Sertoli qui forment la barrière hémato-testiculaire. Celle-ci divise en compartiments l'épithélium séminifère chez l'homme. Le compartiment basal contient les spermogonies et les spermatozytes primaires à un stade précoce. Le compartiment apical contient les spermatozytes plus matures et les spermatoïdes (figure 9).

## II. L'Anatomie de la glande surrénale :

Las glandes surrénales sont des glandes endocrines rétro-péritonéales qui ont une forme de pyramide aplatie (Trésallet et Peix, 2016). Ce sont des organes reposant sur le pôle supérieur des reins (figure 10). Une glande se compose de deux paires fondamentalement différentes l'une de l'autre, le cortex (corticosurrénale) et la médulla (médullosurrénale) (Lullmann-Rauch, 2008).

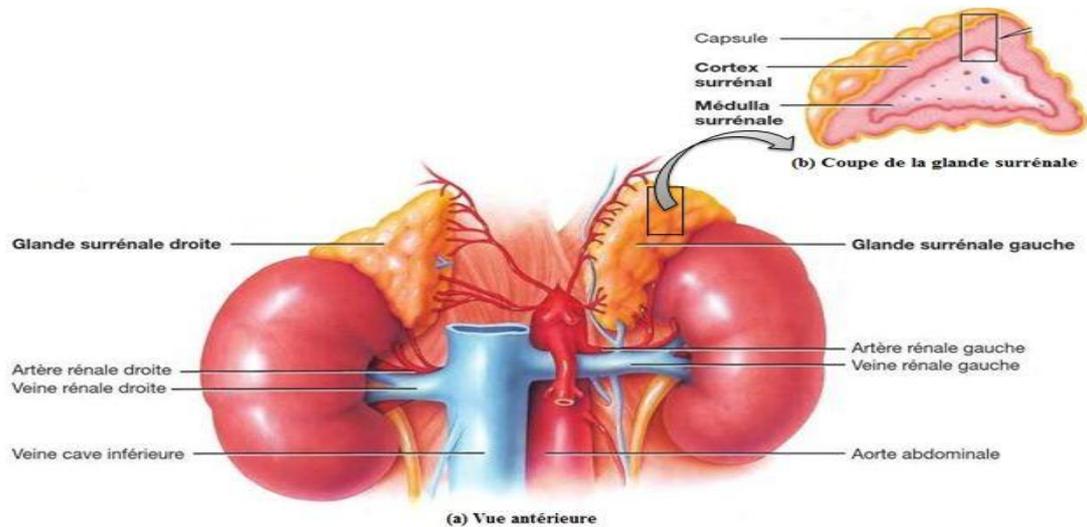


Figure 10 : Anatomie de la glande surrénale (Tortora et Derrickson, 2017)

### II.1. La corticosurrénale (Lullmann-Rauch, 2008) :

Le cortex est formé de trois zones, se succédant de l'extérieur vers l'intérieur (figure 11) :

- La zone glomérulée : sécrétant les minéralocorticoïdes, forme une couche mince sous la capsule. Leurs cellules contiennent que peu de gouttelettes lipidiques.
- La zone fasciculée : sécrète surtout des glucocorticoïdes. Les cellules sont assemblées en cordons perpendiculaires à la surface entre lesquels courent les sinusoides. Elles sont riches en gouttelettes lipidiques qui leur donnent un aspect spongieux dans les coupes en paraffine.
- La zone réticulaire : sécrète les androgènes.

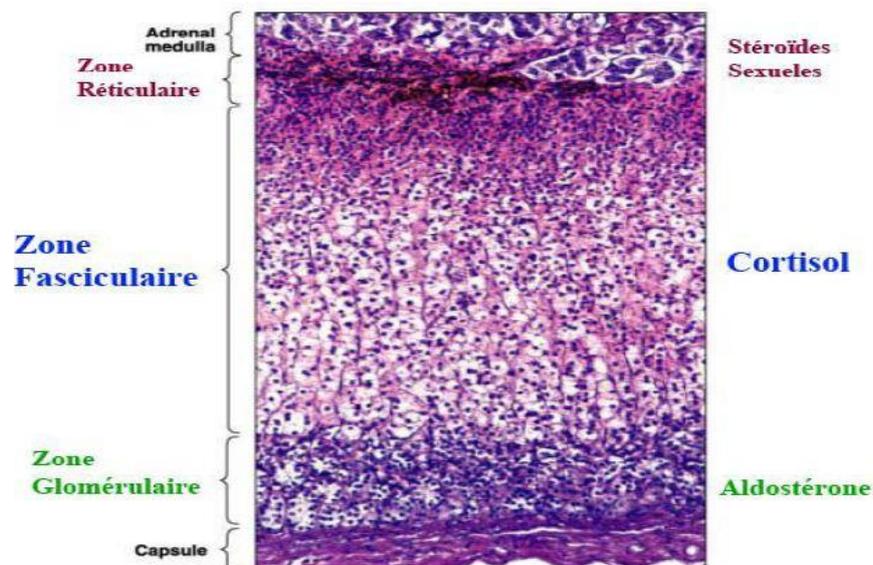


Figure 11 : Coupe histologique décrivant l'aspect schématique des trois couches de la corticosurrénale responsables de la synthèse des hormones stéroïdiennes (El-zaoui, 2013).

## II.2. La médullosurrénale :

La médullosurrénale et le système nerveux sympathique forment une unité anatomique et fonctionnelle que l'on nomme système sympatho-surrénalien.

Elle sécrète des catécholamines, plus précisément de l'adrénaline et en quantités moindres, de la noradrénaline (figure 12). La médulla surrénalienne se compose de grandes cellules de type épithélial, les endocrinocytes médullaire (ou cellules chromaffines) disposées en groupes et en cordons. Les endocrinocytes médullaires sont en fait des seconds neurones sympathiques (Lullmann-Rauch, 2008).

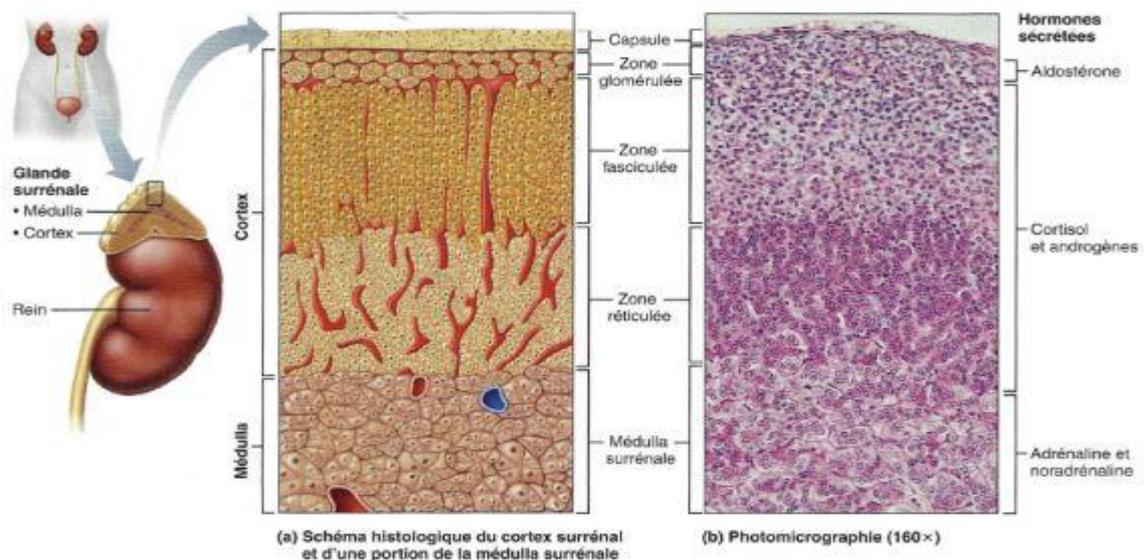


Figure 12 : Structure et histologie de la glande surrénale.

(a) Diagramme représentant la corticosurrénale ainsi que la médullosurrénale. (b) Photomicrographie de la corticosurrénale et de la médullosurrénale ainsi que les hormones produites et sécrétées par les différentes parties de la glande surrénale (160X) (Marieb *et al.*, 2010).

## II.3. Vascularisation de la glande surrénale :

La glande surrénale est très vascularisée. Les pédicules artériels de la glande sont courts et multidirectionnels. Ils abordent chaque glande au niveau du sommet, de la base et de la face dorcemédiale de pyramide (Trésallet et Peix, 2016).

La vascularisation de la glande est constituée par des artéριοles corticales qui constituent un plexus sous-capsulaire, donne naissance aux vaisseaux sinusoides qui entrent entre les colonnes de la zone fasciculée de la corticosurrénale. Le plexus plus profond formé au niveau de la zone réticulée communique avec le plexus vasculaire, la médulla. Les artéριοles médullaires dirigent

directement dans le cortex jusqu'à la médulla pour former un plexus médullaire. Le plexus médullaire chemine dans la grande veine médullaire par des petits vaisseaux veineux (figure 13) (Stevens et Lowe, 2000).

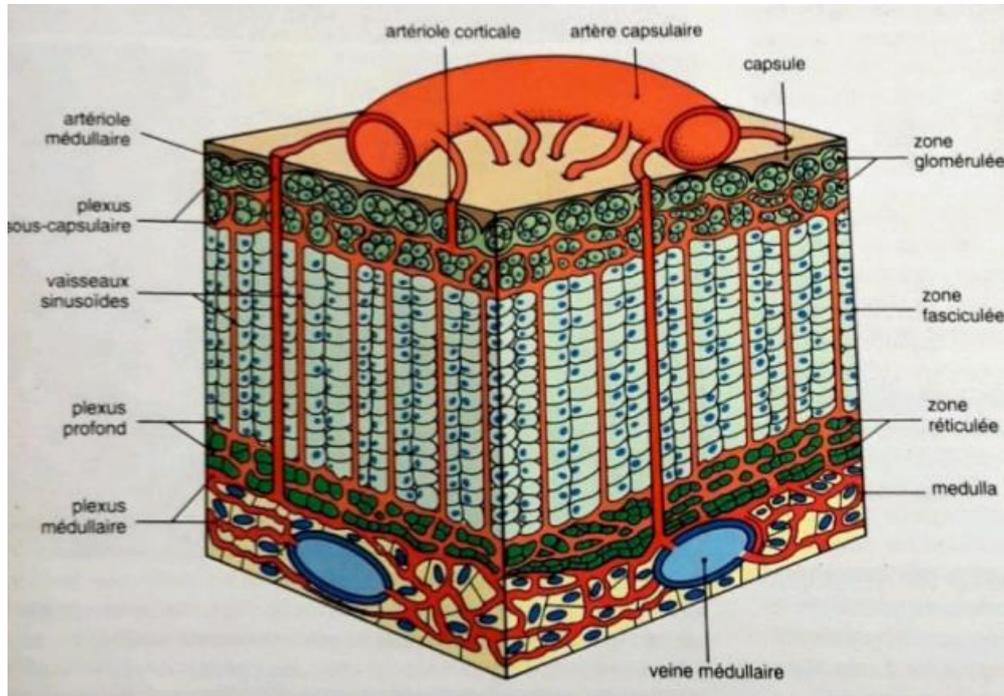


Figure 13 : Schéma représente la vascularisation de la glande surrénale chez les Mammifères (Stevens et Lowe, 2000).

#### II.4. Innervation de la glande surrénale :

L'innervation des deux glandes est riche, sous forme d'une multitude de filets nerveux qui ont autant d'attaches solides dans la graisse environnante. Seule la face ventrolatérale en est dépourvue (Trésallet et Peix, 2016).

Des nerfs du système parasympathique innervent le cortex et la médulla. La plupart des fibres sont pré ganglionnaires et sympathiques innervent la médulla (Branks, 1993).

Les fibres nerveux de la glande surrénale forment trois plexus : un plexus surrénodiaphragmatique, un plexus surrénorénal et un plexus surrénosolaire (Bouchet *et al.*, 1991).

### III. Les Glucocorticoïdes

#### III.1. Les glucocorticoïdes naturels (endogènes) :

##### III.1.1. Généralités :

Les glucocorticoïdes endogènes sont sécrétés par le cortex surrénalien. Ils sont indispensables à la vie. Ils comprennent le cortisol (hydrocortisone), la corticostérone et la cortisone (**Brooker, 2001**). Les glucocorticoïdes sont synthétisés uniquement par une stimulation hormonale, tout comme les autres hormones stéroïdiens et non pas stockés (**Faure, 2006 ; Laumesfeld, 2008 ; Thierry, 2013**).

##### III.1.2. Régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes par l'axe hypothalamo-hypophysaires :

La sécrétion des glucocorticoïdes est régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalien (HHS) (**Orth et al., 1992**). La corticolibérine hypothalamique (CRH) stimule l'antéhypophyse; celle-ci sécrète de la corticotrophine (ACTH) qui à son tour entraîne une libération de glucocorticoïdes comme le cortisol par la corticosurrénale (figure 14) (**Brooker, 2001**).

L'ACTH stimule la production et la sécrétion de cortisol, elle stimule la synthèse des enzymes impliquée dans la formation du cortisol, de leur cofacteur et des récepteurs surrénaliens au cholestérol (LDL), elle stimule également la sécrétion des androgènes surrénaliens et dans une bien moindre mesure, des minéralocorticoïdes (**Orth et al., 1992**).

La sécrétion de CRH est elle-même stimulé par d'autres facteurs comme l'hormone anti diurétique (ADH), angiotensine 2, et des stimuli extérieurs (stress).

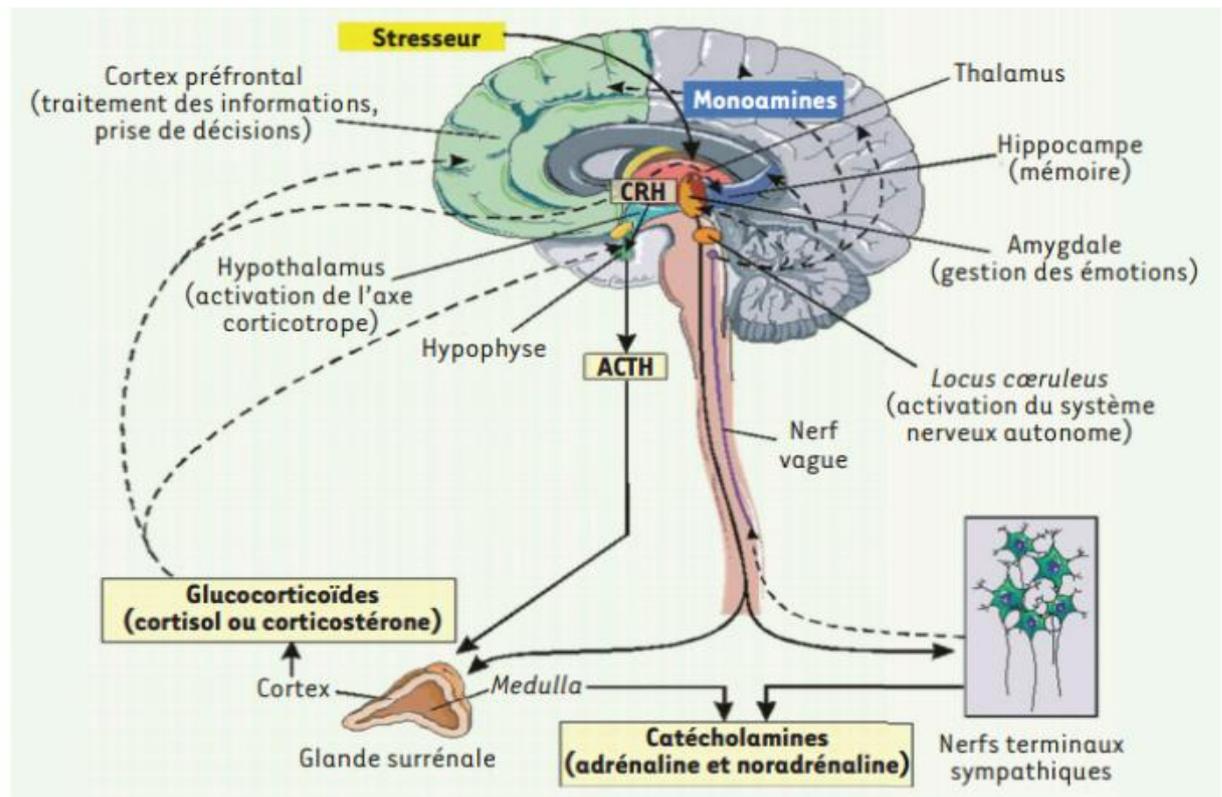


Figure 14 : Schéma de la régulation de la sécrétion des glucocorticoïdes (**Inserm, 2011**)

Les glucocorticoïdes exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire en inhibant à la fois la sécrétion d'ACTH ainsi la production de CRH et d'AVP (figure 14) (**Uchoa et al., 2014**).

### III.1.3. Biosynthèse des glucocorticoïdes :

Le cholestérol est le précurseur de toutes les hormones stéroïdiennes, essentiellement les lipoprotéines (Low-densitylipoprotein (LDL)) plasmatiques (**Foster et al., 1998 ; Laumesfeld, 2008**).

Le cholestérol est transformé en prégnénolone grâce à l'action du cytochrome P450-scc (side chaîne cleavage). La synthèse du cortisol nécessite trois hydroxylase situées dans la zone fasciculée et réticulée du cortex surrénalien. La 17alpha-hydroxylase est une enzyme du réticulum endoplasmique lisse qui agit sur la prégnénolone et forme la 17alpha-hydroxyprogestérone qui est hydroxylée par le 21-hydroxylase pour former le 11-désoxycortisol, qui est ensuite hydroxylé par 11bêta-hydroxylase pour former le cortisol, la plus puissante des hormones glucocorticoïdes (figure 15) (**Botham et al., 2017**).

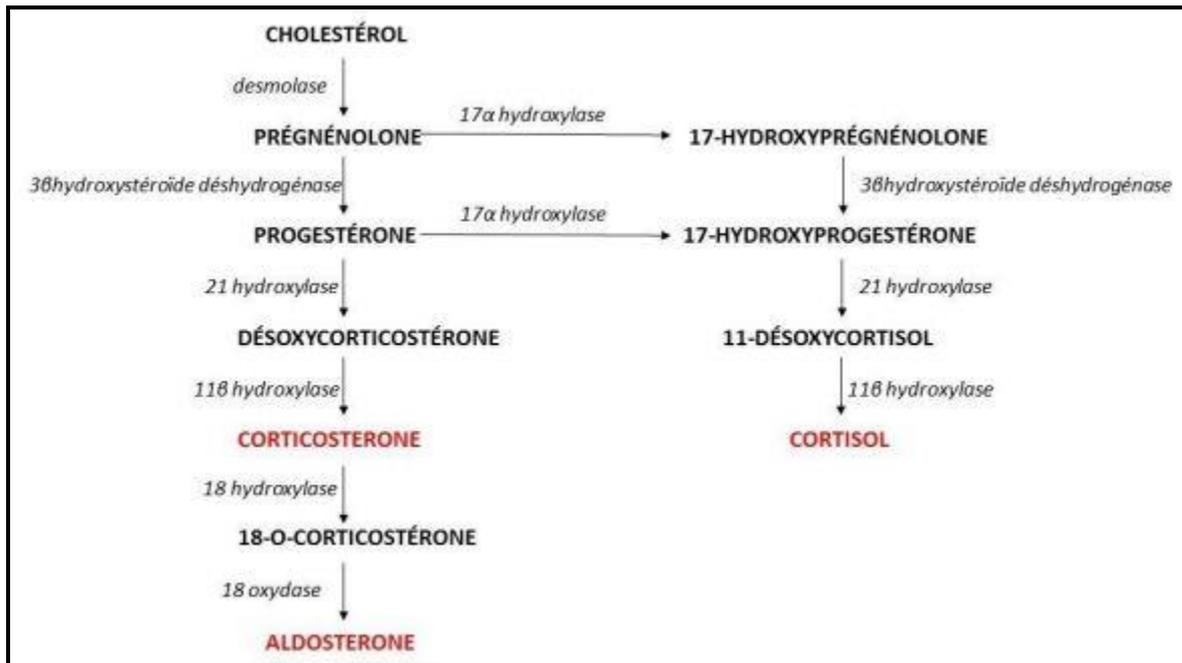


Figure 15 : Biosynthèse des glucocorticoïdes (Funny, 2015).

## III.2. Les glucocorticoïdes de synthèses (exogènes) :

### III.2.1. Généralités :

Les glucocorticoïdes de synthèse sont des dérivés synthétiques des hormones naturelles, cortisol et cortisone dont ils se distinguent par un pouvoir anti-inflammatoire plus marqué et à l'inverse, un moindre effet minéralocorticoïde. Ils ont des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et immunosuppressives (Belmin *et al.*, 2019).

Les corticoïdes de synthèse se présentent sous forme de comprimés, de solutés buvables et d'ampoules injectables.

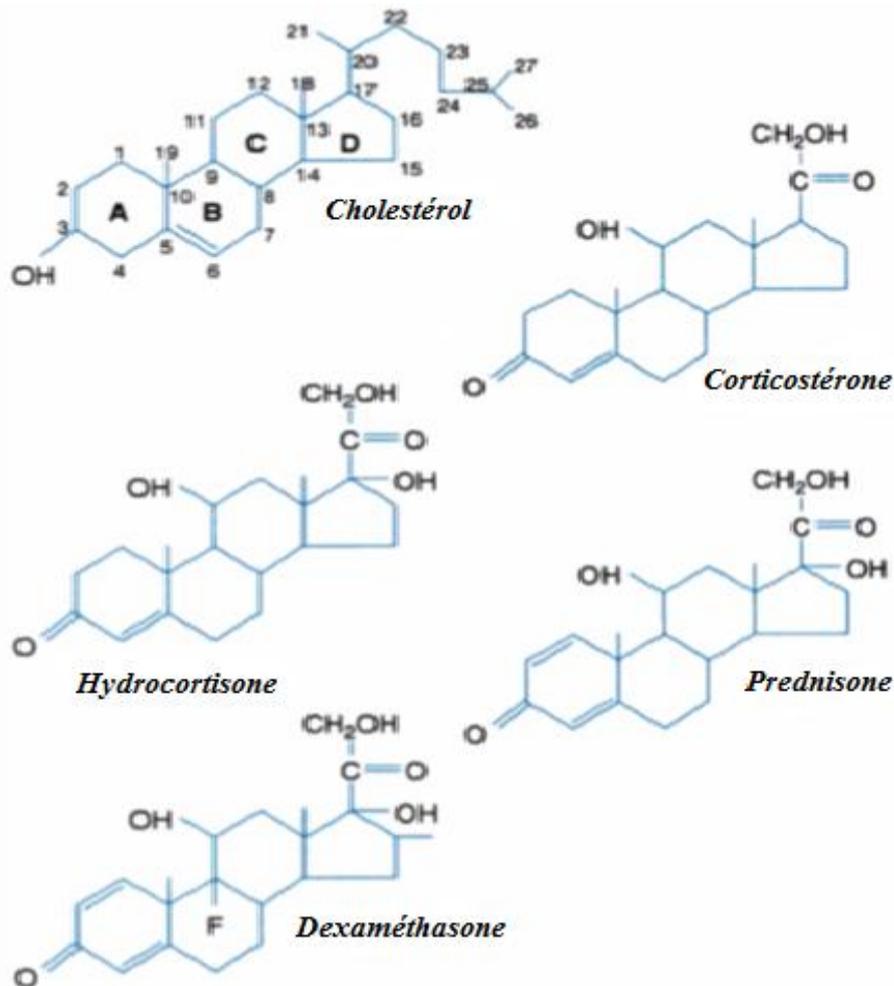


Figure 16 : structure chimique du cholestérol et des principaux corticostéroïdes (Wechsler et Chosidow, 1997).

### III.2.2. Les principaux corticoïdes :

Les corticoïdes les plus utilisés se présentent par les suivant (Kim et al, 2009) :

- Hydrocortisone
- Prednisone
- Prednisolone
- Déxaméthasone
- Méthylprednisolone
- Béthamétasone
- Triamcinolone

Le choix des corticoïdes doit dépendre de son activité biologique effective et d'un moindre effet minéralocorticoïde. D'où l'utilisation de plusieurs voie d'administration et dosage de la Déxaméthasone pour étudier sont efficacités (Dereci et al., 2016 ; Gozali et Boonsiriset, 2017).

### III.2.3. La Dexaméthasone :

- Dénomination chimique : Fluoro-9 trihydroxy-11 beta, 17,21 méthyl-16 alphas pregnadiene-1,4 diné-3,20.
- Classe pharmacologique : Anti-inflammatoire stéroïdien.
- Noms de spécialités : DEXAMETHASONE (solution injectable).

La Dexaméthasone ne possède pas des effets minéralocorticoïdes (**Majid et Mahmood, 2011**). Elle présente une demi-vie qui varie entre 36-54h (**Nandini, 2016**).

La Dexaméthasone comparé à d'autres corticoïdes comme la Méthylprednisolone, a une durée d'action plus longue et semble être plus puissante (**Imran et al., 2017**). Elle est disponible par voie oral, par voie intraveineuse et intramusculaire.

### III.3. Pharmacocinétique des glucocorticoïdes :

Les différentes étapes pharmacocinétiques (absorption, diffusion, métabolite, élimination) des glucocorticoïdes peuvent varier en fonction des molécules (**Wechsler et Chosidow, 1997**).

L'absorption des corticoïdes est facile et efficace quelle que soit la voie d'administration (**Belmin et al., 2019**).

### III.4. Transport des glucocorticoïdes :

Les glucocorticoïdes circulent dans le sang, soit sous forme liée à des protéines de transport dont 80% du cortisol est lié à la transcortine ou CBG (Corticosteroid Binding Globulin) (**Hammond et al., 1990**), et une faible proportion, sous forme libre qui est la seule forme active dans les conditions physiologiques (**Thierry, 2013**). La molécule libre traverse la membrane cellulaire par diffusion passive pour se lier avec une forte affinité aux récepteurs cytoplasmiques (**Goodman et Gilman, 1996 ; Chrousos, 1993**).

### III.5. Les récepteurs aux glucocorticoïdes:

Les glucocorticoïdes exercent leurs effets à travers des récepteurs cytoplasmiques des cellules cibles (**Smith et Toft, 1993**). Ils agissent sur leurs tissus cibles par l'intermédiaire de récepteurs de deux types : le récepteur des minéralocorticoïdes (qui possède une forte affinité pour le cortisol) et le récepteur des glucocorticoïdes dont l'affinité pour le cortisol est beaucoup plus faible. Les GR sont des protéines de 777 acides aminés appartiennent à la super famille des récepteurs nucléaires (**Robinson-Rechavi et al., 2001**). Il existe deux isoformes du GR : l'isoforme $\alpha$  (GR $\alpha$ ) et l'isoforme $\beta$  (GR $\beta$ ). Les glucocorticoïdes agissent *via* le GR $\alpha$ , qui constitue la forme fonctionnelle

(active) majeure du GR (**Roumestan *et al.*, 2004**). Au niveau structural, le GR $\alpha$  est formé par trois parties distinctes (figure 17):

- Le domaine de régulation transcriptionnelle correspondant à la partie N-terminale.
- Le domaine de liaison à l'ADN correspondant à la partie intermédiaire.
- Le domaine de liaison au ligand correspondant à la partie C-terminale.

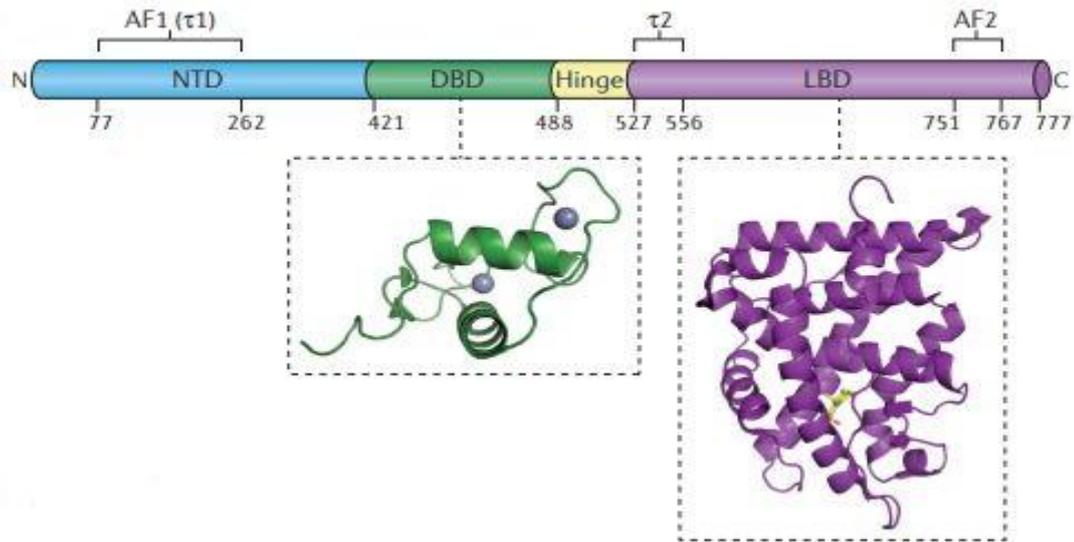


Figure 17 : Récepteur aux glucocorticoïdes (**Weikum *et al.*, 2017**).NTD : Domaine amino-terminal ; DBD :Domaine de liaison à l'ADN ; LBD :Domaine de liaison au ligand

### III.6. Mécanisme d'action du récepteur:

Le GR $\alpha$  non lié à son ligand se trouve en équilibre dans le cytoplasme et le noyau. Il n'est pas libre car il est maintenu dans un état inactif par l'interaction de plusieurs protéines dites chaperonnes : ce sont les protéines du choc thermique (heat shock proteins [HSP]) dont les HSP 90, 70 et 50 et des immunophilines (protéines aidant l'assemblage d'autres protéines). Lorsque le ligand arrive, le complexe se dissocie, le récepteur change de conformation et pénètre dans le noyau(**Lindsay, 2015**).

Une fois dans le noyau, le récepteur activé expose son site de liaison à l'ADN, ceci permet l'ancrage du récepteur ainsi que sa dimérisation avec un autre récepteur homologue et constitue un homodimère.

Au niveau de l'ADN, le récepteur reconnaît des sites accepteurs : les GREs (Glucocorticoids Responsive Elements).

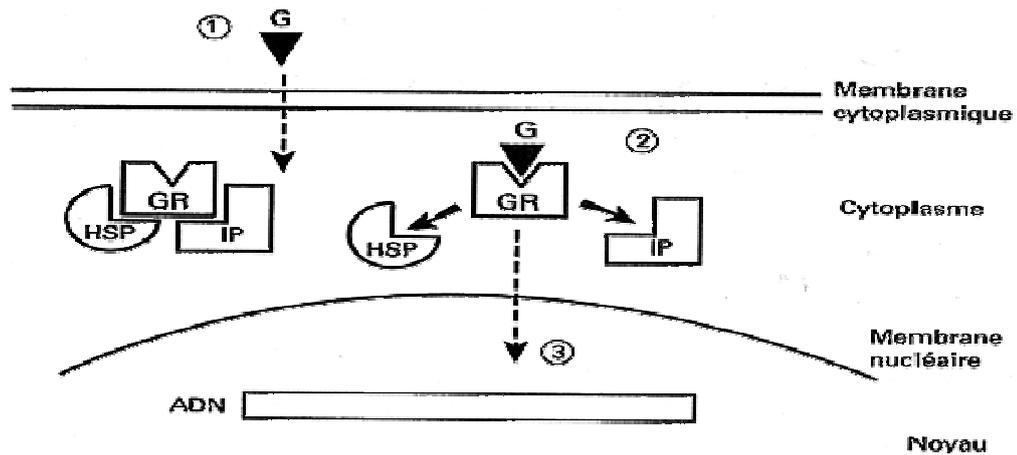


Figure 18: Formation du complexe hormone-récepteur (Lindsay, 2015).

Ce sont des séquences nucléosidiques d'environ 15 paires de bases se liant au niveau des doigts de zinc, un doigt sert d'ancrage avec l'ADN et l'autre maintient la dimérisation entre les deux GR. Le récepteur GR joue un rôle de facteur de transcription actif grâce à cette dimérisation (figure 19) (Dejean et Richard, 2013). Si le récepteur se lie à un site de liaison inhibiteur (nGRE), la transcription sera désactivée. Le GR peut par exemple induire la synthèse de lipocortine qui provoquera un effet anti-inflammatoire par inhibition de la phospholipase A2, mais aussi induire la répression de gènes tels ceux codant pour l'ACTH. Ce mécanisme est responsable du rétrocontrôle négatif exercé par le cortisol (Faure, 2009).

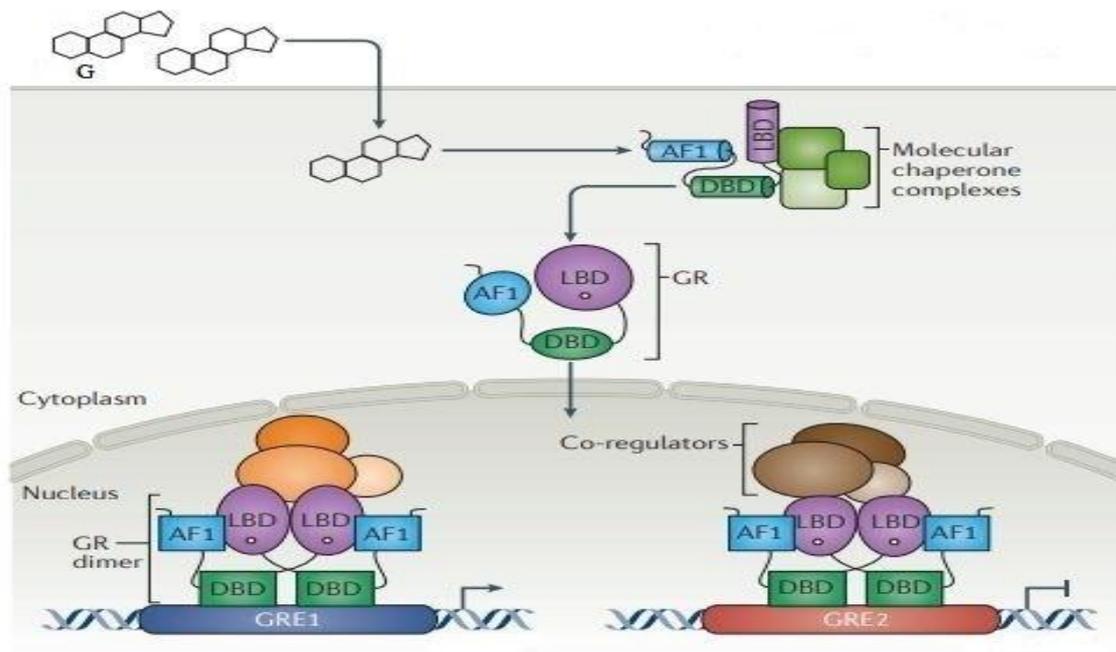


Figure 19 : Action transcriptionnelle directe : effet positif ou négatif (Weikum *et al.*, 2017).

### **III.7. Les effets physiologiques des glucocorticoïdes :**

Les glucocorticoïdes exerce plusieurs action sur :

#### **❖ Le métabolisme :**

- Les glucocorticoïdes jouent un rôle important dans le métabolisme glucidique. Ils stimulent la néoglucogenèse hépatique et la glycogénolyse, inhibent l'absorption du glucose circulant par les tissus périphériques par résistance à l'insuline. traitements par les GC peut provoquer une hyperglycémie qui peut être associé à un diabète (**Brooker, 2006**).

- Ils influencent également le métabolisme lipidique en activant la lipolyse

- Ils jouent un rôle important dans le métabolisme protidique en augmentant le catabolisme protidique et diminuent la synthèse protéique hépatique et musculaire (**Schmidt, 1999**).

#### **❖ Action anti-inflammatoire :**

Ce processus inflammatoire se caractérise principalement par la production de cytokine qui joue un rôle primordiale dans la mise en place de processus inflammatoire (**Cavaillon, 1995**).

#### **❖ Effet immunosuppresseur et antiallergique :**

Les glucocorticoïdes permettent de diminuer l'expression des gènes codant pour les cytokines médiatrices de l'inflammation (**Martin et Vincent, 2013**), comme effet immunosuppresseurs. Tandis que l'effet antiallergique se présente par inhibition de la transduction du signale déclenchée par la reconnaissance des IgE à leurs récepteurs présents à la surface des macrocytes et polynucléaires basophiles (**Guilpain et Le Jeune, 2012**).

#### **❖ Effet sur le système immunitaire :**

Ils peuvent être des effets bénéfiques pour le traitement des maladies inflammatoires, ou des effets gênants qui peuvent provoquer une maladie infectieuse en cas d'excès des glucocorticoïdes (**Martin et al., 2017**).

#### **❖ Système nerveux centrale :**

- Sont des psychos stimulus qui augment l'appétit (**Lokant, 1983 ; Cogne, 1994**).

- Ont une influence sur le comportement et l'excitabilité de cerveau (**Lokant, 1983 ; Cogne, 1994**).

#### **❖ L'effet des glucocorticoïdes sur la reproduction :**

L'utilisation des corticoïdes peuvent entrainer des perturbations de la fonction reproductrice. Les GC ont une action inhibitrice sur les cellules secrétant LH et FSH, les neurones du GnRH, ainsi qu'un effet inhibiteur qui s'exercent au niveau des gonades (**Chrousos et al., 1998**)

# Matériel & méthodes

## Matériel et méthode

### I.1. Animaux d'élevage :

Dans notre étude, le matériel biologique de base est le rat blanc mâle de souche wistar provenant de l'Institut Pasteur d'Alger (Algérie). A leur arrivé au laboratoire, leur poids est compris entre 171 à 252 g. Ces rongeurs sont des mammifères nocturnes, leur pelage est blanc et soyeux. Ils possèdent une large tête, de petites oreilles, des yeux rouges globulaire et une longue queue. La puberté survient entre 50 et 60 jours après la naissance chez les deux sexes. Un rat peut vivre entre 2,5 à 3,5 ans, ceci est dépendants de la souche, du sexe, des conditions environnementales et d'autres variables (**Baker *et al.*, 1980**).



Figure 20 : Photo des rats de laboratoire (rat wistar).

### I.2. Condition d'élevage :

Ces rats sont maintenus dans des cages de dimension standard (40 x 28 x 18 cm), translucides en polyéthylène, qui sont nettoyées régulièrement. La litière est composée de copeaux de bois est changée tous les deux jours. La nourriture et l'eau sont fournies à volonté.

Les animaux ont été acclimatés aux conditions de l'animalerie, à une température de 20- 25°C et une photopériode naturelle (printemps).

### **I.3. Lotissement des animaux :**

Les rats (n=10) âgés de trois mois sont réparties en deux lots expérimentaux de cinq rats chacun, le lot témoin et le lot traités à la dexaméthasone . La durée du traitement est de 10 jours.

-Le groupe contrôle ou le groupe témoin (T): reçoit par injection intra péritonéale (ip) un volume de NaCl à 0,9%, équivalent au volume reçu par un rat traité de même poids.

-Le groupe traité : reçoit ip de la dexaméthasone à raison de 100µg /200g durant 10 jours de poids corporel.

### **I.4. Mesure physiologique**

#### **❖ Evolution pondérale et suivi des animaux :**

Durant la période du traitement, les rats traités et les rats témoins sont pesés chaque jour avant le traitement pour déterminer la dose à injecter.

#### **❖ Prises alimentaires et hydriques des animaux :**

La nourriture et l'eau consommées par les rats sont pesées quotidiennement pendant la durée du traitement.

#### **❖ Préparation du prélèvement**

##### **✚ Décapitation et dissection :**

Les rats sont anesthésiés puis sacrifiés par décapitation.



Figure 21 : Photographie originale de la dissection d'un rat.

##### **✚ Récupération de plasma et prélèvement des organes :**

Le sang est recueilli dans des tubes héparinés et des tubes à EDTA, puis centrifugé à 4000 tours/min pendant 15 min. Le plasma est récupéré dans des tubes *éppendorfs* puis mis au congélateur jusqu'au moment du dosage hormonal.

Les organes (testicule, vésicule séminale, épидидyme, canal déférent, foie, surrénales, cœur, rein, poumon) ont été prélevés, pesés puis fixés au formol à 10% pour une étude histologique et structurale ultérieure (non réalisée).

## **II. Etude comportementale :**

Avant le début du traitement, le comportement des rats a été évalué sur les réponses émotionnelles observées dans trois tests de conflit non conditionné : le labyrinthe en croix surélevé (elevated plus maze), test de l'open Field et le test de la nage forcée (Roy, 2002).

### **II.1. Procédure de labyrinthe en croix surélevée (Place Maze Test) :**

#### **❖ Description du test :**

Le labyrinthe en croix surélevée est le test le plus utilisé pour mesurer le comportement de type anxieux. Ce test a dérivé du début du travail de Montgomery (1958). Il a observé que les rats avaient tendance à éviter les bras ouverts de labyrinthe.

Ce test est fondé sur la préférence de l'animal pour les endroits sombres et clos, comparativement aux endroits éclairés et découverts. Il est actuellement considéré comme un test standard pour les traitements anxiolytiques (Hogg, 1996).

Le labyrinthe en croix surélevée utilisé est un dispositif en bois, composé de quatre bras mesurant chacun 50 cm de long et 10 cm de large, et se faisant face. Deux des bras nommés bras fermé (BF) et opposés, sont cloîtrés par trois murs hauts de 40 cm. Les deux autres bras, nommés bras ouvert (BO) également opposés, sont totalement ouverts (figure 23).

Les rats sont placés au centre du dispositif, face à un bras ouvert, et laissés libres de l'explorer pendant 5 minutes. Le plancher est nettoyé après le passage de chaque rat afin d'éviter toute odeur pouvant modifier le comportement de l'animal suivant. La pièce d'expérimentation n'est pas éclairée.

#### **❖ Variables mesurées :**

Plusieurs variables classiques ont été mesurées par analyse des enregistrements vidéo :

- Le nombre d'entrée et le temps passé dans le bras ouvert

- Le nombre d'entrée et le temps passé dans le bras fermé
- Le nombre d'entrée et le temps passé dans le centre
- Le nombre de défécation

Une entrée est comptabilisée lorsque les quatre pattes de l'animal franchissent le seuil du bras. Ces données permettent de calculer le temps passé dans la plateforme centrale, considéré comme un indicateur d'hésitation entre approche et évitement des bras les plus anxiogènes (**Cruz et al., 1994**).



Figure 22 : Dispositif utilisé dans le labyrinthe en croix surélevée.

## II.2. Procédure des champs ouverts (l'open Field test) :

### ❖ Description du test

Le test de l'open Field, initialement décrit par Hall (1934), a été développé dans le but de mesurer des différences de réactivité émotionnelle chez les rats. Il évalue l'aptitude d'un animal à pénétrer et à explorer un territoire nouveau alors que l'accès à son propre territoire est possible (**Hamidou, 1997**).

L'open-field utilisé est une large boîte carrée ouverte en bois de 1 mètre de côté et de 50 cm de haut. Des lignes noires au sol délimitent des carreaux (**Dauge et al., 1989**). Il est divisé en deux parties : une partie centrale et une partie périphérique. La partie centrale sert de point de départ aux animaux à chaque test (figure 22).

Ce test constitue un environnement stressant pour le rat. Il s'agit en effet d'un animal nocturne, qui préfère les espaces confinés, clos et peu éclairés, et effrayé par les grands espaces. Un animal

anxieux évite le centre du terrain qui est ouvert, et reste près des murs. Ce test est utilisé pour mesurer les fonctions motrices de l'animal et aussi pour évaluer son degré d'anxiété.

La mise en place de l'animal au centre du dispositif et ses déplacements sont filmés pendant 5 minutes dans une pièce non éclairée. Le dispositif est nettoyé et séché après le passage de chaque animal.

❖ **Variables mesurés :**

Plusieurs variables classiques ont été mesurées par analyse des enregistrements vidéo:

- Le nombre d'entrée et le temps passé dans la partie périphérique
- Le nombre d'entrée et le temps passé dans la partie centrale
- Le nombre de redressement
- Le nombre de défécation



Figure 23 : Dispositif utilisé dans le champ ouvert.

### **II.3. Procédure de la nage forcée (ForcedSwimming Test) :**

❖ **Description du test :**

Le FST ou Forced swimming test est un modèle comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur (**Porsolt *et al.*, 1977**).

Dans ce test, le rat est placé individuellement dans un aquarium de 40 cm de haut sur 30 cm de large. Ces diamètres permettent de s'assurer que le rat ne pourra pas s'enfuir en s'agrippant aux bordures du dispositif. L'aquarium est rempli d'eau à 25 C°. La hauteur de l'eau atteint 35 cm,

pour s'assurer que le rat ne se serve pas de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface, et donc l'obliger à nager (figure 24).

Le FST se déroule chez le rat en deux phases, le pré-test (FST1) et le test (FST2), séparées par un intervalle de 24 heures. Lors du pré-test, le rat est placé pendant 15 minutes dans l'aquarium remplie d'eau, 24 heures après le pré-test, un test de 5 minutes est réalisé dans les mêmes conditions, la pièce d'expérimentation est faiblement éclairée.

#### ❖ Variables mesurées :

Les différentes variables mesurées durant le FST sont analysées par des enregistrements vidéo :

- Temps d'immobilité
- Temps de nage
- Temps d'escalade

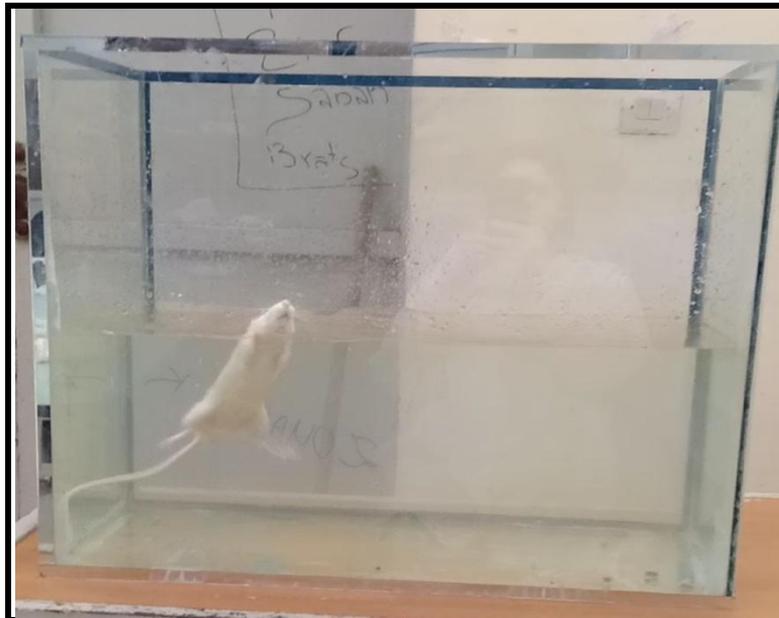


Figure 24 : Dispositif utilisé dans la nagé forcée.

### III. Spermogramme :

Le spermogramme est un examen médical au cours duquel sont analysés les caractères physico-chimiques et quantitatif du sperme. C'est l'examen de base permettant d'apprécier les caractéristiques spermatique. Il consiste principalement à compter et à étudier la vitalité, la mobilité des spermatozoïdes et de vérifier l'absence d'anomalies (**Makler et al., 1981**).

### III.1. Le comptage des spermatozoïdes :

Le comptage ou numération cellulaire est la détermination du nombre de cellule contenues dans un volume précis d'un milieu liquide. Elle est réalisée directement par comptage au microscope à l'aide d'une cellule de comptage dont la plus courante est la cellule de Malassez (figure 25).

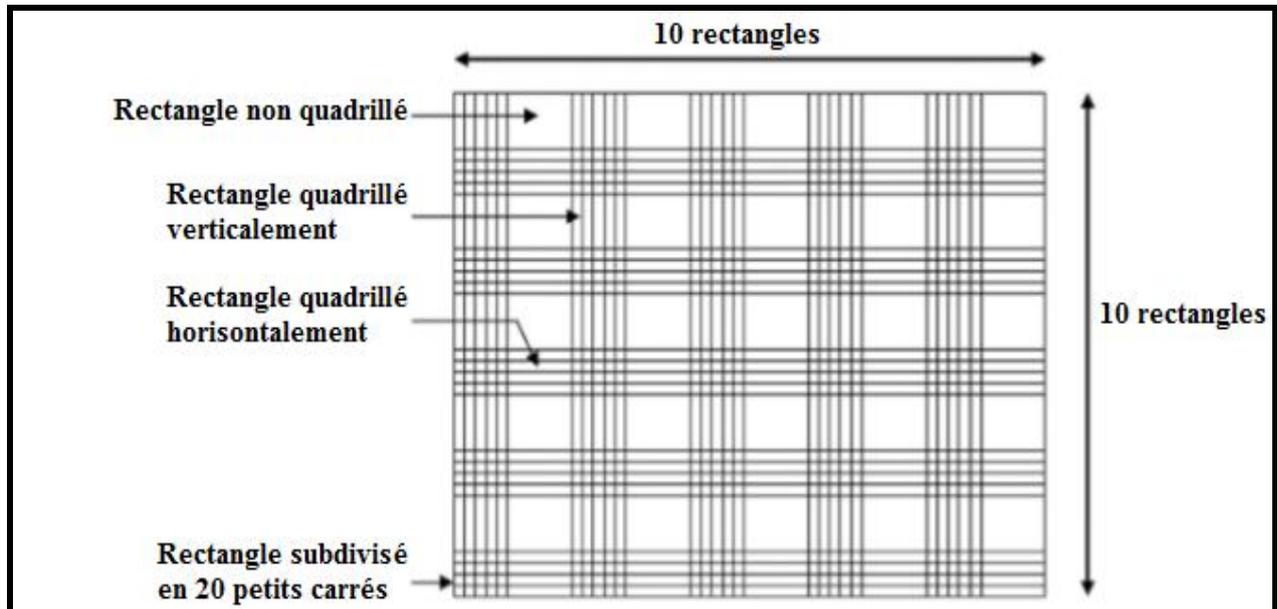


Figure 25 : cellule de Malassez (site web).

Dans notre étude, le test de comptage a été réalisé dans le but de compter les spermatozoïdes testiculaires et épидидymaires. Ce test est préparé en mélangeant le testicule (ou l'épididyme) broyé avec 100 ml de solution de triton x100. 100 µl de l'homogénat sont ajouté dans un tube eppendorf avec 900 µl de solution de triton ×100.

Après agitation, 50 µl de l'homogénat sont déposés sur le bord entre la cellule de Malassez et la lamelle et qui diffuse par capillarité vers les chambres de comptage de la cellule.

La totalité de la cellule de Malassez est composée de 100 rectangles dont le volume total de la cellule est de 1 mm<sup>3</sup> (= 100×0.25×0.20×0.20) les dimensions de la cellule sont :

- Longueur = 0.25 mm
- Largeur = 0.20 mm
- Profondeur = 0.20 mm

On ne comptera les cellules que dans 10 des 25 rectangles non contigus pris au hasard dans la cellule. On fait ensuite la somme des cellules observées dans chaque rectangle, on divise ce nombre par 10 (nombre de rectangles comptés), on obtient le nombre de cellules par rectangle, il

suffit de multiplier le nombre obtenu par 100 pour connaître le nombre d'entités cellulaires par mm<sup>3</sup>.

On choisit de prendre en compte les cellules chevauchant la ligne horizontale supérieure, et la ligne verticale droite.

### **III.2. La mobilité des spermatozoïdes :**

Il s'agit de l'analyse de la capacité de mouvement des spermatozoïdes. En général, elle se mesure par deux valeurs, le mouvement total (tous les spermatozoïdes qui sont en mouvement) et la mobilité progressive (les spermatozoïdes qui bougent et avancent).

Dans ce test on distingue quatre types de mouvement :

- Progression linéaire rapide.
- Progression non linéaire ou lente.
- Pas de progression : déplacement de moins de deux longueurs de tête en une seconde ou, aucun déplacement avec des oscillations de la tête sur place et ou de simple mouvement flagellaire.
- Immobile : aucun déplacement, tête et flagelle immobiles.

La mobilité appréciée au microscope optique est exprimé en pourcentage de spermatozoïde mobile. Le protocole réalisé dans notre étude consiste à couper la queue de l'épididyme en petits morceaux et à les mettre dans un mortier en ajoutant 2 ml de solution de Hanks. L'homogénat ensuite est mis dans l'étuve à 37°C pendant 15 min.

Une goutte de l'homogénat est déposée sur une lame et observé au microscope au grossissement ×40.

### **III.3. La vitalité des spermatozoïdes :**

La vitalité des spermatozoïdes est définie comme étant le pourcentage des spermatozoïdes vivant dans le sperme. Il est estimé par l'appréciation de l'intégrité membranaire des spermatozoïdes en analysant, par exemple, la perméabilité de cette membrane à certains colorants (**Mayer et al., 1951**). Il existe de nombreuses techniques de coloration parmi lesquelles la coloration dite "vitale" à l'éosine-nigrosine, le principe de cette technique est d'utiliser un colorant qui ne traverse que les membranes des cellules mortes (l'éosine) pour se lier et colorer l'ADN et un autre colorant de fond qui facilite la lecture (la nigrosine).

Les spermatozoïdes morts ont leur membrane cellulaire endommagée, le colorant peut donc pénétrer dans la tête du spermatozoïde et la colorer en rose. Les spermatozoïdes vivants apparaîtront avec une tête non colorée.

Le test est réalisé en mélangeant 50  $\mu$ l de l'homogénat de la queue de l'épididyme avec 2 gouttes d'éosine à 1% et après 30 secondes, 3 gouttes de nigrosine à 10% sont ajoutées également, un frottis est ensuite réalisé à partir de la préparation. Après séchage à l'air, le frottis est observé au microscope grossissement ( $\times 40$ ).

L'observation de 100 spermatozoïdes permet de classer les non colorés comme étant vivants, et les rouges ou roses comme morts.

L'évaluation de la vitalité spermatique présente d'autant plus d'intérêt lorsque la mobilité est altérée. En effet, un spermatozoïde mobile et obligatoirement vivant, il faut alors déterminer si les spermatozoïdes immobiles le sont (**Boitrelle et Clement, 2014**).

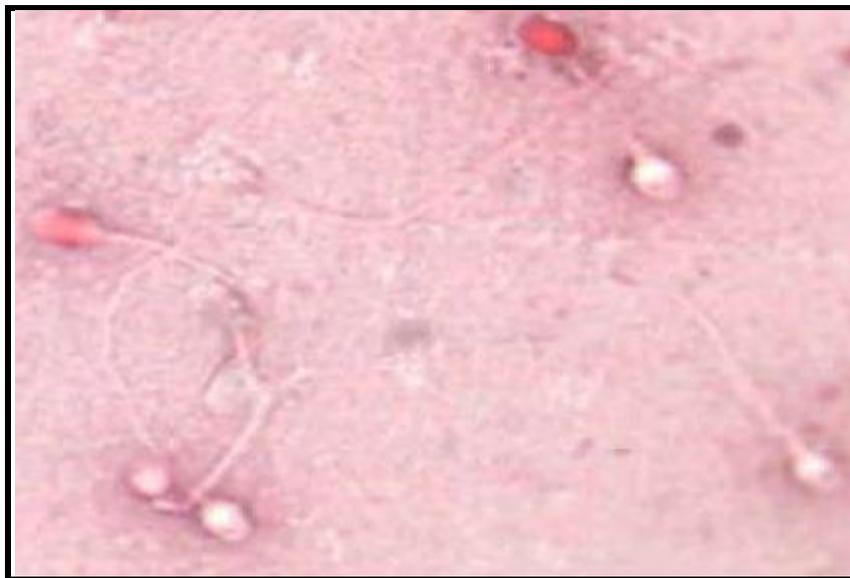


Figure 26 : Test de vitalité.

#### **IV. Dosage hormonale :**

Après sacrifice, le sang est recueilli dans des tubes secs, le plasma est récupéré dans des tubes éppendorfs après centrifugation pendant 15 min (centrifugé à 4000 tours / min) puis congelé à -18°C.

Les analyses sont réalisées au niveau de laboratoire d'analyse médicales DR.F.HASSAINE. Les échantillons sont décongelés et centrifugés pendant 2 min puis sont analysés pour déterminer les concentrations hormonales en FSH, LH et testostérone.



Figure 27 : Centrifugeuse.

Le dosage des hormones plasmatiques (testostérone, LH et FSH) est effectué par la technique immuno- electro- chimiluminescence, en utilisant une machine de la marque américaine BECKMAN COULTER (ACCESS) (figure 28), ainsi que les réactifs suivants : ACCESS h FSH, ACCESS h LH et ACCESS Testostérone.



Figure 28 : Photo réelle de l'analyseur hématologique utilisé pour l'analyse des échantillons.

L'électrochimiluminescence ou ECL constitue une méthode largement commercialisée pour les dosages immunologiques qui utilisent la réaction existante entre anticorps et antigènes. Les immunodosages présentent un intérêt particulier dans le diagnostic car la présence d'anticorps et

d'antigènes est détectable dans de nombreux fluides d'un patient dans le sang mais aussi l'urine ou la salive (Blicharz *et al.*, 2009).

L'ECL est un procédé où des espèces chimiques générées au niveau des électrodes participent à des transferts d'électrons. Ce transfert d'électrons hauts en énergie vont permettent à des molécules particulières de type luminophore d'atteindre leur état excité. Celui-ci retourne à l'état fondamental en émettant un photon et l'intensité lumineuse résultante constitue le signal analytique (Deiss *et al.*, 2009).

Cette technique possède différents avantages, l'excitation induite par une réaction électrochimique permet une émission lumineuse spatio-temporellement bien définie (Miao, 2008). Le contrôle dans le temps permet de retarder l'émission, typiquement jusqu'au moment où la reconnaissance anticorps-antigène a eu lieu. Elle possède une bonne sélectivité et une génération *in situ* des réactifs en milieu physiologique. Le contrôle de la position, lui permet de confiner l'émission lumineuse dans la région où se trouve le détecteur. Il est ainsi possible d'optimiser la sensibilité en augmentant le rapport signal sur bruit (Miao, 2008).

## V. Analyse statistique:

Tous les résultats ont été rapportés dans un fichier Excel. L'ensemble des résultats sont analysés statistiquement par le test de student et le test ANOVA. Les valeurs sont exprimées par la moyenne arithmétique et l'erreur standard à la moyenne (moyenne  $\pm$  esm).

### -Moyenne arithmétique (X) des valeurs individuelles :

$$X = \frac{\sum ni xi}{N} \text{ } pxi : \text{valeurs individuelles}$$

ni : effectif de la classe

N : l'effectif de l'échantillon

### - Erreur standard à la moyenne (esm) :

$$ESM = \frac{\delta}{\sqrt{N-1}} \text{ avec } \delta^2 (\text{ecart type}) = \frac{\sum ni (xi - \bar{x})^2}{N}$$

N-1 : degré de liberté

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative à partir d'une valeur de probabilité  $p < 0.05$ .

- Si  $p > 0,05$  : la différence n'est pas significative

- Si  $p < 0,05$  : la différence est significative (\*)
- Si  $p < 0,01$  : la différence est très significative (\*\*)
- Si  $p < 0,001$  : la différence est hautement significative (\*\*\*)

Cette comparaison entre deux moyennes se fait par la relation de test 't' (test de student)

$$T = \frac{|Xa - Xb|}{S \sqrt{\frac{1}{Na} + \frac{1}{Nb}}} \text{ Avec : } s = \sqrt{S^2}$$

Alors que la comparaison multiple est effectuée à l'aide de l'analyse de la variance ANOVA.

# Résultats

## RESULTAT

### 1. Evolution du poids corporels durant le traitement :

Au début de l'expérimentation, le poids corporel des rats traités et des rats témoins ne présente aucune différence significative (tableau 1, figure 29). Ce n'est qu'au 6<sup>ème</sup> jour de l'expérimentation qu'une diminution significative du poids corporel est observée chez les traités en comparaison avec les témoins (7 j ( $p^* = 0.04$ ) ; 8j ( $p^* = 0.04$ ); 9j ( $p^* = 0.03$ ) ; 10j ( $p^* = 0.01$ ) ; 11j ( $p^* = 0.03$ ) . En fin d'expérimentation, les traités ont présenté une baisse de -23.83% de PC par rapport au début du traitement et de -26,13% par rapport aux témoins.

**Tableau 1** : Variation du poids corporels des rats témoins et traités.

Paramètres	Les rats témoins	Les rats traités
Poids corporels initial (g)	261,2 ± 5,236	257 ± 14,962
Poids corporels final (g)	265 ± 18,621	197,75* ± 12,418 ( $p < 0.05$ )

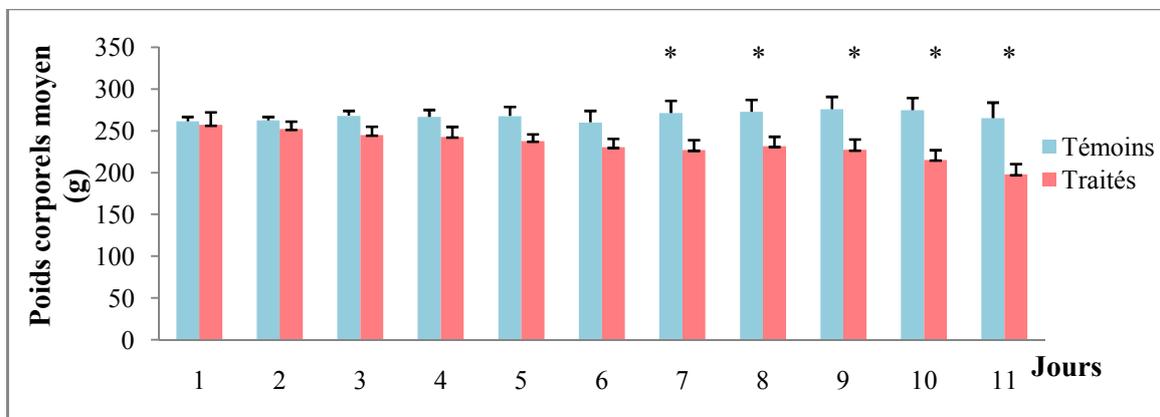


Figure 29 : Evolution du poids corporels des jeunes rats adultes témoins et traités à la dexaméthasone.

### 2. Evolution de la consommation d'eau et d'aliment au cours du traitement :

Tout le long de l'expérimentation, la consommation en aliment des rats traités a présenté de différence significative par rapport aux témoins que durant deux jours (tableau 2 ; figure 30) : au 2<sup>ème</sup> ( $p^* = 0.01$ ) et au 4<sup>ème</sup> ( $p^* = 0.04$ ) jour du traitement (tableau2 ; figure 30).

**Tableau 2** : Variation de la prise alimentaire des rats témoins et traités

Paramètres	Les rats témoins	Les rats traités
Poids initial (g)	50,8 ± 11,349	39,4 ± 4,59
Poids final (g)	17,75 ± 7,420	12,5 ± 2,50

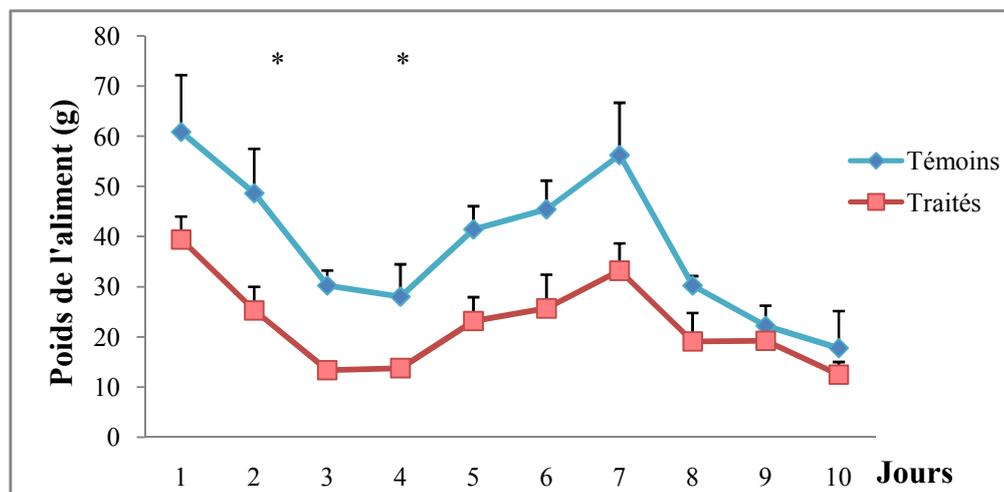


Figure 30 : Evolution de la prise alimentaire moyenne quotidienne des jeunes rats adultes témoins et traités à la dexaméthasone.

Les résultats la consommation d'eau au cours chez les traités (tableau 3 ; figure 27) montrent une augmentation très significative le 1<sup>er</sup> jour ( $p^{**}= 0.006$ ), significative ( $p^{*}< 0.05$ ) pour le 2<sup>ème</sup> ( $p^{*}=0.04$ ), 4<sup>ème</sup> ( $p^{*}= 0.04$ ), 7<sup>ème</sup> ( $p^{*}= 0.01$ ) et le 9<sup>ème</sup> jour ( $p^{*}= 0.03$ ).

Tableau 3 : Variation de la consommation d'eau pour les rats témoins et les rats traités

Paramètres	Les rats témoins	Les rats traités
Quantité initial (ml)	354 ± 27,76	255 ± 12.786
Quantité final (ml)	173,67 ± 94,84	227,75 ± 13,75

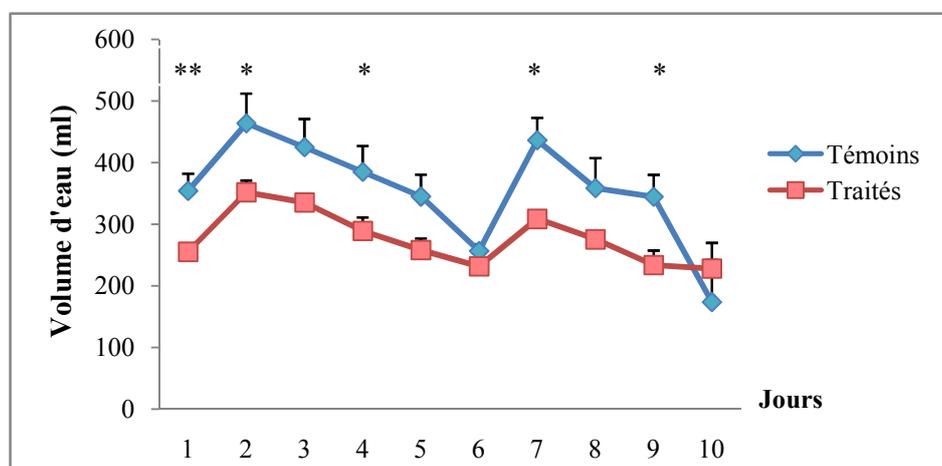


Figure 31 : Evolution de la consommation d'eau quotidienne des jeunes rats adultes témoins et traités à la dexaméthasone.

### 3. Etude comportementale

L'étude comportementale réalisée se présente par trois tests : le test du labyrinthe en croix surélevée, le test du champ ouvert et le test de la nage forcée. Les deux premiers tests sont réalisés sur trois groupes de rats, des rats non traités (témoins non traités), des rats traités par le NaCl (témoins), et des rats traités par la dexaméthasone (traités). Pour le test de la nage forcée, il est réalisé uniquement sur les rats témoins et les rats traités.

#### 3. a- Test de labyrinthe en croix surélevée (Elevated plus maze)

##### Temps :

Chez les rats traités est observé une élévation de la durée de temps passé dans le bras ouvert du labyrinthe tandis qu'il y a une diminution du temps passé dans le bras fermé en comparaison avec les rats témoins non traités et les rats témoins ( NaCl) (tableau 4 ; figure 32). Pour le temps passé au centre, les rats traités ont présenté une diminution non significative par rapport aux rats témoins non traités et les rats témoins. Cependant, tous ces paramètres, ne présentent aucune différence significative ( $p > 0.05$ ).

**Tableau 4** : Les mesures des paramètres (temps en seconde) du labyrinthe en croix surélevée chez les rats témoins et traités.

Paramètres	Bras ouvert	Bras fermé	Centre
<b>Témoins non traités</b>	9 ± 7,630	263 ± 10,572	28 ± 7,257
<b>Témoins</b>	1,75 ± 2,020	221,5 ± 85,277	76,75 ± 83,257
<b>Traités</b>	74 ± 85,447	200,25 ± 78,406	25,75 ± 16,642

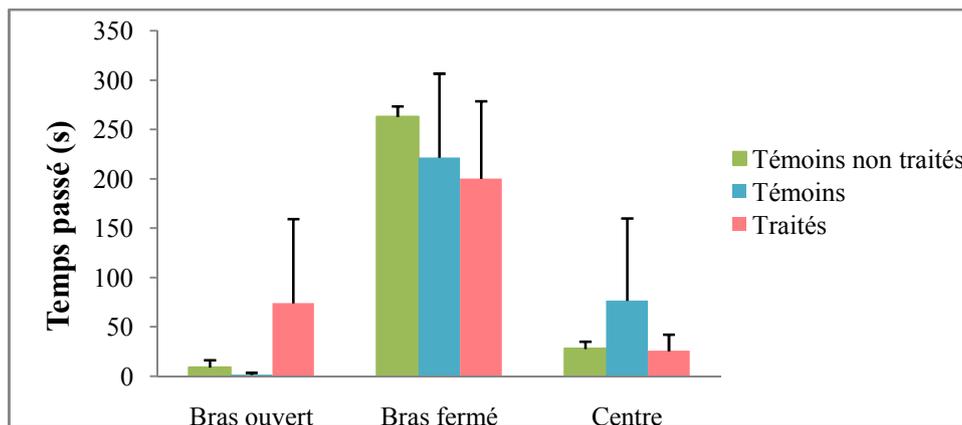


Figure 32 : Variation des paramètres (temps) du test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats adultes témoins et traités.

### 🚩 Nombre

Chez les rats traités, le nombre d'entrée dans le bras ouvert présentent une diminution non significative ( $p > 0.05$ ) par rapport aux rats témoins non traités et une augmentation non significative en comparaison avec les rats témoins (tableau 5 ; figure 33). Pour le nombre d'entrée dans le bras fermé, le centre et le nombre de défécation, les rats traités présentent une diminution non significative par rapport aux deux groupes de rats témoins.

**Tableau 5** : Les mesures des paramètres (nombres) du labyrinthe en croix surélevée chez les rats témoins et traités.

Paramètres	Bras ouvert	Bras fermé	Centre	Défécation
<b>Témoins non traités</b>	1,25 ± 1,092	3,75 ± 0,986	4 ± 1,699	1,5 ± 1,105
<b>Témoins</b>	0	1,75 ± 0,986	1 ± 0,816	0,5 ± 0,577
<b>Traités</b>	0,25 ± 0,288	1,25 ± 0,726	0,5 ± 0,577	0,25 ± 0,288

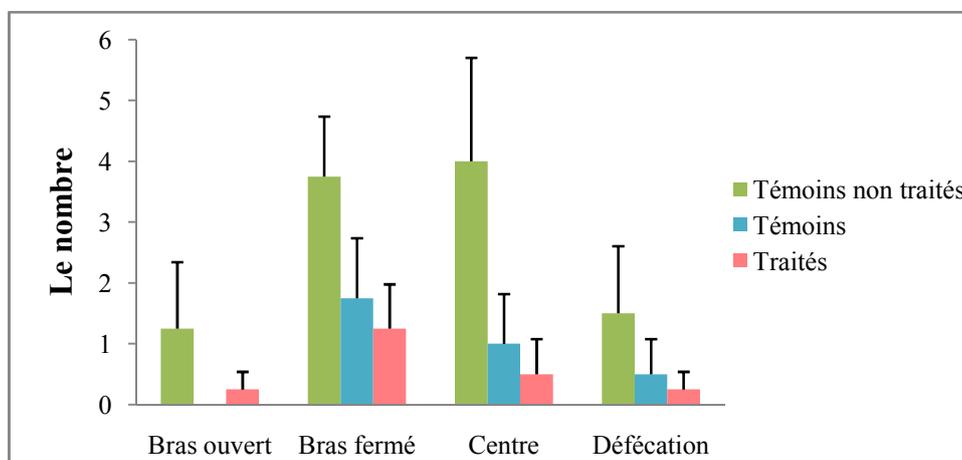


Figure 33 : Variation des paramètres (nombres) du test du labyrinthe en croix surélevée des jeunes rats adultes témoins et traités.

### 3. b- Test du champ ouvert (Open Field)

#### 📊 Temps

Après la comparaison du comportement des rats durant ce test, les résultats révèlent une augmentation non significative ( $p > 0.05$ ) du temps passé dans la partie périphérique du champ ouvert pour les rats traités et les rats témoins par rapport aux rats témoins non traités (tableau 6 ; figure 34). Et pour le temps passé dans la partie centrale les résultats montrent une diminution non significative des rats traités et témoins par rapport aux autres rats témoins non traités.

**Tableau 6** : Les mesures des paramètres (temps) du champ ouvert chez les rats témoins et traités.

Paramètres	Partie périphérique	Partie centrale
Témoins non traités	283,5 ± 9,024	16,5 ± 9,024
Témoins	295,25 ± 2,061	4,75 ± 2,061
Traités	295 ± 2,357	5 ± 2,357

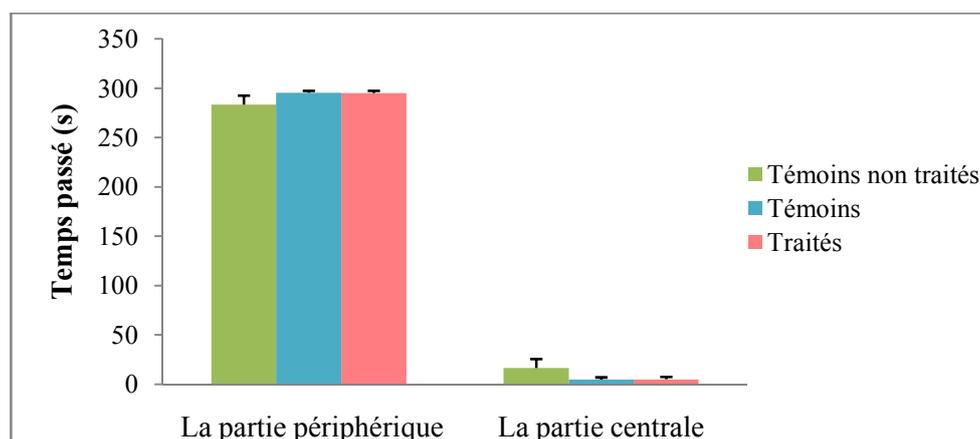


Figure 34 : Variation des paramètres (temps) du test du champ ouvert des jeunes rats adultes témoins et traités.

#### 📊 Nombre

Les résultats obtenus après comparaison se présentent par une diminution ( $p > 0.05$ ) de nombre d'entrée dans la partie périphérique et la partie centrale chez les rats traités par rapport aux rats témoins non traités, et une augmentation non significative de nombre d'entrée dans les deux

parties pour les rats traités et les rats témoins non traités en comparaison aux rats témoins (tableau 7 ; figure 35). Les résultats montrent également une diminution non significative du nombre de défécation et du nombre de redressement des rats traités en comparaison aux deux groupes des rats témoins.

**Tableau 7 :** Les mesures des paramètres (temps) du champ ouvert chez les rats témoins et traités.

Paramètres	P. périphérique	P. centrale	Défécation	Redressement
<b>Témoins non traités</b>	3,75 ± 1,787	2,75 ± 1,787	2,25 ± 0,986	19,75 ± 3,312
<b>Témoin</b>	1 ± 0	0	2,25 ± 1,518	10 ± 5,830
<b>Traités</b>	2,25 ± 0,866	1,25 ± 0,866	3,5 ± 1,666	6 ± 3,366

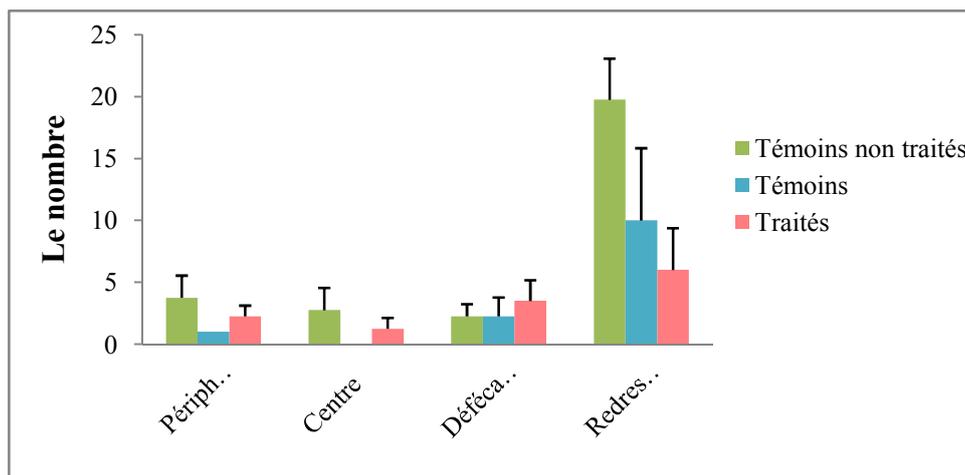


Figure 35 : Variation des paramètres (nombre) du test du champ ouvert des jeunes rats adultes témoins et traités.

### 3. c- Test de la nage forcée

#### ✚ Pré-test

Les résultats obtenus chez les rats traités montrent une diminution du temps de nage, tandis que le temps d'escalade et le temps d'immobilités présentent une augmentation mais non significative en comparaison avec rats témoins (tableau 8 ; figure 36).

**Tableau 8 :** les mesures des paramètres du pré-test de la nage forcée chez les rats témoins et traités.

Paramètres	Temps de nage	Temps d'escalade	Temps d'immobilité
Témoins	381 ± 302,641	65,5 ± 26,162	273,5 ± 276,4788
Traités	41,5 ± 23,334	272,5 ± 198,697	406 ± 222,031

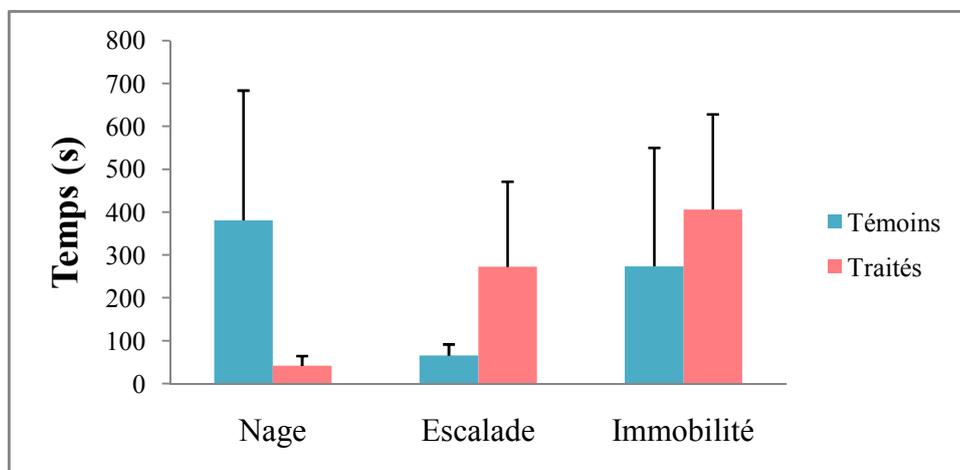


Figure 36 : Variation des paramètres du pré-test de la nage forcée des jeunes rats adultes témoins et traités.

#### ✚ Test

Le test de la nage forcée ou test de désespoir comportemental, révèlent chez les traités en comparaison avec les témoins, une diminution du temps de nage ( $p > 0.05$ ) et une augmentation du temps d'escalade ( $p > 0.05$ ) et d'immobilité ( $p > 0.05$ ) (tableau 9 ; figure 37). Ces résultats démontrent d'un désespoir comportemental, de l'anxiété et un état dépressif des rats traités.

**Tableau 9** : Les mesures des paramètres du test de la nage forcée chez les rats témoins et traités.

Paramètres	Temps de nage	Temps d'escalade	Temps d'immobilité
Témoins	127 ± 29	152,5 ± 49,5	20,5 ± 20,5
Traités	97,5 ± 62,932	139 ± 18,384	63,5 ± 81,317

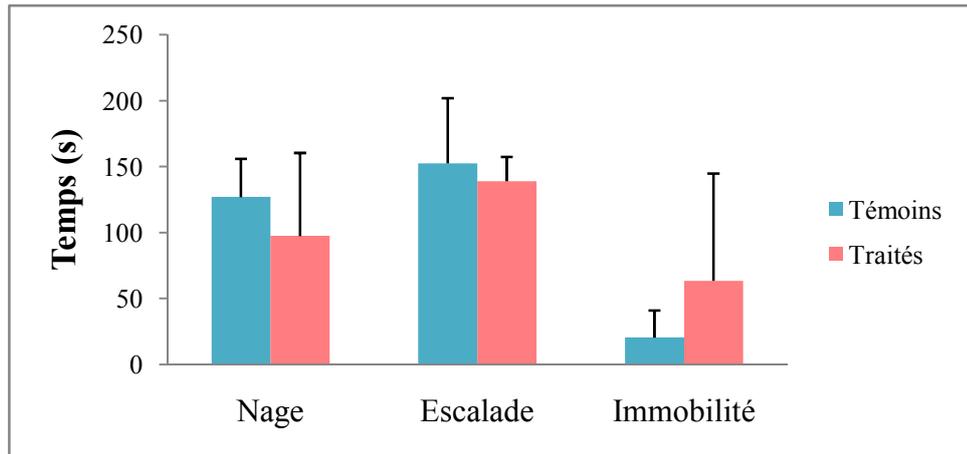


Figure 37 : Variation des paramètres du test de la nage forcée des jeunes rats adultes témoins et traités.

#### 4. Variation du poids des organes

Après le prélèvement des organes ces derniers ont été pesés

##### 4. a- Poids des testicules et des vésicules séminales :

Chez les rats traités, le poids moyen des testicules montrent une augmentation qui est très significative en valeur relative ( $p^{**} < 0.01$ ) en comparaison avec les témoins (tableau 10 ; figure 34).

Le poids moyen des vésicules séminales montre une baisse non significative chez les traités par rapport aux témoins (tableau 10 ; figure 38).

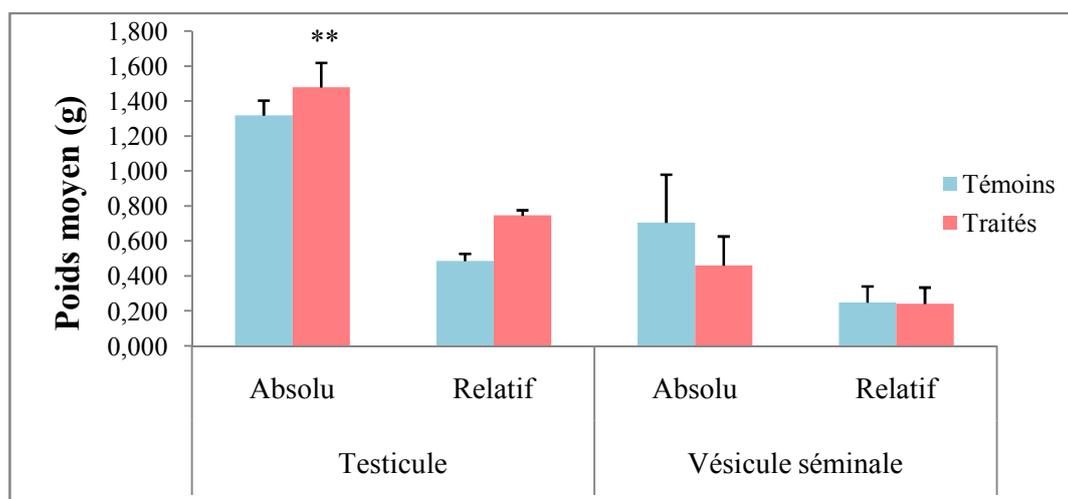


Figure 38 : Variation du poids absolu et relatif du testicule et des vésicules séminales chez les jeunes rats témoins et traités.

#### 4. b- Poids de la glande surrénale :

Le poids moyen absolu des glandes surrénales, montrent une baisse hautement significative ( $p^{***} < 0.001$ ) ( $p=0.0007$ ) chez les rats traités par rapport aux rats témoins (tableau 10 ; figure 39).

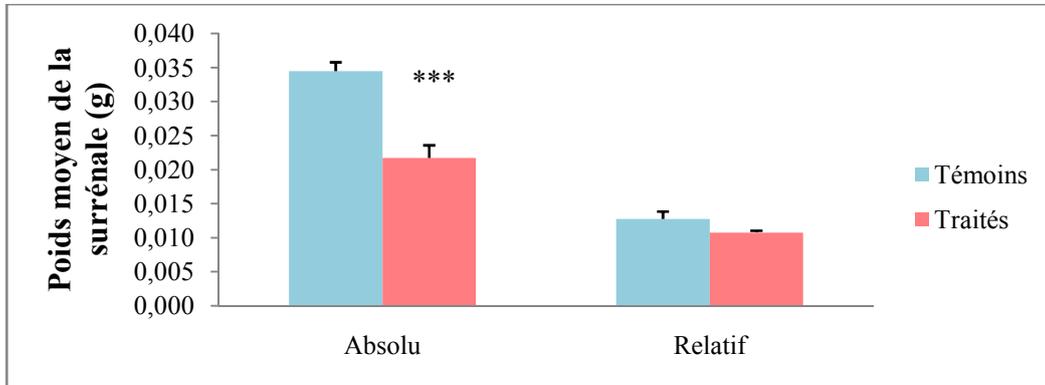


Figure 39 : Variation du poids absolu et relatif des surrénales chez les jeunes rats témoins et traités.

#### 4. c- Poids de l'épididyme et du canal déférent :

Les valeurs relatives des poids de l'épididyme des rats traités montrent une augmentation hautement significative ( $p^{***} < 0.001$ ) par rapport aux rats témoins, tandis que les résultats des poids du canal déférent des rats traités présentent une diminution non significative ( $p > 0.05$ ) par rapport aux rats témoins (tableau 10 ; figure 40).

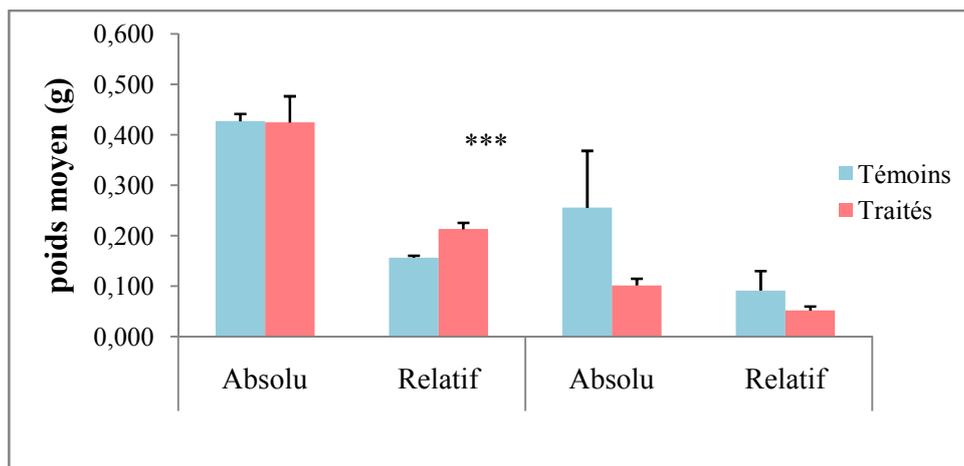


Figure 40 : Variation du poids absolu et relatif de l'épididyme et du canal déférent chez les jeunes rats témoins et traités.

#### 4. d- Poids du tissu adipeux testiculaire et tissu adipeux surrénalien :

Les poids moyen du tissu adipeux testiculaire et surrénalien des rats traités révèlent une diminution respectivement non significative ( $p > 0.05$ ) et très significative ( $p^{**} < 0.01$ ) par rapport aux rats témoins (tableau 10 ; figure 41).

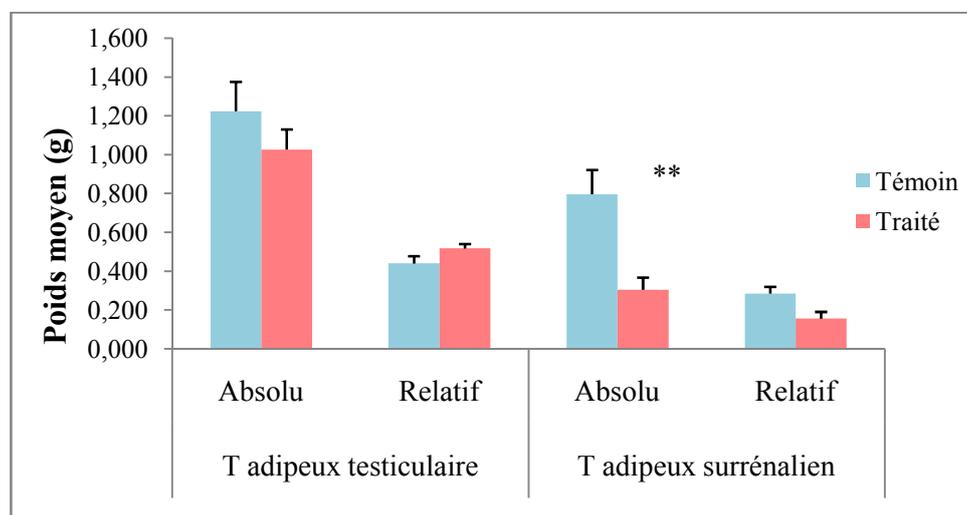


Figure 41 : Variation du poids absolu et relatif du tissu adipeux surrénalien et testiculaire chez les jeunes rats témoins et traités.

**Tableau 10:** Variation du poids moyen des organes des rats témoins et rats traités.

Organes		Testicule	Vésicule séminale	Gland surrénale	Epididyme	Canal déférent	T. Adi testicule	T. Adi surrénale
<b>Témoin</b>	M.absolue±	1.318±	0.706±	0.034±	0.427±	0.256±	1.223±	0.796±
	ESM	0.086	0.275	0.001	0.015	0.113	0.152	0.125
<b>Témoin</b>	M.relative	0.486±	0.249±	0.013±	0.156±	0.091±	0.441±	0.285±
	±ESM	0.042	0.093	0.001	0.004	0.039	0.037	0.035
<b>Traité</b>	M.absolue	1.478±	0.460±	0.022±	0.424±	0.101±	1.027±	0.305±
	± ESM	0.141	0.167	0.002	0.052	0.014	0.103	0.063
<b>Traité</b>	M.relative	0.746±	0.241±	0.011±	0.213±	0.052±	0.518±	0.156±
	± ESM	0.031	0.094	0.0002	0.013	0.008	0.022	0.036

## 5. Valeurs du spermogramme :

### 5. a- Test de comptage :

Au niveau des testicules, les résultats révèlent une augmentation du nombre des spermatozoïdes des rats traités ( $6,05 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ) par rapport aux rats témoins ( $4,25 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ) alors qu'au niveau de l'épididyme, est observé une diminution chez les rats traités ( $5,1 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ) en comparaison avec les rats témoins ( $9,715 \times 10^3 / \text{mm}^3$ ).

Pour les cellules rondes, les résultats ont montré une augmentation non significative ( $p > 0.05$ ) des cellules rondes des rats traités par rapport aux rats témoins.

### 5. b- Test de mobilité :

La comparaison des résultats du test de mobilité, montre une immobilité des spermatozoïdes du rat témoin n° 4 de 100% (100/100 de spz), contrairement au rat traité dont l'immobilité est de 69 /100 de spz, et la mobilité est de 31/100 de spz : 1 spermatozoïde a une mobilité linéaire rapide et 30 spermatozoïdes ont une mobilité non linéaire lente.

### 5. c- Test de vitalité :

Les résultats obtenus révèlent une baisse de mortalité des spermatozoïdes chez les rats traités (34/100 de spz) par rapport aux témoins (58/100 de spz).

## 6. Dosage des hormones plasmatiques :

### 6. a- Dosage de la testostérone :

Les résultats du dosage, montrent une diminution non significative ( $p > 0.05$ ) du taux plasmatique en testostérone ( $p = 0.43$ ) chez les rats traités par rapport aux rats témoins (tableau 11 ; figure 42).

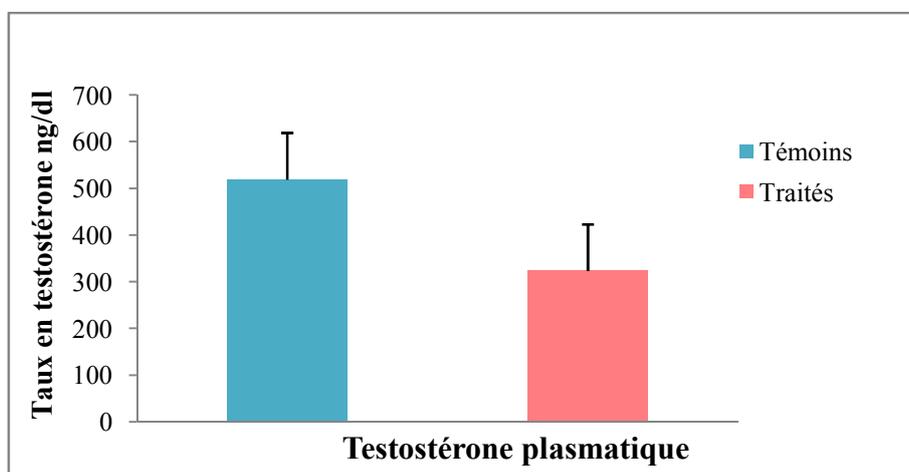


Figure 42 : Variation du taux plasmatiques en testostérone chez les jeunes rats témoins et traités.

### 6. b. Dosage du LH et FSH :

Les concentrations plasmatiques en LH et FSH (tableau 11 ; figure 43), montrent une diminution non significative chez les rats traités par rapport aux rats témoins (LH ( $p= 0.40$ ) ; FSH ( $p= 0.82$ )).

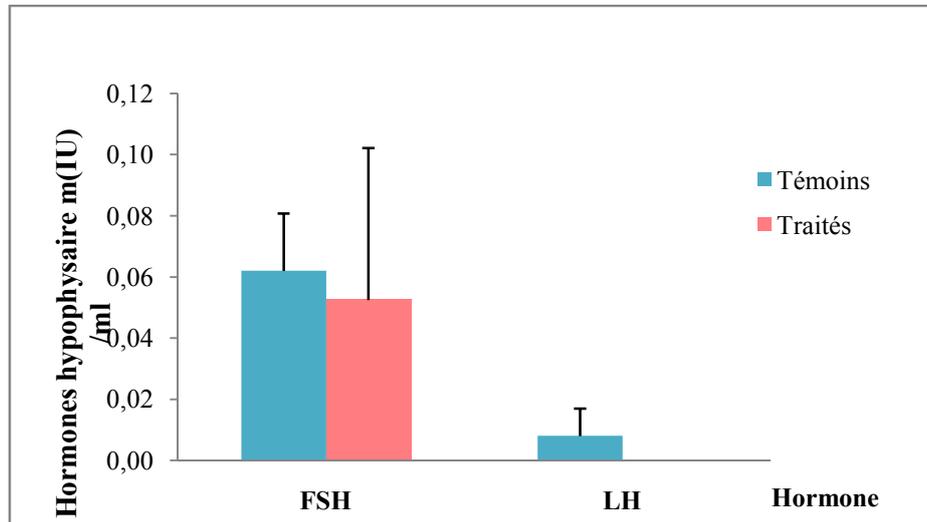


Figure 43 : Variation des taux plasmatique en LH et FSH chez les jeunes rats témoins et traités.

**Tableau 11** : Variation du taux plasmatique des hormones chez les rats témoins et traités

Hormones	Testostérone	LH	FSH
<b>Témoins</b>	519 ± 201,875	0.008 ± 0.009	0.062 ± 0.019
<b>Traités</b>	323,25 ± 136,028	0	0.052 ± 0.047

# Discussion

## DISCUSSION

Le traitement des rats jeunes adultes à la dexaméthasone à raison d'une dose quotidienne de 100µg/200g durant 10 jours semble avoir des répercussions sur plusieurs paramètres pondéraux, comportemental et de la reproduction. Les résultats obtenus concernent le poids du corps et des organes, la prise alimentaire et hydrique, le comportement, le spermogramme et le dosage hormonal plasmatique (testostérone, LH, FSH). La comparaison de nos résultats aux nombreuses études bibliographiques montre une concordance entre différentes études.

Nos résultats montrent une diminution significative du poids corporelle et de la prise alimentaire après administration du 100 µg / 200g du dexaméthasone. En effet, la prise des glucocorticoïdes peut avoir des répercussions significatives sur la consommation d'aliments ainsi que sur le poids corporels. Cette influence semble dépendre de la durée et de la dose administrée. D'après **Nzang Nguema et al., (2005)**, l'administration d'une forte dose (170 µg par jour) de dexaméthasone pendant 4 jours à des rats entraîne une importante hypohagie (absence de faim), alors qu'une faible dose pendant 3 jours augmente la prise alimentaire (**Zakrzewska et al., 1999**).

Aussi lorsque les rats subissent un stress d'intensité moyenne à sévère cela induit une diminution de la prise alimentaire (**Valles et al., 2000 ; Diane et al., 2008**). Il a été mis en évidence qu'une expérience stressante pouvait augmenter ou diminuer la consommation alimentaire quel que soit le genre (**Weinstein et al., 1997**). L'effet semble varier selon la réactivité du sujet au facteur de stress. Selon **Menezes et al., (2007)**, le traitement à la dexaméthasone à raison de 7,5mg/Kg/j durant 10 jours diminue le poids corporels .

L'étude de **Kaasik et al., (2007)** a montré que 10 jours de traitement à la dexaméthasone à raison de 100µg/100g de poids corporel par jour entraîne une perte de poids chez les rats traités .

Une diminution du poids corporels après l'administration de forte doses de dexaméthasone pendant 7 jours est rapportée par **Nzang Nguema et al., (2005)** et **Shin., (2000)**.

Cette perte de poids corporel s'explique par l'action des glucocorticoïdes sur le métabolisme lipidique. Elle favorise l'augmentation de la lipolyse et inhibent la synthèse des acides gras à longue chaîne (**Richard, 1997**).

L'analyse des résultats des différents tests comportementaux : le labyrinthe en croix surélevée, le champ ouvert, et la nage forcée a montré une variation remarquable de certains paramètres chez les traités en comparaison avec les témoins, cependant la différence n'est pas significative.

D'après **Ruchen, (2000)**, les réponses comportementales dépendent de l'élément stressant, mais également de l'animal et du contexte dans lequel le stress survient.

Aussi, Les 3 tests comportementaux sont largement appliqués dans les domaines des sciences du comportement et pour évaluer l'anxiété chez les rats et d'autres rongeurs, puisque ce sont des environnements nouveaux pour eux qui induisent le stress. Dans notre étude comportementale, plusieurs paramètres sont évalués, parmi ces paramètres : le score de défécation qui augmente avec le stress, la diminution de l'activité motrice et l'évitement de certaines zones comme la partie centrale du champ ouvert et le bras ouvert du labyrinthe en croix surélevé qui est remarquable beaucoup plus chez les rats traités en comparaison aux témoins. D'après **Kalz et al., (1981)**, le score de défécation, l'activité motrice et l'évitement de certain espace sont des paramètres quantitatifs d'appréciation du stress.

Dans le test de labyrinthe en croix surélevée un animal montrant une diminution des entrées dans les branches ouvertes ou du temps passé est considéré comme ayant un niveau d'anxiété accru (**Finn et al., 2003**). La différence entre le niveau du stress chez les rats témoins et les rats traités n'est pas significative. Ce test est le plus utilisé pour mesurer le comportement de type anxiété.

Dans le test du champ ouvert, un animal très actif en périphérique et très peu actif au centre du champ est considéré comme ayant un haut niveau d'anxiété (**Finn et al., 2003**), c'est ce qui a été observé chez la majorité de nos rats traités et témoins.

Pour le test de la nage forcée (désespoir comportemental), nos résultats montrent une diminution du temps de nage et une augmentation du temps d'escalade et d'immobilité chez les rats traités en comparaison avec les témoins. Ces résultats démontrent un désespoir comportemental, de l'anxiété et un état dépressif des rats traités. L'immobilité présente un état de désespoir tandis que l'escalade montre un comportement d'échappement et un état de stress. D'après **Pascoe et al., 1991**, une augmentation importante de la concentration des marqueurs plasmiques de stress comme la corticostérone et l'ACTH est remarquable durant le test de la nage forcée.

L'étude de l'axe HHS et du système nerveux autonome sont les méthodes les plus courantes pour apprécier physiologiquement le niveau du stress (**Mormède et al., 2007**). Des études se sont plus particulièrement intéressées à la relation entre comportement et l'axe HHS. Par exemple, une étude sur les rats en laboratoire démontre qu'un rat, qu'il soit en présence d'un élément stressant ou que son axe HHS est stimulé artificiellement (administration des corticoïdes), son comportement locomoteur est modifié (**Rushen, 2000**).

Qu'ils soient endogènes ou exogènes, les corticoïdes possèdent des effets pharmacologiques cérébraux, agissant au niveau de l'humeur, de la mémoire et de la régulation veille / sommeil (**Fietta et al., 2007**). La présentation clinique des troubles psychiatriques cortico-induit est très variable, englobant les troubles dépressifs, les troubles anxieux, les troubles du sommeil, les troubles psychotiques et les troubles cognitifs.

D'après **Bali et Jaggi (2015)**, la bonne méthode pour apprécier le stress chez le rat est d'étudier les paramètres physiologiques comme le poids des glandes surrénales. Dans notre étude les résultats concernant les poids d'organes montrant une baisse hautement significative du poids de la glande surrénale chez les rats traités par les GCs (hormone de stress) par rapport aux rats témoins, très significative pour le poids du tissu adipeux surrénalien, une diminution significative du poids moyen des testicules en valeurs relatives et baisse non significative du poids moyen des vésicules séminales, le canal déférent et le tissu adipeux surrénalien. En cas de stress, des modifications morphologiques peuvent apparaître et l'évaluation du poids corporel, des glandes surrénales peuvent être des indices intéressants de l'état de stress de l'animal. D'après **Selye, 1976**, la réaction physiologique à un agent stressant, physique ou psychologique, est un mécanisme de protection et d'adaptation destiné à maintenir l'équilibre homéostatique de l'organisme, c'est ce qu'on appelle « syndrome d'adaptation général » (**Brunner et al., 2011**). Ce syndrome est caractérisé par des changements mesurables au niveau de certains organes et par des manifestations physiologiques quantifiables.

Nos résultats du dosage hormonal plasmique de LH, FSH et de la testostérone montrent une diminution non significative chez les rats traités en comparaison avec les témoins avec une dose de 100µg/ 200g du dexaméthasone. Ces résultats sont concordent avec plusieurs études. D'après **Nepomnaschy et al., (2007)**, l'activation de l'axe HHS inhibe l'axe de reproduction à tous les niveaux, soit directement par les glucocorticoïdes soit à travers les catécholamines en bloquant l'action des neurones impliqués dans la production de GnRH au sein de l'hypothalamus. Cette inhibition de la production du GnRH provoque la diminution de la sécrétion du LH et FSH.

Les glucocorticoïdes provoquent l'inhibition de la sécrétion de la LH et FSH, de la GnRH, ainsi qu'un effet inhibiteur qui s'exerce au niveau des gonades (inhibition de la sécrétion de la testostérone par les gonades) (**Chrousos et al., 1998**).

Ces hormones permettent de réguler la sécrétion de testostérone en agissant sur leurs récepteurs qui se trouve au niveau des cellules de Leydig (**Schultz et al., 1993**) en inhibant l'expressions des

gènes codant pour les enzymes de biosynthèse de la testostérone (**Bambino et Hsueh, 1981 ; Monder et al., 1994**).

La diminution de FSH en réponse à la dexaméthasone est confirmée chez le rat (**Gore et al ., 2006**) cela s'expliquent par une sensibilité moindre au feedback positif consécutif au faible taux plasmiq ue de testostérone .

Avec de fortes doses de cortisol (100 mg deux fois par jour), la sensibilité hypophysaire à la GnRH est diminuée ainsi que la testostéronémie (**Sapolsky, 1985**) suggérant que l'action des glucocorticoïdes se situe au niveau de l'hypothalamus (diminution de la sécrétion du GnRH)(**Hayashi et Moberg, 1990**).

Les glucocorticoïdes déclenchent une diminution de la sécrétion de LH et la GnRH (**Faure, 2004 ; Strina, 2004 ; Buronfosse, 2012 ; Thierry, 2013**).

Chez le rat, la dexaméthasone induit la baisse de la testostérone *in vitro* (**Agular et al., 1992**) et *in vivo* (**Tohei et al., 1997**). La diminution de la testostérone plasmiq ue en réponse à la dexaméthasone est confirmé *in vitro* chez le rat (**Bambino et Hsueh, 1981 ; Welsh et al., 1982**).

**Richard et al., (1997)**, a confirmé que la baisse de la testostérone par l'effet des corticoïdes engendre une impuissance ainsi qu'une modification de la mobilité et du nombre de spermatozoïdes.

# Conclusion

## CONCLUSION

Nos résultats ressortent que les doses de la dexaméthasone administré aux jeunes rats adultes males, entraines plusieurs modifications concernant le poids corporel, la prise alimentaire, le poids de certaine organe, leurs comportements durant les tests de comportements, les paramètres de spermogramme (comptage, mobilité et vitalité) et les taux d'hormone plasmatique (testostérone, LH et FSH), par rapport aux rats témoins.

Dans notre étude les résultats obtenus montrent :

- Une diminution significative du poids corporel et la prise alimentaire chez les rats traités males.
- Une diminution très significative du poids moyen des testicules en valeurs relative.
- Une baisse hautement significative du poids moyen des glandes surrénales.
- Une augmentation hautement significative du poids de l'épididyme en valeur relative.
- Une diminution très significative du poids moyen du tissu adipeux surrénalien.
- Pour les vésicules séminales, le canal déférent et le tissu adipeux testiculaire les résultats montrent une baisse non significative chez les rats traités.
- L'étude comportementale des rats traités montre une diminution non significative du nombre d'entrée dans les bras ouvert et dans le centre pour le test de Labyrinthe en croix surélevée, ceci révèle un état de type anxieux chez les rats envers les zones ouvert et élevées.
- Une augmentation non significative du temps passé dans la partie périphérique, et une diminution non significative du temps passé dans la partie centrale pour le test du champ ouvert, ce résultat montre un état de stress pour les rats traités.
- Une diminution du nombre d'entrée dans les deux parties du champ ouvert et le nombre de redressement. Les rats traités ont exprimés un état émotionnel de type anxieux en évitant les parties ouvertes et en diminuant l'activité motrice (exploitation).
- Pour le test de la nage forcée, les résultats montrent chez les rats traités un désespoir comportemental expliqué par une augmentation du temps d'immobilité et une diminution du temps de la nage et un comportement d'échappement exprimé par une augmentation du temps d'escalade.
- Une diminution du nombre des spermatozoïdes épидидymaires, une baisse de mortalité et de spermatozoïdes immobiles par rapport aux témoins.
- Une augmentation du nombre des spermatozoïdes testiculaires
- Le dosage des hormones plasmatiques montre une diminution non significative du taux de la testostérone et du LH et FSH des rats traités.

Ces résultats obtenus mis en évidence qu'une dose de 100 µg/ 200g de dexaméthasone administré aux rats, a augmenté leurs états de stress qui est traduit par un comportement alimentaire faible, un comportement de type anxieux exprimé durant les tests de comportement, une diminution du gain de poids et une modification du poids de certains organes. Ainsi l'activation de l'axe HHS par l'administration de la Dexa inhibe l'axe de reproduction exprimé par une diminution des taux plasmatiques de la testostérone et les hormones gonadotropes (FSH et LH) des rats traités. La baisse de la testostérone par l'effet des corticoïdes (Dexa) engendre une

baisse du nombre des spermatozoïdes épидидymaires, puisque la testostérone participe à la régulation de la spermatogenèse.

### **Perspectives**

- Le dosage hormonal de l'ACTH et la corticostérone, qui représentent des marqueurs plasmiqnes du stress.
- Réalisation des coupes histologiques des organes prélevées pour déterminer l'état de certains organes comme la glande surrénale.

## Référence bibliographique :

**Agular BM, Vinggaard AM & Vind C.** (1992). Regulation by dexamethasone of the 3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in adult rat Leydig cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 43:65-71.

**Bali A, Jaggis AS.** (2015). Preclinical experimental stress studies: protocols, assessment and comparison. *Eur. J. Pharmacol*, 746, 282-292.

**Bambino TH, Hsueh AJ.** (1981). Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis in vivo and in vitro *Endocrinology*, 108(6):2142-8.

**Banks WJ.** (1993). *Applied Veterinary Histology*. Mosby – Year Book.

**Baker HJ, Lindsey JR & Weisbroth SH. (eds).** (1980). *The laboratory Rat, Vol.2, Research Application. Academic Press. New York, NY.*

**Baronne R.** (2001). Chapitre II: Appareil génital mâle. In: *Anatomie compare des mammifères domestiques. Tome 4. Splanchnographie II. Vigot, 83-250.*

**Belmin J, Chassagne P, Friocourt P, Gonthier R, Jeandel C, Nourhasheni F & Pfitzenmeyer P.** (2019). *GÉRIATRIE pour le praticien. 3<sup>ème</sup> édition, Elsevier Masson SAS.*

**Bertrand-Delepine J, Leroy C, Rigot JM, Catteau-Jonard S, Dewailly D & Robin G.** (2016). Stimulation of spermatogenesis: for whom? Why? How? *Gynecologie Obstétrique. Fertiljuin (sous presse).*

**Blank T, Nijholt I, Eckart K, & Spiess J.** (2002). Priming of long-term potentiation in mouse hippocampus by corticotropin-releasing factor and acute stress: Implications for Hippocampus-dependent learning. *Journal of Neuroscience*, 22(9), 3788–3794.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03788>

**Blicharz TM, Siqueira WL, Helmerhorst EJ, Oppenheim FG, Wexler PJ, Little FF & Walt DR.** (2009). *Analytical Chemistry*, 81, 2106.

**Boitrelle F, Clement P.** (2014). Le spermogramme: un outil de choix dans l'exploration de l'infertilité masculine et du couple. *Biologie de la reproduction a feuillets de biologie*, n' 320-septembre, 41-46.

**Bonnes G, Desclauze J, Drogoul C, Gadoud R, Jussiau, R, Montméas L, et al.** (2005). *Reproduction des animaux d'élevage*. Educagri édition, 2<sup>ème</sup> édition, 407P.

**Bothman Kathleen M, Weill A, Rodwell Victor W, Kennelly Péter J, Bender David A.** *Biochimie de Harper*. 6<sup>ème</sup> édition, De Boeck supérieur, Paris, 2017.

**Bouchet R, Levy M.** (1991). "Anatomie topographique descriptive et fonctionnelle : l'abdomen, la région rétropéritonéale, le petit bassin, le périnée" (4) 2<sup>e</sup> éd. Paris, Simep, 2423 p.

**Brion N, Guillevin L & Le Parc J-M.** (1998). *La corticothérapie en pratique*, Masson edition, Paris, 376 p.

**Brooker C.** (2000). *Le corps humain. Étude, structure et fonction* édition De Boeck Supérieur, 166 P.

**Brooker C.** (2001). *LE CORPS HUMAIN*. 2<sup>ème</sup> édition, De Boeck &Larciers.a.

**Brunner LS, Smeltzer S, Bare B, Suddarth DS.** (2011). 5<sup>ème</sup> édition, De Boeck, volume 5.

**Burke A. R, MiczekK. A.** (2014). Stress in adolescence and drugs of abuse in rodent models: Role of dopamine, CRF, and HPA axis. *Psychopharmacology (Berlin)*, 231(8), 1557–1580. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3369-1>

**Buronfosse T.** (2012). *Métabolisme des glucocorticoïdes*.

**Charmandari E, Tsigos C & Chrousos G.** (2005). Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol.* 67, 259-284.

**Chrousos GP.** (1993). Mechanisms of action. In: Boumpas DT. *Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates*. *Ann Intern Med.* 1198-208.

**Chrousos GP.** (1995). The hypothalamic -pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engle j Med.* 332: 1351-62.

**Chrousos GP, Torpy DJ & Gold PW.** (1998). Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implication. *Ann Intern Med.* 129(3):229-40.

**Cruz AP, Frei F, & Graeff FG.**(1994). Ethopharmacological analysis of ratbehaviour on the elevated plus-maze. *Pharmacolbiochem behave.* 49. 171-176.

**Dauge V, Rossignol P, Roques BP.** (1989). Comparison of the behavioural effects induced by administration in rat nucleus accumbens or nucleus caudatus of selective mu and delta opioid peptides or kelatorphan, an inhibitor of enkephalinmetabolism. *Psychopharmacology*, 96, 343-352.

**Diane A, Victoriano M, Fromentin G, Tome D & Larue-Achagiotis C.** (2008). Acutestress modifies food choice in Wistar male and female rats. *Appetite*50, 397.

**Dejean C, Richard D.** (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *Rev. Médecine Interne*, 34(5) pp.264–268.

**Deiss F, Lafratta CN, Symer M, Blicharz TM, Sojic N & Walt DR.** (2009).Multiplexed Sandwich Immunoassays using Electrochemiluminescence Imaging Resolved at the single Bead Level. – *J. Am. Chem. Soc.*, 131, 6088-6089.

**Derivaux J. Ectors F.**(1985). Reproduction chez les animaux domestiques Louvain-la-Neuve edition. Cabay : 1141p.

**Ducko R, Cornwell B, Cui L, Merikangas KR & Grillon C.** (2007). Acute exposure to stress improves performance in trace eyeblink conditioning and spatial learning tasks in healthy men. *Learn Mem* 14, 329-335.

**Dudouet C.** (2003).La production du mouton Editions France Agricole, PARIS, 2émeédition, 287 P.

**El-Zaoui I.** (2013). Etude de la toxicité et des mécanismes de mort cellulaire induits par les glucocorticoïdes sur les cellules endothéliales.

**Fardet L.** (2013). Métabolisme et cardiovasculaire des corticothérapies systémiques. *Rev médecine interne*. 34(5) ; 303-9.

**Faure A.** (2006). Les glucocorticoïdes en dermatologie canine : mécanismes et aspects cliniques des effets secondaires cutanés. Thèse soutenue en vue de l'obtention du grade de Docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Lyon.

**Faur S.** (2009). Anti-inflammatoires stéroïdiens. *Actualités pharmaceutiques*. 48(487) pp. 51-56.

**Fei-Da N, Shuang-Li H & Wan-Xi Y.** (2020). Molecular insights into hormone regulation via signaling pathways in sertoli cells: with discussion on infertility and testicular tumor. *Gene*. 753.144812.

**Fietta P.** (2007). Glucocorticoids and brain functions. *Riv Biol* ;100(3):403—18.

**Foster D.W, Orth D.N, Kovacs W.J, Landsberg L, Wilson J.D & Young J.B.** (1998). The adrenal cortex. *Williams Textbook of Endocrinology*. 517-664.

**Finn DA, Rutledge Gorman MT & Crabbe JC.** (2003). Genetic animal models of anxiety. *Neurogenetics*: 4(3): 109-35. In press.

**Funny R.** (2015). Corticoïdes et grossesse : Le point sur les pathologies chroniques concernées et le rôle du pharmacien d'officine. Thèse N° 049.

**Goodman L, Gilman A.** (1996). *The pharmacological basis of therapeutics*. New York: Mac Millan Publishing Co: 1459-85.

**Gore AC, Attardi B & DeFranco DB.** (2006). Glucocorticoid repression of the reproductive axis: Effects on GnRH and gonadotropin subunit mRNA levels *Mol Cell Endocrinol*. 256(1-2):40-8.

**Guilpain P, Le Jeune C.** (2012). Effets anti-inflammatoires et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes. *Presse Médicale*. 41(4) pp.378-383.

**Hall CS.** (1934). Emotional behaviour in the Rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *I. Comp. Psychology*. 385-403.

**Hall CS.** (1938). The inheritance of emotionality. *Sigma Xi Q.* 26 : 17-27.

**Hamidou A.** (1994). Analyse des interactions entre l'animal et son environnement physique et social : exemple d'un mutant neurologique, la souris-staggerer, thèse de Doctorat, université de Naney.

**Hammond GL, Smith CL, Paterson NA & Sibbald WJ.**(1990). A role of corticotrophin-binding globulin in delivery of cortisol to activated neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab.* 71(1):34-9.

**Hayashi KT, Moberg GP.** (1990). Influence of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis on the menstrual cycle and the pituitary responsiveness to estradiol in the female rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Biol Reprod.* 42(2): 260-5.

**Herman JP, Tasker JG.** (2016). Paraventricular hypothalamic mechanisms of chronic stress adaptation. *Frontiers in Endocrinology*, 7, 137. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00137>

**Hogg S.** (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety-like behaviour. *Pharmacology. Biochem. Behav.* 54, 21-30.

**Hôte D.** (2009). Exploitation d'un modèle de souris interspécifiques, recombinantes et congéniques pour la cartographie de QTL de la fertilité mâle et pour l'étude de la régulation génique testiculaire dans le contexte d'un génome mosaïque.

**Imran M, C Reddy B, Islam M, Khan A, N Parkar S & Nath T.** (2017) dec. Role of Dexamethasone in reducing Postoperative Sequelae following Impacted Mandibular Third Molar Surgery: A Comparative Clinical Study. *Dep Oral Maxillofac Surg Sri Rajiv Gandhi Coll Dent Sci Hosp Bengaluru Karnataka India.* 8.

**Inserm.** (2011). Stress au travail et santé : situation chez les indépendants, vol. 483. Collection Expertise collective. Paris : Inserm.

**Jean-Marie G, Anne-Marie O.** (2013). *Lécepteur en pharmacie.* Lavoisier, Paris.

**Katz RJ, Roth & Carroll BJ.** (1981). Acute and chronic stress Effects on Open Fields Activity in the Rat: Implication for a Model of Depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 5, 247-251.

**Kohler M.** (2011). Testicular structure and germ cells morphology. 4(3) p10.

**Kierszenbaum Abraham L.** (2006). Histologie et biologie cellulaire : Une introduction à l'anatomie pathologique. De Boeck & Larcier .S.A. Paris.

**Kim K, Brar P, Jakubowski J, Kaltman S & Lopez Em.** (2009) may. The use of corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory medication for the management of pain and inflammation after third molar surgery: a review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 107(5) :630-40.

**Laetitia J.** (2011). Glucocorticoïdes et pratique sportive : Effet sur la prise alimentaire, la composition corporelle et différentes sécrétions hormonales.

**Laumesfeld M.** (2008). Traitement de la maladie d'Addison par l'association acétate de désoxycorticostérone – prednisolone chez le chien. Thèse soutenue en vue de l'obtention d'un diplôme de Docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.

**Lindsay B.** (2015). La corticothérapie: Précautions d'emploi et conseils à l'officine. Etude la qualité de vie de patients sous corticothérapie prolongée.

**Lskant BME.** (1983). La corticothérapie chez le cheval. Thèse doctorat vétérinaire, Toulouse.

**Lüllman-Rauch R.** (2008). Histologie. Édition De Boeck, Paris.

**Majid OW, Mahmood WK.** (2011). Effect of submucosal and intramuscular dexamethasone on postoperative sequelae after third molar surgery: comparative study. Br J Oral Maxillofac Surg. 49(8):647-52.

**Martin C, Vincent J. L.** (2013). Sepsis grave et choc septique : Deuxième édition. Springer Science & Business Media, 283P, 288P.

**Martin C, Vallet B & Riou B.** (2017). Physiologie humaine appliquée (2e édition). Éditeur Arnette -John Libbey Eurotext. 384, 431 P.

**Marieb E, Hoehn K, Moussakova L & Lachaine R.** (2010). Anatomie et physiologie humaines. Paris Saint-Laurent (Québec: Pearson ERPI), p. 708 et 1079.

**Manteuffel G, Prunet P, Van Reenen CG, Richard S & Veissier I .** (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol. Behav.* 92 (3): 317-339.

**Mayer DT, Squiers CD, Bogart R & Oloufa M.** (1951). The technique for characterizing mammalian spermatozoa as dead or living by differential staining. In *Journal of Animal Science*. Vol. 10, n° 1, p. 226-235.

**Menezes LG, Sobreira C, Neder L, Rodrigues-Júnior AL & Martinez JAB.** (2007). Creatine supplementation attenuates corticosteroid-induced muscle wasting and impairment of exercise performance in rats. *J. Appl. Physiol.* 102: 698–703.

**Miao W.** (2008). *Chemical Reviews*, 108, 2506.

**Moberg G. P, Mench J. A.** (1985). CAB Internatio Sapolsky RM Stress-induced suppression of testicular function in the wild baboon: role of glucocorticoids. *Endocrinology*. 116 (6):2273-8.

**Monder C, Miroff Y, Marandici A & Hardy MP.** (1994). 11Beta-Hydroxysteroid dehydrogenase alleviates glucocorticoid-mediated inhibition of steroidogenesis in rat Leyding cells. *Endocrinology*, 134:1199-1204.

**Mormède P, Andanson S, Aupérin B, Beerda B, Guémené D, Malmkvist J, Manteca X & Montgomery kC.** (1958). The relation between fear induced by novelty stimulation and exploratory behaviour. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 48, 254-260.

**Mormede P, Andanson S, Auperin B, Beerda B, Guemene D, Malmkvist J, Manteca X, Manteuffel G, Prunet P, Reenen CG, Richard S & Veissier I.** (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitay-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav* 92, 317-339.

**Nandini GD.** (2016). Eventuality of Dexamethasone Injected Intra-massetrically on Post Operative Sequel Following the Surgical Extraction of Impacted Mandibular Third Molars: A Prospective Study. *J Maxillofac Oral Surg* . 15(4):456-60.

**Nepomnaschy PA, Sheiner E, Mastorakos G & coll.** (2007). Stress, immune function, and women's reproduction. *Ann New-York AcadSci* ,1113:350-364.

**Nicolaides NC, Galata Kino T, Chrousos G. P & Charmandari E.**(2010).The Human Glucocorticoid Receptor :Molecular Basis of Biologic Function.Steroids.75(1):1.

**Nzang Nguema G, Boghossian S, Dardevet D & Grizard J, Alliot J.** (2005). Effect of treatment with dexamethasone on protein intake in adult and old Lou/c/jall rats. *Mech. Ageing Dev.*126: 655–663.

**Orozco-Cabal L, Pollandt S, Liu J, Shinnick-Gallagher P, & Gallagher JP.** (2006). Regulation of synaptic transmission by CRF receptors. *Reviews in the Neurosciences*, 17(3), 279–307.

**Orth D. N, Kovacs W. J & DeBold C. R.** (1992). The adrenal cortex. In: Wilson JD, Foster DW (eds). *Williams textbook of endocrinology*. Philadelphia: W.B. Saunders Co: 489-531.

**Pascoe WS, Smythe GA & Storlien LH.** (1991). Enhanced responses to stress induced by fat-feeding in rats : relationship between hypothalamic noradrenaline and blood glucose. *Brain Res* 550, 192-196.

**Pilkis SJ, Granner DK.** (1992). Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis.*AnnuRevPhysiol.* 54: 38-67.

**Porsolt RD, Anton G, Ballet N & Jalfre M.** (1978).Behavioral despair in rats: A New model sensitive to antidepressant treatment. *EUR. J. Pharmacology*, 47, 379-391.

**Porsolt RD, LePichon M & Jalfre M.** (1977).Depression a New animal model sensitive to antidepressant treatment *Nature*, 266, 730-732.

**Prut L & Belzung C.** (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 463, 3-33.

**Robinson-Rechavi M, Carpentier AS, Duffraisse M & Laudet V.** (2001). How many hormone receptors are there in the human genome? *Trends Genet.* 17:554-556.

**Roscoe B, Little CC, Snell GD & Dingle JH.** (1941). *Biology of the Laboratory Mouse*: Philadelphia, The Blakiston company.

**Roumestan C, Gougat C, Jaffuel D & Mathieu M.** (2004). Glucocorticoids and their receptor: mechanisms of action and clinical implications. *Rev. Med. Intern.* 25:636-647.

**Roy.** (2002). Contribution à l'étude de conduites émotionnelles chez le rat : Utilisation du handling postnatal et de l'approche éthoexpérimental du comportement, thèse de doctorat Université de Rouen, France.

**Richard D, Roblot P & Muller A.** (1997). Bases physiopathologiques. Corticoïdes et corticothérapie. pp. 21–40. Hermann, Paris.

**Richard D, Senon J-L & Roblot P.** (1997). Corticoïdes et corticothérapie, Hermann édition, Paris, 418 p.

**Rushen J.** (2000). Some issues in the Interpretation of Behavioural Responses to Stress. The Biology of Animal Stress.

**Selye H.** (1976). The stress of life, 2<sup>ème</sup> édition, Papermark Edition.

**Schlosser J, Nakib I, Carré-Pigeon F & Staerman F.** (2007). Infertilité masculine: définition et physiopathologie. Annales d'Urologie. 41: 127-133.

**Scott J, Tilbrook AJ, Rawson JA & Clarke IJ.** (2000). Gonadal steroid receptors in the regulation of GnRH secretion in farm animals. Anim. Reprod. Sci., 60-61, 313-326.

**Sherwood L.** (2015). Physiologie humaine. 3<sup>ème</sup> édition, De Boeck Supérieurs.a.

**Shin YS, Fink H, Khurova R, Ibebunjo C & Martyn J.** (2000). Prednisolone-induced muscle dysfunction is caused more by atrophy than by altered acetylcholine receptor expression. Anesth. Analg. 91: 322–328.

**Smith D. F, Toft D. O.** (1993). Steroid receptors and their associated proteins. Mol Endocrinol. 7(1):4-11. Review.

**Soler C, Yeung CH & Cooper TG.** (1994). Development of sperm motility patterns in the murine epididymus. Int J Androl; 17, 271-8.

**Stevens A, Lowe J.** (1993). Chap., 17: Appareil génital masculin In: Stevens A. Lowe J. Histologie Paris édition. Pradel : 304-321.

**Stoney CM, Davis MC & Matthews K.** (1987). Sex differences in physiological responses to stress and in coronary heart disease: A causal link? Psychophysiology, 24(2), 127–131. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1987.tb00264.x>.

**Strina A.** (2004). Quelle est la place des glucocorticoïdes dans le traitement du choc chez le chien. Thèse soutenue en vue de l'obtention du grade de Docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Lyon.

**Themmen APN, Huhtaniemi IT.** (2000). Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocr Rev* 21(5): 551-583.

**Thibault C.** (2001). *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Ellipses.

**Thierry M.** (2013). La place des glucocorticoïdes dans la prise en charge thérapeutique des urgences chez le chien et le chat. Etude des urgences cardiovasculaires respiratoires neurologiques hématologiques métaboliques et endocriniennes. Thèse soutenue en vue de l'obtention d'un diplôme de Docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Lyon.

**Tohei A, Tomabechi T, Mamada M, Akai M, Watanabe G & Taya K.** (1997). Effects of repeated ether stress on the hypothalamic-pituitary-testes axis in adult rats with special reference to inhibin secretion. *J Vet Med Sci.* 59(5):329-34.

**Tortora Gerard J, Derrickson B.** (2017). Manuel d'anatomie et de physiologie humaines. 2<sup>ème</sup> édition, De Boeck Supérieur S.A.

**Trésallet C, Peix J-L.** (2016). *Traité de chirurgie endocrinienne*. John Libbey Eurotext, Paris.

**Tsigos C, Chrousos GP.** (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res.* 52, 865-87.

**Uchoa ET, Aguilera G & Herman JP.** (2014). et al. Novel aspects of glucocorticoid actions. *J Neuroendocrinol.* 26: 557-72.

**Valles A, Marti O, Garcia A & Armario A.** (2000). Single exposure to stressors causes long-lasting, stress-dependent reduction of food intake in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279, R1138-1144.

**Wechsler B, Chosidow O.** *Corticoïdes et corticothérapie*. John Libbey Eurotext, 1997, Paris.

**Weinstein SE, Shide DJ & Rolls BJ.** (1997). Changes in food intake in response to stress in men and women: psychological factors. *Appetite* 28: 7-18.

**Welsh TH, Bambino TH & Hsueh AJ.** (1982). Mechanism of glucocorticoid-induced suppression of testicular androgen biosynthesis in vitro. *BiolReprod.* 27(5):1138-46.

**Weikum ER, Knuesel MT, Ortlund EA & Yamamoto KR.** (2017). Glucocorticoid receptor control of transcription: Precision and plasticity via allostery. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology.* 18(3):159-174. DOI: 10.1038/nrm.2016.152.

[www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf](http://www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf)

**Zakrzewska KE, Cusin I, Stricker-Krongrad A, Boss O, Ricquier D, Jeanrenaud B & Rohner-Jeanrenaud F.** (1999). Induction of obesity and hyperleptinemia by central glucocorticoid infusion in the rat. *Diabetes*48: 365–370.

**ZeriouhIlhem F.** (2011). Effet de la consommation du lait de Soja sur l'appareil reproducteur mâle chez la souris Swiss.

<http://www.djamiatic.net/immuno/Chapitre%205.html>. Page consulter le 24/09/2020.

[www.servier.fr](http://www.servier.fr) et Rato et *al.*, 2012.

[www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf](http://www.anat-jg.com/CoursP1/AUG.pdf)

# Annexes

## ANNEXE

### La dissection :

#### 1. Matériels nécessaires :

- Les blouses
- Des gants
- Un bac de dissection
- Papier absorbant
- Une trousse de dissection : un scalpel, une sonde cannelée, plusieurs pinces, un ciseau fin, des aiguilles.

#### 2. Etape de la dissection :

- On à accrocher le rat au bac de dissection au niveau des pattes à l'aide des aiguilles, cette étape facilite le déroulement de la dissection.
- Faire une boutonnière qui est un orifice que l'on fait au-dessus de l'appareil uro-génital, il faut pincer que la peau afin de ne pas endommager les organes.
- Introduire la sonde cannelée au-dessous de la peau afin de découper la peau le long de la cannelure de la sonde en utilisant un ciseau fin.
- Découpage de la peau au niveau des pattes
- Avec une délicatesse la peau est dégagé et accrocher au bac de dissection à l'aide des aiguilles.
- Une deuxième boutonnière a été faite au niveau de la paroi musculaire pour le découpage de la paroi à l'aide d'un ciseau fin en suivant la cannelure de la sonde.
- On accroche parallèlement la paroi au bac de dissection.

Le plasma récupéré par la centrifugation du sang (recueilli dans des tubes héparines et à EDTA après le sacrifice des rats) est stocké à -20°C pour la raison du dosage hormonale.

Les organes ont été prélevés, pesaient puis fixés au formol à 10% pour l'étude histologique et structurale.

### Spermogramme :

#### Matériels et réactifs utilisé pour le spermogramme :

- Etuve 37°

- Microscope photoniques.
- Papier Johnson.
- Eprouvette graduée de 10 ml.
- Tube à hémolyse de 5 ml.
- Micropipette 100,1000 ul.
- Embouts de micropipettes 100,1000 ul.
- Lame en verre.
- Lamelles couvre objets en verre (22x32mm).
- Cellules de malassez.
- Papier PH réactif colorimétrique.
- Tubes eppendorf.
- 2 paniers portes lames.
- Solution tampon phosphate.
- Solution de ringerformelé.
- Solution triton X100.
- Solution de Geimsa.
- Hank's solution.
- Solution d'éosine Y1%.
- Solution de Nigrosine à 10%.
- Bacs à coloration.

#### Préparation des solutions :

**Solution de Hank's** : pour mobilité.

- Nacl : 2g
- Cacl<sub>2</sub> :0,035g
- Kcl : 0,1g
- NaHco<sub>3</sub> : 0,0875g
- Glucose : 0,25g
- NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 0,025g.
- MgCl<sub>2</sub> :0,025g
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O :0,015g
- MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O :0,015g
- Eau distillé : 250ml.

**Solution triton X100** : pour comptage

- Nacl 9g
- Eau distillée 100ml
- Triton X100 50ul

Agiter pendant 1h.

**Solution pour la vitalité :**

- Solution d'éosine Y1%.
- Solution de Nigrosine à 10%.

Préparer dans l'eau physiologique puis filtrés.

**Comparaison des tests de comportement avant et après le traitement :**

- Test de labyrinthe en croix surélevée avant et après le traitement

paramètre	T. BO	T. BF	N. BO	N. BF	T. Centre	N. Centre	Défécation
Témoin 1	240	0	0	1	0	0	4
	7	0	0	3	293	0	0
Témoin 2	13	283	1	1	4	1	2
	0	300	0	1	0	0	0
Témoin 3	0	269	0	5	30	4	0
	0	294	0	4	6	3	0
Témoin 5	/	/	/	/	/	/	/
	0	292	0	2	8	1	2
Traité 1	14	278	1	2	8	2	4
	0	297	0	3	3	2	0
Traité 2	4	279	1	5	12	5	0
	296	0	1	0	4	0	1
Traité 4	22	259	1	3	18	3	0
	0	268	0	1	32	0	0
Traité 5	0	280	0	1	19	0	0
	0	236	0	1	64	0	0

-Test de l'Open Field avant et après traitement

Paramètre	T. PP	T. PC	N. PP	N. PC	Défécation	Redressement
Témoin 1	298	2	1	0	0	11
	287	13	1	0	0	2
Témoin 2	298	26	1	1	6	19
	294	6	1	0	2	2
Témoin 3	288	12	5	4	2	30
	300	0	1	0	6	13
Témoin 4	/	/	/	/	/	/
	300	0	1	0	1	23
Traité 1	242	8	4	3	3	27
	296	4	3	2	0	11
Traité 2	298	2	1	0	4	16
	297	3	1	0	3	2
Traité 3	268	32	5	4	7	11
	289	11	4	3	7	11
Traité 4	296	4	2	1	7	12
	298	2	1	0	4	0