

N° d'ordre : 24/2011-M/S.N

REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENNE

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de **MAGISTER**

Spécialité : **Physiologie et Physiopathologie Endocrinienne et Métabolique**

Par : **M^{me} SAID-DAHMANI Souhila**

Sujet

**EFFETS DES HORMONES THYROIDIENNES SUR LE
DEVELOPPEMENT DU TESTICULE CHEZ LE RAT WISTAR : ETUDE
BIOLOGIQUE ET HISTOLOGIQUE**

Soutenu publiquement le 17 Mars 2011 devant le jury composé de :

M^{me} F. HADJ BEKKOUCHE, Professeur, à l'USTHBPrésidente

M^{me} Z. HAMOULI-SAID, Maître de conférences/A, à l'USTHB.....Directrice de thèse

M^{me} S. AOUICHAT-BOUGUERRA, Professeur, à l'USTHB.....Examinatrice

M^{me} M. KHALDOUN, Maître de conférences/A, à l'USTHB..... Examinatrice

Mr Y. SOLTANI, Maître de conférences/A, à l'USTHB.....Examinateur

Remerciements

Au terme de cette thèse je tiens à remercier vivement :

Mme HAMOULI qui m'a encadré, dirigé, conseillé pour la réalisation de ce travail, je la remercie pour son précieux savoir, sa grande patience et compréhension, son esprit communicatif, sa générosité, et sa modesté.

C'est avec un grand honneur que je remercie Mme HADJ BEKKOUCHÉ qui a accepté de présider ce jury, qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.

Je remercie Mme AOUICHET qui a accepté de juger ce travail, je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude.

Je remercie Mr SOLTANI d'avoir accepté de juger ce travail, qu'il trouve ici ma sincère reconnaissance.

Je tiens à exprimer mes remerciements à Mme KHALDOUN d'avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens également à adresser mes remerciements aux personnes qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail :

Mr. AREZKI, Mr. MOULOUD, Mr. AREZKI, « animalerie de l'USTHB ».

Mr. CHENAF, « FSB »

Mr. AMALOU « service d'endocrinologie du CHU Bologhine ».

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

- ❖ *Ma très chère mère l'exemple d'amour et de tendresse, je la remercie pour son encouragement et son aide.*
- ❖ *A la mémoire de mon père.*
- ❖ *A mon mari qui m'a beaucoup aidé, et ma princesse Nada.*
- ❖ *A mes frères et sœurs, mes beaux frères et belles sœurs, mes neveux et nièces.*
- ❖ *A mon beau père, ma belle mère et belle famille.*

Liste des abréviations

AMH : Anti-Mullerian Hormone

DIT : Diiodothyronine

IGF : Insulin-like Growth Factor

MCT10 : Monocarboxylate transporteur 10

MCT8 : Monocarboxylate transporteur 8

MIT : Monoiodothyronine

MMI : Méthimazole

NGF : Nerve Growth Factor

OATP1C1 : Organic anion transporting polypeptid 1C1

PC : Poids corporel

PDGF : Platelet Derived Growth Factor

Tg : Thyroglobuline

TNF α : Tumor Necrosis Factor α

TR : Thyroid hormone receptor

TRE : Thyroid hormone Response Element

UCP : Uncoupling Protein

Sommaire

| | |
|---------------------------|----|
| Introduction ----- | 01 |
|---------------------------|----|

Chapitre I : Rappels bibliographiques

| | |
|---|----|
| A- La thyroïde ----- | 02 |
| 1- Structure----- | 02 |
| 2- Biosynthèse des hormones thyroïdiennes----- | 02 |
| 3- Transport des hormones thyroïdiennes----- | 04 |
| 4- Transport membranaire et biodisponibilité cellulaire des hormones thyroïdiennes----- | 04 |
| 5- Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes----- | 04 |
| 6- Régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes----- | 06 |
| 6-1- Le système hypothalamo-hypophysaire----- | 06 |
| 6-2- Effet Wolff-Chaikoff----- | 07 |
| 7- Actions physiologiques des hormones thyroïdiennes----- | 07 |
| 7-1- Actions sur le métabolisme basal et intermédiaire----- | 07 |
| 7-2- Actions sur le développement embryonnaire, post natal et durant l'enfance----- | 07 |
| B - Le testicule ----- | 10 |
| 1- Structure----- | 10 |
| 1-1 Les tubes séminifères----- | 10 |
| 1-1-1 Les cellules de Sertoli----- | 10 |
| 1-1-2 Les cellules germinales----- | 12 |
| 1-2 Le tissu interstitiel----- | 12 |
| 2- Biosynthèse des androgènes testiculaires----- | 12 |
| 3- Régulation de la fonction testiculaire----- | 16 |
| 3-1 L'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire----- | 16 |
| 3-2 Régulation paracrine et autocrine----- | 17 |
| C-Effets des hormones thyroïdiennes sur la fonction testiculaire ----- | 20 |

Chapitre II : Matériels et méthodes

| | |
|-----------------------------|----|
| A- Matériel ----- | 21 |
| 1- Matériel biologique----- | 21 |

| | |
|--|----|
| 1-1 Animaux et traitement----- | 21 |
| 1-2 Prélèvement----- | 21 |
| 2- Produits et réactifs ----- | 22 |
| 2-1 Traitement----- | 22 |
| 2-2 Histologie----- | 22 |
| 3-3 Dosages hormonaux----- | 22 |
| B- Méthodes ----- | 22 |
| 1- Histologie----- | 22 |
| 2- Dosages radioimmunologiques----- | 25 |
| 2-1 Dosage de la triiodothyronine libre (FT3)----- | 25 |
| 2-2 Dosage de la thyroxine libre (FT4)----- | 25 |
| 2-3 Dosage de la testostérone----- | 25 |
| 2-4 Caractéristiques du dosage----- | 28 |
| C- Etude statistique ----- | 29 |

Chapitre III : Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| A – Résultats ----- | 30 |
| I- Données pondérales----- | 30 |
| 1- Variations du poids corporel----- | 30 |
| 2- Variations des poids testiculaires----- | 33 |
| II- Histologie----- | 37 |
| 1- Etude structurale de la thyroïde----- | 37 |
| 1-1 Structure de la thyroïde des rates allaitantes en fin et après traitement--- | 37 |
| 1-2 Structure de la thyroïde des rats à différents âges----- | 44 |
| 2- Etude structurale du testicule----- | 51 |
| III- Taux hormonaux plasmatiques----- | 64 |
| 1- Variations des taux plasmatiques des hormones thyroïdiennes libres----- | 64 |
| 2- Variations des taux plasmatiques de la testostérone----- | 68 |
| B- Interprétation des résultats et discussion ----- | 72 |
| 1- Induction de l'hyperthyroïdie----- | 72 |
| 2- Variations des poids corporels et testiculaires----- | 72 |
| 3- Variation du taux plasmatique de testostérone----- | 74 |

| | |
|---|-----------|
| 4- Modifications structurales et morphométriques----- | 74 |
| Conclusion et perspectives----- | 76 |
| Références bibliographiques----- | 77 |
| Annexes | |

INTRODUCTION

Les hormones thyroïdiennes exercent plusieurs effets sur différents tissus de l'organisme. Les actions les plus connues sont celles exercées sur la croissance au niveau de l'organisme et sur l'activation du métabolisme énergétique par stimulation des enzymes et des UCPs au niveau cellulaire.

Plusieurs travaux ont porté sur les effets des hormones thyroïdiennes sur la fonction de différents organes et tissus tels que le tissu nerveux, musculaire et osseux. L'intérêt pour l'étude des effets de ces hormones sur la gonade a été plus tardif et plusieurs stratégies expérimentales *in vivo* et *in vitro* ont été adoptées. Ainsi, Cooke et Meisami (1991), Van Haaster et coll. (1992), Cooke et coll. (1993) et Hamouli-Said et coll. (2007) rapportent l'atteinte de la fonction gonadique chez le mâle suite à une hypothyroïdie induite avec différentes doses d'antithyroïdiens de synthèse et à différents âges chez le rat Wistar. Alors que les répercussions d'une déficience en hormones thyroïdiennes sur la gonade mâle rapportées par la bibliographie restent globalement similaires, les résultats de celle observée suite à l'administration de ces hormones à des rats restent controversés. En effet, Ariyaratne et coll. (2000) rapportent une diminution du poids corporel et testiculaire suite à l'injection quotidienne de T3, alors que Jannini et coll. (2008) observent, après traitement des rats nouveau-nés par T3, une augmentation de la taille des testicules.

Le travail de cette thèse réalisée au sein de l'équipe d'Endocrinologie du Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes (LBPO) de la Faculté des Sciences Biologiques, rentre dans le cadre de l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires des effets d'hormones sur d'autres glandes à activité endocrine. L'intérêt de notre étude est la connaissance des facteurs susceptibles de moduler la fonction de reproduction. De ce fait, l'objectif que nous nous sommes fixé est de déterminer les effets d'une hyperthyroïdie induite par administration par voie orale à des mères allaitantes de deux doses de Lévothyroxé (10µg et 20µg/100g de poids corporel), pendant la vie néonatale, sur la fonction testiculaire chez le rat Wistar parvenu à l'âge de 20,40 et 60 jours.

Notre travail a consisté à une recherche bibliographique sur les fonctions thyroïdiennes et testiculaires et leurs régulations, et une partie pratique avec :

- Réalisation de coupes histologiques de la thyroïde et du testicule
- Etude morphométrique du testicule
- Radioimmunos dosage des hormones thyroïdiennes FT3 et FT4, et de la testostérone plasmatiques.

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

A- THYROÏDE

1- STRUCTURE :

Située à la face antérieure du cou, la glande thyroïde est formée de deux lobes réunis par l'isthme. Elle est formée de deux types cellulaires d'origine embryologique différente :

- Les thyrocytes d'origine endodermique, organisés en monocouche entourant une masse visqueuse centrale ou colloïde contenant principalement une glycoprotéine iodée, la thyroglobuline (Tg). L'ensemble du colloïde et de l'assise cellulaire constitue le follicule thyroïdien dont l'aspect représente l'état fonctionnel de la thyroïde. Une glande en activité est constituée de follicules présentant de nombreuses vésicules de résorption et de cellules hautes. Une thyroïde au repos est, par contre, constituée de cellules aplaties et d'une région centrale importante.

- Les cellules parafolliculaires ou cellules C, d'origine neuroectodermique, sont responsables de la production de calcitonine, hormone impliquée dans le métabolisme phosphocalcique.

2- BIOSYNTHESE DES HORMONES THYROÏDIENNES :

Les hormones thyroïdiennes sont des dérivés d'acides aminés iodés circulant liés à des protéines plasmatiques et stockés dans la thyroglobuline (Tg) au niveau du colloïde. La biosynthèse des hormones thyroïdiennes comprend les étapes suivantes :

- Captation de l'iode sous forme d'iodure par un mécanisme de transport actif couplé à celui d'ions Na^+ dont l'activité est étroitement associée à celle de l'ATPase Na^+/K^+ .
- Synthèse de la thyroglobuline au niveau du réticulum endoplasmique granuleux et son exocytose dans le colloïde.
- Oxydation de l'iodure et l'iodation de la thyroglobuline par une enzyme, la peroxydase en présence de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Brook et Marshall, 1998).
- Iodation des résidus tyrosyls de la thyroglobuline qui fait apparaître des groupements monoiodotyrosyls ou diiodotyrosyls, la peroxydase permet le couplage de ces groupements (DIT) pour donner un radical T_4 fixé à la protéine sur laquelle subsiste un radical tronqué de déhydroalanine.
- Internalisation de la Tg par endocytose à récepteurs (Bernier-Valentin et coll., 1991) suivie d'un transfert vers les lysosomes.
- Hydrolyse de la Tg dans le lysosome, libération de résidus iodés (DIT, MIT, T_4 et T_3) et sécrétion des hormones thyroïdiennes par le pôle baso-latéral du thyrocyte (Figure 1).

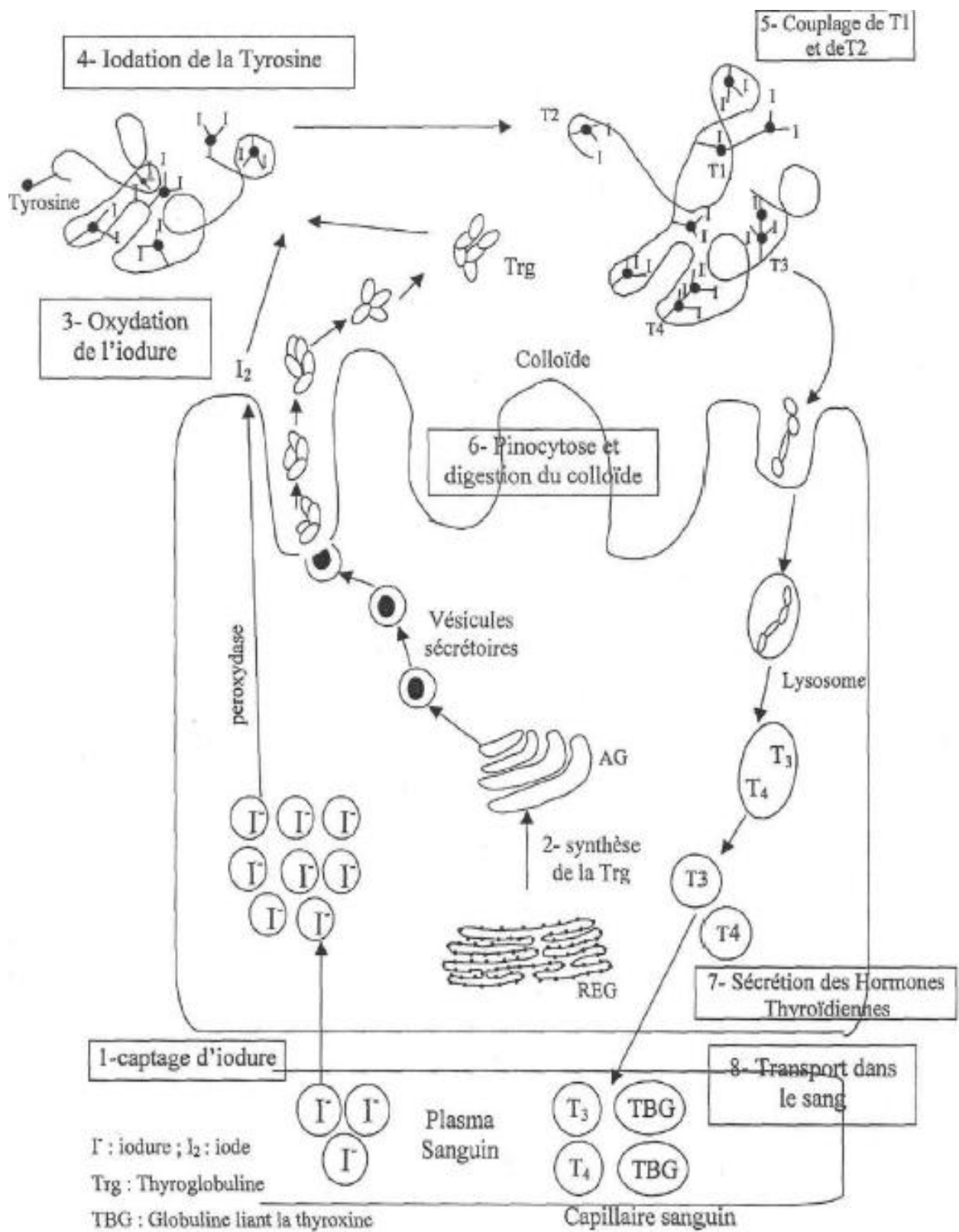


Figure 1 : Etapes de la synthèse des hormones thyroïdiennes (Tortora et coll., 1998)

3- TRANSPORT DES HORMONES THYROÏDIENNES :

La T_3 et T_4 circulent dans le sang liées à des protéines de transport, principalement à la TBG ou Thyroxine Binding Globulin et accessoirement à la préalbumine et l'albumine (Brook et Marshall, 1998).

4- TRANSPORT MEMBRANAIRE ET BIODISPONIBILITE CELLULAIRE DES HORMONES THYROÏDIENNES :

L'action et la biotransformation des hormones thyroïdiennes nécessitent leur transport à travers les membranes cellulaires par des protéines de transport. Différents transporteurs spécifiques des hormones thyroïdiennes ont été identifiés tels que le OATP1C1 (Sugiyama et coll., 2003), le MCT8 et MCT10 (Friesema et coll., 2003 et 2009). Si l'expression des MCT est largement retrouvée dans différents types cellulaires, celle de l'OATP1C1 est plutôt limitée à des zones spécifiques du cerveau et aux testicules (Friesema et coll., 2009). Ce transport contribue à réguler la disponibilité cellulaire des hormones thyroïdiennes. Dans le milieu intracellulaire, l'action de 3 enzymes, permet également de modifier la concentration en hormone bioactive ou T_3 (Figure 2). Ces enzymes ou désiodases sont des sélénoprotéines à localisation sub-cellulaire et action différentes :

La désiodase de type 1(D1), localisée dans la membrane plasmique (Baqui et coll., 2000), convertit le précurseur T_4 en hormone active, T_3 (Dumitrescu et Refettof, 2007), au niveau tissulaire, elle se localise dans le foie, le rein et la thyroïde (Visser 2003).

La désiodase de type 2 (D2), située dans le réticulum endoplasmique (Baqui et coll., 2000), permet de fournir rapidement de la T_3 à même d'activer les récepteurs nucléaires. Comme la D1, elle convertit le précurseur T_4 en hormone active (Dumitrescu et Refettof, 2007), au niveau tissulaire elle est localisé dans l'hypophyse, le muscle squelettique, le cœur, et la thyroïde de l'homme (Visser 2003).

La désiodase de type 3 (D3) est située dans la membrane plasmique (Baqui et coll., 2000), c'est le principal inactivateur de T_4 et T_3 à leurs métabolites respectifs rT_3 et T_2 (Dumitrescu et Refettof, 2007), au niveau tissulaire elle est localisé dans le cerveau, l'hypophyse, le muscle squelettique, le cœur, et la thyroïde de l'homme (Visser 2003).

5- MECANISMES D'ACTION DES HORMONES THYROÏDIENNES :

Les récepteurs aux hormones thyroïdiennes appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires (récepteurs aux hormones thyroïdiennes, hormones stéroïdes, vitamine D, rétinoïdes et récepteurs orphelins). Les séquences de ces différents récepteurs présentent de nombreuses homologies et sont organisées en cinq domaines distincts (Figure 3A) :

Domaine **A/B** : au niveau de l'extrémité N terminale a un rôle dans l'activation du récepteur.

Domaine **C** : constitue le domaine de fixation à l'ADN.

Domaine **E** : organisée en poche hydrophobe où se fixe l'hormone.

Domaine **F** : responsable de la régulation du catabolisme ou protéolyse.

Domaine **D** : située entre les domaines C et E constitue un segment charnière flexible.

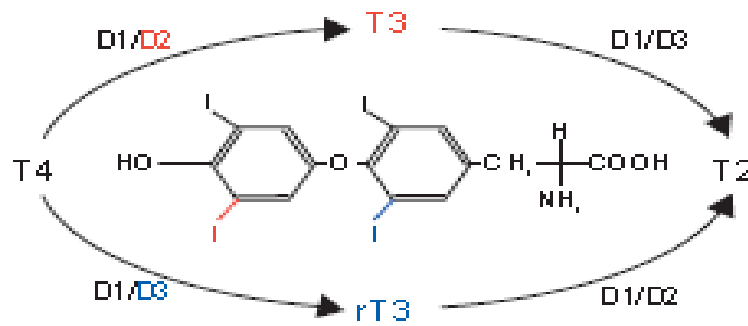


Figure 2 : Métabolisme des hormones thyroïdiennes (Herwig et coll., 2008)

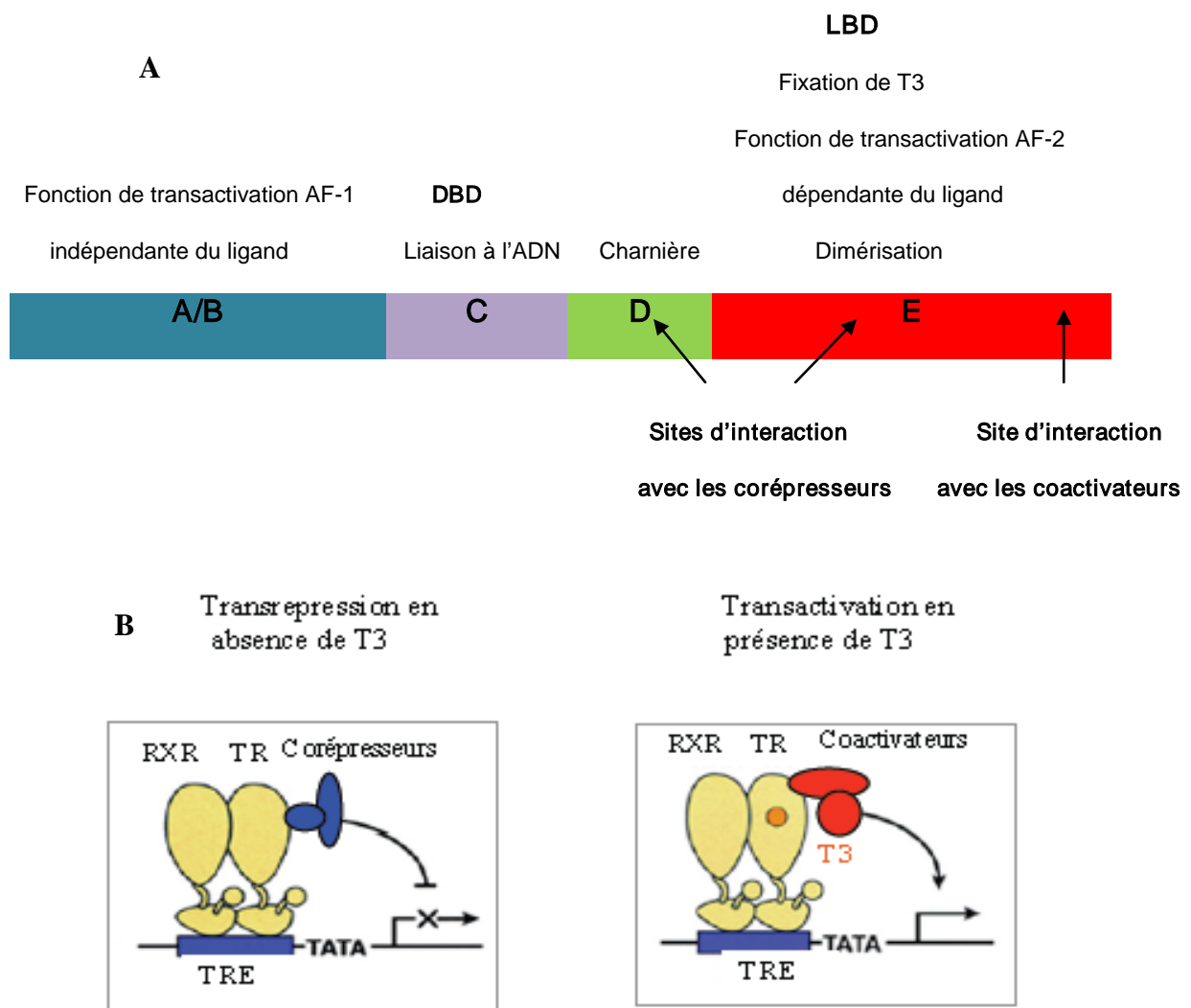


Figure 3 : Organisation générale (A) et mécanisme d'action des RHT (B) (Yen, 2001 ; Glass et Rosenfeld., 2000)

AF : Fonction activatrice ; DBD : Domaine de liaison à l'ADN ; LBD : Domaine de liaison du ligand ; TR : Récepteur de T3 ; TRE : Elément de réponse à T3 ; RXR : Récepteur de l'acide rétinoïque

La fixation du ligand sur le récepteur permet un changement de conformation de ce dernier, la formation d'hétérodimères avec le récepteur à l'acide rétinoïque, une activation du complexe et son interaction avec l'ADN au niveau d'une région spécifique ou TRE. Il s'ensuit un recrutement de coactivateurs et l'activation de l'expression de gènes spécifiques. En absence de T₃, TR interagit avec des corépresseurs et réprime l'expression des gènes cibles (Figure 3B).

Il existe deux gènes, *THRA* et *THRB*, qui codent pour neuf isoformes du récepteur (TR) chez la souris (Flamant et coll., 2006; Casas et coll., 2000), dont trois sont des récepteurs fonctionnels : TR α 1, TR β 1, TR β 2 ; l'isoforme TR β 3 et son homologue tronquée TR $\Delta\beta$ 3 étant spécifiques du rat (Yen, 2001). Les récepteurs TR β sont notamment impliqués dans le rétrocontrôle négatif exercé par T₃ et T₄ sur l'expression des sous-unités α et β de la TSH (Forrest et coll., 1996). Plus récemment une autre isoforme (TR $\Delta\alpha$ 6) qui ne lie pas l'ADN a été identifiée et aurait un rôle antagoniste (Casas et coll., 2006). Enfin, deux protéines à localisation mitochondriale sont codées par *THRA*: p28 et p43, par traduction de l'ARN de TR α 1 à partir de codons initiateurs internes. Seule la p43 possède un domaine de liaison à l'ADN, elle régulerait la transcription du génome mitochondrial (Wrutniak et Cabello, 1996).

Les TR sont exprimés de façon précoce au cours du développement embryonnaire : TR α 1 est exprimé dès la dixième semaine de gestation chez l'homme (Bernal and Pekonen, 1984) et dès 14,5 jours de vie embryonnaire chez le rat (Morreale de Escobar et coll., 1985). L'expression de *THRA* est pratiquement ubiquitaire, TR α 1 et TR α 2 sont notamment fortement exprimés dans le tissu adipeux, muscle, cerveau et cœur, alors que l'expression de *THRB* est plus restreinte, notamment dans le foie où TR β 1 est l'isoforme prédominante et le rein (Yen, 2001).

6- REGULATION DE LA SECRETION DES HORMONES THYROÏDIENNES:

6-1- LE SYSTEME HYPOTHALAMO-HYPOPHYSIAIRE :

L'activité de la glande thyroïde est contrôlée par la TSH de l'hypophyse antérieure; elle même soumise à la sécrétion de la « Thyroïde Releasing Hormone » (TRH).

La TSH stimule l'activité thyroïdienne après liaison sur son récepteur membranaire, glycoprotéine de 764 acides aminés et d'environ 100 kDa. Sa structure est commune à tous les récepteurs couplés aux protéines G avec 7 hélices transmembranaires (Vassart et coll., 1990). Par son action sur le système adénylate cyclase, la TSH active la cellule thyroïdienne à différents niveaux :

- Contrôle de la différenciation et de l'organisation structurale des follicules.
- Activation de l'apport de l'iodure au niveau cellulaire.
- Stimulation de la synthèse protéique notamment celle de la thyroglobuline (Brook et Marshall, 1998).
- Iodation de la thyroglobuline et sécrétion des hormones thyroïdiennes.
- Internalisation de la Tg par des vésicules recouvertes (Bernier- Valentin et coll. 1991; Koustrouch et coll., 1991)
- Stimulation de la synthèse d'ADN bien que très peu de mitose apparaissent dans la thyroïde adulte in vivo (Brook et Marshall, 1998).

6-2- Effet WOLFF-CHAIKOFF :

Une élévation importante de l'iodure plasmatique entraîne une inhibition de l'organification de l'iode et une diminution de la synthèse des hormones thyroïdiennes (Wolff et Chaikoff, 1948).

7- ACTIONS PHYSIOLOGIQUES DES HORMONES THYROÏDIENNES

7-1- Actions sur le métabolisme basal et intermédiaire :

Depuis de nombreuses années, les hormones thyroïdiennes sont connues pour augmenter la consommation d'oxygène dans tous les tissus à l'exception de la rate et du testicule chez le rat adulte (Barker et Klittgard, 1952). Leurs effets s'exercent sur le métabolisme basal qui correspond à la thermogénèse dite obligatoire, elles stimulent la production d'énergie aussi bien au repos, que durant l'exercice musculaire. La synthèse des UCPs, protéines découplantes ou thermogénines mitochondriales, en réponse au froid et elle est réduite chez l'animal hypothyroïdien, elle est restaurée par l'apport de T4 (Leclere et coll., 1991). D'autre part, elles sont essentielles à la thermogénèse facultative générée par des mécanismes spécialisés dans le but de maintenir la température du corps (Silva, 2006 ; Kim, 2008).

Les hormones thyroïdiennes augmentent la synthèse protéique puisque plus de 5% des gènes exprimés dans le foie sont régulés par les hormones thyroïdiennes (Feng et coll., 2000 ; Flores-Morales et coll., 2002).

Leur action sur le métabolisme glucidique s'exerce par stimulation de l'absorption intestinale du glucose et la gluconéogenèse hépatique (Leclere et coll., 1991). Au niveau du muscle, elles affectent particulièrement le métabolisme du glucose musculaire, en augmentant la glycolyse et en doublant la quantité du transporteur du glucose insulino-dépendant ou GLUT 4 à la surface cellulaire (Leijendekker et coll., 1987).

Dans le tissu adipeux elles stimulent la lipolyse et la lipogénèse simultanément (Mittag, 2009).

7-2- Actions sur le développement embryonnaire, post natal et durant l'enfance :

• Développement embryonnaire :

Les hormones thyroïdiennes maternelles agissent sur le développement du fœtus. Ainsi, le nombre des fœtus issus de rates thyroïdectomisées, ainsi que le poids de leurs organes diminuent ; de même, le poids corporel des fœtus évolue peu lorsque la mère est traitée par le MMI durant la gestation (Morreale de Escobar et coll., 1989). Des auteurs attestent que les iodothyronines maternelles imprègnent les tissus fœtaux dès le début de la gestation (Morreale de Escobar et coll., 1989; Muller et Clos, 1997). En effet, la perfusion des rates gestantes traitées par le MMI, par T₃ et T₄ restaure les taux hormonaux chez la mère et le fœtus (Morreale de Escobar et coll., 1989). L'implication des hormones thyroïdiennes dans la croissance fœtale semble différente suivant les étapes de la vie embryonnaire :

1^{ère} étape : pendant laquelle les iodothyronines n'ont aucun rôle, la croissance étant contrôlée uniquement par les gènes. Cette étape s'étalerait du 1^{er} jour au 14^{ème} jour chez

le rat (Morreale de Escobar et coll., 1989) et jusqu'à la 11^{ème} semaine chez l'Homme (Beaulieu et coll., 1978).

2^{ème} étape : durant laquelle les hormones thyroïdiennes de la mère traversent le placenta et assurent la croissance. La T₄ est, en effet, détectable à la 11^{ème} semaine chez le fœtus humain (Beaulieu et coll., 1978). Cet approvisionnement en hormones thyroïdiennes persiste en cas de déficience fœtale.

3^{ème} étape : la thyroïde fœtale devient fonctionnelle et secrète des hormones nécessaires au développement prénatal. Un traitement des rates gestantes de souches Wistar du 14^{ème} au 21^{ème} jour de la gestation par du MMI (0,02%) fait diminuer d'une façon significative les taux de T₃ et T₄ chez la mère, au niveau du placenta et du plasma et les organes du fœtus. Une perfusion de T₄ chez un 2^{ème} lot de rates hypothyroïdiennes entraîne une augmentation des taux des iodothyronines dans les échantillons maternels (plasma, foie, cerveau), les valeurs obtenues sont équivalentes et quelque fois plus faibles que celles des contrôles, dans le placenta et les échantillons fœtaux (plasma, foie et cerveau). La perfusion par T₃ élève uniquement les concentrations de T₃ dans tous les échantillons (Morreale de Escobar et coll., 1989). Ces résultats suggèrent que les hormones thyroïdiennes sont transférées à travers le placenta, le MMI bloquant la thyroïde de la mère et celle du fœtus lorsqu'elle devient fonctionnelle.

L'effet des hormones thyroïdiennes sur le développement du cortex cérébral a été largement démontré par des expériences *in vivo* et *in vitro*. Ainsi, l'insuffisance débutant, pendant la vie embryonnaire ou à la naissance, aboutit à la conservation des caractères infantiles du cerveau, à une hypotrophie des neurones corticaux avec une réduction du nombre des axones et des dendrites, à un retard de myélinisation et à une diminution de vascularisation (Beaulieu et coll., 1978). En fait, le développement du cerveau du fœtus dépend de la conversion de T₄ en T₃ et de la concentration de T₃ intracellulaire active obtenue grâce à l'action de la 5' désiodase type D2 (Morreale de Escobar et coll., 1989). Le plexus choroïde jouerait un rôle dans l'accumulation de T₄ dans le cerveau et l'approvisionnement du cerveau en hormone active ou T₃ (Dickson et coll., 1987).

Des expériences *in vitro* sur des cellules nerveuses en culture (oligodendrocytes, astrocytes, neuroblastes) ont montré que les hormones thyroïdiennes jouent un rôle de commutateur en inhibant la prolifération cellulaire induite par des facteurs de croissance (NGF, NT-3, IGF ou PDGF...) et en induisant la différenciation cellulaire. L'induction de la différenciation se fait essentiellement par le biais de l'isoforme $\beta 1$ du récepteur TR, la T₃ stimulant fortement la production de cette isoforme aussi bien au niveau transcriptionnel que post-transcriptionnel (Lebel et coll., 1993).

- **Développement post natal :**

De concert avec la GH et l'insuline, les hormones thyroïdiennes accélèrent la croissance corporelle et le développement du tissu nerveux. Un déficit hormonal thyroïdien durant la période néonatale provoque des altérations histologiques au niveau du cortex cérébral

comprenant un retard de croissance des dendrites des cellules pyramidales et une diminution de la densité du réseau axonal.

D'autres effets des hormones thyroïdiennes durant le jeune âge ont été mis en évidence notamment au niveau du muscle. En effet, une carence en hormones thyroïdiennes induite chez le jeune rat affecte le développement, et la composition du tissu musculaire squelettique, l'effet le plus marqué est une nette réduction du contenu en myosine (Leclere et coll., 1991).

D'autre part, les hormones thyroïdiennes favorisent la maturation du cartilage et le processus d'ossification. Elles agissent par stimulation de la sécrétion hypophysaire de l'hormone de croissance et de la production hépatique de Somatomédine C, en potentialisant l'effet de cette dernière au niveau du cartilage et en favorisant la maturation des chondrocytes (Burch et Van Wykj, 1987; Ikeda et coll., 1991).

B- LE TESTICULE

1-STRUCTURE :

Les testicules situés dans le scrotum sont deux glandes recouvertes d'une double enveloppe : la tunique vaginale de nature séreuse à l'extérieur et l'albuginée de nature fibreuse à l'intérieur. Le testicule est divisé en lobules (100 à 300) constitués de tubes séminifères étroitement enroulés et entourés d'un tissu interstitiel contenant les cellules de Leydig. Le testicule a une double fonction :

- **Exocrine** : par transformation des cellules reproductrices en gamètes à partir des cellules souches de la lignée germinale ou spermatogenèse suivant une orientation centrifuge dans le tube séminifère.

- **Endocrine** : par sécrétion dans les vaisseaux sanguins des stéroïdes sexuels principalement la testostérone par les cellules de Leydig du tissu interstitiel.

1-1 Les tubes séminifères : contiennent les cellules de Sertoli et les cellules germinales.

1-1-1 Les cellules de Sertoli :

Localisées sur la lame basale des tubes séminifères, ces cellules assurent un rôle nourricier, protecteur et régulateur vis-à-vis des cellules germinales. Ces cellules continuent à proliférer puis se différencient en début de la puberté, elles régulent dès lors le flux de nutriments et de facteurs de croissance pour les cellules germinales grâce à des jonctions serrées entre les cellules adjacentes de l'épithélium séminifère constituant la barrière hémato-testiculaire (Petersen et Soder, 2006) (Figure 4).

Plusieurs modifications structurales et biochimiques caractérisent la maturation des cellules de Sertoli. En effet, la structure du cordon séminifère diffère de celle du tube séminifère mature par la présence de cellules de Sertoli, de cellules péritubulaires et de cellules germinales souches ou spermatogonies dans les premiers et de cellules germinales en division en association étroite avec les cellules nourricières dans les seconds. D'autre part, les cordons séminifères sont solides et dépourvus de toute lumière, et à l'approche de la puberté, les cellules de Sertoli s'allongent, les jonctions serrées s'établissent entre elles et du liquide séminifère est produit, ce qui entraîne la transformation des cordons séminifères en tubules séminifères possédant une lumière.

La différenciation des cellules de Sertoli modifie l'expression d'un certain nombre de gènes codant pour divers facteurs protéiques (Petersen et Soder, 2006) (Tableau I).

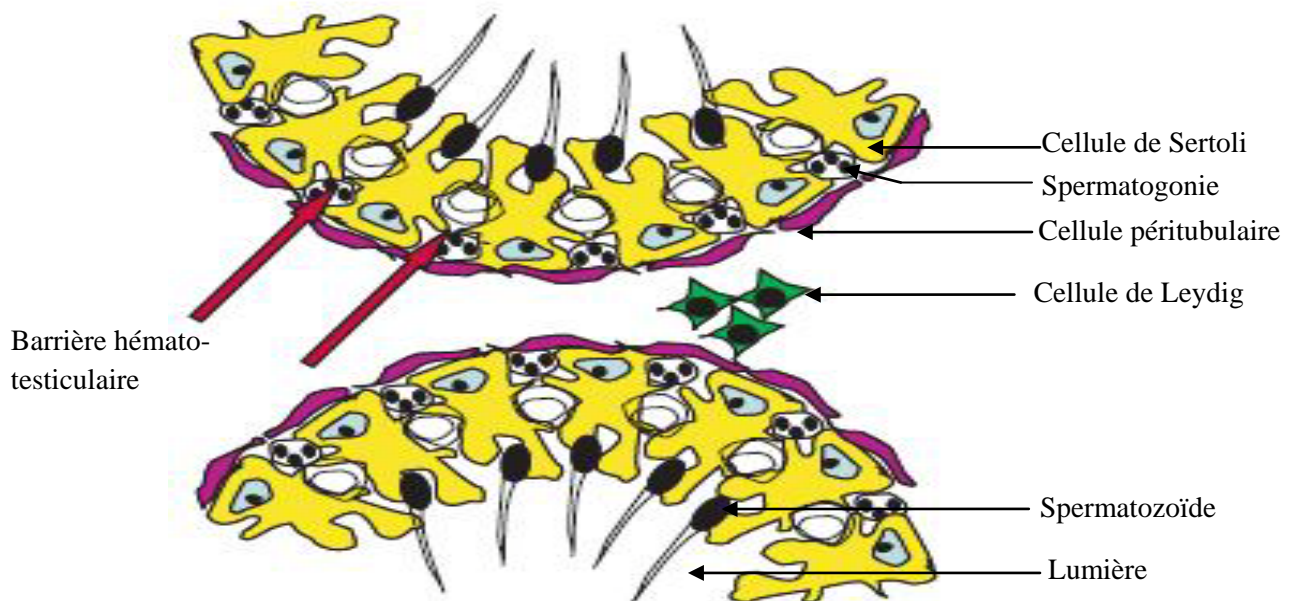


Figure 4: Illustration schématique de la morphologie testiculaire (Petersen et Soder, 2006)

Tableau I: Modifications de l'expression de gènes codant pour quelques protéines exprimées par les cellules de Sertoli au cours de la maturation (Petersen et Soder, 2006)

| Protéine | Cellules immatures | Cellules matures |
|--------------------------|--------------------|------------------|
| Cytokératine | + | - |
| Transferrine | - | + |
| Interleukine 1- α | - | + |
| Récepteur des androgènes | (+) | + |
| Hormone anti Müller | + | - |
| Aromatase | + | - |
| Inhibine β | + | - |

1-1-2 Les cellules germinales :

Au cours de la spermatogénèse, les cellules germinales en voie de différenciation occupent toute l'épaisseur de l'épithélium séminifère et se déplacent entre les cellules de Sertoli adjacentes en direction de la lumière. La spermatogénèse peut être répartie en deux étapes successives :

- La spermatocytogénèse : correspondant aux modifications cytologiques permettant d'aboutir à des spermatocytes secondaires puis à des spermatides à partir de spermatogonies. Ces modifications comprennent une étape de division des cellules souches ou spermatogonies A permettant d'assurer le renouvellement de ces cellules et une différenciation de certaines spermatogonies A en spermatogonies B à l'origine des spermatocytes. La deuxième étape de cette phase est une étape méiotique permettant d'obtenir, à partir des spermatocytes I, des spermatocytes II puis de jeunes spermatides par deux divisions successives :

- ✓ **Une division réductionnelle** longue permettant d'obtenir deux spermatocytes II à n chromosomes et deux quantités d'ADN.
- ✓ **Une division équationnelle** courte aboutissant à quatre spermatides rondes à n chromosomes et une quantité d'ADN.

- La spermiogénèse : elle comprend la différenciation des spermatides rondes en spermatozoïdes allongés par modification structurale et morphologique comprenant une réorganisation du noyau, développement de l'acrosome, et du flagelle et l'élimination du surplus de cytoplasme sous forme de corps résiduel phagocyté par la cellule de Sertoli (Figure 5).

1-2- Le tissu interstitiel : De nature conjonctive, le tissu interstitiel est vascularisé et composé essentiellement de cellules de Leydig de forme polygonale, riches en REL et mitochondries. Ces cellules secrètent des androgènes responsables de la différenciation embryonnaire du tractus génital mâle, de l'apparition des caractères sexuels secondaires. L'activité des cellules de Leydig est sous le contrôle de la LH antéhypophysaire, la FSH agit sur les cellules de Sertoli en provoquant la synthèse d'une protéine ABP (androgen binding protein), qui transportent les androgènes, ces dernières sont essentielles pour le maintien de la spermatogénèse.

2- BIOSYNTHESE DES ANDROGENES TESTICULAIRES :

Les androgènes sont synthétisés soit à partir de l'acétyl CoA, voie régulée grâce à la HMGCoA réductase, soit à partir des réserves d'esters de cholestérol des gouttelettes lipidiques du cytoplasme. Le cholestérol est converti en prégnénolone par un système enzymatique cytochrome P450sc mitochondrial. La prégnénolone est transformée, par la suite, suivant deux voies (Beaulieu et coll., 1978; Thibault et Levasseur, 1991) :

- Une voie principale faisant intervenir une réductase et permettant d'obtenir la progestérone. Les cytochromes P450 $\alpha 7$ hydroxylase et P450 aromatase permettent la synthèse respective des androgènes et des œstrogènes.

- Une voie secondaire passant par la 17 α hydroxyprégnénolone, la dihydro-epiandrosterone pour aboutir à la testostérone puis à l'œstradiol. La 5 α dihydrotéostérone ou DHT est la forme active de l'hormone au niveau de certains tissus cibles (prostate, vésicule séminale, peau ...). Elle est obtenue par réduction en 5 α de la testostérone au niveau des microsomes et de la membrane nucléaire externe (Beaulieu et coll., 1978) (Figure 6).

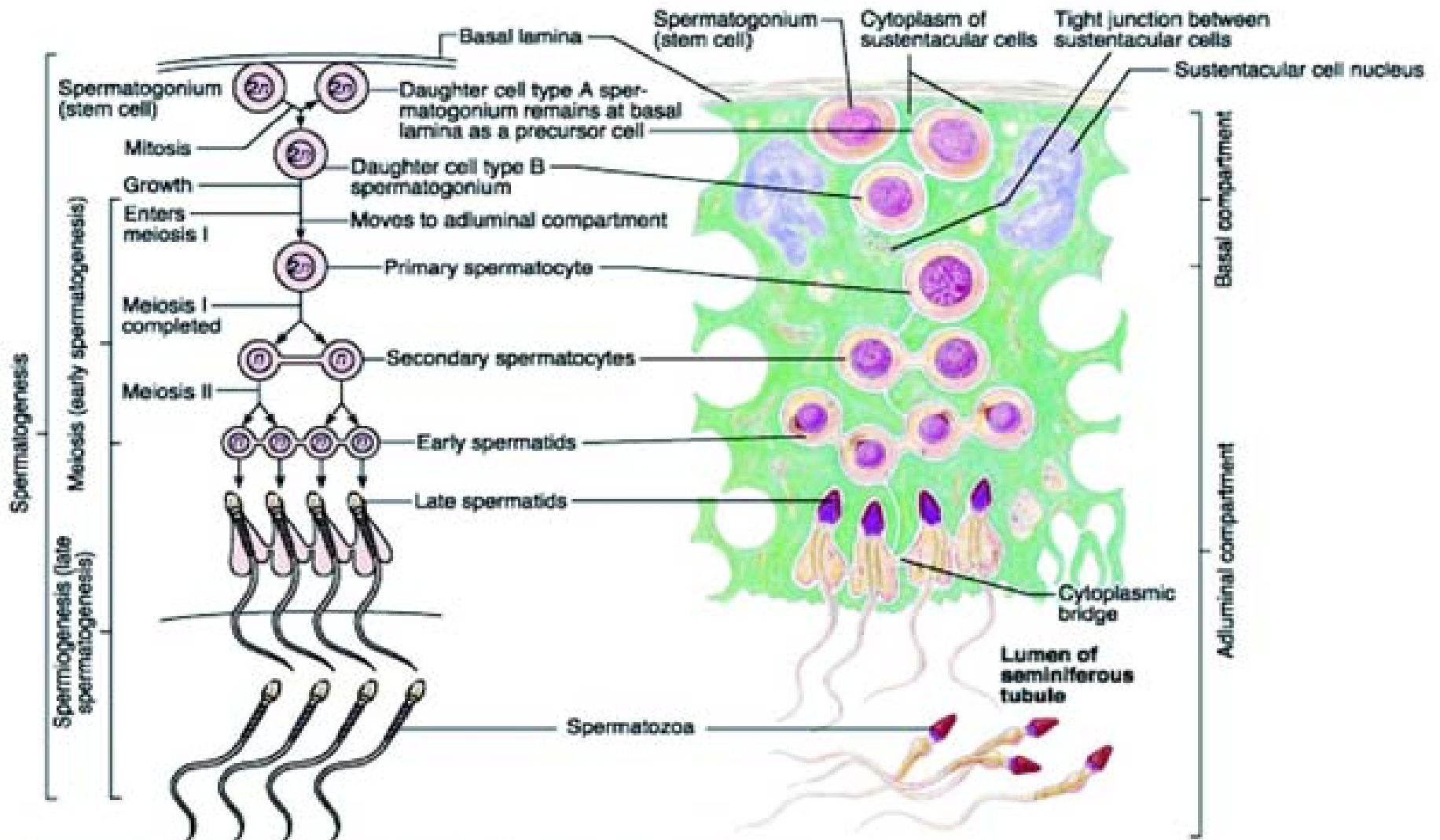


Figure 5 : Phases de la spermatogenèse (Morinière, 2008)

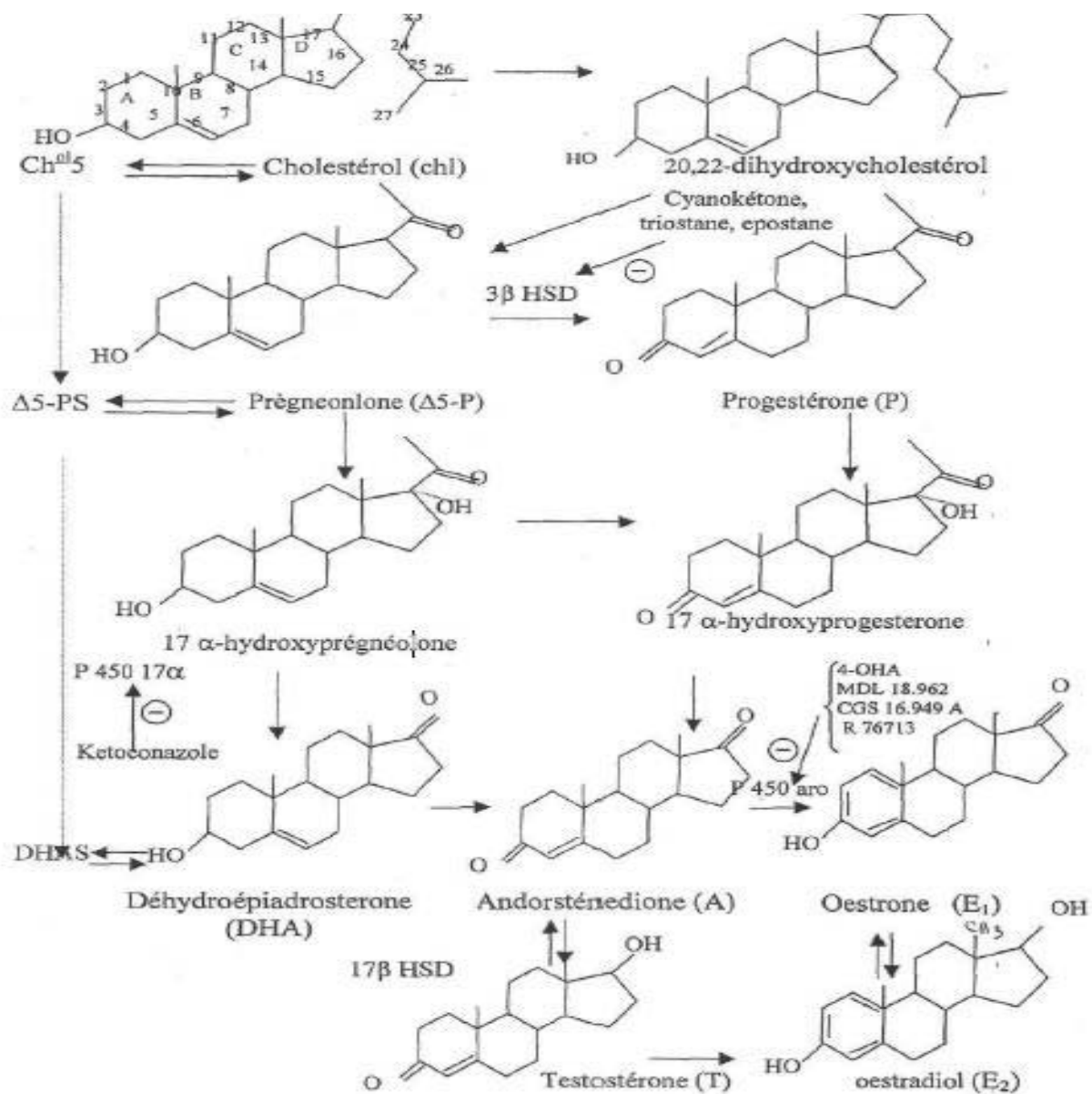


Figure 6 : Voies de la stéroïdogénèse sexuelle (d'après Miller, 1988 ; Waterman et coll., 1989, Labrie et coll., 1990)

3- REGULATION DE LA FONCTION TESTICULAIRE :

Elle est assurée principalement par l'axe hypothalamo-hypophysaire et par des actions paracrines et autocrines (Figure 7).

3-1- L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-TESTICULAIRE :

L'hypothalamus est impliqué dans la sécrétion de GnRH par les noyaux parvocellulaires. Sous l'action stimulatrice de ce peptide, l'hypophyse antérieure sécrète deux gonadotrophines FSH et LH à action directe sur les cellules de Sertoli et de Leydig. D'autres hormones hypophysaires interviennent dans la régulation des fonctions testiculaires.

La FSH est la principale hormone connue pour réguler la fonction des cellules de Sertoli, ces dernières sont le seul type cellulaire du testicule qui expriment des récepteurs de la FSH (Peterson et Soder, 2006). La FSH est indispensable au démarrage de spermatogénèse chez le rat impubère, et à la maturation des spermatozoïdes (Brook et Marshall, 1998). Elle agit également sur les cellules de Sertoli, en stimulant le métabolisme énergétique par captage et transport du glucose et production de lactate (Bardin et coll., 1994). D'autre part, la FSH stimule la production de protéine de liaison des androgènes (ABP) maintenant une réserve androgénique dans le fluide testiculaire (Brook et Marshall, 1998) pour le développement des cellules germinales (Frensh et Ritzen, 1973) et stimule la production testiculaire de l'hormone antimüllérienne (AMH) pendant la période postnatale, production inhibée par les androgènes bien que le taux d'AMH soit élevé de la vie fœtale jusqu'à la puberté (Romina et coll., 2010).

La LH stimule la synthèse de testostérone par les cellules de Leydig et contrôle le flux hormonal en régulant l'enzyme qui contrôle la conversion du cholestérol en prégnénolone (Brook et Marshall, 1998).

La prolactine d'origine hypophysaire a un effet direct sur les enzymes de la stéroïdogénèse (Munabi et coll., 1984). Elle aurait une action en amont sur l'augmentation du nombre de récepteurs à la LH et la fixation de l'hormone sur son récepteur au niveau de la cellule de Leydig aboutissant à une stimulation de la synthèse et de la sécrétion de testostérone (Thibault et Levasseur, 1991). D'autre part, les cellules de Sertoli expriment des récepteurs de la prolactine (Guillaumot et coll., 1999). Cette hormone stimule la croissance cellulaire, la sécrétion de lactate et la synthèse des protéines par les cellules de Sertoli chez le rat et le porc (Scarabelli et coll., 2003).

L'hormone de croissance semble exercer une action sur la fonction testiculaire puisque les cellules de Sertoli expriment les récepteurs de la GH (Gomez, 1998) et qu'un déficit en hormone de croissance peut être associé à un développement limité des testicules en faveur d'une réduction du nombre de cellules de Sertoli ; la fécondité n'est, cependant, pas compromise (Bartlett, 1991).

Une action inhibitrice du CRH hypothalamique sur la sécrétion de testostérone a été rapportée. Ce facteur stimule la sécrétion de β endorphine par des cellules de Leydig en culture primaire (Eskeland et coll., 1989), inhibe la croissance et la capacité stéroïdogène de ces cellules s'il est administré d'une façon chronique in vivo et déprime l'effet stimulateur de la HCG (Mazzocchi et coll., 1992).

3- 2 REGULATION PARACRINE ET AUTOCRINE :

La régulation paracrine est assurée par plusieurs facteurs produits par les cellules de Sertoli dont :

La testostérone : Les cellules de Sertoli expriment les récepteurs des androgènes, contrairement aux cellules germinales (Lyon et coll., 1975). La testostérone stimule la spermatogenèse (Brook et Marshall, 1998) et semble nécessaire à une fonction adéquate de la barrière hémato-testiculaire et au développement méiotique et post-méiotique des cellules germinales (Chems et coll., 1976).

Les œstrogènes : Les cellules de Sertoli immatures peuvent produire elles mêmes des œstrogènes via leur activité de l'aromatase (Rommerts et coll., 1982). A l'âge adulte, les cellules de Leydig et les cellules germinales deviennent la source des œstrogènes testiculaires (Carreau et coll., 1999).

L'inhibine B : Produite par les cellules de Sertoli suite à une stimulation de la FSH, l'inhibine B est une glycoprotéine formée de deux sous unités de PM égal à 2 kDa. Le dimère β réduit les concentrations de l'ARN m codant pour la β FSH et bloque la libération de la FSH induite par la GnRH. Le dimère β connu sous le nom d'activine a une action opposée, stimulatrice sur la production de FSH hypophysaire (Dadoune et Demoulin, 1991). Pendant l'enfance, l'évaluation de l'inhibine B est utilisée en clinique pour évaluer la présence et la fonction des cellules de Sertoli, en revanche à l'âge adulte le taux de l'inhibine B dépend de la présence des cellules germinales et reflètent donc la spermatogenèse(De Krester et coll ., 2004).

Le peptide GnRH-like : mis en évidence chez le rat, ce peptide agit en réduisant le nombre de récepteurs à la LH au niveau des cellules de Leydig, inhibant ainsi la synthèse de stéroïdes.

Les peptide dérivés de la POMC : Ces différents peptides ont des effets opposés. L'ACTH et l' α MSH et ses dérivés acétylés stimulent la croissance des cellules de Sertoli et augmentent leur sensibilité à la FSH. Cette action est médiée par l'AMPc alors que la β endorphine a un effet suppressif et entraîne une diminution du nombre de cellules de Sertoli, du taux d'AMPc induit par la FSH et de la sécrétion protéique (Bardin et coll., 1990). Par ailleurs, la β endorphine agit en synergie avec la LH pour la synthèse des androgènes par les cellules de Leydig (Dadoune et Demoulin, 1991).

Les facteurs de croissance et les cytokines inflammatoires : Les facteurs de croissance qui ont été isolé à partir du testicule sont Fibroblast Growth Factor 1 et 2 (FGF-1, FGF-2), Insulin-like Growth Factor I et II (IGF-I, IGF-II), Transforming Growth Factor- α (TGF- α), activin A et Epidermal Growth Factor (EGF). En réponse à l'IGF-I les cellules de Sertoli et de Leydig subissent une différenciation plus rapide (Bardin et coll., 1990).

Les cellules de Sertoli produisent un certain nombre de cytokines telles que les interleukines $Il-1\alpha$, $Il-1\beta$, $Il-6$ et le facteur de nécrose tumorale α ($TNF-\alpha$) et expriment les récepteurs de certaines d'entre elles. L'interleukine -1α est produite de manière constitutive par les cellules de Sertoli dès le début de la puberté, alors que la production de l'interleukine -1β est peut-être induite par un stimuli pro-inflammatoire. Ces molécules influencent diverses fonctions des cellules de Sertoli telles que la production de la transferrine et de lactate et stimulent la croissance des cellules de Sertoli immatures (Pour revue, Peterson et Soder, 2006).

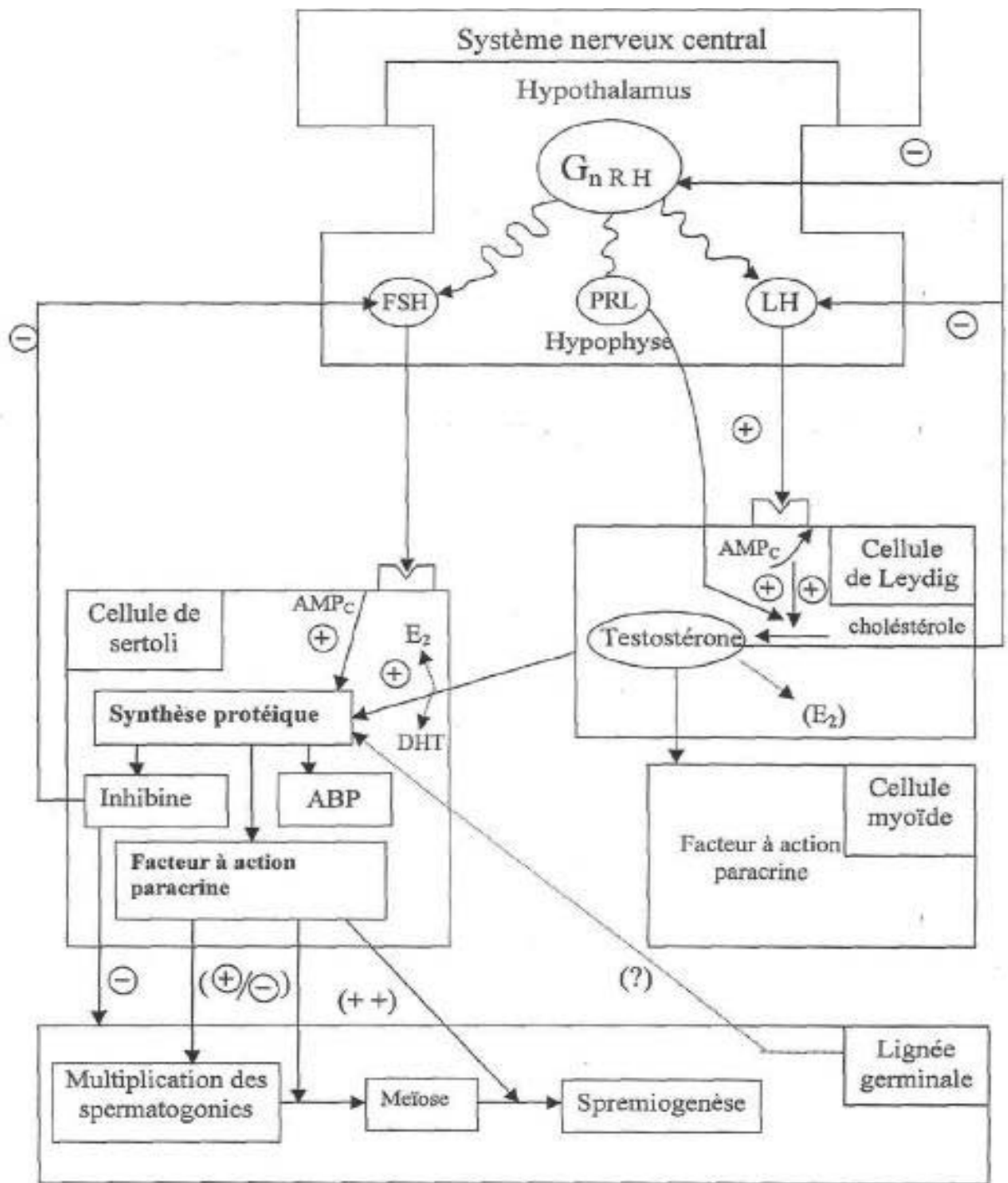


Figure 7 : Régulation des fonctions testiculaires (Tourniaire et coll., 1994)

C-EFFETS DES HORMONES THYROÏDIENNES SUR LA FONCTION TESTICULAIRE :

Des expériences sur des modèles animaux montrent que l'hypothyroïdie prolonge la phase de prolifération des cellules de Sertoli et inhibe la différenciation de ces cellules aboutissant à un nombre élevé de cellules de Sertoli, à une augmentation de la taille des testicules et du nombre des spermatozoïdes (Cooke et Meisami, 1991 ; Van Haaster et coll., 1992 ; 1993). Ainsi, un traitement par le PTU, antithyroïdien de synthèse, induit un arrêt de maturation de la spermatogenèse, un nombre réduit de cellules de Leydig, un diamètre tubulaire diminué, un œdème interstitiel et un épaississement de la membrane basale (Tahmaz et coll., 1993) alors qu'une thyroïdectomie provoque une réduction du diamètre des tubules séminifères et de la lumière, ce qui implique des changements dégénératifs des cellules spermatogéniques, pouvant résulter de l'incapacité des cellules de Sertoli à nourrir les cellules germinales et également, aux teneurs réduites de GH et de FSH (Meral et coll., 2004).

Inversement, l'hyperthyroïdie est associée à une augmentation de la taille des testicules, une diminution du taux de TSH et une légère augmentation de FSH (Jannini et coll., 2008) ; elle stimulerait l'hypotrophie prématurée des cellules de Leydig fœtales et la différenciation précoce d'un nombre accru des cellules mésenchymateuses en cellules de Leydig adultes chez le rat pré pubère (Ariyaratnea et coll., 2000). Ainsi, des taux élevés de T₃ favorisent la différenciation, induisent une diminution du poids testiculaire et une réduction du nombre des spermatozoïdes.

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

A-MATERIELS

1-MATERIEL BIOLOGIQUE

1-1 Animaux et traitement :

L'expérimentation a porté sur 20 rats Wistar, adultes de sexe femelle, élevés à l'animalerie de l'U.S.T.H.B, gardés dans des cages en plastique individuelles et mises en présence du mâle pendant 8 jours consécutifs pour accouplement. Les femelles gestantes séparées des mâles, sont suivies quotidiennement. Dès la mise bas, les lots de rats témoins (T) et traités à la lévothyroxine (LT) sont constitués en fonction du traitement administré aux mères allaitantes :

- Lot témoin (T): constitué des portées des mères allaitantes recevant de l'eau courante.
- Lots traités (LT): correspondant aux portées des mères allaitantes recevant par voie orale et pendant 20 jours, une supplémentation en lévothyroxine à raison de 10µg/100g de poids corporel/jour (LT10) et 20µg/100g de poids corporel/jour (LT20).

Le volume quotidien ingéré est en moyenne 25ml, le volume initial de la solution de Lévothyroxine administré est 250 ml, dont le nombre de gouttes de la Levothyroxine est calculé à partir du poids de la femelle allaitante.

Les volumes de boisson ingérée sont relevés quotidiennement pour chaque femelle. Le traitement est arrêté au 21^{ème} jour *post partum*, et l'eau est alors fournie à volonté. Les rates allaitantes et les petits, sevrés à 30 jours, sont nourris *ad libitum* par un aliment standard pour rats, fourni par SARL LA PRODUCTION LOCALE (Bouzaréah, Alger), composé de protéines (23.3%), lipides (9%), glucides (48%) et d'un complexe minéral vitaminé (3%). La valeur calorique est estimée par le fournisseur à 370 cal/100g.

1-2 Prélèvements :

Les sacrifices des rats mâles parvenus à l'âge de 20, 40 et 60 jours sont effectués entre 09h et 11h. Le sang recueilli sur EDTA à 2%, est centrifugé et le plasma obtenu est réparti en aliquotes puis congelé pour la réalisation des dosages hormonaux. Les animaux sont rapidement disséqués afin de prélever les organes. La thyroïde et les testicules droits sont immédiatement fixés au Bouin Hollande pour une étude histologique ou au Bouin alcoolique pour une étude immunohistochimique ; les testicules gauches sont congelés dans 100 à 200 µl d'eau bi-distillée pour les dosages hormonaux.

2-PRODUITS ET REACTIFS

2-1 Traitement :

La lévothyroxine administrée est une solution de LT₄ sodique buvable en gouttes (H03AA01), commercialisée par SERB (Paris, France).

2-2 Histologie :

Tous les produits utilisés sont des produits pour analyse (PA) et comprennent les alcools (Riedel-de-Haën et Prochima) pour les étapes de déshydratation-hydratation, la paraffine (Panreac) pour l'inclusion, la gélatine (Merck) pour l'étalement des coupes sur lames, les colorants (Fluka, Panreac, Merck et Prolabo) pour la coloration et l'eukitt (Fluka) pour le montage des lames histologiques.

2-3 Dosages hormonaux :

Le dosage radioimmunologique des hormones thyroïdiennes et de la testostérone lasmatiques ont été réalisés par utilisation de kits Immunotech (Marseille, France : références : IM1579, M1363 et IM1119), contenant :

- Des tubes recouverts d'anticorps, d'analogue de l'hormone ou d'avidine ;
- De l'hormone ou de l'anticorps marqués à l'I¹²⁵ (185 KBq) ;
- Des standards dilués dans du sérum humain en présence d'azide de sodium;
- Un sérum contrôle lyophilisé conservé dans les mêmes conditions.

B-METHODES :

1-Histologie :

L'étude structurale a porté sur la thyroïde et les testicules droits des rats traités et témoins, elle comprend :

- **Fixation** : Se fait dès le prélèvement dans le Bouin de Hollande et dure 3 jours. Les organes, abondamment rincés, sont ensuite conservés dans l'éthanol 70°.
- **Inclusion dans la paraffine suivant les étapes suivantes** :
 - Déshydratation : par l'éthanol à concentrations croissantes (Tableau II),
 - Eclaircissement : par passage dans un bain de butanol afin d'éliminer l'alcool éthylique.

▪ Imprégnation à la paraffine : ou remplacement progressif du butanol par la paraffine à 58°- 60°c suivant le Tableau III.

▪ Confection des blocs : le moule constitué par les barres de LEUCKART posées sur une plaque de verre, est rempli de paraffine filtrée et chaude, la pièce y est placée et orientée à l'aide d'une pince chauffée, l'étiquette est fixée au bloc, au niveau opposé à celui où s'effectuera la coupe. Le bloc se détache facilement des barres de LEUCKART après immersion dans de l'eau froide.

- **Confection et étalement des coupes :** Les coupes de 5 µm d'épaisseur, sont obtenues à l'aide d'un microtome. L'étalement sur lames, préalablement gravées, est réalisé sur plaque chauffante à l'aide d'eau gélatinée de MASSON. Les lames sont mises à sécher 2 à 3 jours à température ambiante.

- **Coloration :** Les coupes préalablement déparaffinées et hydratées sont colorées au trichrome de MASSON suivant le Tableau IV.

Après déshydratation par passage dans l'éthanol à 70°, 96° et 100° puis du toluène les lames sont montées après dépôt d'une goutte d'eukitt et observées au microscope photonique Zeiss.

Des mesures des diamètres des tubules ont été réalisées sur des coupes de testicules d'animaux traités et témoins à différents âges.

Tableau II : Etapes de la déshydratation

| Bains | 1 ^{er} | 2 ^{ème} | 3 ^{ème} | 4 ^{ème} | 5 ^{ème} | 6 ^{ème} |
|------------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Concentration d'alcool | 70° | 70° | 95° | 95° | 100° | 100° |
| Durée (min) | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |

Tableau III : Etapes de l'inclusion dans la paraffine

| Bains | 1 ^{er} | 2 ^{ème} | 3 ^{ème} |
|-----------|-----------------------|------------------|------------------|
| Contenu | Butanol/Paraffine V/V | Paraffine | Paraffine |
| Durée (h) | 2 | 2 | 2 |

Tableau IV : Tableau récapitulatif des étapes de la coloration

| Etapes | Bains | | Durée (mn : minute ; s : seconde) |
|----------------|--------------------------|---|--------------------------------------|
| | | | |
| Réhydratation | Toluène | 2 | 3mn |
| | Alcool 100° | 1 | 2mn |
| | Alcool 96° | 1 | 2mn |
| | Alcool 70° | 1 | 2mn |
| | Eau distillée | 1 | 5 mn |
| Coloration | Hématoxyline de Groat | 1 | 20 s |
| | Eau courante | 1 | 5 mn |
| | Mélange Fushine- Ponceau | 1 | 20 s |
| | Eau acétylée à 1% | 1 | Rinçage |
| | Orange G | 1 | 8 s |
| | Eau acétylée à 1% | 1 | Rinçage |
| | Bleu d'aniline | 1 | 15s |
| | Eau acétylée à 1% | 1 | Rinçage |
| Déshydratation | Alcool 70° | 1 | 1mn |
| | Alcool 96° | 1 | 1mn |
| | Alcool 100° | 1 | 1mn |
| | Toluène | 2 | 1mn |

2-Dosages radioimmunologiques: Les hormones thyroïdiennes libre (FT3 et FT4) ont été estimés au niveau plasmatique par une méthode radioimmunologique par compétition à l'aide de kits Immunotech SA (Marseille France : FT3 : réf. IM1579, FT4 : réf. IM1363), les tubes de dosage de FT3 sont recouvert d'un analogue de l'hormone, ceux de FT4 sont recouverts d'un ligand spécifique ; l'avidine.

La testostérone est estimée par la même méthode à l'aide de kits Immunotech SA (Marseille, France, réf. IM1119).

Tous les dosages ont été réalisés suivant quatre étapes principales : distribution des standards de concentration croissantes, des échantillons et contrôles, et ligand si nécessaire, répartition du traceur, incubation à température fixe et pendant des temps variant de 60 à 180 minutes, au bain marie ou sous agitation, aspiration ou décantation et enfin comptage de la radioactivité fixée à l'aide d'un compteur

2-1 Dosage de la triiodothyronine libre (FT3) :

- Principe : Le dosage radioimmunologique de la T3 libre est un dosage par compétition qui s'établit entre la triiodothyronine libre de l'échantillon et le ligand vis-à-vis des sites de liaison à l'anticorps. Une courbe d'étalonnage, $B/B_0 = f$ (concentration en hormone), est établie et les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation.

- Mode opératoire : Les échantillons à doser et les standards sont incubés, pendant 120 minutes sous agitation, dans des tubes recouverts d'un analogue de la T3 ou ligand en présence de l'anticorps monoclonal anti-T3 marqué à l'iode 125. Le contenu des tubes est ensuite éliminé par aspiration puis la radioactivité liée est mesurée sur un compteur γ LKB (Tableau V).

2-2 Dosage de la thyroxine libre (FT4) :

- Principe : Le dosage de la thyroxine libre est également un dosage par compétition. Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un anticorps monoclonal spécifique de la T4 et d'un analogue biotinylé de la thyroxine, dans des tubes recouverts d'avidine. Une compétition s'établit entre la thyroxine libre de l'échantillon et le ligand pour la liaison à l'anticorps marqué. La fraction d'anticorps complexée au ligand biotinylé se fixe sur les tubes recouverts d'avidine. Une courbe d'étalonnage est établie et les valeurs inconnues sont déterminées.

- Mode opératoire : De même, la liaison à l'anticorps nécessite une incubation de 90 minutes, à 18-25°C sous agitation. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité est mesurée sur un compteur γ LKB (Tableau VI).

2-3 Dosage de la testostérone :

- Principe : Dans ce dosage compétitif, la testostérone des échantillons et des standards d'une part et l'hormone marquée d'autre part se fixent sur l'anticorps anti-testostérone fixé au tube. La courbe d'étalonnage permet de déterminer les concentrations des échantillons (Figure 8).

- Mode opératoire : Les échantillons à doser et standards sont incubés pendant 2 heures au bain Marie à 37°C puis le contenu du tube est aspiré et la radioactivité est mesurée sur un compteur γ LKB (Tableau VII).

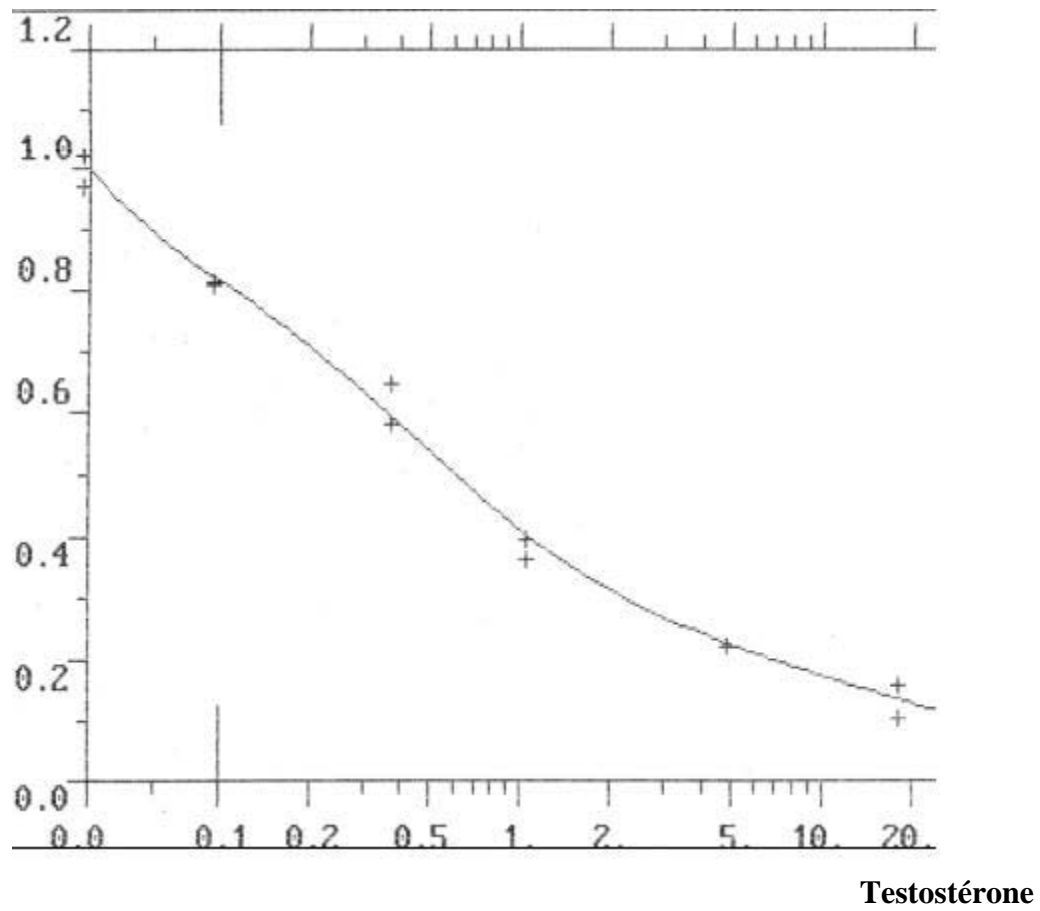


Figure 8 : Courbe étalon du dosage radioimmunologique de la testostérone

Tableau V : Etapes du dosage radioimmunologique de la FT3

| Répartition | Incubation | comptage |
|--|---|---|
| Distribution successive, dans les tubes recouverts d'analogue, de: - 100 µl de standard, de contrôle ou d'échantillon - 400 µl de traceur Agitation | Incubation 120 minutes à 18-25 °C sous agitation (350rpm) | Aspiration du contenu de chaque tube Comptage de la radioactivité liée pendant 1min. |

Tableau VI : Etapes du dosage radioimmunologique de la FT4

| Répartition | Incubation | Comptage |
|--|---|---|
| Distribution successive, dans les tubes recouverts d'avidine, de: - 25 µl de standard, de contrôle ou d'échantillon - 400 µl de traceur - 100 µl de ligand Agitation | Incubation 90 minutes à 18-25 °C sous agitation (>350rpm) | Aspiration du contenu de chaque tube Comptage de la radioactivité liée pendant 1min. |

Tableau VII : Etapes du dosage radioimmunologique de la testostérone

| Répartition | Incubation | Comptage |
|---|--|---|
| Distribution successive, dans les tubes recouverts d'anticorps, de: - 50 µl de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon - 500 µl de traceur Agitation | Incubation 3 heures au bain-marie à 37°C | Aspiration du contenu de chaque tube Comptage de la radioactivité liée pendant 1min. |

2-4 CARACTERISTIQUES DU DOSAGE

- Sensibilité analytique : 0,025 ng/ml pour la testostérone, 0,5 pM pour la FT3 et 0,4 pM pour la FT4

- Spécificité : l'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de l'hormone à doser.

- Précision :

1- Intra-essai : des échantillons ont été dosés 15 fois dans une même série pour le dosage de la FT3, les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 6,4%, et pour la FT4, des échantillons ont été dosés 20 fois, les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 6,5%, et des échantillons ont été dosés 10 fois dans une même série pour la testostérone, les coefficients de variation sont inférieurs ou égaux à 14,8%.

2- Inter-essais : des échantillons ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variations obtenus sont inférieurs ou égaux à 5,5% pour la FT3, la FT4 dans les 15 séries les coefficients sont inférieurs ou égaux à 6,5%, pour la testostérone dans les 15 séries, les coefficients sont inférieurs ou égaux à 15%.

- Exactitude (dosage de la testostérone) :

1-Epreuve de dilution : des échantillons de concentration élevée ont été dilués. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 83% et 129%

2-Epreuve de surcharge : des quantités connues de testostérone ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 91% et 117%

- Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) est de 0,4-75 pM pour la FT4 et 0,025-20 ng/ml pour la testostérone.

C-ETUDE STATISTIQUE:

Pour chaque série d'analyse, nous avons estimé la moyenne arithmétique \bar{X} des valeurs individuelles, la variance δ^2 et la valeur de l'erreur standard à la moyenne ou S.E.M. Ces paramètres statistiques sont donnés par les formules suivantes :

$$\bar{X} = \frac{\sum xi ni}{n}$$
$$\delta^2 = \frac{\sum ni (xi - \bar{x})^2}{n-1} \quad \delta = \sqrt{\delta^2} \quad \text{avec} \quad \text{S.E.M} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

x_i = Valeur individuelle

n = Effectif

δ^2 = Variance

δ = Ecart type

\bar{X} = Moyenne

$n-1$ = Degré de liberté (d d l)

La comparaison de deux moyennes X_a et X_b est réalisée par le test de Student t avec la valeur de t calculée par la relation :

$$t = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{\sqrt{\frac{\delta^2}{N_a} + \frac{\delta^2}{N_b}}} \quad \text{avec} \quad \delta^2 = \sum mi (X_i - X'_a)^2 + \sum ni (X_i - X'_b)^2$$

Pour un ddl de $(n_a+n_b)-2$ et à 5% d'erreur, la valeur du « t » nous donne le degré de signification p ; la différence entre deux moyennes est :

- Non significative si $p > 0,05$ (NS)
- Significative si $p < 0,05$ (S)
- Très significative si $p < 0,01$ (TS)
- Hautement significative si $p < 0,001$ (HS)

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

A-RESULTATS :

I-Données pondérales :

1-Variations du poids corporel :

L'évolution du poids corporels des animaux témoins et traités à la LT4 aux doses de 10 et 20 $\mu\text{g}/100\text{g PC/jour}$ est représentée dans le tableau VIII et sur la figure 9.

A l'âge de 7 jours, les poids corporels moyens des 3 lots de rats sont similaires et évalués à $13,13 \pm 0,35$, $13,95 \pm 0,55$ et $12,73 \pm 0,35$ g respectivement pour les lots témoin, LT10 et LT20. Le lot traité à 10 μg de LT4 ne présente de variation significative du poids corporel qu'à 35 jours alors que celui traité à 20 μg de LT4 présente une diminution importante du poids dès 14 jours d'âge. A l'âge de 21 jours, les poids corporels sont évalués à $32,09 \pm 1,11\text{g}$ chez les rats témoins, $31,92 \pm 1,38\text{g}$ chez les rats traités LT10 et $22,56 \pm 0,91\text{g}$ pour le lot de rats traités LT20. Aucune différence significative n'est observée entre les poids corporels moyens des rats témoins et traités LT10 à cet âge, par contre une différence hautement significative est observée entre les moyennes de poids corporels des rats témoins et rats traités LT20 et entre celles des poids des rats traités à la LT4 aux deux doses ($p < 0,001$).

A 35 jours, le poids corporel des animaux ayant reçu une dose de 10 mg de LT4 devient supérieur à celui des rats témoins ($83,73 \pm 3,76\text{g}$ contre $73,69 \pm 2,93\text{g}$ pour le lot témoin ; $p < 0,05$) alors que celui du second lot traité reste inférieur ($60,42 \pm 0,88\text{g}$ contre $73,69 \pm 2,93\text{g}$ pour le lot témoin ; $p < 0,001$)

A l'âge de quarante deux jours, le poids corporel moyen des rats témoins est évalué à $102,14 \pm 4,48\text{g}$, celui des rats traités LT10 est $116,27 \pm 5,18\text{g}$ et des rats traités LT20 est $98,32 \pm 2,65\text{g}$. Aucune différence significative n'est observée entre les moyennes des poids corporels des lots témoin et traité LT10 d'une part et témoin et LT20 d'autre part, mais une différence très significative est observée entre les moyennes des poids corporels des lots traités LT10 et LT20 ($p < 0,01$).

A l'âge de 56 jours les poids corporels atteignent les valeurs de $163,49 \pm 5,98\text{g}$, $189,24 \pm 5,75\text{g}$ et $182,97 \pm 2,71\text{g}$ respectivement pour les lots T, LT10 et LT20. Seule la moyenne du lot traité à 10 μg est statistiquement différente de celle du lot témoin ($p < 0,02$).

Le gain de poids corporel hebdomadaire des rats traités à la première dose est similaire à celui des témoins durant le traitement (35,71 et 32,01% pour le lot LT10 contre 38,41 et 33,56% pour les témoins), il est par contre fortement diminué chez le lot traité à forte dose de LT4 (25,77 et 23,98%). Après arrêt du traitement, alors que le premier lot traité à la LT4 présente des pourcentages de gain de poids similaires à ceux des témoins, le deuxième lot présent des pourcentages de gain de poids corporel supérieurs à ceux du lot n'ayant reçu aucun traitement (Tableau IX).

Tableau VIII : Variations du poids corporel des rats témoins et traités, à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge (Moy ± SEM).

| Ages | Poids corporel moyen (g) | | | Moyennes comparées Valeurs de p et signification statistique | | |
|------|--------------------------|----------------------|-----------------------|--|------------|------------|
| | T | LT10 | LT20 | T/LT10 | T/LT20 | LT10/LT20 |
| 7 j | 13,13 ± 0,35 n=27 | 13,95 ± 0,55 n=19 | 12,73 ± 0,35 n=29 | p>0,05 NS | p>0,05 NS | p>0,05 NS |
| 14 j | 21,32 ± 0,78 n=27 | 21,7 ± 0,77 n=19 | 17,15 ± 0,44 n=24 | p>0,05 NS | p<0,001 HS | p<0,001 HS |
| 21 j | 32,09 ± 1,11 n=27 | 31,92 ± 1,38 n=16 | 22,56 ± 0,91 n=17 | p>0,05 NS | p<0,001 HS | p<0,001 HS |
| 28 j | 49,71 ± 1,08 n=27 | 50,61 ± 2,21 n=16 | 37,48 ± 0,72 n=12 | p>0,05 NS | p<0,001 HS | p<0,001 HS |
| 35 j | 73,69 ± 2,93 n=27 | 83,73 ± 3,76 n=16 | 60,42 ± 0,88 n=12 | p<0,05 S | p<0,01 TS | p<0,001 HS |
| 42 j | 102,14 ± 4,48 n=18 | 116,27 ± 5,18 n=9 | 98,32 ± 2,65 n=10 | p>0,05 NS | p>0,05 NS | p<0,01 TS |
| 49 j | 134,42 ± 4,88 n=17 | 157,61 ± 5,7 n=9 | 142,96 ± 1,79 n=5 | p<0,01 TS | p>0,05 NS | p>0,05 NS |
| 56 j | 163,49 ± 5,98 n=17 | 189,24 ± 5,75 n=9 | 182,97 ± 2,71 n= 4 | p<0,02 S | p>0,05 NS | p>0,05 NS |

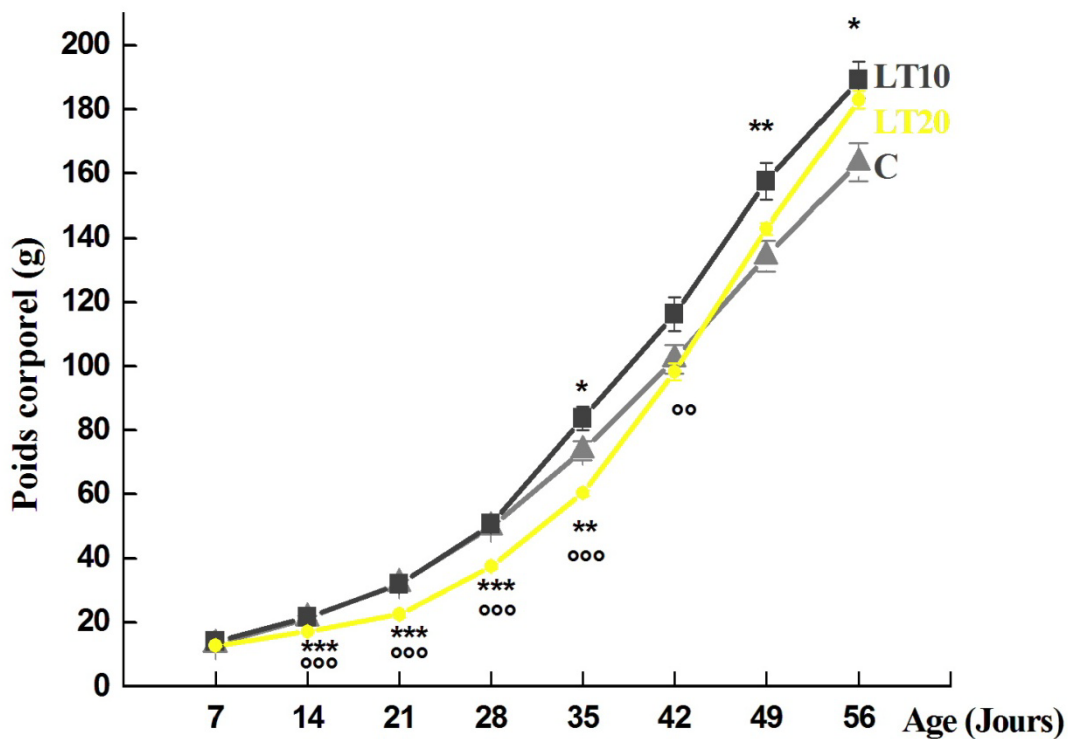


Figure 9 : Variations du poids corporel des rats témoins et traités, à 10 μ g (LT10) et 20 μ g (LT20) de LT4, en fonction de l'âge. (C=Témoins)
 *, °: $p < 0,05$; **, °°: $p < 0,01$; ***, °°°: $p < 0,001$; *: LT / T et ° : LT10/ LT20

Tableau IX : Variations du gain de poids hebdomadaire des rats témoins et traités, à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4.

| | Gain de poids hebdomadaire (%) | | | | | | |
|--------------|--------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 7-14 j | 14-21 j | 21-28 j | 28-35 j | 35-42 j | 42-49 j | 49-56 j |
| T | 38,41 | 33,56 | 35,44 | 32,54 | 27,85 | 24,01 | 17,78 |
| LT 10 | 35,71 | 32,01 | 36,92 | 39,55 | 27,98 | 26,23 | 16,71 |
| LT20 | 25,77 | 23,98 | 39,80 | 37,96 | 38,54 | 31,22 | 21,86 |

2-Variations des poids testiculaires :

Les poids absolus et relatifs des testicules gauches et droits sont similaires pour les trois lots étudiés. La comparaison statistique des moyennes de poids testiculaire droit et gauche, n'a révélée aucune différence significative démontrant l'absence de dimorphisme testiculaire.

Les variations des poids testiculaires absolus et relatifs sont rapportées dans les tableaux X et XI et sur les figures 10 et 11.

A 20 jours, le poids testiculaire absolu moyen des rats témoins est de $69,20 \pm 6,37$ mg, celui des rats du lot LT10 est de $66,00 \pm 4,97$ mg et de celui du lot LT20 est de $44,39 \pm 3,83$ mg. Aucune différence significative n'est observée entre les poids testiculaire moyen des deux testicules des rats témoins et traités LT10, mais une différence très significative est observée entre les animaux témoins et traités LT20 ($p < 0,01$), et entre les LT10 et les LT20 ($p < 0,01$).

A 40 jours, le poids testiculaire des rats témoins est évalué à $457,61 \pm 37,64$ mg, ceux des rats traités à la thyroxine sont de $487,71 \pm 30,76$ mg et $389,81 \pm 18,59$ mg respectivement pour les deux doses utilisées. Cette dernière valeur est statistiquement différente de la moyenne du lot traité à faible dose ($p < 0,05$).

A l'âge de 60 jours, le poids testiculaire moyen des rats témoins est $978,88 \pm 54,86$ mg, celui des rats traités LT10 est de $1242,92 \pm 39,14$ mg (T/LT10 : $p < 0,01$), et celui du lot LT20 est de $1044,41 \pm 69,78$ mg (T/LT20 : $p > 0,05$ et LT10/LT20 : $p < 0,05$).

Le poids testiculaire relatif moyen subit également des variations qui restent toutefois non significatives. Nous notons des valeurs similaires entre animaux témoins et traités à la LT4 à raison de 20 µg/100g de poids corporel (PC) aux 3 âges étudiés ($238,95 \pm 9,37$ et $250,83 \pm 23,70$ mg/100g PC à 20 jours, $419,10 \pm 29,71$ et $433,24 \pm 15,61$ mg/100g PC à 40 jours et enfin $543,72 \pm 26,39$ et $538,34 \pm 32,35$ mg/100g PC à 60 jours ; $p > 0,05$) mais des valeurs nettement supérieures à celles du lot T pour les rats traités à la LT4 à raison de 10 µg/100g PC à 40 et 60 jours (J40 ; $463,10 \pm 12,28$ contre $419,10 \pm 29,71$ mg/100g PC pour le lot témoin et J60 : ($651,94 \pm 48,67$ contre $543,72 \pm 26,39$ mg/100g PC pour le lot T; $p > 0,05$) (Tableau XI et Figure 11).

Tableau X : Variations du poids testiculaire absolu des rats témoins et traités à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4 (Moy ± SEM). (PTD : poids du testicule droit ;PTG : poids du testicule gauche ; PT : poids moyen testiculaire).

| Lots et âges | | Poids testiculaire absolu (mg) | | | Moyennes de PT comparées | |
|--------------|------|--------------------------------|------------------------|-------------------------|---|-----------|
| | | PTD | PTG | PT | Valeurs de p et signification statistique | |
| | | | | | Lots | P |
| 20j | T | 70,27 ± 8,85 n=8 | 68,12 ± 9,75 n=8 | 69,12 ± 6,37 n=16 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 65,31 ± 8,15 n=7 | 66,68 ± 6,38 n=7 | 66,00 ± 4,97 n=14 | LT20 /T | p<0,01 TS |
| | LT20 | 38,77 ± 5,67 n=7 | 46,93 ± 2,98 n=7 | 42,85 ± 3,28 n=14 | LT20/LT10 | p<0,01 TS |
| 40j | T | 450,84 ± 52,86 n=8 | 464,39 ± 57,15 n=8 | 457,61 ± 37,64 n=16 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 479,84 ± 44,11 n=7 | 495,57 ± 46,19 n=7 | 487,71 ± 30,76 n=14 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 398,16 ± 30,66 n=7 | 381,46 ± 23,1 n=7 | 389,81 ± 18,59 n=14 | LT20/LT10 | p<0,05 S |
| 60j | T | 975,54 ± 79,53 n=16 | 982,22 ± 78,18 n=16 | 978,88 ± 54,86 n=32 | LT10/T | p<0,01 TS |
| | LT10 | 1226,53 ± 53,21 n=9 | 1256,62 ± 53,93 n=9 | 1242,92 ± 39,14 n=17 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 1035,9 ± 109,55 n=5 | 1052,92 ± 99,36 n=5 | 1044,41 ± 69,78 n=10 | LT20/LT10 | p<0,05 S |

Tableau XI : Variations du poids testiculaire relatif des rats témoins et traités à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4 (Moy ± SEM). (PTD : poids du testicule droit ;PTG : poids du testicule gauche ; PT : poids moyen testiculaire).

| Lots et âge | | Poids testiculaire relatif (mg) | | | Moyennes de PT comparées Valeurs de p et signification statistique | |
|-------------|------|---------------------------------|------------------------|------------------------|---|-----------|
| | | PTD | PTG | PT | Lots | p |
| 20j | T | 241,59 ± 11,17 n=8 | 236,32 ± 16,33 n=8 | 238,95 ± 9,37 n=16 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 245,87 ± 12,85 n=7 | 256,34 ± 8,57 n=7 | 251,11 ± 7,56 n=14 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 255,14 ± 38,13 n=7 | 246,52 ± 36,56 n=7 | 250,83 ± 23,70 n=14 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 40j | T | 413,26 ± 41,77 n=8 | 424,94 ± 45,03 n=8 | 419,10 ± 29,71 n=16 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 456,94 ± 18,06 n=7 | 471,05 ± 17,64 n=7 | 464,00 ± 12,28 n=14 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 442,32 ± 26,63 n=7 | 424,16 ± 17,86 n=7 | 433,24 ± 15,61 n=14 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 60j | T | 542,13 ± 38,87 n=16 | 545,31 ± 36,98 n=16 | 543,72 ± 26,39 n=32 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 645,33 ± 72,68 n=9 | 658,54 ± 69,11 n=9 | 651,94 ± 48,67 n=18 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 533,70 ± 51,00 n=5 | 542,98 ± 45,81 n=5 | 538,34 ± 32,35 n=10 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |

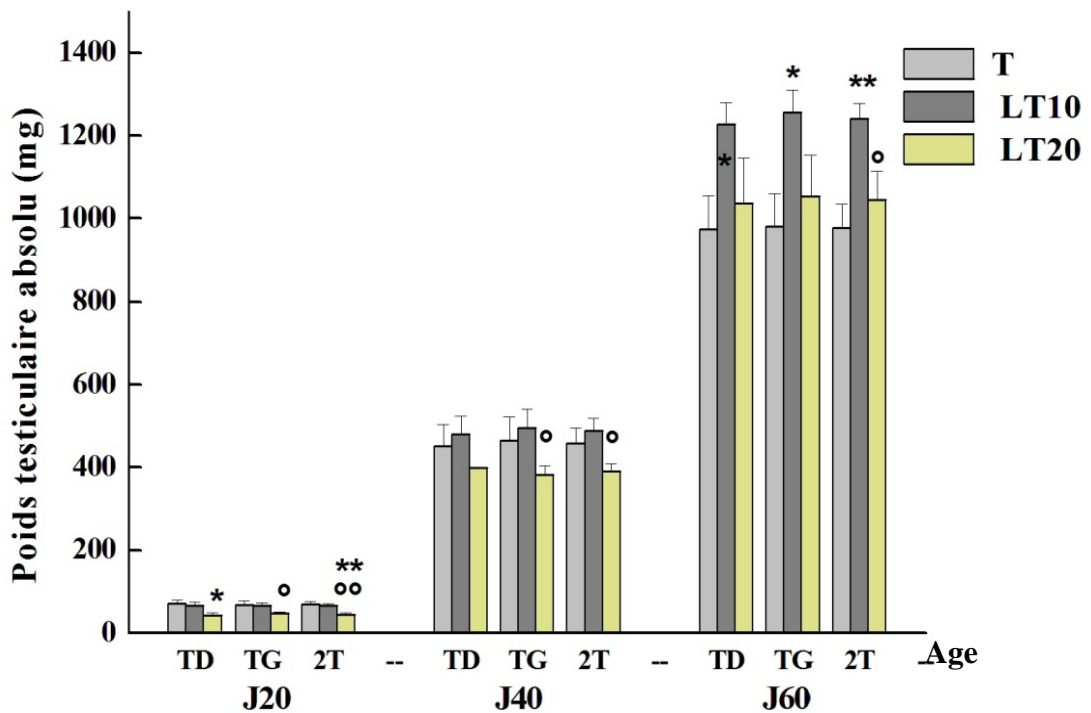


Figure 10 : Variations du poids testiculaire absolu des rats témoins et traités, à 10 μg (LT10) et 20 μg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge.
 *, °: $p < 0,05$; **, °°: $p < 0,01$; ***, °°°: $p < 0,001$; * : LT/T et ° : LT10/LT20

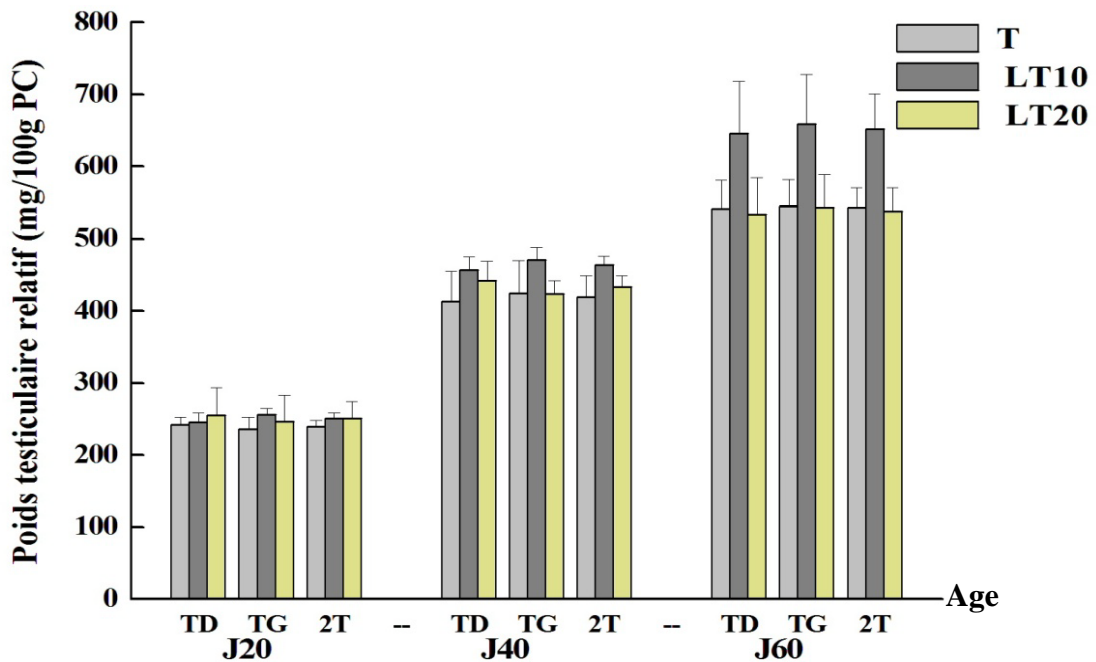


Figure 11 : Variations du poids testiculaire relatif des rats témoins et traités, à 10 μg (LT10) et 20 μg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge.

II- Histologie

1-Etude structurale de la thyroïde :

1-1 Structure de la thyroïde des rates allaitantes en fin et après traitement

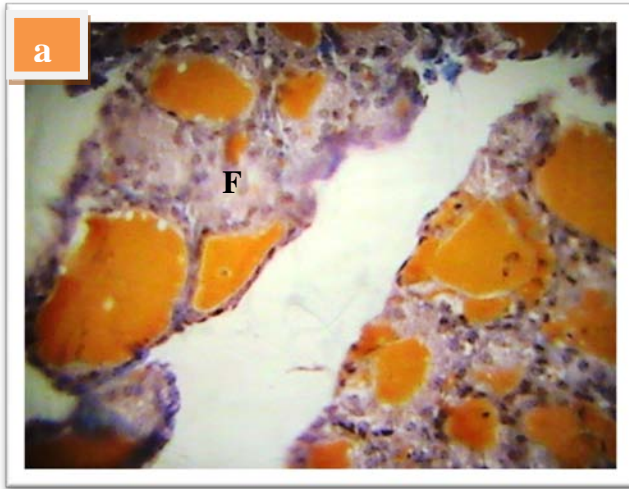
Les follicules thyroïdiens se présentent sous différentes formes histologiques reflétant leurs activités :

- Les follicules en activité sont généralement petits avec des cellules cubiques et hautes, avec densité importante de vésicules de résorption.
- Les follicules en repos, bourrés de colloïdes denses, et présentent un ensemble de cellules épithéliales aplaties.

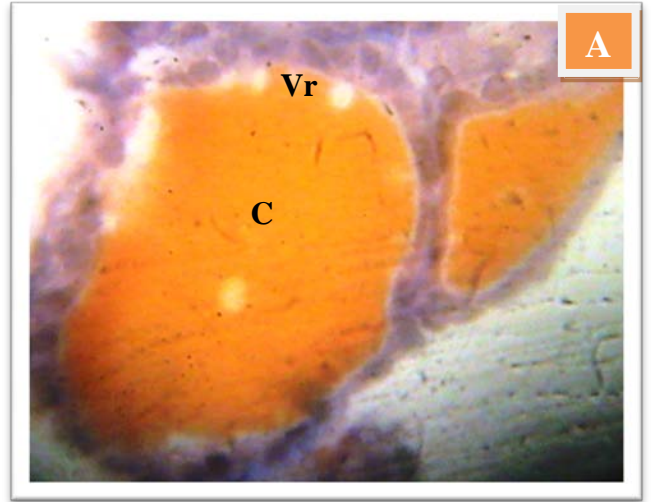
Après 20 jours de traitement à la thyroxine à raison de 10 et 20 $\mu\text{g}/100\text{g PC}/\text{jour}$, la thyroïde des rates présente un épithélium aplati, un colloïde rétracté et une absence de vésicules de résorption témoignant d'une faible activité de la glande en présence de taux d'hormones thyroïdiennes augmenté par le traitement administré (Planches II ; photos a, b, c et A, B, C). L'atteinte semble plus importante chez le lot traité à la dose de 20 $\mu\text{g}/100\text{g PC}$ par rapport à celui du lot traité à la première dose, quelques follicules pleins et vésicules de résorption subsistant étant observés plus sur les coupes de thyroïde de ce dernier lot.

Les coupes de thyroïdes des mères sacrifiées 40 et 60 jours après traitement, ne présentent pas de différences structurales comparativement aux coupes de glandes de rats témoins (Planches II ; photos d, e, f et Planche III : photos g, h, i). Au fort grossissement, les caractéristiques d'une glande en activité : cellules hautes et nombreuses vésicules de résorption, sont observées témoignant d'un retour à la normale de la glande après arrêt du traitement (Planches II ; photos D, E, F et Planche III ; photos G, H, I).

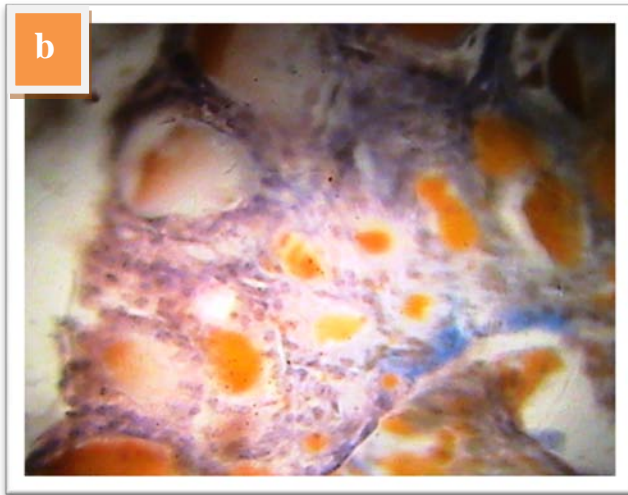
PLANCHE I



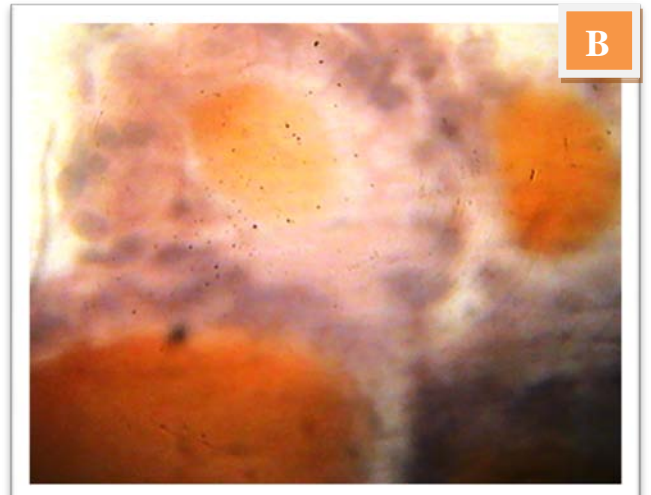
T (Gr x400)



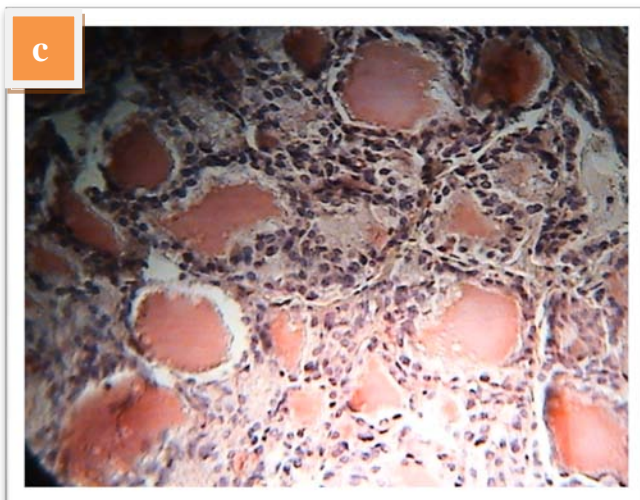
T (Gr x1000)



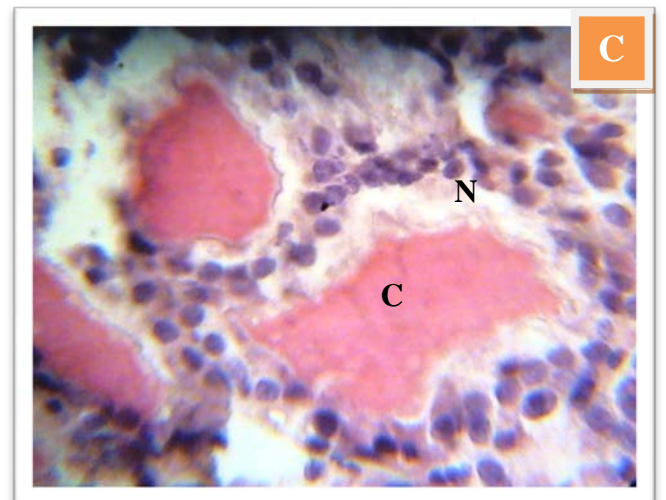
LT10 (Gr x400)



LT10 (Gr x1000)



LT20 (Gr x400)



LT20 (Gr x1000)

Planche I : Structure de la thyroïde de rates témoins et traitées à la LT4 à 20 jours après traitement

a,b,c: Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x 400)

A,B,C: Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson Gr x1000)

Légende :

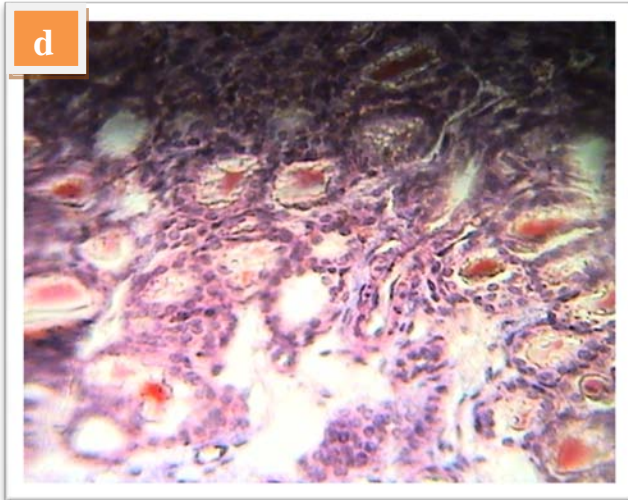
C : Colloïde

Vs : Vésicules de résorption

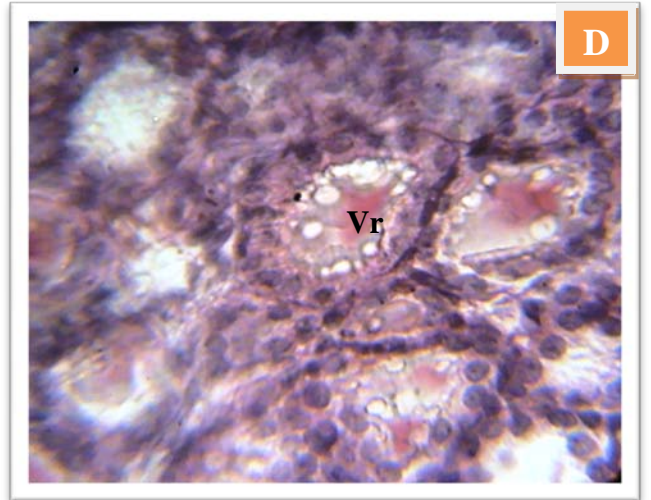
F : Follicule thyroïdien

N : Noyau

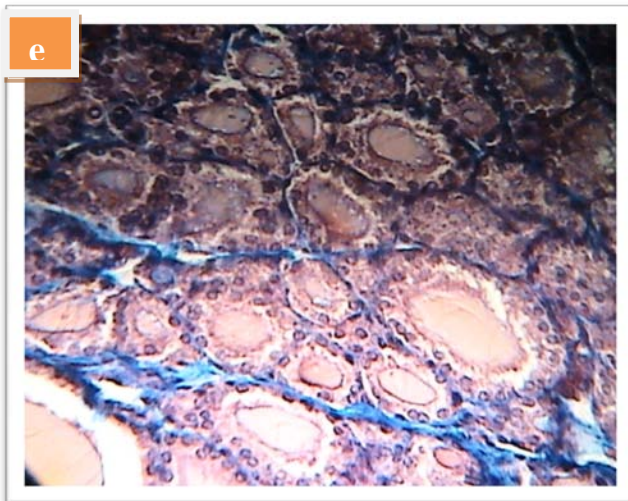
PLANCHE II



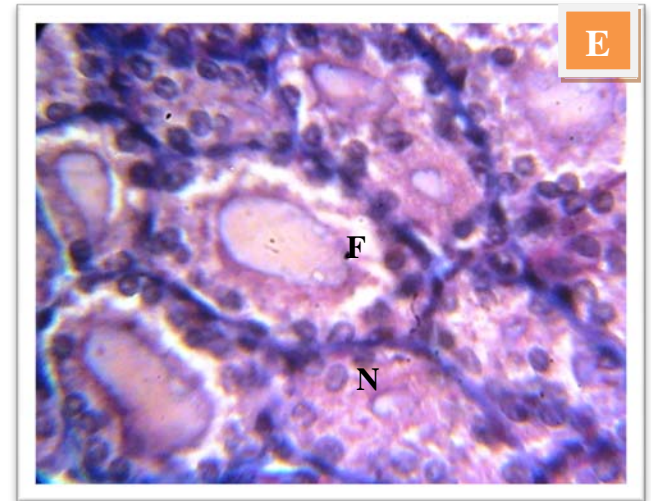
T (Gr x400)



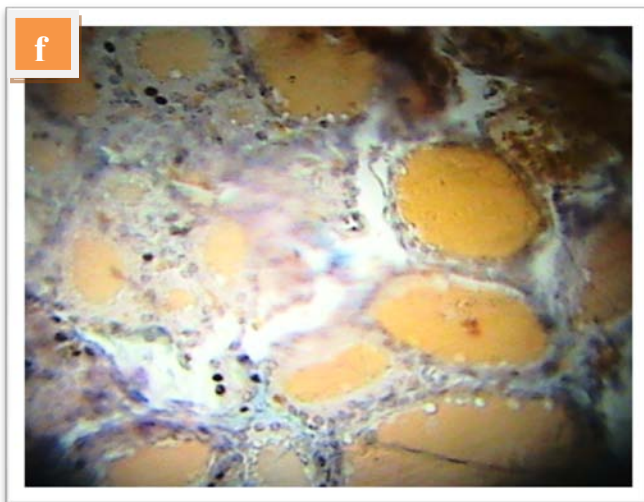
T (Gr x1000)



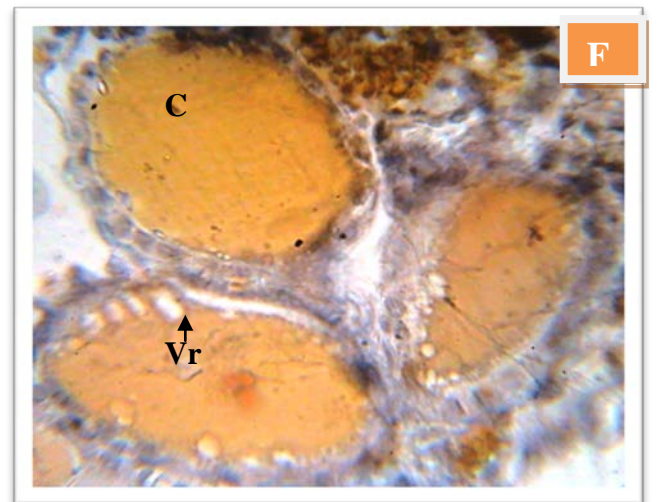
LT10 (Gr x400)



LT10 (Gr x1000)



LT20 (Gr x400)



LT20 (Gr x1000)

Planche II : Structure de la thyroïde de rates témoins et traitées à la LT4 à 40 jours après traitement

d,e,f: Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

D,E,F: Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

C : Colloïde

Vs : Vésicules de résorption

F : Follicule thyroïdien

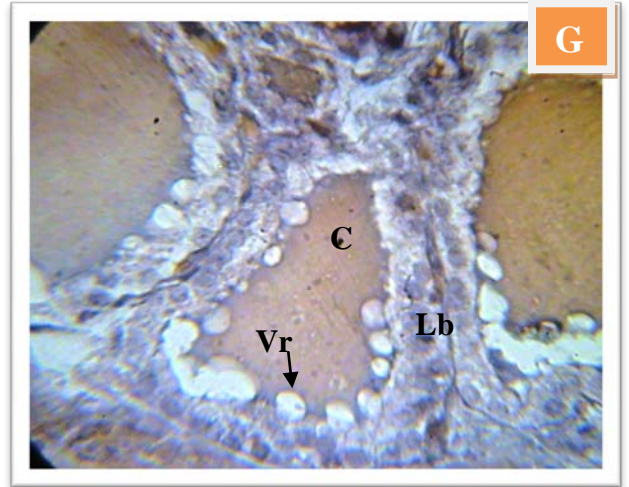
N : Noyau

PLANCHE III



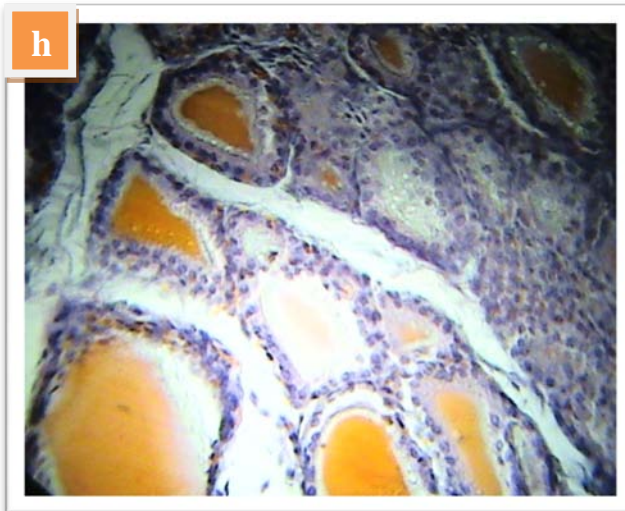
g

T (Gr x400)



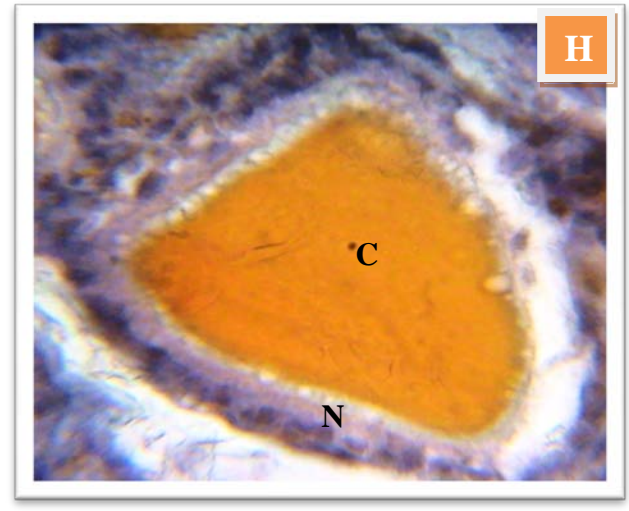
G

T (Gr x1000)



h

LT10 (Gr x400)



H

LT10 (Gr x1000)



i

LT20 (Gr x400)



I

LT20 (Gr x1000)

Planche III : Structure de la thyroïde de rates témoins et traitées à la LT4 à 60 jours après traitement

g,h,i: Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

G,H,I: Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

C : Colloïde

Vs : Vésicules de résorption

F : Follicule thyroïdien

N : Noyau

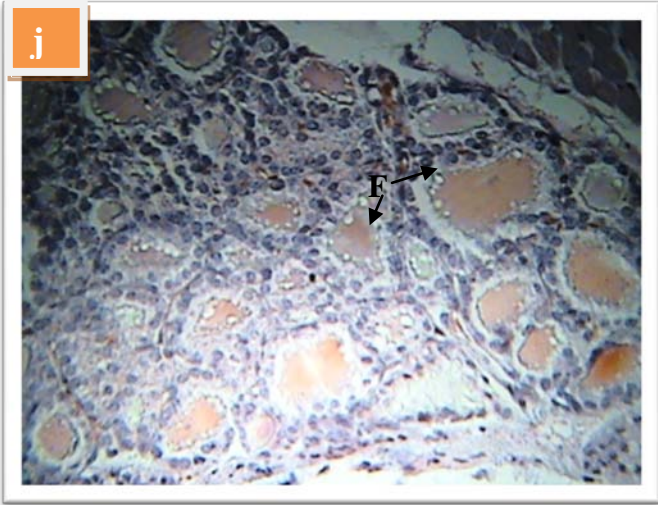
1-2 Structure de la thyroïde des rats à différents âges

L'analyse microscopique montre que la glande est formée de nombreux follicules avec des tailles et des formes variables irrégulièrement sphériques aussi bien chez les animaux témoins que chez les traités LT10 et LT20.

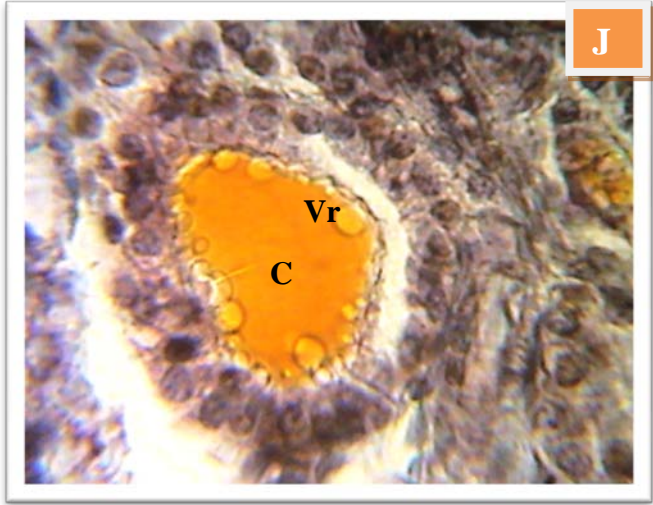
A l'âge de 20 jours, la thyroïde des rats témoins (Planche IV ; photos j et J) est caractérisée par de nombreux follicules dont le centre est totalement occupé par un colloïde fortement coloré. De nombreuses vésicules de résorption entourent le colloïde suggérant une internalisation importante de la thyroglobuline et par là même une synthèse active d'hormones thyroïdiennes. Cet aspect diffère de celui observé sur les coupes de thyroïde de rats du lot traité à la LT4 à 20 µg/100g PC (Planche IV ; photos k et K) qui, malgré la présence d'un épithélium haut, montrent moins de follicules avec un colloïde, la présence de follicules dont le colloïde est rétracté et des vésicules de résorption beaucoup moins nombreuses.

Les coupes de thyroïdes de rats âgés de 40 et de 60 jours ne présentent aucune différence structurale comparativement aux coupes de rats témoins (Planche V ; photos l, m, n et L, M, N pour les rats âgés de 40 jours et Planche VI ; photos p, q et O, P, Q pour les rats âgés de 60 jours). Les follicules thyroïdiens présentent un épithélium haut avec un noyau basal témoignant d'une activité de la glande, le colloïde présente un aspect granuleux avec des vésicules de résorption en bordure de l'épithélium, représentant un signe morphologique de fonctionnement vésiculaire et témoigne d'une action réversible des effets de l'hyperthyroïdie induite à la naissance et arrêtée à l'âge 21 jours.

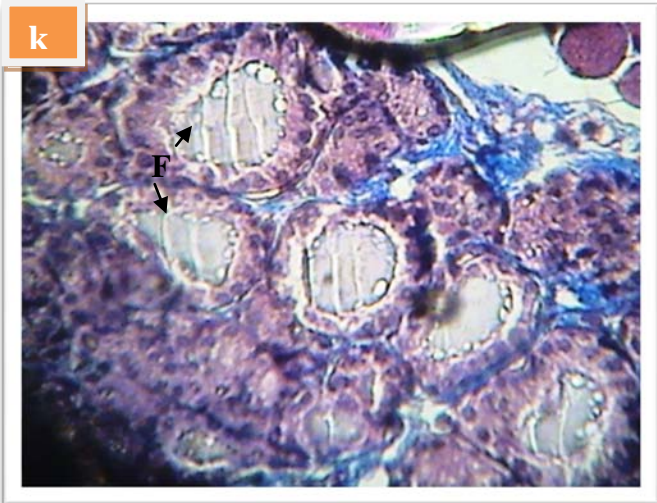
PLANCHE IV



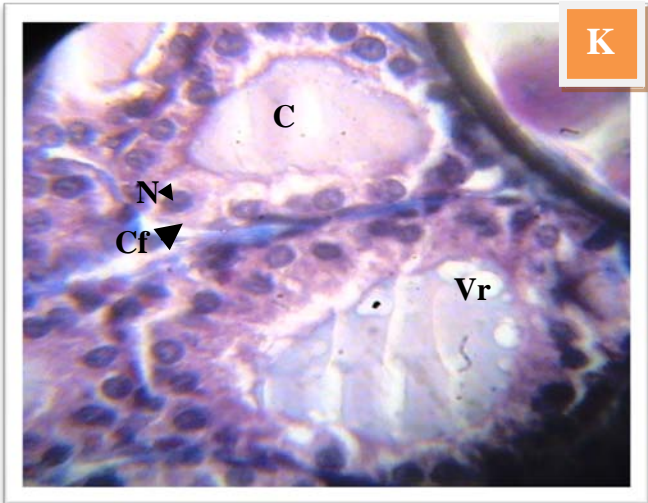
T (Gr x400)



T (Gr x1000)



LT20 (Gr x400)



LT20 (Gr x1000)

Planche IV : Structure de la thyroïde de rats témoins et traités à la LT4 à l'âge de 20 jours

j,k: Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

J,K: Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

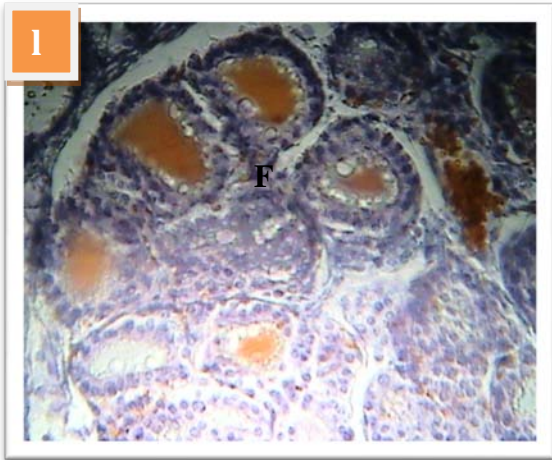
C : Colloïde

Vs : Vésicules de résorption

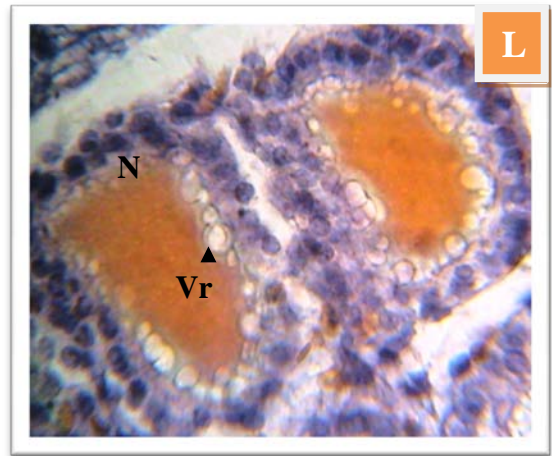
F : Follicule thyroïdien

N : Noyau

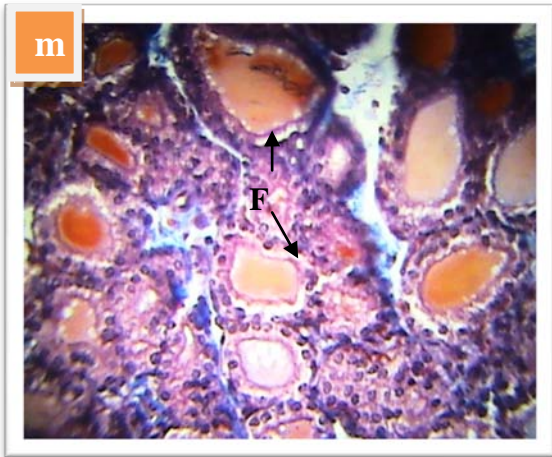
PLANCHE V



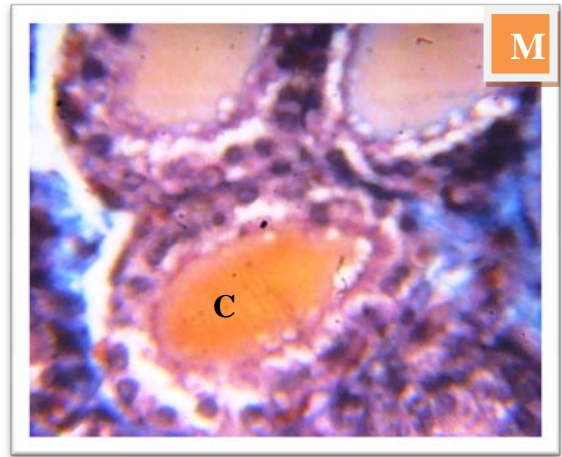
T (Gr x400)



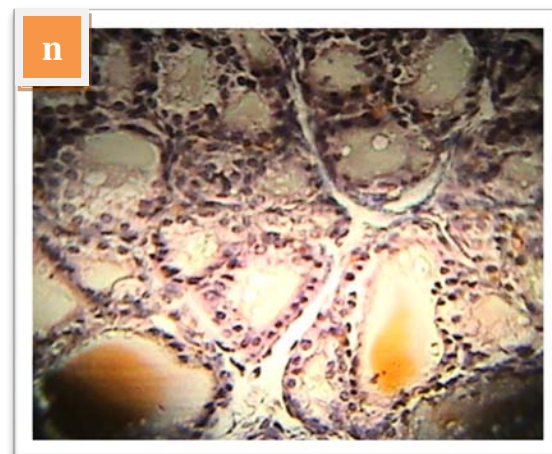
T (Gr x1000)



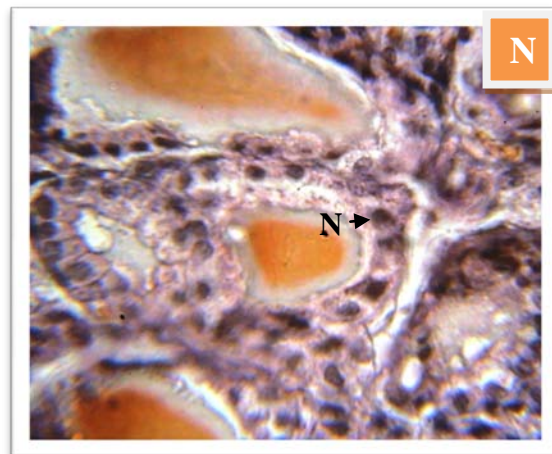
LT10 (Gr x400)



LT10 (Gr x1000)



LT20 (Gr x400)



LT20 (Gr x1000)

Planche V : Structure de la thyroïde de rats témoins et traités à la LT4 à l'âge de 40 jours

l,m,n: Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

L,M,N: Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

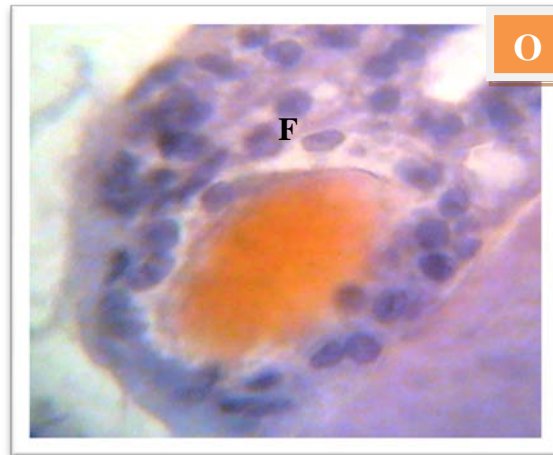
C : Colloïde

Vs : Vésicules de résorption

F : Follicule thyroïdien

N : Noyau

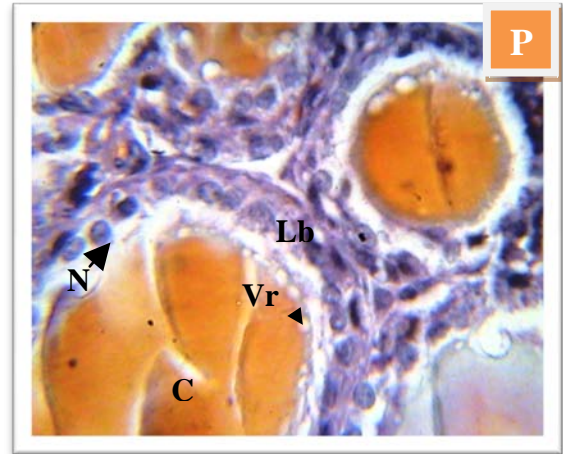
PLANCHE VI



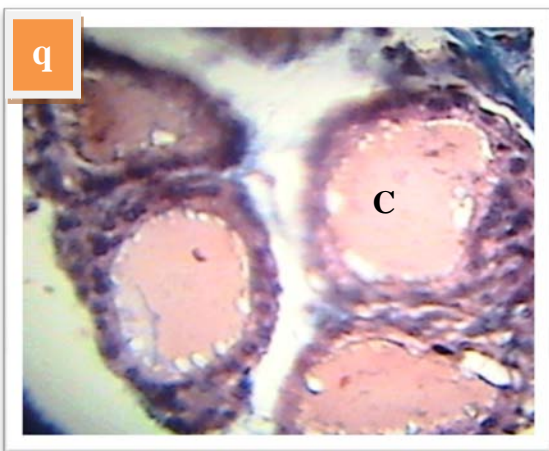
T (Gr x1000)



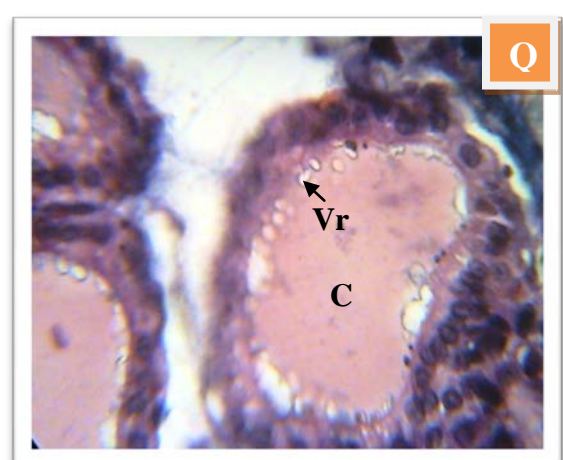
LT10 (Gr x400)



LT10 (Gr x 1000)



LT20 (Gr x400)



LT20 (Gr x1000)

Planche VI : Structure de la thyroïde de rats témoins et traités à la LT4 à l'âge de 60 jours

p,q: Coupes de 5 µm colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

O,P,Q: Coupes de 5 µm colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

C : Colloïde

Vs : Vésicules de résorption

F : Follicule thyroïdien

N : Noyau

2-Etude structurale du testicule :

L'observation au microscope photonique au faible grossissement, des coupes de testicule de rats témoins et traités à 20 jours, montre des sections de tubules séminifères de différentes tailles entourés d'un tissu interstitiel vascularisé plus ou moins disséminé (photos a, b, c). Les coupes de testicule de rats traités à la LT4 à raison de 10 μ g /100g de PC/jour et 20 μ g/100g de PC/jour présentent des tubules séminifères avec un diamètre plus réduit (photos b₁,c₁). Au fort grossissement, les sections des tubules séminifères des testicules de rats témoins montrent un épithélium séminifère et une lumière distincte (photos a₁, A), alors que chez les rats traités LT10 et LT20, la lumière est réduite, voire absente avec apparition de quelques tubules fermés (photos b₁,c₁,B,C).

Sur les coupes de testicules de rats témoins âgés de 40 jours, on observe au fort grossissement des cellules de Sertoli avec un noyau de forme triangulaire et des cellules germinales, à différents stades de la spermatogenèse, qui se développent vers la lumière des tubules, à savoir :

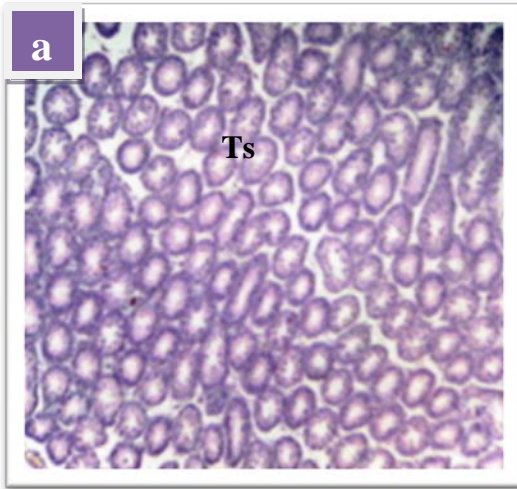
- Spermatogonie de taille moyenne avec un noyau arrondi
- Spermatocyte I avec un noyau volumineux
- Spermatocyte II dont le noyau apparaît plus petit que celui du spermatocyte I
- Spermatide : cellule fortement coloré avec un noyau dense. Les spermatides sont disposées en amas à proximité de la lumière du tube séminifère.
- Et dans quelques tubes, des spermatozoïdes reconnus à leur tête crochue ou à leurs flagelles (photos d₁,D).

Chez les rats traités LT10 et LT20 du même âge, la spermatogenèse semble être ralentie. En effet, des spermatocytes I qui n'ont pas progressé vers la lumière sont observés sur les coupes de testicules de rats traités du lot LT20 (photos f₁,F) et seules des spermatides sont observées sur les coupes de testicules de rats traités du lot traité par une dose plus faible (photos e₁, E). Les cellules de Sertoli semblent être moins importantes chez les rats traités par rapport aux rats témoins.

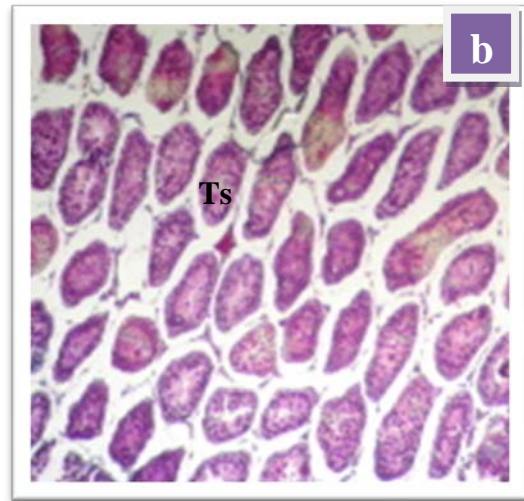
A 60 jours et au faible grossissement la structure des tubes séminifères ne semble pas présenter des différences entre les rats témoins et rats traités (photos g, h, i). Au moyen grossissement on observe une lumière occupée par des spermatozoïdes chez les rats traités et témoins (photos g₁, h₁, i₁) et enfin au plus fort grossissement, les stades de la spermatogenèse sont bien visibles (photos G, H, I), mais la comparaison de l'épithélium séminifère indique une désorganisation cellulaire pour les lots traités LT10 et LT20.

Quand au tissu interstitiel, il apparaît plus étendu chez les animaux âgés de 40 et 60 jours, par rapport aux animaux âgés de 20 jours.

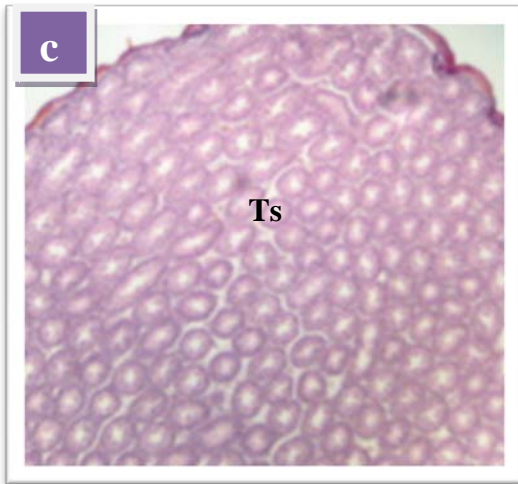
Planche I



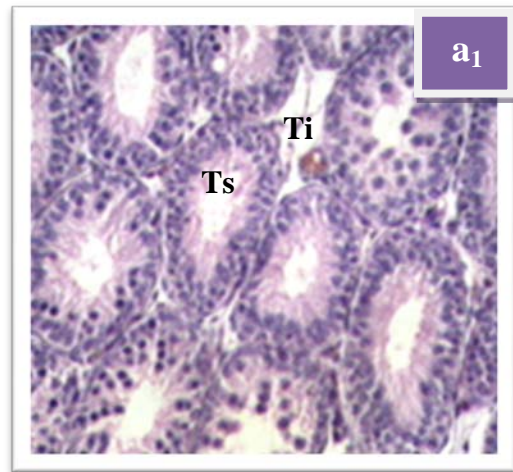
T (Gr x100)



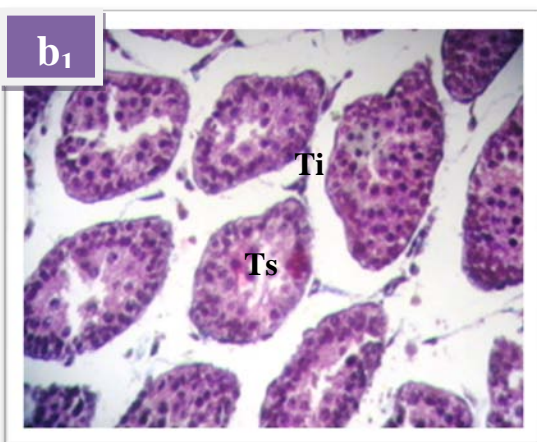
LT10 (Gr x100)



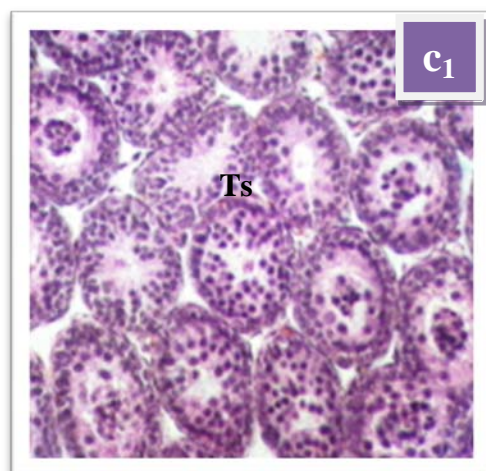
LT20 (Gr x100)



T (Gr x400)

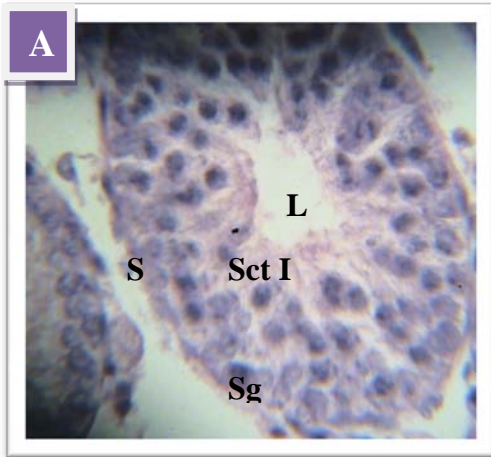


LT10 (Gr x400)

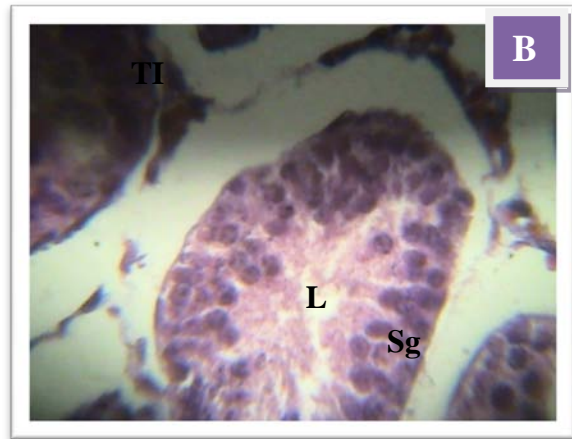


LT20 (Gr x400)

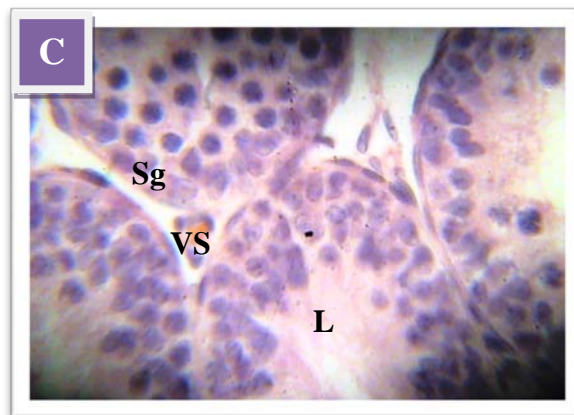
Planche I (suite)



T (Gr x1000)



LT10 (Gr x1000)



LT20 (Gr x1000)

Planche I : Structure du testicule de rats témoins et traités à la LT4 à 20 jours

a,b,c : Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x100)

a₁,b₁,c₁ : Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

A,B,C : Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

Ts : Tubes séminifères

Ti : Tissu interstitiel

Sg : Spermatogonie

Sct I : Spermatoocyte I

Sct II : Spermatoocyte II

Std : Spermatoide

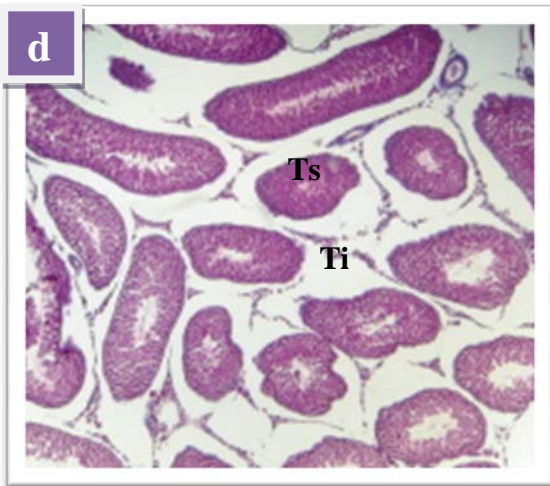
Spz : Spermatozoide

Lg : Cellule de Leydig

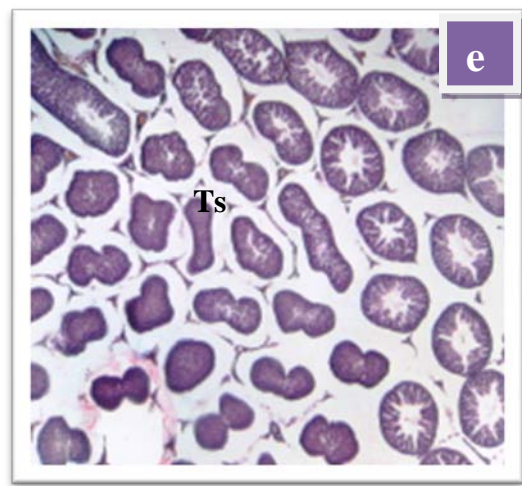
S : Cellule de Sertoli

VS : Vaisseau sanguin

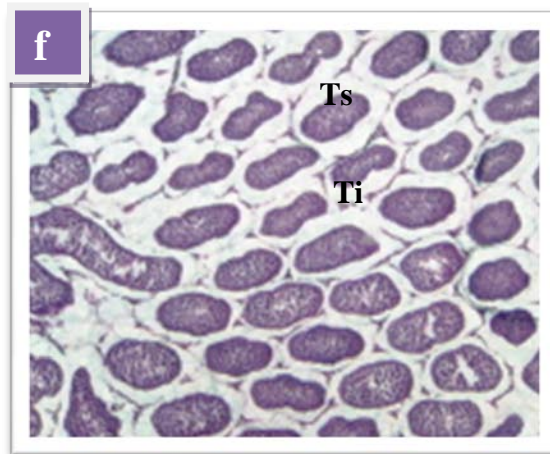
Planche II



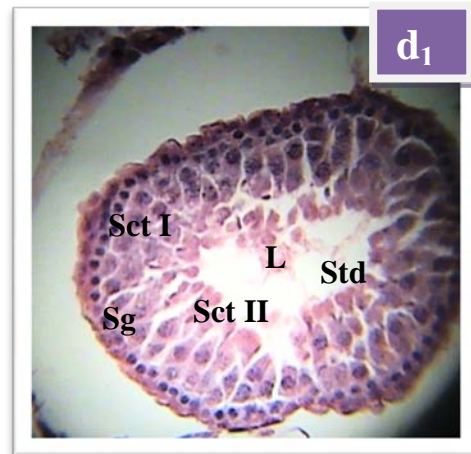
T (Gr x100)



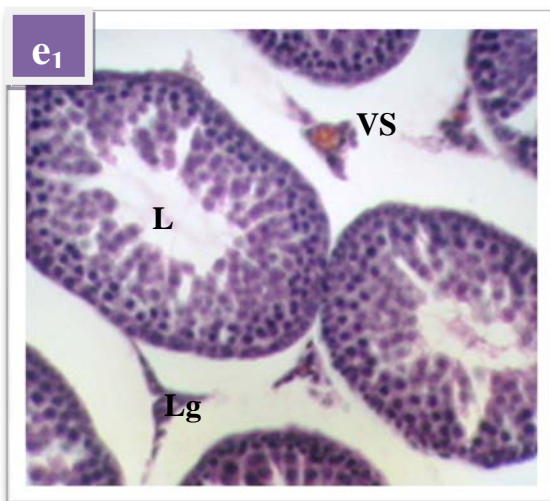
LT10 (Gr x100)



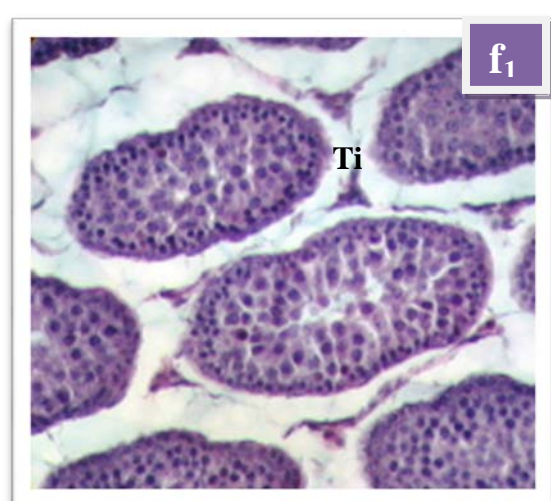
LT20 (Gr x100)



T (Gr x400)

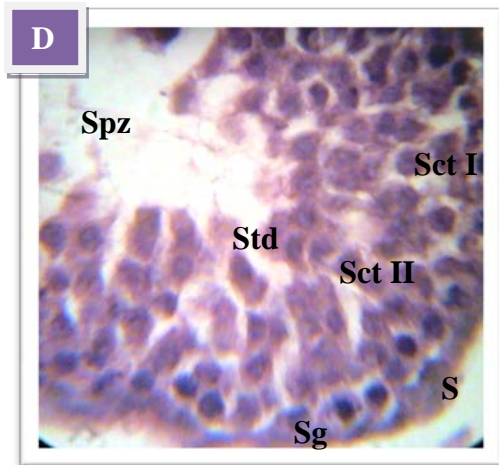


LT10 (Gr x400)

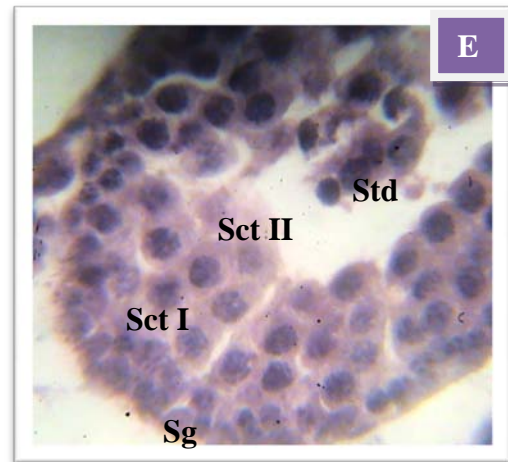


LT20 (Gr x400)

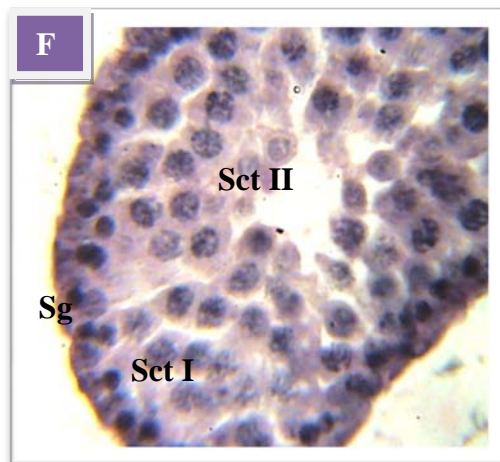
Planche II (suite)



T (Gr x1000)



LT10 (Gr x1000)



LT20 (Gr x1000)

Planche II : Structure du testicule de rats témoins et traités à la LT4 à 40 jours

d,e,f : Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x100)

d₁,e₁,f₁ : Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

D,E,F : Coupes de 5 μm colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

Sg : Spermatogonie

Sct I : Spermatocyte I

Sct II : Spermatocyte II

Std : Spermatide

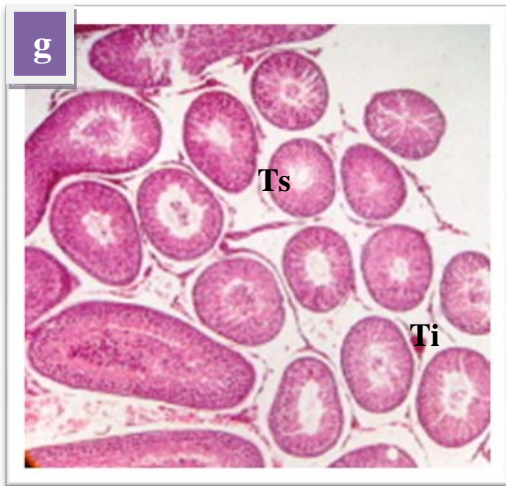
Spz : Spermatozoïde

Lg : Cellule de Leydig

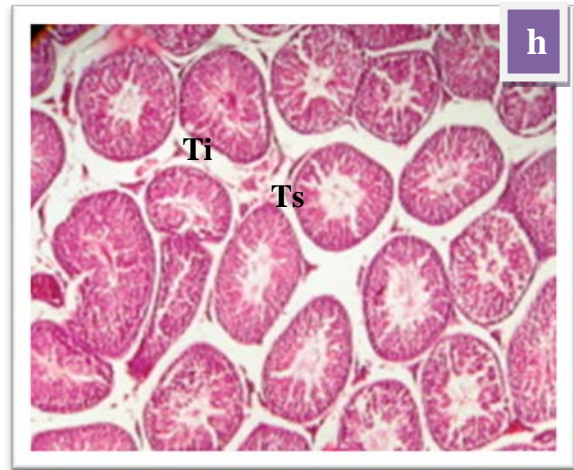
S : Cellule de Sertoli

Vs : Vaisseau sanguin

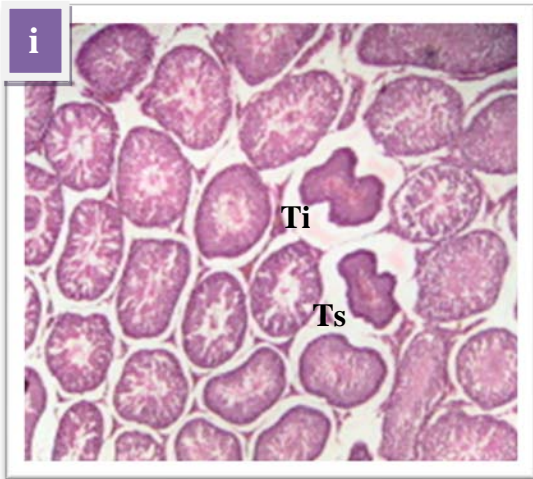
Planche III



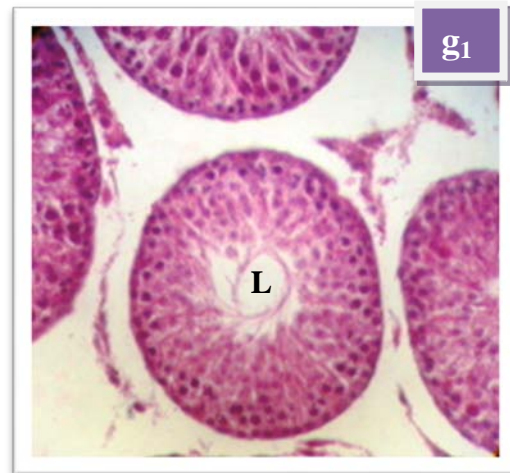
T (Gr x100)



LT10 (Gr x100)



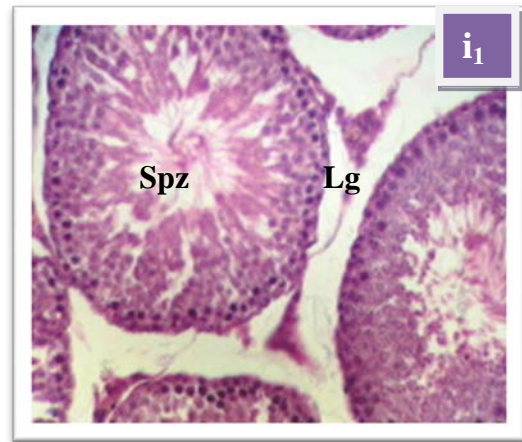
LT20 (Gr x100)



T (Gr x400)

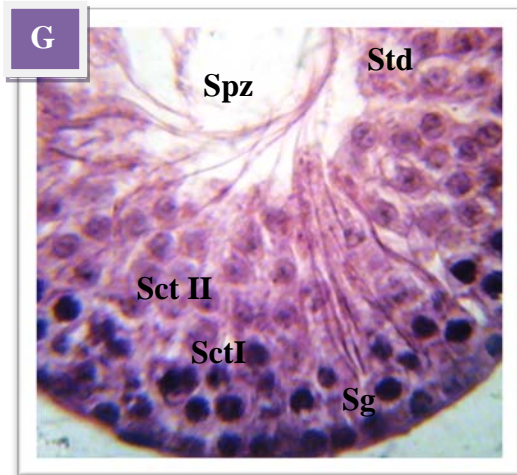


LT10 (Gr x400)

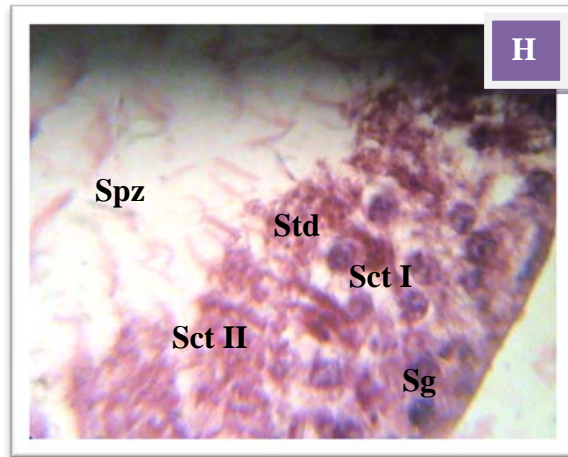


LT20 (Gr x400)

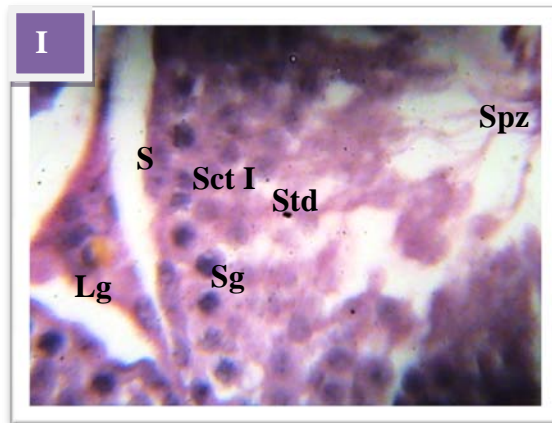
Planche III (suite)



T (Gr x1000)



LT10 (Gr x1000)



LT20 (Gr x1000)

Planche III : Structure du testicule de rats témoins et traités à la LT4 à 60 jours

g,h,i : Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x100)

g₁,h₁,i₁ : Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x400)

G,H,I : Coupes de 5 μ m colorées au trichrome de Masson (Gr x1000)

Légende :

Sg : Spermatogonie

Sct I : Spermatocyte I

Sct II : Spermatocyte II

Std : Spermatide

Spz : Spermatozoïde

Lg : Cellule de Leydig

La réduction du diamètre des tubules séminifères chez les rats traités est confirmée par l'étude morphométrique (Tableau XII et Figure 12). En effet à l'âge de 20 jours, une diminution significative apparaît entre les diamètres moyens des tubules séminifères des rats témoins et des rats traités LT10 ($220,69 \pm 3,13 \mu\text{m}$ contre $206,27 \pm 5,43 \mu\text{m}$; $p < 0,05$) et hautement significative pour les rats du lot LT20 ($189,50 \pm 2,67 \mu\text{m}$ contre $220,69 \pm 3,13 \mu\text{m}$; $p < 0,001$). Ces variations sont confortés par les valeurs moyennes du diamètre de la lumière des tubules séminifères, plus réduite chez le lot traité à la LT4 à raison de $10 \mu\text{g}/100\text{g PC}$ ($41,17 \pm 3,09 \mu\text{m}$ contre $61,29 \pm 3,97 \mu\text{m}$; $p < 0,0001$), et le lot traité à la LT4 à raison de $20 \mu\text{g}/100\text{g PC}$ ($47,47 \pm 4,48 \mu\text{m}$ contre $61,29 \pm 3,97 \mu\text{m}$; $p < 0,05$).

A l'âge de 40 jours, alors que le diamètre moyen des tubules séminifères des rats traités avec $20 \mu\text{g}$ de LT4 $313,95 \pm 16,58 \mu\text{m}$ est similaire à celui des témoins estimé à $323,48 \pm 10,63 \mu\text{m}$ ($p < 0,05$), on note une augmentation significative du diamètre moyen des tubules séminifères des testicules de rats traités avec la dose de $10 \mu\text{g}$, la valeur moyenne étant égale à $400,98 \pm 11,18 \mu\text{m}$ ($p < 0,001$); le diamètre moyen de la lumière des tubules testicules de rats traités du lot LT10 ($134,33 \pm 8,29 \mu\text{m}$) est significativement supérieur à celui des témoins ($82,98 \pm 4,39 \mu\text{m}$, $p < 0,001$). Le diamètre moyen des tubules séminifères des rats du lot LT20 est estimé à $100,97 \pm 8,76 \mu\text{m}$. ($p > 0,05$).

A l'âge de 60 jours, les diamètres moyens des tubules séminifères des rats traités à la thyroxine aux deux doses sont supérieurs à celui des rats témoins. Les estimations respectives pour les lots T, LT10 et LT20 sont : $486,89 \pm 9,21 \mu\text{m}$, $527,66 \pm 7,62 \mu\text{m}$ et $516,97 \pm 11,29 \mu\text{m}$. La comparaison des moyennes fait apparaître une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre le diamètre des tubes séminifères des rats témoins et des rats traités LT10, et une différence significative ($p < 0,05$) existe entre les rats témoins et les rats traités LT20. La comparaison des moyennes des diamètres de la lumière fait apparaître une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre les témoins et les traités LT10 qui ont des valeurs respectives de $188,50 \pm 7,26 \mu\text{m}$ et $224,32 \pm 6,13 \mu\text{m}$, et une différence significative ($p < 0,05$) entre le lot témoin et le lot traité LT20 dont le diamètre moyen est évalué à $216,45 \pm 8,18 \mu\text{m}$.

Tableau XII : Variations des diamètres des tubules séminifères et de la lumière chez les rats témoins et traités à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4 (Moy ± SEM).

| | 20 J | | 40 J | | 60 J | |
|----------------|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| | Diamètre des tubules séminifères (µm) | Diamètre de la lumière (µm) | Diamètre des tubules séminifères (µm) | Diamètre de la lumière (µm) | Diamètre des tubules séminifères (µm) | Diamètre de la lumière (µm) |
| Témoins | 220,69 ± 3,13 | 61,29 ± 3,97 | 323,48 ± 10,63 | 82,98 ± 4,39 | 486,79 ± 9,21 | 188,5 ± 7,26 |
| LT10 | 206,27 ± 5,43 | 41,17 ± 3,09 | 400,98 ± 11,18 | 134,33 ± 8,29 | 527,66 ± 7,62 | 224,32 ± 6,13 |
| LT20 | 189,5 ± 2,67 | 47,47 ± 4,48 | 313,95 ± 16,58 | 100,97 ± 8,76 | 516,97 ± 11,29 | 216,45 ± 8,18 |

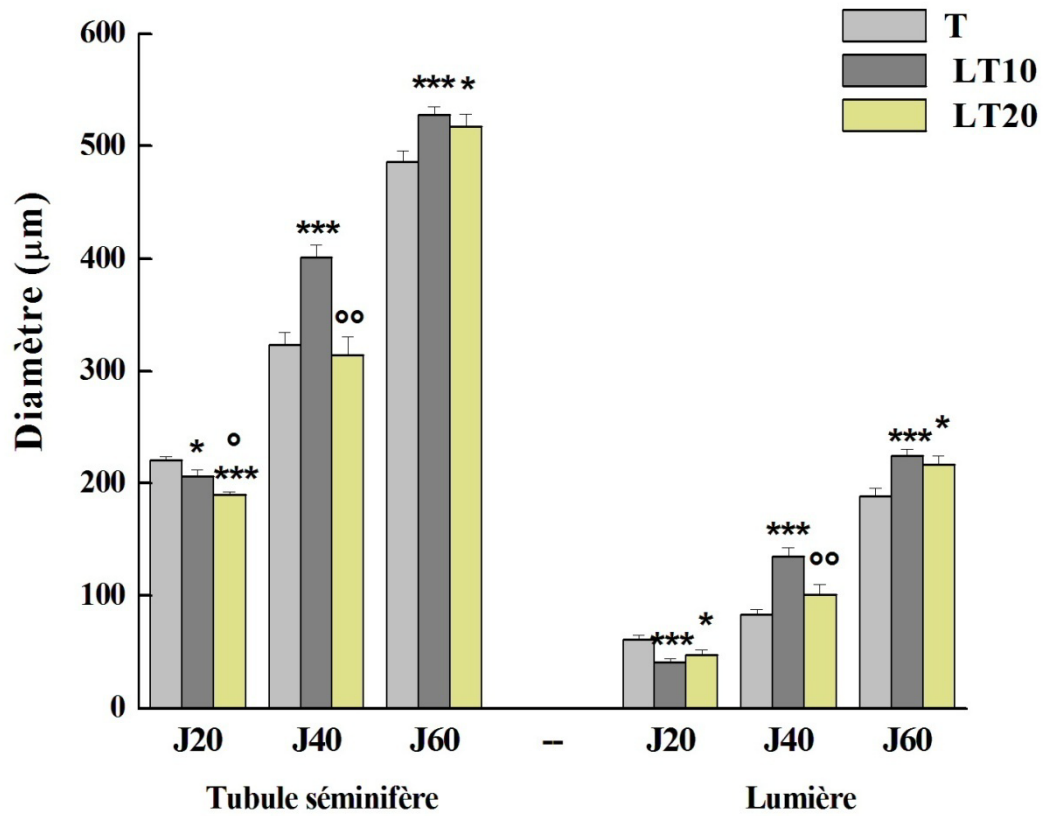


Figure 12 : Variations du diamètre des tubules séminifères et de la lumière des rats témoins et traités, à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge.

*: $p < 0,05$; *** : $p < 0,001$; LT/T

III- Taux hormonaux plasmatiques :

1-Variations des taux plasmatiques des hormones thyroïdiennes libres :

Les taux de la FT4 et la FT3 sont rapportés dans le tableau XIII et XIV, et figures 13 et 14.

Pour la FT4 à l'âge de 20 jours le taux est de $15,10 \pm 1,12$ pM, chez les rats témoins, et $25,60 \pm 4,20$ pM chez les rats LT10 et $22,32 \pm 2,64$ pM chez les rats LT20, une différence significative existe entre le lot témoin et le lot traité LT10 ($p < 0,05$), et entre le lot témoin et le lot LT20 ($p < 0,05$).

A l'âge de 40 jours le taux est estimé à $19,38 \pm 1,30$ pM chez les rats témoins, celui des rats traités est de $19,20 \pm 1,19$ pM et $17,35 \pm 2,13$ pM successivement chez les rats LT10 et LT20, aucune différence significative n'existe entre ces taux ($p > 0,05$).

A l'âge de 60 jours le taux de FT4 des rats témoins est évalué à $26,12 \pm 0,94$ pM, et $25,77 \pm 1,14$ pM chez les traités à dose de $10 \mu\text{g}/100\text{g}$ de PC (T/LT10 : $p > 0,05$), celui des LT20 est de $21,70 \pm 1,21$ pM, (T/LT20 : $p < 0,05$ et LT10/LT20 : $p < 0,05$).

A l'âge de 20 jours le taux de la FT3 chez les rats témoins est de $4,25 \pm 0,84$ pM, celui des rats traités est de $7,05 \pm 1,85$ pM, et $7,60 \pm 1,10$ pM successivement pour les LT10 et LT20. Une différence significative existe entre le lot T et LT20 à cet âge ($p < 0,05$).

A l'âge de 40 jours les valeurs sont estimés à $7,72 \pm 0,30$ pM pour les rats témoins, $7,68 \pm 0,17$ pM pour les rats traités LT10 et la valeur des LT20 est estimé à $6,83 \pm 0,55$ pM, aucune différence significative n'existe ($p > 0,05$).

A l'âge 60 jours le taux de FT3 chez les rats témoins est de $8,19 \pm 0,40$ pM celui des rats traités à la dose de $10 \mu\text{g}/100\text{g}$ de PC est de $8,56 \pm 0,48$ pM, les rats traités à la dose de $20 \mu\text{g}$ ont un taux de $8,06 \pm 0,56$ pM, aucune différence significative n'existe entre ces taux ($p > 0,05$).

Tableau XIII : Variations du taux plasmatique de FT4 chez les rats témoins et traités à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4 (Moy ± SEM).

| Age | Lots | FT4 (pM) | Moyennes comparées Valeurs de p et signification statistique | |
|-----|------|----------------------|--|-----------|
| | | | Lots | p |
| 20j | T | 15,10 ± 1,12 n=5 | LT10/T | p<0,02 S |
| | LT10 | 25,60 ± 4,20 n=2 | LT20/T | p<0,05 S |
| | LT20 | 22,32 ± 2,64 n=2 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 40j | T | 19,38 ± 1,30 n=7 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 19,20 ± 1,19 n=8 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 17,35 ± 2,13 n=6 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 60j | T | 26,12 ± 0,94 n=17 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 25,77 ± 1,14 n=8 | LT20/T | p<0,05 S |
| | LT20 | 21,70 ± 1,21 n=5 | LT20/LT10 | p<0,05 S |

Tableau XIV : Variations du taux plasmatique de FT3 chez les rats témoins et traités à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4 (Moy ± SEM).

| Age | Lots | FT3 (pM) | Moyennes comparées Valeurs de p et signification statistique | |
|-----|------|---------------------|--|-----------|
| | | | Lots | p |
| 20j | T | 4,25 ± 0,84 n=8 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 7,05 ± 1,85 n=3 | LT20/T | p<0,05 S |
| | LT20 | 7,60 ± 1,10 n=3 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 40j | T | 7,72 ± 0,30 n=9 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 7,68 ± 0,17 n=8 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 6,83 ± 0,55 n=9 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 60j | T | 8,19 ± 0,40 n=17 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 8,56 ± 0,48 n=9 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 8,06 ± 0,56 n=5 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |

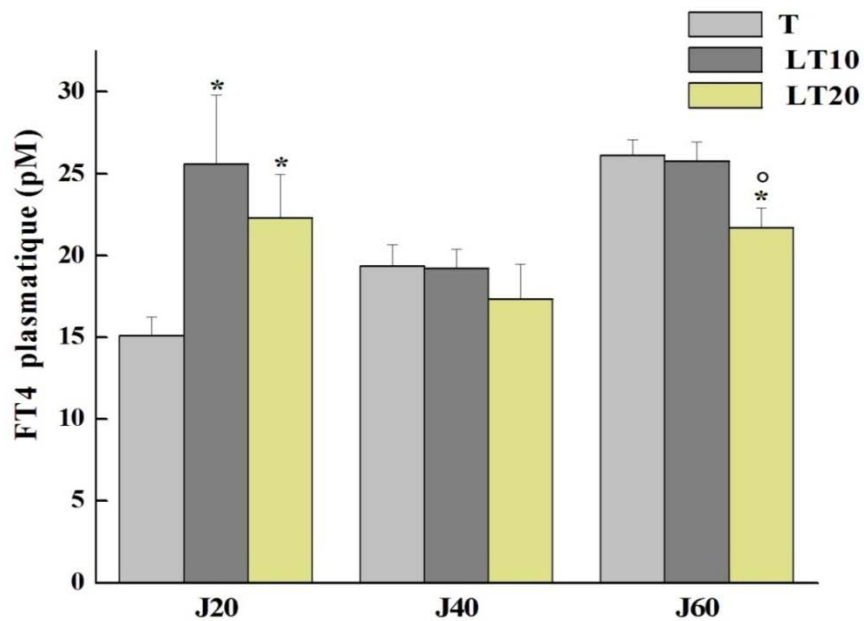


Figure 13 : Variations du taux plasmatique de FT4 des rats témoins et traités, à 10 μg (LT10) et 20 μg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge. *: $p < 0,05$; LT/T

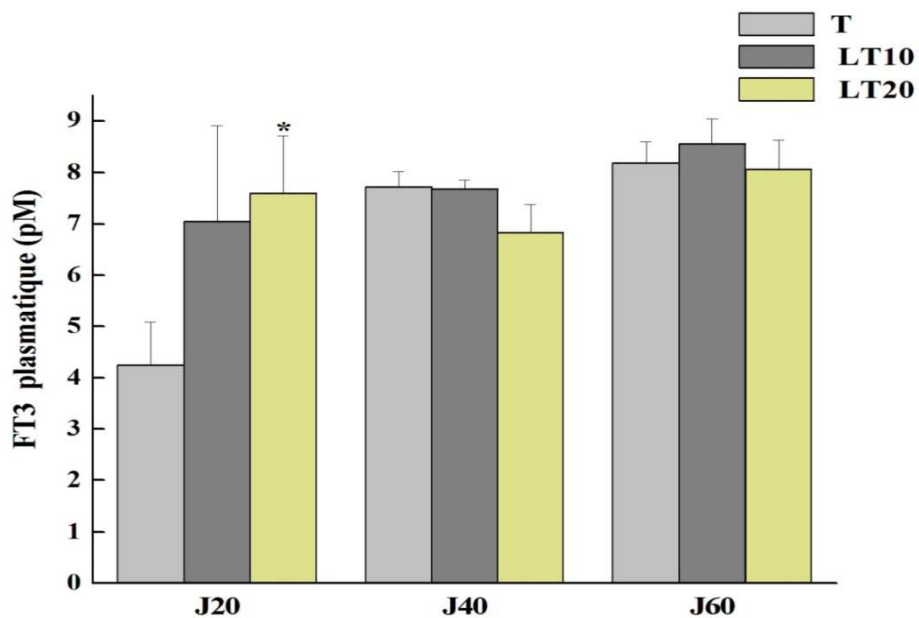


Figure 14 : Variations du taux plasmatique de FT3 des rats témoins et traités, à 10 μg (LT10) et 20 μg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge. *: $p < 0,05$; LT/T

2-Variations des taux plasmatiques de la testostérone :

La testostéronémie absolue moyenne à l'âge de 20 jours est estimée à $0,55 \pm 0,09$ ng/ml, $0,71 \pm 0,16$ ng/ml et $0,28 \pm 0,05$ ng/ml respectivement pour les rats témoins, traités à 10 et 20 μ g de thyroxine/100g PC/jour. A 40 jours ces taux atteignent les valeurs de $0,77 \pm 0,10$ ng/ml pour le lot T, $0,81 \pm 0,17$ pour le lot LT10 et $0,49 \pm 0,05$ ng/ml pour le second lot traité à la LT4. A l'âge de 60 jours, les taux plasmatiques de testostérone sont $1,06 \pm 0,24$ ng/ml, $2,62 \pm 0,94$ ng/ml et $0,51 \pm 0,14$ ng/ml respectivement pour les 3 lots (Tableau XV, Figure 15).

Il existe une différence significative entre le lot témoin et lot traité LT20 à 20 jour, ainsi que entre LT10 et LT20 à cet âge, et une différence significative entre le lot témoin et le lot LT10 à 60 jour ($p < 0,05$).

Pour la testostéronémie relative les valeurs sont de $2,22 \pm 0,16$ pour le lot témoin, et de $2,63 \pm 0,51$ et $1,31 \pm 0,29$ ng/ml/100g de PC successivement pour les lots traités à la dose de 10 et 20 μ g de thyroxine, à l'âge de 20 jours. A l'âge de 40 jours les valeurs sont estimés à $0,71 \pm 0,13$ pour le lot témoin, et $0,46 \pm 0,08$ pour le lot LT10, et $0,50 \pm 0,06$ pour le lot LT20. A 60 jours les valeurs pour les témoins sont de $0,63 \pm 0,14$, et $1,3 \pm 0,49$ pour les LT10 et $0,26 \pm 0,07$ ng/ml/100g de PC pour les LT20. Une différence significative existe entre le lot témoin et le lot LT20, ainsi que entre le lot LT10 et LT20 ceci à l'âge de 20 jours. (Tableau XVI, Figure 16).

Tableau XV : Variations du taux plasmatique absolu de la testostérone chez les rats témoins et traités à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4 (Moy ± SEM).

| Age | Lots | Testostérone plasmatique absolue (ng/ml) | Moyennes comparées | |
|-----|------|--|-------------------------------|-----------|
| | | | Valeurs de p et signification | |
| | | | Lots | p |
| 20j | T | 0,55 ± 0,09 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 0,71 ± 0,16 | LT20/T | P<0,05 S |
| | LT20 | 0,28 ± 0,05 | LT20/LT10 | P<0,05 S |
| 40j | T | 0,77 ± 0,10 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 0,81 ± 0,17 | LT20/T | p<0,05 S |
| | LT20 | 0,49 ± 0,05 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 60j | T | 1,06 ± 0,24 | LT10/T | P<0,05 S |
| | LT10 | 2,62 ± 0,94 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 0,51 ± 0,14 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |

Tableau XVI : Variations du taux plasmatique relatif de la testostérone chez les rats témoins et traités à 10 µg (LT10) et 20 µg (LT20) de LT4 (Moy ± SEM).

| Age | Lots | Testostérone plasmatique relative (ng/ml/100g PC) | Moyennes comparées Valeurs de p et signification statistique | |
|-----|------|---|---|-----------|
| | | | Lots | p |
| 20j | T | 2,22 ± 0,16 n=4 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 2,63 ± 0,51 n=5 | LT20/T | P<0,05 S |
| | LT20 | 1,31 ± 0,29 n=5 | LT20/LT10 | P<0,05 S |
| 40j | T | 0,71 ± 0,13 n=4 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 0,46 ± 0,08 n=3 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 0,50 ± 0,06 n=7 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |
| 60j | T | 0,63 ± 0,14 n=16 | LT10/T | p>0,05 NS |
| | LT10 | 1,3 ± 0,49 n=6 | LT20/T | p>0,05 NS |
| | LT20 | 0,26 ± 0,07 n=5 | LT20/LT10 | p>0,05 NS |

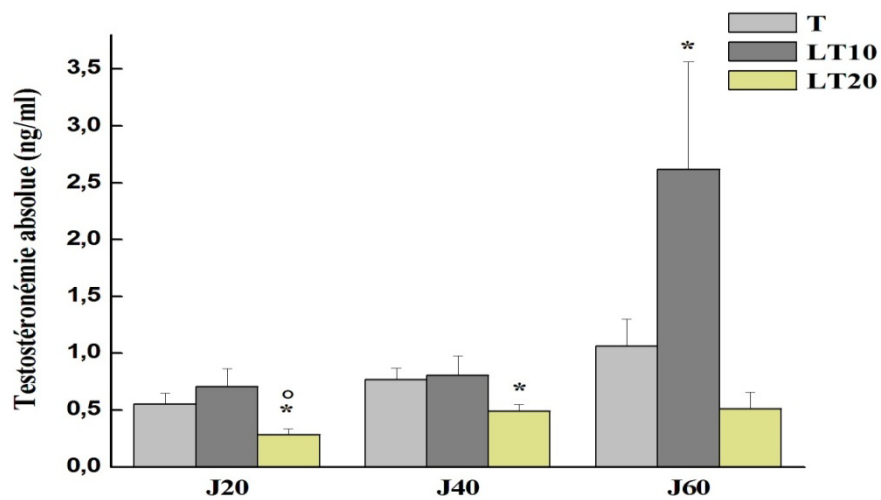


Figure 15 : Variations du taux plasmatique absolu de la testostérone des rats témoins et traités, à 10 μg (LT10) et 20 μg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge. *: $p < 0,05$; LT/T

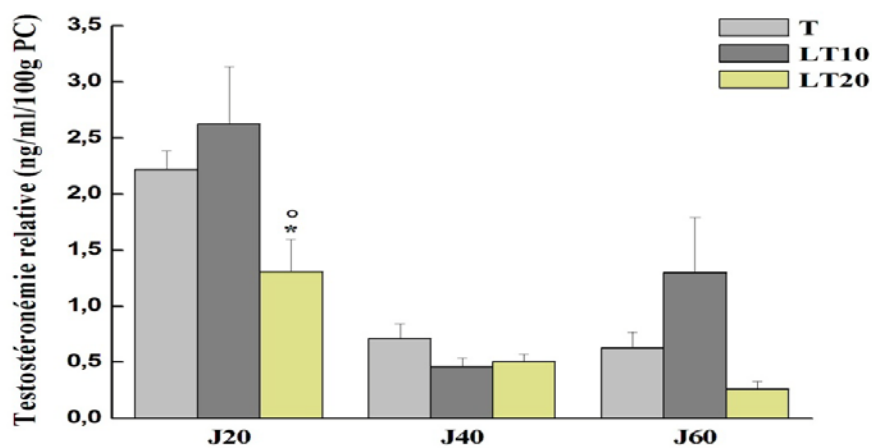


Figure 16 : Variations du taux plasmatique relatif de la testostérone des rats témoins et traités, à 10 μg (LT10) et 20 μg (LT20) de LT4, en fonction de l'âge. *: $p < 0,05$; LT/T

B- Interprétation des résultats et discussion :

1- Induction de l'hyperthyroïdie

Dans notre travail, une hyperthyroïdie a été induite chez les nouveau-nés par administration de LT4 aux mères allaitantes par voie orale. Cet état est induit, dans la majorité des travaux rapportés par la bibliographie, par injection d'hormones thyroïdiennes (T4 ou T3) en raison des résultats controversés sur le passage de ces hormones dans le lait maternel (Ariyaratne et coll., (2000); Moura et coll. (2008)). L'estimation des hormonémies périphériques chez nos rats confirme qu'une hyperthyroxénémie à T4 s'est réellement installée chez les nouveaux nés à 20 jours soit avant l'arrêt du traitement et est en faveur du passage du lévothyroxène dans le lait. Nos résultats rapportent également une augmentation de la FT3, aussi bien dans le lot traité à la dose de 10 µg/100 g de PC, que dans le lot traité à la dose de 20 µg/100g de PC. Cette augmentation pourrait probablement être la conséquence d'une augmentation de l'activité des désiodases D1 et D2 permettant la conversion de T4 en T3 et une diminution de l'activité de la désiodase D3 (Visser 2003).

Sur le plan structural, la thyroïde des mères et des petits présente une faible activité à l'âge de 20 jours. L'augmentation induite de la FT4 et de la FT3 par conversion de l'hormone administrée pourrait être à l'origine d'un effet feed back négatif sur la sécrétion de TSH et expliquer l'aspect hypofonctionnel de la glande observé.

A un âge plus avancé, de 40 et 60 jours, les taux plasmatiques des hormones thyroïdiennes et l'aspect structural de la thyroïde deviennent similaires entre traités et témoins témoignant d'une action de LT4 définitivement estompée à cause de la métabolisation de la Lévothyroxène, ce qui traduit un retour des taux normaux de T3 et T3 par un état d'euthyroidie.

2- Variations des poids corporels et testiculaires

Il ressort de nos résultats des poids équivalents entre les rats témoins et ceux des rats traités à la thyroxine à raison de 10 µg/100 g PC jusqu'à l'âge de 28 jours et une diminution hautement significative du poids corporel dès le 14^{ème} jour chez les rats traités à la thyroxine à raison de 20 µg/100 g PC comparativement aux rats témoins, cette diminution persistant jusqu'à l'âge de 42 jours. Au-delà de cet âge, les poids corporels des rats traités des deux lots excèdent ceux des rats n'ayant pas reçu le traitement. La diminution du poids corporel est en accord avec les travaux de Ariyaratne et coll. (2000) qui rapportent une réduction importante du poids corporel après administration quotidienne de T3, de Moura et coll. (2008) suite à l'injection intra-péritonéale de 50 µg de T3/100 g de PC et de Zamoner et coll. (2007).

La diminution observée chez les rats traités à forte dose pourrait être la conséquence d'un déséquilibre hormonal ne pouvant pas assurer les effets physiologiques sur la croissance des hormones thyroïdiennes en synergie avec la GH (Cabello et Wrutniak, 1989) ou par une augmentation d'une adipocytokine circulante, l'adiponectine observée suite à l'induction d'une hyperthyroïdie (Juan et Pedro, 2009). Cette cytokine est impliquée dans la régulation du métabolisme des lipides et du glucose, elle augmente l'insulino-sensibilité et elle a des

propriétés anti-athérogènes et anti-inflammatoires. D'autre part, une diminution de la lactation des mères hyperthyroïdiennes par atteinte des glandes mammaires (Varas et coll., 2002) et/ou une diminution de la prise alimentaire au sevrage des rats traités (Moura et coll., 2008) pourraient être à l'origine des poids corporels plus faibles observés chez les rats traités à la thyroxine à raison de 20 µg/100 PC, dans notre expérimentation nous n'avons pas constaté chez les mères une quelle conque inflammation des glandes mammaires, ou quel conque comportement empêchant les petits d'allaiter.

Sur le plan morphologique, nous avons noté d'autre part, que le pelage des rats traités LT20 était nettement moins développé par rapport aux rats témoins et rats traités LT10 dans les premiers quinze jours après la naissance. Cet aspect est du à une action des hormones de l'axe thyroïdienne sur la croissance des poils ; le TRH et le récepteur de TRH étant exprimés dans l'épithélium des follicules pileux (Gaspar et coll., 2009).

Les poids testiculaires subissent également des variations significatives notamment pour le lot LT20 pour lequel est observée une diminution du poids absolu à l'âge de 20 et 40 jours. Ariyaratne et coll., (2000) rapportent une diminution significative du poids testiculaire à 7, 9, 12, 16 et 21 jours chez les rats Sprague Dawley traités quotidiennement par injection sous-cutanée de 50 µg de T3/Kg PC à partir du premier jour. Cette diminution peut être expliquée par une réduction du volume total des cordons séminifères par tubule et par un nombre faible des cellules mésenchymateuses interstitielles. Dans notre cas, on pourrait penser que la dose de 10 µg/100g PC administrée au nouveau-nés par la lactation semble insuffisante pour induire les mêmes effets si les mêmes résultats sont obtenus en valeurs relatives. En effet, les poids testiculaires relatifs des rats traités aux deux doses de LT4 sont légèrement supérieurs aux poids testiculaires des rats témoins aux deux âges alors même que les poids corporels sont similaires. Cette augmentation est observée également à l'âge de 60 jours aussi bien en valeur absolue que relative notamment pour le lot LT10.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Amin et El Sheikh (1977) et Jannini et coll. (2008) qui rapportent qu'un traitement des rats nouveau-nés par T3 est associé à une augmentation de la taille des testicules. L'effet des hormones thyroïdiennes serait médié par une action directe des hormones thyroïdiennes sur les cellules somatiques de l'épithélium séminifère. Ces hormones stimuleraient les cellules de Sertoli ; la sécrétion par ces cellules de facteurs de croissance et des nutriments serait à l'origine d'un développement plus conséquent de cellules germinales d'où une augmentation de la taille des testicules (Jannini et coll., 2008).

Le rôle des hormones thyroïdiennes sur la gonade mâle et plus particulièrement sur les cellules de Sertoli, étaient également rapporté dans des travaux où une hypothyroïdie a été induite par un traitement par un antithyroïdien de synthèse (Palmero et coll., 1989 et 1995). La prolifération de ces cellules est achevée aux 15-20^{èmes} jours après la naissance chez le rat ; les hormones thyroïdiennes semblent réguler la durée de cette phase de prolifération des cellules de Sertoli, réguler le développement de la gamétogenèse chez le rat prépubère et par conséquent influencer la capacité du testicule à produire le sperme.

L'augmentation observée suite à une hyperthyroïdie induite, par l'injection quotidienne de L-thyroxine, peut être également la conséquence d'une accélération de la croissance et d'une augmentation de la taille de la gonade due à une élévation du nombre de cellules germinales et de cellules interstitielles (Amin et El Sheikh, 1977). Cette hypothèse est soutenue par la mise en évidence de récepteurs des HT sur les cellules interstitielles, ainsi que sur les cellules germinales en cours de différenciation, ce qui suggère un rôle direct possible des HT sur ces cellules (Buzzard et coll., 2000).

D'autres auteurs sont en faveur d'une action non seulement sur la prolifération et la différenciation des cellules de Sertoli, mais également d'un effet direct ou indirect sur le début de la formation des cellules de Leydig adultes et sur leur fonction (Teerds et coll., 1998).

3- Variations des taux plasmatique de testostérone

Les teneurs plasmatiques en testostérone sont modifiés chez les rats rendus hyperthyroïdiens à la naissance comparativement aux témoins. Les variations significatives sont observées à 20 et 60 jours avec une diminution pour le lot traité à raison de 20 µg/100g PC à 20 jours et une augmentation pour le lot traité à raison de 10 µg/100g PC à 60 jours. Une diminution de la production de testostérone et une augmentation de celle de l'androstènedione, stimulées par la LH par les cellules testiculaires, des rats traités à la T3, in vitro ont été rapportées par Ariyaratne et coll. (2000). Ces résultats suggèrent un effet des hormones thyroïdiennes sur la différenciation des cellules de Leydig adultes sans action sur leur maturation.

Par contre, Manna et coll. (2001) rapportent que le traitement des cellules de Leydig avec la T3 augmente les niveaux des protéines StAR (Steroidogenic acute regulatory protein), et active la production des stéroïdes par les cellules de Leydig.

4- Modifications structurales et morphométriques

L'analyse topographique des structures testiculaires a montré des tubules séminifères de diamètre réduit et une lumière moins apparente chez les rats de 20 jours traités à la LT4 comparés aux témoins aux deux doses utilisées. Malgré l'augmentation des diamètres des tubules et de la lumière chez les rats de 40 jours traités à la LT4, la progression de la spermatogenèse semble ralentie. L'analyse montre également l'accumulation des spermatozoïdes dans la lumière tubulaire à 60 jours chez les rats traités LT10 et LT20 comparés au animaux âgés de 40 jours chez les quels le nombre de spermatozoïdes est très limité, ce qui nous suggère que l'installation de la puberté aurait lieu entre 40 et 60 jours.

La spermatogenèse est un processus complexe et finement régulé par un nombre important de facteurs. Ainsi, la progression de la méiose des spermatocytes dépend de l'activation de la voie des MAPKs (Mitogen-activated protein kinases) au niveau des cellules

de Sertoli (Godet et coll., 2007). Ces dernières secrètent des protéines qui stimulent la biosynthèse des stéroïdes par les cellules de Leydig ; cette fonction étant spécifiquement modulée par les spermatocytes pachytènes (Onoda et coll., 1991).

Une action directe des HT sur les cellules de Sertoli se répercutant irrémédiablement sur la gamétogenèse peut être envisagée. Les travaux de Holsberger et coll. (2005) rapportent que l'hyperthyroïdie induit l'arrêt prématuré de la prolifération des cellules de Sertoli ; les effets de T3 sur le développement des cellules de Sertoli sont principalement exercés par TR α 1. Un effet similaire est observé chez le porc chez qui une hyperthyroïdie est associée à une baisse de prolifération et une maturation précoce des cellules de Sertoli suivies d'une puberté précoce (McCoard et coll., 2003).

Le ralentissement de la spermatogenèse observée sur les coupes histologiques des rats traités peut également être expliqué par le taux diminué de la testostérone donc un effet sur les cellules de Leydig. En effet, la testostérone secrétée par les cellules de Leydig agit avec la FSH pour stimuler l'activité des cellules de Sertoli et la spermatogenèse tel que démontré par l'étude des souris dont les gènes codant pour le récepteur à la FSH et le récepteur des androgènes ont été invalidés. Les deux hormones agissent pour maintenir la méiose des cellules germinales, les androgènes étant indispensables pour l'achèvement de la méiose (O'shaughnessy et coll., 2008).

D'autre part, les hormones thyroïdiennes peuvent exercer une action sur la progression de la gamétogenèse. Ainsi, l'hyperthyroïdie semble provoquer des altérations dans le métabolisme des hormones stéroïdiennes sexuelles ainsi que la spermatogenèse et la fertilité, notamment en affectant la motilité des spermatozoïdes (Krassas et Pontikides, 2004).

L'hyperthyroïdie affecte temporairement le développement des cellules de Leydig adultes ainsi que la progression initiale de la spermatogenèse, puisque les cellules germinales les plus mûres observées sont des spermatocytes pachytènes chez les rats témoins de 15 jours et spermatocytes leptotènes et zygotènes chez les traités à la thyroxine sans qu'il y ait une différence entre le diamètre de la lumière des tubules séminifères entre les témoins et les traités (Rijntes et coll., 2008).

Une action non génomique des HT sur les cellules testiculaires a été rapportée et contribue probablement à moduler la fonction exocrine du testicule. En effet, la T4 provoque un effet stimulateur rapide du transport membranaire du calcium et de l'accumulation des acides aminés au niveau du testicule de rat immature (Menegaz et coll., 2010).

Conclusion et perspectives :

L'hyperthyroïdie induite par administration de LT4 à 10 et 20 $\mu\text{g}/100\text{g}$ PC pendant 21 jours à des mères allaitantes, provoque chez les nouveau-nés, des modifications des poids corporel et testiculaire, des teneurs hormonales et de la structure du testicule. En effet lorsque la dose de LT4 administrée est faible, les poids corporel et testiculaire et la testostéronémie augmentent. Pour la dose de 20 $\mu\text{g}/100\text{g}$ PC, le traitement est à l'origine d'une diminution significative du poids corporel et testiculaire, une réduction de la testostéronémie aboutissant à un ralentissement de la spermatogenèse.

A partir de nos résultats et des travaux antérieurs, nous concluons que les hormones thyroïdiennes ont des effets régulateurs importants sur la fonction testiculaire notamment à l'âge pré pubertaire (20 jours). Au cours de cette période, une élévation du taux d'hormones thyroïdiennes circulantes entraîne un retard de maturation des cellules germinales résultant de la différenciation précoce des cellules de Sertoli, cellules indispensables au développement des cellules germinales de part leur rôle nourricier, protecteur et régulateur. Les variations du taux de testostérone sont en faveur d'un effet régulateur des HT sur les cellules de Leydig. Les hormones thyroïdiennes exerceraient un effet de différenciation des cellules de Leydig de type fœtal en cellules de Leydig adultes.

En perspective il serait intéressant d'étudier les mécanismes moléculaires responsables des effets observés. Les hormones thyroïdiennes ont-elles un effet direct sur l'évolution des cellules germinales ? La mise en évidence des récepteurs de ces hormones au niveau testiculaire, dans différentes conditions, permettra d'approfondir cette étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- AMIN S.O., EL-SHEIKH A.S.(1977) - Pituitary-testicular function changes in hypo-and hyperthyroid male rats *Acta Anatomica* **98**,121-129
- ARIYARATNEA H.B.S, MENDIS-HANDAGAMA S.M.L.C.,A, MASONB J.I (2000) - Effects of Tri-Iodothyronine on Testicular Interstitial Cells and Androgen Secretory Capacity of the Prepubertal Rat. *Endocrinol.* **141**(5), 1633-1641
- BAQUI MM., GEREBEN B., HARNEY J.W., LARSEN P.R, BIANCO A.C. (2000) - Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 iodothyronine deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. *Endocrinol.* **141**, 4309-4312
- BARDIN C.W. ,CHENG C.Y.,MUSTOW N.A.,GUNSALUS G.L. (1994) – The Sertoli cell. In. Knobil E;Neill J. (eds). – *The physiology of reproduction*; ed2. Raven press; New-York, 1291-1332
- BARKER S.B., KLITGAARD H.M. (1952) -Metabolism of tissues existed from thyroxine injected rats. *Am. J. Physiol.*, **170**, 81-86
- BARTLETT J.M., CHARLTON H.M., ROBINSON I.C., NIESCHLAG E. (1990) - Pubertal development and testicular function in the male growth hormone-deficient rat. *J Endocrinol.* **126**, 193–201
- BEAULIEU E. E., CORVOL P., DESBU QUOIS B., FREYCHET P., HANOUNE J., JARD S., LABRIE F., LISSI S., MENARD J., MILGROM E., ROY P. (1978) – *Hormones : aspects fondamentaux et physiologiques*. Ed Hermann Paris, pp 549
- BERNAL, J., ET PEKONEN F. (1984). Ontogenesis of the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor in the human fetal brain. *J Endocrinol.* **114**, 677-679
- BERNIER-VALENTIN F., KOUSTROUCH Z., RABILLOUD R. , ROUSSET B. (1991) – Analysis of the thyroglobulin internalization process using in vitro reconstituted thyroid follicles: Evidence for a coated vesicle-dependent endocytic pathway. *Endocrinol.* **129**(4), 2194-2201
- BROOK G.D., MARSHALL J. (1998) – *En bref endocrinology* 3ème edition
- BURCH W.M., VAN WYKJ J. (1987) – Triiodothyronine stimulates cartilage growth and maturation by different mechanism. *Am. J. Physiol.* **255**, 496-503
- BUZZARD J.J., MORRISON J.R., O'BRYAN M.K., SONG Q., WREFORD N.G. (2000) – Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis. *Biol. Reprod.* **62**, 664-669
- CARREAU S., GENISSEL C., BILINSKA B., LEVALLET J. (1999) - Sources of oestrogen in the testis and reproductive tract of the male. *Int. J. Androl.* **22**, 211–223
- CASAS, F., BUSSON M., GRANDEMANGE S., SEYER P., CARAZO A., PESSEMESSE L., WRUTNIAK-CABELLO C., CABELLO G. (2000) - Characterization of a novel thyroid hormone receptor alpha variant involved in the regulation of myoblast differentiation. *Mol. Endocrinol.* **20**,749-763
- COOKE, P.S., KIRBY, J.D., PORCELLI, J. (1993) - Increased testis growth and sperm production in adult rats following transient neonatal goitrogen treatment: optimisation of the propylthiouracile dose and effect of methimazole. *J. Reprod. Fertil.*, **97**, 493-499

- COOK S.P., MEISSAMI E. (1991) -Early hypothyroidism in rats causes increased sperm production in adult testis and reproductive organ size but does not change testosterone levels. *Endocrinol.* **129**, 237-243
- DADOUNE J.P. ET DEMOULIN A. (1991) –Structure et fonction du testicule. *In* La reproduction chez les mammifères et l'homme. Edited by THIBAUT C., and LEVASSEUR M.C. Ellipse, INRA Paris, 221-250
- DE KRETZER D.M., BUZZARD J.J., OKUMA Y., O'CONNOR A.E., HAYASHI T., LIN S.Y., MORRISON J.R., LOVELAND K.L., HEDGER M.P. (2004) - The role of activin, follistatin and inhibin in testicular physiology. *Mol. Cell. Endocrinol.* **225**, 57–64
- DICKSON P.W., ALDRED A.R., MENTING J.C.T., MARLEY P.D., SAWYER W.H., SCHERIBER G. (1987) – Thyroxine transport in choroid plexus . *J. Biol. chem.* **262**, 13907-13915
- DUMITRESCU A., REFETOFF S., VAN VLIET G., POLAK M. (2007) - Novel Biological and Clinical Aspects of Thyroid Hormone Metabolism. *Endocrinol. Dev.* **10**, 127-139
- ESKELAND N.L., LUGO D.I., PINTAR J.E., SCHAXHTER B.S. (1989) – Stimulation of β -endorphin to peripheral tissue and activation of the adenylate –adenosine 3';5' monophosphate system. *Endocrinol.* **116**, 2152-2159
- FENG X, JIANG Y, MELTZER P, YEN PM. (2000) - Thyroid hormone regulation of hepatic genes in vivo detected by complementary DNA microarray. *Mol. Endocrinol.* **14**, 947-955
- FLAMANT, F., BAXTER J.D, FORREST D., REFETOFF S., SAMUELS H., SCANLAN T.S., VENNSTROM B., SAMARUT J. (2006B) -The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: thyroid hormone receptors. *Pharmacol. Rev.* **58**,705-711
- FORREST, D., HANEBUTH E., SMEYNE R.J., EVERDS N., STEWART C.L., WEHNER J.M., CURRAN. T. (1996) -Recessive resistance to thyroid hormone in mice lacking thyroid hormone receptor beta: evidence for tissue-specific modulation of receptor function. *Embo. J.* **15**, 3006-3015
- FLORES-MORALES A, GULLBERG H, FERNANDEZ L, STAHLBERG N, LEE NH, VENNSTROM B, NORSTEDT G. (2002) - Patterns of liver gene expression governed by TRbeta. *Mol. Endocrinol.* **16**, 1257-1268
- FRENCH F.S. ; RITZEN E.M. (1973) – A high affinity androgen binding protein (ABP) in rat testis : evidence for secretion into efferent duct fluid and absorption by epididymis. *Endocrinol.* **93**, 88-95
- FRIESEMA EC., GANGULY S., ABDALLA A., MANNING FOX JE., HALESTRAP AP., VISSER TJ. (2003) -Identification of monocarboxylate transporter 8 as a specific thyroid hormone transporter. *J. Biol. Chem.* **278**, 40128–40135
- FRIESEMA EC., VISSER T.J. (2009) - Why thyroid hormone transporters are important. *Hot Thyroidol.* **e14**
- GASPAR E., HARDENBICKER C., BODO E., WENZEL B., RAMOT Y, FUNK W., KROMMINGA A., PAUS R. (2009) – Thyrotropin releasing hormone (TRH): a new player in human hair-growth control. *FASEB* [Epub ahead of print]

- GLASS, C.K., ET ROSENFELD M.G. (2000) -The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes. Dev.* **14**, 121-41
- GODET M., SABIDO O., GILLERON J., DURAND P. (2007) – Meiotic progression of rat spermatocytes requires mitogen-activated protein kinases of Sertoli cells and colse contacts between the germ cells and the Sertoli cells. *Dev Biol.* **315**(1), 173-88
- GOMEZ J.M., LOIR M., LE GAC F. (1998) - Growth hormone receptors in testis and liver during the spermatogenetic cycle in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.* **58**, 483–491
- GUILLAUMOT P., BENAHMED M. (1999) -Prolactin receptors are expressed and hormonally regulated in rat Sertoli cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* **149**, 163–168
- HAMOULI-SAID Z., TAHARI F., HAMOUDI F., HADJ-BEKKOUCHE F. (2007) – Comparative study of the effects of pre and post natal administration of a thyroid drug on testicular activity in adult rat. *Folia Histochemica et Cytobiologica* **45**(1), 1-7
- HOLSBERGER D.R., KIESEWETTER S.E., COOKE P.S. (2005) – Regulation of neonatal Sertoli cell development by thyroid hormone receptor $\alpha 1$. *Biol. Reprod.* **73**, 396-403
- HERWIG A., ROSS A.W., NILAWEERA K.N., MORGAN P.J., BARRETT P. (2008) – Hypothalamic thyroid hormone in energy balance regulation. *Onkologie* **31**, 71-79
- IKEDA T., FUJIYAMA K., HOSHINE T., TANAKA Y., TAKEUCHI T., MASHID H., TOMINAGA M. (1991) – Stimulating effet of thyroide hormone in insulin-like growth factor I release and synthese by perfused rat liver. *Growth regulation* **1**, 39-41
- JANNINI EA. , ULISSE S., PIERSANTI D., CAROSA E., MUZI P., LAZAR J., D'ARMIENTO M., (2008) – Early thyroid hormone treatment in rats increase testis size and germ cell number. *J. Androl*, **29**, (4)
- JUAN J. D. et PEDRO I. (2009) – Adiponectine and thyroid. *Hot Thyroidol.* **18/09**
- KIM B. (2008) - Thyroid hormone as a determinant of energy expenditure and the basal metabolic rate *Thyroid* **18**, 141-144
- KOUSTROUCH Z., MUNAR-SILEN Y., RAJAS F. , BERNIER-VALENTIN F., ROUSSET B. (1991)-Thyroglobulin internalized by thyrocyte passes through. Early an late endosomes. *Endocrinol.* **129**,2202-2211
- KRASSAS G.E. et PONTIKIDES N. (2004) – Male reproductive function in relation with thyroid alterations . *Endocrinol. Metab.* **18**(2) ,183-195
- LABRIE (1990) – Synthèse périphérique des androgènes chez l’homme.*Médecinal Science* **6**, 261-267
- LEBEL J.M., LHERAULT S.J., DUSSAULT J.H., PUYMIRIT J. (1993) – Thyroid hormone up regulate thyroide hormone receptor B gene expression in rat cerebral hemisphere astrocyte cultur. *GLIYA* **9**, 105-112
- LECLERE J. ,ORGIAZZI J., ROUSSET B., SCHLIENGER J. L., WEMEAU J.L. (1991) - De la physiologie cellulaire au dysfonctions des concepts à la pratique Clinique

- LEIJENDEKKER WJ, VAN HARDEVELD C, ELZINGA G. (1987) - Heat production during contraction in skeletal muscle of hypothyroid mice. *Am. J. Physiol.* **253**, 214-220
- LYON M.F., GLENISTER P.H., LAMOREUX M.L. (1975) - Normal spermatozoa from androgen-resistant germ cells of chimaeric mice and the role of androgen in spermatogenesis. *Nature* **258**, 620-622
- MANNA P.R., ROY P., CLARK B.J., STOCCO D.M., HUHTANIEMI I.T. (2001) – Interaction of thyroid hormone and steroidogenic acute regulatory (StAR) protein in the regulation of murine Leydig cell steroidogenesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **76**(1-5), 167-177
- MAZZOCCHI G., MALENDOWEIZ L.K., MENGHELLI N., NUSSDORFER G.G. (1992) - Inhibitory effects of acute and chronic treatments with adrenocorticotropin-releasing hormone on the Leydig cells of the rat testis. *Biomedical Research* **13** (4), 279-285
- McCOARD S.A., WISE T.H. , FORD J.J (2005) – Endocrine and molecular influences on testicular development in Meichan and White composite boars. *J. Endocrinol.* **178**, 405-416
- MENEGAZ D., ROYER C., ROSSO A., ZAMONER A.P.D.S , DOS SANTOS A.R.S. (2010) – Rapid stimulatory effect of thyroxine on plasma membrane transport systems : calcium uptake and neutral amino acid accumulation in immature rat testis. *J. Biochem. Cell Biol.* **42**(6), 1046-1051
- MERAL O., DUYGU K., ALPASLAN G., KANAT G., HIKMET O., ERDAL K. (2004) - Investigation on the Histopathological Effects of Thyroidectomy on the Seminiferous Tubules of Immature and Adult Rats. *Urol. Int.* **73**, 59-64
- MILLER W.L. (1988) - Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocrinol.* **9**, 295-318
- MITTAG J. (2009) - Peripheral Regulation of Energy Metabolism by Thyroid Hormones *Hot Thyroidol.* **02/09**
- MOORA E.G., SANTOS R.S., LISBOA P.C., ALVES B.S., BONOMO I.T., FUGUNDES A.T.S., OLIVEIRA E., PASSOS M.C.F. (2008) -Thyroid function and body weight programming by neonatal hyperthyroidism in rats -The role of leptin and deiodinase activities. *Horm. Metab. Res.*, **40**, 1-7
- MORINIERE J. (2008) – La compaction de la chromatine au cours de la spermatogénèse rôle des bromodomains de la protéine Brdt. Thèse doctorat, université Grenoble I – université Josef Fourier, pp 26
- MORREALE DE ESCOBAR G., OBERGEON M.J. , RUIZ DE ONA C. , ESCOBAR DEL REY F. (1989) – Comparaison of maternal to foetal transfer of 3;5;3' triiodothyronine versus thyroxine in rats; as assessed from 3;5;3' - triiodothyronine levels in foetal tissues. *Acta Endocrinol.* **120**, 20-30
- MORREALE DE ESCOBAR, G., PASTOR R., OBREGON M.J., ESCOBAR DEL REY F. (1985) - Effect of maternal hypothyroidism on the weight and thyroid hormone content of rat embryonic tissues, before and after onset of fetal thyroid function. *Endocrinol.* **117**, 1890-1900
- MULLER Y., CLOS J. (1997) - L'hormone thyroïdienne est elle un donneur de temps au cours du développement du système nerveux central ? *Médecine/science* **13**, 116-122

MUNABI A.K., MECIEQ V., GELATO M.C., KOPPELAMAN M.C.S., ALBERTSON B.D., LORLAUX D.L., CASSORLA F. (1984) – The effects prolactin on rat steroidogenic enzyme activities

ONODA M., DJAKIEW D., PAPADOPOULOS V. (1991) – Pachytene spermatocytes regulate the secretion of Sertoli cell protein (s) which stimulate Leydig cell steroidogenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* **77** (1-3), 207-216

O'SHAUGHNESSY P.J., MORRIS I.D., HUHTANIEMI I., BAKER P.J., ABEL M.H. (2008) – Role of androgen and gonadotrophins in the development and function of the Sertoli cells and Leydig cells: data from mutant and genetically modified mice. *Mol. Cell. Endocrinol.* **10,306** (1-2), 2-8

PALMERO S., PRATI M., BOLLA F., FUGASSA E. (1995) – Tri-iodothyronine directly affects rat Sertoli proliferation and differentiation. *J. Endocrinol.* **145**(2), 355-362

PALMERO S., DE MARCHIS M., GALLO G., FUGASSA E. (1989) – Thyroid hormone affects the development of Sertoli cell function in the rat. *J. Endocrinol.* **123**(1), 105-111

PETERSEN C., SÖDER O., (2006) - The Sertoli Cell – A Hormonal Target and ‘Super’ Nurse for Germ Cells That Determines Testicular Size. *Horm. Res.* **66**, 153–161

RIJNTJES E., WIJNTJES A.T., SWARTS H.J.M., DE ROOIJ D.G., TEERDS K.J. (2008) – Dietary-induced hyperthyroidism marginally affects neonatal testicular development. *J. Androl.* **29**(6)

ROMINA P., GRINSPON A., RODOLFO A., REY A.B. (2010) - Anti-Müllerian Hormone and sertoli cell function in Paediatric Male Hypogonadism. *Horm. Res. Paediatr.* **73**, 81-92

ROMMERTS F.F., DE JONG F.H., BRINKMANN A.O.,VAN DER MOLEN H.J. (1982) - Development and cellular localization of rat testicular aromatase activity. *J. Reprod. Fertil.* **65**, 281–288

SCARABELLI L., CAVIGLIA D., BOTTAZZI C., PALMERO S.(2003) - Prolactin effect on pre-pubertal Sertoli cell proliferation and metabolism. *J. Endocrinol.* **26**, 718–722

SILVA JE.(2006) - Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation. *Physiol. Rev.* **86**, 435-464.

SUGIYAMA D., KUSUHARA H., TANIGUCHI H., ISHIKAWA S.,NOZAKI Y., ABURATANI H., SUGIYAMA Y. (2003) -Functional characterization of rat brain-specific organic anion transporter (Oatp14) at the blood-brain barrier: high affinity transporter for thyroxine. *J. Biol. Chem* **31**(278), 43489–43495

TAHMAZ L., GÖKALP A., KIBAR Y., KOÇAK İ., YALÇIN O.,ÖZERCANĀ. (1993) - Effect of hypothyroidism on the testes in mature rats and treatment with levothyroxine and zinc. *Endocrinol.* **132**, 2726-2728

TEERDS K.J, DE ROOIJ D.G., DE JONG F.H., VAN HAASTER L.H. (1998) – Development of the adult-type Leydig cell population in the rat is affected by neonatal thyroid hormone levels. *Biol. Reprod.* **59**, 344-350

THIBAUT C., LEVASSEUR M.C. (1991) – La reproduction chez les mammifères et l’homme. Ed INRA Ellipses.

TORTORA G.J., GRABOWSKI S.K., PARENT J.C. (1998) – Principes d’anatomie et de physiologie. Nouvelle édition, pp 563

TOURNIAIRE J., ADRIE J., BACHELOT I., BERTHENE F., BORSON-CHAZOT F., CHAYVIALLE J.A., CHAZOT G., DAVID M., ESTOUR B., FIMBEL S., GHARIB C., HALIMI S., HMON P., MORNEX R., ORGIAZZI J., PUGEAT M., REVOL A., PRIOU J., ROUSSET H., SASSOLAS G., THIVOLET C. (1994) – Endocrinologie diabète et nutrition pour le praticien

VAN HAASTER L.H., DE JONCO F.H., DOCTER R., ROOEJI D.G. (1992) –The effect of hypothyroidism on Sertoli cell proliferation and differentiation and hormone levels during testis development in the rat. *Endocrinol.* **3**, 1574-1576

VARAS S.M., MUNOZ E.M., HAPON M.B., AGUILERA MERLO C.I., GIMENEZ M.S., JAHN G.A. (2002) -Hyperthyroidism and production of precocious involution in the mammary glands of lactation rats. *Reprod.*,**124**, 691-702

VASSART G.,PARMENTIER M., LIBERT D.F., DUMANT J. (1990) – Le récepteur de la thyrotropine : Un membre pas comme les autres de la famille des récepteurs couplés au protéines G.*Médecine/sciences* **6**, 985-990

VISSER T.J. (2003) – Thyroid hormone metabolism. In: *The thyroid and its diseases*. Edited by Amedeo-The Medical Literature Service, 1-9

WATERMAN M.R. (1989) - Regulation of steroid hydroxylase gene expression is multifactorial in nature. *Rec. Prog. Horm. Res.* **45**, 533-563

WOLFF J. CHAIKOFF I.L. (1948) - Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J. Biol. Chem.* **174**, 555-564

WRUTNIAK C. and CABELLO G. (1996) – La voie d’action mitochondriale directe de la triiodothyronine : mythe ou réalité ? *Médecine Science* **12**, 475-484

YEN P.M. (2001) - Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol. Rev.* **81**, 1097-1142

ZAMONER A.,BARRETO K.P., FILHO D.W., SELL F., WOEHL M.V., RODRIGUES GUMA F.C., MENA BARRETO SILVA F.R., PESSOA-PUREUR R. (2007) - Hyperthyroidism in the developing rat testis is associated with oxidative stress and hyperphosphorylated vimentin accumulation. *Mol. Cell. Endocrinol.* **267**, 116-126

ANNEXES :

TABLEAU A1: Valeurs individuelles des poids corporels (g)

| | J7 | | | J14 | | | J21 | | | J28 | | |
|----|-----------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 |
| 1 | 10,2 | 17,2 | 14,8 | 17,4 | 26,6 | 19,9 | 26,5 | 35,2 | 24,3 | 39,5 | 49,7 | 38,7 |
| 2 | 10,4 | 17,1 | 15,1 | 17,9 | 26,3 | 20,1 | 27,7 | 34,5 | 25 | 40,2 | 49,8 | 39,1 |
| 3 | 10,6 | 16,7 | 15,2 | 18,1 | 25,9 | 20,2 | 28,6 | 32,4 | 25,9 | 42,6 | 50,6 | 40 |
| 4 | 10,8 | 16,1 | 15,6 | 18,2 | 23,2 | 20,3 | 29,2 | 35,3 | 26,9 | 43,1 | 59,9 | 42,3 |
| 5 | 11 | 14,8 | 11,8 | 18,9 | 15,5 | 16,5 | 31,6 | 20,6 | 24,9 | 41,2 | 39,9 | 36,1 |
| 6 | 11,4 | 11,2 | 12,2 | 19,1 | 19,2 | 17,2 | 32,8 | 27,2 | 26,3 | 35,1 | 40,7 | 36,7 |
| 7 | 11,5 | 11,7 | 13,6 | 17,7 | 19,3 | 19,5 | 23,1 | 28,2 | 26,3 | 34,5 | 45,2 | 37,8 |
| 8 | 11,5 | 12 | 12,8 | 18,4 | 19,5 | 15,4 | 24 | 28,6 | 16,8 | 35 | 45,4 | 33,1 |
| 9 | 12 | 12,2 | 13,2 | 18,6 | 21,9 | 17,2 | 24,6 | 31,6 | 19,4 | 37,3 | 50,1 | 34,6 |
| 10 | 12 | 11 | 14,6 | 19,9 | 17,6 | 17,7 | 26,1 | 26,8 | 21,6 | 37,7 | 41,3 | 35,5 |
| 11 | 14,5 | 11,2 | 14,9 | 23,2 | 18,6 | 17,8 | 35,7 | 27,4 | 21,3 | 53 | 41,9 | 37,2 |
| 12 | 14,8 | 11,3 | 15,5 | 24 | 18,8 | 13,1 | 36,8 | 27,6 | 22,4 | 55,6 | 43,8 | 38,7 |
| 13 | 15,1 | 11,6 | 11,5 | 24,4 | 19 | 13,8 | 36,9 | 38,5 | 22,9 | 60,8 | 62 | |
| 14 | 15,6 | 12 | 13,2 | 24,5 | 19,7 | 14,2 | 37,3 | 38,7 | 23,8 | 63,1 | 62,2 | |
| 15 | 15,7 | 14,8 | 13,5 | 24,9 | 23,3 | 14,8 | 37,5 | 38,9 | 24,8 | 65,3 | 62,3 | |
| 16 | 16,2 | 15,5 | 14 | 25,3 | 23,7 | 15,6 | 37,9 | 39,2 | 15,2 | 65,9 | 64,9 | |
| 17 | 13,9 | 15,9 | 10,1 | 27,5 | 24,4 | 16,3 | 40,9 | | 15,8 | 55,4 | | |
| 18 | 14,6 | 16,3 | 10,7 | 30,6 | 24,6 | 16,5 | 42,3 | | | 56,2 | | |
| 19 | 15,2 | 16,4 | 11,1 | 32,2 | 25,2 | 16,8 | 45,7 | | | 60,9 | | |
| 20 | 11,4 | | 11,9 | 17,7 | | 17,5 | 28,2 | | | 49 | | |
| 21 | 12,9 | | 12,2 | 18 | | 15,9 | 28,5 | | | 49,7 | | |
| 22 | 13,4 | | 9,8 | 19 | | 16,8 | 29,3 | | | 51,8 | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 23 | 13,6 | | 10,4 | 19,6 | | 18 | 29,8 | | | 51,9 | | |
| 24 | 13,8 | | 10,9 | 19,7 | | 20,6 | 30,4 | | | 52 | | |
| 25 | 13,8 | | 11,1 | 19,8 | | | 30,8 | | | 52,8 | | |
| 26 | 14,3 | | 10,2 | 20,3 | | | 31,7 | | | 56 | | |
| 27 | 14,4 | | 10,5 | 20,7 | | | 32,5 | | | 56,7 | | |
| 28 | | | 13,5 | | | | | | | | | |
| 29 | | | 15,2 | | | | | | | | | |
| Moy | 13,13333 | 13,94737 | 12,72759 | 21,31852 | 21,7 | 17,1542 | 32,08889 | 31,91875 | 22,56471 | 49,71481 | 50,60625 | 37,48333 |
| SEM | 0,35446 | 0,55131 | 0,34906 | 0,78217 | 0,76667 | 0,43651 | 1,11423 | 1,38556 | 0,90882 | 1,88196 | 2,20908 | 0,72445 |

TABLEAU A2 : Valeurs individuelles des poids corporels (g)

| | J35 | | | J42 | | | J49 | | | J56 | | |
|----|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 |
| 1 | 59,2 | 77,9 | 55,9 | 77,4 | 107 | 106,7 | 89,2 | 143,3 | 142,4 | 112,2 | 173,3 | 179,2 |
| 2 | 54,3 | 79,9 | 57,4 | 87,3 | 111,1 | 107,3 | 120,6 | 152,7 | 143,2 | 145,6 | 189 | 182,5 |
| 3 | 57,6 | 84,2 | 57,8 | 80,8 | 115,8 | 98,8 | 106,5 | 168,2 | 138,6 | 130,8 | 184,2 | 179,4 |
| 4 | 72,2 | 71,4 | 60,5 | 103,4 | 98,7 | 99,2 | 127,6 | 147,7 | 141,2 | 152,5 | 186,1 | 190,8 |
| 5 | 52,2 | 56,5 | 60,1 | 53,3 | 108,6 | 111,8 | 117,9 | 138,6 | 149,4 | 148,5 | 168,3 | |
| 6 | 36,4 | 72,1 | 63,1 | 85,7 | 111,3 | 83,7 | 128,2 | 149,1 | | 158,5 | 188,5 | |
| 7 | 53,2 | 77,2 | 64,9 | 94,8 | 109,3 | 91,3 | 130,5 | 151,2 | | 163,5 | 180,1 | |
| 8 | 56,3 | 79,6 | 57,3 | 112,2 | 138,8 | 94,3 | 161,5 | 178,9 | | 190,1 | 212,1 | |
| 9 | 57,7 | 86,6 | 59,2 | 118,2 | 145,8 | 94,9 | 163,7 | 188,8 | | 206,5 | 221,6 | |
| 10 | 68,8 | 72,8 | 60,7 | 119,3 | | 95,2 | 167,4 | | | 211,3 | | |
| 11 | 81,5 | 75,3 | 63,1 | 121,5 | | | 150,6 | | | 182,1 | | |
| 12 | 82,6 | 81,3 | 65 | 127,2 | | | 130,5 | | | 155,7 | | |
| 13 | 83 | 101,4 | | 99,2 | | | 132,2 | | | 157,6 | | |
| 14 | 86,7 | 107 | | 108,2 | | | 136,4 | | | 162,7 | | |
| 15 | 87,8 | 107,4 | | 111 | | | 139,4 | | | 165,2 | | |
| 16 | 90,1 | 109,1 | | 112,2 | | | 140,1 | | | 165,8 | | |
| 17 | 89,6 | | | 112,6 | | | 142,9 | | | 170,8 | | |
| 18 | 96,3 | | | 114,3 | | | | | | | | |
| 19 | 91,8 | | | | | | | | | | | |
| 20 | 72,3 | | | | | | | | | | | |
| 21 | 76,3 | | | | | | | | | | | |
| 22 | 76,4 | | | | | | | | | | | |
| 23 | 78,7 | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| 24 | 78,8 | | | | | | | | | | | |
| 25 | 80,2 | | | | | | | | | | | |
| 26 | 83,9 | | | | | | | | | | | |
| 27 | 85,8 | | | | | | | | | | | |
| Moy | 73,69259 | 83,73125 | 60,41667 | 102,1444 | 116,267 | 98,32 | 134,4235 | 157,6111 | 142,96 | 163,4941 | 189,2444 | 182,975 |
| SEM | 2,92811 | 3,76366 | 0,88436 | 4,47853 | 5,18186 | 2,65455 | 4,88175 | 5,70113 | 1,78818 | 5,98328 | 5,75148 | 2,7155 |

TABLEAU B: Valeurs individuelles des poids testiculaires absolus (mg)

| | J20 | | | | | | J40 | | | | | | J60 | | | | | |
|------------|-----------------------|---------------|---------------------|----------------|------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|-----------------|------------------------------|------------------|--------------------------|-----------------|
| | T | | LT10 | | LT20 | | T | | LT10 | | LT20 | | T | | LT10 | | LT20 | |
| | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG |
| 1 | 53,8 | 40,8 | 29,6 | 39,1 | 20,4 | 52,9 | 368,4 | 354,9 | 341,9 | 344,3 | 335,5 | 319,2 | 278,7 | 310 | 1139,2 | 1218,7 | 996,7 | 985,1 |
| 2 | 51 | 53,8 | 69 | 67,2 | 41,9 | 40,8 | 601,5 | 616,2 | 427,8 | 466 | 326 | 334,6 | 320,8 | 325 | 1365,8 | 1364,3 | 1280,1 | 1244,4 |
| 3 | 44,2 | 39,8 | 82,6 | 74,9 | 60,9 | 54,8 | 526,6 | 512,5 | 413,1 | 416,6 | 526,7 | 482,5 | 805,6 | 823,7 | 1447,2 | 1426,3 | 1079,2 | 1099 |
| 4 | 44 | 40,3 | 69,3 | 69,9 | 34,9 | 34,9 | 433,3 | 461 | 462,5 | 482,4 | 474,6 | 397,9 | 1149 | 1139,8 | 1102 | 1191,3 | 1182,1 | 1232,3 |
| 5 | 81,7 | 76,3 | 50,6 | 57,9 | 51 | 51,4 | 623,7 | 654,3 | 451,5 | 441,6 | 431,8 | 417,2 | 906,5 | 871,1 | 1040,5 | 1094,9 | 641,4 | 703,8 |
| 6 | 102,5 | 101 | 60,1 | 63,2 | | | 552,8 | 608,4 | 697 | 698,4 | 373,4 | 401,9 | 833,1 | 922,8 | 1169,9 | 1149,1 | | |
| 7 | 102,8 | 101 | 96 | 94,6 | | | 259,3 | 261,1 | 565,1 | 619,7 | 319,1 | 316,9 | 757,5 | 823,8 | 1316,7 | 1455,4 | | |
| 8 | 82,2 | 92 | | | | | 241,1 | 246,7 | | | | | 1220,1 | 1265,6 | 1411,3 | 1405,7 | | |
| 9 | | | | | | | | | | | | | 1339,8 | 1321,3 | 1046,2 | 1003,9 | | |
| 10 | | | | | | | | | | | | | 1274,2 | 1267,2 | | | | |
| 11 | | | | | | | | | | | | | 1190,6 | 1167 | | | | |
| 12 | | | | | | | | | | | | | 1052,8 | 1023,7 | | | | |
| 13 | | | | | | | | | | | | | 1062,2 | 1095,1 | | | | |
| 14 | | | | | | | | | | | | | 1072,8 | 1067,8 | | | | |
| 15 | | | | | | | | | | | | | 1024,4 | 915,3 | | | | |
| 16 | | | | | | | | | | | | | 1320,6 | 1376,4 | | | | |
| Moy | 70,275 | 68,125 | 65,31429 | 66,6857 | 38,77143 | 46,92857 | 450,838 | 464,3875 | 479,8429 | 495,5714 | 398,15714 | 381,45714 | 975,54375 | 982,225 | 1226,5333 | 1256,6222 | 1035,9 | 1052,92 |
| SEM | 8,8462 | 9,753 | 8,14904 | 6,37627 | 5,66693 | 2,98039 | 52,8639 | 57,14656 | 44,11063 | 46,19517 | 30,66491 | 23,10157 | 79,53436 | 78,18334 | 53,20678 | 53,93032 | 109,55589 | 99,36032 |
| 2T | 69,2 ± 6,36644 | | 66 ± 4,97425 | | 42,85 ± 3,27726 | | 457,6125 ± 37,64484 | | 487,70714 ± 30,76095 | | 389,80714 ± 18,58821 | | 978,88437 ± 54,86017 | | 1242,92353 ± 39,14339 | | 1044,41 ± 69,7793 | |

TABLEAU C: Valeurs individuelles des poids testiculaires relatifs (mg/100gPC)

| | J20 | | | | | | J40 | | | | | J60 | | | | | |
|------------|--------------------------|-----------------|---------------------------|----------------|-----------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|-----------------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|----------------|
| | T | | LT10 | | LT20 | | T | | LT10 | | LT20 | T | | LT10 | | LT20 | |
| | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD | TG | TD |
| 1 | 231,9 | 175,86 | 178,31 | 235,54 | 281,94 | 253,7 | 431,38 | 415,57 | 422,62 | 425,59 | 422,01 | 401,51 | 183,84 | 204,49 | 591,79 | 633,09 | 508 |
| 2 | 218,88 | 230,9 | 237,93 | 231,72 | 179,9 | 179,9 | 515,42 | 528,02 | 422,31 | 460,02 | 369,2 | 378,94 | 235,02 | 238,1 | 660,44 | 659,72 | 646,52 |
| 3 | 268,39 | 264,47 | 263,9 | 239,3 | 303,57 | 305,95 | 448,17 | 436,17 | 427,64 | 431,26 | 558,54 | 511,66 | 449,3 | 459,4 | 1213,08 | 1195,56 | 552,3 |
| 4 | 268,41 | 263,71 | 245,74 | 247,87 | | | 392,48 | 417,57 | 496,24 | 517,6 | 500,11 | 419,28 | 648,79 | 643,59 | 582,14 | 629,32 | 608,7 |
| 5 | 220,38 | 246,65 | 243,27 | 278,37 | | | 550,49 | 577,49 | 448,81 | 438,97 | 472,95 | 456,96 | 540,55 | 519,44 | 496,66 | 522,63 | 353 |
| 6 | | | 267,11 | 280,89 | | | 489,64 | 538,88 | 547,96 | 549,06 | 392,23 | 422,16 | 462,83 | 512,67 | 590,86 | 580,35 | |
| 7 | | | 284,87 | 280,71 | | | 232,97 | 234,59 | 433,03 | 474,87 | 381,24 | 378,61 | 424,13 | 461,25 | 541,41 | 598,44 | |
| 8 | | | | | | | 245,52 | 251,22 | | | | | 629,24 | 652,71 | 600,3 | 597,92 | |
| 9 | | | | | | | | | | | | | 576,51 | 568,55 | 531,34 | 509,85 | |
| 10 | | | | | | | | | | | | | 596,81 | 593,54 | | | |
| 11 | | | | | | | | | | | | | 749,75 | 734,89 | | | |
| 12 | | | | | | | | | | | | | 636,13 | 618,55 | | | |
| 13 | | | | | | | | | | | | | 608,36 | 627,21 | | | |
| 14 | | | | | | | | | | | | | 646,27 | 643,25 | | | |
| 15 | | | | | | | | | | | | | 629,24 | 562,22 | | | |
| 16 | | | | | | | | | | | | | 657,34 | 685,12 | | | |
| Moy | 241,592 | 236,318 | 245,8757 | 256,343 | 255,1367 | 246,5167 | 413,259 | 424,9388 | 456,9443 | 471,0529 | 442,32571 | 424,16 | 542,13188 | 545,31125 | 645,33556 | 658,54222 | 533,704 |
| SEM | 11,1738 | 16,33115 | 12,84652 | 8,56739 | 38,13302 | 36,56433 | 41,7738 | 45,0316 | 18,06239 | 17,63904 | 26,62964 | 17,85696 | 38,87438 | 36,98056 | 72,67875 | 69,10882 | 50,9962 |
| 2T | 238,955 ± 9,36941 | | 251,1093 ± 7,55844 | | 250,82667 ± 23,70508 | | 419,099 ± 29,70884 | | 463,9986 ± 12,28483 | | 433,24286 ± 15,60701 | 543,722 ± 26,39243 | | 651,9389 ± 48,6745 | | 538,342 ± 32,35175 | |

TABLEAU D: Valeurs individuelles des teneurs plasmatiques en FT3 (pM)

| | J20 | | | J40 | | | J60 | | |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 |
| 1 | 6,76 | 9,261 | 6,684 | 7,507 | 7,986 | 6,336 | 7,586 | 8,637 | 6,924 |
| 2 | 8,01 | 3,371 | 6,324 | 8,504 | 7,969 | 7,564 | 8,094 | 8,516 | 7,141 |
| 3 | 6,28 | 8,521 | 9,8 | 7,376 | 7,345 | 6,789 | 8,461 | 8,731 | 8,659 |
| 4 | 2,5 | | | 6,935 | 7,672 | 7,867 | 12,658 | 10,817 | 7,657 |
| 5 | 2,48 | | | 6,861 | 8,36 | 6,623 | 7,601 | 5,546 | 9,942 |
| 6 | 3,39 | | | 8,161 | 7,261 | 3,36 | 11,434 | 9,238 | |
| 7 | 2,67 | | | 7,131 | 6,884 | 7,682 | 6,742 | 9,319 | |
| 8 | 1,89 | | | 7,398 | 7,999 | 9,303 | 8,669 | 8,703 | |
| 9 | | | | 9,634 | | 5,953 | 6,788 | 7,511 | |
| 10 | | | | | | | 6,834 | | |
| 11 | | | | | | | 7,236 | | |
| 12 | | | | | | | 6,697 | | |
| 13 | | | | | | | 7,072 | | |
| 14 | | | | | | | 7,933 | | |
| 15 | | | | | | | 9,537 | | |
| 16 | | | | | | | 8,448 | | |
| 17 | | | | | | | 7,488 | | |
| Moy | 4,2475 | 7,051 | 7,60267 | 7,723 | 7,6845 | 6,83078 | 8,19282 | 8,55756 | 8,0646 |
| SEM | 0,84049 | 1,85236 | 1,10357 | 0,29909 | 0,17231 | 0,54714 | 0,4033 | 0,47685 | 0,55669 |

TABLEAU E: Valeurs individuelles des teneurs plasmatiques en FT4 (pM)

| | J20 | | | J40 | | | J60 | | |
|------------|----------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 |
| 1 | 16,33 | 29,801 | 24,963 | 14,121 | 19,201 | 26,2 | 23,933 | 28,599 | 24,031 |
| 2 | 13,41 | 21,395 | 19,675 | 23,608 | 23,197 | 21,373 | 28,855 | 28,389 | 20,998 |
| 3 | 13,52 | | | 16,624 | 16,715 | 13,864 | 31,181 | 30,952 | 20,713 |
| 4 | 13,3 | | | 22,11 | 15,156 | 14,412 | 29,19 | 22,305 | 24,714 |
| 5 | 18,96 | | | 21,916 | 22,683 | 14,536 | 28,676 | 23,826 | 18,039 |
| 6 | | | | 17,452 | 22,206 | 13,7 | 31,192 | 26,068 | |
| 7 | | | | 19,812 | 19,675 | | 22,528 | 22,855 | |
| 8 | | | | | 14,78 | | 24,35 | 23,175 | |
| 9 | | | | | | | 31,582 | | |
| 10 | | | | | | | 23,851 | | |
| 11 | | | | | | | 22,099 | | |
| 12 | | | | | | | 24,488 | | |
| 13 | | | | | | | 20,272 | | |
| 14 | | | | | | | 22,773 | | |
| 15 | | | | | | | 31,545 | | |
| 16 | | | | | | | 25,256 | | |
| 17 | | | | | | | 22,306 | | |
| Moy | 15,104 | 25,598 | 22,319 | 19,37757 | 19,20163 | 17,3475 | 26,12218 | 25,77113 | 21,699 |
| SEM | 1,11814 | 4,203 | 2,644 | 1,29942 | 1,191 | 2,13332 | 0,93842 | 1,14034 | 1,21218 |

TABLEAU F: Valeurs individuelles des diamètres des tubules séminifères (μm)

| | J20 | | | J40 | | | J60 | | |
|----|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 |
| 1 | 221 | 201,5 | 201,5 | 279,5 | 325 | 383,5 | 422,5 | 552,5 | 500,5 |
| 2 | 227,5 | 169 | 188,5 | 260 | 357,5 | 435,5 | 487,5 | 617,5 | 598 |
| 3 | 201,5 | 188,5 | 188,5 | 247 | 299 | 429 | 422,5 | 578,5 | 552,5 |
| 4 | 234 | 169 | 162,5 | 273 | 325 | 390 | 507 | 539,5 | 494 |
| 5 | 221 | 195 | 195 | 266,5 | 390 | 448,5 | 416 | 487,5 | 487,5 |
| 6 | 227,5 | 195 | 182 | 273 | 364 | 325 | 383,5 | 604,5 | 533 |
| 7 | 221 | 201,5 | 195 | 208 | 273 | 364 | 416 | 520 | 533 |
| 8 | 234 | 195 | 188,5 | 286 | 325 | 357,5 | 455 | 539,5 | 611 |
| 9 | 234 | 195 | 182 | 240,5 | 331,5 | 429 | 396,5 | 533 | 461,5 |
| 10 | 221 | 201,5 | 188,5 | 279,5 | 390 | 422,5 | 461,5 | 494 | 455 |
| 11 | 247 | 188,5 | 201,5 | 338 | 292,5 | 396,5 | 396,5 | 513,5 | 546 |
| 12 | 240,5 | 156 | 184 | 299 | 299 | 416 | 513,5 | 520 | 455 |
| 13 | 208 | 175,5 | 201,5 | 292,5 | 305,5 | 429 | 474,5 | 552,5 | 617,5 |
| 14 | 214,5 | 195 | 195 | 318,5 | 331,5 | 344,5 | 455 | 533 | 474,5 |
| 15 | 221 | 201,5 | 188,5 | 331,5 | 325 | 383,5 | 507 | 520 | 422,5 |
| 16 | 201,5 | 208 | | 409,5 | 429 | 253,5 | 487,5 | 520 | 474,5 |
| 17 | 214,5 | 227,5 | | 390 | 487,5 | 221 | 572 | 539,5 | 565,5 |
| 18 | 234 | 227,5 | | 325 | 455 | 247 | 494 | 552,5 | 533 |
| 19 | 195 | 221 | | 370,5 | 377 | 260 | 455 | 533 | 552,5 |
| 20 | 214,5 | 260 | | 390 | 396,5 | 240,5 | 468 | 507 | 598 |
| 21 | 201,5 | 149,5 | | 325 | 461,5 | 214,5 | 546 | 578,5 | 617,5 |
| 22 | | 195 | | 390 | 422,5 | 234 | 591,5 | 487,5 | 520 |
| 23 | | 221 | | 403 | 416 | 214,5 | 520 | 552,5 | 494 |
| 24 | | 247 | | 344,5 | 344,5 | 240,5 | 487,5 | 513,5 | 526,5 |
| 25 | | 260 | | 390 | 338 | 195 | 442 | 559 | 552,5 |
| 26 | | 208 | | 390 | 383,5 | 208 | 455 | 624 | 494 |
| 27 | | 227,5 | | 299 | 338 | 234 | 468 | 546 | 461,5 |
| 28 | | 260 | | 344,5 | 344,5 | 208 | 494 | 650 | 474,5 |
| 29 | | 247 | | 318,5 | 403 | 240,5 | 494 | 552,5 | 546 |
| 30 | | 201,5 | | 422,5 | 429 | 253,5 | 624 | 455 | 357,5 |
| 31 | | | | | 507 | | 650 | 578,5 | |
| 32 | | | | | 513,5 | | 617,5 | 552,5 | |
| 33 | | | | | 487,5 | | 429 | 500,5 | |
| 34 | | | | | 474,5 | | 565,5 | 494 | |
| 35 | | | | | 390 | | 520 | 520 | |
| 36 | | | | | 396,5 | | 578,5 | 474,5 | |
| 37 | | | | | 357,5 | | 455 | 455 | |

| | | | | | | | | | |
|------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 38 | | | | | 507 | | 455 | 455 | |
| 39 | | | | | 533 | | 546 | 520 | |
| 40 | | | | | 500,5 | | 481 | 364 | |
| 41 | | | | | 455 | | 507 | 474,5 | |
| 42 | | | | | 539,5 | | 455 | 487,5 | |
| 43 | | | | | 474,5 | | 481 | 572 | |
| 44 | | | | | 487,5 | | 468 | 533 | |
| 45 | | | | | 461,5 | | 422,5 | 487,5 | |
| 46 | | | | | | | 448,5 | | |
| Moy | 220,69 | 206,27 | 189,5 | 323,48 | 400,98 | 313,95 | 486,79 | 527,66 | 516,97 |
| SEM | 3,13 | 5,43 | 2,67 | 10,63 | 11,18 | 16,58 | 9,21 | 7,62 | 11,1 |

TABLEAU G: Valeurs individuelles des diamètres de la lumière des tubules séminifères (μm)

| | J20 | | | J40 | | | J60 | | |
|----|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 | T | LT10 | LT20 |
| 1 | 65 | 71,5 | 52 | 97,5 | 45,5 | 84,5 | 149,5 | 260 | 195 |
| 2 | 32,5 | 32,5 | 65 | 104 | 78 | 91 | 195 | 260 | 286 |
| 3 | 58,5 | 19,5 | 45,5 | 104 | 117 | 104 | 130 | 260 | 208 |
| 4 | 71,5 | 39 | 32,5 | 84,5 | 97,5 | 175,5 | 260 | 195 | 175,5 |
| 5 | 58,5 | 65 | 52 | 97,5 | 130 | 149,5 | 162,5 | 227,5 | 188,5 |
| 6 | 32,5 | 19,5 | 75 | 110,5 | 65 | 0 | 195 | 260 | 234 |
| 7 | 39 | 39 | 58,5 | 104 | 65 | 156 | 136,5 | 227,5 | 221 |
| 8 | 65 | 65 | 58,5 | 97,5 | 130 | 71,5 | 182 | 195 | 260 |
| 9 | 71,5 | 32,5 | 13 | 65 | 104 | 195 | 143 | 195 | 188,5 |
| 10 | 65 | 58,5 | 52 | 91 | 130 | 195 | 156 | 162,5 | 227,5 |
| 11 | 78 | 32,5 | 58,5 | 97,5 | 104 | 188,5 | 143 | 208 | 260 |
| 12 | 91 | 26 | 19,5 | 71,5 | 65 | 136,5 | 227,5 | 234 | 156 |
| 13 | 65 | 58,5 | 52 | 104 | 130 | 130 | 130 | 240,5 | 292,5 |
| 14 | 71,5 | 39 | 32,5 | 123,5 | 130 | 65 | 195 | 156 | 195 |
| 15 | 45,5 | 13 | 45,5 | 84,5 | 65 | 136,5 | 260 | 227,5 | 214,5 |
| 16 | 91 | 39 | | 130 | 71,5 | 65 | 195 | 247 | 162,5 |
| 17 | 71,5 | 26 | | 78 | 195 | 65 | 227,5 | 195 | 260 |
| 18 | 78 | 26 | | 52 | 162,5 | 65 | 149,5 | 240,5 | 195 |
| 19 | 32,5 | 65 | | 97,5 | 117 | 78 | 175,5 | 292,5 | 195 |
| 20 | 45,5 | 65 | | 84,5 | 149,5 | 91 | 143 | 227,5 | 260 |
| 21 | 58,5 | 32,5 | | 71,5 | 91 | 91 | 195 | 266,5 | 305,5 |
| 22 | | 58,5 | | 65 | 130 | 58,5 | 260 | 227,5 | 195 |
| 23 | | 39 | | 84,5 | 65 | 84,5 | 162,5 | 253,5 | 195 |
| 24 | | 32,5 | | 65 | 97,5 | 97,5 | 143 | 195 | 175,5 |
| 25 | | 65 | | 65 | 71,5 | 52 | 162,5 | 240,5 | 286 |
| 26 | | 26 | | 58,5 | 110,5 | 65 | 169 | 286 | 175,5 |
| 27 | | 45,5 | | 32,5 | 130 | 71,5 | 143 | 292,5 | 162,5 |
| 28 | | 45,5 | | 32,5 | 130 | 71,5 | 136,5 | 292,5 | 195 |
| 29 | | 32,5 | | 71,5 | 130 | 97,5 | 169 | 221 | 266,5 |
| 30 | | 26 | | 65 | 156 | 97,5 | 292,5 | 188,5 | 162,5 |
| 31 | | | | | 260 | | 260 | 240,5 | |
| 32 | | | | | 130 | | 260 | 260 | |
| 33 | | | | | 227,5 | | 130 | 195 | |
| 34 | | | | | 169 | | 214,5 | 169 | |
| 35 | | | | | 162,5 | | 195 | 247 | |
| 36 | | | | | 162,5 | | 325 | 130 | |

| | | | | | | | | | |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| 37 | | | | | 104 | | 149,5 | 162,5 | |
| 38 | | | | | 175,5 | | 143 | 227,5 | |
| 39 | | | | | 260 | | 260 | 234 | |
| 40 | | | | | 260 | | 195 | 130 | |
| 41 | | | | | 136,5 | | 182 | 221 | |
| 42 | | | | | 234 | | 227,5 | 195 | |
| 43 | | | | | 169 | | 162,5 | 260 | |
| 44 | | | | | 201,5 | | 240,5 | 253,5 | |
| 45 | | | | | 130 | | 175,5 | 195 | |
| 46 | | | | | | | 162,5 | | |
| Moy | 61,29 | 41,17 | 47,47 | 82,98 | 134,33 | 100,97 | 188,5 | 224,32 | 216,45 |
| SEM | 3,97 | 3,09 | 4,48 | 4,39 | 8,29 | 8,76 | 7,26 | 6,13 | 8,18 |

Fiche technique 1 : Bouin Hollande

| | |
|---------------------------------|---------|
| - Eau distillée | 1000 ml |
| - Acétate neutre de cuivre | 25g |
| - Acide picrique | 40g |
| - Formol à 40% du commerce | 100ml |
| - Acide acétique cristallisable | 15ml |

Dissoudre à froid au mortier l'acétate du cuivre dans l'eau distillée, puis ajouter peu à peu l'acide picrique. Après avoir filtré, ajouter le formol et l'acide acétique, ne jamais broyer l'acide de cuivre à sec.

Fiche technique 2 : Eau gélatinée de Masson

| | |
|----------------------|----------|
| - Gélatine en poudre | 0,2-0,4g |
| - Eau distillée | 100ml |

La conservation qui est très limitée, peut être améliorée par addition d'un grain de thymol.

Stockage au réfrigérateur.

Fiche technique 3 : Trichrome de Masson

- **Hématoxyline de Groat :**

Dissoudre 1g d'Alun de fer dans 50 ml d'eau distillée, ajouter 0,8 ml d'acide sulfurique puis 50 ml d'alcool à 95° et dissoudre dans ce mélange 0,5g d'hématoxyline.

Se conserve 3 mois.

- **Fushine ponceau :**

| | |
|---------------|-------|
| Fushine acide | 0,1g |
| Ponceau | 0,2g |
| Eau distillée | 300ml |

Après dissolution, ajouter 0,6 ml d'acide acétique.

Conservation illimitée.

- **Orange G :**

| | |
|--|-------|
| Acide phosphomolybdique ou phosphotungstique | 3-5g |
| Eau distillée | 100ml |
| Orange G | 2g |

Conservation illimité.

- **Bleu d'aniline :**

Préparation à chaud

| | |
|----------------|-------|
| Bleu d'aniline | 0,5g |
| Eau distillée | 100ml |

Porter à ébullition, laisser refroidir, filtrer et ajouter 1 ml d'acide acétique.

Conservation illimitée.