

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

**Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie**

Mémoire de fin d'étude

**En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction**

Thème

**Contribution à la recherche des effets mélioratifs de l'huile essentielle
de Géranium Rosat *pelargonium graveolens* à une dose de 400µl/kg sur
la fonction de reproduction des souris mâles traitées à l'acétate de
plomb**

Réalisé par :

M^{elle} : AKMOUSSI Nacéra

M^{elle} : HAMAMA Cylia

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} MEDJDOUB F. Professeure UMMTO

Promotrice : M^{me} LAKABI L. Maître de conférences A UMMTO

Co-promotrice : M^{elle} BOULILA N. Doctorante UMMTO

Examinatrice : M^{me} AKDADER S. Maître de conférences B UMMTO

Promotion 2022/2023

-Citation-

« Les meilleures choses qui arrivent dans le monde de l'entreprise ne sont pas le résultat du travail d'un seul homme, mais le travail de toute une équipe. »

- Steve Jobs.

Remerciement

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir donné la force et les moyens afin de survivre et de pouvoir terminer ce travail.

Nous adressons nos remerciements profonds à notre promotrice LAKABI L. pour nous avoir dirigé tout au long de ce travail, pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer, sa patience, sa générosité et son suivi régulier à l'élaboration de notre travail. Merci pour l'œil expert posé sur ce projet et vos conseils avisés.

Nous voudrions ensuite remercier Mme MEDJDOUB-BENSAAD F. d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire. Merci pour l'intérêt porté à ce travail et la disponibilité pour mener à bien ce projet.

Nous remercions Mme AKDADER S. d'avoir accepté d'examiner notre mémoire. C'est un plaisir de vous avoir dans notre jury.

Nous tenons à remercier Mme BOULILA N. et Mr MADOUCHE M. qui nous ont aidé à réaliser ce travail, pour leur soutien moral, patience et gentillesse et pour leurs conseils judicieux tout au long de ce travail.

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire de recherche MEDJDOUB BENSAAD F., c'est grâce à vous que ce travail fût réalisé.

Enfin, nous adressons toute notre gratitude, à tous les enseignants d'avoir participé de près ou de loin à notre formation durant notre cycle universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce travail,

A mes chers parents, pour leur soutien,

*A mon petit neveu Ilyan à qui je souhaite une bonne réussite
dans ses futures études,*

A mon cher frère Yacine,

A mes sœurs adorées, Titem, Liliche et Karima

A vous chers lecteurs.

✍️ Nacera

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects

A mes parents

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

A mon cher mari qui m'a soutenu et encouragé pour accomplir ce master.

A ma sœur et à mon frère,

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

A tous mes professeurs

Leur générosité et leur soutien m'oblige de leurs témoigner mon profond respect et ma loyale

  Cylia

Liste des figures

Figure 01 : Appareil génital mâle chez la souris (Tanguy, 2017).....	03
Figure 02 : Anatomie du testicule (Owuraku et al., 2022).....	04
Figure 03 : Dessin de l'anatomie des tubes séminifères (Shahid, 2022).....	05
Figure 04 : Schéma de l'épididyme de souris (Abe et al., 1982).....	06
Figure 05 : Prostate avec vésicules séminales et canaux séminaux (Mckay et al., 2022)..	07
Figure 06 : Schéma d'un lobule testiculaire (Ghalamoun, 2019).....	09
Figure 07 : Coupe histologique d'un tube séminifère (Stevens et al., 1997).....	09
Figure 08 : Dessin illustrant différents types cellulaires observés dans le tube séminifère (Clermont, 1966).....	11
Figure 09 : Structure d'un spermatozoïde (Williams et Warwick, 1980).....	13
Figure 10 : Organisation de cellules de Sertoli dans le testicule (Wong et Khan, 2022)	13
Figure 11 : Image microscopique montrant la disposition générale de la zone interstitielle et des tubules séminifères, des cellules de Leydig et des vaisseaux sanguins du testicule (Lebelo et Horst, 2016).....	14
Figure 12 : Histologie d'un épидидyme proximal. Coupes longitudinales colorées à l'hématoxyline-éosine (Sullivan et al., 2019).....	15
Figure 13 : Image microscopique de différentes cellules observées au niveau du segment initial proximal de l'épididyme du rat (Huzaiifa et al., 1996).....	16
Figure 14 : Schéma de principe de l'organisation cellulaire dans une coupe représentative de l'épididyme de rat (Gail, 2009).....	16
Figure 15 : Histologie du canal déférent (Clark Brelje et Sorenson, 2005).....	18
Figure 16 : Schéma récapitulatif de la spermatogénèse (Dadoune et al., 2001).....	19
Figure 17 : Voies de synthèse de la testostérone au niveau testiculaire (Belotti, 2018)....	20
Figure 18 : Régulation endocrine de la spermatogénèse (Geoffroy-Siraudin, 2010)	21

Figure 19 : la structure de la FSH humaine (Smitz et al., 2015).....	22
Figure 20 : la structure de l'hormone lutéinisante LH (Esteves et Alviggi, 2015).....	22
Figure 21 : Schéma d'un récepteur transmembranaire couplé à la protéine G (Faugeron-Rue et Christin-Maitre, 2005).....	23
Figure 22 : Régulation de la stéroïdogénèse dans la cellule de Leydig (Tostain et al., 2004).....	24
Figure 23 : Structure de la testostérone et la dihydrotestostérone (Abu Hajleh et al., 2020).....	25
Figure 24 : Voie de signalisation du récepteur des androgènes (Schreyer et al., 2017)...	26
Figure 25 : Représentation schématique du mode d'action de la testostérone (Schöni-Affolter et al., 2021).....	27
Figure 26 : Biosynthèse et métabolisme de la progestérone (Schumacher et al., 2001)...	29
Figure 27 : Représentation schématique de la jonction serrée (St-Pierre, 2002).....	30
Figure 28 : Signalisation intracellulaire par les facteurs de croissance (Tomsig et Turner, 2013).....	31
Figure 29 : Photographies des souris utilisées dans l'expérimentation (Originale, 2023).....	36
Figure 30 : Photographie d'une cage des souris (Originale, 2023).....	36
Figure 31 : Diméthylsulfoxyde (Originale, 2023).....	37
Figure 32 : Plante géranium rosat (Couic-Marinier et Laurain-Mattar, 2018).....	38
Figure 33 : Huile essentielle de géranium rosat (Originale, 2023).....	38
Figure 34 : Photographies de la répartition des souris en 04 groupes (Originale, 2023)....	40
Figure 35 : Pesée et administration des traitements (Originale, 2023).....	40
Figure 36 : Photographie du sacrifice suivi d'un prélèvement et du traitement d'organes (Originale, 2023).....	41

Liste des figures

Figure 37 : Schéma des étapes de la technique classique de l'étude histologique.....	42
Figure 38 : Immersion des organes dans le liquide Bouin hollandaise (Originale, 2023).....	42
Figure 39 : Photographie représentant l'étape de déshydratation et l'éclaircissement (Originale, 2023).....	43
Figure 40 : Photographie d'une étuve de paraffinage (Originale, 2023)	44
Figure 41 : Photographie de l'inclusion des échantillons (Originale, 2023).....	44
Figure 42 : Photographie d'un microtome (Originale, 2023).....	45
Figure 43 : Etuve (Originale, 2023).....	46
Figure 44 : photographie de la série de bains de coloration (Originale, 2023).....	46
Figure 45 : photographie représentant le montage des coupes (Originale, 2023).....	47
Figure 46 : Variation du poids corporel moyen (g) des 04 groupes en fonction du temps.....	48
Figure 47 : Poids moyen des testicules gauches et droites des souris.....	49
Figure 48 : Poids moyen total des testicules des souris.....	50
Figure 49 : Variation du poids relatif des testicules des souris.....	51
Figure 50 : Poids moyens des épидидymes gauches et droite des 04 groupes.....	52
Figure 51 : Poids moyen total des épидидymes des souris témoins, traitées au DMSO, à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle du géranium rosat.....	53
Figure 52 : poids épидидymaire moyen relatif des souris.....	54
Figure 53 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale du testicule d'une souris témoin et une souris ayant reçu du diméthylsulfoxyde après coloration au Trichrome Masson, observée sous microscope photonique au grossissement (10×40)...	55
Figure 54 : Coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitée à l'acétate de plomb après coloration au Trichrome Masson observé sous microscope photonique au grossissement (10×40)	56

Liste des figures

Figure 55 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitée à l'acétate de plomb ensuite à l'huile essentielle de géranium rosat après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40).....57

Figure 56 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale de l'épididyme d'une souris témoin et une souris ayant reçu du diméthylsulfoxyde après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40).....58

Figure 57 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale de l'épididyme d'une souris traitée à l'acétate de plomb après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40).....59

Figure 58 : Structure histologique épидидymaire des souris traitées à l'acétate de plomb ensuite à l'huile essentielle de géranium rosat après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40).....60

Liste des tableaux

Tableau 01 : Rôles et caractéristiques des facteurs de croissance au niveau épидидymaire....**32**

Tableau 02 : Autres matériels utilisés pour l'étude.....**39**

Liste d'abréviations

ABP : Androgen binding protein

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

AR : Récepteurs androgéniques

Cd : Cadmium

Cm : Centimètre

DHEA : Déhydroépiandrostérone

DHT : 5 α -dihydrotestostérone

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EGF : epidermal growth factor

ERK : extracellular signal-regulated kinase

ESM : erreur standard liée à la moyenne

FSH : hormone folliculostimuline

FSHR : Récepteur de l'hormone folliculostimuline

g : Gramme

GTP : Guanosine triphosphate

hCG : Hormone chorionique gonadotrope humaine

HGF : Facteur de croissance des hépatocytes

HSP : protéines chaperonnes de choc thermique

IGF : insulin-like growth factor

LH : Hormone Lutéinisante

LH-R : Récepteur de l'hormone lutéinisante

LHRH : Gonadolibérine

MAPK : Protéines kinases activées par les mitogènes

P : Valeur des probabilités

P4 : Progestérone

P450 : Cytochrome

P4R : Récepteurs de la progestérone.

Pbs : sulfure de plomb

Liste d'abréviations

PC : poids corporel

PDGF : Platelet-derived growth factor

PEs: Perturbateurs endocriniens

pH : Potentie hydrogène

P-ModS : Multiple organ dysfunction score

PTU : Propylthiouracile

RA : Récepteurs des androgènes

RAF : Kinase protooncogène

RTK : Tyrosine kinase

SBP : Sex steroid-binding protein

StAR : Steroidogenesis activator protein

TSH : Thyroid Stimulating Hormone

Sommaire

Listes des figures et planches	
Liste des tableaux	
Abréviations	
Introduction générale.....	01
Partie I : Revue bibliographique	
I. Organisation générale de l'appareil reproducteur mâle.....	03
1. Composants de l'appareil reproducteur masculin.....	03
2. Anatomie.....	04
2.1. Testicule.....	04
2.1.1. Albuginée	04
2.1.2. Parenchyme.....	04
2.1.3. Tubes séminifères.....	05
2.2. Voies spermatiques intra testiculaire.....	05
2.2.1. Canaux efférents.....	05
2.2.2. Rete testis.....	06
2.3. Voies spermatiques extra testiculaire.....	06
2.3.1. Epididyme.....	06
2.3.2. Canal déférent.....	06
2.4. Glandes annexes.....	07
2.4.1. Vésicules séminales.....	07
2.4.2. Prostate.....	07
2.4.3. Glande bulbo-urétrale.....	08
2.5. Urètre.....	08
2.6. Verge (pénis).....	08
3. Histologie descriptive du testicule, épидидyme, et canal déférent.....	08
3.1. Testicules.....	08

3.1.1. Tubes séminifères.....	09
3.1.1.1. Cellules germinales.....	10
3.1.1.1.1. Spermatogonies.....	11
3.1.1.1.2. Spermatocytes.....	12
3.1.1.1.2.1. Spermatocytes primaires.....	12
3.1.1.1.2.2. Spermatocytes secondaires.....	12
3.1.1.1.3. Spermatides.....	12
3.1.1.1.4. Spermatozoïdes.....	12
3.1.1.2. Cellules de Sertoli.....	13
3.1.1.3. Cellules de Leydig.....	14
3.2. Epididyme.....	15
3.2.1. Cellules épидидymaires.....	15
3.2.1.1. Cellules principales.....	17
3.2.1.2. Cellules apicales.....	17
3.2.3. Cellules étroites.....	17
3.2.4. Cellules claires.....	17
3.2.5. Cellules basales.....	17
3.2.5. Cellules Halo.....	18
3.3. Canal déférent.....	18
4. Physiologie de la fonction testiculaire.....	19
4.1. Spermatogenèse.....	19
4.2. Stéroïdogenèse.....	19
5. Physiologie de la fonction épидидymaire.....	20
II. Régulation fonctionnelle testiculaire et épидидymaire.....	21

1. Niveau testiculaire.....	21
1.1. Les gonadotrophines.....	21
1.2. Les Androgènes.....	25
1.2.1. Testostérone et dihydrotestostérone DHT.....	25
1.3. Régulation autocrine et paracrine.....	27
2. Niveau épидидymaire.....	28
2.1. Androgènes.....	28
2.2. Progestérone	29
2.3. Œstrogènes	29
2.4. Facteurs thyroïdiens.....	29
2.5. Facteurs de croissance	30
2.6. Régulation autocrine et paracrine.....	33
III. Facteurs influençant la reproduction chez la souris.....	33
1. Température ambiante.....	33
2. Duréed'éclairement.....	33
3. Odorat.....	33
4. Bruits.....	34
5. Perturbation endocrinienne.....	34
5.1. Métaux lourds.....	34
5.1.1. Toxicité reproductive.....	34
5.1.2. Cancérogénicité.....	35
5.1.3. Neurotoxicité.....	35

1. Matériel biologique.....	36
1.1. Modèle animal.....	36
1.1.1. Conditions d'élevage.....	36
1.2. Matériel biochimique.....	37
1.2.1. Acétate de plomb.....	37
1.2.2. Diméthylsulfoxyde (DMSO).....	37
1.3. Modèle végétal.....	37
1.3.1. Plante géranium rosat.....	37
1.3.2. Huile essentielle de géranium rosat.....	38
1.3.2.1. Composés de l'huile essentielle de géranium rosat.....	39
1.4. Autres matériels.....	39
2. Méthode de travail.....	39
2.1. Pesé et traitement d'animaux.....	39
2.2. Sacrifice et prélèvement d'organes.....	41
3. Etude histologique.....	41
3.1. Fixation des échantillons.....	42
3.2. Déshydratation et éclaircissement.....	43
3.3. Imprégnation.....	43
3.4. Inclusion.....	44
3.5. Confection des coupes.....	45
3.6. Déparaffinage et réhydratation.....	45
3.7. Coloration et déshydratation.....	45
3.8. Montage des coupes.....	46

3.9. Observation microscopique.....	47
4. Etude statistiques.....	47
Partie III : Résultat et discussion	
1. Résultats macroscopiques.....	48
1.1. Poids corporel.....	48
1.2. Variation pondérale des organes reproducteurs.....	49
1.2.1. Poids testiculaire.....	49
1.2.1.1. Poids des testicules gauche et droit.....	49
1.2.1.2. Poids testiculaire total.....	50
1.2.1.3. Variation du poids testiculaire relatif.....	50
1.2.2. Poids épидидymaire.....	51
1.2.2.1. Poids des épидидymes droit et gauche.....	51
1.2.2.2. Variation du poids épидидymaire total.....	52
1.2.2.3. Poids relatif épидидymaire.....	53
2. Résultats de l'étude microscopique.....	54
2.1. Histologie des testicules.....	54
2.1.1. Histologie des testicules du lot témoin et DMSO.....	54
2.1.2. Etude histologique testiculaire des souris traitées à l'acétate de plomb.....	56
2.1.3. Histologie testiculaire des souris traitées à l'acétate de plomb suivis par un traitement quotidien à l'huile essentielle de géranium rosat.....	57
2.2. Histologie de l'épидидyme proximal.....	58
2.2.1. Epидидyme proximal des souris témoins et DMSO.....	58

2.2.2. Histologique de l'épididyme proximal des souris traitées à l'acétate de plomb.....	59
2.2.3. Histologique de l'épididyme proximal des souris prétraitées à l'acétate de plomb suivi par l'huile essentielle de géranium rosat.....	60
3.Discussion des résultats.....	61
3.1. Résultats macroscopiques.....	61
3.2. Résultats microscopiques.....	62
Conclusion.....	64
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Introduction

La reproduction est une fonction essentielle pour la survie ainsi qu'à l'évolution des espèces. Chez les mammifères, elle est assurée par les organes génitaux des deux sexes. Les organes reproducteurs mâles produisent et conduisent dans l'appareil génital féminin le spermatozoïde qui, en rencontrant et fécondant le gamète féminin, aboutit à la naissance d'un nouvel individu.

Environ 40% des problèmes de fertilité des couples sont causés par des problèmes de fonctionnement de l'appareil reproducteur masculin (Lotti et Maggi, 2014). Au cours de ces dernières années, de nombreux groupes de recherche se sont intéressés aux effets potentiellement toxiques de divers agents chimiques et physiques de notre environnement sur la fertilité humaine (Toppari, et *al.*, 1996). Chez l'homme, en milieu professionnel, une exposition chronique au plomb révélée par des plombémies supérieures à 400 µg/L peut entraîner une diminution de la production des spermatozoïdes qui accroît le risque d'hypofertilité. Pour des plombémies supérieures à 600 µg/L, une diminution de la concentration de testostérone circulante peut être observée, en association avec une perturbation du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire. (Chanel et *al.*, 1999).

La recherche de molécules potentiellement bioactives est actuellement un sujet d'intérêt dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Les matériaux végétaux ont été considérés comme des ressources utiles dans une myriade d'applications allant de la préparation quotidienne des aliments, l'industrie alimentaire, la fabrication de produits pharmaceutiques à l'inclusion directe dans les formulations médicinales (Dao et *al.*, 2022). De nos jours, l'utilisation de plantes médicinales et aromatiques en phytothérapie a été considérablement développée en exploitant plusieurs herbes (Abdelli et *al.*, 2016).

les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques, caractérisés par la présence de deux ou trois composants, généralement responsables de l'activité biologique (Contini et *al.*, 2020), susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en le perturbant (El Kalamouni, 2010). Plusieurs études menées apportent des preuves que certains extraits des plantes, principalement les huiles essentielles qui peuvent améliorer la qualité et la fonction spermatiques (Nozhat et *al.*, 2014).

En ce sens, notre travail consiste à mettre en évidence les effets de l'huile essentielle de géranium rosat, contre les dommages testiculaires et épидидymaires induits par l'acétate de

Introduction

plomb. Le présent manuscrit est rédigé dans le cadre d'un projet de recherche dirigé par Docteur Lakabi Lynda.

La présente étude traite trois grandes parties ; une partie qui vise à introduire les notions fondamentales nécessaire à la compréhension du reste du manuscrit ; représentant une synthèse bibliographique, une partie matériels et méthode et une partie résultats et discussion et nous terminons par une conclusion et quelques perspectives et la liste des références bibliographiques.

Revue bibliographique

L'appareil génital mâle est formé par l'ensemble des organes chargés de l'élaboration de sperme et du dépôt de celui-ci dans les voies génitales de la femelle (Barone, 2001).

I. Organisation générale de l'appareil reproducteur mâle

1. Composants de l'appareil reproducteur masculin

L'appareil de reproduction masculin est composé de deux testicules, des voies génitales excrétrices (épididyme, canal déférent), des glandes annexes (vésicules séminales, prostate, glandes bulbo-urétrales) et du pénis (figure 1) (Tachdjian *et al.*, 2016). Ces structures sont principalement impliquées dans la formation, le stockage et l'éjaculation du sperme. Ils produisent également des androgènes qui aident au développement et au maintien du potentiel de fertilité masculine (Das *et al.*, 2022).

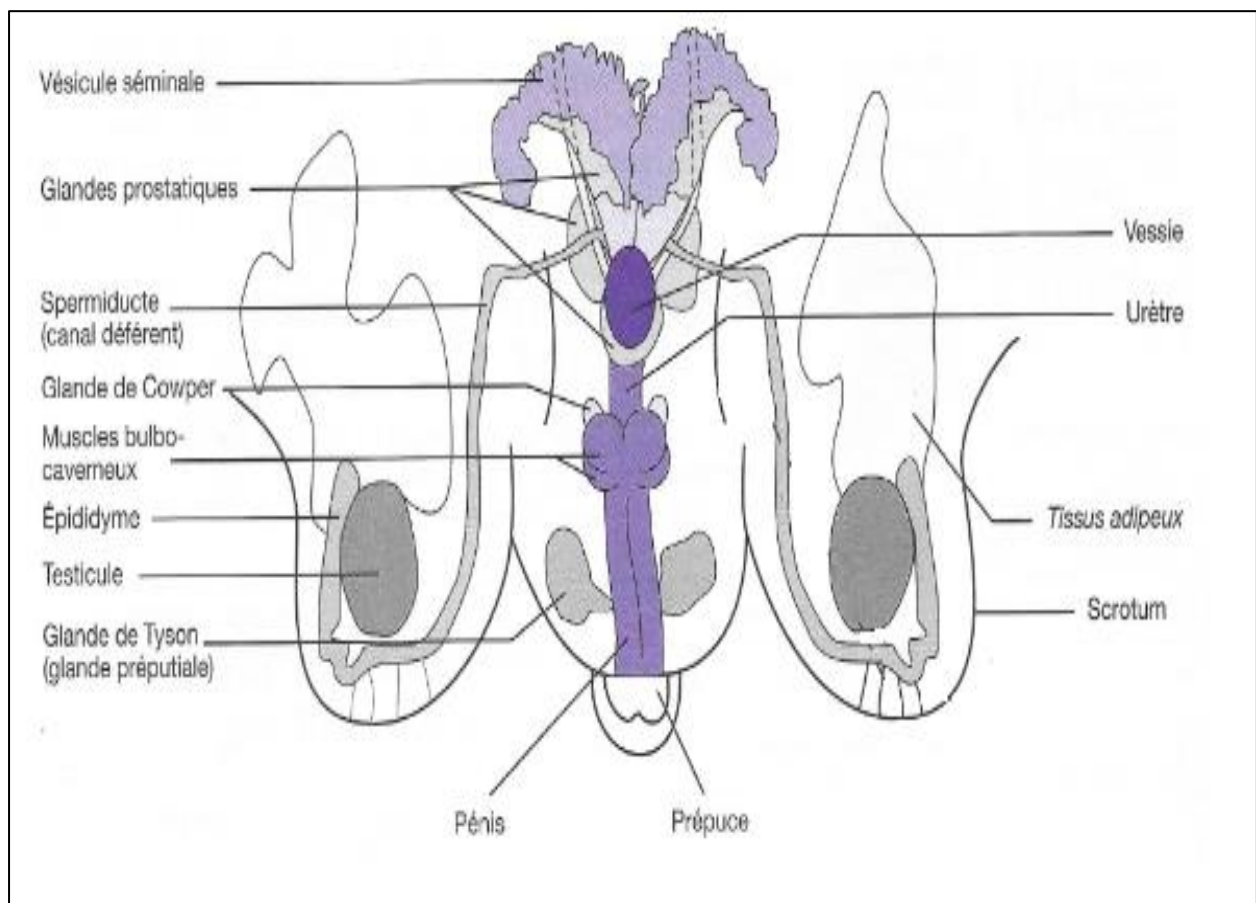


Figure 01 : Appareil génital mâle chez la souris (Tanguy, 2017)

2. Anatomie

2.1. Testicules

Les testicules (figure 02) sont des glandes sexuelles mâles qui ont à la fois une fonction endocrine et exocrine. Ce sont des structures reproductrices de forme ovale qui se trouvent dans le scrotum et sont séparées par le septum scrotal (septa). Ils sont en forme d'haricots et mesurent 3 cm sur 5 cm de longueur et 2 cm à 3 cm de largeur (Tiwana et Leslie, 2022).

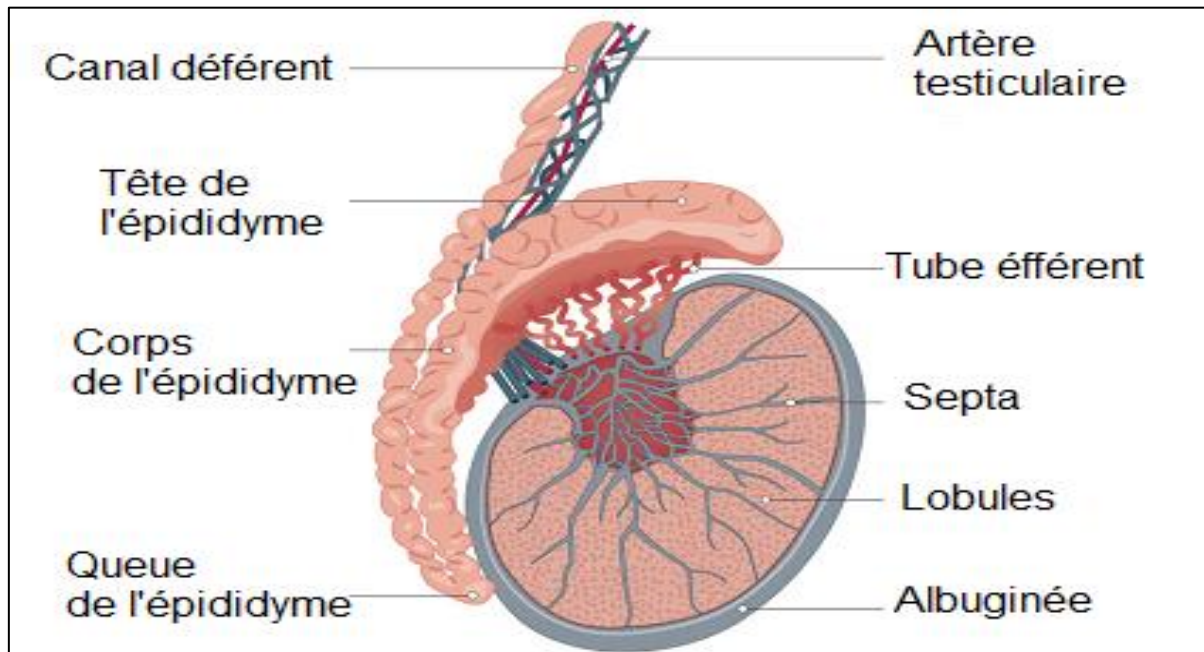


Figure 02 : Anatomie du Testicule (Owuraku et *al.*, 2022).

2.1.1. Albuginée

Les testicules sont recouverts d'une membrane externe, l'albuginée, qui est une épaisse gaine constituée par des tissus fibreux et recouvre entièrement le parenchyme (Owuraku et *al.*, 2022).

2.1.2. Parenchyme

Le parenchyme testiculaire est constitué de plusieurs lobules, chaque lobule referme des tubes en forme de U, les tubes séminifères. Ce sont ces tubes qui fabriquent les spermatozoïdes. On en dénombre un à quatre par lobules (Chen, 2022).

2.1.3. Tubes séminifères

D'après Nakata et *al.* (2015) les tubes séminifères (figure 03) sont des structures tubulaires spéciales dans le testicule qui produisent des spermatozoïdes en continu tout au long du cycle de vie masculin. Il existe deux types de tubes séminifères : contournées et droits. Les tubes contournés ont deux extrémités qui sont en continuité avec les tubes droits qui se lient au rete testis.

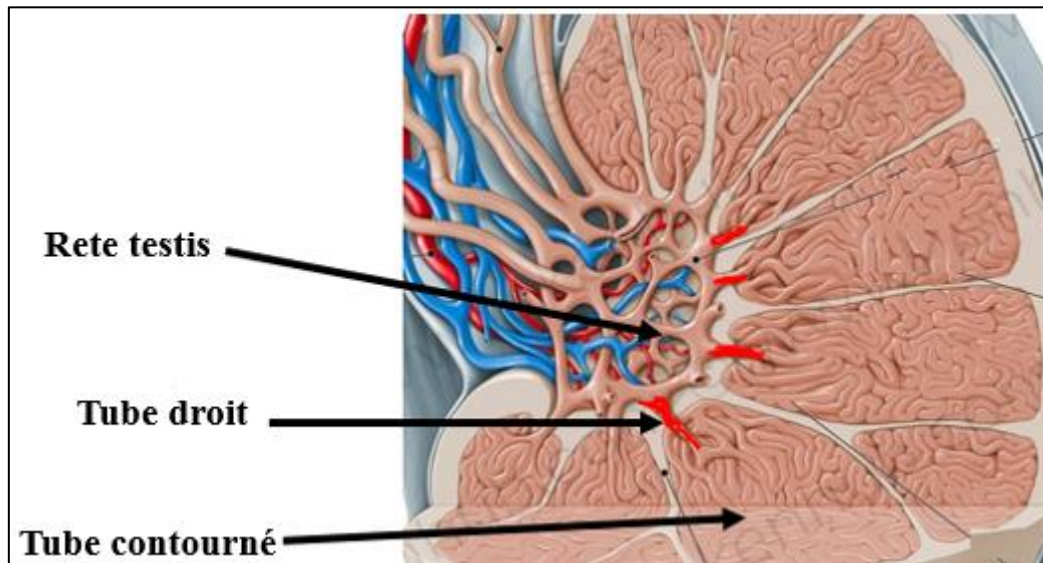


Figure 03 : Dessin de l'anatomie des tubes séminifères (Shahid, 2022).

2.2. Voies spermatiques intra testiculaire

2.2.1. Canaux efférents

Anatomiquement ils appartiennent à l'épididyme, ils relient le reste testis à l'épididyme. Ce sont des tubes enroulés sur eux-mêmes en forme de cônes dont le sommet est testiculaire et la base épидидymaire (Ouanes, 2018).

2.2.2. Rete testis

Le rete testis est un ensemble de canalicules formant un réseau anastomosé dans la partie inférieure du corps d'Highmore (le mediastinum testis) (épaississement conjonctif du bord antérosupérieur du testicule) (Dahami et *al.*, 2020).

2.3. Voies spermatiques extra testiculaire

2.3.1. Epididyme

Shahid (2022) définit l'épididyme comme une structure tubulaire fine et allongée en forme de virgule qui est comprimée et étroitement effilochée. L'épididyme se trouve sur la face postérieure des testicules et repose sur toute la longueur des testicules postérieurs.

Conformément aux études menées sur l'épididyme par Abe et *al.* (1982) le canal épидидymaire peut être morphologiquement divisé en un certain nombre de segments (figure 04) dont on pense qu'ils varient également sur le plan fonctionnel. Les segments du conduit varient en nombre selon les espèces animales.

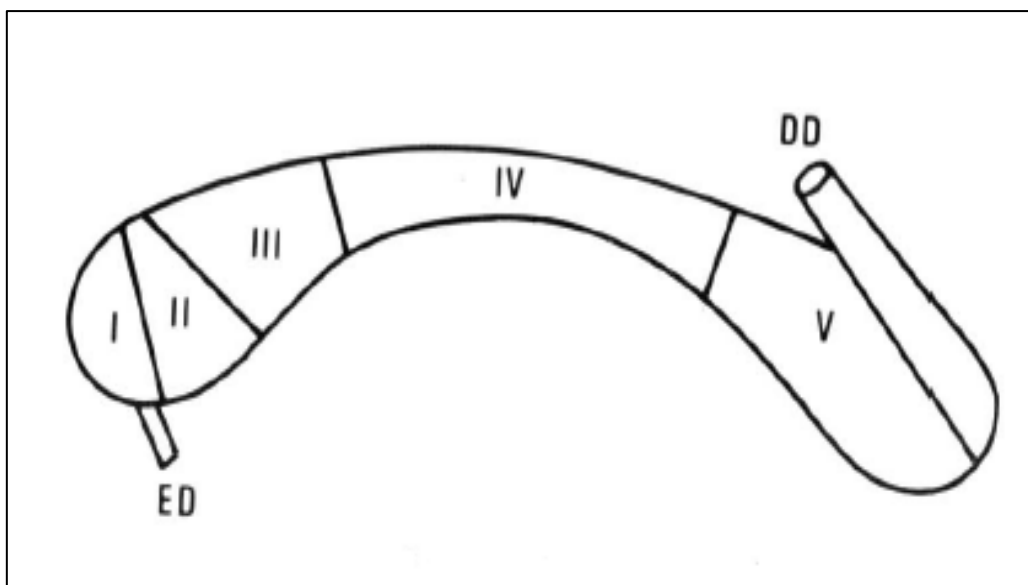


Figure 04 : Schéma de l'épididyme de souris, composé de cinq segments (I-V) du canal épидидymaire. ED : conduit efférent, DD : conduit déférent (Abe et *al.*, 1982).

2.3.2. Canal déférent

Le canal déférent, est un tube fibromusculaire continu avec l'épididyme. Il commence à la queue de l'épididyme puis tourne brusquement vers le haut le long de la marge postérieure des testicules. Il traverse l'uretère et la partie postérieure de la vessie, puis descend le long de la paroi postérieure de la vessie vers la prostate. Juste avant d'atteindre la prostate, chaque canal déférent s'agrandit pour former une ampoule (figure 05). Le canal déférent propulse les spermatozoïdes par des mouvements péristaltiques (Chikaodiri, 2020).

2.4. Glandes annexes

Selon Dimitrov et Stamatova, (2011) les glandes annexes (figure 05) de la souris diffèrent en nombre, emplacement, taille et proportion parmi d'autres aspects comme ceux des autres mammifères. Cet ensemble de glandes est constitué d'une glande vésiculaire (vésicules séminales), d'une glande prostatique, et une glande bulbo-urétrale.

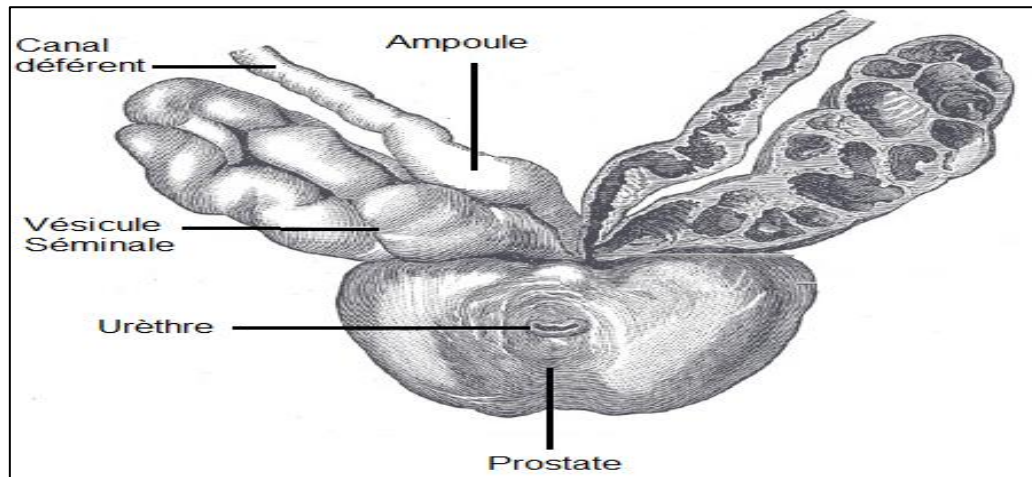


Figure 05 : Prostate avec vésicules séminales et canaux séminaux, vue de face et de dessus (Mckay et *al.*, 2022).

2.4.1. Vésicules séminales

La glande vésiculaire (vésicule séminale) est une glande unique en forme de sac aplati ou de paupière. La taille de la glande est déterminée par la quantité de liquide qu'elle contient (Skonieczna et *al.*, 2019).

2.4.2. Prostate

D'après Seisen et *al.* (2012), la prostate est la glande exocrine la plus volumineuse de l'appareil urogénital masculin. Elle est située au croisement des voies génitales et urinaires. Avec les vésicules séminales, la prostate joue un rôle essentiel dans la synthèse et l'émission du liquide spermatique. Elle contribue plus indirectement au cycle miction-continence par sa composante musculaire lisse, ses rapports étroits avec l'urètre qui la traverse, le col vésical, le sphincter urétral intrinsèque et les structures de maintien de la vessie (ligaments pubo-vésicaux et aponévrose pelvienne)

2.4.3. Glande bulbo-urétrale

Les glandes bulbo-urétrales forment un organe apparié, localisé sur la face dorsale de l'urètre pelvien, dans la région de l'arc pelvien et de la racine pénienne. Ces glandes sont situées dans le tissu conjonctif de la partie urogénitale du périnée (Barone, 2001).

2.5. Urètre

L'urètre est un conduit musculaire aux parois minces s'abouchant au plancher de la vessie et qui transporte l'urine hors de l'organisme (Mooser, 2016). En plus de l'urine, l'urètre masculin transporte le sperme : un liquide contenant des spermatozoïdes et des sécrétions des glandes sexuelles (Jones, 2019).

2.6. Verge (pénis)

Le pénis est un organe masculin utilisé pour la reproduction et la miction. Il se compose principalement de corps caverneux, de corps spongieux et d'urètre spongieux avec une peau de soutien, du tissu conjonctif et du sang, de la lymphe et du fascia (Sam et LaGrange, 2022).

3. Histologie descriptive du testicule, épiddidyme et canal déférent

3.1. Testicules

Le testicule est entouré d'une capsule conjonctive fibreuse épaisse et résistante, riche en fibre de collagène et renfermant des fibres musculaires lisses ; c'est l'albuginée. Il est constitué des lobules (Figure 06) qui contiennent chacun 2 à 4 tubes séminifères très longs et flexueux et des espaces interstitielles. Ces derniers sont constitués par un tissu conjonctif lâche et de nombreux capillaires sanguins et amas de cellules de Leydig (Ghalamoun, 2019).

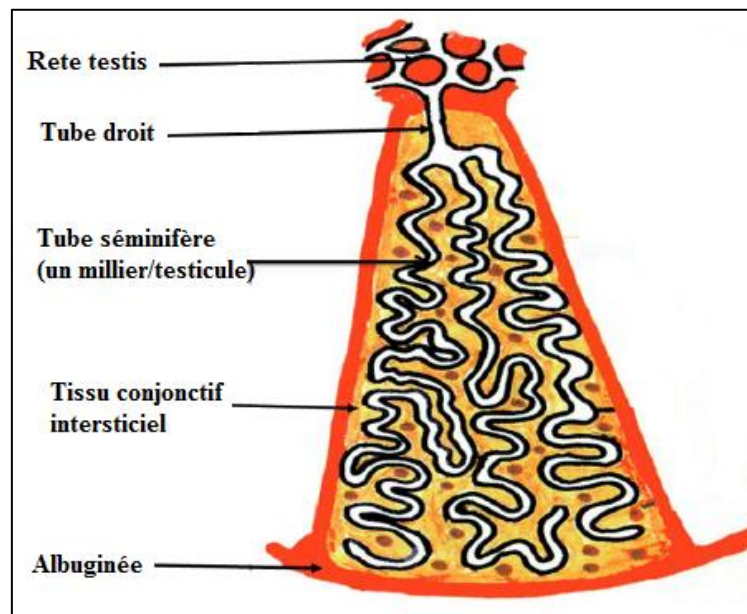


Figure 06 : Schéma d'un lobule testiculaire (Gharamoun, 2019).

3.1.1. Tubes séminifères

Le tube séminifère (figure 07) est l'unité fonctionnelle du testicule, chaque tube séminifère comprend une lame basale sur laquelle repose un ensemble de cellules dont on reconnaît deux groupes morphologiquement et physiologiquement distincts, les cellules de la lignée germinale et les cellules de Sertoli (Dadoune et Démolin, 1991).

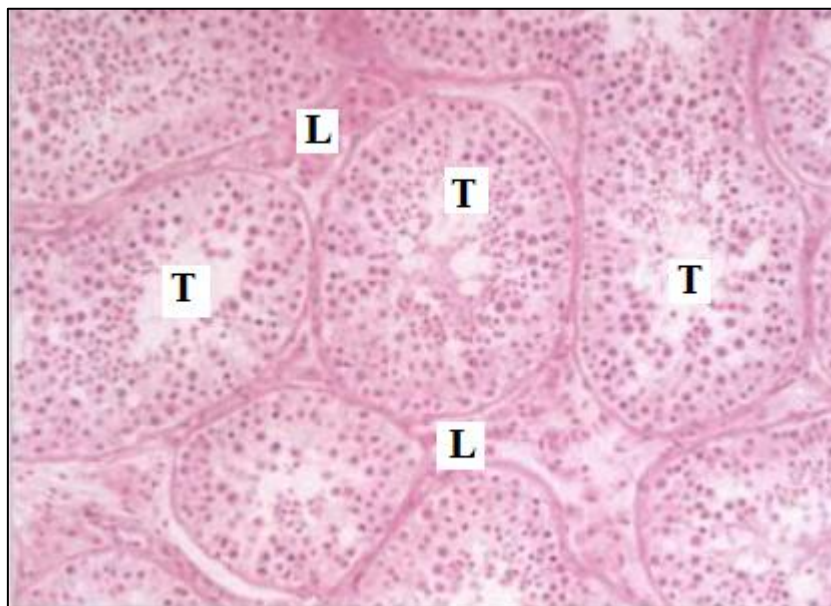


Figure 07 : Coupe histologique d'un tube séminifère (Stevens et *al.*, 1997). Tubes séminifères (T) en coupe transversales, longitudinales et obliques, bordés par l'épithélium séminal. Des cellules de Leydig (L) sont situées dans les interstices.

Entre les tubes séminifères se dispose un tissu interstitiel, de nature conjonctive, qui contient des vaisseaux sanguins et lymphatiques, des nerfs et des cellules isolées ou groupées en petits amas, les cellules de Leydig (Siffroi, 2001).

3.1.1.1. Cellules germinales

Les cellules germinatives (figure 08) sont formées par le processus de la spermatogenèse qui se produit au niveau des tubes séminifères des testicules et elles sont enfermées dans les compartiments créés par les cellules de Sertoli et la lumière tubulaire. Trois types de spermatogonies se trouvent dans le compartiment basal ; type A sombre, type A pâle et type B. Ces dernières initient la méiose après leurs prolifération mitotique par synthèse d'ADN qui accomplit une réplication précise de chaque chromosome pour former deux chromatides ; les spermatocytes primaires. Ces cellules montrent les caractéristiques nucléaires qui identifient les stades de la méiose I. Et au cours de la méiose I, des chromosomes homologues s'apparient et subissent une nouvelle combinaison d'allèles de gènes. Cette première division méiotique est réductionnelle donc donne deux cellules haploïdes (1 N) chacune a 23 chromosomes ; les spermatocytes secondaires. Ces dernières se divisent par la méiose II qui est équationnelle et qui sépare les chromatides en cellules séparées et donnent ; les spermatides. Ces dernières subissent des changements dans la position du noyau, accompagnée d'une réduction de la taille nucléaire et d'une condensation de l'ADN, et une formation de l'acrosome à partir du complexe de Golgi ainsi que la formation d'une queue à partir d'une de centrioles adjacents au complexe de Golgi et une élimination d'une grande partie du cytoplasme et ainsi forment les spermatozoïdes (Esteves et Miyaoka, 2015).

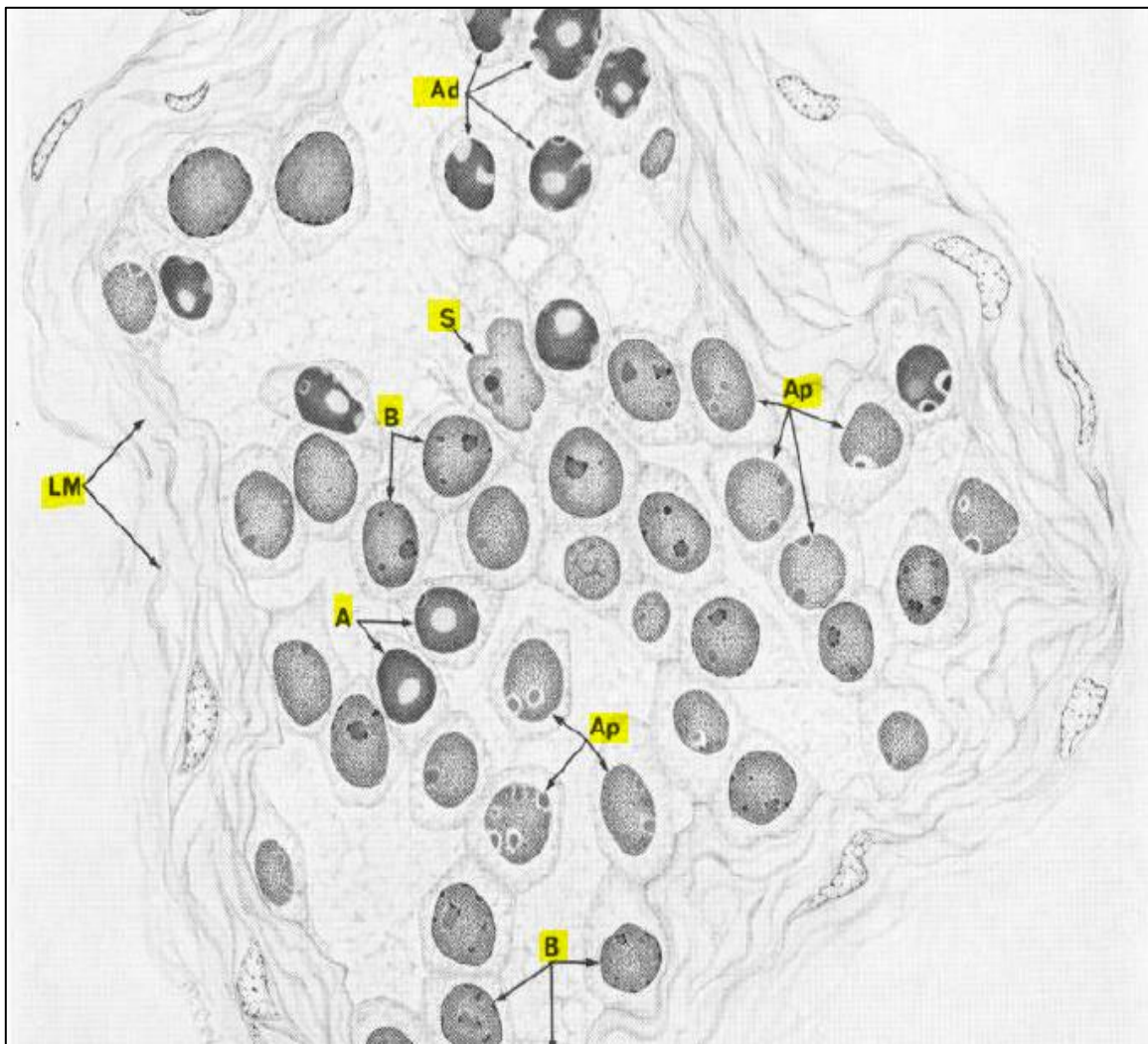


Figure 08 : Dessin illustrant différents types cellulaires observés dans le tube séminifère (Clermont, 1966).

Ad : Spermatogonie type A sombre, **Ap :** Spermatogonies type A pâle, **B :** Spermatogonies type B, **S :** Cellule de Sertoli, **LM :** Membrane tubulaire limitante.

3.1.1.1.1. Spermatogonies

La spermatogonie est la cellule souche de la lignée germinale à 2 N chromosome. Elle se développe à partir des cellules germinales primordiales qui migrent dans les testicules dès le début de l'embryogenèse (Meriane, 2019).

Ces cellules ont un contour sphérique avec de gros noyaux ronds qui contiennent des flocons d'hétérochromatine et deux à trois nucléoles placés de manière excentrique (Bellvé et al., 1977).

3.1.1.1.2. Spermatocytes

3.1.1.1.2.1. Spermatocytes primaires

Les spermatocytes primaires sont des cellules diploïdes. Elles possèdent un noyau plus petit et plus foncé que les spermatogonies du type B, qui augmente de volume au cours de la prophase méiotique (Guraya, 1987).

3.1.1.1.2.2. Spermatocytes secondaires

Les spermatocytes secondaires ont des noyaux sphériques contenant, en plus d'une chromatine fine et profondément colorée, des masses de chromatine globulaires plus grosses. On peut noter que ces cellules peuvent facilement être confondues avec de jeunes spermatides, avec lesquelles elles présentent une certaine ressemblance (Clermont, 1966).

3.1.1.1.3. Spermatides

Les spermatides sont situées dans le compartiment adluminal, enfoncées dans les dépressions des cellules de Sertoli auxquelles elles sont reliées par des jonctions spécialisées de type jonctions communicantes (Brugnon, 2009).

La spermatide ronde est la première cellule haploïde produite au cours de la spermatogenèse (Khochbin et Ward, 2018). Elle mûrit pour devenir une spermatide allongée, et sa maturation implique l'allongement du noyau, la condensation de la chromatine et la formation du granule acrosomique par l'appareil du Golgi et son élaboration ultérieure sur la tête du noyau (Goldberg et Zirkin, 2018).

3.1.1.1.4. Spermatozoïdes

Le spermatozoïde (figure 09) est une cellule très différenciée et polarisée, avec deux structures principales : la tête, contenant un noyau haploïde et le granule acrosomique, et le flagelle, qui génère de l'énergie et propulse la cellule ; les deux structures sont reliées par le cou. Il existe une énorme diversité dans la structure et les performances des spermatozoïdes. Par exemple, les spermatozoïdes de mammifères peuvent présenter plusieurs modèles de tête et des longueurs globales de spermatozoïdes allant d'environ 30 à 350 μm (Teves et Roldan, 2021).

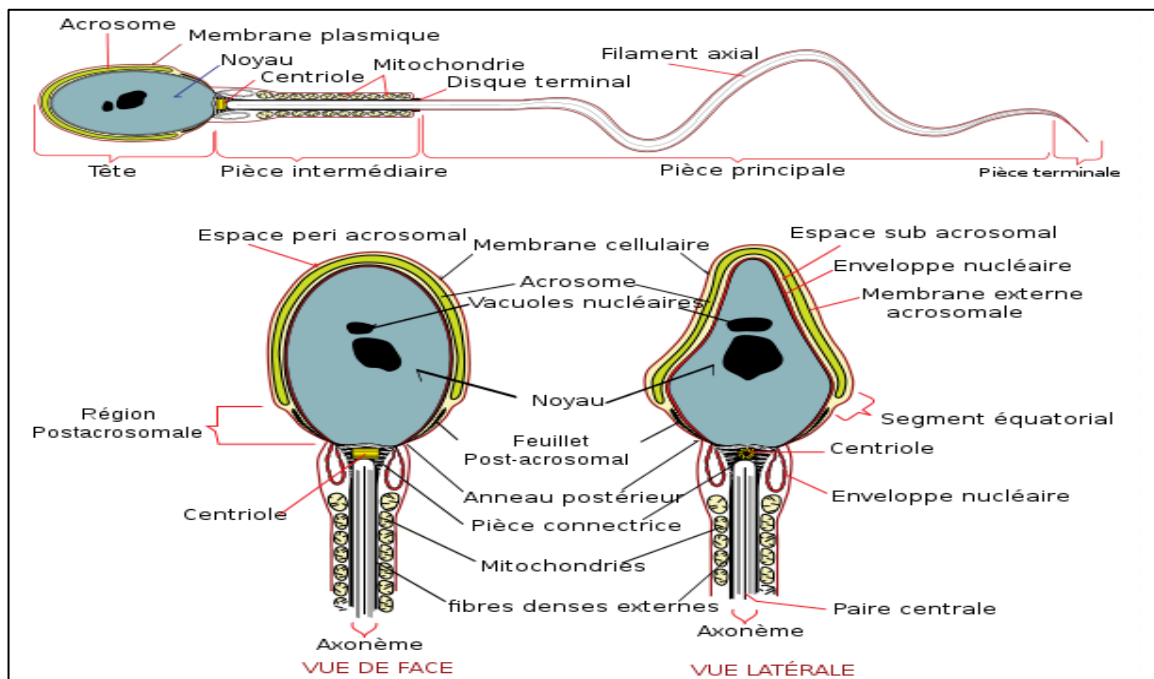


Figure 09: Structure d'un spermatozoïde (Williams et Warwick, 1980).

3.1.1.2. Cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli (figure 10) sont des cellules de forme pyramidale, de grande taille occupant toute l'épaisseur de l'épithélium. Elles sont reliées entre elles par des jonctions serrées qui se trouvent aux extrémités de leurs prolongements latéraux (Brugnon, 2009).

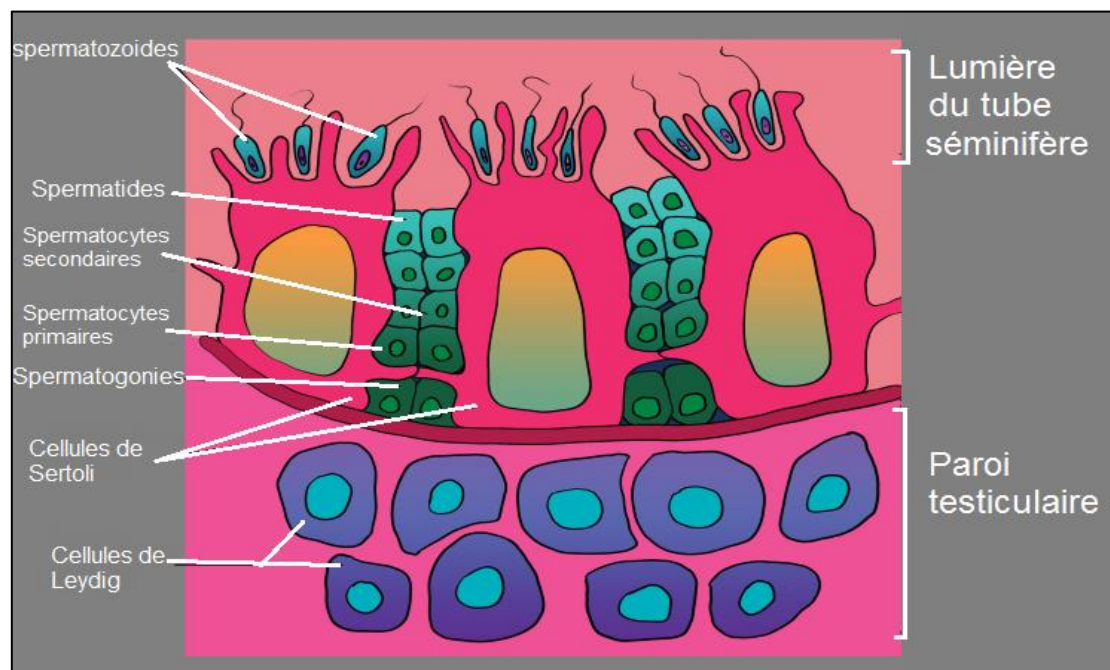


Figure 10 : Organisation de cellules de Sertoli dans le testicule (Wong et Khan, 2022).

L'une des caractéristiques les plus importantes des cellules de Sertoli est de sécréter un composé appelé Mullerian Inhibiting Factor, qui aide à prévenir le développement des organes sexuels féminins après la détermination des testicules par voie embryonnaire. Les cellules de Sertoli sécrètent également de l'inhibine B, qui aide à réguler la FSH en agissant sur l'hypophyse antérieure (Wong et Khan, 2022).

La cellule de Sertoli assure une triple fonction de phagocytose. Tout d'abord, elle élimine les cellules germinales qui ont dégénéré au cours de la spermatogenèse. Ensuite, elle phagocyte les reliquats de cytoplasme (corps résiduels) perdus par les spermatozoïdes lors de la spermiation. Enfin, elle élimine les complexes de jonctions qui sont sans cesse renouvelés (Vernet, 2006).

3.1.1.3. Cellules de Leydig

Les cellules de Leydig (figure 11) sont décrites comme des cellules polygonales avec un cytoplasme éosinophile et un gros noyau rond. Elles sont constituées d'un réticulum endoplasmique lisse grand et bien développé, de grosses et nombreuses gouttelettes lipidiques et un nombre important de mitochondries avec des crêtes tubulo-vésiculaires (Aladamat et Tadi, 2022). Elles sont les principales cellules sécrétant des stéroïdes dans le tissu intertubulaire du testicule chez les mammifères (Lebelo et Horst, 2016).

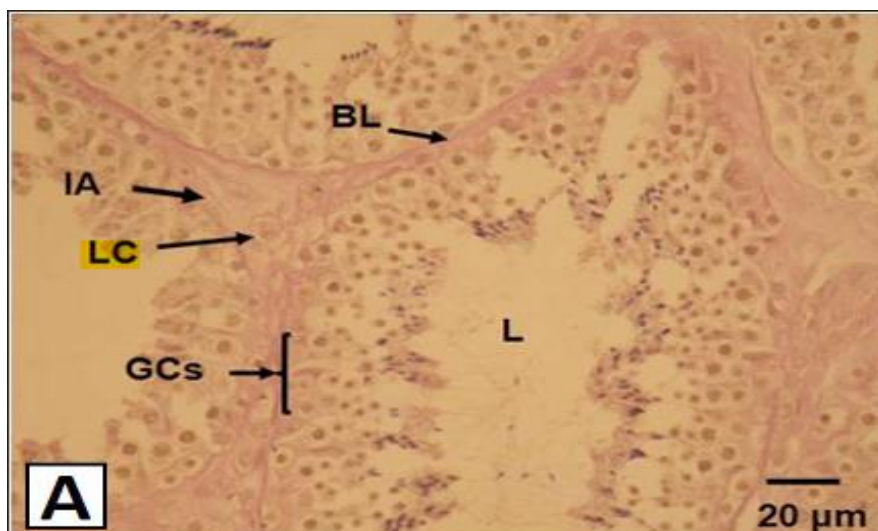


Figure 11 : Image microscopique montrant la disposition générale de la zone interstitielle (IA) et des tubules séminifères (A), des cellules de Leydig (LC) et des vaisseaux sanguins (BV) du testicule. Dans les tubules séminifères se développent des cellules germinales (GC), qui deviendront plus tard les spermatozoïdes matures. La lumière (L) est occupée par des spermatides de différents stades (Lebelo et Horst, 2016).

3.2. Epididyme

L'épididyme est constitué d'un épithélium pseudostratifié. Il est composé de différents types de cellules épithéliales cote à cote ce qui permet la création d'un espace circulaire appelé lumière de l'épididyme. (Reid et Cleland, 1957).

L'épididyme est divisé en quatre segments : le segment initial, le caput, le corpus et l'épididyme cauda. Les régions proximales (figure 12) (segment initial et caput) soutiennent la maturation des spermatozoïdes tandis que la cauda maintient les spermatozoïdes à l'état de repos et joue un rôle dans le stockage des spermatozoïdes (Sullivan et *al.*, 2019).

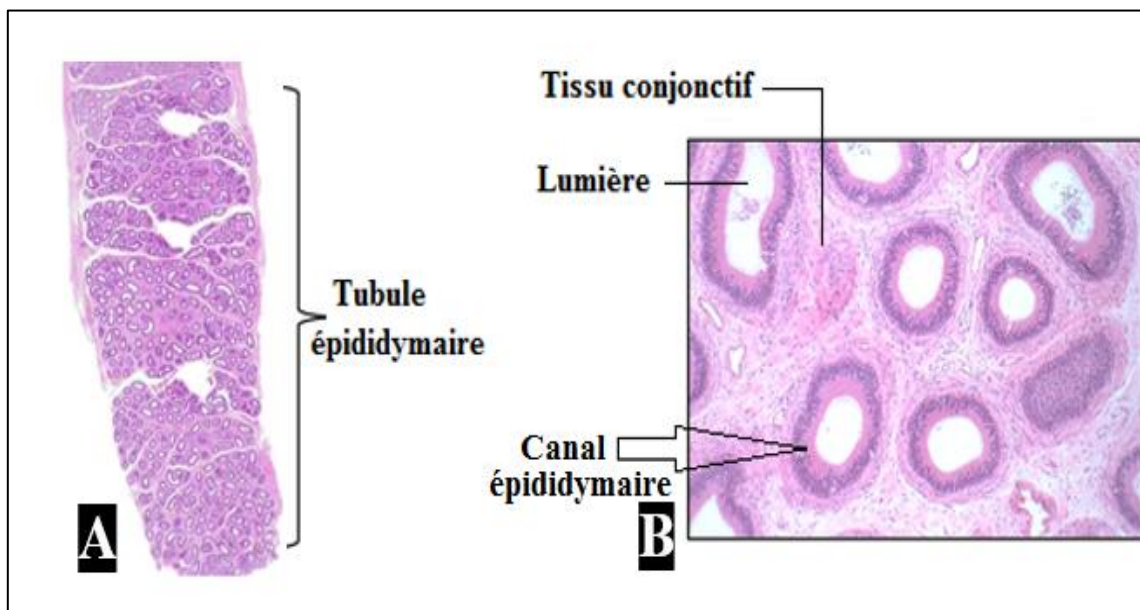


Figure 12 : Histologie d'un épидидyme proximal. Coupes longitudinales colorées à l'hématoxyline-éosine (Sullivan et *al.*, 2019).

A : Tube épидидymaire proximal, **B :** Canaux épидидymaires

Chez toutes les espèces, l'épithélium de l'épididyme est plus épais dans la région proximale ; l'épaisseur diminue le long de l'organe tandis que le diamètre de la lumière augmente (Sullivan et *al.*, 2019).

3.2.1. Cellules épидидymaires

L'épithélium épидидymaire est constitué de cinq populations cellulaires (figures 13 et 14) : cellules principales, apicales, étroites, claires, basales et halo. Cette diversification de cellules permet à l'épididyme de créer des changements séquentiels régionalisés et compliqués dans la composition du fluide luminal sur toute sa longueur. Cela aide à la transformation des spermatozoïdes testiculaires immatures en spermatozoïdes matures (Alkafafy et *al.*, 2011).

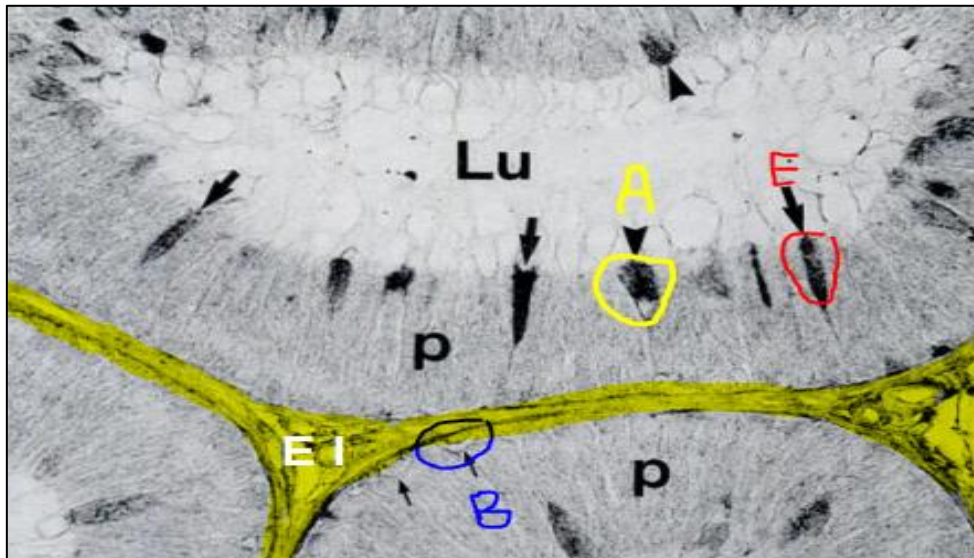


Figure 13 : Image microscopique de différentes cellules observées au niveau du segment initial proximal de l'épididyme du rat (Huzaifa *et al.*, 1996). Cellules apicales (A), cellules étroites (E), cellules principales (p), cellules basales (B), lumière (LU), espace inter tubulaire (EI) : coloré en jaune.

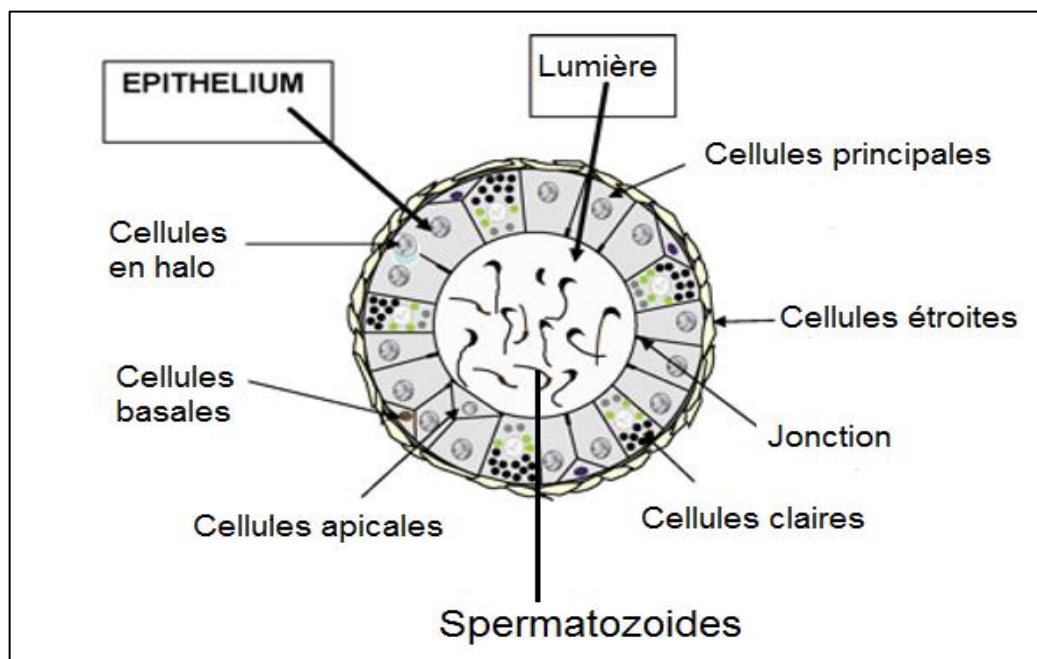


Figure 14 : Schéma de principe de l'organisation cellulaire dans une coupe représentative de l'épididyme de rat (Gail, 2009).

3.2.1.1. Cellules principales

Les cellules principales sont des cellules sécrétoires et absorbantes hautement actives responsables de la production d'une grande partie de la composition protéique inhabituelle de la lumière épидидymaire, ainsi que de jouer des rôles supplémentaires dans la modulation du pH luminal et dans la signalisation luminicrine (Johnston et *al.*, 2005).

3.2.1.2. Cellules apicales

Les cellules apicales se retrouvent dans tout l'épididyme mais sont majoritaires au niveau du segment initial. Ces cellules jouent un rôle dans l'acidification du fluide intraluminal et dans des fonctions d'absorption et sécrétion (Martinez-Garcia et *al.*, 1995).

3.2.3. Cellules étroites

Les cellules étroites étaient considérées comme des cellules minces et allongées ayant tendance à être plus profondément colorées et présentant un petit noyau quelque peu aplati situé dans la moitié supérieure de leur cytoplasme (Huzaifa et *al.*, 1996).

3.2.4. Cellules claires

Les cellules claires sont significativement plus nombreuses dans la queue de l'épididyme que dans la région de la tête. Elles ont un rôle acidifiant plus prédominant dans la région distale, où les spermatozoïdes sont stockés. L'acidification luminale (faible concentration en bicarbonate (HCO_3^-) et d'un pH bas) fournie par les cellules claires est essentielle au maintien de la quiescence des spermatozoïdes pendant leur maturation et leur stockage dans l'épididyme (Shum et *al.*, 2011).

3.2.5. Cellules basales

Selon Pinel et *al.* (2019) les cellules basales sont nommées ainsi pour le fait que leurs corps cellulaires sont principalement localisés sur la surface basale du tube. Elles jouent un rôle important dans le maintien de l'intégrité structurelle de la barrière hémato-épididymaire, et il a été proposé qu'elles puissent être des cellules souches adultes pour l'épithélium épидидymaire.

3.2.5. Cellules Halo

Les cellules halo se trouvent dans tout l'épididyme. Ils ont été postulés comme étant des lymphocytes ou monocytes et joueraient un rôle dans la barrière immunologique du canal reproducteur masculin (Hamilton, 1972).

3.3. Canal déférent

Le canal déférent (figure 15) fait suite à l'épididyme et se continue par le canal éjaculateur. Il possède une paroi épaisse qui comporte 3 tuniques : une muqueuse mince (formée d'un épithélium pseudostratifié pourvu d'un chorion riche en fibre élastique, et forme des replis), une musculuse épaisse (formée de 3 couches de fibres musculaires lisses) et une adventice (vascularisé et innervé). Le canal déférent joue un rôle de réservoir pour les spermatozoïdes (Ghalamoun, 2019).

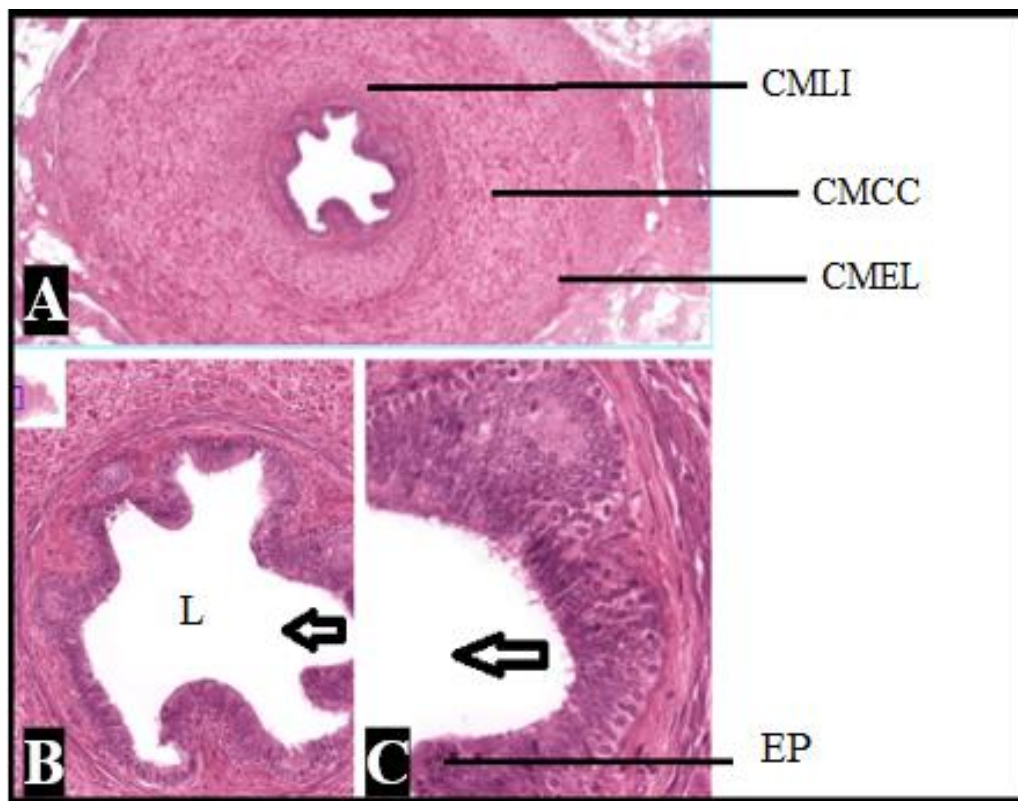


Figure 15 : Histologie du canal déférent (Clark Brelje et Sorenson., 2005). **CMLI** (couche musculaire longitudinale interne) **CMCC** (couche musculaire centrale circulaire), **CMEL** (couche musculaire extérieure longitudinale), **L** : lumière, **EP** : épithélium pseudostratifié **flèche** : lumière. **A** : coupe histologique d'un canal déférent, **B et C** : agrandissement de la coupe histologique.

4. Physiologie de la fonction testiculaire

4.1. Spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus qui transforme une cellule germinale indifférenciée, la spermatogonie, en cellules germinales mâles hautement différenciées, les spermatozoïdes. Ce processus se déroule dans les tubes séminifères du testicule où les cellules germinales en différenciation sont étroitement liées aux cellules de Sertoli (Geoffroy-Siraudin, 2010). La spermatogénèse se déroule en trois phases : la prolifération des spermatogonies (cellules germinales souches diploïdes) ; la méiose, au cours de laquelle un spermatocyte donne quatre spermatoïdes haploïdes, et la différenciation des spermatoïdes en spermatozoïdes, ou spermiogénèse (Perrad et *al.*, 2010).

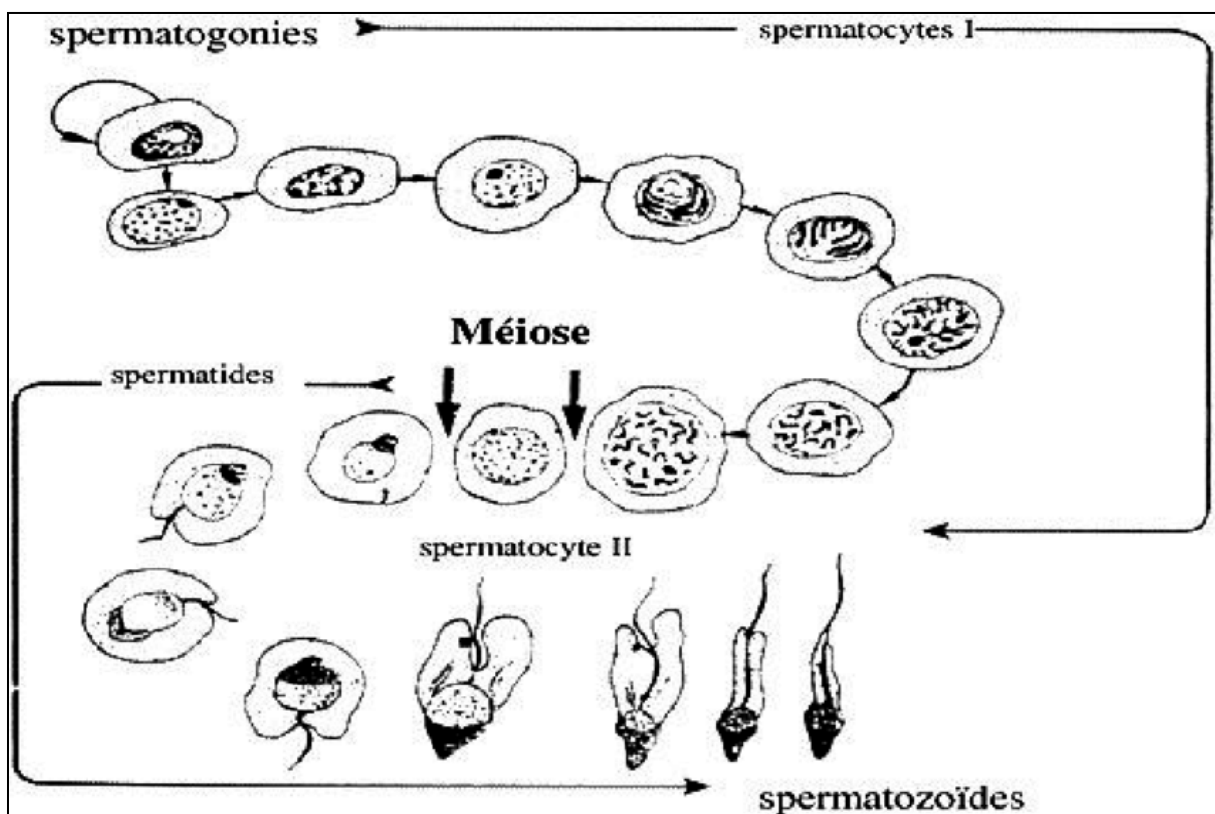


Figure 16 : Schéma récapitulatif de la spermatogénèse (Dadoune et *al.*, 2001).

4.2. Stéroïdogénèse

La testostérone est le principal androgène circulant. Elle est produite de façon quasi-exclusive (plus de 95%) par les cellules de Leydig. Son précurseur est le cholestérol. Ce dernier (C27) est acheminé aux mitochondries grâce à un mécanisme régulé par une protéine de transfert appelée protéine activatrice de la stéroïdogénèse (StAR ou steroidogenesis activator protein), en dépendance de la LH. Dans la mitochondrie, le cholestérol (C27) est

clivé en prégnénolone (C21), grâce au cytochrome P450_{scc} (side-chain clivage). La prégnénolone, est expulsée dans le réticulum endoplasmique où elle subit une transformation, notamment sous l'effet d'enzymes oxydatifs du groupe des cytochromes P450 en divers stéroïdes C19. Avant de se transformer en testostérone, deux voies peuvent être empruntées, désignées sous les termes de voie $\Delta 4$ ou $\Delta 5$, selon que les composés intermédiaires sont des 3-céto, $\Delta 4$ stéroïdes ou des 3-hydroxy, $\Delta 5$ stéroïdes (Figure 21) ; dans le testicule, la voie $\Delta 5$ est la plus privilégiée (Tostain *et al.*, 2004).

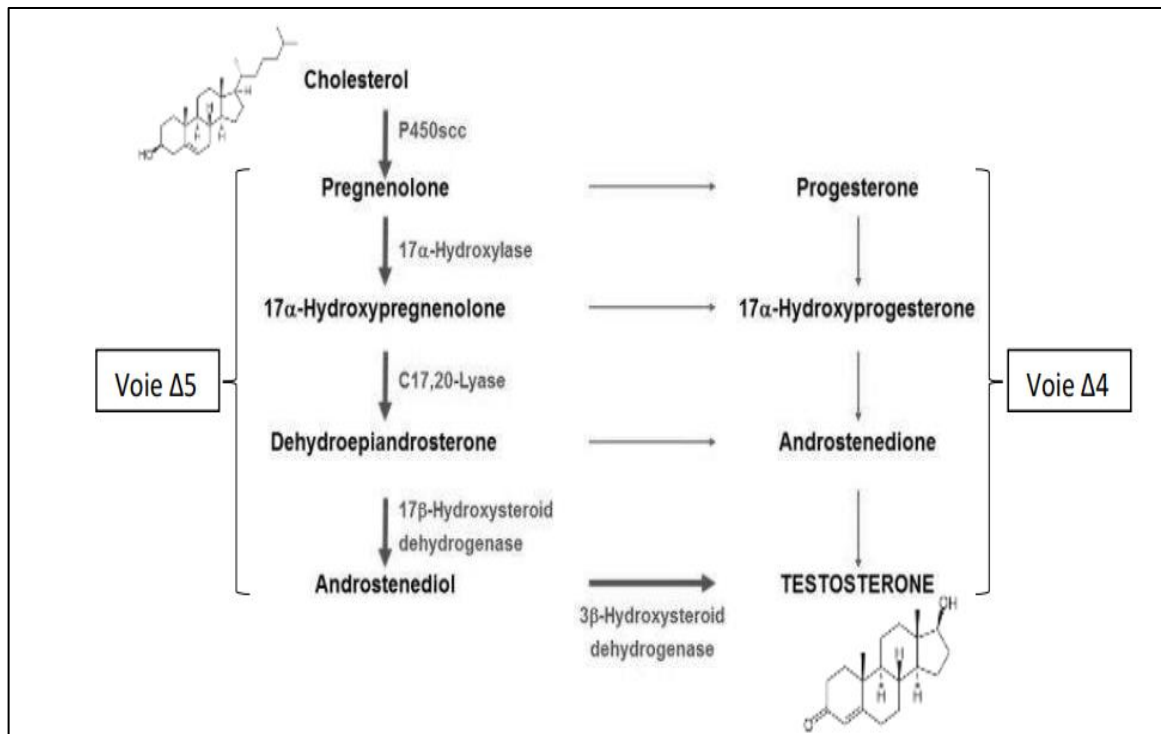


Figure 17 : Voies de synthèse de la testostérone au niveau testiculaire (Belotti, 2018).

5. Physiologie de la fonction épидидymaire

Les principales fonctions exercées par l'épididyme sont le transport des spermatozoïdes, leur maturation, et leur stockage. La maturation des spermatozoïdes se fait par passage dans l'épididyme en s'exposant à l'évolution de l'environnement épидидymaire. Le changement le plus évident et le plus universel observé dans les spermatozoïdes à mesure qu'ils mûrissent, est l'acquisition de motilité. La queue de l'épididyme est le principal site de stockage de spermatozoïdes dans l'appareil reproducteur masculin. (Robaire et Viger, 1995).

II. Régulation fonctionnelle testiculaire et épидидymaire

1. Niveau testiculaire

1.1. Les gonadotrophines

La sécrétion pulsatile de gonadolibérine (LHRH) par l'hypothalamus stimule la production et la sécrétion des gonadotrophines par l'hypophyse, de l'hormone lutéinisante (LH) et de la folliculostimuline (FSH) par l'hypophyse. Ces gonadotrophines circulent dans le sang pour atteindre le testicule (figure 18) (Nieschlag et *al.*, 2010).

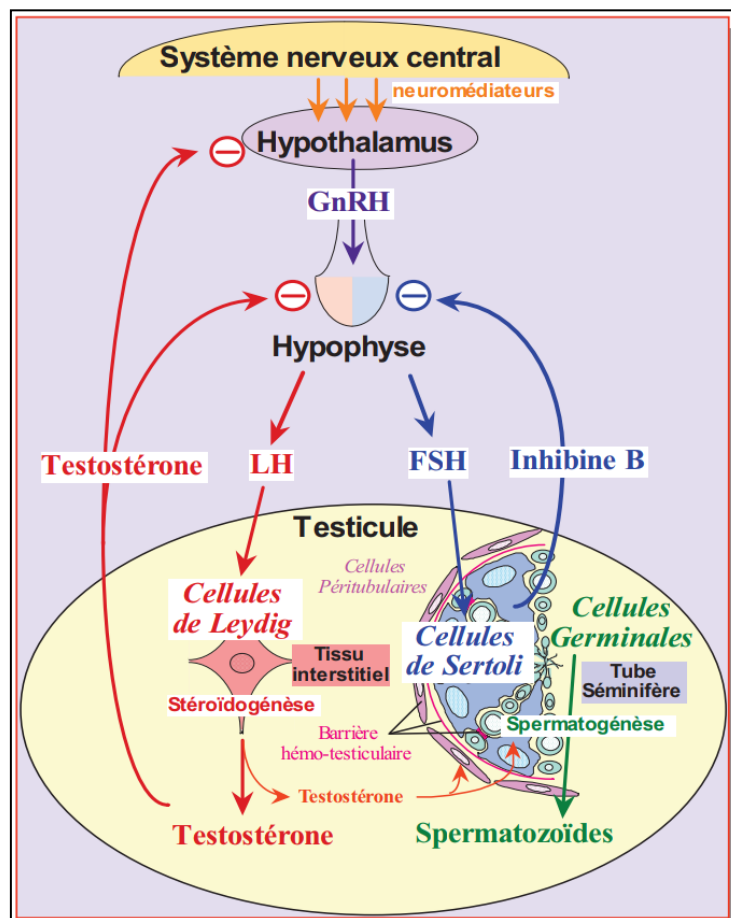


Figure 18 : Régulation endocrine de la spermatogénèse (Geoffroy-Siraudin, 2010).

Les hormones FSH et LH sont constituées de deux chaînes (Figure 19 et 20), à savoir la chaîne α et la chaîne β . Les chaînes α , sont composées de 96 acides aminés, et sont identiques pour l'ensemble des hormones : FSH, LH, TSH et hCG. En revanche, la chaîne β est spécifique à chaque hormone (Belotti, 2018).

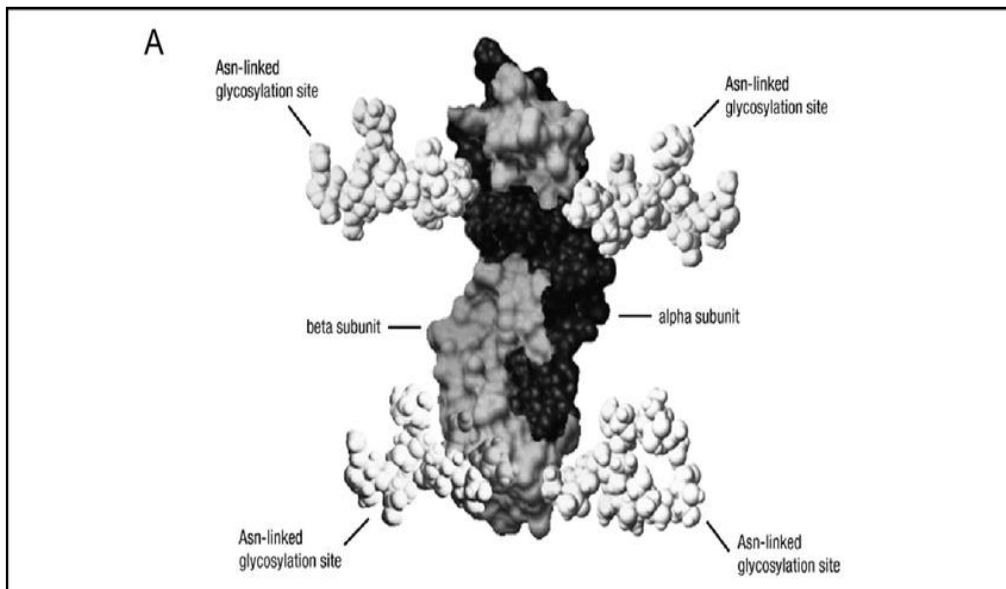


Figure 19 : la structure de la FSH humaine (Smitz et *al.*, 2015).

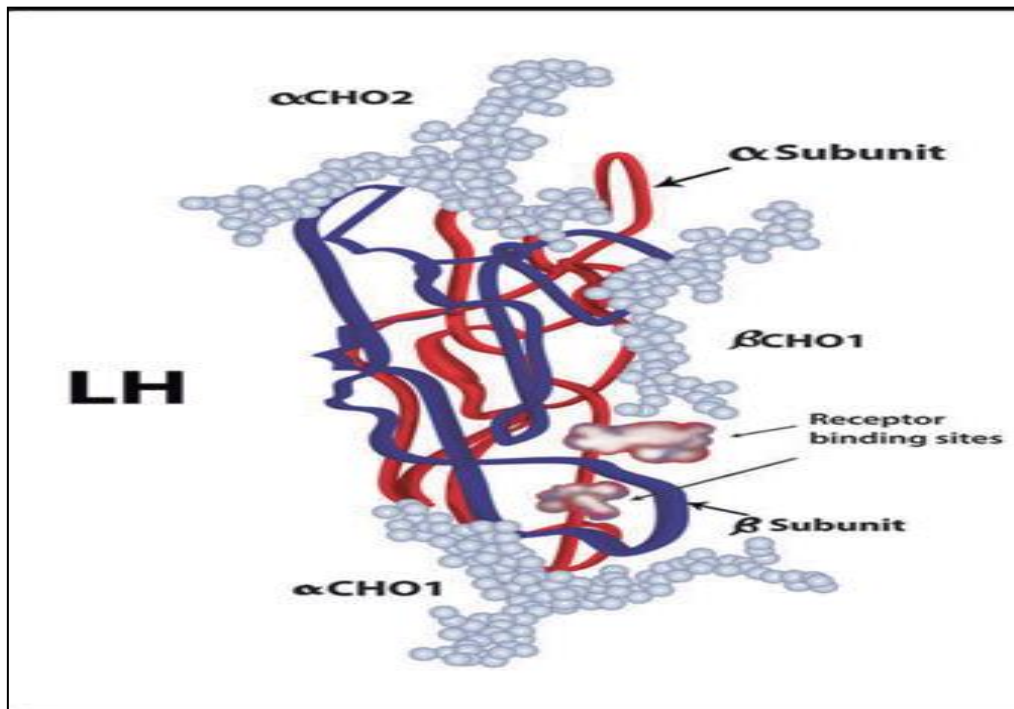


Figure 20 : la structure de l'hormone lutéinisante LH. La sous-unité alpha (rouge), similaire à celle de la FSH et de l'hCG avec deux sites de fixation glucidiques, et la sous-unité bêta (bleue), avec un seul site de fixation glucidique. Les boules bleu clair représentent les chaînes glucidiques (Esteves et Alviggi, 2015).

Les récepteurs des gonadotrophines font partie de la grande famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires, qui sont couplés aux protéines G (figure 21). Ces récepteurs ont un vaste domaine N-terminal extracellulaire, qui contient le domaine de liaison

à l'hormone. La partie transmembranaire est formée de sept passages transmembranaires, tandis que la partie C-terminale est intracellulaire. Après la liaison de l'hormone à son récepteur survient un repliement de la partie extracellulaire vers le serpentin transmembranaire puis l'activation. Le second messager de ces récepteurs qui est l'AMPc (Faugeron-Ruel et Christin-Maitre, 2005).

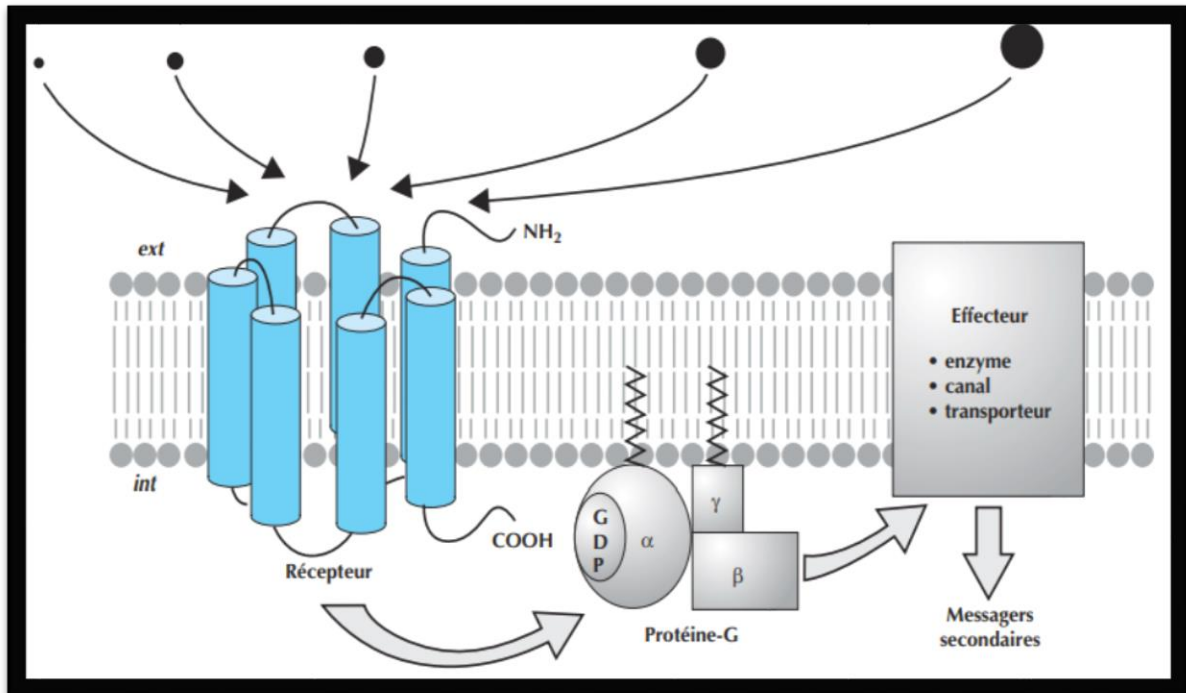


Figure 21 : Schéma d'un récepteur transmembranaire couplé à la protéine G (Faugeron-Rue et Christin-Maitre, 2005).

Chez l'homme, la LH se fixe sur les cellules interstitielles et stimule la production de testostérone (Mader et Windelspecht, 2012), par l'intermédiaire de récepteurs (LH-R) qui font partie de la superfamille des récepteurs couplés à la protéine G. La stimulation de ces derniers active l'adényl-cyclase, ce qui conduit à la formation d'AMP cyclique (cAMP) qui active les protéines kinases en favorisant la conversion du cholestérol en prégnénolone (Figure22) (Tostain et *al.*, 2004).

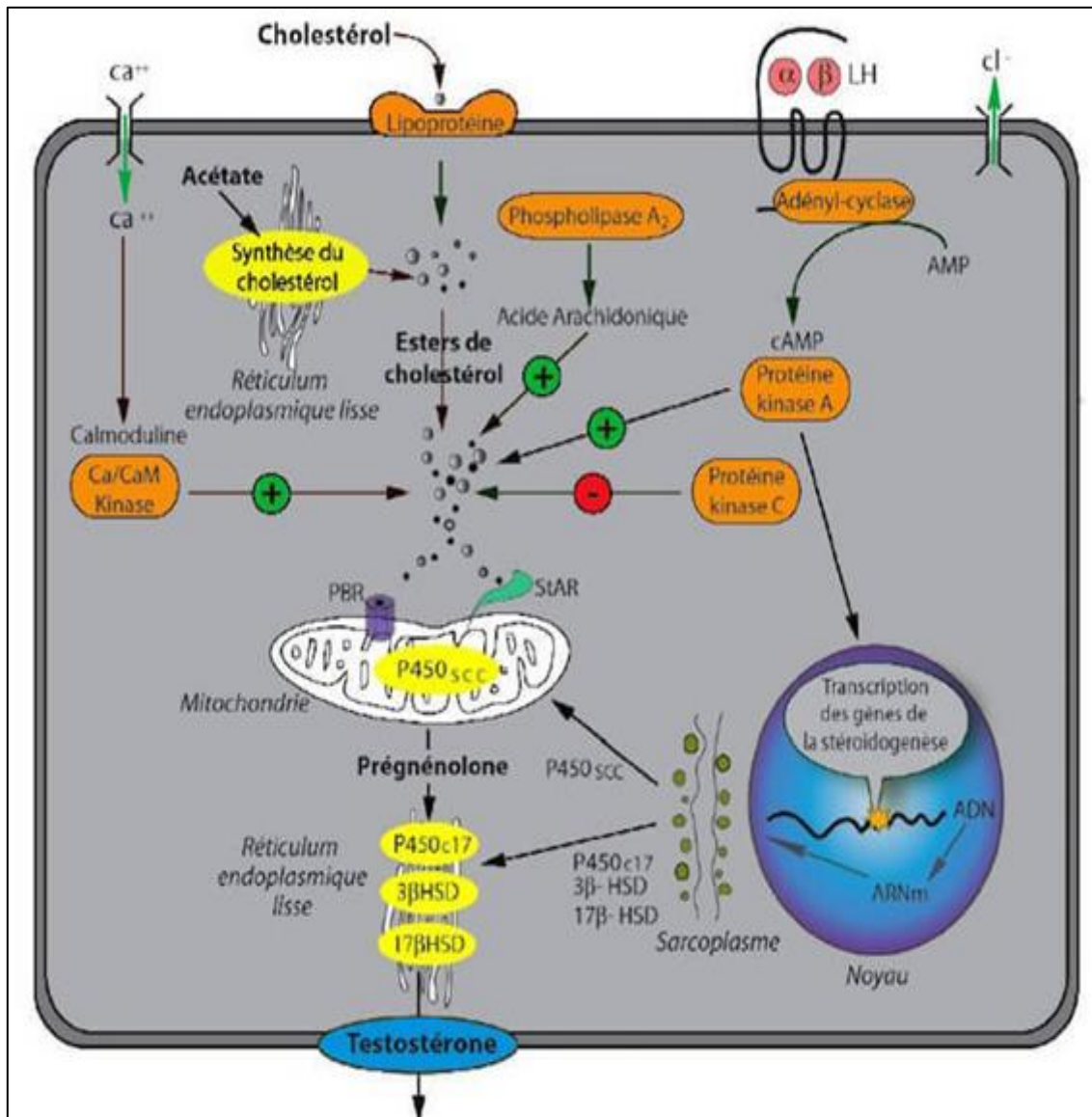


Figure 22 : Régulation de la stéroïdogénèse dans la cellule de Leydig (Tostain et al., 2004).

Les cellules germinales mâles ne possèdent de récepteurs ni pour la FSH ni aux androgènes, l'effet de FSH et de la testostérone s'expriment par l'intermédiaire des cellules de Sertoli (Recchia et al., 2021). Les effets combinés de FSH et de la testostérone sont nécessaires à l'obtention d'une spermatogénèse normale, tant quantitativement ou qualitativement (Simoni et al., 1999).

La FSH exerce son rôle physiologique testiculaire grâce à son récepteur membranaire (FSHR) exprimé à la surface des cellules de Sertoli depuis la vie fœtale. Un des effets essentiels de FSH est de stimuler la multiplication des cellules de Sertoli et de déclencher une signalisation cellulaire impliquant l'AMPc qui induit des effets paracrines stimulant les cellules germinales adjacentes (spermatogonies) (Young, 2018). Cette hormone agit en

régulant les gènes impliqués dans la prolifération, la structure et la fonction des cellules de Sertoli, étant responsable de la détermination du nombre de cellules de Sertoli et de leur différenciation, éventuellement en régulant les gènes nécessaires au métabolisme et au transport des éléments nutritifs et des substances régulatrices produites par les cellules de Sertoli (Recchia et *al.*, 2021).

1.2. Androgènes

1.2.1. Testostérone et dihydrotestostérone DHT

Le récepteur des androgènes (RA) appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires (Sultan et *al.*, 2002). La testostérone produite par les testicules (Figure 23), agit localement sur les tubes séminifères grâce à ses récepteurs exprimés dans les cellules de Sertoli (Young, 2018).

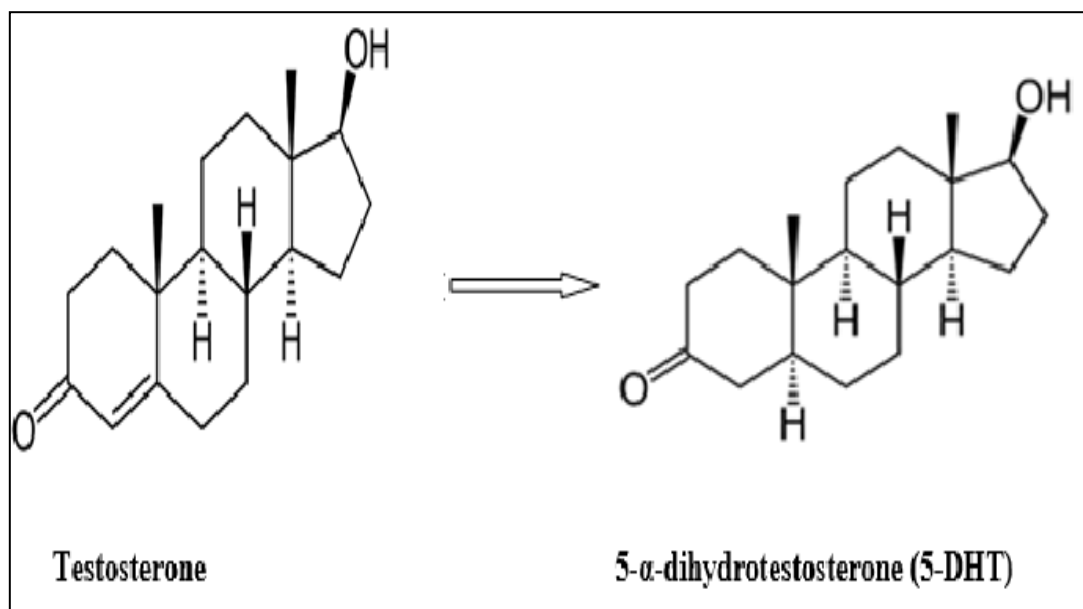


Figure 23 : structure de la testostérone et la dihydrotestostérone (Abu Hajleh et *al.*, 2020).

La testostérone d'origine testiculaire, ou issue de la conversion de précurseurs surrénaliens tels que la déhydroépiandrostérone (DHEA) et l'androstènedione, est convertie en 5 α -dihydrotestostérone (DHT) par l'enzyme 5 α -réductase, au niveau des tissus cibles. Pour exercer son action, la DHT se fixe au récepteur des androgènes (RA) (Figure 24), un facteur de transcription androgéno-dépendant, membre de la famille des récepteurs des hormones stéroïdes et de la superfamille des récepteurs nucléaires (Schreyer et *al.*, 2017).

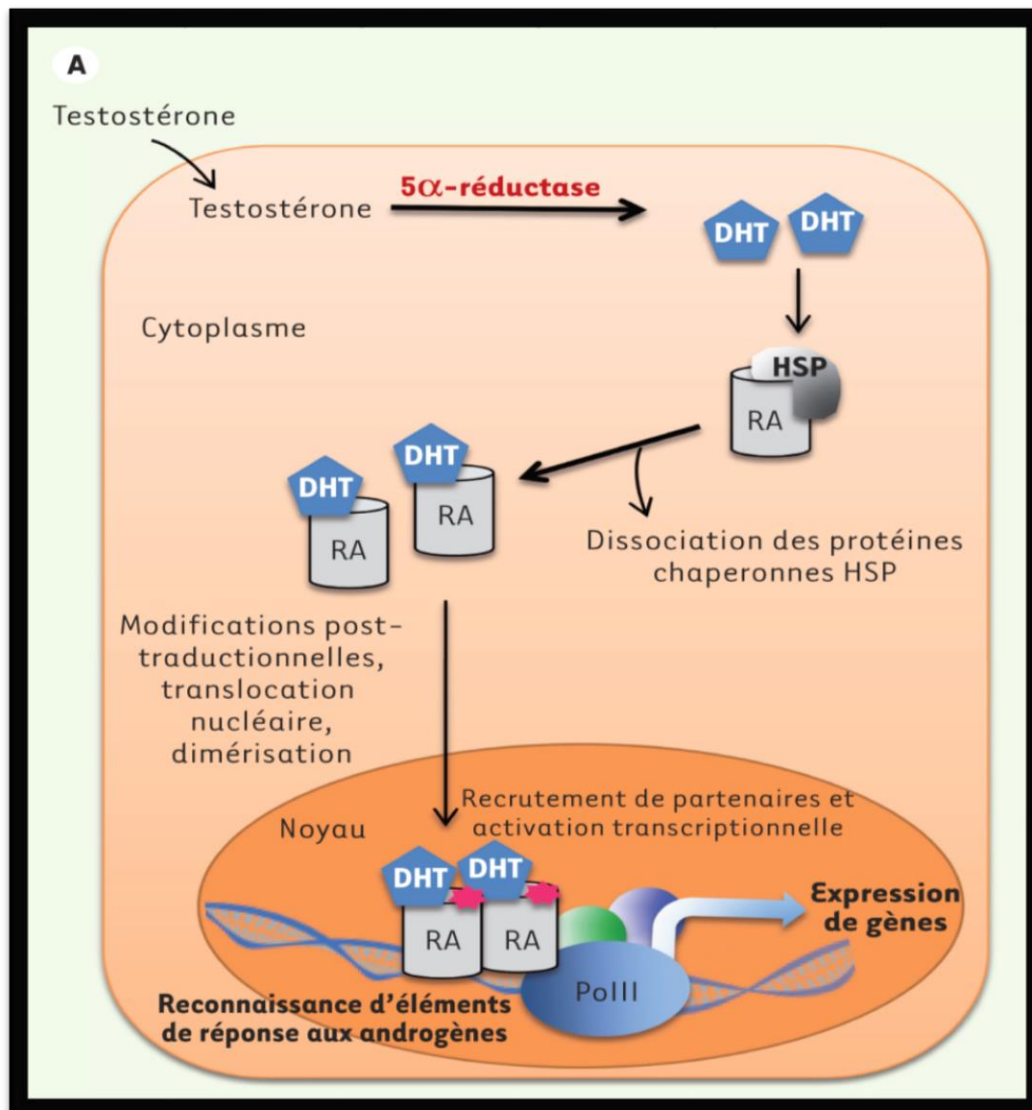


Figure 24 : Voie de signalisation du récepteur des androgènes (RA) (Schreyer et *al.*, 2017).

En l'absence de ligand, le RA est maintenu sous une forme inactive dans le cytoplasme, lié à des protéines chaperonnes de choc thermique (HSP). Les modifications conformationnelles du RA suite à la liaison du ligand entraînent la dissociation des protéines chaperonnes. Les activités génomiques du RA requièrent des modifications post-traductionnelles, la translocation nucléaire du RA, la reconnaissance d'éléments de réponse aux androgènes, et le recrutement de cofacteurs aboutissant ainsi au contrôle de l'expression de gènes cibles. (Schreyer et *al.*, 2017).

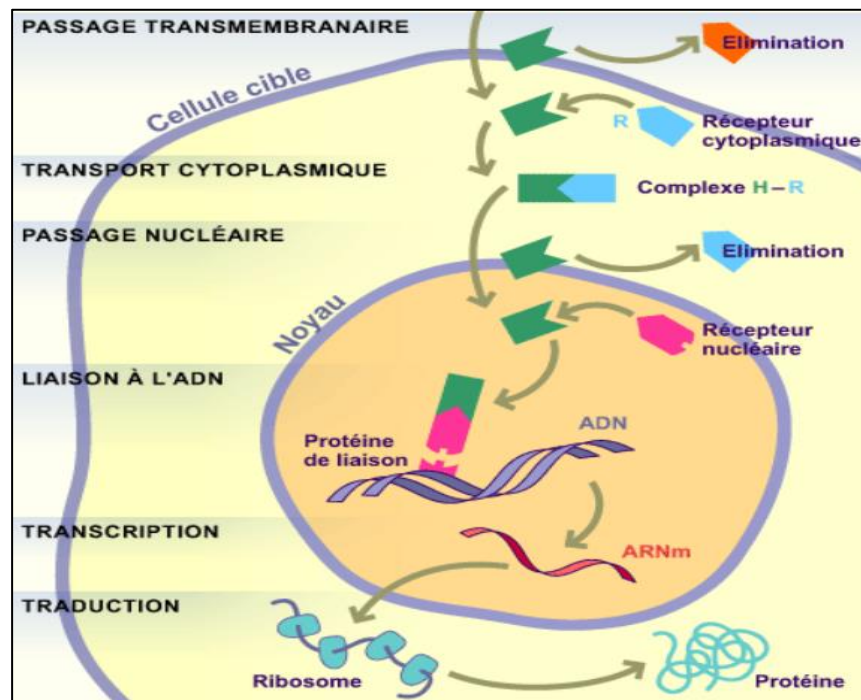


Figure 25 : Représentation schématique du mode d'action de la testostérone (Schöni-Affolter et *al.*, 2021).

1.2.2. Régulation autocrine et paracrine

Outre l'action des hormones gonadotropes, la fonction testiculaire est sous la dépendance d'un réseau de communication intercellulaire faisant intervenir de nombreux facteurs paracrines et autocrines. Les interactions cellules à cellules entre lignée germinale, cellules de Sertoli, cellules de Leydig et cellules péricubulaires, semblent actuellement de plus en plus importantes pour le déroulement normal de la spermatogénèse. Un certain nombre de facteurs (P-ModS, ABP, transférase...) sécrétés par les cellules testiculaires influencent la maturation des spermatozoïdes (Skinner, 1991).

Les tubules séminifères influencent le développement et le fonctionnement des cellules de Leydig adjacentes à travers plusieurs facteurs de croissance. Lorsque les cellules germinales sont endommagées, les cellules de Leydig à proximité prolifèrent plus rapidement. La morphologie des cellules de Leydig dépend également de la composition des cellules germinales dans les tubules séminifères voisins, et certaines étapes du cycle épithélial séminifère augmentent la capacité des cellules de Leydig à produire de la testostérone. Une modulation négative des cellules de Leydig par des facteurs dérivés des cellules de Sertoli/germinales a également été démontrée. (Huhtaniemi et Toppari, 1995)

2. Niveau épидидymaire

Bien que la formation des spermatozoïdes s'achève dans le testicule, mais leur pouvoir fécondant n'apparaît qu'après leur transit dans l'épididyme où ces gamètes continuent leur transformation. Cet ensemble de modifications qui constituent la maturation épидидymaire s'effectuent dans un environnement spécifique créé par l'épithélium de l'épididyme, d'où son rôle primordial dans la qualité des spermatozoïdes éjaculés (Dacheux et Paquignon, 1987).

Selon Abe et *al.* (1984), les facteurs de croissance ainsi que les facteurs endocriniens (androgènes, œstrogènes et progestérone) et les facteurs thyroïdiens jouent un rôle crucial dans le maintien de l'épithélium épидидymaire.

2.1. Androgènes

Les androgènes sont responsables du maintien de la structure et des fonctions de l'épididyme (Rodriguez et *al.*, 2001).

Les stéroïdes, notamment de la testostérone, arrivant par la voie sanguine liées à la SBP (sex steroid-binding protein) et par le fluide testiculaire liées à l'ABP (androgen binding protein), au niveau épидидymaire, est médiée par la 5 α -dihydrotestostérone (DHT), obtenue après conversion de la testostérone par la 5 α -réductase de type I et II, principalement au niveau du segment initial. Pour cerner l'importance de ces hormones dans le maintien des fonctions épидидymaires, des expériences de castration (orchidectomie) ont été réalisées. Une telle ablation chirurgicale des gonades mâles prive l'épididyme d'un apport en androgènes circulants et d'origine luminale de même qu'en facteurs testiculaires (Britan & Drevet, 2006) accompagnées d'une diminution du poids de l'épididyme, une atrophie cellulaire, un remodelage tissulaire et une modulation de l'expression des gènes (Menad, 2008).

Selon Menad (2008), les récepteurs des androgènes sont présents au niveau des cellules principales de toutes les régions de l'épididyme chez la souris, les caprins, le rat et l'étalon, ainsi qu'au niveau des cellules principales, des cellules basales et des cellules musculaires lisses chez le verrot.

2.2. Progestérone (P4)

Selon Roldan et *al.* (1994), la synthèse de la progestérone (figure 04) joue un rôle clé dans la réaction acrosomique des spermatozoïdes chez la souris. Cette hormone se lie à un récepteur spécifique (P4R) exprimé à la surface des spermatozoïdes matures et capités. Elle se lie à son récepteur spécifique (P4R) qui est exprimé à la surface des spz matures et capités. Et d'après Misao et *al.* (1997), la disponibilité de ce récepteur pour son ligand augmente durant la migration des spermatozoïdes le long de l'épididyme, en l'occurrence au cours de la maturation épididymaire et durant le processus de capacitation.

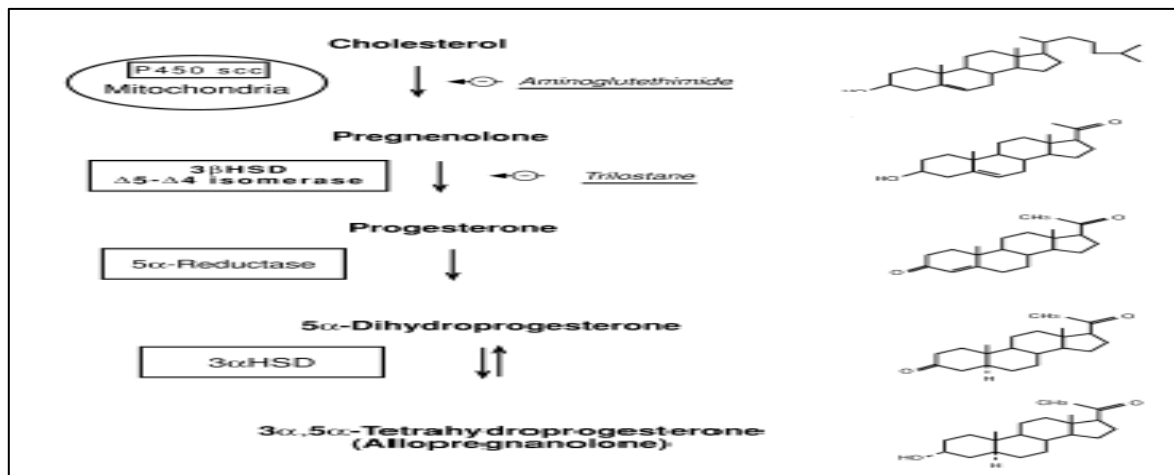


Figure 26 : Biosynthèse et métabolisme de la progestérone (Schumacher et *al.*, 2001).

2.3. Œstrogènes

Chez le male, les œstrogènes sont synthétisés, majoritairement sous forme de 17β-œstradiol, dans un premier temps par les cellules de Sertoli, chez un rat immature, puis par les cellules de Leydig, à l'âge adulte (Britan et Drevet, 2006). Ces hormones interviennent dans l'absorption du fluide luminal, transition pubertaire l'expression des protéines comme la lactoferrine la cystatine 12, le R-OT chez le lapin, RA et REα chez le rat, et probablement celles qui interviennent dans le remodelage membranaire et le stockage puisque par traitement par les E-antagonistes les spermatozoïdes ne sont pas mobiles chez le singe (Menad, 2008).

2.4. Facteurs thyroïdiens

D'après Cooke et *al.* (2004), les hormones thyroïdiennes exercent une fonction essentielle dans le développement de l'appareil reproducteur masculin. Elles ont un impact sur la capacité proliférative des cellules de Sertoli et de Leydig. En outre, il a été démontré que les récepteurs aux hormones thyroïdiennes, en particulier le TRα1, sont fortement exprimés

dans toutes les cellules de Sertoli et les cellules germinales, ce qui indique l'importance cruciale de ces hormones dans la spermatogenèse (Buzzard et *al.*, 2000).

Selon St-Pierre et *al.* (2003), les hormones thyroïdiennes agissent sur la communication intercellulaire dans l'épididyme. Cela a été confirmé par des études montrant que le traitement des rats avec du propylthiouracile (PTU) induit une hypothyroïdie néonatale et perturbe la localisation de la connexine 43 dans le segment initial, le corps et la tête de l'épididyme.

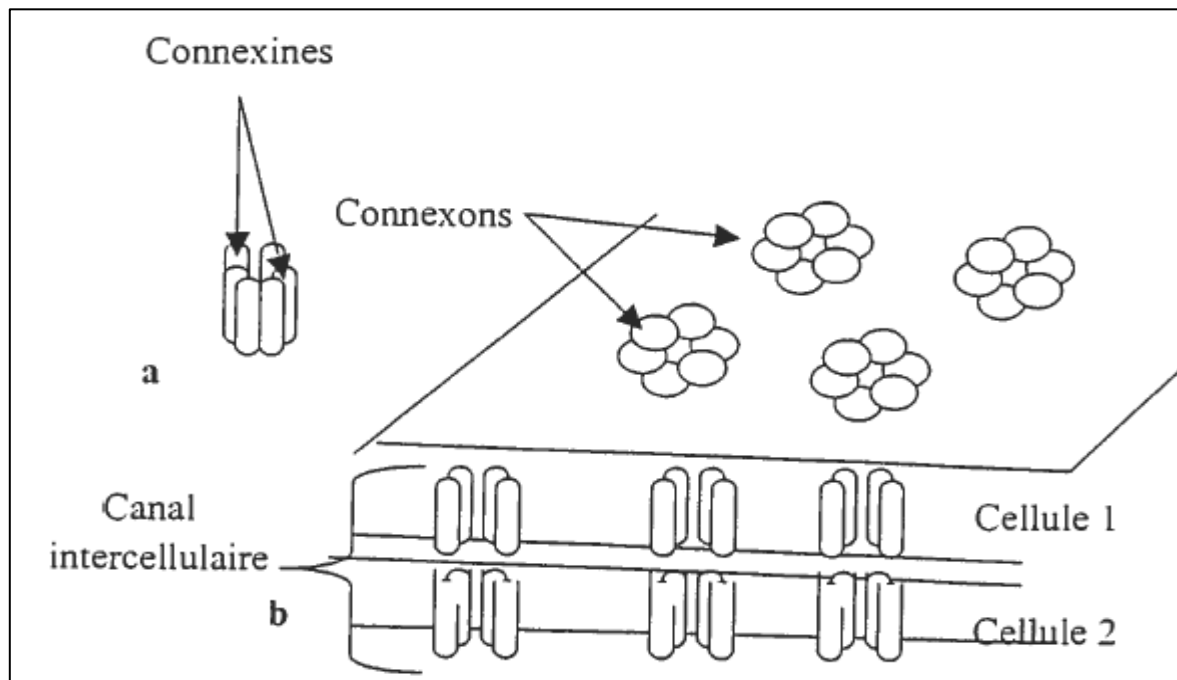


Figure 27 : Représentation schématique de la jonction serrée (a : connexon, b : plaque jonctionnelle formée de plusieurs connexons) (St-Pierre, 2002).

2.5. Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance (tableau 01) sont un groupe de polypeptides impliqués dans la division cellulaire et la différenciation. Ils se lient à un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase (RTK) induisant ainsi son activation. Le mécanisme d'activation de RTK (figure 28) après la liaison d'un facteur de croissance implique la dimérisation et l'autophosphorylation des résidus de tyrosine, ce qui induit le récepteur à déclencher l'activation des protéines kinases activées par les mitogènes (MAPK) (Schlessinger, 2000).

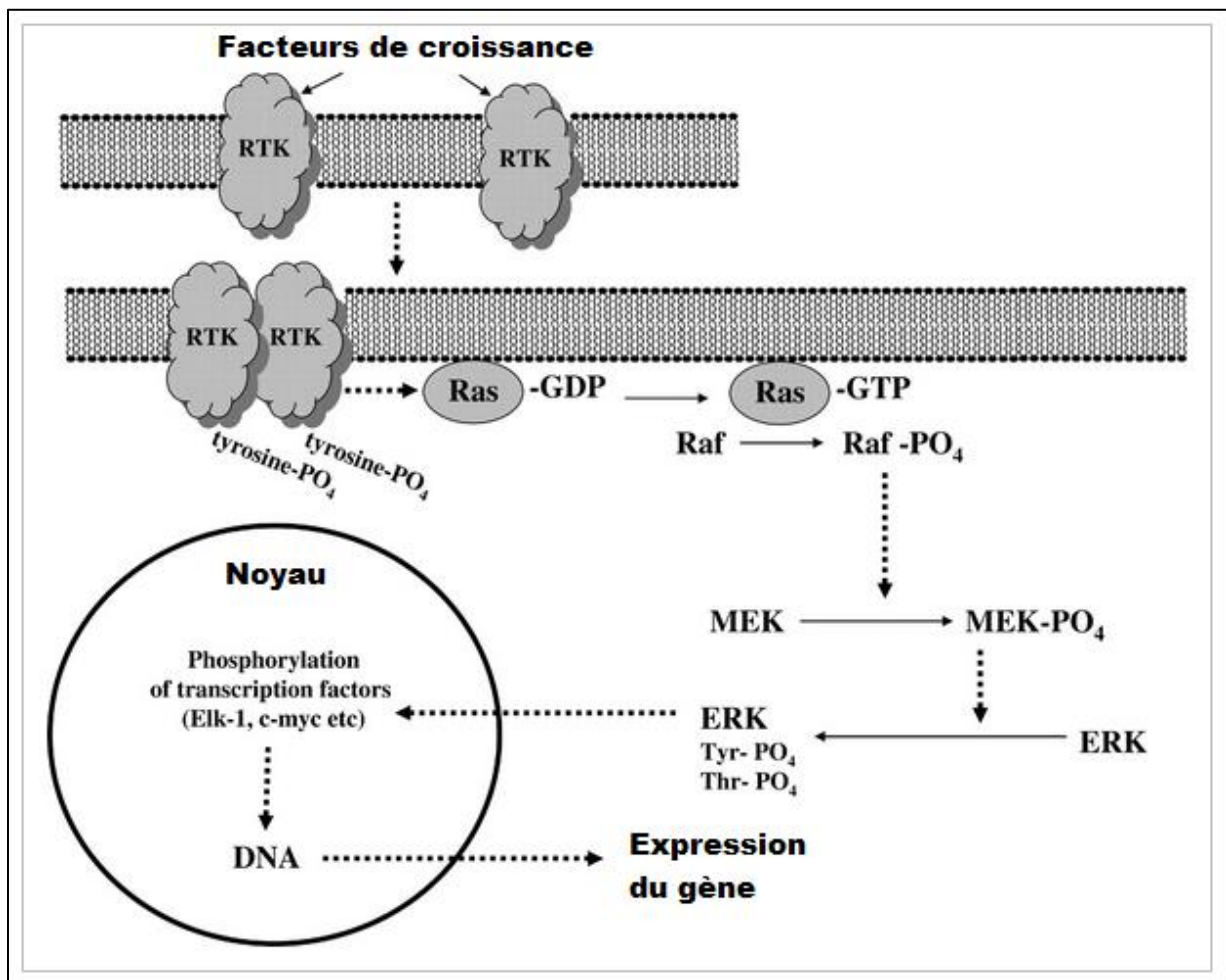


Figure 28 : Signalisation intracellulaire par les facteurs de croissance (Tomsig et Turner, 2013).

Ces RTK activés incitent le Ras à subir une activation en échangeant son PIB lié contre du GTP. Ras activé favorise la phosphorylation de Raf au voisinage de la membrane cellulaire. Il existe en fait 3 Rafs connus, collectivement appelés "Raf" dans la figure. Raf phosphoryle MEK (soit MEK1 ou MEK2), qui sont appelés ici « MEK ». MEK active ERK par phosphorylation des résidus tyrosine et thréonine. Il existe également 2 ERK connus, ERK1 et ERK2, appelés « ERK » sur la figure. Les ERK activées s'accumulent dans le noyau et induisent la phosphorylation de nombreux substrats, dont des facteurs de transcription, qui favorisent l'expression de gènes spécifiques croissance (Tomsig et Turner, 2013).

Tableau 01 : Rôles et caractéristiques des facteurs de croissances au niveau épидидymaire :

Facteurs de croissance	Rôle et caractéristiques	Références
EGF (epidermal growth factor)	EGF est une petite protéine de 6 kDa, qui a pour principale fonction de stimuler la prolifération cellulaire. Son récepteur EGFr qui est exprimé tout le long de l'épididyme (de la tête jusqu'à la queue) renforce l'idée que l'EGF est un facteur important pour la physiologie épидидymaire.	(Suarez-Quian et al., 1994).
PDGF (platelet-derived growth factor)	PDGF et ses deux récepteurs α et β ont une expression épидидymaire durant le développement pré et post-natal chez la souris, ciblant préférentiellement les cellules principales de l'épididyme.	(Basciani et al., 2004).
IGF (insulin-like growth factor)	L'IGF comprend deux isoformes protéiques (IGF-1 et IGF-2).	(Grimberg et Cohen, 2000)
	Il est exprimé au niveau des cellules épithéliales épидидymaires.	(Leheup et Grignon, 1993)
	Des études ont montré que tous les animaux invalidés pour le facteur IGF-1 présentent une taille réduite du corps ainsi que de la queue épидидymaire.	(Baker et al., 1996)
HGF (Facteur de croissance des hépatocytes)	<ul style="list-style-type: none"> - Chez la souris, le HGF est présent dans les testicules et, en grande quantité, dans la partie distale de l'épididyme. - Son récepteur c-met est détecté au niveau des spermatozoïdes, et son nombre augmente au cours de la progression de ces gamètes de la tête vers la queue. - Le maintien de la motilité des spermatozoïdes pendant leur transit à travers l'épididyme. 	(Catizone et al., 2002).

2.6. Régulation autocrine et paracrine

En plus de la régulation endocrine l'épididyme dépend également des facteurs présents dans le liquide luminal provenant soit du testicule et/ou de l'épididyme lui-même. Ce type de sécrétion paracrine a été appelé luminocrine parce que les processus régulés se produisent dans un système canalaire/tubaire (Bernard et Bary, 2015).

III. Facteurs influençant la reproduction chez la souris

D'après Diakhate. (2014), la souris peut se reproduire toute l'année mais il existe de nombreux facteurs environnementaux (température ambiante, durée d'éclairement, odorat, bruits...) qui peuvent agir sur le comportement et la physiologie de sa reproduction.

1. Température ambiante

Au dire des études menées par Gordon. (1993), la baisse de température influence la reproduction chez la souris. Il est donc préférable de maintenir une température élevée, d'après Helppi et *al.* (2015) les températures élevées améliorent la fonction reproductrice. Et selon Gaskill et *al.* (2012) les souris préfèrent une température qui varie entre 26°C et 28°C et cela tout dépend de la souche et le sexe. En revanche les températures extrêmes (+30°C) entraînent une réduction de la reproduction (Laber et Gonder, 2007).

2. Durée d'éclairement

D'après Dauchy et *al.* (2013), la luminosité ainsi que le cycle clarté/noirceur influencent l'activité physique ainsi que les aspects physiologiques liés à la reproduction. Cela a été confirmé par l'expérience de Miller et *al.* (2012), qui ont remarqué des troubles de la reproduction chez les souris hébergées dans un espace éclairé en permanence.

3. Odorat

Chez la souris, l'odorat et la production d'odeurs jouent un rôle crucial dans les cycles de reproduction et la maturité sexuelle (Hurst, 2005). Et selon Bind et *al.* (2013) cet animal utilise l'odorat pour la détection de la présence d'un autre animal ou de menaces ainsi que pour l'attraction sexuelle.

4. Bruits

Dans des études contrôlées où des souris sont exposées à des sons prolongés à haut décibel à des fréquences bien dans leur plage d'audition, le bruit a causé des effets tératogènes et reproductifs. Le bruit peut également provoquer des troubles du comportement chez les animaux de laboratoire, ainsi que des modifications des grands systèmes de l'organisme en particulier le système reproducteur (Pfaff, 1974).

5. Perturbation endocrinienne

Au fil des années, de nombreuses molécules et substances couramment utilisées ont été mises en avant, soupçonnées voir même accusées d'être responsables de certains des effets délétères qu'elles causaient (Badji, 2021).

Les perturbateurs endocriniens (PEs) peuvent être d'origine naturelle (hormones naturelles), synthétiques (œstrogènes de synthèse, antibiotiques, agents plastifiants, produits phytosanitaires...). Les PEs capables d'induire des perturbations de la fonction de reproduction sont essentiellement les molécules ayant une activité agoniste ou antagoniste pour des analogues de type œstrogénique ou androgénique (Migaud et *al.*, 2016).

Des preuves ont été documentées que les métaux lourds peuvent servir de perturbateurs endocriniens chez les humains et les animaux, affectant l'homéostasie hormonale et provoquant un déséquilibre endocrinien (Liu et *al.*, 2023), tel que le cadmium (Henson et Chedrese, 2004; Liu et *al.*, 2023), les produits contenant du plomb et les phtalates (Yazar, 2022).

5.1. Métaux lourds

Les métaux lourds sont définis comme des éléments métalliques qui ont une densité relativement élevée par rapport à l'eau. En supposant que la lourdeur et la toxicité sont interdépendantes, les métaux lourds incluent également les métalloïdes, tels que l'arsenic, qui sont capables d'induire une toxicité à faible niveau d'exposition (Tchounwou et *al.*, 2012).

5.1.1. Toxicité reproductive

La fonction reproductive masculine est vulnérable à différents facteurs environnementaux et professionnels, dont seuls quelques-uns ont été bien identifiés. Différents composés sont considérés comme les principaux responsables de la réduction de la fertilité masculine, tels que les pesticides, les dioxines, les solvants et les métaux lourds (López-Botella et *al.*, 2021).

De nombreuses études épidémiologiques montrent que le plomb perturbe la spermatogenèse. Lorsque la Pbs dépasse 400-450 µg/l, apparaissent une oligospermie, une asthénospermie et une tératospermie ; des modifications contemporaines des concentrations sanguines des hormones sexuelles ont été plus inconstamment observées. Cet effet toxique testiculaire est également bien documenté chez l'animal (Garnier, 2005). Il a été démontré par Martin et *al.* (2002), que le cadmium Cd interagit avec les récepteurs androgéniques AR, suggérant que le métal est un inhibiteur de la liaison hormonale.

5.1.2. Cancérogénicité

L'exposition aux métaux lourds présente des problèmes de santé importants dans la population humaine. Ces éléments ont la capacité d'induire un certain nombre d'effets néfastes sur la santé, dont l'une de leurs actions les plus graves est leur rôle dans la cancérogenèse (Carver et *al.*, 2017).

5.1.3. Neurotoxicité

Une exposition à une concentration élevée de métaux lourds tel que le manganèse, peut induire des conditions nocives ainsi que des complications neurologiques, telles que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson qui entraînent la mort cellulaire apoptotique et une altération de l'homéostasie (Mitra et *al.*, 2022).

Partie

expérimentale

1. Matériel biologique

1.1. Modèle animal

Les souris de type BALB/C, mâles et adultes utilisées pour notre expérimentation ont été fournies par l'institut Pasteur d'Alger.

Les rongeurs constituent des organismes-modèles présentant de multiples avantages, notamment liés à leur physiologie proche de celle de l'homme. La souris (*Mus musculus*) est actuellement l'organisme-modèle le plus utilisé en recherche biomédicale (Hardin-Pouzet et Morosan, 2019). Leur appartenance à la classe des mammifères, ainsi que leurs propriétés zootechniques (petite taille, cycle de reproduction court, grandes colonies et courte durée de vie) justifient le choix de ces animaux (Pouzet Hardin et Morosan, 2019).

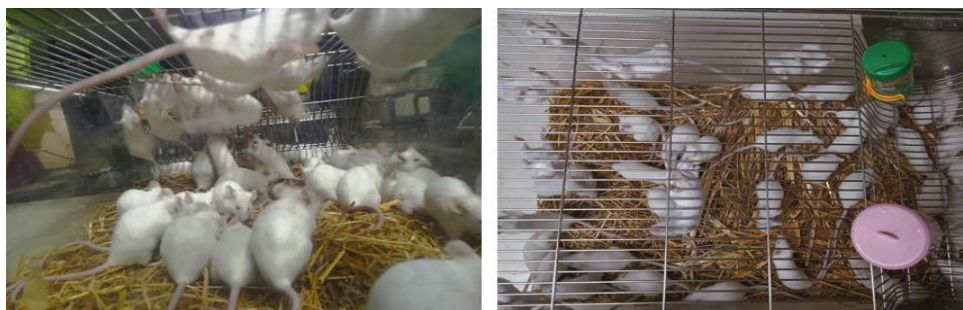


Figure 29 : Photographies des souris utilisées dans l'expérimentation (originale, 2023).

1.1.1. Conditions d'élevage

Les souris ont été logées dans les mêmes conditions standard de température et d'hygrométrie et maintenues sous un cycle lumière/obscurité normal de 12h et ont eu accès à la nourriture et à l'eau ad libitum. L'aliment est de type granulé provenant du groupe avicole centre ORAC/SPA El Kseur (Bejaïa) (figure 30).

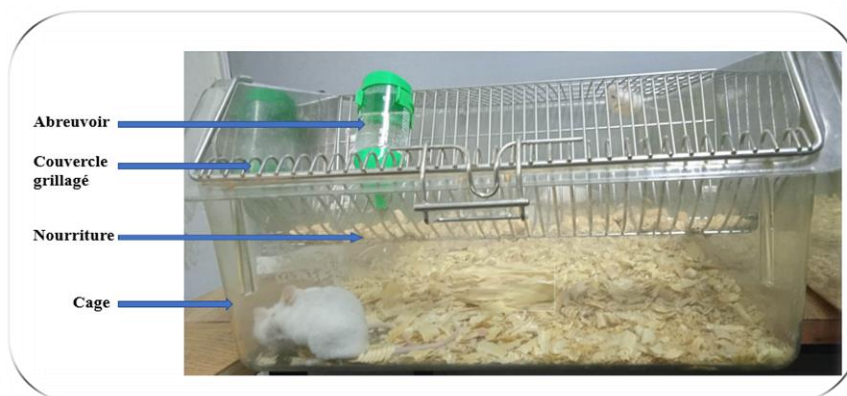


Figure 30 : Photographie d'une cage des souris (originale, 2023).

1.2. Matériel biochimique

1.2.1. Acétate de plomb

L'acétate de plomb est un composé cristallin blanc de plomb au goût sucré, de formule chimique trihydrate $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ (Ghazi et Millette, 1964). C'est un métal lourd présent dans les matériaux de construction, les peintures. Son absorption se produit principalement par voie aérienne et digestive. Le Pb absorbé est conjugué dans le foie et passé au rein, où une petite quantité est excrétée dans l'urine et le reste s'accumule dans divers organes du corps (Haouas et *al.*, 2014).

1.2.2. Diméthylsulfoxyde (DMSO)

Le DMSO (figure 31) est un liquide clair, incolore à jaunâtre avec une odeur et un goût amer. Il est soluble dans l'eau, l'éthanol, l'acétone, le benzène et le chloroforme et est un bon solvant pour les composés insaturés, azotés et aromatiques. Il est facilement absorbé par voie percutanée et orale, compte tenu de sa pénétration tissulaire, est probablement largement distribué dans tout le corps (Pope et Oliver, 1966).



Figure 31 : Diméthylsulfoxyde (originale, 2023).

1.3. Modèle végétal

1.3.1. Plante géranium rosat

Le géranium rosat (*pelargonium graveolens*) (figure 32) est une plante vivace, pleine de suc en début de végétation puis ligneuse à écorce brun clair. Elle est d'origine d'Afrique australe et a été importé en Europe vers 1690. Elle appartient à la catégorie des géraniums à feuillage odorant, avec des feuilles persistantes, lobées, opposées et couvertes de poiles glanduleux microscopiques. Elle possède une tige verte et des fleurs groupées par paire de couleur rose (Boukhatem et *al.*, 2011).



Figure 32 : plante géranium rosat (Couic-Marinier et Laurain-Mattar, 2018).

1.3.2. Huile essentielle de géranium rosat

Les huiles essentielles appelées encore essences aromatiques végétales sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes. Elles sont à la fois des parfums et des remèdes naturels mais qui doivent être utilisées à des faibles doses, car leurs principes actifs sont hyper concentrés (Lardry et Haberkorn, 2007).

L'huile essentielle de géranium rosat (figure 33) utilisée pour notre expérimentation est selon Couic-Marinier et Laurain-Mattar (2018), un liquide de couleur vert clair à vert foncé, d'odeur fruitée, rosée, chaude, douce et sucrée. Elle est utilisée en thérapeutique comme anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique ainsi qu'un calmant cutané.



Figure 33 : Huile essentielle de géranium rosat (originale, 2023).

1.3.2.1. Composés de l'huile essentielle de géranium rosat

Selon Boukhatem et *al.* (2010), 48 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de géranium rosat dont le citronellol est le constituant majoritaire suivi du formate de citronellyle, du guai-6,9-diene, du géraniol et de l'isomenthone. Elle est constituée aussi des composés biochimiques comme les alcools terpéniques, les esters, les sesquiterpènes, les cétones monoterpéniques, les oxydes terpéniques, les alcools sequiterpéniques et les aldéhydes terpéniques.

1.4. Autres matériels

Pour faciliter et optimiser nos différents travaux de notre expérimentation, nous avons été équipés de tout autre matériel nécessaire à la réalisation de cette étude, et qui est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 02 : Autres matériels utilisés pour l'étude.

Appareils et autres	Réactifs chimiques
Microtome, microscope optique, micropipette, pincettes, ciseaux, lames et lamelles, eppendorfs, cassettes d'inclusion, moules à paraffine, étuve, gants, bavettes...	Bouin Hollande, Ethanol 70°, Ethanol 90°, Ethanol 100°, paraffine, xylène, hématoxyline, fuchsine-ponceau, orange G, vert lumière...

2. Méthode de travail

2.1. Pesé et traitement d'animaux

Le poids corporel des animaux a été mesuré tout au long de l'expérimentation afin de déterminer la quantité idéale d'acétate de plomb et celle de l'huile essentielle à administrer par injection intrapéritonéale (figure 35). Ils ont été répartis en 04 groupes (figure 34) de 06 animaux chacun de poids corporel plus au moins homogène, et ont été traité comme suit :

- Un groupe témoin recevant du sérum physiologique pendant 28 jours.
- Un groupe traité au diméthylsulfoxyde (DMSO) pendant 28 jours, et qui a servi du témoin négatif.
- Un groupe traité par une dose unique d'acétate de plomb (8mg/kg).

- Un groupe pré-traité par l'acétate de plomb (8mg/kg), suivi par l'huile essentielle du géranium rosat à la dose 400 μ l/kg durant 3 semaines.

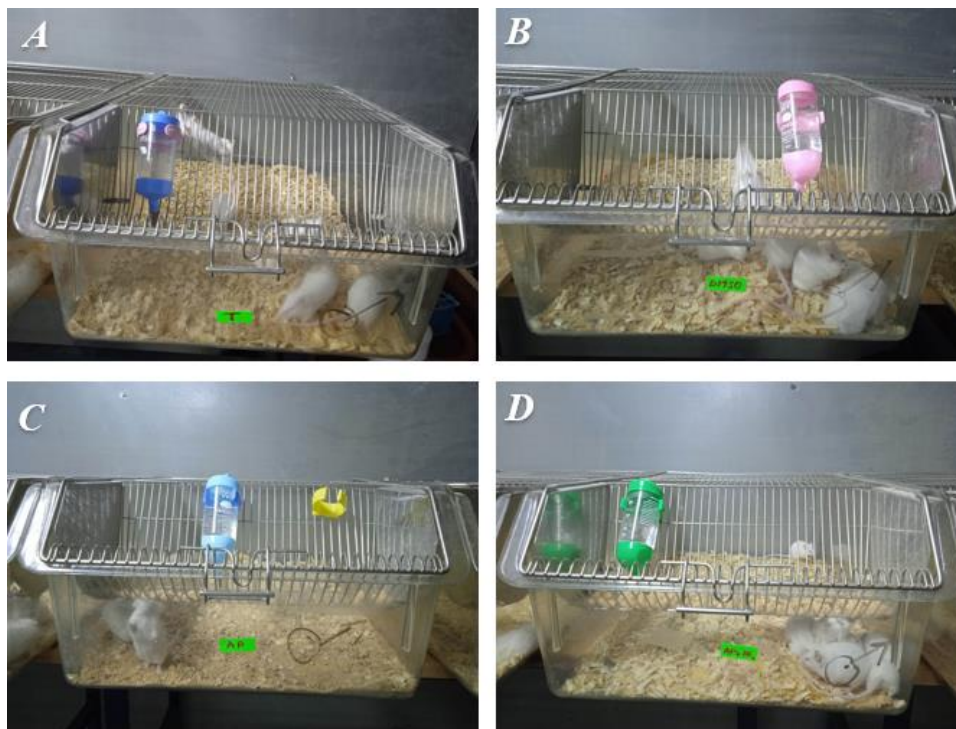


Figure 34 : Photographies de la répartition des souris en 04 groupes (originale, 2023).

A : lot des souris témoins(T), **B** : lot des souris traitées avec le diméthylsulfoxyde, **C** : lot des souris traitées avec l'acétate de plomb, **D** : lot des souris traitées avec l'acétate de plomb et l'huile essentielle de géranium rosat.

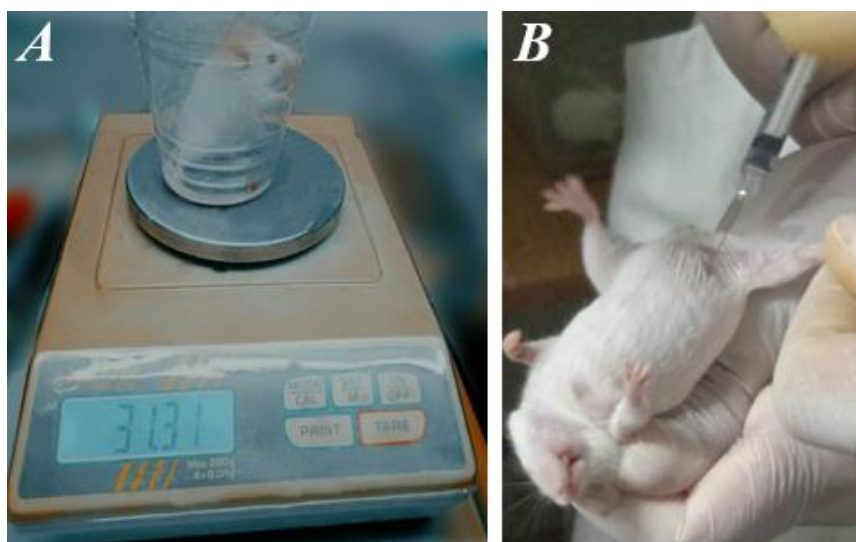


Figure 35 : Pesée et administration des traitements (originale, 2023).

A : pesée des souris grâce à une balance de paillasse, **B** : injection intrapéritonéale.

2.2. Sacrifice et prélèvement d'organes

Un jour après la fin de l'expérimentation toutes les souris ont été sacrifiées ensuite disséquées. Les organes ont été prélevés, dégraissés ensuite pesés grâce à une balance à précision (figure 36).

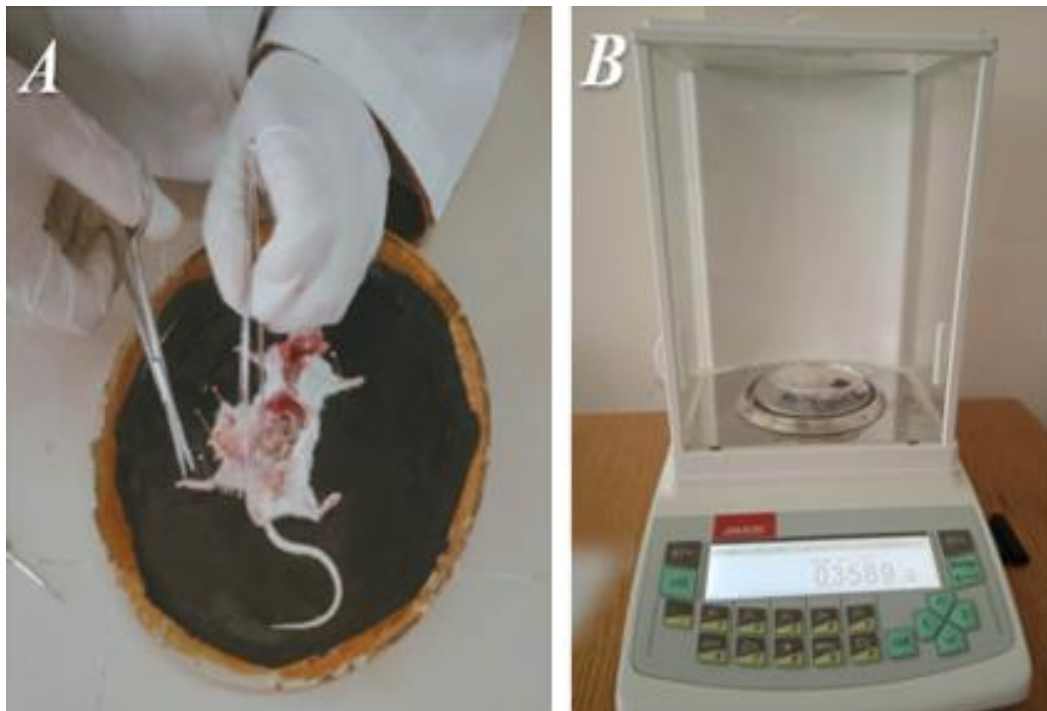


Figure 36 : Photographie du sacrifice suivi d'un prélèvement et du traitement d'organes (originale, 2023). **A :** sacrifice, dissection et prélèvement, **B :** pesée du poids grâce à une balance de précision.

Dans le but d'une étude histologique associé à notre recherche, certains organes (testicules et épидидymes gauches) ont été fixés dans le liquide de Bouin Hollande pour assurer leur conservation et un durcissement optimal de leurs structures tissulaires tandis que les autres organes (épидидymes et testicules droits) ont été réfrigérés et conservé à -20°C pour une étude ultérieure.

3. Etude histologique

L'étude histologique a pour but principal d'observer la structure microscopique des tissus organiques. Elle se déroule en plusieurs étapes qui sont résumé dans ce schéma suivant :

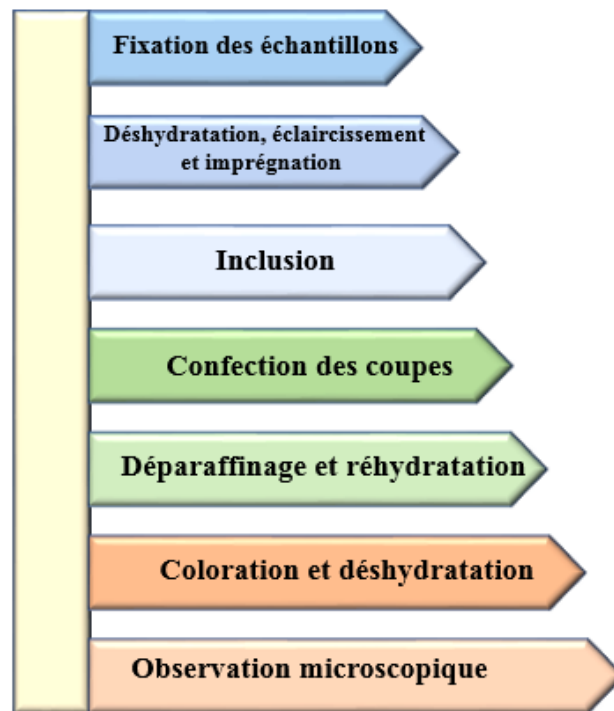


Figure 37 : Schéma des étapes de la technique classique de l'étude histologique.

3.1. Fixation des échantillons

La fixation est la première étape cruciale de l'étude histologique qui permet le maintien des tissus dans un état proche du vivant, ainsi que l'empêchement d'autolyse de la structure tissulaire.

Les organes prélevés sont rapidement positionnés et enfermés dans des cassettes puis trempés dans le liquide Bouin Hollande, ils sont maintenus ainsi pendant 05 jours (figure 38).

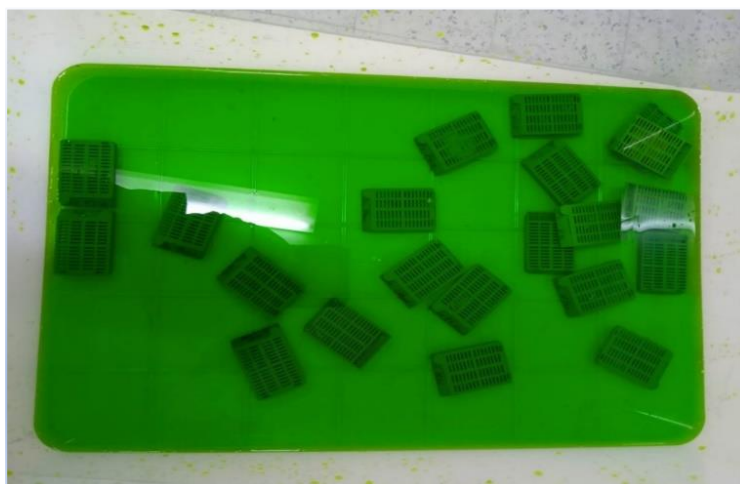


Figure 38 : Immersion des organes dans le liquide Bouin hollandaise (Originale, 2023).

3.2. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation est l'étape qui suit la fixation, son but est d'éliminer toute la quantité de l'eau intracellulaire des tissus dans une série de bains d'éthanol à concentration croissante (70°, 90° et 100°) (figure A 39), par un bain de xylène qui est un agent éclaircissant durant une heure et demie chacun (figure B 39).



Figure 39 : Photographie représentant l'étape de déshydratation et l'éclaircissement (originale, 2023). **A** : série de bains d'alcool à degré croissante, **B** : bain de xylène.

3.3. Imprégnation

L'imprégnation est le processus par lequel l'agent de compensation (xylène) est complètement retiré du tissu et remplacé par un milieu qui remplira toutes les cavités tissulaires, donnant ainsi une consistance ferme à l'échantillon et permettant la réalisation facile des coupes minces sans tout dommage du tissu et de ses composants cellulaires.

Ce processus consiste à placer les cassettes pendant 01h30min dans 02 bains de paraffine liquide chauffés dans une étuve à 60°C, le premier bain est constitué de moitié paraffine moitié xylène et le deuxième est constitué de la paraffine pure (figure 40).



Figure 40 : Photographie d'une étuve de paraffinage (originale, 2023).

3.4. Inclusion

L'inclusion (figure 41) consiste en l'enrobage (mise en bloc) des organes imprégnés dans la paraffine.

Les organes sont placés dans des moules en acier inoxydable contenant de la paraffine ensuite les cassettes marquant chaque organe sont placées à la surface de chaque moule. Enfin, un liquide de paraffine est coulé sur les cassettes jusqu'à leur immersion totale pour garantir une circulation du liquide autour de tout l'échantillon. Ces étapes sont faites sur une plaque refroidissante pour accélérer la solidification de la paraffine afin de faciliter le démoulage des blocs.

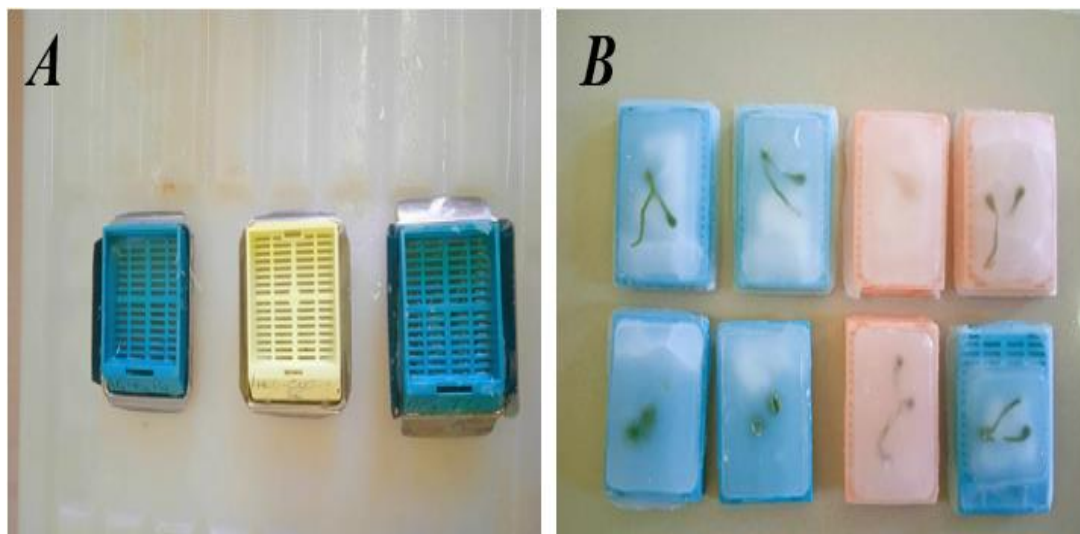


Figure 41 : Photographie de l'inclusion des échantillons (originale, 2023). **A** : Placement des organes dans des moules à enrobage, **B** : blocs de paraffine obtenus après démoulage.

3.5. Confection des coupes

La confection des coupes est un processus par lequel les blocs de paraffine sont coupés en tranches ou sections uniformément minces (de 2 à 5 μm d'épaisseur) à l'aide d'un microtome de type Leica (figure A 42). Les coupes récupérées sont étalées sur des lames en verre qui seront incubées pendant 24h à 38°C dans une étuve afin de fixer l'échantillon (figure B 42).

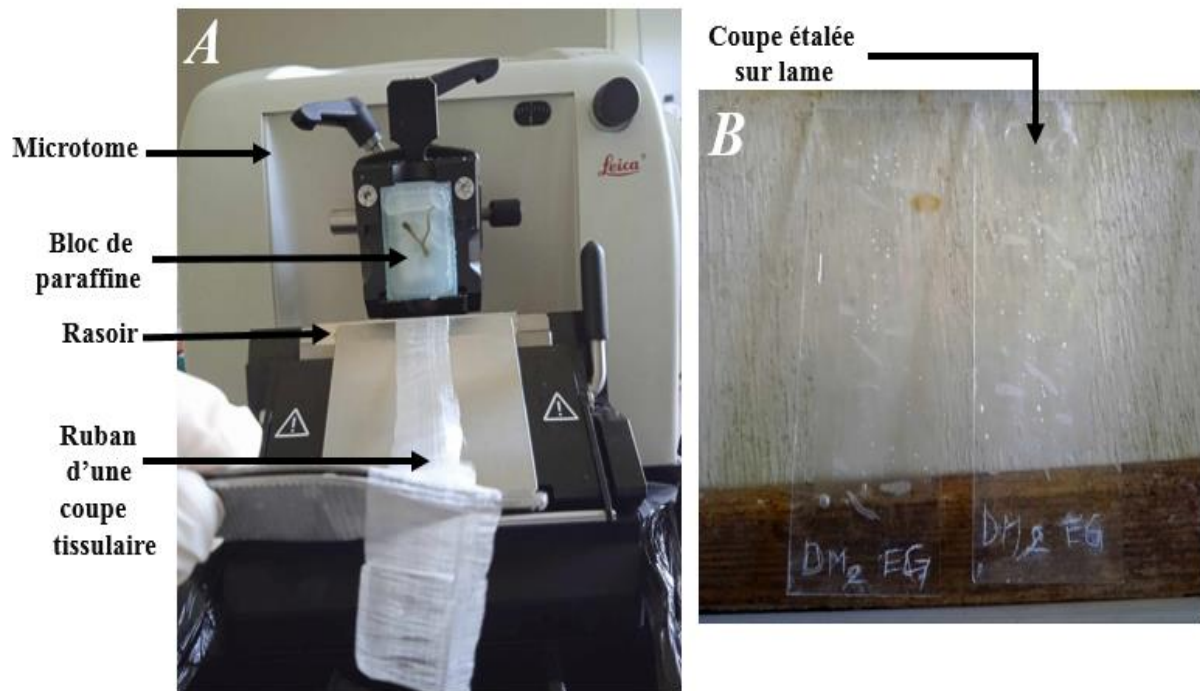


Figure 42 : Photographie représentant la microtomie et la confection des coupes (originale, 2023).

3.6. Déparaffinage et réhydratation

Le déparaffinage se fait dans une étuve et consiste à éliminer la paraffine.

La réhydratation se fait en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissants (100, 90, et 70 %) puis dans de l'eau distillé.

3.7. Coloration et déshydratation

Le type de coloration employée dans notre étude, est la coloration de trichrome de Masson. C'est une coloration qui fait intervenir 3 colorants (l'hématoxyline, mélange de fuchsine acide et rouge ponceau ainsi que le vert lumière). Elle permet la coloration du noyau en noir, le cytoplasme en rouge rosé, les hématies et les fibres élastiques en rose, les fibres conjonctives en vert et les substances basophiles en bleu.

La coloration (figure 43) est suivie d'une déshydratation dans une série des bains d'alcool de titre croissant (70°, 90°, 100°) durant 15min chacun, et un bain de xylène (15min).



Figure 43 : photographie de la série de bains de coloration (originale, 2023).

3.8. Montage des coupes

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique (goutte d'Eukitt) (figure 44). Les lames montées peuvent être conservées pendant plusieurs années.



Figure 44 : photographie représentant les lames obtenues après le montage (originale, 2023).

3.9. Observation microscopique

L'observation microscopique (figure 45) est effectuée à l'aide d'un microscope optique (OPTIKA) équipé d'un appareil photo numérique qui permet d'observer toutes les variations ou modifications des structures histologiques.

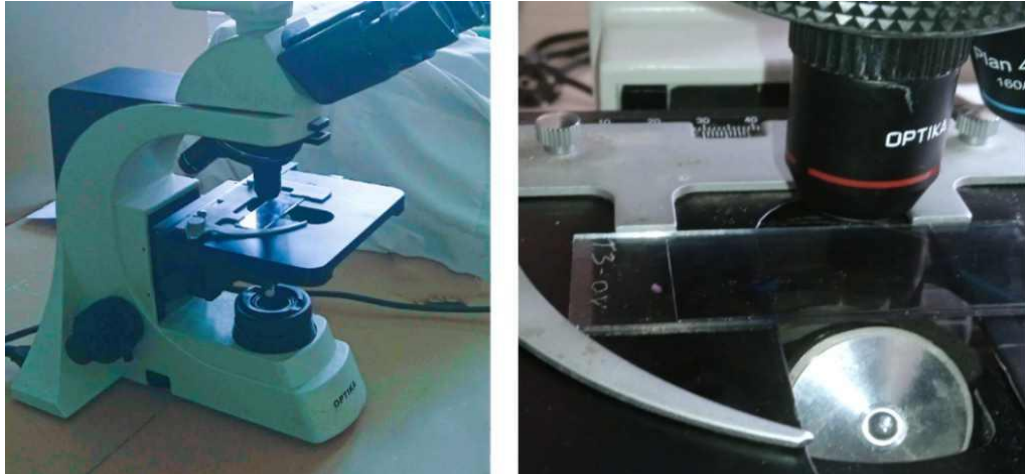


Figure 45 : Photographie représentant l'observation au microscope (originale, 2023).

4. Etude statistiques

Les données issues de l'expérimentation sont saisies dans des tableaux EXCEL dont le contenu a servi à effectuer au départ des statistiques descriptives en utilisant :

- Le test student pour comparer les moyennes des 04 groupes.
- L'ANOVA (analyse de variance unidirectionnel) pour comparer les variables du poids vif et poids des testicules et épидидymes. Les résultats des variables continues sont représentées sous forme de moyenne \pm ESM.

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque paramètre, suivie par la valeur de l'erreur standard liée à la moyenne « ESM ».

L'analyse des données statistiques a été déterminé par une analyse à l'aide d'un logiciel statistique « R » et la valeur des probabilités « P » :

- Si $P > 0.05$: La différence est non significative.
- Si $P < 0.05$: La différence est peu significative
- Si $P < 0.02$: La différence est significative.
- Si $P < 0.01$: La différence est très significative.
- Si $P < 0.001$: La différence est hautement significative.

Résultats

et

discussion

Les résultats rapportés dans ce travail concernent l'effet de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* sur les paramètres macroscopiques (poids corporel, testiculaire et épидидymaire), ainsi que les paramètres microscopiques (histologiques) des souris mâles adultes intoxiqués à l'acétate de plomb.

1. Résultats macroscopiques

1.1. Poids corporel

Au cours de l'expérimentation, la pesée des souris a été effectuée quotidiennement afin de suivre la progression de leur poids après les divers traitements, cette variation est représentée dans la Figure 46.

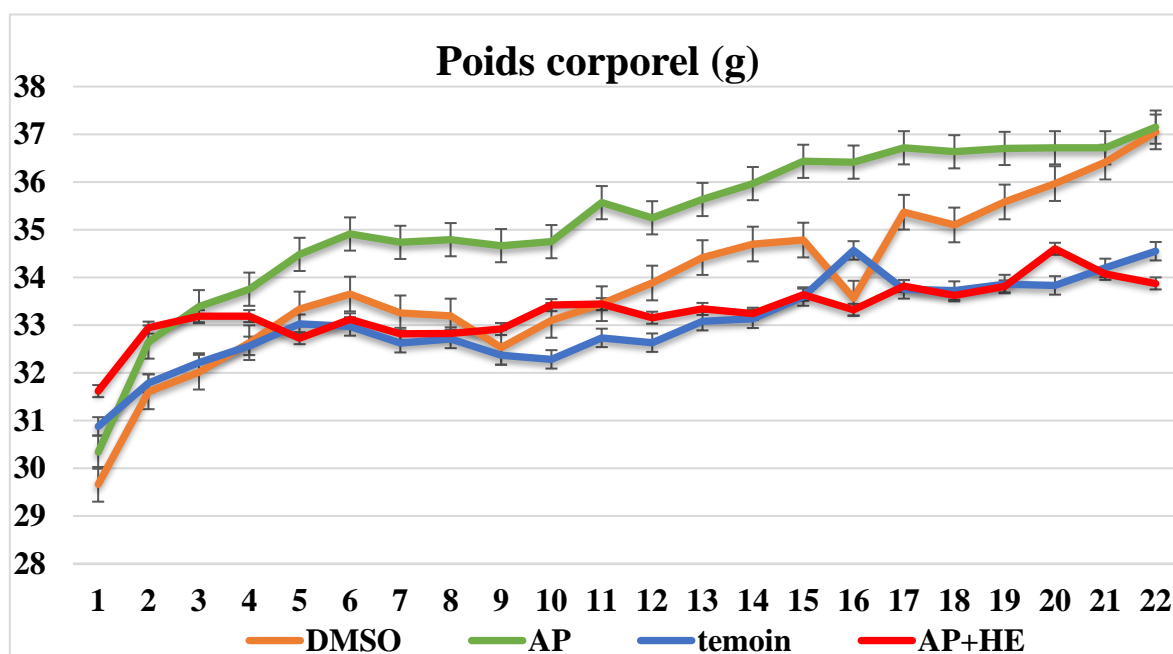


Figure 46 : Variation du poids corporel moyen (g) des 04 groupes en fonction du temps.

T : souris recevant de l'eau physiologique ; **DMSO :** souris traitées au diméthylsulfoxyde ;

AP : souris traitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) ; **AP+HE :** souris prétraitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) suivi d'un traitement avec l'huile essentielle du géranium rosat à la dose (400µl/kg).

Les résultats montrent une augmentation du poids corporel au fil du temps chez les 04 groupes. Le poids corporel des souris traitées avec l'acétate de plomb (allant de $30,34 \pm 1,58$ à $37,15 \pm 1,58$ g) est plus élevé par rapport à celui des autres lots. Une variation approximative entre le poids moyen des souris des lots T ; DMSO et AP+HE a été noté. Après l'application

d'une ANOVA, les résultats obtenus n'ont montré aucune différence significative ($p=0.534 > 0,05$).

1.2. Variation pondérale des organes reproducteurs

1.2.1. Poids testiculaire

1.2.1.1. Poids des testicules gauche et droit

Les poids moyens testiculaires gauche et droit sont illustrés dans la figure 47.

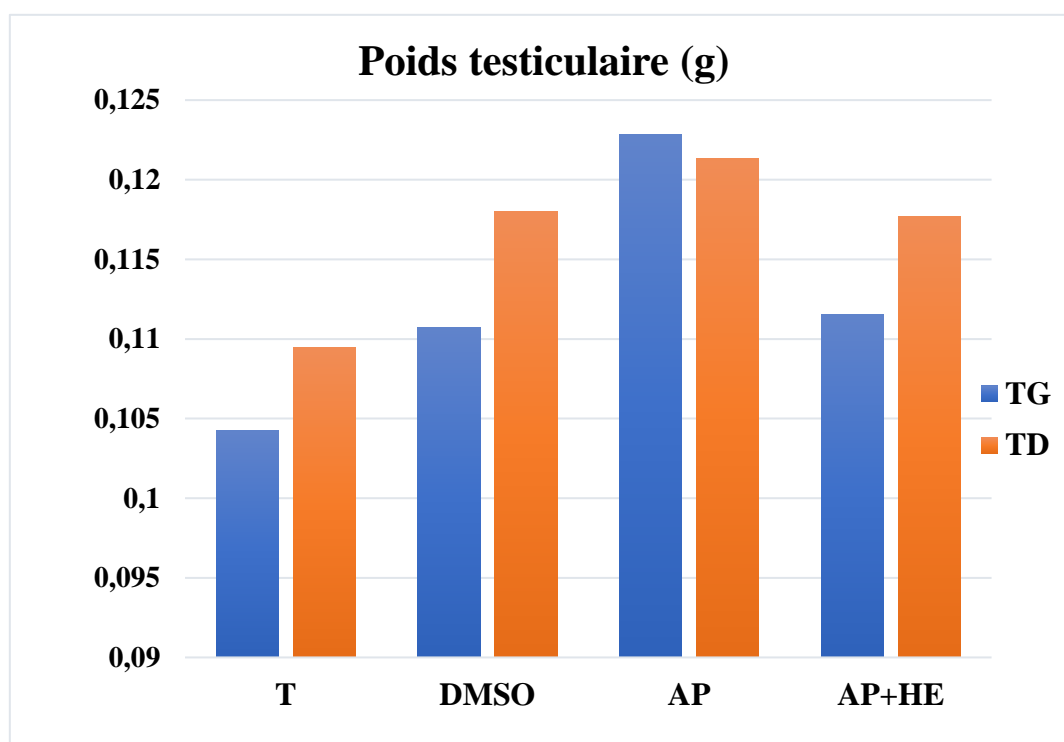


Figure 47 : Poids moyen des testicules gauches et droits des souris. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **DMSO** : souris traitées au diméthylsulfoxyde ; **AP** : souris traitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) ; **AP+HE** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb + huile essentielle du géranium rosat.

Les poids testiculaires droits chez les lots T ; DMSO et AP+HE sont supérieurs aux poids testiculaires gauches. Tandis que le poids du testicule droit est plus élevé à celui du gauche chez les souris ayant reçu 8mg/kg.pc d'acétate de plomb par voie intra-péritonéale. L'analyse statistique de ces valeurs, n'a révélé aucune variation significative.

1.2.1.2. Poids testiculaire total

La variation du poids testiculaire total exprimée par la valeur moyenne \pm l'erreur standard liée à la moyenne (ESM), varie entre les différents lots (Figure 48). En effet la valeur la plus élevée est obtenue chez les souris prétraitées appartenant au lot AP ($0,12\pm 0,008\text{g}$) par rapport à ceux enregistrées chez les animaux du lot DMSO ($0,11\pm 0,004\text{g}$), AP+HE ($0,11\pm 0,003\text{g}$), et du lot témoin ($0,1\pm 0,008\text{g}$) respectivement. Cependant aucune différence statistiquement significative n'est décelée.

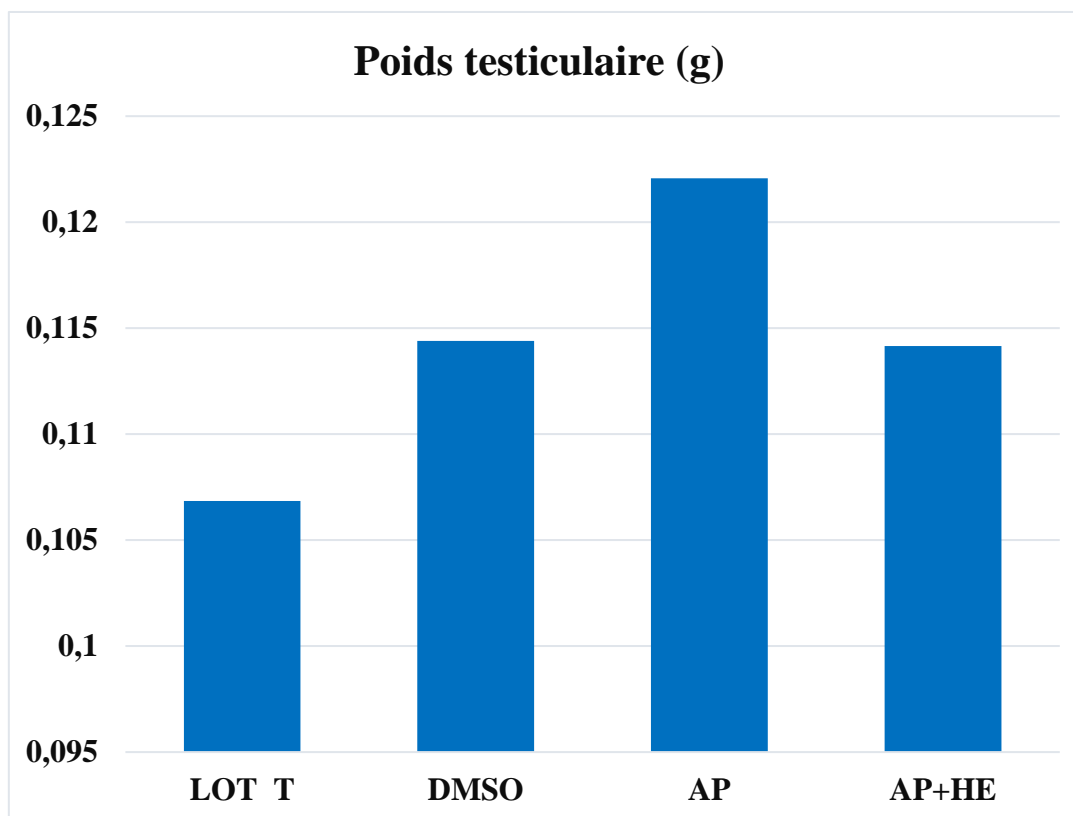


Figure 48 : Poids moyen total des testicules des souris. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **DMSO** : souris traitées au diméthylsulfoxyde ; **AP** : souris traitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) ; **AP+HE** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) suivi d'un traitement avec l'huile essentielle du géranium rosat (400 μl /kg).

1.2.1.3. Variation du poids relatif

Les valeurs moyennes du poids relatif à 100g du poids corporel des testicules des souris des quatre groupes sont illustrées dans la figure 49.

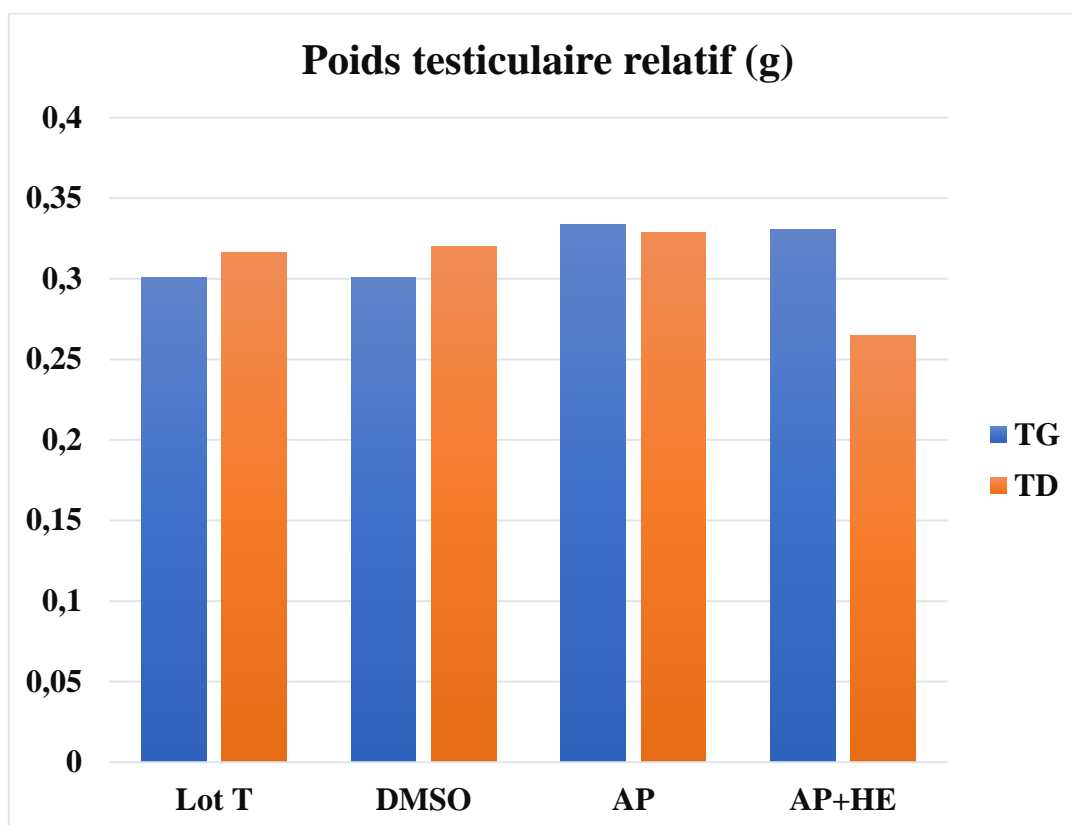


Figure 49 : Variation du poids relatif des testicules des souris. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **DMSO** : souris traitées au diméthylsulfoxyde ; **AP** : souris traitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) ; **AP+HE** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) suivi d'un traitement avec l'huile essentielle du géranium rosat (400µl/kg) ; **TD** : testicule droit ; **TG** : testicule gauche.

Le poids relatif des testicules droits et gauches sont approximativement identiques chez les groupes témoins, DMSO et AP, alors que les poids testicules gauches sont légèrement plus élevés que les poids testicules droits chez le lot AP+HE. Aucune variation significative n'a été enregistrée chez les quatre groupes.

1.2.2. Poids épидидymaire

1.2.2.1. Poids épидидymaire droit et gauche

Les poids moyens des épидидymes gauche et droit (EG et ED) sont illustrés dans la figure 50.

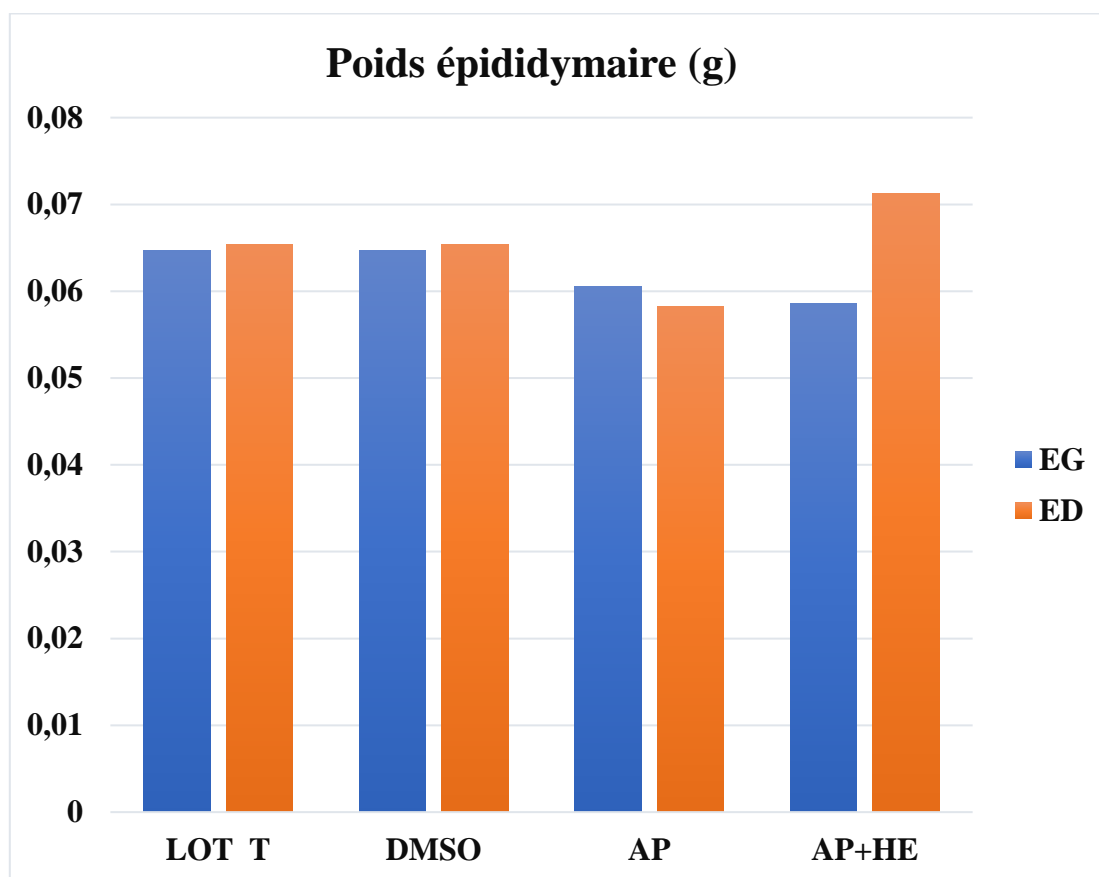


Figure 50 : Poids moyens des épидидymes gauches et droit des 04 groupes. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **DMSO** : souris traitées au dimethylsulfoxyde ; **AP** : souris traitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) ; **AP+HE** : acétate de plomb (8mg/kg) + huile essentielle du géranium rosat (400 μ l/kg).

Les poids épидидymaires gauches et droits des souris des lots T et DMSO et AP sont presque identiques. Tandis que le poids de l'épididyme droit est plus élevé que celui du gauche chez les souris du lot AP+HE. Ces variations ne présentent pas de valeur significative ($p > 0.05$).

1.2.2.2. Variation du poids épидидymaire total

Les valeurs des poids moyens totales \pm ESM exprimées sont représentées dans la figure 51. Les poids moyens totaux des épидидymes des souris témoins et du lot DMSO sont similaires ($0.78\text{g} \pm 0.004$), et sont supérieurs par rapport à ceux des lots AP ($0.71\text{g} \pm 0.002$) et AP+ HE ($0.44\text{g} \pm 0.004$) respectivement. Cependant, il n'y a aucune différence significative ($p > 0.05$).

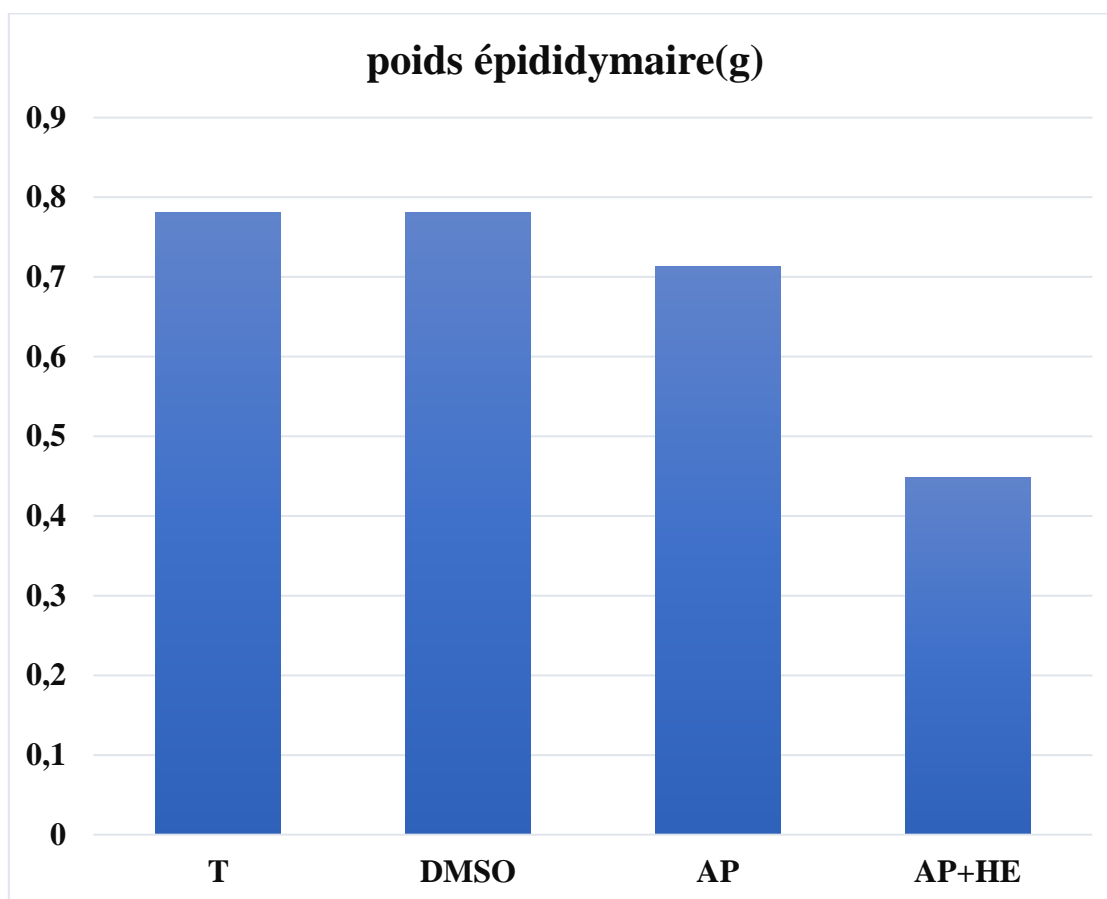


Figure 51 : Poids moyen total des épидидymes des souris témoins, traitées au DMSO, à l'acétate de plomb et à l'huile essentielle du géranium rosat. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **DMSO** : souris traitées au diméthylsulfoxyde ; **AP** : souris traitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) ; **AP+HE** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) + huile essentielle du géranium rosat (400µl/kg).

1.2.2.3. Poids relatif épидидymaire

Le poids relatif des épидидymes (figure 52), exprimés en pourcentage du poids corporel total (pour 100g) des souris ayant reçu une injection intra-péritonéale de $Pb(C_2H_3O_2)_2$, est inférieur par rapport au poids relatif épидидymaire des autres lots (témoin, DMSO, AP+HE respectivement). Un poids plus élevé de l'épididyme gauche est observé chez des souris ayant reçu 400µl d'huile essentielle de *Pelargonium*, par rapport à l'épididyme gauche chez les souris traitées à l'AP. Aucune variation significative des poids n'a été notée ($p > 0.05$).

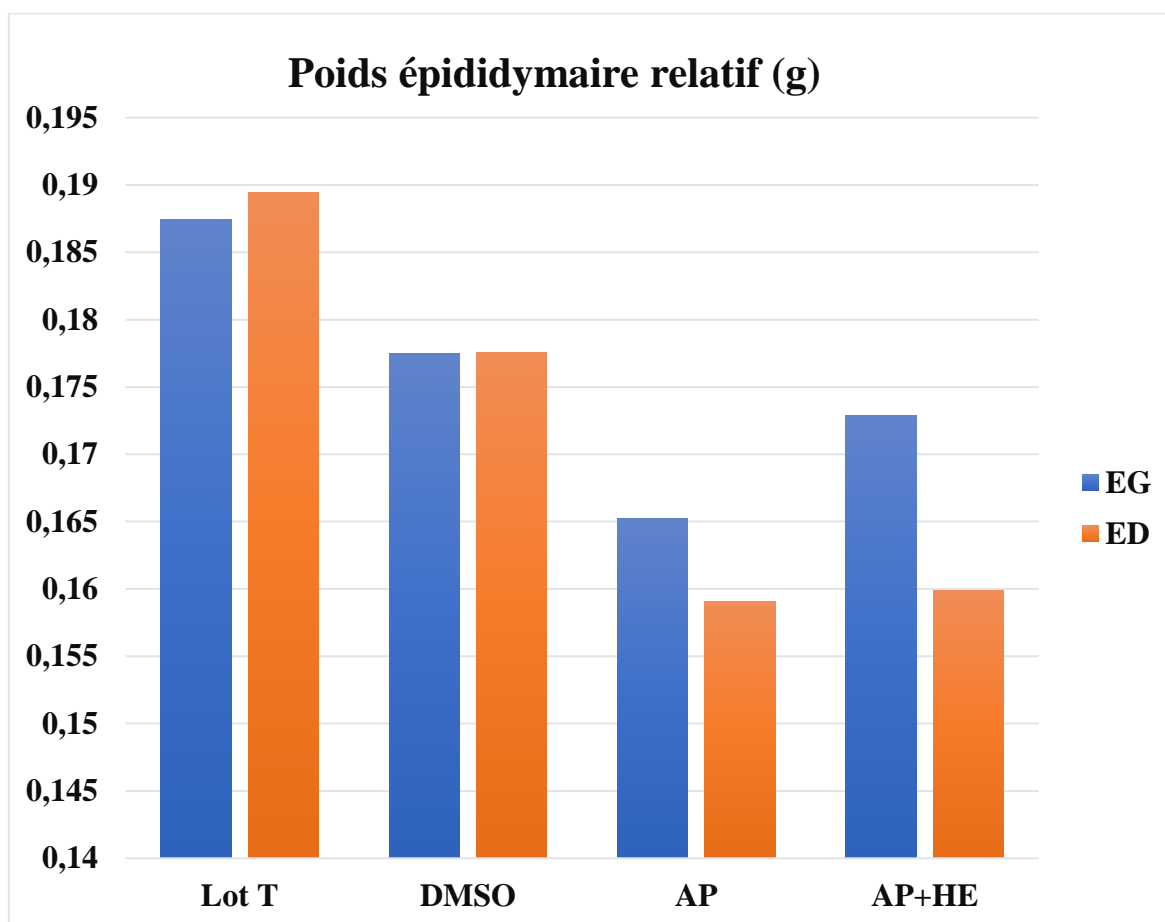


Figure 52 : poids épидидymaire moyen relatif des souris. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **DMSO** : souris traitées au diméthylsulfoxyde ; **AP** : souris traitées avec l'acétate de plomb (8mg/kg) ; **AP+HE** : souris prétraitées à l'acétate de plomb (8mg/kg) + l'huile essentielle du géranium rosat (400µl/kg).

2. Résultats de l'étude microscopique

L'étude microscopique nous a permis de comparer les structures histologiques du testicule et de l'épididyme des souris mâles adultes.

2.1. Histologie des testicules

2.1.1. Histologie des testicules du lot témoin et DMSO

Les résultats de l'étude histologique réalisée sur les testicules des souris témoins et les ceux ayant reçus du diméthylsulfoxyde sont représentés dans la figure 53.

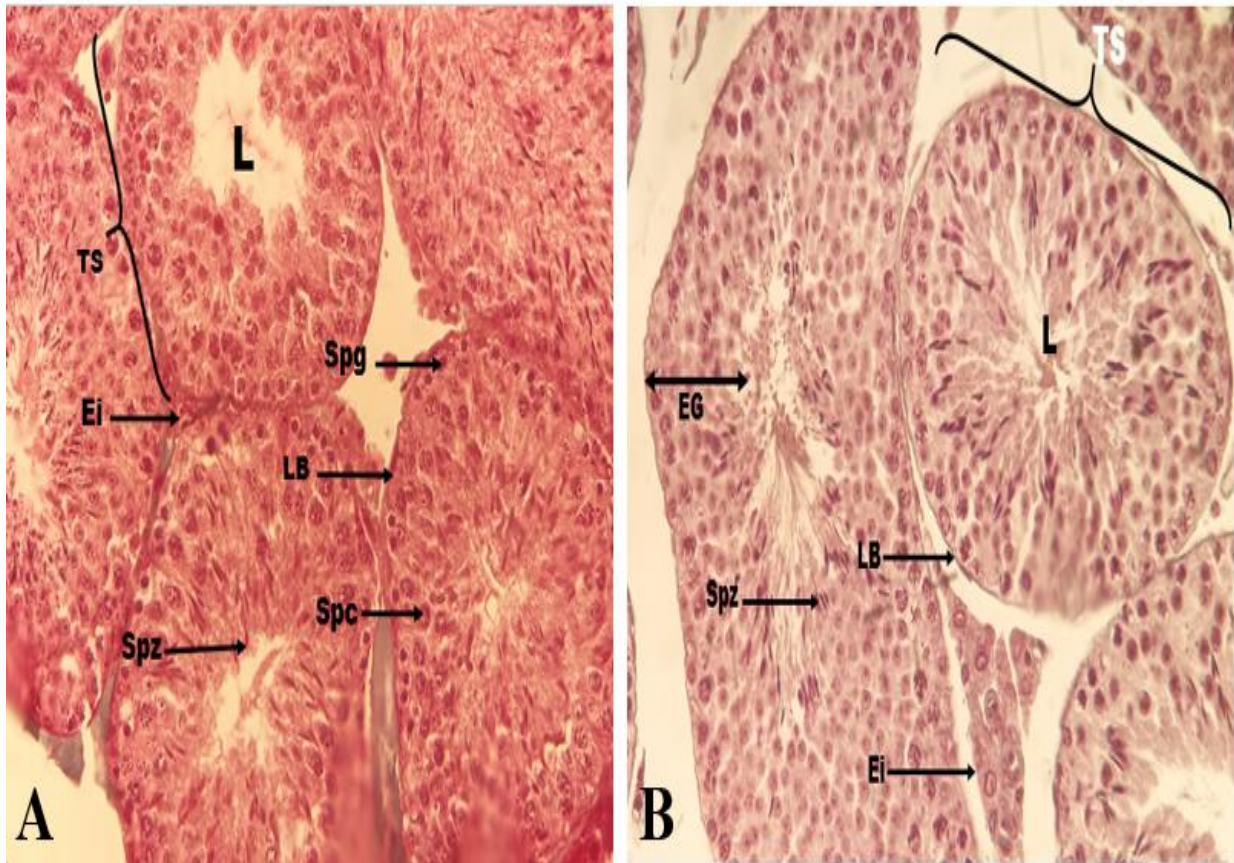


Figure 53 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale du testicule d'une souris témoin et une souris ayant reçu du dimethylsulfoxyde après coloration au Trichrome Masson, observée sous microscope photonique au grossissement (10×40). **A** : coupe histologique de testicule d'une souris témoin ; **B** : coupe histologique de testicule d'une souris ayant reçu du dimethylsulfoxyde. **L** : lumière ; **TS** : tube séminifère ; **Spg** : Spermatogonie ; **Spc** : Spermatocyte ; **EG** : épithélium germinatif ; **LB** : Lame basale ; **Ei** : espace interstitiel contenant des cellules de Leydig ; **Spz** : spermatozoïde.

L'observation au fort grossissement (10×40) des coupes histologiques des testicules témoins et des souris traités au DMSO, révèle une architecture organisée en deux grands compartiments : tubulaires appelé les tubules séminifères, et inter-tubulaires également nommé *interstitium*.

Les tubes séminifères sont bordés d'un un épithélium germinatif stratifié, formé d'une mosaïque cellulaire incluant les différents stades de la spermatogenèse à savoir : les spermatogonies, les spermatocytes, les spermatides, et des spermatozoïdes.

Dans les espaces péri-tubulaires sont logées des amas de cellules endocrinocytes « cellules de *Leydig* ».

2.1.2. Etude histologique testiculaire des souris traitées à l'acétate de plomb

Afin de confirmer la présence d'altérations, un groupe de souris traitées à l'acétate de plomb est sacrifié une semaine après l'injection (Figure 54.A), et un autre groupe est laissé jusqu'à la fin de l'expérimentation (Figure 54. B).

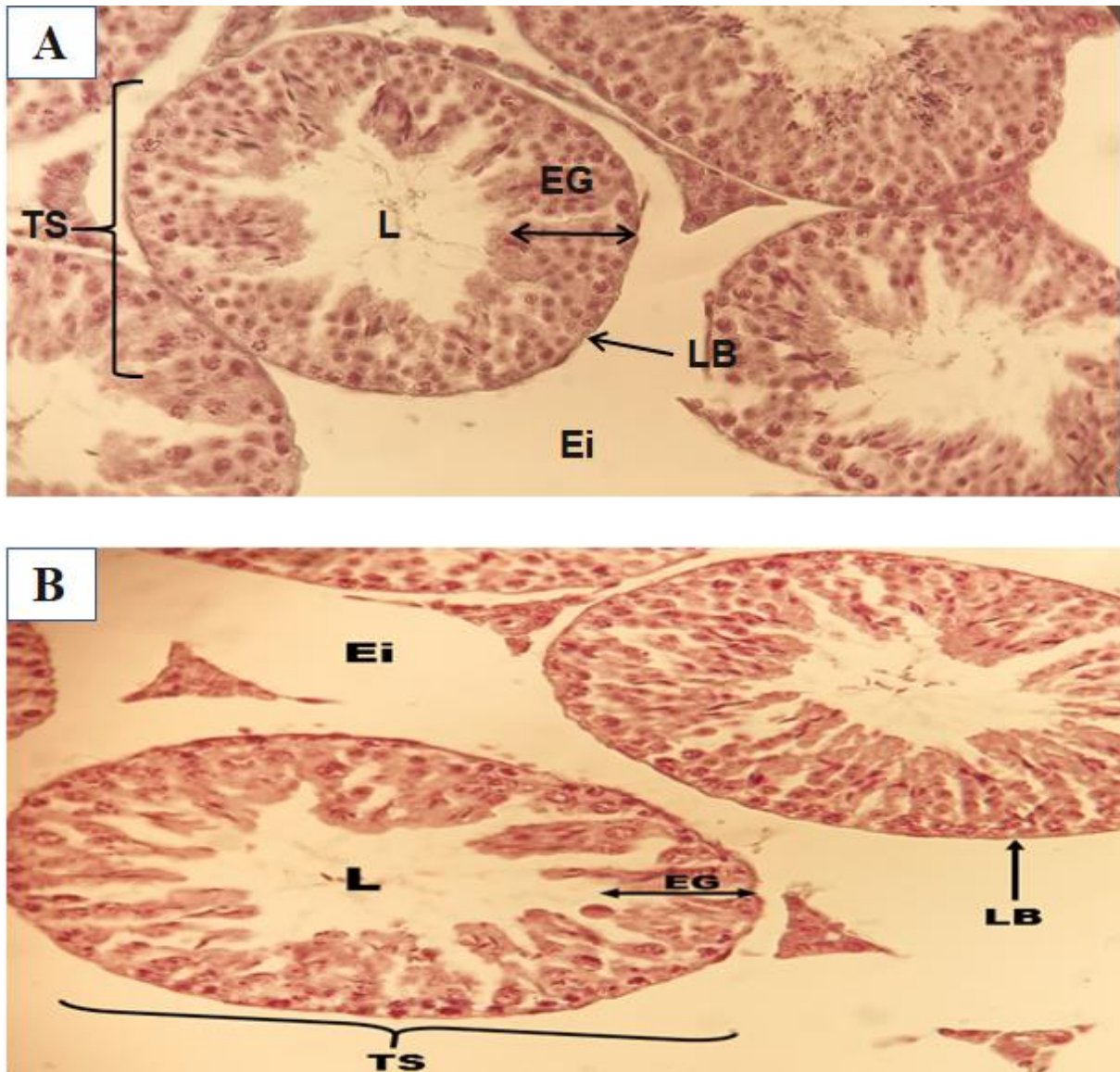


Figure 54 : Coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitée à l'acétate de plomb après coloration au Trichrome Masson observé sous microscope photonique au grossissement (10×40). **A** : souris sacrifiées au bout de 7 jours ; **B** : souris allant jusqu'à la fin de l'étude ; **L** : lumière ; **TS** : tube séminifère ; **LB** : lame basale ; **Ei** : espace interstitiel ; **EG** : épithélium germinatif désorganisé.

La comparaison des coupes histologiques des testicules des souris traitées à l'acétate de plomb avec les souris témoins a révélé la présence de profondes altérations, qui consiste en un élargissement de l'espace interstitiel, une perturbation de processus de spermatogenèse au niveau de l'épithélium germinatif et une réduction du nombre des cellules germinales avec une lumière très large et dépourvue de spermatozoïdes. Les espaces péri-tubulaires sont plus larges.

2.1.3. Histologie testiculaire des souris traitées à l'acétate de plomb suivies par un traitement quotidien à l'huile essentielle de géranium rosat

L'effet de l'huile essentielle du géranium rosat dans le traitement des lésions causées par une injection intra-péritonéale d'acétate de plomb, est illustré dans la figure 55.

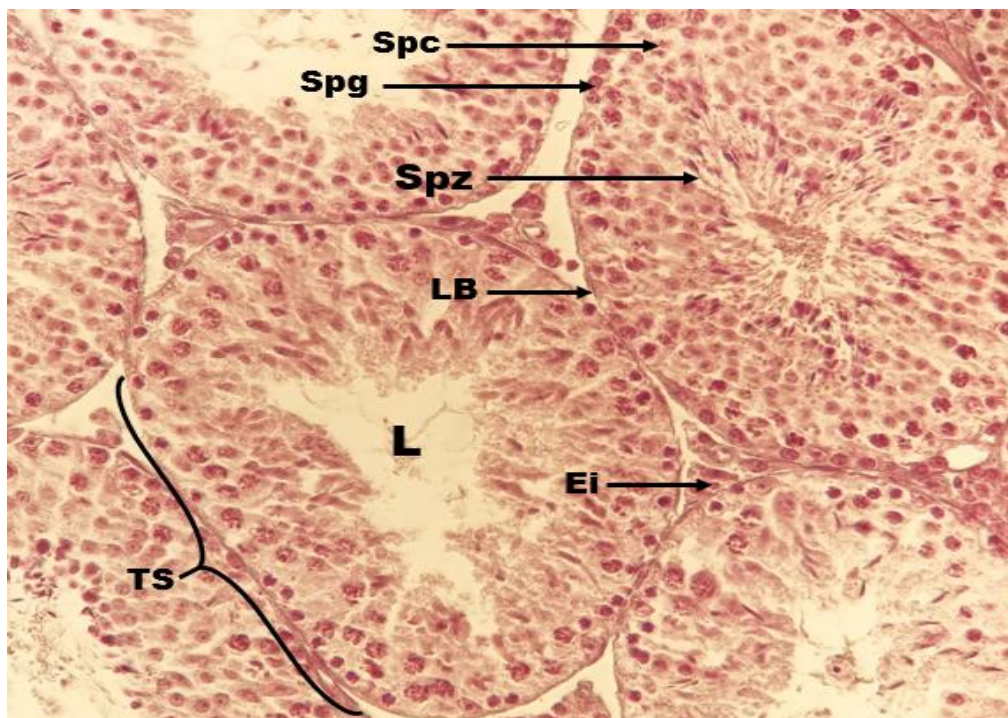


Figure 55 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitée à l'acétate de plomb ensuite à l'huile essentielle de géranium rosat après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40). **L** : lumière ; **TS** : tube séminifère ; **LB** : Lame basale ; **Ei** : espace interstitiel contenant des cellules de Leydig ; **Spg** : spermatogonie ; **Spc** : spermatocyte ; **Spz** : spermatozoïde.

L'observation à fort grossissement (G10×40) de coupes histologiques de testicules de souris appartenant au groupe AP+ HE, a montré une organisation comparable aux structures des tubules séminifères des souris témoins, notant la reprise du processus de spermatogenèse.

2.2. Histologique de l'épididyme proximal

2.2.1. Épididyme proximal des souris témoins et DMSO

La figure 56 montre une observation microscopique à fort grossissement ($G40\times 10$) d'une coupe histologique au niveau de l'épididyme proximale des souris appartenant au groupe témoins et DMSO.

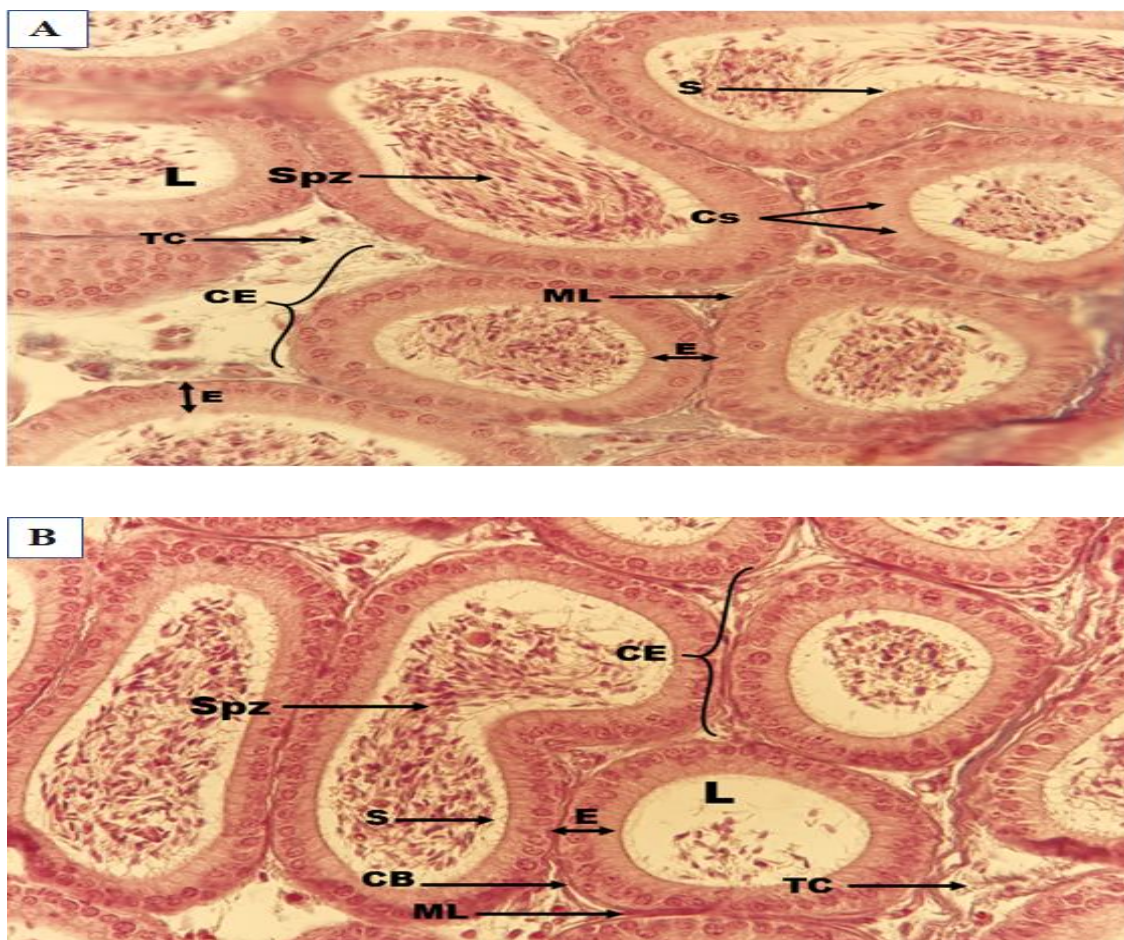


Figure 56 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale de l'épididyme d'une souris témoin et une souris ayant reçu du diméthylsulfoxyde après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40). **A :** Souris témoins ; **B :** Lot DMSO ; **CE :** canal épидидymaire ; **L :** lumière ; **E :** épithélium pseudostratifié ; **Spz :** spermatozoïdes ; **S :** stéréocils ; **TC :** tissu conjonctif ; **CB :** cellule basale ; **ML :** muscle lisse.

Au microscope photonique, ce tube contourné apparaît sous formes de structures épithéliales formées par un ensemble de sections tubulaires majoritairement circulaires, séparées par un tissu conjonctif contenant des cellules musculaires lisses.

Le tissu épидидymaire est composé d'un épithélium cylindrique pseudostratifié contenant plusieurs types cellulaires, parmi lesquels les cellules hautes principales riches en stéréocils sont les plus nombreuses et occupent la quasi-totalité de l'épithélium. La lumière est caractérisée par la présence d'un nombre important de spermatozoïdes.

2.2.2. Histologique de l'épидидyme proximal des souris traitées à l'acétate de plomb

Les résultats de l'étude histologique réalisée sur l'épидидyme des souris traitées à l'acétate de plomb sont présentés dans la figure 57.

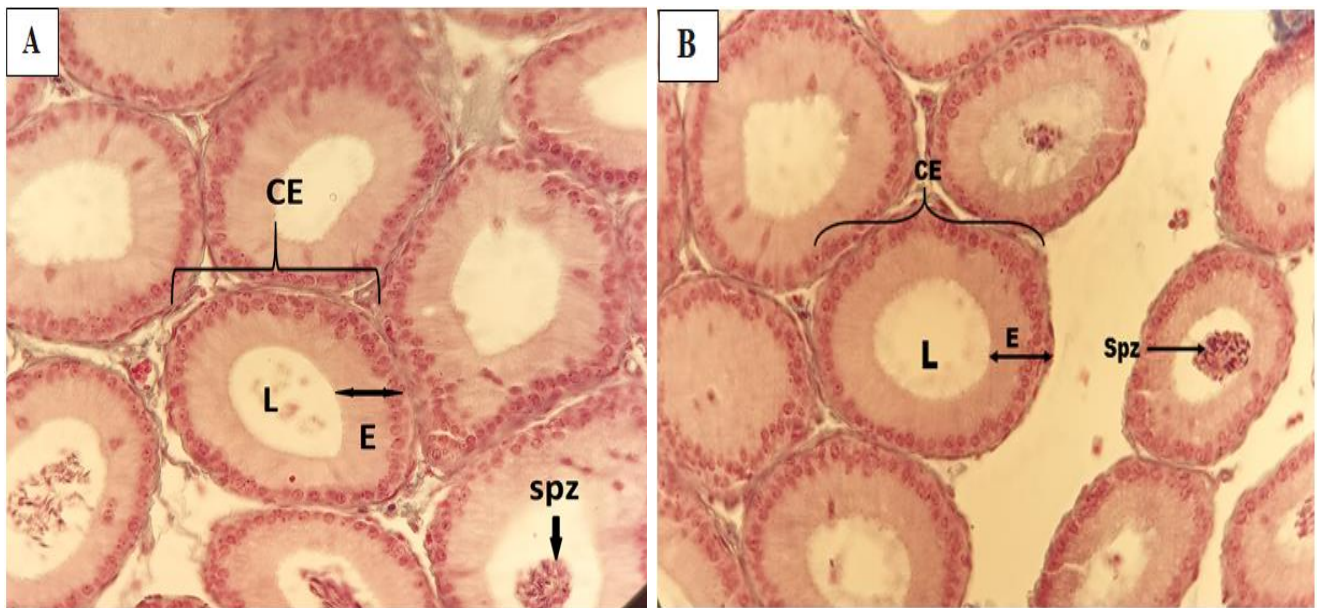


Figure 57 : Photographie originale représentant la coupe histologique transversale de l'épидидyme d'une souris traitée à l'acétate de plomb après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40). **A :** souris sacrifiées au bout de 7 jours ; **B :** souris allant jusqu'à la fin de l'étude ; **CE :** canal épидидymaire ; **L :** lumière ; **E :** épithélium pseudostratifié ; **Spz :** spermatozoïdes.

L'observation des coupes histologiques de l'épидидyme d'une souris traitée à l'acétate de plomb au fort grossissement (10×40) révèle une profonde altération structurale de l'épидидyme qui consiste en la présence de canaux épидидymaires séparés laissant un espace élargi entre eux (Figure 57.B), des cellules plus hautes comparés à celles des souris témoins et DMSO, et une lumière réduite claire avec un nombre réduit ou quasi absence de spermatozoïdes (Figure 57. A et B).

2.2.3. Histologique de l'épididyme proximal des souris prétraitées à l'acétate de plomb suivi par l'huile essentielle de géranium rosat

L'observation des coupes histologiques de l'épididyme d'une souris appartenant au groupe AP+HE, au fort grossissement (10×40) montre une organisation normale de l'architecture de l'épididyme qui consiste en présence des canaux épидидymaires bien adhérents entourés par un tissu conjonctif, et de nombreux spermatozoïdes contenus dans la lumière du canal (figure 58).

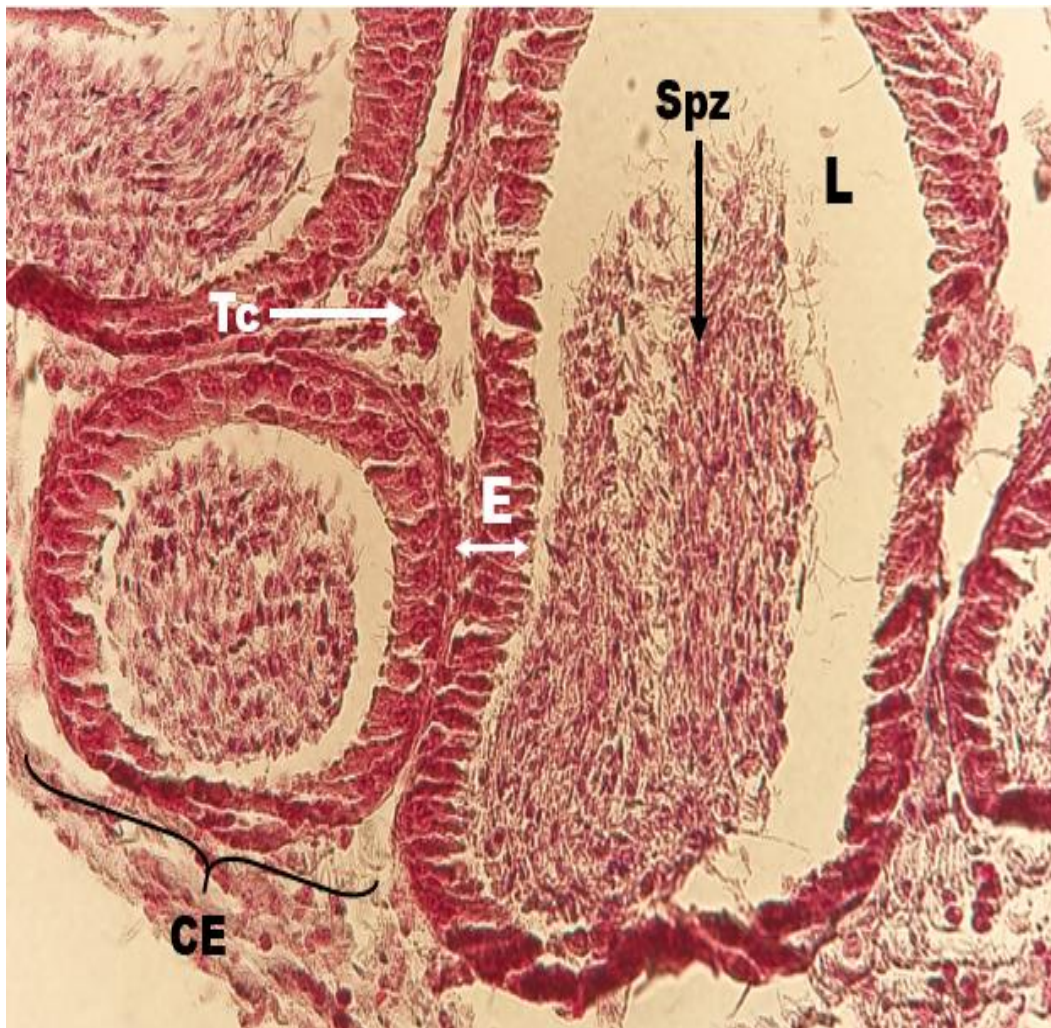


Figure 58 : Structure histologique épидидymaire des souris traitées à l'acétate de plomb ensuite à l'huile essentielle de géranium rosat après coloration au Trichrome Masson au grossissement (10×40). **CE** : canal épидидymaire ; **L** : lumière ; **E** : épithélium pseudostratifié ; **Spz** : spermatozoïdes.

3. Discussion des résultats

3.1. Résultats macroscopiques

Dans notre étude, aucune différence significative n'a été notée, ni dans le poids corporel, ni dans le poids des organes sexuels étudiés pour les lots témoin ; traité au DMSO et le lot traité à l'acétate de plomb. Des résultats similaires ont été rapportés par Easwari et *al.* (1992) sur des rats adultes exposés durant 10 semaines, à 0,05 %, 0,1 %, 0,5 % et 1 % d'acétate de plomb dissout dans l'eau. De même Marchlewicz et *al.* (2004), ont constaté qu'aucune différence significative n'a été enregistrée entre les poids des corps, des testicules ainsi que des épидидymes chez les animaux buvant 1 % d'acétate de plomb pendant 6 mois. Foster et *al.* (1998) n'ont pas trouvé également aucun effet sur le poids corporel de singes exposés chroniquement à de faibles niveaux de plomb.

En revanche, Wadi et Ahmad (1999) ont montré que l'exposition chronique à l'acétate de plomb à une dose élevée (0.5%) induit, chez les rats mâles une diminution significative du poids de l'épididyme et des vésicules séminales.

Concernant l'effet de l'huile essentielle de géranium rosat sur le poids corporel, épидидymaire et testiculaire, une diminution non significative a été enregistré, cette dernière pourrait probablement être due aux mortalités observées.

Morakinyo et *al.* (2008), ont constaté une augmentation significative du poids testiculaire et épидидymaire après un traitement par l'extrait aqueux de *Zingiber officinale* ; ils supposent que cette augmentation du poids absolu des testicules et l'épididyme pourrait être due à une augmentation de la biosynthèse des androgènes. De même, Lakabi et Khelfane-Gouceme (2020) ont mis en évidence que l'administration des huiles essentielles de la Menthe poivrée (*Mentha piperita*), la Sauge officinale (*Salvia officinalis*) et le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) aux deux doses de 100 et 200 µl/kg de PC, aux lapins pré-pubères âgés de 3 mois, induit une augmentation de poids corporel, testiculaire et épидидymaire.

Par ailleurs Mansour et *al.* (2013) ont trouvé que l'administration des extraits de plantes de la grenade, huile d'olive et de *Nagilla sativa*, n'a pas un effet statistiquement significatif sur le poids corporel des rats ni le poids de testicules, épидидymes, vésicules séminales, prostate et les glandes de Cowper.

3.2. Résultats microscopiques

Notre étude histologique a révélé que l'administration intra-péritonéale d'acétate de plomb chez des souris mâles induit à une désorganisation de l'architecture testiculaire qui se manifeste par une altération de la forme des tubules séminifères et une perturbation du processus de spermatogenèse, avec une lumière volumineuse ainsi qu'une diminution du nombre de cellules germinales et de spermatozoïdes ; nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Gorbel et *al.* (2002) qui ont rapporté que les rats exposés durant 45 jours au $Pb(C_2H_3O_2)_2$, présentent des tubules séminifères vides, atrophiés, et séparés par des espaces interstitiels larges ainsi qu'une forte perturbation des différents stades de la spermatogenèse. Ekeh et *al.* (2015), ont montré que l'exposition des rats mâles à l'acétate de plomb pendant 14 jours a provoqué une dégénérescence de l'architecture gonadique et une nécrose.

L'étude histologique des structures testiculaires des souris traitées à l'acétate de plomb suivi par une administration quotidienne de l'huile essentielle de géranium rosat (400 μ l/kg.pc), ont montré une organisation normale des tubes séminifères notant la reprise de la spermatogenèse ainsi qu'une apparence des cellules de Leydig et cellules de Sertoli. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Hamedi et *al.* (2017), qui ont montré que l'administration de l'huile de rose chez des rats diabétiques a considérablement augmenté le nombre des cellules de spermatogonies, de spermatoocytes primaires, de cellules de Sertoli et de cellules de Leydig, avec des meilleurs résultats pour les doses les plus élevées. Il semble que l'administration de doses répétées à court terme d'huile de rose puisse améliorer de manière dose-dépendante les détériorations structurelles des testicules et le nombre de spermatozoïdes épидидymaires chez les rats diabétiques.

Ben Slima et *al.* (2013), ont montré que le changement structural testiculaire chez des souris traitées à la deltaméthrine a été amélioré après l'administration de l'huile essentielle de géranium rosat, connu par une présentation complète de spermatogenèse au niveau des tubes séminifères et une augmentation des spermatozoïdes à l'intérieur de la lumière des tubes. Il semble que le stress oxydatif induit par la deltaméthrine peut être traité avec l'huile essentielle de géranium rosat grâce à ses effets antioxydants. Selmi et *al.* (2018), a montré que l'administration de l'huile essentielle de *Lanvandula stoechas* (50mg/kg) à des souris mâles intoxiquées par un insecticide (malathion) à la dose de 200mg/kg conduit à une restauration de tous les paramètres de fertilité mâle et à une réduction des formes anormales de spermatozoïdes. Des résultats similaires ont été rapporté par Ahmed et Nofal (2020), qui ont montré une nette amélioration des tissus testiculaires et interstitiels avec une apparence

normale de la densité spermatique chez des souris exposées à l'acide gibbérellique suivi d'un traitement avec l'extrait d'huile de *Phoenix dactylifera L.* Mustari et al. (2022), a observé une augmentation du diamètre des tubules séminifères chez des souris mâles nourries avec de l'huile de graine noire et un nombre accru de follicules ovariens de différents stades chez des souris femelles par rapport aux souris témoins.

Conclusion et perspectives

Conclusion et Perspectives

Les travaux de recherches entrepris au cours de ce projet auront permis de mettre en évidence l'efficacité de l'huile essentielle de géranium rosat *Pelargonium* dans l'amélioration de la structure testiculaire et épидидymaire contre la toxicité induite par l'acétate de plomb.

Sur le plan corporel, aucune variation significative des poids corporels et gonadique n'a été enregistrée au sein des 04 lots (témoins, dimethylsulfoxyde, acétate de plomb, acétate de plomb suivi de l'huile essentielle de géranium rosat).

Sur le plan histologique nous avons constaté que l'acétate de plomb avait des effets toxiques sur le testicule qui se présente par des altérations de l'architecture épithéliale notant la diminution de la surface des tubes séminifères, un ralentissement du processus de spermatogenèse, et un élargissement de l'espace interstitiel. Au niveau épидидymaire ce métal lourd a provoqué la séparation des canaux épидидymaires et une diminution à une quasi absence de spermatozoïdes.

Concernant le traitement à l'huile essentielle de géranium nous avons constaté au niveau testiculaire une architecture normale des tubules séminifères, et la présence de différents stades de la spermatogenèse, et au niveau épидидymaire une organisation normal des canaux avec une lumière pleine de spermatozoïdes.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons déduire que l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* contribue à l'amélioration de la fertilité masculine perturbée suite à son exposition à un agent toxique (acétate de plomb).

Ces résultats sur l'effet positif de l'huile essentielle de géranium rosat sur la structure gonadique des souris mâles adultes laissent entrevoir différentes perspectives. La première d'entre elles, qui est la plus ambitieuse, est celle de renforcer l'étude par une analyse de la motilité des spermatozoïdes (spermogramme) afin de mieux comprendre l'effet de l'huile essentielle de géranium rosat sur la qualité de sperme. La deuxième, est d'étudier les variations hormonales (FSH, LH, testostérone). La troisième, est d'effectuer une étude histologique sur les autres organes (canal déférent, vésicules séminales, et la glande de Tyson). La quatrième, est d'étudier les effets enzymatiques de chaque composant de l'huile essentielle de géranium rosat sur les organes reproducteurs cibles. Enfin il serait intéressant, d'élargir l'étude avec l'utilisation des doses plus élevées de cette huile essentielle et l'acétate de plomb ainsi qu'un effectif plus grand d'animaux.

Références bibliographiques

1. **Abe K., Takan H. et Ito T. (1982).** Ultrastructure of the Mouse Epididymal Duct with Special Reference to the Regional Differences of the Principal Cells. Arch. histol. jap., Vol. 46, No. 1, p51-68.
2. **Abe K., Takano H., et Ito T. (1984).** Interruption of the luminal flow in the epididymal duct of the corpus epididymidis in the mouse, with special reference to differentiation of the epididymal epithelium. Arch Histol Jpn 47, 137-147.
3. **Abdelli, M., Moghrani, H., Aboun, A., & Maachi, R. (2016).** Algerian Mentha pulegium L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. Industrial Crops and Products, 94, 197-205. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.042>
4. **Abu Hajleh M., Al-Samydai A., Al-Dujaili E. (2020).** Ginseng modulates steroid hormones action, production and metabolism; a narrative review on androgens, estrogens and corticosteroids. Indian Drugs. 57. 7-16. 10.53879/id.57.10.12696.
5. **Ahmed R.A., et Nofal A.E. (2020).** Ameliorating impact of Phoenix dactylifera L. Leaves oil extract on testicular toxicity induced by gibberellic acid: histomorphometric and immunohistochemical studies. The Egyptian journal of histology 44(01), 128-143.
6. **Aladamat N., et Tadi P. (2022).** Histology, Leydig Cells. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556007/>.
7. **Alkafafy M., Rashed R., Emara S., Nada M., et Helal A. (2011).** Histological and immunohistochemical studies on the epididymal duct in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). Anatomy & cell biologie. pISSN 2093-3665 eISSN 2093-3673. <http://dx.doi.org/10.5115/acb.2011.44.4.284>.
8. **Badji K. (2021).** *Mélanges de perturbateurs endocriniens en milieu professionnel : Vers une meilleure évaluation de l'exposition.* [Mémoire Master]. Faculté d'ingénierie et Management de la santé-Université de Lille.
9. **Baker J., Hardy M.P., Zhou J., Bondy C., Lupu F., Bellve A.R., et Efstratiadis A. (1996).** Effects of an Igf1 gene null mutation on mouse reproduction. Mol Endocrinol 10, 903-918. DOI : [10.1210/mend.10.7.8813730](https://doi.org/10.1210/mend.10.7.8813730)
10. **Barone R. (2001).** Splanchnologie II. In : Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome quatrième, Troisième édition Vigot, Paris, pp. 159-185.
11. **Basciani S., Mariani S., Arizzi M., Brama M., Ricci A., Betsholtz C., Bondjers C., Ricci G., Catizone A., Galdieri M., Spera G., et Gnessi L. (2004).**

- Expression of platelet-derived growth factor (PDGF) in the epididymis and analysis of the epididymal development in PDGF-A, PDGF-B, and PDGF receptor beta deficient mice. *Biol Reprod* 70, 168-177.
12. **Bellvé A. R. et al, (1977)**. Spermatogenic cells of the prepuberal mouse. From the Departments of Physiology and Anatomy and the Laboratory of Human Reproduction and Reproductive Biology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115. *The journal of cell biology*, vol 74, p68-85.
 13. **Belloti P.T. (2018)**. Interêt du dosage de la testostérone libre chez l'homme et développement d'une nouvelle méthode de dosage au laboratoire d'hormonologie du CHU de Bordeaux. Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques. Université de Bordeaux 75.
 14. **Ben Slima A., Ben Ali M., Barkallah M., Traore A., Boudawara T., Allouche N., et Gdoura R. (2013)**. Antioxidant properties of Pelargonium graveolens L'Her essential oil on the reproductive damage induced by deltamethrin in mice as compared to alpha-tocopherol. *Lipids in health and disease* 12(30).
 15. **Bernard R., et Robert S.V. (1995)**. Regulation of Epididymal Epithelial Cell Functions. *Biology of reproduction* 52, 226-236 (1995)
 16. **Bernard R. et Barry T.H. 2015**. The epididymis in *Physiology of Reproduction* (pp.691-771) Edition: 4th Chapter: The Epididymis Publisher: Elsevier Inc Editors: T. Plant & A. Zelezní
 17. **Boukhatem M.N., Hamaidi M.S., Saidi F., et Hakim Y. (2010)**. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de géranium rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature et technologie*, (3), 37-45.
 18. **Boukhatem M.N., Saidi F., Hamaidi M. S., Hakim Y., et Mekarnia M. (2011)**. Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (Pelargonium graveolens) en Algérie : état des lieux et perspectives. *Phytothérapie*, 9(5), 304–309. doi :10.1007/s10298-011-0635-4
 19. **Britan A., et Drevet J.R. (2006)**. Régulation des fonctions de l'épithélium epididymaire des mammifères : État des lieux. 16(3), 197-227. <https://doi.org/10.1007/BF03034859>.
 20. **Brugnon F. (2009)**. Apoptose du spermatozoïde et fertilité masculine. Génétique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II ; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I. Français. NNT: 2009CLF1MM01. tel-00726203.

21. **Buzzard J.J., Morrison J.R., O'Bryan M.K., Song, Q., et Wreford N.G. (2000).** Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis. *Biology of reproduction* 62, 664-669.
22. **Carver A., Gallicchio VS., et Carver A. (2017).** Heavy Metals and Cancer. In *Cancer Causing Substances*. IntechOpen.
23. **Catizone A., Ricci G., et Galdieri M. (2002).** Functional role of hepatocyte growth factor receptor during sperm maturation. *J Androl* 23, 911-918.
24. **Chanel O., Dollfus C., Haguenoer JM., Hartemann P., Huel G. (1999).** Plomb dans l'environnement : quels risques pour la santé. [Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). 1999, 451 p., graphiques, références bibliographiques disséminées. Ffhal-01571950
25. **Chen H. (2022).** Etude du profil épigénétique spermatique au cours de la maturation post-testiculaire. Thèse. Doctorat en médecine moléculaire. Québec (Canada). P 228.
26. **Chikaodiri H. O. (2020).** Reproductive Physiology of Male Rabbits: A Key Factor in Buck Selection for Breeding. *Advances in reproductive sciences*, 8 p 97 – 112. <https://www.scirp.org/journal/arsci>
27. **Clark Brelje T. et Sorenson R. L. (2005).** Ductus referens. Chapter 19: Male reproductive system. *Histology guide*.
28. **Clermont Y. (1966).** Spermatogenesis in man. A study of the spermatogonial population. *Fertil Steril* ; 17 : 705– 21.
29. **Contini, A., Di Bello, D., Azzarà, A., Giovanelli, S., D'Urso, G., Piaggi, S., Pinto, B., Pistelli, L., Scarpato, R., et Testi, S. (2020).** Assessing the cytotoxic/genotoxic activity and estrogenic/antiestrogenic potential of essential oils from seven aromatic plants. *Food and Chemical Toxicology*, 138, 111205. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111205>
30. **Cooke P.S., Holsberg D.R., Witorsch R.J., Sylvester P.W., Meredith J.M., Treinen K.A., et Chapin R.E. (2004).** Thyroid hormone, glucocorticoids and prolactin at the nexus of physiology, reproduction and toxicology. *Toxicology and applied pharmacology* 194, 309-335.
31. **Couic-Marinier F., et Laurain-Mattar D. (2018).** Huile essentielle de Géranium rosat. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(581), 57–59. Doi : 10.1016/j.actpha.2018.10.012

32. **Dacheux J.L., et Paquignon M. (1987).** Maturation épидидymaire des spermatozoïdes influence sur la qualité des gamètes. Journées Rech. Porcine en France, 19, p 99-106.
33. **Dadoune J.P., et Dumoulin A. (2001)** Structure et fonctions du testicule. In: Thibault C, Levasseur MC (eds). La reproduction chez les mammifères et l'homme. INRA Editions, Paris, p 256–289
34. **Dadoune, J.P., et Démolin A. (1991).** Structure et fonction du testicule. In "La reproduction chez les mammifères et l'homme", pp. 221-250. Ellipses.
35. **Dahami Z., El Amrani M.D., et Biborchi H. (2020).** Les testicules. Université Cadi Ayyad. Faculté de médecine et de pharmacie, Marrakech, <http://anatomie-fmpm.uca.ma/wp-content/uploads/2020/07/testicules-et-voies-spermatiques.pdf>.
36. **Dao, T. P., Tran, N. Q., Tran, T. T., et Lam, V. T. (2022).** Assessing the kinetic model on extraction of essential oil and chemical composition from lemon peels (*Citrus aurantifolia*) by hydro-distillation process. *Materials Today: Proceedings*, 51, 172-177. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.069>
37. **Das S., Roychoudhury S., Dey A., Jha NK., Kumar D., Roychoudhury S., Slama P., et Kesari KK. (2022).** Bacteriospermia and Male Infertility: Role of Oxidative Stress. In K. K. Kesari & S. Roychoudhury (Éds.), *Oxidative Stress and Toxicity in Reproductive Biology and Medicine: A Comprehensive Update on Male Infertility* (01), 141-163. Springer International Publishing.
38. **Dauchy R.T., et Hanifinet (2013).** Effects of spectral lighting transmittance through standard laboratory cages on circadian metabolism and physiology in nude rats *J Am Assoc Lab Anim Sci* 52: 56-146.
39. **Diakhate M. (2014).** La souris domestique : *Mus musculus*. Synthèse de la littérature.
40. **Dimitrov R.S. et Stamatova K. (2011).** Comparative Ultrasonographic Study of the Prostate Complex and Bulbourethral Glands of the Domestic Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 35, 201-205.
41. **Easwari N., Dr. Hosea FSH, Pogach L., Giglio W., Bogden JD., et Seebode J. (1992).** Lead Acetate Does Not Impair Secretion of Sertoli Cell Function Marker Proteins in the Adult Sprague Dawley Rat, *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 47(05), 370-375.
42. **Ekeh FN., Ikele CB., et Obiezue R. (2015).** The effect of lead acetate on the testes of male albino rats. *Advances in life science and thechnology* 18.

43. **El kalamouni (2010)**. Caractérisations chimiques d'extraits de plantes : 22-38.
44. **Esteves CS., et Miyaoka R. (2015)**. Sperm physiology and assessment of spermatogenesis kinetics in vitro. ISBN:978-0-12-800872-0; PII: B978-0-12-800872-0.00034-2; Author: WATSONENGLISH; Document ID: 00034; Chapter ID: c0170. Handbook of Fertility. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800872-0.00034-2>.
45. **Esteves S., et Alviggi C. (2015)**. The Role of LH in Controlled Ovarian Stimulation. 10.1007/978-81-322-1686-5_16.
46. **Faugeron-Ruel I. et Christin-Maitre S. (2005)**. Mutations des récepteurs des gonadotrophines. Médecine Thérapeutique / médecine de la reproduction 7(2),91-99.
47. **Foster WG., Singh A., McMahon A., et Rice DC. (1998)**. Chronic lead exposure effects in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) testis. Ultrastruct Pathol(22),63-71.
48. **Gail A. (2009)**. Cornwall1 New insights into epididymal biology and function Human Reproduction Update, vol.15, No.2 pp. 213-227.
49. **Gaskill BN., Gordon CJ., Pajor EA., Lucas JR., Davis JK., et Garner JP. (2012)**. Heat or insulation: Behavioral titration of mouse preference for warmth or access to a nest PLoS One 7(3).
50. **Garnier R. (2005)**. Toxicité du plomb et de ses dérivés. *EMC - Toxicologie-Pathologie*, 2(2), 67-88. <https://doi.org/10.1016/j.emctp.2004.10.004>
51. **Geoffroy-siraudin C. (2010)**. Effets des facteurs environnementaux sur la spermatogenèse ; Déclin des paramètres du sperme chez l'homme et Impact des métaux lourds sur la spermatogenèse du rat ex-vivo ; thèse de docteur université de la méditerranée faculté de médecine de Marseille.
52. **Ghalamoun R. (2019)**. Appareil génital masculin. Université d'Oran. Département de médecine, service d'histologie-embryologie, p01-02.
53. **Ghazi AM., et Millette JR. (1964)**. Lead. In *Environmental Forensics* (p. 55-79). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012507751-4/50026-4>
54. **Goldberg E. et Zirkin B.R. (2018)**. Gametogenesis, fertilization and early development. Biomedical sciences. Vol 3, p 13-18.
55. **Gorbel F., Boujelbene M., Makni-Ayadi F., Guermazi F., Croute F., Soleilhavoup JP., El Feki A. (2002)**. Exploration des effets cytotoxiques du plomb

- sur la fonction sexuelle endocrine et exocrine chez le rat pubère mâle et femelle. Mise en évidence d'une action apoptotique Impact of lead given in drinking water on the endocrine and exocrine sexual activity in pubescent rats. Determination of an apoptotic process. *Comptes rendues biologies* 325(09), 927-940.
56. **Gordon CJ. (1993)**. Temperature regulation in laboratory rodents. Cambridge MB. Cambridge University Press.
57. **Grimberg A., et Cohen P. (2000)**. Role of insulin-like growth factors and their binding proteins in growth control and carcinogenesis. *J Cell Physiol* 183, 1-9. DOI : [10.1002/\(SICI\)1097-4652\(200004\)183:1<1::AID-JCP1>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(200004)183:1<1::AID-JCP1>3.0.CO;2-J)
58. **Guraya S. S. (1987)**. Spermatocytes. *Biology of spermatogenesis and spermatozoa in mammals* pp79-107. Doi: [10.1007/978-3-642-71638-6_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-71638-6_4).
59. **Hamedi S., Shomali T., Haghghat A. (2017)**. Rosa domascena Mill. Essential oil has protective effect against testicular damage in diabetic rats. *Journal of Dietary supplements* 15(3), 311-317.
60. **Hamilton, DW. (1972)**. The mammalian epididymis. In: Balin H, Glasser S (eds) *Reproductive biology*. Excerpta Medica, Amsterdam, pp 268–337.
61. **Haouas Z., Sallem A., Zidi I., Hichri H., Mzali I., et Mehdi M. (2014)**. Hepatotoxic Effects of Lead Acetate in Rats: Histopathological and Cytotoxic Studies. *Journal of Cytology & Histology*, 05(05). Doi :[10.4172/2157-7099.1000256](https://doi.org/10.4172/2157-7099.1000256)
62. **Hardin-Pouzet1 H., et Morosan S. (2019)**. Des souris, des rats et des hommes En quoi les modèles rongeurs restent indispensables pour la production de connaissances, *Med Sci (Paris)* ; Volume 35, Number 5, Mai 2019 ;479-482.
63. **Helppi J., Schreier D., Naumann R., Zierau O. (2015)**. Mouse reproductive Fitness is maintained up to ambient temperature of 28 oC when housed in individually ventilated cages. *Laboratory Animals* 50(4), 254-256.
64. **Henson M., et Chedrese J. (2004)**. Endocrine Disruption by Cadmium, a Common Environmental Toxicant with Paradoxical Effects on Reproduction. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 229, 383-392. <https://doi.org/10.1177/153537020422900506>
65. **Huhtaniemi I., et Toppari J. (1995)**. Endocrine, paracrine and autocrine regulation of testicular steroidogenesis. *Adv Exp Med Biol*; 377, 33-54. doi: [10.1007/978-1-4899-0952-7_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0952-7_3). PMID: 7484435.

66. **Huzaifa I., Adamali et Hermo L. (1996).** Apical and narrow cells are distinct cell types differing in their structure, distribution, and functions in the adult rat epididymis. *Journal of Andrology* 17, 208-222
67. **Johnston DS., Jelinsky SA., Bang HJ., DiCandeloro P., Wilson E., Kopf GS. Et Turner TT. (2005).** The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. *Biology of Reproduction* 73:404–413. DOI : <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.039719>, PMID : 15878890.
68. **Jones O. (2019).** The Urethra Male – Female.
69. **Khochbin S., et Ward S.W. (2018).** Chromatin structure: Composition and function during spermiogenesis. *Biomedical sciences*. Vol 3; p 347-351.
70. **Lakabi L., et Khelfane-Goucem K. (2020).** Effets des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* et *Rosmarinus officinalis* sur les poids corporel et gonadique de lapins mâles pré-pubères. *Livestock Research for Rural development* (32).
71. **Lardry J.M., et Haberkorn V. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, La Revue*, 7(61), 14–17. Doi : 10.1016/s1779-0123(07)70308-x
72. **Lebelo S. L. et Horst G.V.D. (2016).** Histological and Ultrastructural Features of the Leydig Cells and their Association with other Testicular Cells of the Vervet Monkey, *Chlorocercusaethiops*. Doi: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.5.1595.1601>.
73. **Leheup B. P., et Grignon G. (1993).** Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor I (IGF-I) in the rat epididymis. *J Androl* 14, 159-163. doi/pdf/10.1002/j.1939-4640.1993.tb00372.x
74. **Liu D., Shi Q., Liu C., Sun Q., et Zeng X. (2023).** Effects of Endocrine-Disrupting Heavy Metals on Human Health. *Toxics*, 11(4), 322. <https://doi.org/10.3390/toxics11040322>
75. **Lopez-Botella A., Velasco I., Acién M., Saez-Espinosa P., Todoli-Torro JL., Sanchez-Romero R., et Gomez-Torres MJ. (2021).** Impact of Heavy Metals on Human Male Fertility—An Overview. *Antioxidants*, 10(9), 1473. <https://doi.org/10.3390/antiox10091473>
76. **Lotti et Maggi (2014).** Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health. *Human reproduction update*, 21(1): 56-83.

77. **Mansour SW., Sangi S., Harsha S., Khaleel MA. et Ibrahim AR. (2013).** Sensibility of male rats fertility against olive oil, *Nigella sativa* oil and pomegranate extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(7), 563-8.
78. **Marchlewicz M., Michalska T., et Wiszniewska B. (2004).** Detection of lead-induced oxidative stress in the rat epididymis by chemiluminescence. *Chemosphere*, 57(10), 1553–1562.
79. **Martin MB., Voeller HJ., Gelmann EP., Lu J., Stoica EG., Hebert EJ., Reiter R., Singh B., Danielsen M., Pentecost E., et Stoica A. (2002).** Role of Cadmium in the Regulation of AR Gene Expression and Activity. *Endocrinology*, 143(1), 263-275. <https://doi.org/10.1210/endo.143.1.8581>
80. **Martinez-Garcia, F., Regadera, J., Cobo, P., Palacios, J., Paniagua, R., et Nistal, M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia* 27, 195-206.
81. **Mckay A. C., Odeluga N., Jiang J., et Sharma S. (2022).** Anatomy, Abdomen and Pelvis, Seminal Vesicle. Bookshelf ID : NBK499854.
82. **Menad, R. (2008).** Régionalisation structurale et fonctionnelle de l'épididyme d'un rongeur déserticole diurne, *Psammomys obesus* CRETZSCHMAR, 1828 [Mémoire Magister]. UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE USTHB / ALGER FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES.
83. **Meriane Dj. (2019).** Embryologie générale. La spermatogenèse, p03.
84. **Migaud M., Dardente H., Keller M., Batailler M., Meurisse M., et Pillon D. (2016).** *Contrôle neuroendocrinien de la reproduction chez les mammifères*. 29(4), 255-266.
85. **Miller AL., Flecknell PA., et Roughan J. (2012).** A comparison of abdominal and scrotal approach methods of vasectomy and the influence of analgesic treatment in laboratory mice. *Laboratory Animals* 46(4): 304-310.
86. **Misao, R., Niwa, K., Morishita, S., Fujimoto, J., Nakanishi, Y., & Tamaya, T. (1997).** Immunohistochemical detection of estrogen and progesterone receptors in spermatozoa of infertile men. *International journal of fertility and women's medicine*, 42(6), 421–425.
87. **Mitra S., Chakraborty AJ., Tareq AM., Emran TB., Nainu F., Khusro A., Idris AM., Khandaker MU., Osman H., Alhumaydhi FA., et Simal-Gandara**

- J. (2022).** Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University - Science*, 34(3), 101865. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>
88. **Mooser F. (2015).** Le système urinaire. Haute école spécialisée de suisse occidentale Fachhochschule Westschweiz.
89. **Morakinyo AO., Adeniyi OS., et Ari Kawe AP. (2008).** Effects of *Zingiber officinale* on reproductive functions in the male rat. *Journal biomedical research*, vol II: 329-334.
90. **Mustari A., Nooruzzaman M., Alam Miah M., Sujan KM., et Chowdhury EH. (2022).** Promoting action of vitamin E and black seed oil on reproductive hormones and organ histoarchitecture of Swiss albino mice. *Veterinary medicine and science* 8(2), 710-718.
91. **Nakata H., Wakayama T., Sonomura T., Honma S., Hatta T., et Iseki Sh. (2015).** Three-dimensional structure of seminiferous tubules in adult mouse. *J. Anat.* (2015) 227, pp686—694. Doi :10.1111/joa.12375.
92. **Nieschlag E., Simoni M, Weinbauer GF., et Gromoll J., (1999).** Role of FSH in male gonadal function. *Ann Endocrinol (Paris)*. 60(2) :102-6. PMID : 10456180.
93. **Nozhat F., Alae S., Behzadi K. et Chegini N.A. (2014).** Evaluation of possible toxic effects of spearmint (*Mentha spicata*) on the reproductive system, fertility and number of offspring in adult male rats. *Avicenna journal of hytomedicine*, 4 (6) : 420–429.
94. **Ouanes N. (2018).** Les voies spermatiques. Faculté de Constantine, laboratoire d'histologie – embryologie. P01.
95. **Owuraku A., Titi-Lartey et Khan Y.S. (2022).** StatPearls Publishing; Embryologie, testicule. PMID : [32491695](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32491695/). Bookshelf ID: NBK557763.
96. **Perrard MH., Grenet C., Prisant N., Geoffroy-Siraudin C., Dominique S., Guichaoua MR., Pointis G., et Durand P. (2010).** Analyse de la spermatogenèse ex vivo *Med Sci (Paris)*, 26, 305-310.
97. Pifaff J. (19). Noise as an environmental problem in the animal house. *Lab Anim* 8: 54-347.
98. **Pinel L., Mandon M. et Cyr DG. (2019).** Tissue regeneration and the epididymal stem cell. *Andrology* 7 :618–630. DOI: <https://doi.org/10.1111/andr.12635>, PMID: 31033244.

99. **Pinon-Lataillade G., Thoreux-Manlay A., Coffigny H., Masse R., et Soufir JC. (1995).** Reproductive toxicity of chronic lead exposure in male and female mice. *Human & Experimental Toxicology*.14(11):872-878.
100. **Pope D. C., et Oliver W.T. (1966).** Dimethyl sulfoxide (DMSO). *Canadian journal of comparative medicine and veterinary science*, 30(01), 3-8.
101. **Pouzet Hardin H., et Morosan S. (2019).** Des souris, des rats et des hommes : en quoi les modèles rongeurs restent indispensables pour la production de connaissances. *Med Sci(Paris)*, 35(05), 479-482. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019082>
102. **Recchia K., Jorge A.S., Pessôa L.V.d.F., Botigelli R.C., Zugaib V.C., de Souza, A.F., Martins D.d.S., Ambrósio, C.E., Bressan, F.F., et Pieri N.C.G. (2021).** Actions and Roles of FSH in Germinative Cells. *Int. J. Mol. Sci.* (22), 10110. <https://doi.org/10.3390/ijms221810110>
103. **Reid B.L et Cleland K. W. (1957).** The structure and function of the epididymis. The histology of the rate epididymis.” *AUSTRALIAN Journal of Zoology*, vol. 55 p.223-246.
104. **Robaire B. et Hinton BT. (2015).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biology of reproduction* 52, 226-236.
105. **Rodriguez C.M., Kirby, J.L., et Hinton B.T. (2001).** Regulation of gene transcription in the epididymis. *Reproduction* 122, 41-48. DOI: [10.1530/rep.0.1220041](https://doi.org/10.1530/rep.0.1220041)
106. **Roldan E.R., Murase, T., et Shi Q.X. (1994).** Exocytosis in spermatozoa in response to progesterone and zona pellucida. *Science* 266, 1578–1581.
107. **Sam P. et LaGrange A.CH. (2022).** StatPearls Publishing; Anatomy, abdomen and pelvis, penis. PMID : [29489230](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29489230/). Bookshelf ID: NBK482236.
108. **Schlessinger J. (2000).** Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 103, 211-225.
109. **Schöni-Affolter F., Dubuis-Grieder C., et Strauch E. (2021).** Cours d'embryologie en ligne à l'usage des étudiants et étudiantes en médecine Développé par les Universités de Fribourg, Lausanne et Berne (Suisse) sous l'égide du Campus Virtuel Suisse. <https://embryology.ch/fr/organogenese/systeme-genital/facteurs-genetiques-hormonaux/cellules-interstitielles-de-leydig.html>

110. **Schreyer E., Barthélémy P., Cottard F., Ould Madi-Berthélémy P., Schaff-Wendling F., Kurtz JE., et Céraline J. (2017).** Variants du récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate. *Med Sci (Paris)*, 33(8-9) :758-764.
111. **Schumacher M., Guennoun R., Mercier G., De sarnaud F., Lacor P., Be navides J., Ferzaz B, Robert F., et Baulieu E. E. (2001).** Progesterone synthesis and myelin formation in peripheral nerves. *Brain Research Reviews* 37 p 343–359.
112. **Seisen T., Rouprêt M., Faix A., et Droupy S. (2012).** La prostate : une glande au carrefour uro-génital. *Progrès en urologie* 22, S2-S6.
113. **Selmi S., Rtibi K., Grami D., Sebai H., et Marzouki L. (2018).** *Lavandula stoechas* essential oils protect against Malathion-induced reproductive disruptions in male mice. *Lipids in health and disease* 17(253).
114. **Shahid Sh. (2022).** Epididymis. Kenhub Library – Anatomy.
115. **Shum WWC., Ruan CYE., Da Silva N., et Breton S. (2011).** Establishment of cell-cell cross talk in the epididymis: control of luminal acidification. *J Androl* 32(6) : 576–586.
116. **Siffroi JP. (2001).** Le testicule. Département de génétique médicale. Hôpital d'enfants Armand Trousseau 26 avenue du Dr Arnold Netter 75012. Paris.
117. **Simoni M., Nieschlag E., Weinbauer GF., et Gromoll J. (1999).** Role of FSH in male gonadal function. *Ann Endocrinol (Paris)*, 60(2), 06-102.
118. **Skinner MK. (1991).** Cell - cell interactions in the testis. *Endocr. Rev.U*, 45-76.
119. **Skonieczna J., Madej J. P et Będziński R. (2019).** Accessory genital glands in the New Zealand White rabbit: a morphometrical and histological study. *J Vet Res* 63. P 251 – 257.
120. **Smitz J., Wolfenson C., Chappel S., et Ruman J. (2015).** Follicle-Stimulating Hormone: A Review of Form and Function in the Treatment of Infertility. *Reproductive sciences* (Thousand Oaks, Calif.). 23. 10.1177/1933719115607992.
121. **Stevens A., et Lowe J. (1997).** Histologie humaine. De Boek et larcier. Paris, Bruxelles. 397.
122. **St-Pierre N. (2002).** Régulation des jonctions cellulaires dans l'épididyme. Mémoire de Maître ès sciences en sciences expérimentales de la santé. Université du Québec (INRS). P 212.

123. **St-Pierre N., Dufresne J., Rooney A.A., et Cyr D.G. (2003).** Neonatal hypothyroidism alters the localization of gap junctional protein connexin 43 in the testis and messenger RNA levels in the epididymis of the rat. *Biology of reproduction* 68, 1232-1240. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.010504>
124. **Suarez-Quian C. A., Oke B. O., et Radhakrishnan B. (1994).** Relationship between submandibular gland epidermal growth factor and spermatogenesis in C3H mice. *Tissue Cell* 26, 285-298.
125. **Sullivan R., Légaré C., Lamontagne-Proulx J., Breton S., et Soulet D. (2019).** Revisiting structure/functions of the human epididymis. *Andrology*, 07. Issue 5: Special thematic issue on the epididymis, p565-759. Doi: 10.1111/andr.12633.
126. **Sultan, C., Gobinet, J., Terouanne, B., Paris, F., Belon, C., Jalaguier, S., et Lumbroso, S. (2002).** Récepteur des androgènes : Pathologie moléculaire. *Journal de La Société de Biologie*, 196(3), 223–240. Doi :10.1051/jbio/2002196030223
127. **Tachdjian G., Brisset S., Courtot A.M., Schoëvaërt D., et Tosca L. (Éds.). (2016).** Chapitre 8—Appareil reproducteur. In *Embryologie et Histologie Humaines* (p. 195-221). Elsevier Masson. <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-73779-4.00008-1>
128. **Tanguy J. (2017).** Organisation fonctionnelle de la souris (vertébrés-mammifères), figure 20, p12.
129. **Tchounwou PB., Yedjou CG., Patlolla AK., et Sutton DJ. (2012).** Heavy Metals Toxicity and the Environment. *EXS*, 101, 133-164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
130. **Teves M.E. et Roldan E.R.S. (2021).** Sperm bauplan and function and underlying processes of sperm formation and selection. *Physiol Rev.* 102(1):7-60. Doi : 10.1152/physrev.00009.2020.
131. **Tiwana M.S. et Leslie S.W. (2022).** StatPearls Publishing; Treasure Island. *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Testicle*. PMID: 29261881. Bookshelf ID: [NBK470201](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29261881/).
132. **Tomsig J.L., et Turner Terry T. (2013).** Growth factors and the epididymis. *Journal of Andrology* 27, 348-357. DOI : [10.2164/jandrol.05182](https://doi.org/10.2164/jandrol.05182)
133. **Toppiari J., Larsen JC., Christiansen P., Giwercman A., Grandjean P., Guillette J., Jegou B.** Male reproductive health and environmental xenoestrogens, *Environ Health PersP* (104), 741-803.

134. **Tostain J., Rossi D., et Martin PM. (2004).** Physiologie des androgènes chez l'homme adulte ; Progrès en Urologie ,14, 639-660
135. **Vernet N. (2006).** Analyse du rôle de l'acide rétinoïque et de ses récepteurs au cours de la spermatogenèse. (Thèse).
136. **Wadi S.A., et Ahmad G. (1999).** Effects of lead on the male reproductive system in mice. J Toxicol Environ Health A (56),513–21.
137. **Williams et Warwick. (1980).** Spermatozoa. Gray's anatomy book; éd 36.
138. **Wong J.W., et Khan Y.S. (2022).** Histology, Sertoli cell. StatPearls Publishing. ID : NBK560631.
139. **Yazar S. (2022).** Endocrine Disruptors and Infertility. In the toxicity of environmental pollutants (Web of Science™ Core Collection (BKCI), p. 302). IntechOpen.
140. **Young J. (2018).** Induction de la spermatogenèse : aspects moléculaires et thérapeutiques Annales d'Endocrinologie, 79(4), 198.

Annexes

Fiche technique N° 01

Trichrome de Masson (Martoja, 1967) :

A. Préparation du colorant

Hématoxyline de Groat

Préparation à froid

Solution A

Acide sulfurique.....0,8g.

Alun de fer.....1g.

Eau distillée.....50ml.

Solution B

Hématoxyline.....0,5g.

Alcool 95°C.....50ml.

Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant 1 heure et filtrer.

Conservation de 3 mois environ.

B. Mode opératoire

Déparaffiner, hydrater.

Traiter à l'acide périodique à 1% pendant 5 minutes.

Rincer à l'eau distillée pendant 5 minutes.

Traiter par le réactif de Schiff pendant 20 à 30 minutes.

Rincer à l'eau distillée jusqu'à rosissement de la coupe.

Colorer à l'Hématoxyline de Groat pendant 1 minute.

Rincer à l'eau courante pendant 5 minutes.

Mettre la lame dans le xylène.

Montage puis observation au microscope photonique.

Résultats :

Les mucopolysaccharides (MPS) neutres sont teintés en rouge pourpre, contrastés avec les noyaux des cellules qui sont colorés en bleu violacés.

Les glycoprotéines : glycocalix et membranes basales sont également positives.

Le glycogène est positif (cette positivité disparaît après action de la salive).

Les noyaux sont colorés en bleu sous l'effet de l'hématoxyline de Harris.

Le glycogène et les autres substances réagissant positivement au PAS se colorent en rouge pourpre sous l'effet de réactif de Schiff.

Fuschine-ponceau

Préparation à froid :

- FuSchine acide.....0, 1g.
- Ponceau.....0, 2g.
- Eau distillée.....300ml.

Après dissolution ajouter :

- Acide acétique.....0,6ml.

Conservation illimitée.

Vert lumière

A. Préparation du colorant

- Vert lumière.....0,1g.
- Eau distillée.....100ml.
- Acide acétique.....0,2ml.

B. Mode opératoire

Déparaffiner, hydrater.

Coloration à l'hématoxyline de Groat pendant 5 minutes.

Rinçage à l'eau courante pendant 2 à 3 minutes.

Coloration à la fuschine ponceau pendant 20 secondes.

Rinçage à l'eau acétifiée à 1% pendant quelques secondes.

Rinçage à l'acide phosphomolibdique pendant 5 minutes.

Coloration au vert lumière pendant 3 minutes.

Rinçage à l'eau acétifiée à 1% pendant quelques secondes.

Déshydratation et montage.

Résultats

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes acidophiles et les nucléoles en rose.

Les sécrétions sont soit rouges soit vertes, les muscles sont rouges et les fibres de collagène sont vertes.

Fiche technique N° 02

Bouin Hollande (fixateur) (Gabe, 1968) :

Broyer à froid dans un mortier :

- Acétate de cuivre.....2,5g.

Annexes

- Eau distillée.....100ml.

Agiter puis ajouter peu à peu :

- Acide picrique.....04g.

Le liquide se conserve indéfiniment.

Filtrer après complète dissolution et ajouter :

- Formaldéhyde 36-40% (en solution saturée).....10ml.

- Acide acétique cristallisable.....01ml.

Résumé

Ce travail nous a permis d'évaluer l'efficacité de l'huile essentielle de géranium rosat sur la fertilité masculine. Notre étude porte sur 24 souris pubères réparties en 04 lots différents ; 01 lot témoin, 03 lots traités par le diméthylsulfoxyde ; l'acétate de plomb dose unique ; 8mg/kg d'acétate de plomb suivi de l'huile essentielle de géranium rosat à la dose 400µl/kg respectivement. A la fin de l'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés, disséqués, les organes prélevés, pesés puis fixés pour effectuer une étude histologique. Les résultats obtenus, aucune différence significative n'a été rapportée dans le poids corporel et gonadique. Les résultats histologiques montrent une architecture testiculaire et épидидymaire altérées avec une diminution de la spermatogenèse chez les souris intoxiquées. En revanche, la restauration de la structure testiculaire et épидидymaire a été observée suite au traitement à l'huile essentielle de géranium rosat. Par conséquent, il semblerait que cette huile contribue à l'amélioration de la reproduction des mâles ainsi qu'à la préservation des spermatozoïdes.

Mots clés : Huile essentielle, *pelargonium graveolens*, acétate de plomb, toxicité, fertilité masculine.

Abstract

This work enabled us to assess the efficacy of geranium rose oil on male fertility. Our study involved 24 pubertal mice in 04 different batches; 01 control batches, 03 dimethylsulfoxide-treated batches; single-dose lead acetate; 8 mg/kg lead acetate followed by geranium rosat essential oil at 400 µl/kg, respectively. At the end of the experiment, the animals were sacrificed, dissected, the organs removed, weighed and then fixed for histological study. There was no substantial difference in body weight and gonadic in the results obtained. Histological results show altered testicular and epididymal architecture with decreased spermatogenesis in poisoned mice. In contrast, restoration of the testicular and epididymal structure was observed following treatment with geranium rosat essential oil. Consequently, it would appear that this oil contributes to male reproductive improvement and sperm preservation.

Keywords: Essential oil, *pelargonium graveolens*, lead acetate, toxicity, male fertility.