

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERRI, Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département biologie animale et végétale



Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en sciences Biologiques
Spécialité: Biologie et Physiologie de la reproduction (BPR)

Thème

Effet des huiles essentielles ; Menthe Poivrée et Romarin à verbénone à différentes doses (500 et 700 $\mu\text{l/kg}$) sur les structures gonadiques (testicules et épидидymes) des lapins mâles infantiles

Présenté par :

- M^{elle} AMI SAADA Assia
- M^{elle} AMELLAL Lyza

Soutenu devant le jury composé de :

M^r DEBIANE H « Maitre de conférence B UMMTO ».....Président
M^{me} LAKABI L. Ep. AHMANACHE « Maitre de conférence B UMMTO ».....Promotrice
Mme BOUAZIZ Ep. YAHIA TEN.H « Maitres de conférence B UMMTO » Co-promotrice
Mme CHOUGAR S « Maitre de conférence A UMMTO ».....Examinatrice

2018/2019

REMERCIEMENTS

On tient d'abord à remercier **DIEU** pour la volonté et le courage qu'il nous a donné pour mener à terme ce travail.

C'est avec notre enthousiasme le plus vif et le plus sincère que nous voudrions rendre mérite à tous ceux qui nous ont aidés de près ou loin dans l'élaboration de ce mémoire.

Avant tout nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à **Mme LAKABI Lynda, Ep. AHMANACHE** qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacré, votre encouragement et conseils. On vous remercie très sincèrement pour votre patience, votre abnégation.

On remercie **Mme BOUAZIZ H., Ep. YAHATENE** d'avoir accepté d'être notre co-promotrice pour son soutien et ses précieux conseils.

A **M^r DEBIANE H** qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être président de notre jury, sincères remerciements et notre immense gratitude.

On remercie **M^{me} CHOUGAR S** de nous avoir accordé du temps afin d'examiner et corriger ce travail.

A **M^{me} MEDJDOUB F** pour son accueil dans le laboratoire qui nous a permis de mener à bien notre expérimentation ainsi que son équipe.



DEDICACES

A mes parents d'amour

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour votre soutien constant mon papa **Ahcène** et ma chère maman et meilleure amie **Ouerdia**, pour votre affection, vos innombrables sacrifices et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et inculqué. Recevez ici ma profonde gratitude pour votre patience et votre confiance.*

A mes sœurs et mon frère

(LOUIZA, CYLIA, LYNDA et YOUVA)

*Merci pour tout l'aide que vous m'avez offert, pour votre soutien et de m'avoir accompagné de loin et de près, je vous remercie vivement parce que ça fait du bien d'avoir des personnes sur lesquelles on sait qu'on peut compter sur eux, « **que dieux vous protège** ».*

A mes beaux-parents (Ahcène et Assia)

Merci d'avoir cru en moi, de m'avoir encouragé et me soutenir tout le long de mon travail.

A ma moitié

*Merci **SAMY** de m'avoir encouragé et soutenu dans les moments les plus durs, d'être toujours à ma disponibilité tout le temps, pour tous sacrifices, merci d'avoir supporté mon caractère et ma folie, que dieu te protège et te garde pour moi.*

A ma binôme

*Sans oublier mon amie, celle que j'ai l'imminence plaisir de partagé ce travail, **M^{elle} AMI SAADA Assia**.*

A mes amies

(Célia, Melissa, Tinhinane, Sabrina, Katia, Lynda, Ferial, Tiziri et Sadia, Lena)

Merci pour tous les moments partagés ensemble et tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail.

LYZA



DEDICACES

Je dédie ce travail

À mes parents, mon frère, mes sœurs et tous les membres de ma famille

Pour votre soutien constant, votre affection, vos innombrables sacrifices et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et inculqué.

Recevez ici ma profonde gratitude pour votre patience et votre confiance.

À mes amis

Melissa, Célia, Sabrina, Tinhinane, Katia, Lynda, Ferial et Thiziri Soraya, avec lesquels j'ai pu partager des moments de bonheur uniques, ainsi celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail, M^{elle} Amellal Lyza.

A Tous mes collègues de la même spécialité : la promotion 2018/2019

À tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail.

Abréviations

Sp : Spermatogonie

Ap : Spermatogonie à chromatine claire

Ad : Spermatogonie à chromatine fine et sombre

CHU : Centre hospitalier universitaire

HCO₃: bicarbonates

H⁺ : Protons

N : Noyau ;

LT : Lymphocyte T ;

Mo : Monocyte

FSH : Hormone Folliculo Stimulante

LH : Luteizing Hormone

GnRH : Gonadotropine Releasing Hormone

ABP : Androgen -Binding Protein

Em : Eminence médiane

LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone

D1 : Dose 1

D2 : Dose 2

ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail

ESM : Erreur Standard liée à la Moyenne

P : Probabilité

Kg : Kilogramme

Cm : Centimètre

M : Mètre

µl/kg : Microlitre par kilogramme

T : Témoin

J : Jour

TG : Testicule Gauche

TD : Testicule Droit

PTD : Poids Testiculaire Droit

PTG : Poids Testiculaire Gauche

PEG : Poids épидidymaire gauche

PED : Poids Epididyme Droit

g/l : Gramme par litre

DHT : Dihydrotestostérone

**Listes des figures et des
planches**

Liste des figures et des planches

Figure 1: Appareil reproducteur du lapin mâle, vue dorsale (Lebas, 1996)	03
Figure 2: Représentation schématique des enveloppes testiculaires (Barone, 2001)	05
Figure 3: Situation et compartimentation de l'épididyme (Robaire et Hermo, 1988)	06
Figure 4: Détail d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007)	07
Figure 5: Cellule de Sertoli (Siffroi, 2003)	10
Figure 6: Schéma du spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009)	10
Figure 7: Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).....	12
Figure 8: Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000)	16
Figure 9: Différentes étapes de la spermatogenèse. (Marieb, 2006)	20
Figure 10: Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001)	21
Figure 11: Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009)	24
Figure 12: Axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire (Christiansen et <i>al.</i> , 2002)	24
Figure 13: Lapins âgé d'un mois issus d'un élevage cunicole privé de Djebba	29
Figure 14: Photographie de l'huile essentielle « Menthe Poivrée »	29
Figure 15: Photographie de l'huile essentielle « Romarin à verbénone »	30
Figure 16: Administration de l'huile essentielle « menthe poivrée /Romarin » par voie orale	31
Figure 17: Prise de sang	32
Figure 18: Dissection d'un lapin mâle et traitement de l'appareil génital	32
Figure 19: Différentes étapes de fixation des échantillons.	34

Liste des figures et des planches

Figure 20: Appareil de circulation du laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou..	35
Figure 21: Machine à enrobage du laboratoire d'Anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou.	35
Figure 22: Blocs de paraffine obtenue après l'inclusion	36
Figure 23: Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite.....	36
Figure 24: Batterie de coloration du Trichrome de Masson	37
Figure 25: Photographie de l'observation des lames	38
Figure 26: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins traités par la Menthe poivrée	40
Figure 27: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins traités par le Romarin à verbénone	41
Figure 28: Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins infantiles traités par l'huile essentielle <<Menthe poivrée>>.....	42
Figure 29: Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins infantiles traités par l'huile essentielle <<Romarin à verbénone>>.....	43
Figure 30: Représentation graphique de l'évolution du poids total des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1mois traités par la Menthe poivrés	44
Figure 31: Représentation graphique de l'évolution du poids total des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1mois traités par le Romarin à verbénone	45
Figure 32: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par la Menthe poivrée	46
Figure 33: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par le Romarin à verbénone	47
Figure 34: Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle la Menthe poivrée	48
Figure 35: Représentation graphique de poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traité par l'huile essentielle « Romarin à verbénone »	49

Liste des figures et des planches

- Figure 36:** Représentation graphique de poids total des épидидymes des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » 50
- Figure 37:** Représentation graphique de poids total des épидидymes des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle le «Romarin à verbénone » 51
- Figure 38:** Représentation graphique de poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » . 52
- Figure 39:** Représentation graphique de poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle « Romarin à verbénone » 53
- Planche 1 :** Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule de lapins témoins âgés de 1 mois après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40) 55
- Planche 2:** Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule de lapins âgés de 1 mois traités par la Menthe poivrée à doses respectives 500 et 700 µl/kg après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40) 56
- Planche 3 :** Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule de lapins âgés de 1 mois traités par le Romarin à verbénone à doses respectives 500 et 700 µl/kg après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40)..... 57
- Planche 4 :** Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins témoins âgés de 1 mois après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40) 58
- Planche 5:** Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins âgés de 1 mois traités pa la Menthe poivrée à doses respectives 500 et 700 µl/kg après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40) 59
- Planche 6 :** Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins âgés de 1 mois traités par le Romarin à verbénone après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40)..... 59



Sommaire

Liste de figures et tableaux

Abréviations

Introduction générale	01
------------------------------------	----

Partie bibliographique

Chapitre I : Rappels sur l'anatomie et l'histologie de l'appareil reproducteur du lapin mâle

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du lapin	03
1.1. Anatomie du testicule	04
1.1.1. Enveloppe du testicule	04
1.2. Anatomie de l'épididyme	05
2. Histologie du testicule	06
2.1. Tubes séminifères	07
2.1.1. Cellules de sertoli	07
2.1.2. Cellules germinales	09
2.1.3. Spermatogonies et spermatocytes	09
2.1.4. Spermatides et spermatozoïdes	10
2.2. Tissu interstitiel	11
3. Histologie de l'épididyme	11
3.1. Cellules principales	12
3.2. Cellules basales	12

Sommaire

3.3. Cellules en halo	13
3.4. Cellules claires	13
3.5. Cellules apicales	13
3.6. Cellules étroites	13
3.7. Lumière du canal épидидymaire	14

Chapitre II : Physiologie de l'appareil reproducteur du lapin

1. Développement des gonades et la Puberté	16
1.1. Différentiation et développement des gonades	16
1.2. Développement pondérale	17
1.3. Maturation sexuelle	17
1.3.1. Phase infantile	17
1.3.2. Phase pré pubertaire	17
1.3.3. Puberté.....	18
1.3.4. Maturité sexuelle	18
2. Fonctions physiologiques du testicule	18
2.1. Spermatogénèse.....	19
2.1.1. Spermatocytogénèse	19
2.1.2. Méiose	19
2.1.3. Spermiogénèse	20

Sommaire

2.2. Stéroïdogénèse	20
3. Physiologie et fonctions de l'épididyme	21
3.1. Maturation des spermatozoïdes	22
3.2. Acquisition de la mobilité	22
3.3. Modifications membranaires.....	23
3.4. Stockage des spermatozoïdes	23
3.5. Autre fonction de l'épididyme	23
4. Mode de sécrétion de l'épididyme	23
5. Régulation hormonale de la fonction de reproduction	24
5.1. Régulation hormonale du testicule.....	24
5.1.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique	25
5.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule.....	25
6. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction.....	25
6.1. Effet saison.....	26
6.2. Effet de l'alimentation	26
6.3. Effet de la photopériode	26
6.4. Effet de la température	27
6.5. Effet de l'humidité relative ambiante.....	27
6.6. Effet des huiles essentielles.....	27

Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Matériel biologique	28
1.1. Modèle animal.....	28
1.2. Modèle végétale (huiles essentielles)	29
1.2.1. Menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>)	29
1.2.2. Romarin à verbénone (<i>Romarinus officinalis</i>)	30
1.3. Autres Matériels	30
2. Expérimentation	30
2.1. Protocole expérimentale	30
2.2. Pesée et administration des huiles essentielles	31
2.3. Sacrifices et prélèvement	31
3. Etude histologique	33
3.1. Fixation des échantillons	33
3.2. Déshydratation et éclaircissement	34
3.3. Imprégnation	34
3.4. Inclusion	35
3.5. Confection des coupes et collage	36
3.6. Déparaffinage et réhydratation	36
3.7. Coloration topographique et Déshydratation	37
3.8. Observation des lames	37

4. Etude statistique	38
----------------------------	----

Chapitre IV: Résultats

Résultats	39
A. Résultats de l'étude statistique	39
1. Evolution du poids corporel	39
1.1. Evolution du poids corporel des lapins infantiles traités par les huiles essentielles	39
2. Evolution du poids testiculaire	41
2.1. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles.....	42
2.2. Evolution du poids testiculaire total des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles.....	44
2.3. Poids testiculaires relatifs à 100g du poids corporel des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles	46
3. Evolution du poids épидидymaire	48
3.1. Poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles.....	48
3.2. Evolution du poids total de l'épididyme des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles.....	50
3.3. Evolution des poids relatifs épидидymaire des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles.....	52
B. Résultats de l'étude microscopique	54
1. Etude histologique des structures testiculaires	54
1.1. Testicules des lapins témoins	54
1.2. Testicules des lapins traités par la Menthe poivrée	55
1.3. Testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone (<i>Romarinus officinalis</i>)...	56
2. Etude histologique épидидymaire.....	56
2.1. Epididymes des lapins témoins	56

Sommaire

2.2. Epididymes des lapins traités par la Menthe poivrée	58
2.3. Epididymes des lapins traités par le Romarin à verbénone.....	59
3. Comparaison.....	60

Chapitre V : Discussion

1. Poids corporel	61
2. Evolution des poids et volume testiculaires et épидидymaire des lapins	61
3. Histologie testiculaire et épидидymaire	62

Chapitre VI: Conclusion

Annexes

Références bibliographiques



Introduction

INTRODUCTION

Le lapin est l'espèce considérée à la fois comme animal domestique, animal de compagnie et animal modèle de recherche, possédant de nombreuses caractéristiques biologiques ; forte prolificité, rapidité de croissance, court intervalle entre générations et une bonne qualité de viande, ceci lui confère un statut particulier.

Le lapin est considéré comme un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantage dans le domaine de reproductivité permettant ainsi la mise en évidence de certains processus reproducteurs comme les changements morphologique du cycle épithélial séminifère (Ewuola et Equnike, 2010).

La fertilité masculine est marquée par une différenciation gonadique adéquate, une maturité de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire, une différenciation des cellules testiculaires néonatales, une descente des testicules et un début de la puberté couplée avec la prolifération et la maturité des cellules testiculaires (Vigueras-Villasenor et *al.*, 2013).

Le testicule est constitué principalement de tubes séminifères où se déroule la spermatogenèse et de tissu interstitiel riche en cellules de Leydig. Ces dernières synthétisent et libèrent les androgènes, principalement la testostérone qui joue un rôle dans le maintien de la spermatogenèse (Curtis et Amann, 1981 ; Eurell et Frappier, 2006).

L'épididyme, long tubule pelotonné reliant le testicule au canal déférent, joue un rôle très important dans la fertilité des mâles. A leur sortie du testicule, les spermatozoïdes sont fonctionnellement immatures et ce n'est qu'au cours de leur transit à travers l'épididyme qu'ils acquièrent progressivement la capacité à se mouvoir et à féconder un ovocyte.

Ces événements de maturation post-testiculaire sont le résultat d'une constante interaction entre les gamètes mâles et l'environnement spécifique du fluide épидидymaire, composé principalement de protéines synthétisées et sécrétées de manière hautement régionalisée par l'épithélium épидидymaire.

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-œstrogènes dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée. Ces composés sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en le perturbant (El Kalamouni, 2010).

INTRODUCTION

L'objectif de cette étude est d'améliorer la fertilité de lapins mâles de la population blanche puisque le taux de leur fertilité est plus faible en Algérie, donc on veut trouver une alternative qui est les huiles essentielles qui permettra d'aboutir à une augmentation de la fertilité donc le but de notre travail est de mettre en évidence les effets de deux huiles essentielles ; la Menthe poivrée et le Romarin verbénone sur les structures gonadiques (testicules et épидидymes) des lapins mâles infantiles, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume testiculaire et épидидymaire. De ce fait, notre travail s'organise en quatre chapitres : rappels bibliographiques, matériels et méthodes, résultats et discussions, finissant par une conclusion générale.

Chapitre I

Rappel sur l'anatomie et l'histologie
de l'appareil reproducteur du lapin
mâle

L'organisation des appareils reproducteurs males est la même chez tous les mammifères, en particulier chez les ovins, caprins et lapins. Des différences peuvent survenir dans la taille et la forme des organes (Hamon *et al.*, 1999).

1. Anatomie de l'appareil reproducteur du lapin mâle

Le terme « appareil génital male » désigne tous les organes et structures qui participent à la formation, la maturation, l'émission sous pression des différents constituants du sperme, et cela comprend ; les testicules, l'épididyme, le canal déférent, les vésicules séminales, les canaux éjaculateurs, la prostate et le pénis (figure1) (Jardin et De Fourmestraux, 1984).

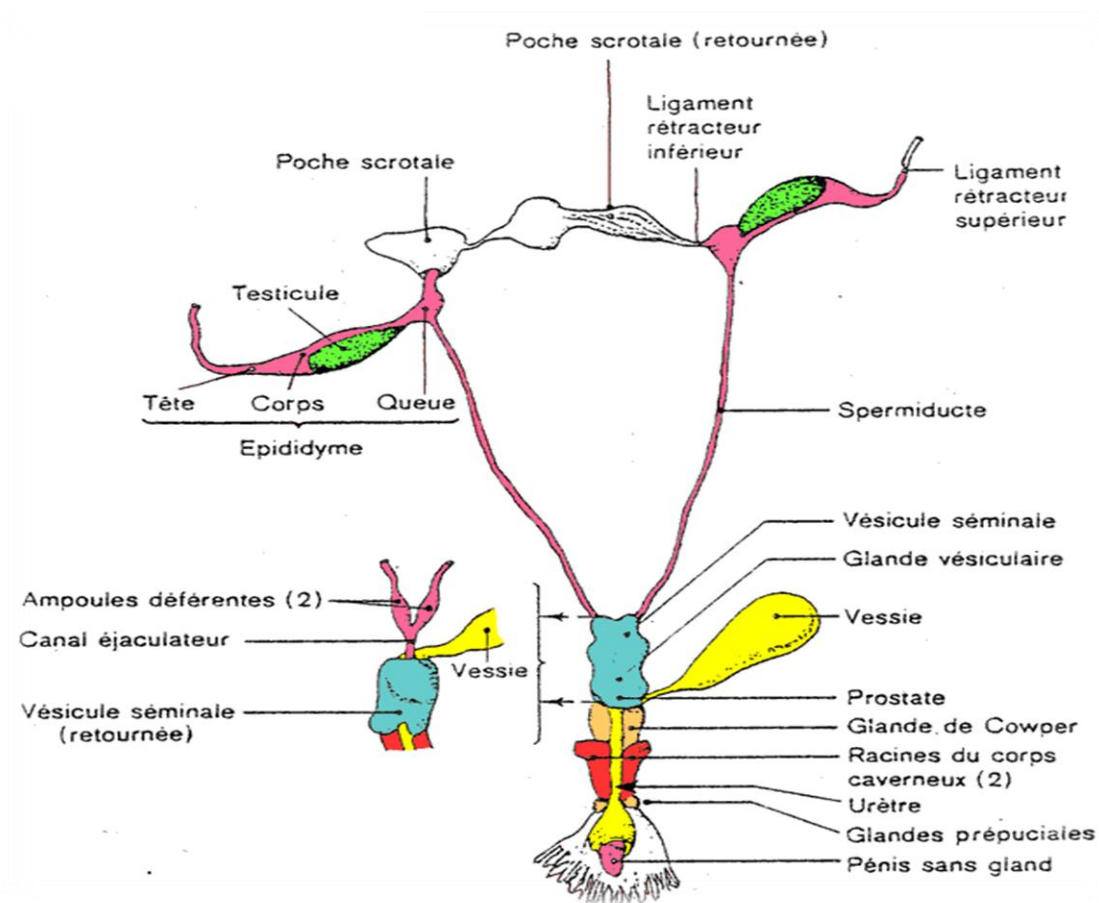


Figure 1: Appareil reproducteur du lapin mâle, vue dorsale (Lebas, 1996).

1.1. Anatomie des testicules

Le testicule est la glande génitale du mâle, qui est un organe pair, ovoïde aminci aux extrémités, logé dans deux scrota bien distinct, en position périnéale haute.

Les testicules du lapin sont alternativement exorchide lorsqu'ils montent dans la cavité abdominale en raison de l'absence de fermeture du canal inguinale, sous l'effet de la frayeur, ou énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire appelé crémaster (Boussit, 1989 ; Barone, 2001). Le testicule mesure de 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur et pèse 1 à 2g chez l'adulte (Barone, 2001).

Il peut être divisé en deux compartiments principaux : le compartiment extratubulaire comprend une partie intravasculaire en communication libre avec la zone interstitielle, où se situent les voies lymphatiques et les cellules de Leydig productrices d'androgènes et le compartiment intratubulaire consiste en une partie basale qui se trouve en communication restreinte avec le milieu interstitiel Protégé et soutenu par une enveloppe appelée scrotum (Martin et Barry, 2002).

1.1.1. Enveloppes testiculaires

L'organisation interne du testicule est semblable chez les différents mammifères étudiés. Les testicules sont délimités par une enveloppe dense appelée albuginée.

Les enveloppes du testicule protègent et soutiennent cette glande ainsi que ses premières voies d'excrétion (épididyme et début du conduit déférent) et ses vaisseaux. On peut distinguer six plans membraneux, dont deux plans superficiels (le scrotum et le dartos), un plan intermédiaire (la tunique celluleuse : fascia spermatique externe) et trois plans profonds (le crémaster, la tunique fibreuse : fascia spermatique interne et la tunique séreuse vaginale).

Le scrotum n'est bien visible que lors des périodes d'activité sexuelle, où il loge les testicules, il est alors double et forme de chaque côté un sac volumineux, très allongé et dirigé

caudalement sous le bassin, jusqu'au voisinage du prépuce, dont il reste indépendant. Sa peau très fine est presque glabre. (Barone, 2001).

Le dartos est presque absent, mais le muscle crémaster est très développé. C'est un sac musculaire complet, directement continu avec le muscle oblique interne de l'abdomen autour de l'anneau inguinal profond, qui est large, d'un diamètre suffisant pour livrer passage au testicule et à l'épididyme. Il reçoit en outre, quelques faisceaux du muscle transverse. Lors d'un stress, le muscle crémaster se contracte et entraîne la rétraction du testicule dans la cavité abdominale.

La tunique vaginale est très ample, piriforme, et le canal vaginal est long et vaste. La large communication de celui-ci avec la cavité générale du péritoine impose des précautions particulières pour la castration (figure 2).

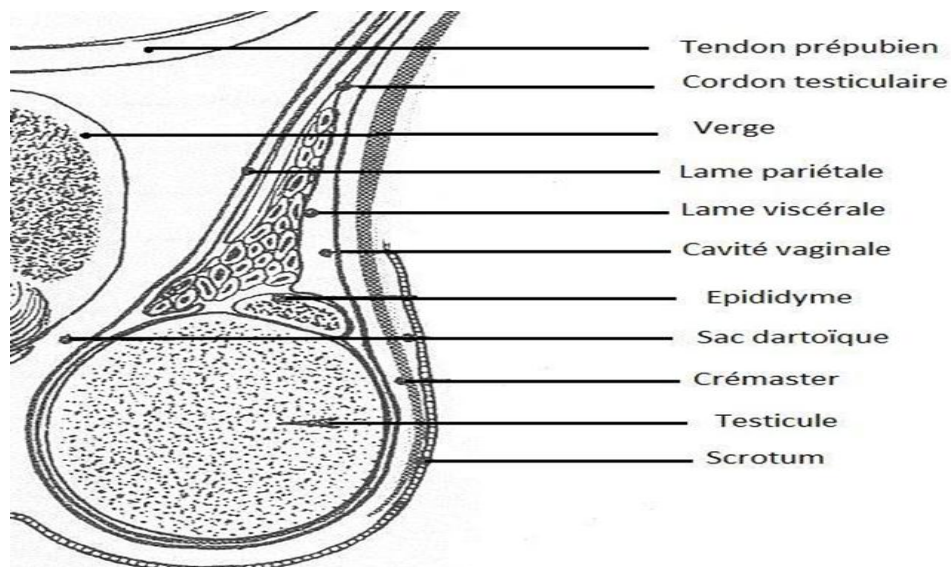


Figure 2: Représentation schématique des enveloppes testiculaires (Barone, 2001)

1.2. Anatomie de l'épididyme

L'épididyme est un tube de longueur variable selon les espèces (5 m chez l'homme, 6m chez le lapin) qui relie les canaux efférents au canal déférent. Ce tube très contourné qui forme des lobules séparés par des travées conjonctives présente trois grandes parties

anatomiques : la tête (partie proximale), le corps (partie médiane) et la queue (partie distale). Ces parties sont également subdivisées en plusieurs segments chacun d'entre eux étant délimité par des cloisons conjonctives (figure 3) (Thibault et Levasseur, 2001). Autour de ce canal, on note la présence d'une mince couche de fibres musculaires lisses, dont les contractions permettent le transit des spermatozoïdes (Bonnes et *al.*, 2005).

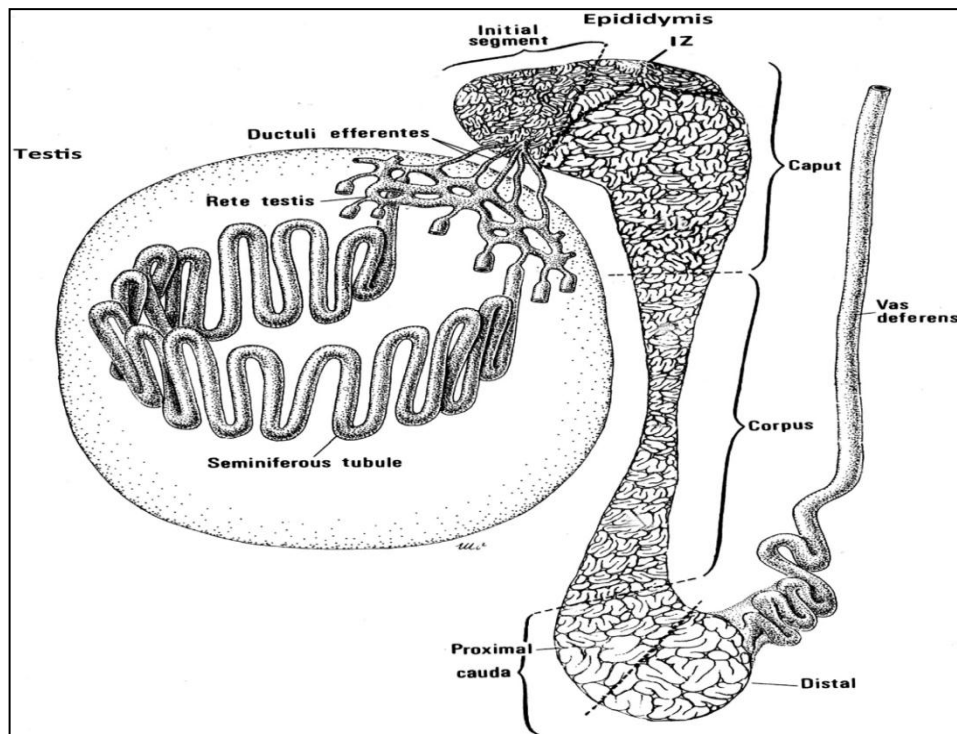


Figure 3: Situation et compartimentation de l'épididyme (Robaire et Hermo, 1988).

2. Histologie du testicule

Les testicules sont partiellement recouverts d'une membrane séreuse, appelé tunique vaginale. Sous cette tunique, se retrouve la capsule fibreuse du testicule, l'albuginée, qui s'étend vers l'intérieur et forme des cloisons qui divisent chaque testicule en une série de compartiments internes, les lobules. Chaque lobule contient de 1 à 3 tubes étroitement enroulés, les tubes séminifères, qui produisent les spermatozoïdes (Tortora et Grabowski, 1995).

Selon Thibault et Levasseur (2001), le testicule comprend deux compartiments cellulaires distincts issus de la partie interne de l'ébauche gonadique :

Un compartiment germinal composé de cellules germinales et de cellules somatiques appelées cellules de Sertoli, l'autre compartiment interstitiel composé uniquement de cellules endocrines dites les cellules de Leydig.

2.1. Tubes séminifères

Les tubes séminifères, 2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin. Ils se jettent dans les tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le « *Rete-Testis* », d'où partent une dizaine de canaux efférents qui traversent l'albuginée pour former la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993). L'épithélium séminifère est constitué de cellules de Sertoli et des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse. (Figure 4)

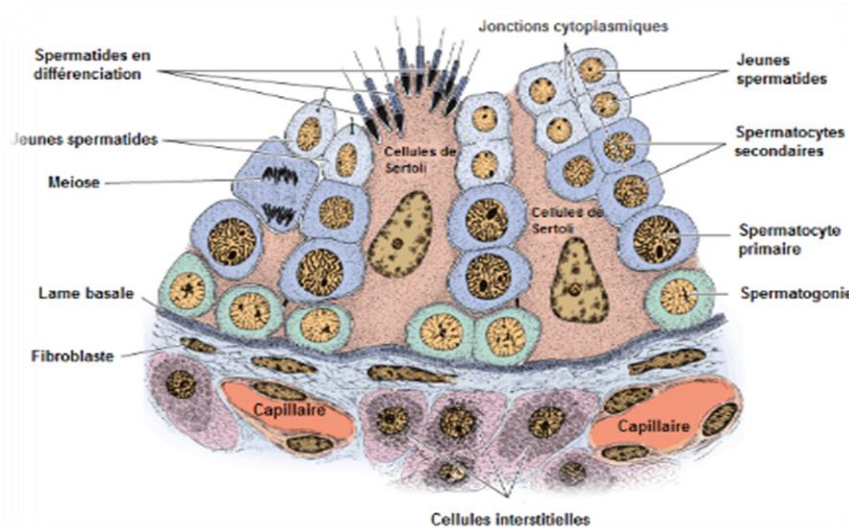


Figure 4: Détail d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneira, 2007)

2.1.1. Cellules de Sertoli

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale qui s'étend sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère. Sa forme et son volume varient au cours du cycle de l'épithélium séminal. Le corps cellulaire repose sur la lame basale de la gaine péri-tubulaire. Ses faces

latérales sont en contact étroit avec les cellules de Sertoli adjacentes et les cellules germinales aux divers stades de la spermatogenèse (figure 5) (Thibault et Levasseur, (2001).

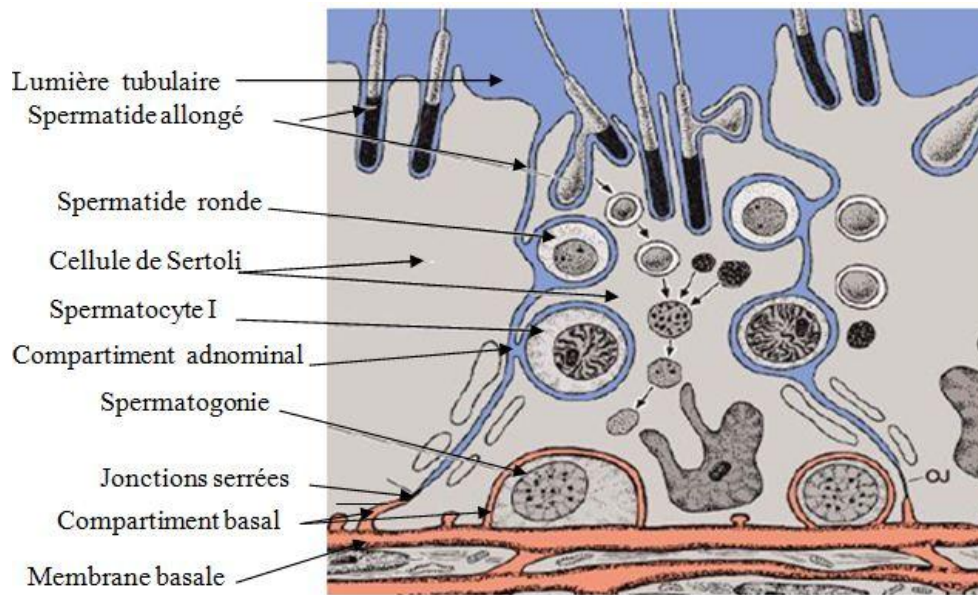


Figure 5: Cellule de Sertoli (Siffroi, 2003).

Chaque cellule de Sertoli est reliée aux cellules adjacentes via des jonctions intercellulaires particulières (des jonctions serrées), ce qui délimitent deux compartiments au sein du tubule séminifère : le compartiment basal, siège de la spermatocytogenèse, et le compartiment adluminal qui contient les spermatozytes secondaires, les spermatozytes et les spermatozoïdes.

La barrière ainsi constituée, appelée barrière hémato-testiculaire, sépare les spermatozytes et les spermatozoïdes de la circulation générale sanguine et lymphatique, en empêchant les cellules du système immunitaire de la traverser, car les spermatozytes et spermatozoïdes présentent des caractéristiques antigéniques reconnues comme étrangères par ce système.

En effet, lorsque cette barrière ne remplit pas son rôle, des anticorps anti spermatozytes peuvent se développer et être responsables d'une orchite auto-immune et donc d'une stérilité (Little et Holyoak, 1992 ; Amann, 1993).

Selon Thibault et Levasseur (2001), les potentialités des cellules de Sertoli sont multiples : Jouent un rôle protecteur contre les réactions immunitaires, contrôlent la maturation et la migration des cellules germinales, assurent la phagocytose des cellules germinales dégénérées, sont impliqués dans la synthèse stéroïdienne et protéinique, participent à des sécrétions bidirectionnelles tubulaire et interstitiel.

2.1.2. Cellules germinales

Tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère, à savoir ; Les spermatogonies (Sp), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (SP I), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (SP II), les spermatides et les spermatozoïdes (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.1.3. Spermatogonies et spermatocytes

Les spermatogonies se trouvent en contact direct avec la lame basale, et sont reconnaissables grâce à l'état de condensation de leur chromatine. On y reconnaît deux types de Spermatogonies, les spermatogonies de type A et les spermatogonies de type B.

Les spermatogonies de type A, caractérisées par un noyau condensé se subdivisent en deux sous-types qui se divisent par mitoses : celles qui possèdent un noyau sombre avec des nucléoles périphériques et des vacuoles nucléaires dites spermatogonies Ad (dark) et celles qui présentent des noyaux pâles, des nucléoles centraux et sans vacuoles nucléaires dites Ap (pale).

Les spermatogonies à chromatine fine et sombre Ad (dark), sont les cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense, les spermatogonies à chromatine claire Ap (poussiéreuses ou pâles) sont des cellules de renouvellement dont les cellules filles sont des spermatogonies B à noyau ovalaire clair à chromatine mottée et au nucléole bien visible (Sp B).

Les spermatocytes I issues de la division mitotique des spermatogonies B, sont des cellules arrondies volumineuses à noyau souvent en méiose, particulièrement au stade très long de la prophase méiotique, qui se transforment en spermatocytes II, qui sont aussi des cellules rondes, plus petites et moins nombreuses sur les coupes car elles sont d'existence fugace (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.1.4. Spermatides et spermatozoïdes

Les spermatides sont des cellules de petite taille, de 6 à 7 μm de diamètre, très nombreux et situés en position interne, ovoïde à noyau rond et clair avec un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde, ce processus est appelé la spermiogénèse (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

Les spermatozoïdes sont des cellules allongées, de 55 à 57 μm de diamètre chez le lapin, il comporte une tête et une queue unies par un col très bref (Barone 2001).

La tête est la partie essentielle, car elle renferme une masse homogène de chromatine représentant le noyau, coiffée à sa partie antérieure par l'acrosome qui est pourvu d'enzymes probablement utilisés pour la pénétration de la membrane de l'ovocyte lors de la fécondation (Barone 2001).

Le col est une pièce d'union entre la tête et la queue, il s'attache à l'extrémité postérieure du noyau par une pièce basale d'où naît le centriole proximal.

La queue du spermatozoïde du lapin mesure 45 μm , composé d'un complexe axonème typiquement mammalien ; deux microtubules centraux et neuf diplo-microtubules périphériques (Figure 6) (Barone, 2001).

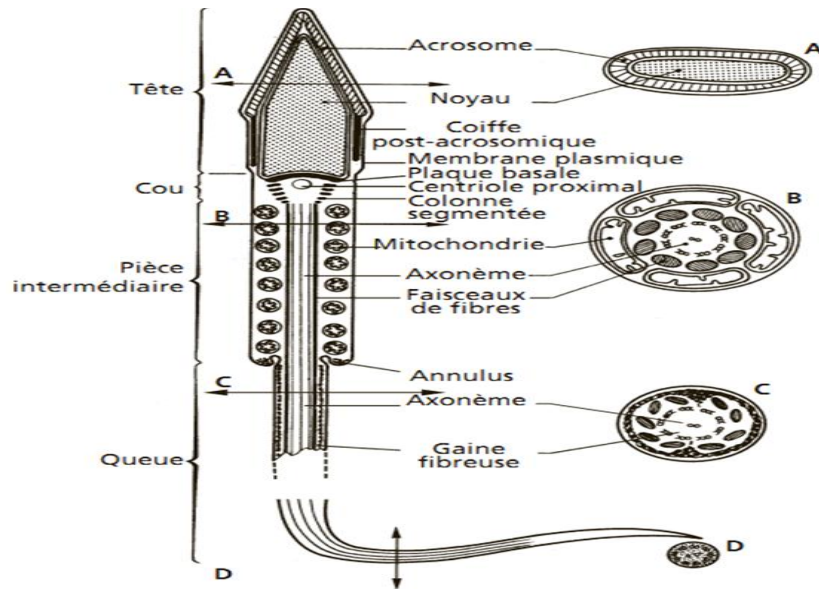


Figure 6: schéma du spermatozoïde de mammifères (Le Moigne et Foucrier, 2009)

2.2 Tissu interstitiel

Le tissu interstitiel est un tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en nerfs, dans lequel sont réparties des cellules interstitielles en amas, appelées cellules de Leydig ainsi que diverses cellules libres (fibroblastes, macrophages, lymphocytes...) (Wrobel, 1990).

Les cellules de Leydig sont des cellules polygonales qui sont soit isolées, soit groupées en amas autour des capillaires sanguins et entourées par une lame basale discontinue. Ces cellules possèdent un noyau rond avec un volumineux nucléole. Le cytoplasme riche en citernes de réticulum endoplasmique lisse et de mitochondries de taille variable et peu nombreuses garnies de crêtes généralement lamellaires. Différents types de jonction cellulaires ont été mis en évidence sur la membrane plasmique : de type gap, desmosomes rudimentaires et plus rarement des jonctions septées (Thibault et Levasseur, 2001).

3. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : le premier compartiment est constitué d'un épithélium pseudo-stratifié reposant sur un chorion de tissu conjonctif richement innervé et vascularisé, lui-même entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires

lisses ; tandis que le deuxième compartiment est constitué d'une lumière bordée par cet épithélium (Robaire et *al.*, 2006).

Six types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épидидymaire, les cellules principales, les cellules basales, en halos, claires, apicales et étroites (Figure 7), qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Robaire et *al.*, 2006).

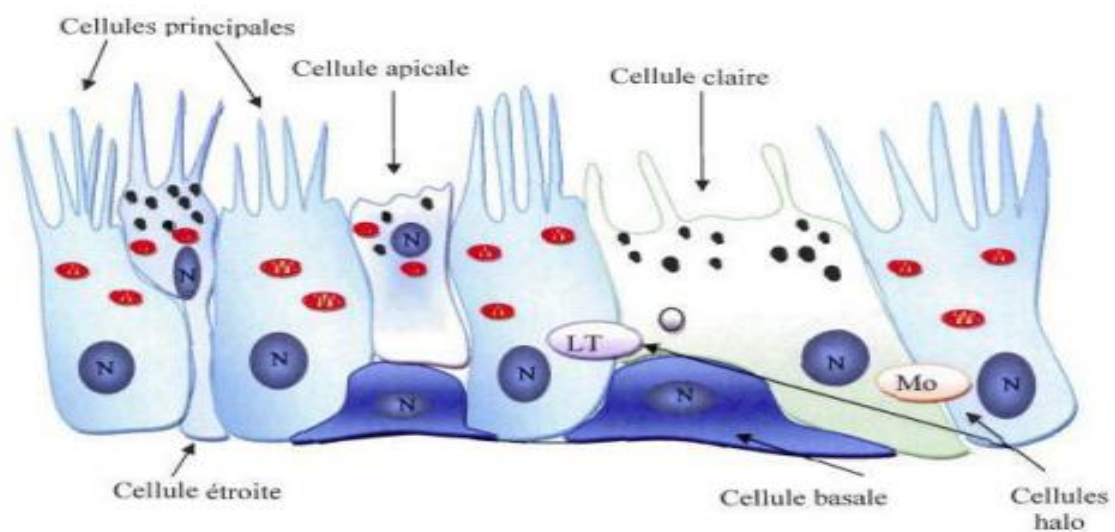


Figure 7: Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).

N : noyau ; LT : lymphocyte T ; Mo : monocyte

3.1. Les cellules principales

Les cellules principales, les plus nombreuses, constituent 65-80 % de la population de cellules épithéliales épидидymaires totale. Ces larges cellules prismatiques présentent des caractéristiques structurales variables d'un segment à l'autre (Herme et Robaire, 2002). Leur

hauteur est plus élevée dans la tête que dans la queue de l'épididyme, tout comme la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôle apical (Ramos et Dym, 1977 ; Jones et *al.*, 1979).

Ces cellules, reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes, sont très actives à différents niveaux : transport et sécrétion de petites molécules organiques ; synthèse et sécrétion de protéines ; et enfin, réabsorption du fluide épидидymaire (Robaire et Hermo, 1988 ; Robaire et Viger, 1995 ; Cooper, 1998).

3.2. Cellules basales

Les cellules basales représentent 10-20 % de la population cellulaire épидидymaire totale. Ces petites cellules allongées, localisées tout le long du canal épидидymaire, reposent sur la membrane basale formant ainsi un réseau en dessous des cellules principales. Ces cellules à noyau irrégulier et cytoplasme pauvre en organites (Soranzo et *al.*, 1982) sont jointes aux cellules principales avoisinantes par des desmosomes. Selon Veri et *al.*, (1993) et Cooper (1998), il semblerait qu'elles jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libres ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à ce qu'on appelle, la barrière hémato-épидидymaire (Seiler et *al.*, 2000).

3.3. Cellules en halo

Les cellules en halos sont identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natal, elles sont disséminées tout le long du canal épидидymaire. Ces cellules en halo contribuent à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Hoffer et *al.*, 1973).

3.4. Cellules claires

Ces grandes cellules prismatiques sont présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo et *al.*, 1982). Elles sont caractérisées par la présence de nombreuses vésicules claires en région apicale, de lysosomes en région médiane et de nombreuses inclusions lipidiques dans leur région basale (Robaire et Hermo, 1988). D'après

Olson & Hinton (1985), elles joueraient un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire.

3.5. Cellules apicales

Qualifiées ainsi en raison de la localisation de leur noyau dans le tiers apical des cellules. Les cellules apicales présentent un cytoplasme dense, très riche en mitochondries et contenant des lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H⁺ et la réabsorption des bicarbonates (HCO₃⁻) et seraient ainsi responsables de l'acidification du fluide épидидymaire (Martinez-Garcia et al., 1995). Il a également été montré qu'elles sont capables d'endocyter des substances contenues dans la lumière (Adamali et al., 1999; Hermo et Robaire, 2002). Selon leur localisation épидидymaire, leur aspect et leur nom varient et les cellules apicales sont alors appelées cellules étroites ou « narrow cells ».

3.6. Cellules étroites

Les cellules étroites se retrouvent dans le segment initial et intermédiaire de l'épididyme, pourvus d'un noyau allongé en position apicale. Ces cellules se prolongent entre les cellules principales pour atteindre la région basale de l'épithélium épидидymaire, ce qu'ils leur confèrent un aspect en calice. Leur cytoplasme est riche en vacuole, vésicules endocytique, lysosome et mitochondrie et leur membrane apicale émet des villosité courte, épaisse et irrégulière (Hermo et al., 2000).

3.7. Lumière du canal épидидymaire

La lumière du conduit épидидymaire est assez régulièrement circulaire sur les coupes histologiques (Barone, 2001). Les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épидидymaire. Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules.

Chapitre 1 Rappels sur l'anatomie et l'histologie de l'appareil reproducteur du lapin mâle

En raison d'une forte régionalisation tissulaire et cellulaire des activités de synthèse, de sécrétion et réabsorption des cellules épithéliales, la composition du fluide épидидymaire varie tout le long du canal (Adamali et *al.*, 1999 ; Hermo et Robaire, 2002).

Chapitre II

Physiologie de l'appareil reproducteur
du lapin mâle

1. Développement des gonades et la Puberté

1.1. Différentiation et développement des gonades

D'après Alvarino (2000), la différenciation des organes reproducteurs mâles du lapin a lieu pendant la vie fœtale (Figure 8). Cependant la formation de l'albuginée se produit entre les 14^{ème} et 15^{ème} jours de gestation, quelques jours plus tard les tubes séminifères apparaissent entourés de cellules germinales, au 19^{ème} jour de gestation il y a la production des androgènes.

Les canaux de Müller régressent à partir de 20^{ème} jour, et la formation de la prostate commence le 21^{ème} jour et au 24^{ème} jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis. Entre 21^{ème} et 30^{ème} jours de gestation, la testostérone est présente au niveau des testicules de fœtus mâle (Skinner, 1967).

A la naissance, les testicules se trouvent en position abdominale et la descente de ces derniers dans les sacs scrotaux coïncide avec la puberté (Alvarino, 1993).

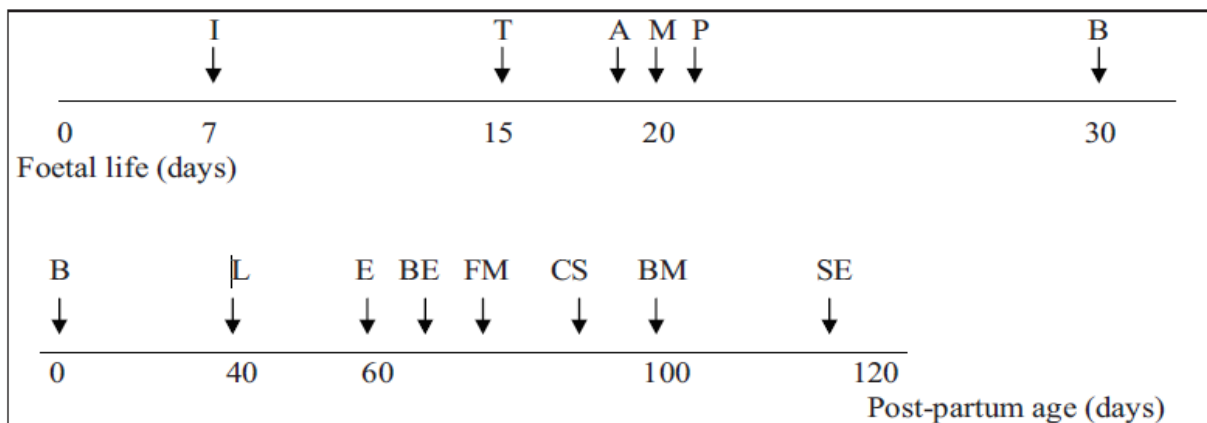


Figure 8: Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000).

I : Implantation; **L** : Maturation des cellules de Leydig; **T** : Différenciation des testicules; **A** : Sécrétion d'androgènes; **M** : Dégénérescence des canaux de Müller; **P** : Croissance de la prostate; **N** : Naissance; **S** : Apparition du premier spermatozoïde; **DS** : Début de la spermatogénèse; **CS** : Premier comportement sexuel; **CDS** : Développement complet de la spermatogénèse; **RS** : Premiers rapports sexuels; **SE** : Apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme.

1.2. Développement pondérale

Le développement du poids corporel jusqu'à l'âge de 5 mois ne présente pas de dimorphisme sexuel. En effet le poids des lapins mâles et femelles est identique. D'après Martinet (1973), la croissance testiculaire a une allure sigmoïdale ; d'abord plus lente que celle du corps puis elle subit une accélération vers 45 jours d'âge. Selon Alvarino (2000), la taille des testicules augmente jusqu'à l'âge de huit mois, et durant cette période les vésicules séminales croissent rapidement. Le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5^{ème} semaine d'âge. La spermatogenèse est établie vers l'âge de 70 jours, et au 84^{ème} jour tous les tubes séminifères sont actifs.

1.3. Maturation sexuelle

La maturation sexuelle chez le lapin s'effectue en 4 phases : phase infantile, phase pré pubertaire, puberté et maturité sexuelle

1.3.1. Phase infantile

La phase infantile c'est la période qui s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours. Elle se caractérise par une croissance lente des testicules et de la vésicule séminale, et des faibles concentrations plasmatiques de FSH et de testostérone (Boussit, 1989).

1.3.2. Phase pré pubertaire

La phase pré pubère commence vers l'âge de 40 jours et se caractérise par une augmentation importante des niveaux de testostérone (+921%) et de FSH (+384%) de 40 et 60 jours. Durant cette phase, la croissance des testicules s'accélère et les cellules de leydig responsable de la spermatogenèse commence à fonctionner (Boussit, 1989), entraînant les premières divisions goniale vers 45 jours. La croissance des vésicules séminale et les premières différenciations des spermatogonies s'accélère vers 70 jours, quand les niveaux d'androgène circulants sont les plus élevés et les premiers spermatozoïdes apparaissent vers l'âge de 110 jours (Skinner, 1967).

1.3.3. Puberté

Il existe des données contradictoires quant à la définition de la puberté chez le lapin. Mann et Parsons (1950), définissent la puberté comme le stade à partir duquel, la fonction endocrine devient évidente et les glandes annexes commencent la sécrétion du fructose et d'acide citrique. Dans ce cas, la puberté serait alors atteinte dès l'âge de 42 jours, bien avant l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat du mâle (Skinner, 1967).

La puberté serait définie d'après Boussit (1989), par le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes aptes à féconder un ovule, qui est atteinte vers quatre à cinq mois peu après la descente des testicules dans le scrotum.

1.3.4. Maturité sexuelle

La maturité sexuelle est définie comme le moment où la production quotidienne de spermatozoïdes n'augmente plus. En effet, les premières manifestations de comportement sexuel apparaissent vers 60-70 jours : le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement. Les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours mais, dans ces premiers éjaculats, la viabilité des spermatozoïdes est faible à nulle. Il faut donc attendre 135 à 140 jours pour les premiers accouplements féconds.

De même que chez les autres mammifères, les mécanismes régulant la fonction de la reproduction chez les lapins sont complexes et sous-tendent l'inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui de système neuroendocrine qui comprend l'axe hypothalamohypophysaires qui est l'interrupteur général du fonctionnement testiculaire (Joly et TheauClément, 2000).

2. Fonctions physiologiques du testicule

Les testicules sont des organes doués d'une double fonction, la fonction gamétogénèse ou spermatogénèse, assimilable à une véritable fonction exocrine, qui est assurée par les tubes

séminifères et la fonction endocrine constitue par la production des hormones stéroïdes qui est assurée par les cellules de Leydig (Dadoune et Demoulin, 2001).

2.1. Spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus de production des gamètes mâles matures, à partir des cellules souches au niveau du testicule. Chez le lapin, elle débute entre 40 et 50 jours d'âge, avec apparition des premiers spermatozoïdes peu viables dans les éjaculats à 110 jours d'âge (Lebas, 2009). La durée de la spermatogénèse ou temps nécessaire pour une spermatogonie d'évoluer vers le stade final du spermatozoïde est de 38 à 41 jours (Martinet, 1973).

Selon Amann (1993), la spermatogénèse se déroule au sein des tubules séminifères des testicules. Trois grandes étapes sont nécessaires pour passer d'une spermatogonie à un spermatozoïde : la spermatocytogénèse, la méiose et la spermiogénèse.

2.1.1. Spermatocytogénèse

La spermatocytogénèse est caractérisée par une phase de multiplication (par mitoses) et de différenciation des spermatogonies, ce qui aboutit à la formation des spermatocytes primaire, possédant encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristique de l'espèce (lapin : 44 chromosomes) observée vers 60 jours d'âge chez le lapin (Martinet, 1973). La phase de multiplication cellulaire assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (Little et Holyoak, 1992 ; Barone, 2001).

2.1.2. Méiose

La méiose est caractérisée par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires, induisant la production des spermatocytes secondaire ensuite, les deux divisions successives de la méiose produisent les spermatides haploïdes (Amann, 1993).

2.1.3. Spermiogénèse

Les spermatides subissent une série remarquable de modifications qui aboutissent (sans autre division) à la libération des spermatozoïdes mûrs (figure 9) (Barone, 2001).

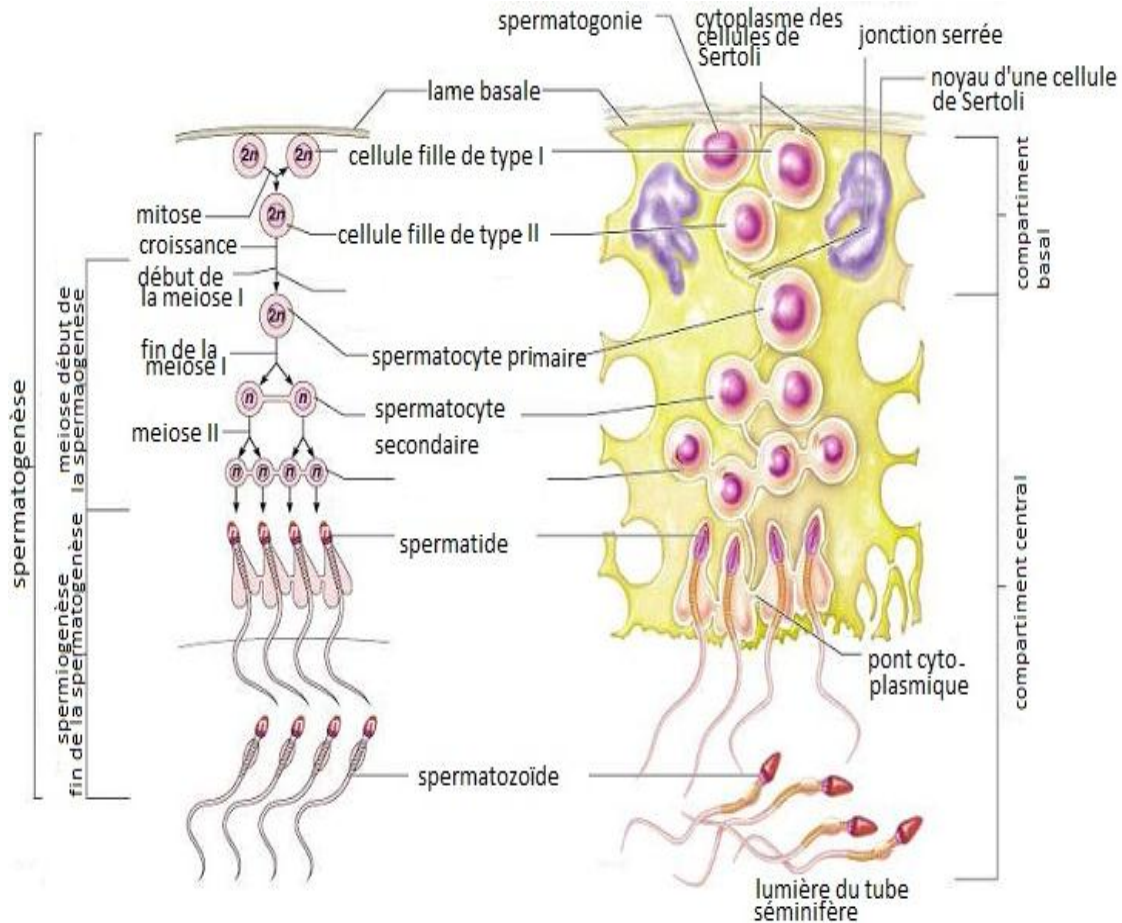


Figure 9 : Différentes étapes de la spermatogénèse. (Marieb, 2006).

2.2. Stéroïdogénèse

La fonction endocrine du testicule est assurée par des petits amas d'endocrinocytes interstitiel (cellules de Leydig) qui sécrètent les hormones androgènes en particulier la testostérone, nécessaires à la spermatogénèse, ainsi qu'au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génitale mâle. Cette sécrétion contrôle en outre les caractères sexuels secondaires et l'activité sexuelle (figure 10) (Barone, 2001).

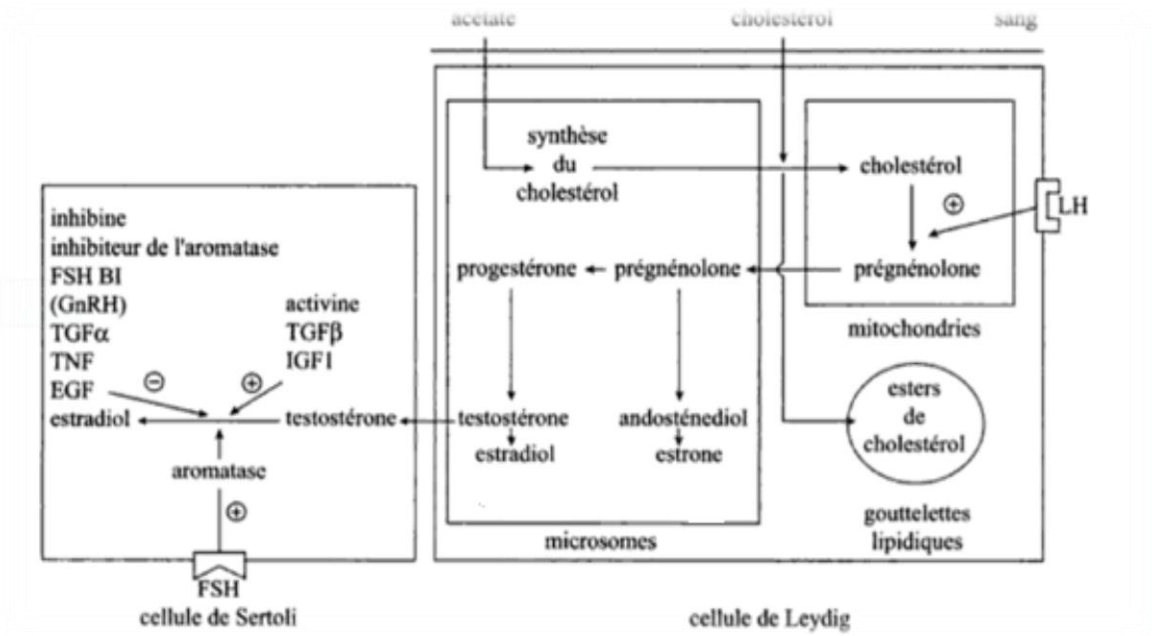


Figure 10: Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).

En effet, la testostérone agit directement sur la différenciation des canaux de Wolf, le développement et le maintien des caractères sexuels secondaires, après son métabolisme en dihydrotestostérone par l'enzyme 5- α réductase dans les tissus périphériques (prostate, épидидyme, vésicule séminale). Par ailleurs la testostérone a une action anabolisante au niveau de tous les tissus, en particulier musculaire et osseux, et intervient dans le dimorphisme sexuel cérébral et la physiologie du comportement sexuel.

En association avec la FSH, la testostérone est essentielle pour l'initiation et le maintien de la spermatogénèse. Elle agit sur les cellules de Sertoli, et sur les cellules péri tubulaires, via des récepteurs spécifiques, stimulant indirectement la spermiogénèse par une voie paracrine (Wosnitzer et Paduch, 2013).

3. Physiologie et fonctions de l'épididyme

L'épididyme doit remplir plusieurs fonctions afin d'assurer la maturation des spermatozoïdes (Badran et Hermo, 2002). Parmi ses fonctions on distingue : la maturation des

spermatozoïdes, acquisition de la motilité, modification de la membrane des spermatozoïdes, protection et stockage des spermatozoïdes.

3.1. Maturation des spermatozoïdes

La progression des spermatozoïdes, immobiles et immature, dans l'épididyme est due à la fois à la pression du fluide entrant produit en permanence par le testicule, et aux mouvements péristaltiques des fibres musculaires lisses qui entourent l'épithélium épidydimaire. C'est en traversant les différents segments de l'épididyme et en s'exposant aux changements de la composition du fluide variable tout au long de tubule, grâce aux activités de sécrétion et d'endocytose de l'épithélium spécifiques à chaque segment, que les spermatozoïdes acquièrent leur pouvoir fécondant et leur motilité (Bedford, 1979 ; Saez et *al.*, 2011).

D'après Boussit (1989), le revêtement glycoprotéique des spermatozoïdes est modifié au cours de leur transfert dans l'épididyme par la perte de la gouttelette cytoplasmique, mais également par l'adhésion de protéines provenant des sécrétions de l'épithélium séminifère.

3.2. Acquisition de la mobilité

Chez la plupart des mammifères, les spermatozoïdes commencent à osciller dans la tête de l'épididyme mais la mobilité progressive est acquise dans la région caudale, dans le corps apparaissent des mouvements inefficaces. Après avoir traversé les canaux efférents, les spermatozoïdes sont pris en charge par l'épididyme qui assure leurs transits par les contractions des fibres musculaires lisses qui l'entourent afin de les acheminer vers la queue de l'épididyme (Robaire et Hermo, 1988).

A la sortie du testicule et au niveau de la tête antérieure, les spermatozoïdes sont immobiles. Au niveau des différentes parties de l'épididyme, le déplacement des spermatozoïdes est pris en charge par des mouvements transitoires spécifiques de chacune des parties de l'organe épidydimaire. Le contrôle de cette mobilité dépend des facteurs exogènes et endogènes (Thibault et Levasseur, 2001).

3.3. Modifications membranaires

Les modifications membranaires des spermatozoïdes sont induites par modifications des protéines de surface, avec apparition des protéines de maturation et l'évolution des domaines protéïniques (Thibault et Levasseur, 2001). Les protéines peuvent être éliminées, incorporées ou associées à la membrane, relocalisées ou modifiées (Dacheux *et al.*, 2003, 2009). Parmi ces modifications posttraductionnelles, générées par des enzymes et des molécules du fluide, se trouvent entre autres la glycosylation de certain proteines membranaire (Tulsiani *et al.*, 1993), ainsi que leur phosphorylation par des proteines kinases (Nath et Majumder, 1999), et l'endocytose des glycoproteines sécrétées par les cellules de l'épididyme (Liu *et al.*, 2000).

3.4. Stockage des spermatozoïdes

Dans l'intervalle des éjaculations, les spermatozoïdes sont stockés dans la queue de l'épididyme (Barone, 2001) où ils baignent dans un liquide qui permettra de les conserver et qui servira de réservoir durant l'attente de la prochaine éjaculation (Hinton et Palladino, 1995). Chez le lapin le taux de fécondation est seulement 1 à 2 % avec des spermatozoïdes prélevés dans la tête de l'épididyme, alors qu'ils atteignent 95 à 98% avec ceux prélevés dans la queue de l'organe (Barone, 2001).

3.5. Autre fonction de l'épididyme

La protection des spermatozoïdes matures, qui sont les cibles de multiples agressions, se fait grâce à la barrière hémato-épididymaire qui les protège contre les attaques du système immunitaire (Pollanen et Cooper, 1994).

4. Mode de sécrétion de l'épididyme

La sécrétion des protéines est réalisée essentiellement par les cellules principales et est accomplie selon deux modes de sécrétions différents : le mode mérocrine et le mode apocrine.

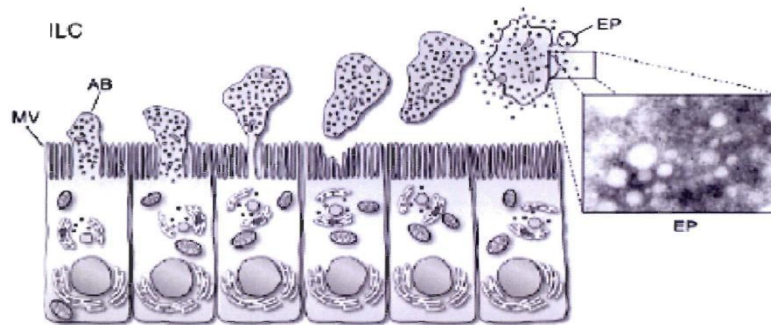


Figure 11: Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009)

5. Régulation hormonale de la fonction de reproduction

La fonction sexuelle du lapin mâle fait l'objet d'une régulation de type neuroendocrinienne. Les hormones intervenant dans cette régulation ont deux origines : le complexe hypothalamo-hypophysaire et les testicules (Figure 12) (Bonnes *et al.*, 2005).

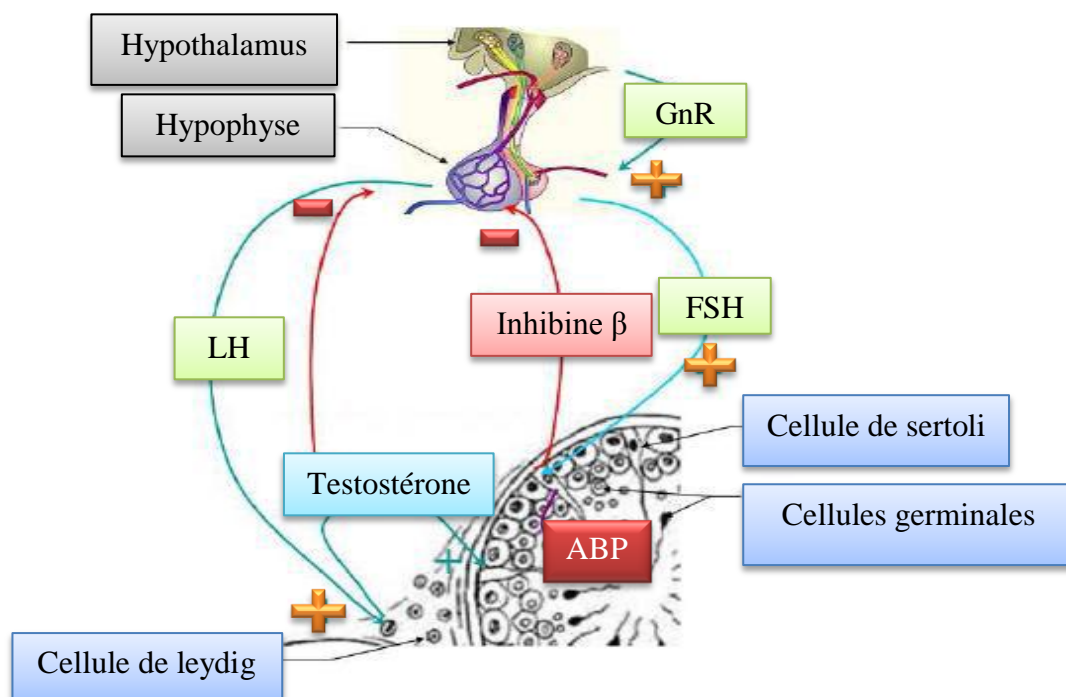


Figure 12: Axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire (Christiansen *et al.*, 2002).

5.1. Régulation hormonale du testicule

Le développement et le fonctionnement du testicule sont sous le contrôle d'hormones hypophysaires, elles-mêmes contrôlées par une hormone hypothalamique (Nguyen et Bourouina, 2008).

5.1.1. Axe hypothalamo-hypophysio-gonadique

Le fonctionnement gonadique est sous la dépendance d'une gonadolibérine la GnRH (gonadotropin releasing hormone), qui est un décapeptide sécrété par des neurones embryologiquement issus de la placode olfactive, dont les corps cellulaires sont situés dans l'hypothalamus médio basal (noyau arqué) et antérieurs (noyaux pré et supra optiques) et dont les axones se terminent, pour la plupart, dans l'éminence médiane (EM) (Thibault et Levasseur, 2001).

La GnRH, sécrétée de manière pulsatile par les neurones hypothalamiques, stimule la sécrétion hypophysaire, elle-même pulsatile, de deux autres hormones FSH et LH. Les gonadotrophines (FSH et LH) circulent dans le sang pour atteindre le testicule, chaque hormone agit sur un type bien précis de cellules ; la FSH agit sur les cellules de Sertoli en se fixant sur ses récepteurs pour activer la production de facteurs Sertoliens tel que l'ABP, la transferrine et divers agents nécessaires au bon déroulement de la spermatogenèse. Tandis que la LH agit sur les cellules de Leydig pour la sécrétion de la testostérone (androgène principale sécrétés continuellement à partir de la puberté) qui favorise la spermatogenèse (Widmaier *et al.*, 2009).

5.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule

Le contrôle exercé par l'axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire est modulé par un rétrocontrôle assuré par les hormones testiculaires de nature stéroïdienne (testostérone) et protéique (inhibine) (Roser, 2008). La testostérone circulante qui induit la puberté et la virilisation, exerce un rétrocontrôle inhibiteur de la sécrétion de LHRH et LH et à moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus (Bridges *et al.*, 1993 ; Dohle *et al.*, 2003).

6. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction

Chez les mammifères supérieurs dont l'homme, l'environnement n'a quasi pas d'effet sur la reproduction contrairement aux autres mammifères où la reproduction est très influencée par les paramètres de l'environnement, tels que la lumière (intensité et photopériode), la température, l'hygrométrie et la saison. Ce sont essentiellement la durée de

jour et la disponibilité alimentaire qui détermine la période de reproduction (Thibault et Levasseur, 2001).

6.1. Effet saison

Le comportement sexuel du lapin mâle est sous l'influence de nombreux facteurs ambiants ce qui contribue à donner au facteur saisons une importance capitale en reproduction chez cette espèce animale.(Sabbagh, 1983). En effet, le volume des éjaculats et leur concentration en spermatozoïdes sont maximum en mars (Frolich, 1948) et minimum en juillet (Brambell, 1944). Ces variations s'accompagnent d'une réduction de la taille des testicules de mars à juillet, de l'ordre de 60 % du poids maximum et d'un accroissement testiculaire dès août. Il s'en suit une "stérilité estivale associée à une augmentation du PH du sperme, une baisse de la motilité des spermatozoïdes, une diminution de la concentration en spermatozoïdes, une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux et une baisse de la libido (Hiroe et Tomizuka, 1965).

6.2. Effet de l'alimentation

L'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectées lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculât, de la concentration en spermatozoïdes ainsi qu'un abaissement des performances de reproduction des femelles inséminées (Joly et Theau-Clément, 2000).

6.3. Effet de la photopériode

Selon Lebas *et al.*,(1990), des mâles exposés à un éclairage artificiel pendant 16 heures sur 24 heures, ont significativement plus de spermatozoïdes dans les gonades que dans ceux exposés à la lumière pendant 8 heures . Pour Walter *et al.*, (1968), il est possible de provoquer une diminution de la concentration en spermatozoïdes du sperme et une baisse du poids des testicules grâce à une photopériode de 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité.

6.4. Effet de la température

Chou *et al.* (1974), ont constaté que les lapins exposés à un stress thermique présentent d'une part une diminution du poids des organes génitaux, et une diminution de sécrétion des hormones sexuelles d'autre part. Une température élevée affecte la motilité des spermatozoïdes même après des périodes d'exposition courtes de huit heures à 36°C, ou des périodes moyennes de 14 jours à 30 °C. De plus les températures supérieures à 30°C réduisent la libido des mâles (Lebas *et al.*, 1990).

6.5. Effet de l'humidité relative ambiante

L'humidité relative ou l'hygrométrie est le rapport entre le poids réel de la vapeur d'eau contenu dans l'air et le poids d'eau maximum qu'il pourrait contenir s'il était saturé à la température considérée. Dans les normes recommandées, l'humidité relative doit être maintenue entre 55 et 80 % (idéalement entre 60 et 70 %).

Dans les contrées chaudes tropicales ou subtropicales la température et l'humidité ambiante élevées sont des facteurs bien connus comme altérant la capacité reproductrice des lapins pendant les mois chauds (Xu *et al.*, 1992 ; Finzi *et al.*, 1994). En effet des lapins exposés à une température de 32°C et une humidité relative de 70%, présentent une diminution significative de la motilité linéaire des spermatozoïdes (Virag *et al.*, 1992 ; El masry *et al.*, 1994).

6.6. Effet des huiles essentielles

Certaines huiles essentielles ne sont pas sans danger pendant la grossesse et d'autres peuvent porter atteinte à la fertilité de leur utilisateur. La fonction de reproduction peut être touchée à plusieurs niveaux : Bloquer le fonctionnement sexuel dû à une action hormon-like, perturber le développement du fœtus par les effets tératogènes, plusieurs molécules aromatiques s'apparentent à des analogues de molécules oestrogéniques dont l'action est confirmée en pathologie endocrine. Des chercheurs en ont mis en évidence que les huiles essentielles peuvent avoir selon la plante utilisée pour leur confection une toxicité plus ou moins importante chez les lapins et rongeurs de compagnie (Kammerer *et al.*, 2012).



Chapitre III

Matériels et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique (testicule et épидидyme) et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche. L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet de certains huiles essentielles tels que: la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles à différentes doses, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids gonadiques. De ce fait, ce travail s'articule autour de deux parties ; l'étude de l'effet des deux huiles essentielles (Menthe poivrée et Romarin à verbénone) sur la structure gonadique, et effet dose d'autre part.

1. Matériel biologique

Le matériel utilisé afin de réaliser cette étude :

Matériel animal : représente des lapins de la population blanche améliorée .

Matériel végétal : représente des huiles essentielles ; la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone.

1.1. Modèle animal

La présente étude est portée sur 34 lapins mâles de la population blanche (améliorée) (Figure 13) âgés de 1 mois, provenant d'un élevage cunicole privé situé dans la région de Djebba, wilaya de Tizi ousou. C'est une population locale qualifiée de "population blanche" par Zerrouki et *al.*, (2007) à cause de la prédominance totale du phénotype blanc néozélandais et californien, par rapport aux croisés (noir, gris, fauve et croisé). Selon Grasse (1949) et Lebas *et al.*, (1984), la position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est :

- Règne : Animal
- Embranchement : Vertébrés
- Classe : mammifères
- Super Ordre : Glires
- Ordre : Lagomorphes
- Famille : Léporides (lièvre et lapin)
- Sous-famille : Leporinae
- Genre : *Oryctolagus*
- Espèce : *Oryctolagus cuniculus*

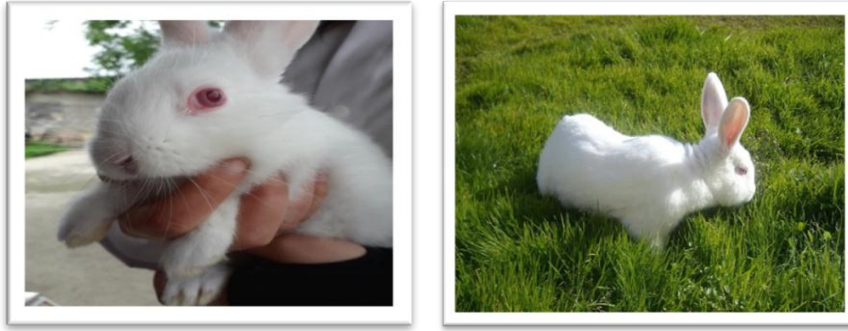


Figure 13: Lapin âgé d'un mois issu d'un élevage cunicole privé de Djebba

1.2. Modèle végétale (huiles essentielles)

Selon la pharmacopée européenne (2010), le terme « huile essentielle » est définie comme un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est la plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

1.2.1. Menthe poivrée (*Mentha piperita*)

La menthe poivrée est l'huile essentielle la plus polyvalente (Figure 14), obtenue par distillation complète des feuilles de menthe (la méthode la plus utilisée est l'hydrodistillation). Elle possède une couleur jaune clair rafraîchissante dont la très forte odeur est due au menthol. Cette huiles est constituée principalement de menthol (monoterpénol), entre (35 à 70 %), et la menthone (Cétone), entre (20 à 30 %), ainsi que de composés minoritaires tels que la menthofuranne, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les esters (Acétate de menthyle), les oxydes (cinéole) (Abadlia et Chebbour, 2014).



Figure 14: Photographie de l'huile essentielle «Menthe Poivrée».

1.2.2. Romarin à verbénone (*Romarinus officinalis*)

D'après Aubineau et *al.*, (2002), le romarin est une herbe aromatique appartenant à la famille des lamiacées. C'est un sous-arbrisseau originaire du bassin méditerranéen, mesurant 50 cm de hauteur qui apprécie les sols bien drainés et ensoleillés. C'est l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on la trouve dans tous les jardins (Figure 15).



Figure 15: Photographie de l'huile essentielle «Romarin à verbénone».

1.3. Autres Matériels

Cette expérimentation nécessite l'utilisation d'autres matériels tels que, papier filtres, portoirs, micropipettes (10-100 μ l; 100-1000 μ l), ciseaux, bavettes, gants, pince, spatule, poire, pissettes, eppendorfs, cassette d'inclusion, cryotubes, moules à paraffine, lames et lamelles, balance à précision, centrifugeuse, l'étuve, microtome, microscope optique, ...

2. Expérimentation

L'expérimentation s'est effectuée entre le mois de Mai et Juillet 2019, l'administration de l'huile et les sacrifices sont effectués au niveau de l'élevage cunicole. Tandis que l'étude histologique est effectuée au niveau du laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre au sein de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

2.1. Protocole expérimentale

Des lapins mâles âgés de 1 mois sont pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole et réparties en 2^{ème} groupes: le 1^{er} groupe est traité par la Menthe Poivrée (14 lapins) alors que le second est traité par le Romarin à verbénone (13

lapins). Chaque groupe est constitué de trois lots, un lot traité par la dose 1 (D1=500 µl/kg) et un autre traité par la dose 2 (D2=700µl/kg). Un lot témoin est constitué par 7 lapins. Tous les animaux sont exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement et nourris *ad libitum* (à volonté), avec un aliment sec granulés fabriqué et commercialisé par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de Bétail). L'eau est distribuée en accès libre permanent par des pipettes individuelles.

2.2. Pesée et administration des huiles essentielles

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle à administré pour chaque animal et chaque dose. Le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin. Cette opération s'est déroulée chaque matin pendant 03 jours. (Figure 16).



Figure 16: Administration des huiles essentielles par voie orale.

2.3. Sacrifices et prélèvement

Une semaine après l'administration des huiles essentielles ; Menthe poivrée, Romarin a verbénone, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9 h : 00 et 12h : 00 au niveau de l'élevage cunicole et le laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs pour des dosages hormonaux ultérieurs et congelé à 4°C (Figure 17).

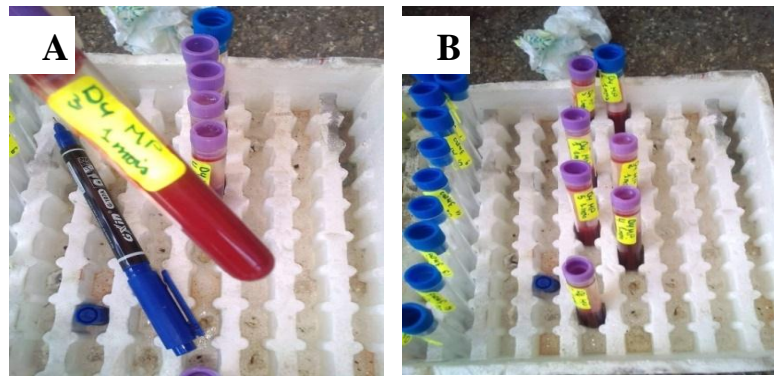


Figure 17: Prise de sang.

Ensuite les animaux sont disséqués, leurs appareils génitaux (épididyme et testicule) sont prélevés puis dégraissés et pesés grâce à une balance de précision de 0,01g. Les testicules et épididymes droites sont fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés et étiquetés pour une étude histologique, alors que les testicules et épididymes gauches sont placés dans des eppendorfs et congelés à -20°C , jusqu'à leur utilisation ultérieure (Figure 18).

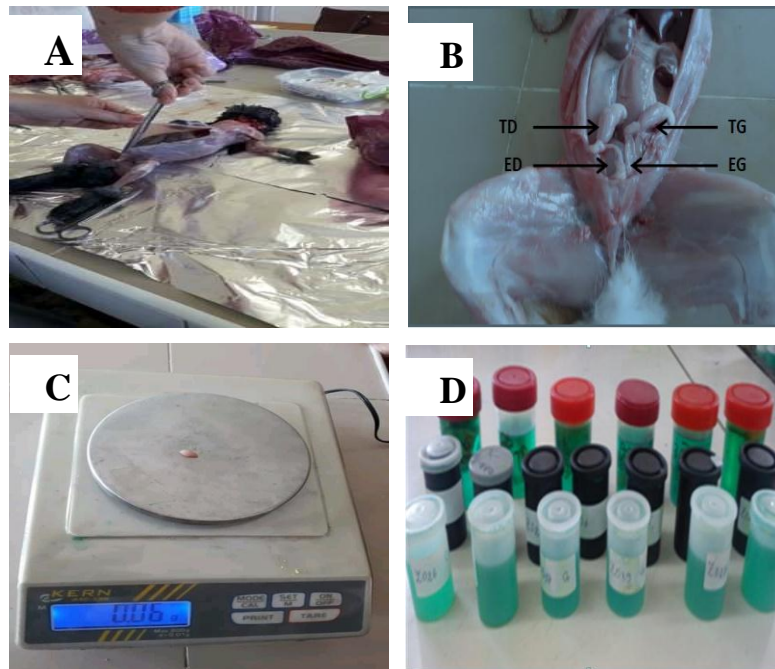


Figure 18: Dissection d'un lapin mâle et traitement de l'appareil génital

.A : Dissection des animaux **B** : Prélèvement de l'appareil génital mâle du lapin (testicule et épididyme) ; **C** : Détermination du poids grâce à une balance de précision de 0,01g ; **D** : Piluliers de fixateur contenant les organes génitaux.

3. Etude histologique

L'étude histologique se déroule en une série d'étapes successives obligatoires qui vont aboutir à l'obtention de coupes fines prêtes à recevoir la coloration histologique d'intérêt. Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes : Fixation des échantillons, déshydratation et éclaircissement, imprégnation, inclusion, confection des coupes et collage, déparaffinage et réhydratation, coloration topographique et Déshydratation Observation des lames.

Après l'observation des lames, passant à mesurer les structures histologiques des testicules ; la surface des tubes séminifères, leur diamètre, la surface de l'épithélium séminifère et celle de la lumière des tubes séminifères qui permettra de définir le stade du développement des gonades. D'autre part, mesurer les structures histologiques des épидидymes ; l'épithélium et la lumière épидидymaire.

3.1. Fixation des échantillons

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes ; est une étape indispensable pour préserver la morphologie des cellules et les structures en place lors des manipulations ultérieures. Elle permet notamment de les conserver dans un état aussi proche que possible de l'état vivant et d'éviter les raccourcissements et les distorsions possibles, mais aussi de protéger les cellules des attaques bactériennes ou encore enzymatiques.

Nous avons utilisé le fixateur Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) qui appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Les organes placés dans des cassettes d'inclusion puis déposés dans des piluliers contenant un volume de « Bouin Hollande » trois fois supérieur à celui de l'organe, afin de l'immerger totalement, Les organes sont maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur, à température ambiante (Figure 19).



Figure 19: Différentes étapes de fixation des échantillons.

3.2. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation est la suppression de toute l'eau contenue dans l'organe, permettant l'inclusion de l'échantillon dans la paraffine. Celle-ci est caractérisée par sa plasticité et sa température de fusion qui peut aller de 56° à 60°C.

Pour réaliser la déshydratation de l'organe, nous avons utilisé une série de bains d'alcool éthylique de degrés croissant (50°, 70°, 80°, 90°, 100°), pendant 2 heures pour chaque bain afin d'éviter la désorganisation des structures. Le dernier bain est un bain de xylène pour compléter la déshydratation et préparer l'imprégnation de l'organe à la paraffine, car l'éthanol n'est pas miscible à la paraffine.

3.3. Imprégnation

Immédiatement après les bains de toluène, les organes sont plongés dans 3 bains successifs de paraffine, de 2 heures chacun à 60°C ; c'est l'imprégnation. Le deuxième et le troisième bain renferment de la paraffine pure, tandis que le premier est constitué d'une moitié de paraffine et moitié toluène. Les deux opérations, déshydratation et imprégnation sont réalisées au laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou, grâce à un automate de circulation de type Leica. (Figure 20).



Figure 20: Appareil de circulation du laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou.

3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Cette opération consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C dans un appareil d'enrobage de type Leica (Figure 21). Les organes sont placés dans des moules qui recevront la paraffine. Les cassettes respectives, identifiant chaque échantillon, sont placées à la surface des moules. De la paraffine est coulée dans les moules jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante de l'appareil (-10 à -15°C) jusqu'à solidification du bloc.

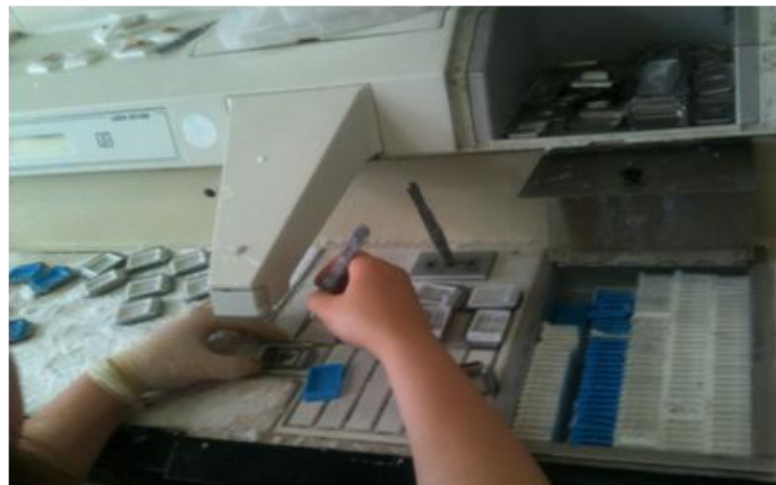


Figure 21: Machine à enrobage du laboratoire d'Anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou.

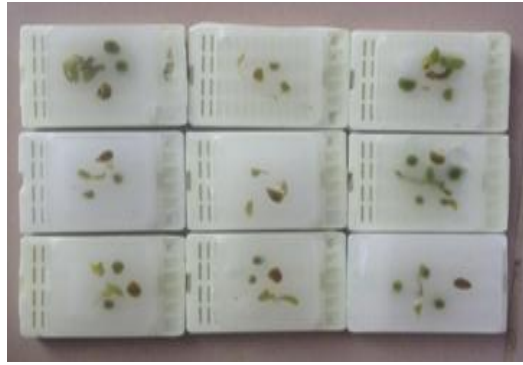


Figure 22: Blocs de paraffine obtenue après l'inclusion.

3.5. Confection des coupes et collage

Des coupes fines ont été réalisées de 2 à 5 μ m d'épaisseur sur les blocs d'organes, en utilisant un microtome à paraffine de type Leica au niveau de laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Les coupes sont récupérées sur des lames porte-objet propres qui seront incubées toute une nuit à 38°C dans une étuve (Figure 23).



Figure 23: Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite.

3.6. Déparaffinage et réhydratation

Avant de procéder à la coloration des lames nous devons les déparaffiner et les placer dans un milieu aqueux, car les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux. Le déparaffinage est une opération qui permet de retirer la paraffine qui imprègne la coupe afin de permettre la fixation des colorants sur les coupes, suivi d'une réhydratation, qui est une

séquence inverse de celle de la déshydratation ; consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à de degrés décroissants (100°, 90°, 70°,50°).

3.7. Coloration topographique et Déshydratation

La coloration utilisée est la coloration topographique de Trichrome de Masson (Figure 24). Cette coloration permet de mettre en évidence (grâce aux colorants utilisés) le noyau en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres de collagènes sont vertes. Cette coloration est suivi d'une déshydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°,90°, 100°).cette étape permet la conservation des échantillons.



Figure 24: Batterie de coloration du Trichrome de Masson.

3.8. Observation des lames

L'observation de lame se fait à l'aide d'un microscope photonique de type OPTICA qui permet d'observer toute variation ou modification des structures histologiques des gonades et épидидymes. Des photographies sont prises avec à un appareil photo numérique, d'où le grossissement de l'observation change et est calculé de la manière suivante :

$$G = V_{obj} \times V_z \times \text{Agrandissement de l'appareil}$$

G : Grossissement ; **Vobj** : Grossissement de l'objectif ; **Vz** : Facteur de zoom d'optovar = 2.5

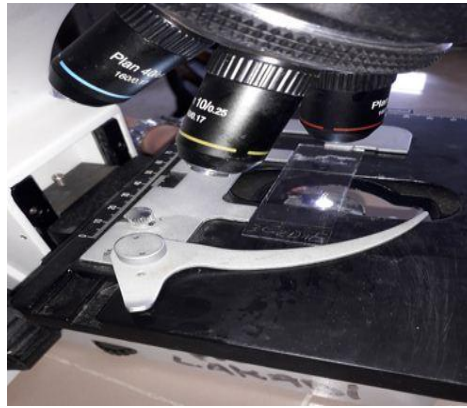


Figure 25: Photographie de l'observation des lames.

4. Etudes statistique

Les variables (poids vifs, poids des testicules et épидидymes) obtenus durant cette étude ont été soumis à une analyse de variance « ANOVA ». Le traitement statistique des données et les présentations graphiques des résultats ont été réalisés sous Microsoft Office Excel 2007.

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque paramètre (poids vifs, poids des testicules (droit et gauche), poids des testicules total, poids testiculaire relatif, poids des épидидymes (droit et gauche), poids épидидymaire total, et le poids épидидymaire relatif), suivie par la valeur de l'erreur standard liée à la moyenne «ESM ».

La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisés à l'aide d'un logicielle informatique « Origin Lab » 2007 et la valeur des probabilités « p »:

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



Chapitre IV

Résultats

Résultats

A. Résultats de l'étude statistique

Les résultats rapportés dans ce travail concernent l'effet de deux huiles essentielles ; Menthe poivrée et Romarin à verbénone sur le poids corporel et gonadique (testicules et épидидymes), ainsi qu'une étude histologique des testiculaire et épидидymaire des lapins infantiles âgés de 1 mois.

1. Evolution du poids corporel

Le poids corporel exprimé en kilogramme (kg) par la valeur moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).

La pesée des lapins a été effectuée deux fois ; première fois avant l'administration des huiles essentielles J0 afin de déterminer la quantité des huiles à administrer, la seconde fois avant le sacrifice pour évaluer l'effet de ces huiles sur l'évolution du poids corporel de nos animaux.

1.1. Evolution du poids corporel des lapins infantiles traités par les huiles essentielles

Evolution du poids corporel des lapins infantiles avant et après l'administration des deux HE ; Menthe poivrée et Romarin à verbénone ;

La figure 26 représente les valeurs moyennes du poids corporel des lapins mâles infantiles traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » à différentes doses (500 μ l/kg et 700 μ l/kg) :

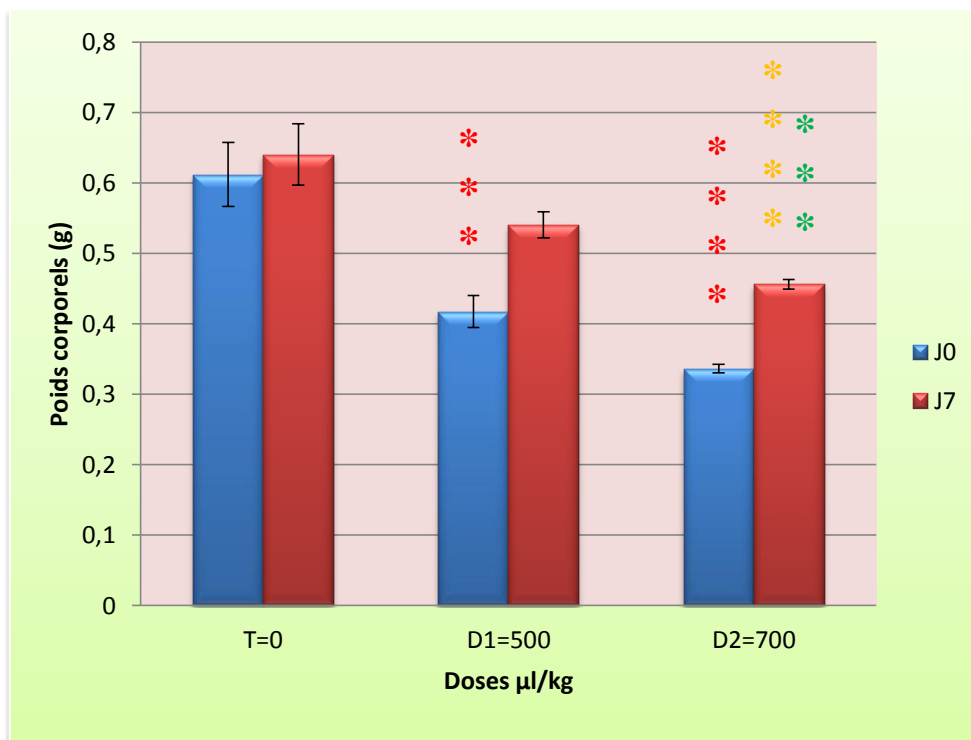


Figure 26: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins traités par la Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; Jour 0 : avant traitement ; Jours 7 : après traitement

* : vs entre lot témoin et dose 1 ; * : vs entre lot témoin et dose 2 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Cependant, l'écart entre le début J0 et la fin J7 de l'expérimentation est faible chez les lapins témoins qui est de 0.028g, tandis que chez les animaux traités par la Menthe poivrée il est de l'ordre de 0.121g et de 0.12g respectivement chez ceux traités par la dose 1 (500 $\mu\text{l}/\text{kg}$) et dose 2 (700 $\mu\text{l}/\text{kg}$) avec une différence très significative ($P < 0.01$) entre le lot témoin et dose 1, et hautement significative ($P < 0.001$) entre les lapins témoins et ceux du lot dose 2 avant le traitement J0 et avec une différence très significative ($P < 0.01$) entre la valeur moyenne du poids corporel des lapins du lot témoin et dose 2, et hautement significative entre les lapins du lot dose 1 et dose 2 ($P < 0.001$) après le traitement J7. La valeur moyenne du poids vif des lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée (J7), est élevée en fonction de la dose administrée que celle avant le traitement (J0).

Les valeurs moyennes du poids corporel des lapins infantiles avant et après l'administration de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » à différentes doses (500 $\mu\text{l}/\text{kg}$ et 700 $\mu\text{l}/\text{kg}$) (figure 27) :

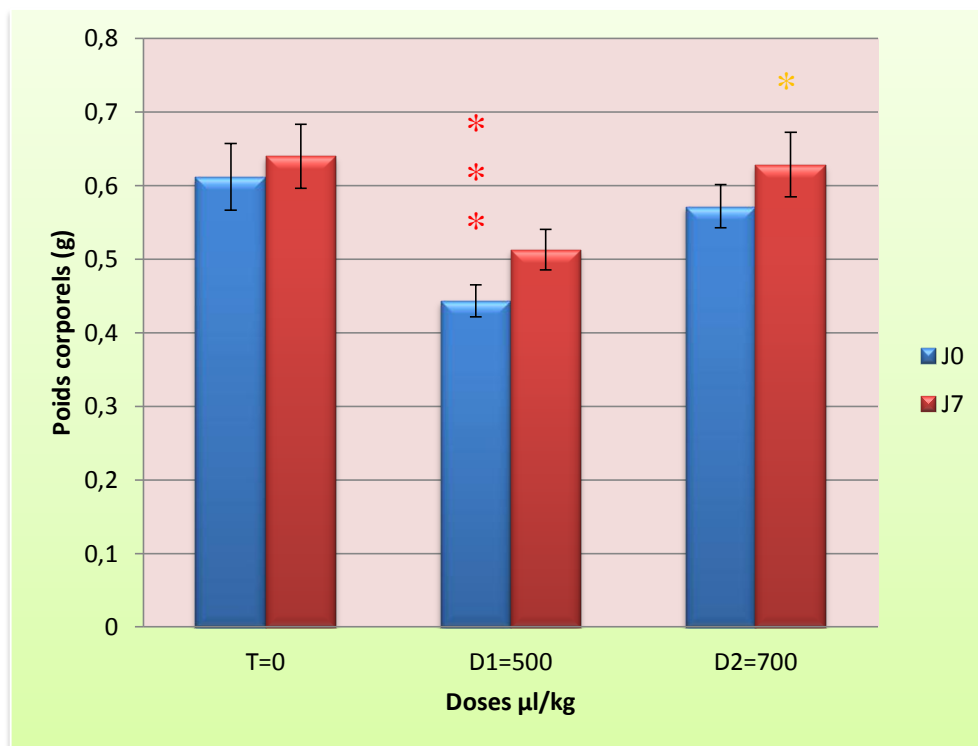


Figure 27: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins traités par le Romarin à verbénone.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; J0 : avant traitement ; J7 : après traitement

* : vs entre lot témoin et dose 1 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Cependant, l'écart entre le début J0 et la fin J7 de l'expérimentation est faible chez les lapins témoins qui est de 0.028g, tandis que chez les animaux traités par le Romarin à verbénone il est de l'ordre de 0.073g et de 0.06 respectivement chez ceux traités par la dose 1(500µl/kg) et dose 2(700µl/kg) avec une différence peu significative ($P < 0.05$) entre les lapins du lot D1 et ceux du lot D2 et une valeur très significative ($P < 0.01$) entre les lapins témoins et ceux de la dose 1. La valeur moyenne du poids vif des lapins traités par l'huile essentielle du Romarin à verbénone (J7), est élevée en fonction de la dose administrée que celle avant le traitement (J0).

2. Evolution du poids testiculaire

Poids du testicule en gramme est exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).

2.1. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles

La figure 28 représente l'évolution des poids des testicules gauches et droits des lapins âgés de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée (500 $\mu\text{l}/\text{kg}$ et 700 $\mu\text{l}/\text{kg}$) :

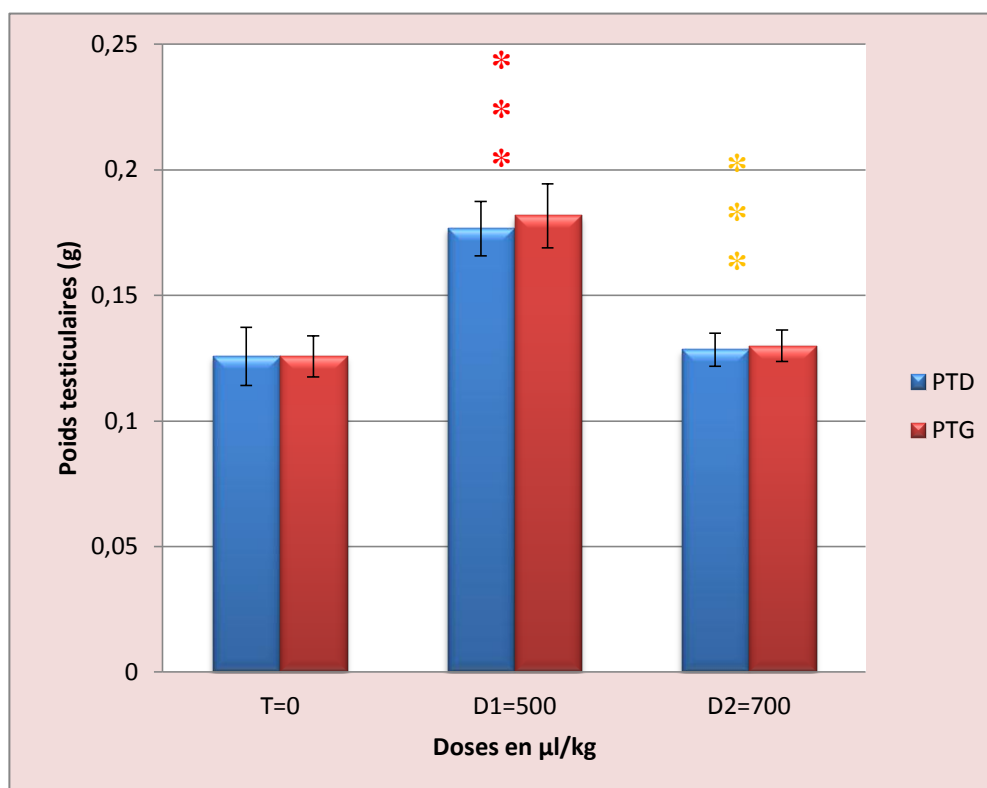


Figure 28: Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins infantiles traités par l'huile essentielle <<Menthe poivrée>>.

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2 ; **TG** : testicule gauche ; **TD** : testicule droit ; **PTD** : poids testiculaire droit ; **PTG** : poids testiculaire gauche
 * : vs entre lot témoin et dose 1 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Les valeurs moyennes des poids des testicules gauches et droits montrent une élévation en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée « menthe poivrée), en effet les testicules des lapins témoins (T) présentent un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux (D1) et (D2) qui est de $0,126 \pm 0,012$ g vs $0,126 \pm 0,008$ g pour le lot témoin (T) alors que chez les lapins de lot dose 1(D1) est de $0,18 \pm 0,011$ g vs $0,18 \pm 0,012$ g et chez ceux traités à la dose 2 (D2) est de $0,13 \pm 0,007$ g vs $0,13 \pm 0,006$ g, avec une valeur très

significative ($P < 0.01$), au niveau du testicule droit et gauche, entre le lot témoin et dose 1 et le lot dose 1 et dose 2.

Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauches sont plus élevées que celle des testicules droits chez les lapins traités.

Evolution des poids testiculaires droits et gauches des lapins infantiles traités par le Romarin à verbénone (500 $\mu\text{l/kg}$ et 700 $\mu\text{l/kg}$) (figure 29 :

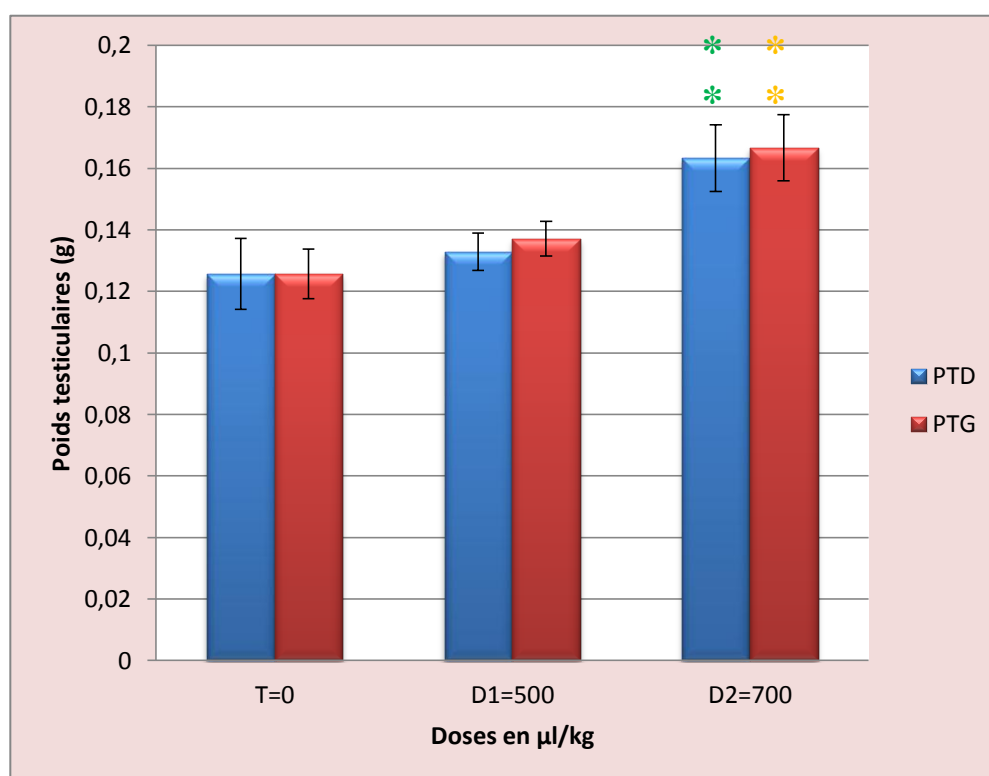


Figure 29: Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins infantiles traités par l'huile essentielle <<Romarin à verbénone>>.

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2 ; **TG** : testicule gauche ; **TD** : testicule droit ; **PTD** : poids testiculaire droit ; **PTG** : poids testiculaire gauche

* : vs entre lot témoin et dose 2 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

L'évolution de la valeur moyenne des poids des testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone est remarquable chez les lapins de lot de dose 1 (500 $\mu\text{l/kg}$) avec une valeur moyenne de 0.13 ± 0.006 g pour le testicule droit (TD), et 0.14 ± 0.0056 g pour le

testicule gauche (TG) par rapport à celle de lot dose 2 (700 μ l/kg) qui diminue avec une valeur de 0.16 \pm 0.011g pour le testicule droit (TD), et 0.17 \pm 0.011g pour le testicule gauche (TG). Tandis que chez le lot témoin la valeur moyenne des poids des testicules droits et gauches est moindre par rapport aux deux lots expérimentaux (D1 et D2), qui est de 0.126 \pm 0.012 g pour le testicule droit (TD) et 0.126 \pm 0.008 g pour le testicule gauche (TG).

Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauches sont plus élevées que celle des testicules droits chez les lapins traités par l'huile essentielle, avec une différence significative ($P < 0.02$) entre la valeur moyenne des poids des testicules droits et gauche de lot dose 1 et dose 2, et aussi entre lot témoin et dose 2 au niveau du testicule gauche.

2.2. Evolution du poids testiculaire total des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles

La figure 30 représente l'évolution du poids total des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée, « Menthe poivrée » :

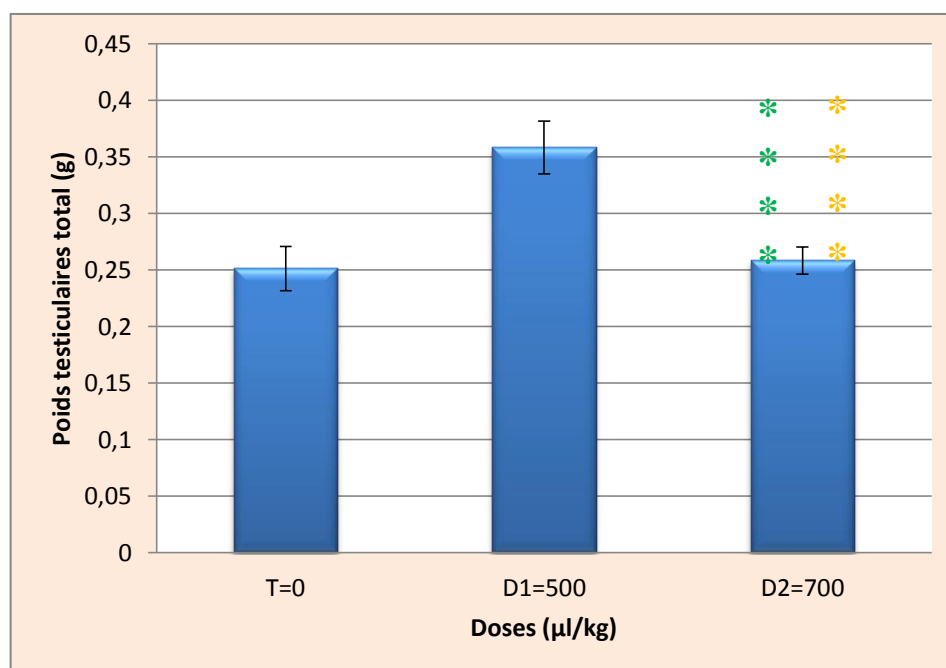


Figure 30: Représentation graphique de l'évolution du poids total des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par la Menthe poivrée.

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2

* : vs entre lot témoin et dose 2 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Chez les lapins infantiles traités par l'huile essentielle le « Menthe poivrée », le poids testiculaire total varie selon la dose de l'huile administrée. En effet chez les lapins de lot témoin, la valeur moyenne du poids testiculaire total ne dépasse pas 0.25 ± 0.019 g, tandis que chez les lapins de lot dose 1 ($500 \mu\text{l}/\text{kg}$) elle augmente jusqu'à atteindre une moyenne de 0.36 ± 0.023 g, qui diminue de 0.26 ± 0.012 g chez les lapins de lot dose 2 ($700 \mu\text{l}/\text{kg}$), avec une différence hautement significative ($P < 0.001$) entre le lot témoin et lot dose 2, et lot dose 1 et dose 2.

Evolution du poids total des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée le « Romarin à verbénone » (figure 31) :

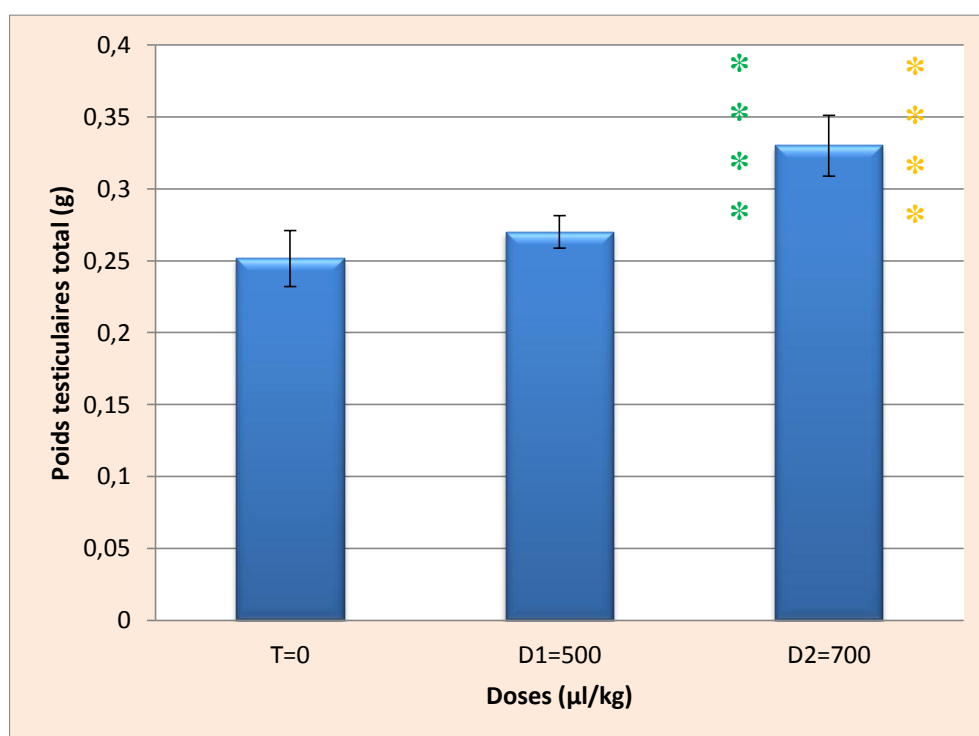


Figure 31: Représentation graphique de l'évolution du poids total des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par le Romarin à verbénone.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2

* : vs entre lot témoin et dose 2 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Le poids testiculaire total évolue en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée. En effet, le poids testiculaire total atteint une valeur maximale et importante chez les lapins infantiles traités à la dose 1 ($500 \mu\text{l}/\text{kg}$) 0.27 ± 0.011 g, alors que chez ceux traités à la

dose 2 (700 μ l/kg) on observe la valeur moyenne du poids testiculaire total qui atteints 0.33 \pm 0.021g. Tandis que chez le lot témoin la valeur moyenne du poids testiculaire total ne dépasse pas 0.25 \pm 0.019g, avec une différence hautement significative ($P < 0.001$) entre le lot témoin et lot dose 2, et lot dose 1 et lot dose 2.

2.3. Poids testiculaires relatifs à 100g du poids corporel des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1mois traités à la Menthe poivrés est présentée dans la figure 32.

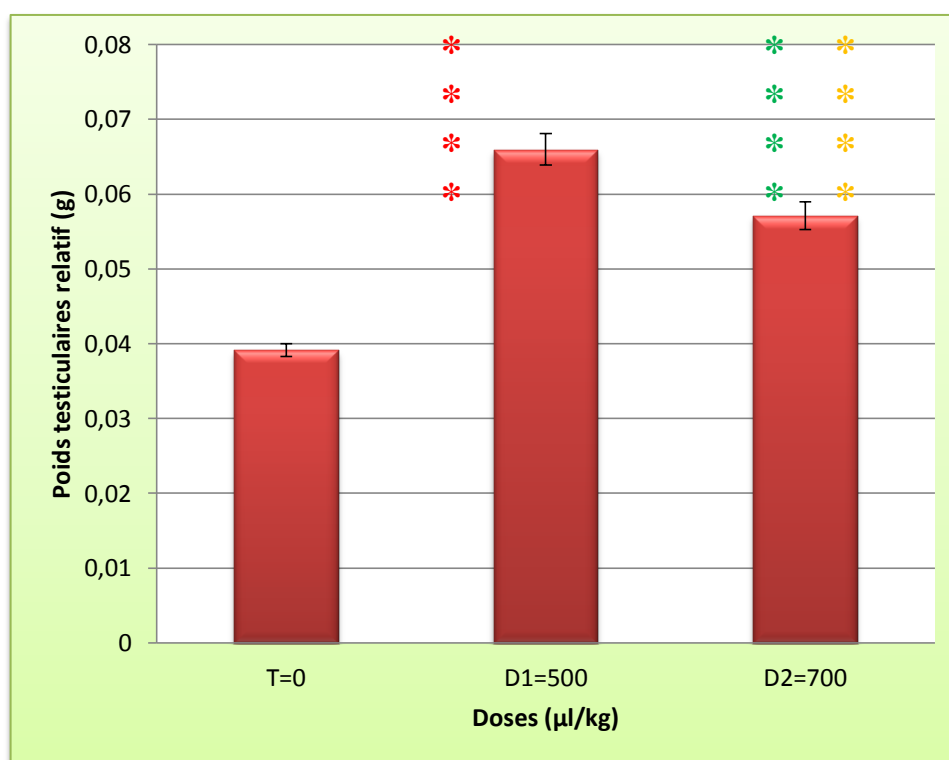


Figure 32: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par la Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2

* : vs entre lot témoin et dose 1 ; * : vs entre lot témoin et dose 2 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Les poids testiculaire relatifs à 100g du poids corporel révèlent une variation entre les lots expérimentaux (dose 1 et dose2) et le lot témoin. Chez les deux lots expérimentaux , la

valeur moyenne de poids testiculaire relatif à 100g de poids corporel est trop élevée, elle est de $0.074 \pm 0.002g$ chez le lot dose 1 ($500\mu l/kg$) et $0.067 \pm 0.002g$ chez le lot dose 2 ($700\mu l/kg$) par rapport à celle du lot témoin qui ne dépasse pas $0.038 \pm 0.001g$, avec une différence hautement significative ($P < 0.001$) ente le lot témoin et le lot dose 1 ($500\mu l/kg$) et ente le témoin et le lot dose 2 ($700\mu l/kg$), et une différence très significative ($P < 0.01$) entre lot dose 1 et dose 2.

Les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1mois est présentée traités par le Romarin à verbénone sont représentées dans la figure 33.

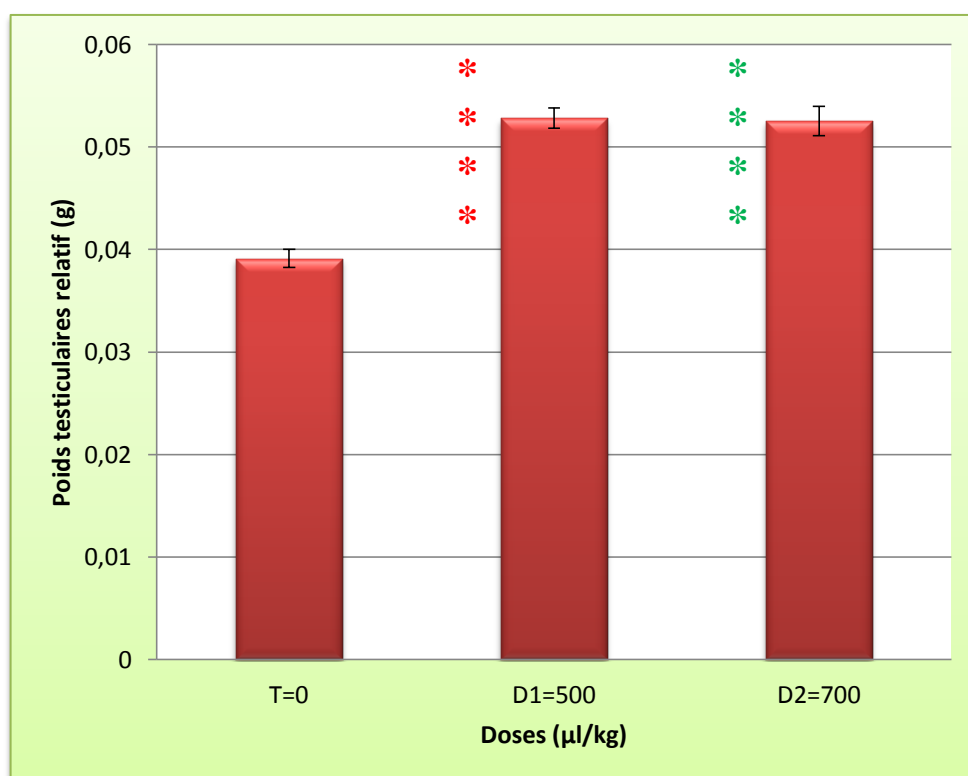


Figure 33: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par le Romarin à verbénone.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2

* : vs entre lot témoin et dose 1 ; * : vs entre lot témoin et dose 2

Chez les lapins des deux lots expérimentaux (dose 1 et dose 2) traités par l'huile essentielle le Romarin à verbénone, la valeur moyenne des poids testiculaires relatifs à 100 g de poids corporel est plus importante que chez ceux de lot témoin. Elle est de $0.059 \pm 0.001g$

chez le lot dose 1 ($400\mu\text{l}/\text{kg}$) et $0.052\pm 0.001\text{g}$ chez le lot dose 2 ($500\mu\text{l}/\text{kg}$) alors que chez le lot témoin elle est uniquement de $0.038\pm 0.001\text{g}$, avec une différence hautement significative entre le lot témoin et le lot dose 1 et entre le lot témoin et le lot dose 2.

3. Evolution du poids épидидymaire

Après l'administration des deux huiles essentielles « Menthe poivrée » et « Romarin à verbénone » à des doses différentes, les épидидymes ont été récupérés puis pesés dans le but de terminer l'évolution de leur poids en fonction de l'huile essentielle administrées et en fonction de la dose utilisée. Le poids de l'épididyme en gramme est exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).

3.1. Poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles

La figure 34 suivante représente l'évolution du poids moyen de l'épididyme gauches et droits, en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée ;

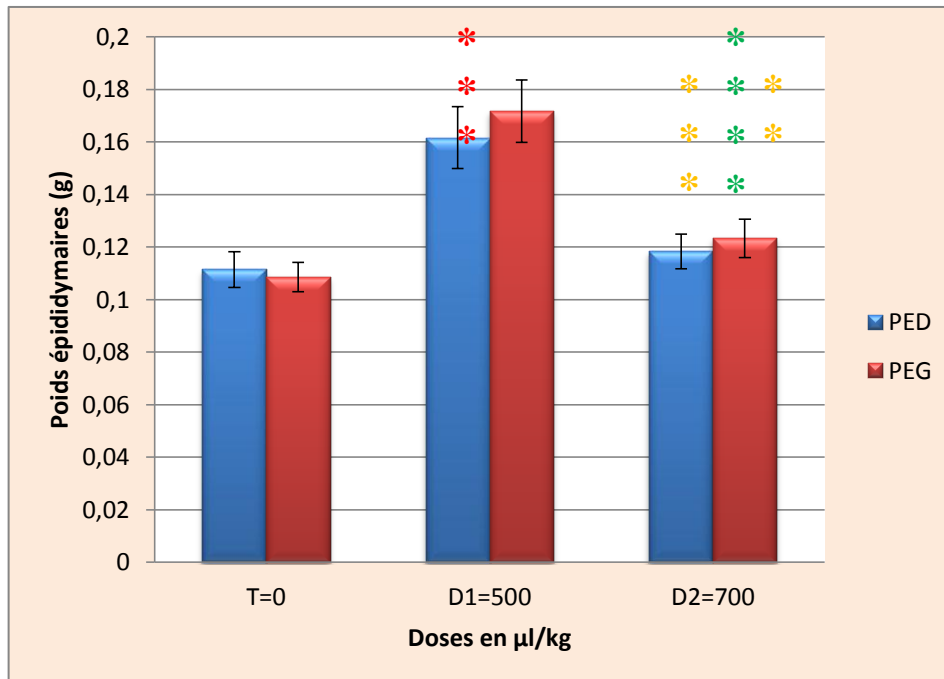


Figure 34: Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles traités par l'huile essentielle la Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; PEG : Poids épидидymaire gauche ; PED : Poids épидидyme droit

* : vs entre lot témoin et dose 1 ; * : vs entre lot témoin et dose 2 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Le poids des épидидymes droit et gauche chez les lapins traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » montre une valeur moyenne plus élevée que le poids des épидидymes de lot témoin. Le lot de dose 1 (500 μ l/kg) montre une valeur moyenne des épидидymes de 0.16 \pm 0.012 g pour l'épididyme droit et 0.172 \pm 0.012 g pour l'épididyme gauche alors qu'elle diminue légèrement chez les lapins de lot dose 2 (700 μ l/kg) pour atteindre une valeur de 0.12 \pm 0.007g pour l'épididyme droit et 0.12 \pm 0.007g pour l'épididyme gauche. Tandis que chez le lot témoin le poids épидидymaire est moindre que celle des lots dose 1 et dose 2, 0.114 \pm 0.007 g pour l'épididyme droit et 0.108 \pm 0.005g pour l'épididyme gauche, avec une différence très significative (P<0.01) entre le lot témoin et dose 1 et lot dose 1 et dose 2 (épидидyme droit), au niveau de l'épididyme gauche on a une valeur très significative (P<0.01) entre lot dose 1 et dose 2, et une valeur hautement significative (P<0.001) entre lot témoin et dose 2.

La figure 35 représente l'évolution et variations du poids moyen de l'épididyme des lapins infantiles en fonction de la dose administrée de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » ;

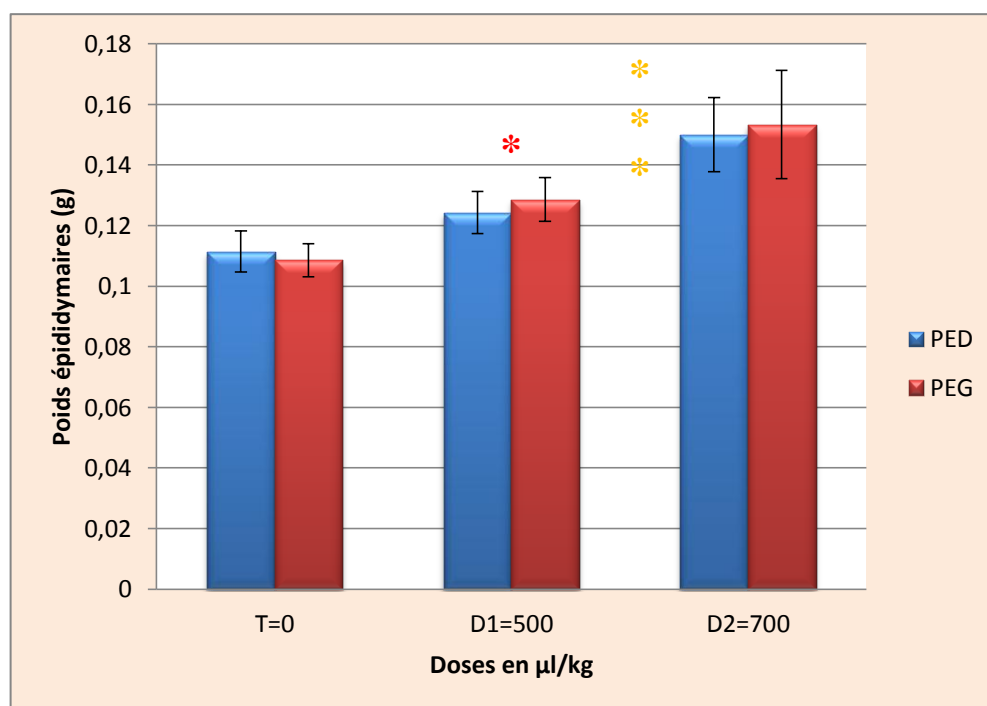


Figure 35: Représentation graphique de poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles traité par l'huile essentielle « Romarin à verbénone ».

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; PEG : Poids épидидymaire gauche ; PED : Poids épидидyme droit

* : vs entre lot témoin et dose 1 ; * : vs entre dose 1 et dose 2

Le poids des épидидymes gauches et droits après l'administration de l'huile essentielle chez le lot dose 1 (500 μ l/kg) est plus élevé avec une valeur moyenne de poids épидидymaire de 0.124 \pm 0.0007 g pour l'épididyme droit et 0.129 \pm 0.007 g pour l'épididyme gauche par rapport à celle de lot dose 2 (700 μ l/kg) qui est de 0.15 \pm 0.012 g pour l'épididyme droit et 0.153 \pm 0.018 g pour l'épididyme gauche, avec une différence très significative ($P < 0.01$) entre le lot dose 1 et le lot dose 2. Tandis que chez le lot témoin la valeur moyenne de poids épидидymaire droit et gauche est très faible en la comparant avec celle des deux lots expérimentaux et qui ne dépasse pas une valeur de 0.111 \pm 0.007 g pour l'épididyme droit et 0.108 \pm 0.005g pour l'épididyme gauche, avec une différence peu significative ($P < 0.05$) entre le lot témoin et le lot dose 1.

3.2. Evolution du poids total de l'épididyme des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles

La valeur moyenne de poids total épидидymaire droits et gauches évolue en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée chez les lapins infantiles représentée sur la figure 36 :

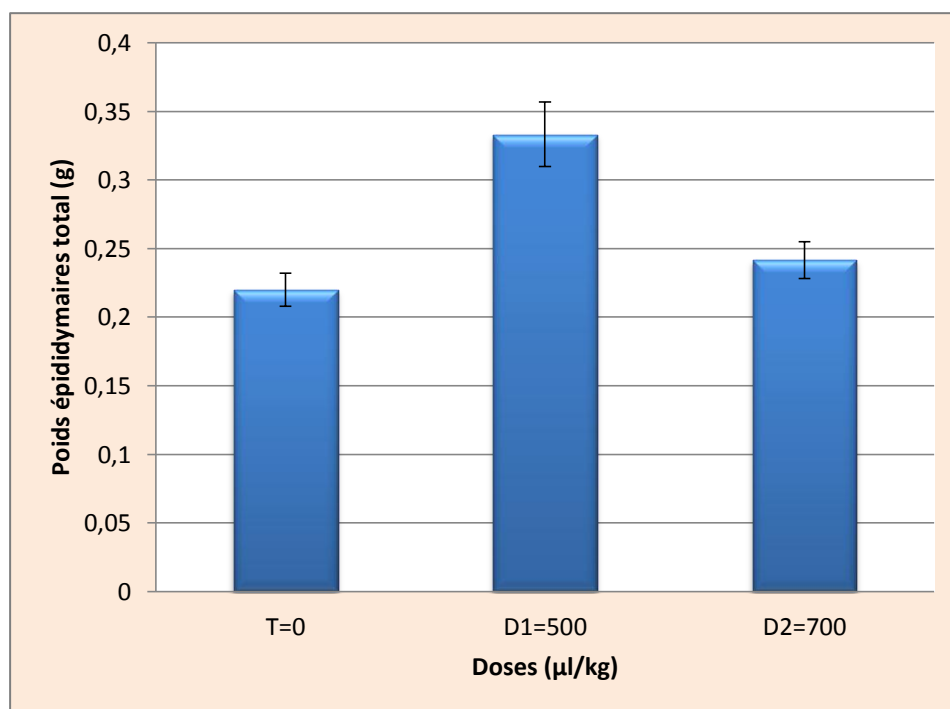


Figure 36: Représentation graphique de poids total des épидидymes des lapins infantiles âgés en moyen de 1mois traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée ».

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2

Le poids total des épидидymes droit et gauche chez les lapins traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » montre une valeur moyenne plus élevée que le poids des épидидymes de lot témoin. Chez le lot de dose 1 (500 μ l/kg) la valeur moyenne des épидидymes est de 0.33 \pm 0.024 alors que celle des lapins de lot dose 2 (700 μ l/kg) est de 0.24 \pm 0.013 g. Chez le lot témoin le poids total épидидymaire diminue légèrement à la valeur moyenne du lot dose 1 0.22 \pm 0.012 g.

L'évolution et les variations du poids total de l'épididyme des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois en fonction de la dose administrée de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » est représenté par la figure 37 ;

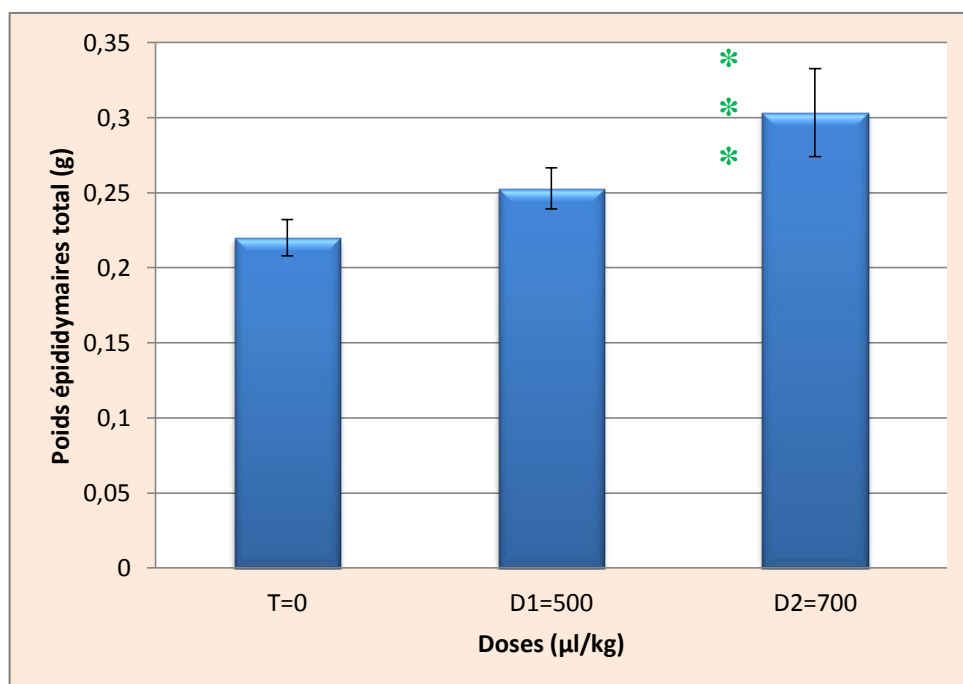


Figure 37: Représentation graphique de poids total des épидидymes des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle le « Romarin à verbénone ».

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2

* : vs entre lot témoin et dose 2

Les variations de poids épидидymaire total diffèrent d'un lot à un autre. Le lot dose 1 (500 μ l/kg) représente un poids épидидymaire total plus important que celui de lot témoin pour atteindre une valeur moyenne de 0.25 \pm 0.014 g. Chez le lot dose 2 (700 μ l/kg) le poids épидидymaire total augmente légèrement à une valeur de 0.30 \pm 0.029 g, alors que chez le lot

témoin la valeur moyenne de poids épидидymaire total est seulement de 0.22 ± 0.011 g, avec une différence très significative ($P < 0.01$) entre le lot témoin et lot dose 2.

3.3. Evolution des poids relatifs épидидymaire des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles

Les valeurs moyennes des poids épидидymaire relatifs à 100 g de poids corporel des lapins infantiles traités par la Menthe poivrée sont représentées dans la figure 38 ;

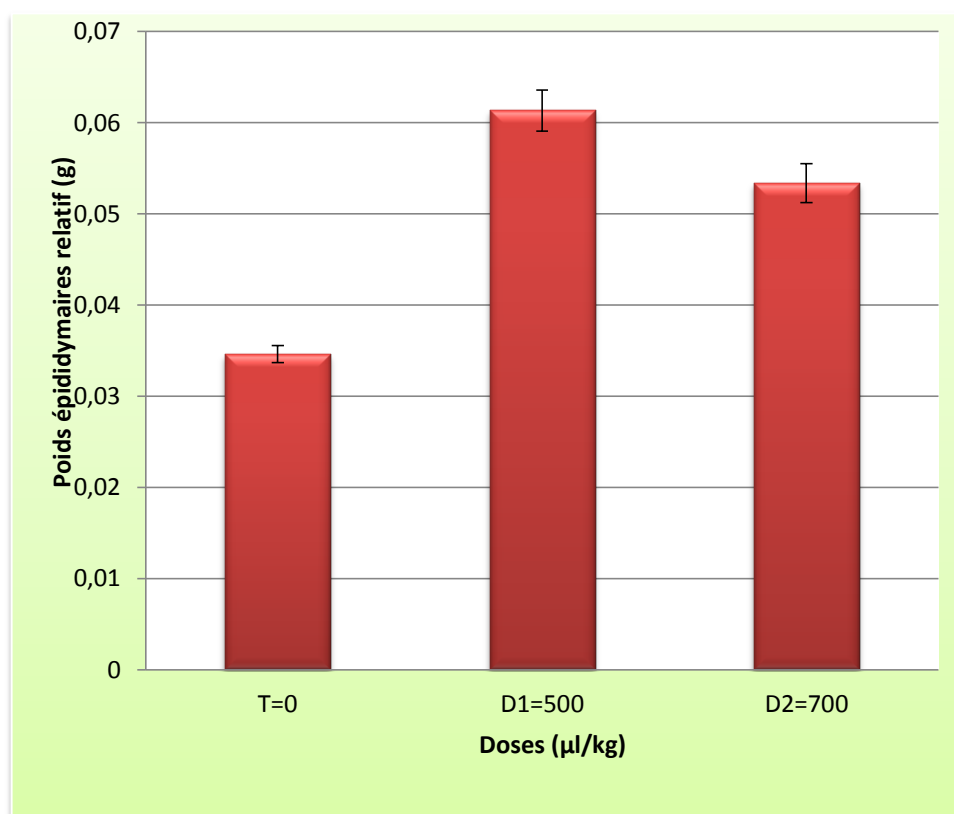


Figure 38: Représentation graphique de poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée ».

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** :Dose2

Le poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel est plus élevé chez les lapins infantiles de lot dose 1 ($500 \mu\text{l/kg}$) avec une valeur moyenne de 0.0528 ± 0.001 g alors qu'elle diminue chez ceux traités à la dose 2 ($700 \mu\text{l/kg}$) jusqu'à une valeur de 0.0525 ± 0.0014 g, tandis que chez le lot témoin elle n'est que de 0.039 ± 0.0009 g.

Les valeurs moyennes des poids épидидymaire relatifs à 100 g de poids corporel des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle le Romarin à verbénone sont représentées dans la figure 39.

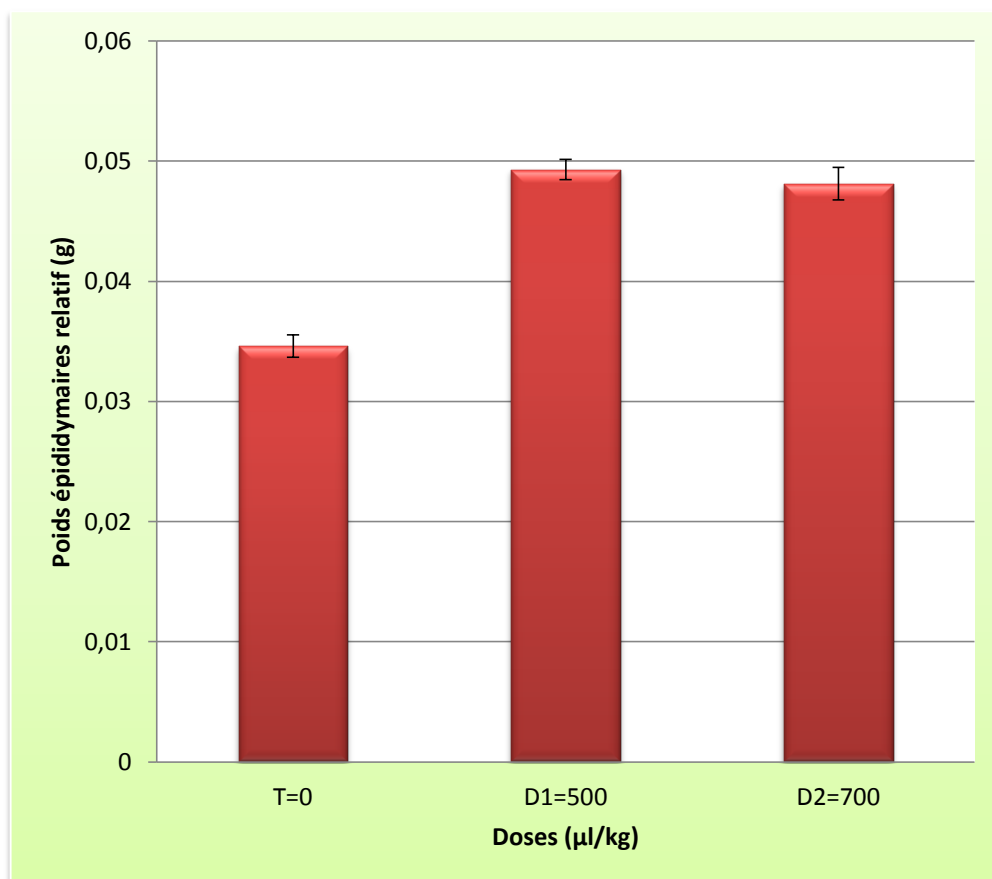


Figure 39: Représentation graphique de poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel des lapins infantiles âgés en moyen de 1 mois traités par l'huile essentielle « Romarin à verbénone ».

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** :Dose2

Le poids épидидymaire relatif à 100g de poids corporel est plus élevé chez les lapins infantiles de lot dose 1 ($500\mu\text{l/kg}$) avec une valeur moyenne de $0.049\pm 0.0008\text{g}$ alors qu'elle diminue chez ceux traités à la dose 2 ($700\mu\text{l/kg}$) jusqu'à une valeur de $0.048\pm 0.0014\text{g}$, tandis que chez le lot témoin elle n'est que de $0.035\pm 0.0009\text{g}$.

B. Résultats de l'étude microscopique

1. Etude histologique des structures testiculaires

À la naissance, l'animal dispose d'un faible stock de cellules souches appelées spermatogonies, qui vont subir la spermatogenèse à partir de la puberté et assurer ainsi la formation des gamètes mâles ou spermatozoïdes tout au long de la vie du mâle. Le cycle spermatogénique représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires aboutissant à la formation des spermatozoïdes (Boussit, 1989).

L'observation des structures histologiques des testicules révèle une grande variabilité entre les lapins de lot témoin et les lapins des lots traités par les deux huiles essentielles la « Menthe poivrée » et le « Romarin à verbenone » à deux doses différentes : la dose 1 (5001µl /kg) et la doses 2 (700µl/kg).

1.1. Testicules des lapins témoins

La structure histologique des testicules des lapins témoins infantiles, âgés en moyenne de 1 mois, révèle une grande variabilité de la forme de tubes séminifères qui sont dépourvus de lumière.

En effet l'observation au fort grossissement, révèle un épithélium séminifère constitué par les deux types cellulaires classiques du tube séminifère, les cellules de la lignée germinale ou spermatogonie et les cellules somatiques épithéliales de Sertoli. Les spermatogonies sont des cellules peu volumineuses, a noyau arrondie et une chromatine condensé et très colorée qui sont distribuée sur toute la section du tube, au centre et /ou à la périphérie.

Les cellules de Sertoli sont des cellules de grande taille qui reposent sur la lame basale du tube séminifère et qui s'étendent jusqu'à sa lumière. Elles sont reconnaissables à leurs noyaux à encoches, de forme irrégulière, conique, pyramidale, ou triangulaire. Elles émettent des expansions cytoplasmiques qui se prolongent jusqu'au centre du tube séminifère.

Entre les tubes séminifères, est visible un espace interstitiel important et richement vascularisé contenant les cellules de Leydig. Au fort grossissement, les cellules de Leydig apparaissent organisées en amas ou dispersées dans la trame conjonctive de cet espace. Des

cellules fusiformes appelées cellules péricubulaires ou cellules myoïdes entourent les tubes séminifères (Planche 1)

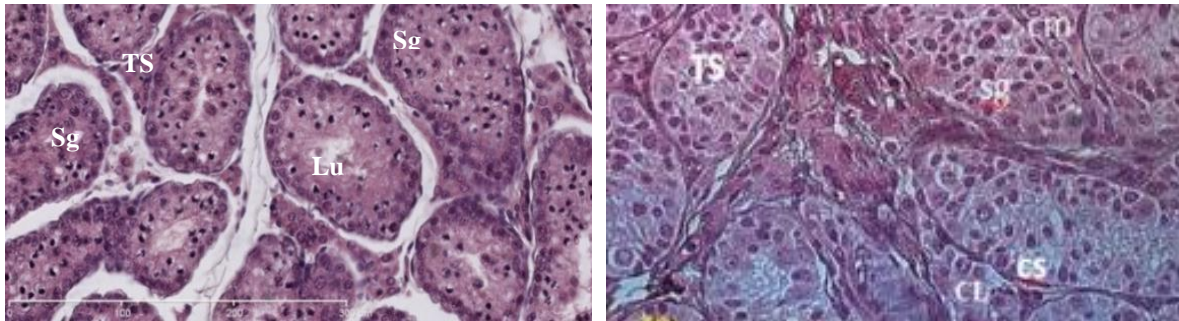


Planche 1 : Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule de lapins témoins âgés de 1 mois après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40).

Lu: Lumière, **CS** : Cellule de sertoli, **CL** : Cellule de lydig ; **Sg** : Spermatogonie, **TS** : Tube séminifère.

1.2. Testicules des lapins traités par la Menthe poivrée

La structure des testicules des lapins traités par la Menthe poivrée aux doses respectives de 500 µl/Kg (D1) et 700 µl/Kg (D2), révèle la mise en place de la lumière au niveau de tous les tubes séminifères avec un épithélium constitué de cellules de Sertoli à noyaux triangulaires et de spermatogonies volumineuses et nombreuses à noyaux ronds condensés colorés distribués presque sur la totalité du tubes séminifères.

Néanmoins, nous avons observé l'apparition de peu de spermatocytes I à noyaux volumineux, décondensés et grossiers dans tous les tubes séminifères chez les animaux traité par la dose1 (500µl/kg), tandis que ceux traités par la doses 2 (700µl/kg) présente à l'inverse très peu de spermatocytes I dans certains tubes séminifères.

L'espace interstitiel se resserre sous l'effet du développement des tubes séminifères et prend progressivement la forme triangulaire. Il est constitué des cellules de Leydig qui sont organisées en amas ou bien dispersées dans cet espace et des cellules péri-tubulaires qui entourent les tubes séminifères (Planche 2)

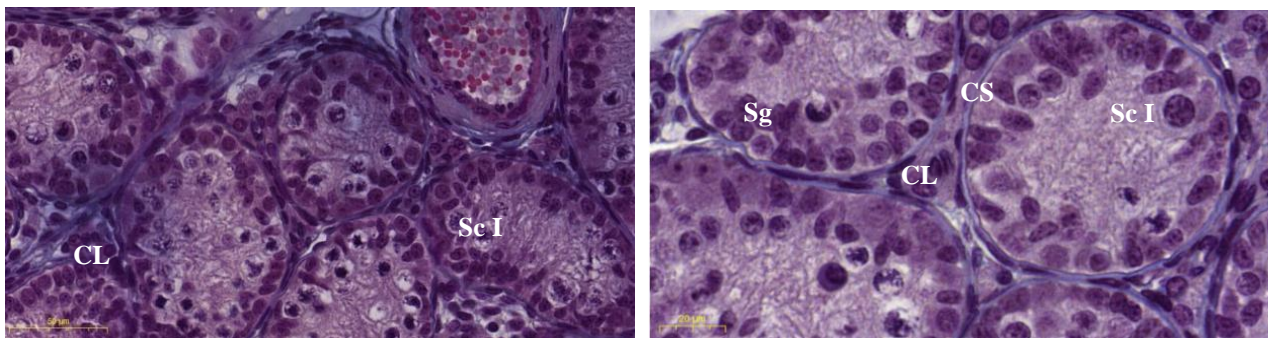


Planche 2: Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule de lapins âgés de 1 mois traités par la Menthe poivrée à doses respectives 500 et 700 $\mu\text{l}/\text{kg}$ après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40).

Lu: Lumière, **CS :** Cellule de sertoli, **CL :** Cellule de lydig ; **Sg :** Spermatogonie, **Sc I :** Spermatocyte I, **VS :** Vaisseau sanguin

1.3. Testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone (*Romarinus officinalis*)

La structure des testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone aux doses de 500 $\mu\text{l}/\text{Kg}$ (D1) et 700 $\mu\text{l}/\text{Kg}$ (D2), révèle la mise en place de la lumière presque sur la totalité des tubes séminifères avec un épithélium constitué de cellules de Sertoli à noyaux triangulaires, de spermatogonies volumineuses et nombreuses.

Néanmoins, chez les lapins traités à dose 500 $\mu\text{l}/\text{kg}$ on observe apparition d'un nombre minime de spermatocytes I dans certains tubes séminifères, tandis que chez ceux traités à dose 700 $\mu\text{l}/\text{kg}$ on observe un début d'apparition de spermatocytes I dans quelques tubes.

L'espace interstitiel moins resserré par rapport aux lapins traités par l'huile essentielle (Menthe poivrée) et prend progressivement la forme triangulaire. Il est constitué des cellules de Leydig qui sont organisées en amas ou bien dispersées dans cet espace et des cellules péri-tubulaires qui entourent les tubes séminifères.(Planche 3)

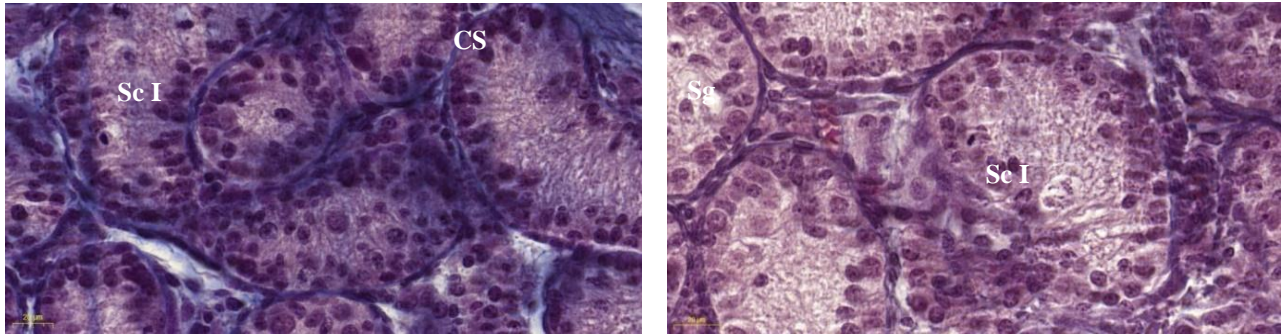


Planche 3 : Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule de lapins âgés de 1 mois traités par le Romarin à verbénone à doses respectives 500 et 700 $\mu\text{l}/\text{kg}$ après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40).

Lu: Lumière, **CS** : Cellule de sertoli, **CL** : Cellule de lydig ; **Sg** : Spermatogonie, **TS** : Tube séminifère

2. Etude histologique épидидymaire

L'épididyme du lapin infantile est un canal fortement pelotonné. Anatomiquement, il est subdivisé en trois grandes parties : une tête qui coiffe le testicule et constitue l'épididyme proximal, un corps effilé et une queue épaisse qui représente l'épididyme distal.

L'observation au microscope photonique nous a permis de distinguer des différences de l'organisation de la structure histologique des épидидymes.

2.1. Epидидymes des lapins témoins

L'épididyme proximal et distal des lapins infantiles, apparait au faible grossissement formé d'un ensemble de tubes coupés transversalement, longitudinalement et tangentiellment. Ces tubes baignent dans un tissu conjonctif intertubulaire dense et riche en fibre de collagène. Au fort grossissement, ces sections sont maintenues entre elle par du tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives éparpillées et dans lequel sont dispersés des fibroblastes et des cellules musculaires lisses, ainsi que des vaisseaux sanguins.

Au niveau de l'épithélium de l'épididyme proximal, dans la plus part des tubes nous avons observé un épithélium cubique simple constitué exclusivement de cellules principales à l'exception de certains tubes qui montrent quelques cellules basales. La lumière des tubes apparait vide et dépourvue de spermatozoïdes. Des stérécociles émanant de la partie apicale

des cellules principales sont observées. Chaque section épидидymaire apparaît entourée par une ou deux couches de cellules musculaires lisses très aplaties formant une ceinture au tour du tube épидидymaire.(Planche 4)

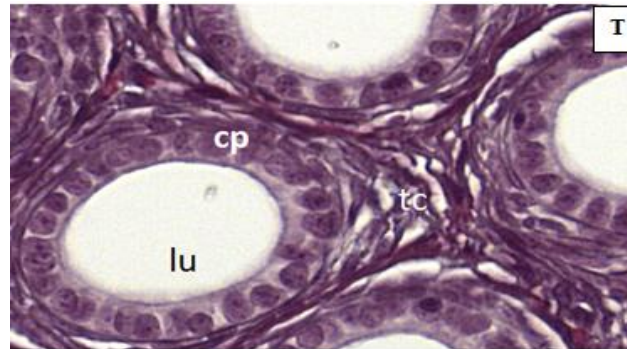


Planche 4 : Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins témoins âgés de 1 mois après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40).

Lu: Lumière, **cp** : Cellule principale

2.2. Epididymes des lapins traités par la Menthe poivrée

La structure histologique de l'épididyme des lapins traités par la Menthe poivrée aux doses de D1=500 μ l/kg et D2=700 μ l/kg montre, au fort grossissement, un tissu conjonctif intertubulaire qui contient des fibres conjonctives qui apparaissent mieux organisés par rapport aux témoins, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins.

L'épithélium de ces tubes est prismatique stratifié, alors qu'il été cubique chez les lapins témoins. Chez les animaux traités par la dose 1, est constitué de cellules principales avec des stéréociles grands et nombreux, de cellules étroites et de cellules basales qui apparaissent en abondance par rapport à ceux du lot D2. La lumière de ces tubes est vide, dépourvu des spermatozoïdes et plus réduit par rapport à ceux du lot témoin.

Tandis que l'épithélium des animaux traités par la dose 2 (700 μ l/kg), est pseudostratifié, constitué de cellules principales avec des stéréociles courts et moins nombreux.(Planche 5)

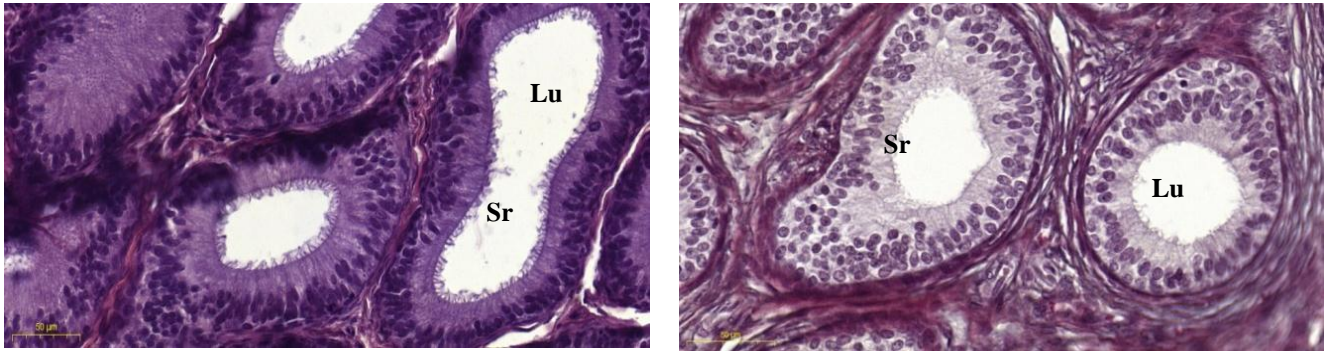


Planche 5: Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins âgés de 1 mois traités par la Menthe poivrée à doses respectives 500 et 700 $\mu\text{l}/\text{kg}$ après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40).

Lu : Lumière, **Sr :** Stéréociles

2.3. Epididymes des lapins traités par le Romarin à verbénone

L'épithélium des animaux traités par la dose 1 (500 $\mu\text{l}/\text{kg}$), de hauteur réduite, est constitué de cellules principales avec des stéréociles courts et moins nombreux, de cellules étroites et de cellules basales qui sont moins abondante par rapport à ceux traités par la Menthe poivrée.

Tandis que l'épithélium des animaux traités par la dose 2 (700 $\mu\text{l}/\text{kg}$) simple, constitué de cellules principales avec des stéréociles courts et rares, de cellules étroites et de cellules basales qui disparaissent le long de la lame basale. La lumière de ces tubes est vide, dépourvu des spermatozoïdes et plus réduit par rapport à ceux du lot témoin sous l'effet du développement de son épithélium. (Planche 6)

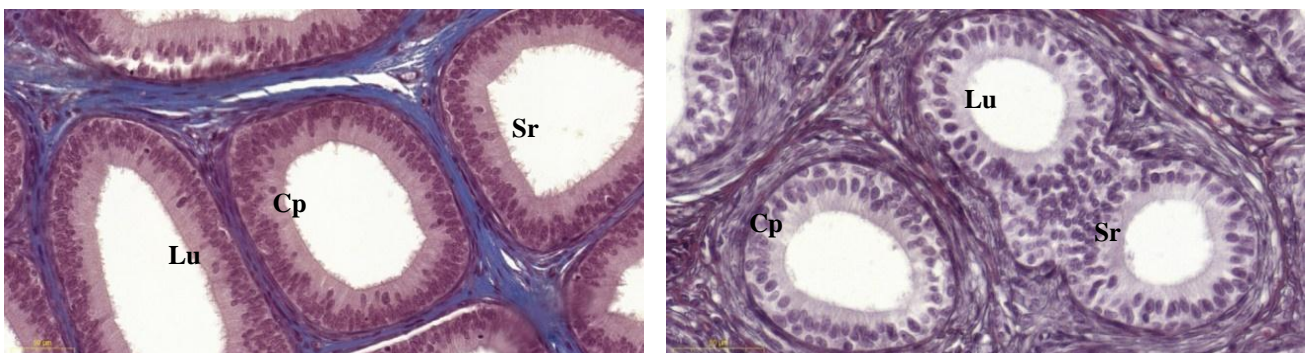


Planche 6 : Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins âgés de 1 mois traités par le Romarin à verbénone après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40).

Lu: Lumière, **Sr :** Stéréociles, **Cp :** Cellule principale.

3. Comparaison

L'huile essentielle « Menthe poivrée » présente un meilleur effet que l'huile essentielle « Romarin à verbénone » à la même dose, cela révèle que la Menthe poivrée induit l'apparition de nombre plus important de spermatoocytes au niveau des tubes séminifères, et permet l'apparition de cellules épithéliales épидидymaire bien développées et en abondance (cellules principales, cellules basales, cellules étroites) au niveau de l'épididyme ainsi que des stéréociles par rapport à l'huile essentielle « Romarin à verbénone ».



Chapitre V

Discussion

1. Poids corporel

Les résultats obtenus de cette étude révèlent un développement et évolution progressive des structures gonadiques (testicules, épидидymes) des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles « Menthe poivrée » et « Romarin à verbénone ».

Cependant, les paramètres macroscopiques (poids corporel, testiculaire et épидидymaire) montrent des valeurs plus importantes chez les lapins traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » par rapport à ceux traités par le « Romarin à verbénone » de ce fait on constate que la Menthe poivrée présente un meilleur effet.

Selon Piles *et al.* (2003), la croissance pondérale d'un animal est un caractère extrêmement variable en fonction des facteurs génétiques, alimentaire et/ou environnementaux. Après la naissance la régulation de la croissance pondérale chez le lapin n'atteint la pleine efficacité qu'au bout de 100 jours (Vézinhet, 1968). La croissance pondérale d'un animal résulte d'un développement en poids de chacun des éléments constitutifs de son corps (Micol *et al.*, 1993).

2. Evolution des poids et volume testiculaire et épидидymaire des lapins

Le poids et le volume testiculaires et épидидymaires des lapins au sevrage (âgés de 1 mois) est plus élevés respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée par la dose 1 (500µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 2 (700µl/kg) par rapport au lot témoin.

Les résultats obtenus sur le développement du poids des testicules et épидидymes des lapins infantiles sous l'effet des deux huiles essentielles la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone à deux doses différentes (500 µl/kg et 700 µl/kg), corroborent avec ceux obtenus par Haeri *et al.* (2006) sur l'effet de différentes huiles essentielles sur la fertilité des rats mâles comme l'huile essentielle de la sarriette (*Satureja khuzestanica*), administrée par voie orale à des doses de 75, 150 et 225 mg / kg / jour pendant 45 jours. Les rats traités et contrôlés ont été accouplés au 45ème jour du traitement. Ces auteurs ont constaté une amélioration considérable de tous les paramètres évalués tels que la puissance, la fécondité, l'indice de fertilité et la taille de la litière.

Selon Allrich *et al.* (1983), les dimensions des testicules et de l'épididyme sont très corrélées avec l'âge, le développement et le poids corporel. En effet une augmentation de la taille des testicules est due à l'augmentation du diamètre et de la largeur du tubule séminifère et l'augmentation du nombre de cellules de Leydig.

Selon Garcia Tomas *et al.*, 2007, l'augmentation du volume testiculaire est probablement liée à la prolifération cellulaire au niveau des tubes séminifères suite à une augmentation importante de testostérone plasmatique. L'évolution du poids des épидидymes se fait selon une courbe de croissance sigmoïde. Cette croissance est rapide, ce qui indique que l'activité spermatogénique pouvait avoir commencé.

Selon Iczkowski *et al.* (1991) l'augmentation du poids épидидymaire est probablement liée à la prolifération cellulaire due à une importante augmentation des niveaux de testostérone plasmatique entre 4 et 8 semaines d'âge qui a une action directe dans le maintien de la morphologie des cellules principales et dans l'inhibition de l'apoptose (Fan et Robaire, 1998).

Selon Nassem *et al.* (1998), des extraits de graines de *MomordicaCharantia* testés chez des rats pendant 35 jours ont montré une augmentation du poids épидидymaire, ce qui montre sa propriété androgénique.

En effet une étude similaire a montré que les rats qui ont été traités par l'extrait de la menthe verte « *mentha spicata* ». A la dose de 20 g /l pendant 35 jours à provoquer une diminution significative du poids des testicules, épидидymes, vésicule séminale et de la prostate tandis que à la dose de 40g/l de la menthe verte pendant 25jours, a causé une diminution significative de la LH sérique, FSH, la testostérone et la concentration des spermatozoïdes au niveaux de l'épididyme (Kumar *et al.*, 2008).

3. Histologie testiculaire et épидидymaire

La structure histologique des testicules et des épидидymes des lapins au sevrage (âgés de 1 mois) présente des variabilités microscopiques chez les lapins traités par la menthe poivrée, tel que l'apparition des spermatocytes I. Ainsi que la présence d'un épithélium prismatique, et différents types cellulaires.

Les résultats de la présente étude a montré que la structure histologique des testicules des lapins traités par l'huile essentielle « menthe poivrée » Révèlent à la dose de 500 µl /kg (D1), l'apparition d'un nombre important de spermatocytes I (cellules arrondies volumineuses aux noyaux ronds) dans tous les tubes séminifères et un tissu interstitiel resserré, tandis que la dose de 700 µl /kg a entraîné l'apparition des spermatocytes I moins nombreuses par rapport à la dose 1 et la mise en place de la lumière dans tous les tubes séminifères pour les lapins infantiles.

Les variables microscopiques comme l'apparition des spermatozoïdes dans les tubes épидидymaire, le diamètre du tube épидидymaire, la nature de son épithélium ou encore la taille de ses cellules sont utilisées comme indicateurs de la maturité sexuelle. Ces paramètres concordent modérément avec les variables macroscopiques en donnant une information supplémentaire quant à la maturité fonctionnelle des épидидymes (Schinckel *et al.*, 1983; Chemes, 2001).

D'après Bunsawat *et al.* (2004), les principaux composant actifs de l'huile essentielle de la menthe est le menthol, la menthone et l'acétate de menthyle et selon Da saliva-santos *et al.*, (2005), parmi les huiles essentielles potentiellement toxique, l'huile essentielle de la menthe dont le composé toxique est le menthol.

Les résultats obtenus corroborent avec ceux de Mukhallad *et al.* (2009), sur l'effet des grains de nigelle sur la spermatogenèse et la fertilité des rats mâles albinos qui selon, l'extrait aqueux de *nigella sativa* à 300mg/kg administrée par voie orale a entraîné l'augmentation significative de la hauteur des cellules épithéliales et de la fonction sécrétoires au niveau de la tête et la queue de l'épididyme chez les groupes traités par rapport aux groupes témoins. Ils constatent que le processus de la spermatogenèse et la fonction des organes reproducteurs accessoires dépendent de l'élévation de la concentration des androgènes.

Cependant l'augmentation des androgènes est confirmée par l'augmentation du nombre de spermatocytes (I et II) et des spermatides observées chez les groupes traités, car ces stades sont complètement dépendants des androgènes (Dym *et al.*, 1979). Une augmentation significative de la motilité des spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme a été observée

dans le groupe traité. Cela peut être dû aux effets de l'activité de *Nigella sativa* sur les enzymes de la phosphorylation oxydative (Azzarito *et al.*, 1996).

En effet selon Viger et Robaire (1996), la régulation des fonctions de l'épithélium et de la lumière de l'épididyme est sous le contrôle des androgènes les plus particulièrement 5 α -dihydrotestostérone (DHT) et 5 α -androstane-3 α , 17 β -ol (3 α -diol), issus de la conversion de la testostérone, sont considérés comme les modulateurs principaux de différentes fonctions de l'épididyme. Et selon Fan et Robaire (1998), la testostérone a une action directe dans le maintien de la morphologie des cellules principales épидидymaires et dans l'inhibition de l'apoptose.



CONCLUSION

CONCLUSION

Au terme de notre étude sur les effets des huiles essentielles ; la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone à deux doses différentes (500µl/kg et 700 µl/kg), il en ressort que le poids corporel, le poids et le volume testiculaire ainsi que ceux de l'épididyme chez les lapins infantiles, sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par la dose 1(500 µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 2 (700 µl/kg) par rapport au lot témoin.

Sur le plan histologique, l'huile essentielle la menthe poivrée a induit au niveau testiculaire l'apparition des spermatozoïdes dans les tubes séminifères pour les lapins âgés de 1mois infantiles, ainsi l'apparition de premières spermatides allongées et des spermatozoïdes chez les lapins âgés de 3mois par rapport aux structures testiculaires des lapins du lot témoin.

L'huile Menthe poivrée a induit l'apparition de spermatozoïdes I chez les lapins infantiles par la dose 1 (500 µl/kg) tandis que chez les lapins traités par la dose 2 (700 µl/kg) on observe une diminution du nombre de spermatozoïdes I par rapport aux témoins. Le Romarin à Verbénone a induit l'apparition dans certains tubes quelques spermatozoïdes I chez les lapins infantiles par la dose 1 (500 µl/kg) par rapport aux témoins tandis que chez les lapins traités par la dose2 (700 µl/kg) nous avons constaté une disparition des spermatozoïdes I

Au niveau épидидymaire, l'épithélium est devenu prismatique pseudo stratifié sous l'action de la Menthe poivrée alors qu'il est cubique chez les témoins, avec des stéréociles et des sécrétions épидидymaire plus développé et plus marqué. Ces deux huiles essentielles ont stimulé le développement de l'épithélium épидидymaire.

De ce fait il semblerait que l'huile essentielle de la menthe poivrée aux doses utilisées a un effet meilleur sur le développement des gonades, la spermatogenèse et la fertilité des lapins mâles infantiles.

Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt de :

- Etudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus ;
- Réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus élevées sur un effectif plus grand ;
- Renforcer cette étude par une étude histomorphométrique afin d'étudier les effets de la menthe poivrée sur des paramètres microscopiques (le diamètre des tubes séminifères, la hauteur des cellules épithéliales) ;
- Suivre cette expérimentation sur l'évaluation des cellules germinales, sur la qualité nucléaire et les mouvements des spermatozoïdes ;
- Etudier l'impact de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la fertilité féminine.



Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abadlia M. et Chebbour A. H. (2014).** Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire Master : Métabolisme secondaire. Département de biologie et écologie végétale : Université Constantine 1, 90p.
- **Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Gravel R.A., Trasler J.M., et Hermo L. (1999).** Characterization and development of the regional- and cellular-specific abnormalities in the epididymis of mice with bêta-hexosaminidase a deficiency. *J. Androl.* 20: pp: 803-824.
- **Allrich R. D., Christenson R. K., Ford J.J. et Zimmerman D. R. (1983).** Pubertal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and in vitro production of testosterone and estradiol-17 beta. *Biology of Reproduction.* Vol. 28. (4), 902-909.
- **Alvariño J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In: Proc. *7th World Rabbit Congresses.* Valencia Jul., 2000, vol. 8. (1), 13-35.
- **Alvarino M.R., (1993).** Control de la reproduction en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundi-prensa, 137p
- **Amann R.P. (1993).** Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, VOSS JL (eds), *Equine Reproduction*, 1ed. Lea et Febiger eds, Philadelphia, pp. 1137-1154 5.
- **Aubineau M., Bermond A., Bongler J., Roger J-Estardj. ; 2002.** Larousse agricole, Larousse VUEF. Canada ,379p.
- **Azzarito C., Boiardi L., Vergoni W., Zini M., Portioli I. (1996).** Testicular function in hypercholesteromic male patients during prolonged simvastatine treatment. *Horm. Metab. Res.*, 28 pp: 193-198.
- **Bardran. H. H. et Hermo L. (2002).** Expression and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241 -516.
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241 -516.
- **Bedford JM. (1979).** Evolution of the sperme maturation and sperm storage functions of the epididymis. In: fawcett dw, Bedford JM(éd). *The spermatozoa.* Baltimore: Urban ET schawarzenberg, pp: 7-21.

Références bibliographiques

- **Bonnes G., Desclaude J., Desclaude J., Drogoul C., Gadoud R., Jussiau R., Le Loc'h A., Montémas L. et Robin G. (2005).** Reproduction des animaux d'élevage. 2^{ème} Ed. Educagri : 407p.
- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion *Lavoisier* TEC et DOC : 240p.
- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion *Lavoisier* TEC et DOC : 240p
- **Brambell F.W.R. (1944).** The reproduction of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *proc. zool. Soc. lond.* 114, 1 -114.
- **Bridges NA., Hindmorsh PC., Pringle PJ., Matthews DR. et Brouk CG. (1993).** The relationship between endogenous testosterone and gonadotrophin secretion. (edition oxford) *Clin Endocrinol*, 38:373-378.
- **Bunsawat J., Elliott NE., Hertweck KL., Sproles E., Alice LA. (2004).** Phylogenetics of *Mentha* (Lamiaceae): Evidence from Chloroplast DNA Sequences. *Systematic Botany*. 29(4):959-64.
- **Chemes H.E. (2001).** Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int. J. Andrology*. 24: 2-7.
- **Chou I.P., Chuanl Y I., Chen-Chao. (1974).** Effect of heating on rabbit spermatogenesis *Chinese medical journal-vol. 6*, pp: 365-375.
- **Christiansen P., Andersson Am., Skakkebaek NE., Juul A. (2002).** Serum inhibin B, FSH,LH and testosterone levels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism.*European Journal Endoc* 147,95-101.
- **Cooper T.G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *Journal Reproduction and Fertiityl Suppl*, vol 53, p. 119-136.
- **Curtis S.K. et Amann R.P. (1981).** Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* 53: 1645-1657.
- **Da Silva-Santos A., Antunes A., D'avila L., Bizzo H., Souza-Santos L. (2005).** The use of essential oils and terpenics/terpenoids in cosméticos. *Perfumer et Flavorist*. PP: 30.

Références bibliographiques

- **Dacheux J.L., Belleannée C., Jones R., Labas V., Belghazi M., Guyonnet B., Druart X., Gatti J.L. et Dacheux F. (2009).** Mammalian epididymal proteome. *Mol Cell Endocrinol* 306, 45- 50.
- **Dacheux J.L., Gatti J.L. et Dacheux F. (2003).** Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microsc Res Tech* 61, 7–17.
- **Dadoune J.P. et Demoulin A. (2001).** Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). *La reproduction chez les mammifères et chez l’homme.* Edition INRA, Paris : 256-289.
- **Dohle GR., Smit M., et Weber RF. (2003).** Androgens and male fertility. *World J Urol* , 21 (5):341 -345.
- **Dym M.R., Raj H.G.M., Lin Y.C., Chemes H.E., Kotitje N.J., Nayfeh S.N., French F.S., (1979).** Is FSH required for maintenance of spermatogenesis in adult rats? *J. Reprod. Fertil.*,vol. 1. (26), 175-181.
- **EL kalamouni. (2010).** Caractérisations chimiques d’extraits de plantes, 22-38.
- **El-Masry K.A., Nasr A.S. et Kamal T.H. (1994).** Influence of season and dietary supplementation with selenium and vitamin E or zinc on some blood constituents and semen quality of new Zealand white rabbit males. *Worl. Rabbit sci.* 3: 79-86.
- **Eurell J.N. et Frappier B.L. (2006).** Dellmann’s textbook of veterinary histology. Blackwell Pub, Ames, Iowa.
- **Ewuola E.O. et Equnike G.N. (2010).** Effects of dietary of fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reprod.* 139 : 439-45.
- **Fan X. et Robaire B. (1998).** Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinol.* 139, 2128-2136
- **Finzi A., Morera P. et Macchioni P. (1994).** Modification of some rabbit spermatoc parameters in relationship to high ambient rabbit spermatoc parameters in relationship to high ambient temperatures.cath.option Méditeur. 8, 333-336.
- **Frolich A. (1948).** Some factors affecting semen production in rabbits. primo. congo intern. fisiopat. h.iprod. animal fecond. artif. , milano.
- **García-Tomás M., Sánchez J., Rafel O., Ramon J. et Piles M. (2007).** Développement sexuel post-natal chez le lapin : profils de croissance et de développement du testicule et l’épididyme dans deux lignées. 12èmes Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, France: 49-52.

Références bibliographiques

- **Girouard J. (2009).** Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes bovins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.
- **Grasse P. P. (1949).** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.-Paris : Ed. Masson et Cie : 979 p.
- **Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M. (2006).** Effect of Satureja khuzestanica essential oil on male rat fertility.Elsevier, *Fitoterapia*, 77, 495-499.
- **Hamon R., Thepot N. et Salaun G. (1999).** Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. *Editions Educagri* : 132p.
- **Hermo L. et Robaire B. (2002).** Epididymal cell types and their functions; Dans: The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice. Kluwer Academic/Plenum, pp: 81–102.
- **Hermo L., Adamali H. I. et Andonian S. (2000).** Immunolocalization of CA II and H⁺ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl* 21,pp: 376-391.
- **Hinton B.T. et Palladino M.A., (1995).** Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc. Res. Tech.* 30, pp: 67–81.
- **Hiroe K. et Tomizuka T. (1965).** Effets d'un environnement à température élevée sur la production de sperme chez les animaux domestiques. (jap.) - bulletin of the national Institute of animal industry, japan no 9, 27-3s.
- **Hoffer A.P., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1973).** The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis.*Anat. Rec.* 175: 169-201.
- **Iczkowski K.A., Sun E.L. et Gondos B. (1991).** Morphometric study of the prepubertal rabbit testis : germ cell numbers and seminiferous tubule demensions. *Am. J. Anat.* 190 : 266-72.
- **Nguyen S Y.,Bourouina. (2008).** Manuel d'anatomie et de physiologie (paris) :410-458.
- **Jardin A. et De Fourmestraux N. (1984).** In Mauvais-Jarvis P. médecine de la reproduction masculine. Ed. Flammarion Med. Sci. : 15-23.

Références bibliographiques

- **Joly T. et Theau-clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction. 7^{ème} Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C. 5 Décembre 2000 - Valencia "Ombres et Lumières" pp: 19-24.
- **Jones R., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1979).** Morphology of the epithelium of the extra testicular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. *Am J Anat.* 156, 373-400.
- **Junqueira L.C. et Cameira J. (2007).** Basic histology. 11th ed. *Copyright © The McGraw Hill Companies.*
- **Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012).** 100 intoxications chez les animaux de compagnie. Maloine, Paris, 185-186.
- **Kumar V., Kural MR., Pereira BMJ. et Roy P. (2008).** Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food Chem Toxicol.*; 46:3563–3570.
- **Le Moigne A. et Foucrier J. (2009).** Biologie du développement. 7^{ème} Edition. DUNOD Inc. 200 p.
- **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (accès 03/2009).
- **Lebas F., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990).** le lapin: élevage et pathologie. Collection F.A.O : production et santé animale pp 1 -210.
- **Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227p.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie édition FAO Rome : 1984-298p
- **Little T.V. et Holyoak Gr. (1992).** Reproductive anatomy and physiology of the stallion. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 8 (1), pp. 1 -29.
- **Liu H.W., Lin Y.C., Chao C.F., Change S.Y. et Sun Gh. (2000).** GP-83 and GP- 39, two glycoproteins secreted by human epididymis are conjugated to spermatozoa during maturation. *Molculaire human reproduction*, vol. 6, p. 422-428.
- **Macari M. et Machado C.R. (1978).** Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of semen. *Labo. Anim.* 12: 37-39.

Références bibliographiques

- **Mann T. et Parsons U. (1950).** Studies on the metabolism of semen. 6. Role of hormones. Effect of castration, hypophysectomy and diabetes. Relation between blood glucose and seminal fructose. *Biochem. J.* 46:440.
- **Marieb N.E. (2006).** Anatomie et physiologie humaines. 6^{ème} éd. nouveau pédagogique : 1096.
- **Martin H, Johnson et Barry J, Everitt, 2002.** Reproduction .De Boeck Université s.a.Paris.p298.
- **Martinet L. (1973).** Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. Conférence, Session ITAVI Toulouse, sept. 1973.
- **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.
- **Micol D., Robelin J. et Geay Y. (1993).** Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscle chez les bovins en croissance et à l'engrais. *INRA Production Animale.* Vol 6 (1):6169.
- **Mukhallad A., Mohamad A. et Hatham D. (2009).** Effects of Black Seeds (*Nigella Saitva*) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med Med Sci,* 4 (2), 386-390.
- **Nath D. et Majumber GC. (1999).** Maturation-dependent modification of the protein phosphorylation profile of isolated goat sperm plasma membrane. *Journal of reproduction and fertilization,* vol, 115, p.29-3.
- **Olson G.E. et Hinton B.T. (1985).** Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J. Androl.* 6: 20-34.
- **Piles M., Gianola D., Varona L. et Blasco A. (2003).** Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. *J. Anim. Sci.* 81, 2714–24.
- **Pollanen P. et Cooper T.G. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *J Reprod Immunol.* 26, 167-216.
- **Ramos A.S., JR., et Dym, M. (1977).** Fine structure of the monkey epididymis. *Am. J.Anat.* 149: 501-531.

Références bibliographiques

- **Robaire B. et Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure functions, and their regulation. In: Knobil E., Neill J. (éd.). *The physiology of reproduction*. New York: Raven press, pp: 999-1080.
- **Robaire B. et Viger R.S. (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol Reprod.* 52:226-236.
- **Robaire B., Hinto B.T. et Orgebin-Cris M.C. (2006).** The epididymis. In: Neill J.D. (ed) *physiol. of Reprod.* third. Edition. New York: Elsevier: 1071 -1148.
- **Roser J.F. (2008).** Regulation of testicular function in the stallion: an intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. *Anim Reprod Sci*, 2008. 107(3-4): p. 179-96.
- **Sabbagh M. (1983).** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires : 113p.
- **Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011).** Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J Androl* 13, 11 -17.
- **Schinckel A., Johnson R.K., Pumfrey R.A. et Zimmerman D.R. (1983).** Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 56 (5):1065-76.
- **Seiler P., Cooper T.G., et Nieschlag E. (2000).** Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int J Androl.* 23:65-76.
- **Siffroi JP. (2001).** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. p 1 -45.
- **Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.* 14: 151-154.
- **Soranzo L., Dadoune J.P. et Fain-Maurel M.A. (1982).** Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study. *Reprod. Nutr. Dev.* 22: 999-1012.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle Edition, éd. Ellipses (Paris) p: 928.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle édition, éd. Ellipses (Paris): page 258-260-276.

Références bibliographiques

- **Tortora G J., Grabowski S R et Parent J C. (1995).** Biologie humaine : Cytogénétique-régulation-reproduction. Edition CEC, collégial et universitaire, pages 311 -322.
- **Tulsiani DR., Skudlarek MD., Holland MK. et Orgebin-Crist MC. (1993).** Glycosilation of rat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biology of reproduction*, vol. 48, p. 417- 428.
- **Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard - Lyon 1 France. Octobre 1999. p1-4.
- **Veri J.P., Hermo L. et Robaire B. (1993).** Immunocytochemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J Androl* 14, 23- 44.
- **Vézinhet A. (1968).** Effets de l'hypophysectomie sur la croissance pondérale du lapin. *Acad Sci Ser.* Vol 266 : 2348-2351.
- **Viger RS. et Robaire B. (1996).** The mRNAs for the steroid 5alpha-reductase isozymes, types 1 and 2, are differentially regulated in the rat epididymis. *Journal of Andrology*, vol. 17, p.27-34.
- **Vigueras-Villasenor R.M., Montelongo-Solís P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013).** Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. *Acta Histochemica* : 9.
- **Virag G.Y., Mezes M. et Bersenyi A. (1992).** Effect of independent factors on semen characteristics in rabbits. *J. Appl. Rabbits res.* (15), 499-504.
- **Walter M.R, Martinet L., Moret B. et Thibault C. (1968).** Régulation Photopériodique de l'activité sexuelle chez le lapin mâle et femelle. *Archives d'anatomie, d'Histologie et d'Embryologie normales et expérimentales*, Tome SI, Fasc.1/8, 77S-780.
- **Widmaier H., Raff K. et Strang T. (2009).** physiologie humaine, maloine. p : 703.
- **Wosnitzer M.S. et Paduch D.A. (2013).** Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 163. (1) pp:16-26.
- **Wrobel K.H. (1990).** Male reproduction system. In: *Textbook of Veterinary Histology*, 2ème Ed: 226-243. testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *Journal of andrology*, vol.23, pp: 358-373.

Références bibliographiques

- **Xu L., Yang G., Chen Z., Hung S., Chen J., Jin S. et Ye Y. (1992).** Studies on integrative measures of raising the reproductive ability of the domestic rabbit during hot seasons. *J. Appl. Rabbit Res.* (15) 569-574.

Annexe 1 : Fiche technique d'histologie**Fiche technique N° 1 :****Bouin hollandaise** : fixateur (GABE, 1968)

Broyer à froid dans un mortier :

Acétate de cuivre 2,5 g

Eau distillée..... 100 ml

Agiter puis ajouter peu à peu :

Acide picrique..... 4 g

Le liquide se conserve indéfiniment.

Filtrer après complète dissolution et ajouter :

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

Acide acétique cristallisable..... 1ml

Fiche technique N° 2 :**Eau gélatinée de Masson** (MARTOJA et MARTOJA, 1967).

Gélatine en poudre0,1 à 0,5g

Eau distillée..... 100 ml

Verser la poudre dans l'eau distillée et laisser gonfler pendant un moment puis tiédir sur une platine chauffante.

Conservation limitée.

Fiche technique N° 3 :**Trichrome de Masson** (MARTOJA et MARTOJA, 1967)

Mode opératoire :

Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :

L'hématoxyline de Groat.. 3 minutes.

Lavage à l'eau courante 5 minutes.

Mélange fuchsineponceau 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Orange G 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Vert lumière 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Ensuite les coupes sont déshydratées et montées au baume de Canada.

Résultats :

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

Hématoxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

Première solution : Acide sulfurique concentré.....0,8 ml
 Alun de fer.....1g Eau
 distillée.....50 ml

Deuxième solution :

Hématoxyline.....0,5g
 Alcool à 95°.....50 ml

Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant une heure et filtrer.
 Se conserve pendant trois mois environ.

Mélange fuchsine acide ponceau (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

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

Après dissolution ajouter :

Acide acétique.....0,6 ml

Conservation illimitée

Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Acide phosphomolybdique ou phosphotungstique.....3 à 5g Eau
 distillée.....100 ml Orange
 G.....2g

Conservation illimitée

Vert lumière (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de deux huiles essentielles ; Menthe poivrée et Romarin à verbénone sur les structures gonadiques (testicules et épидидymes) du lapin mâle infantiles (*Oryctolagus cuniculus*), ainsi sur la fertilité des lapins mâles. Notre étude est portée sur 34 lapins mâles infantiles de la souche blanche synthétique, et deux huiles essentielles ; Menthe poivrée et Romarin à verbénone à deux doses différentes (D1 et D2), répartis en 3 lots et dans chaque lot 5 à 7 lapins; le premier lot est destiné aux lapins témoins, le deuxième lot est destiné aux lapins qui recevront la première dose (D1=500 µl/kg) et le troisième lot est destiné à ceux qui recevront la deuxième dose (D2=700µl/kg). Après avoir été pesé, certains de ces animaux ont été traités par la Menthe poivrée et d'autres par le Romarin à verbénone. Une semaine après, les testicules et épидидymes ont été prélevés et traités pour effectuer une étude histologique. La présente étude sur les effets de la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids total et volume) révèle que ces derniers sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par la dose 1 puis à la dose 2 par rapport aux témoins, ainsi que la Menthe poivrée présente un effet meilleur que le Romarin à verbénone.

Mot clés: Lapin mâle infantile, gonades, fertilité, huiles essentielles, Menthe poivrée, Romarin à verbénone, reproduction

Abstract

The aim of this study is to define the effects of these two essential oils; Pepper mint and Verbenone rosemary on the infantile male rabbit's gonadal structures (testicles and epididymis), as well as the fertility of male rabbits. Our study is about 34 infantile male rabbits of the white synthetic strain (*Oryctolagus cuniculus*), and two essential oils; Pepper mint and Verbenone rosemary with 2 different doses, separated into 3 lots within 5 to 7 rabbits in each one; the first lot is destined to witnessed rabbits, the second to the ones that will receive the first dose (500 µl/kg), and the third to others that will receive the second dose (700 µl/kg). After being weighted, some of these animals were treated by Pepper mint, while others were treated by Verbenone rosemary, After a week, the testicles and epididymis were removed and treated in order to establish a histological study. This study about the effects of the essentials oils on macroscopic standards (alive, total and relative weight), show out that these lasts are respectively higher for the rabbits that were treated by the first dose then the second comparing to the witnessed ones. It also reveals that Pepper mint has a better effect than the Verbenone rosemary.

Keywords: Infantile male rabbit, gonads, fertility, essential oils, Pepper mint, Verbenone rosemary, reproduction