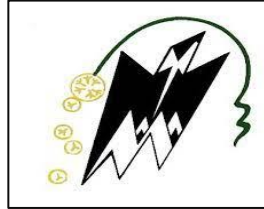


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie



Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention du diplôme de Master (LMD) en sciences biologiques

Option : Biologie et physiologie de la reproduction

Thème :

Etude de la distribution de la matrice extra cellulaire de la prostate au cours du développement post natal du lapin male de souche locale (étude histomorphométrique et immunohistochimique)

Présenté par

Mlle Ait Dahmane Saida

Soutenu devant le jury :

Mme Ben Abdeslam R.	Professeur UMMTO	Présidente
Mme Guendouzi S.	MAA UMMTO	Promotrice
Mr. Kheddach A.	MCB UMMTO	Examineur

2020-2021

Remerciements

Je centralise consciemment l'intuition de dieu qui m'a acheminé durant toutes les épreuves de ma vie jusqu'à d'ailleurs et pour toujours, Merci le bon dieu.

Madame **Guendouzi S.** MAA. Une orientation si veinarde qui m'a mené vers une enseignante encourageante pour me tenir la main pour ce si petit travail, votre personne notamment. De plus de voir en vous une confiance hardiesse de ce que vous faites, vous avez réussi à cibler minutieusement l'orientation de ce manuscrit. Mille mercis à vous pour tout ce que vous m'avez appris et surtout votre patience.

Madame **Ben Abdeslam R.** Professeur à l'UMMTO, un honneur pour moi que vous m'attribuez cette chance de présider mon modeste travail. Vous représentez une érudition que mon parcours a peu de chance d'en rencontrer une seconde fois. Merci de me lire et d'apporter votre touche unique pour mon travail comme vous l'étiez depuis toujours.

Monsieur **Kheddach A.** MCB, je voudrai vous présenter toute ma gratitude à vous. Vous avez su dégager une énergie positive à chaque fois que vous en prononcez un mot, je m'incline devant votre sagesse, merci de me corriger et de m'apprendre encore le plaisir d'étudier depuis la L3.

Le personnel du laboratoire de l'anatomie pathologie du CHU Tizi-Ouzou, merci pour votre aide, votre accueil pour mon stage pratique pour un mois m'a beaucoup apporté de bénéfices, je remercie plus particulièrement madame Karima Talbi.

L'ignorance est la plus grande affaire des savants.

(Tariq Ramadan)

Dédicaces

À la mémoire de la défunte ; ma grand-mère maternelle Ait Chikh née Ben Bouazza Ghnima qui m'a apporté beaucoup de leçons à ma vie, je prie dieu qu'il t'habite son paradis éternel et que le prophète (sws) soit ton compagnon.

Parce qu'on ne fait rien seul, il est impératif de remercier le bon dieu en premier lieu puis ...

Je dédie ce manuscrit à ma mère le symbole de patience, de sacrifice, de gentillesse et que sans elle je ne serai ce que je suis aujourd'hui, je te présente toute ma gratitude et mon respect et c'est vraiment grâce à toi et pour toi ce que j'essaie de faire preuve à chaque instant.

À mon père que dieu le guérisse.

À mon frère Amar, exemple de persévérance, du courage et la source de mon confort.

À ma sœur Nassima, qui m'accompagne dans chaque pas de ma vie et son mari Ould Ferroukh Lyes.

À mon frère Ferhat, l'unique centre de réconfort, j'admire ta sagesse, merci pour ta présence quotidienne, tu es mon bonheur.

À ma sœur Siham, qui ne cesse de m'orienter dans chaque épreuve que j'affronte et son mari Hakkoum Karim.

À mon frère Arezki, qui définit la notion de toute mon enfance, qui a joué et même bagarrer avec moi.

Aux prunelles de mes yeux; mes neveux : Ait Dahmane Aksel, Ould Ferroukh (Abderrahmane, Mohand oukaci, Ghnima et Massinissa abderrazak), Hakkoum (Aylan et Ghiles).

Parce que chaque rencontre a un sens, je tiens à présenter mon sincère dévouement à ces liens qui ne cessent de m'enseigner et m'aider, pour toutes ces personnes-là que je croise au quotidien plus précisément; Synia Chekri ma sœur du cœur, Tidia Laliem la source de mon sourire, les bichettes qui me jugent jamais (Liticia Bouzegzi, Markanda Boubarka, Mira Toudert), mes amies du lycée qui m'ont prouvées leurs sincère amitié avec moi (Kahina Ait Kaci Arab, Yasmine Ait Seddik, Laetitia Silhadi, Meriem Sidi Saïd), à mes amies de la cité universitaire Oued Aissi puis Tamda 4 et en fin tous mes camarades que j'ai pu avoir tout au long de mon parcours universitaire surtout Messad Medjber, kamilia Sadi, Meriem Malek, Naima Hadj Remdan, Karima Ouali, Katia Ouaked, Fouad Ziani.

En dernier lieu mais jamais la moindre gratitude, je voudrai laisser une trace ici de ces amies qui m'ont tellement marqué et que j'apprécie énormément : Meriem Belharbi, Sadia Redouani, Imene Sidi-Ouis, Lynda Haddadi, Batool Najee, Ahlem Larbi, Kahina Mennour.

Saida Ait Dahmane.

Liste des figures :

Figure 1 : Appareil génital du lapin male (Lebas et al 1996)	3
Figure 2 : Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique chez le mâle. (Valeri, 2013).....	4
Figure 3 : localisation de la prostate (Walz J., 2010)	6
Figure 4 : Anatomie zonale de la prostate tel que décrite par (Hamm B. et Ros P. 2013).....	7
Figure 5: Organisation cellulaire de la prostate (à gauche représentation schématique de l'organisation général de la prostate ; et à droite représentation schématique d'un épithélium prostatique et de son stroma (Aurélie, T. 2020)	8
Figure 6: Model de synthèse de la PSA et ses différentes structures (Steven P. et al ; 2021).....	10
Figure 7: Activation indépendante des androgènes de la transcription du gène PSA via diverses voies de transduction du signal (Jashuan et al ; 2004).....	11
Figure 8 : Les différentes étapes de formation du collagène (Eloïse, G. 2019).....	16
Figure 9 : Biosynthèse des fibres d'élastine (Eloïse, G. 2019).....	17
Figure 10: Structure générale des MMP (Frédéric D. 2003)	25
Figure 11: Récupération des blocs.....	28
Figure 12: Paillasse d'une coloration au Trichrome de Masson.....	29
Figure 13 : Automate benchMark-Ultra Ventana.	30
Figure 14 : Etuve de marque SAKURA.	32
Figure 15 : kit adéquat à l'automate et spécifique à l'IHC.	34
Figure 16 : Planches consommables adéquates à l'automate.	34
Figure 17 : Variation de la distribution de la MEC en niveau de l'espace séparant les acini glandulaires de la prostate du lapin de la souche locale au cours du développement post natal.	35
Figure 18 : Variation de la MEC en niveau de la périphérie de l'épithélium glandulaire de la prostate du lapin de la souche locale au cours du développement post natal.	36
Figure 19 : Variation de la distribution de la MEC an niveau de l'espace séparant les acini glandulaires de la prostate du lapin de la souche locale au cours du développement post natal.	38
Figure 20 : Variation de la MEC an niveau de la périphérie de l'épithélium glandulaire de la prostate du lapin de la souche locale au cours du développement post natal.....	39

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Principales molécules identifiées comme produites par les cellules stromales et épithéliales prostatiques, en réponse à une stimulation par la voie des androgènes.....13

Tableau 2 : Principales composantes structurales de la matrice extracellulaire et rôles majeurs.....26

Tableau 3 : réactivité de l'anti corps anti PSA sur son antigène spécifique fait sur des lapins à différents âges croissants.....45

Liste des planches :

Planche 1 : Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale en fonction de l'âge (M1, M3 et M6) et traitées par une coloration de Trichrome de Masson, observée au microscope optique au grossissement: GX40, GX100, GX400 et GX1000.....40

Planche 2 : Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale en fonction de l'âge (M1, M3 et M6) et traitées par une coloration de Periodique Acid Schif, observée au microscope optique au grossissement: GX400.....44

Planche 3 : Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale en fonction de l'âge (M1, M3 et M6) et traitées par une immunohistochimie, observée au microscope optique au grossissement: GX400..46

Liste des abréviations

ADN : Acide Disoxyribo-Nucléique

AFS:Stromafibromusculaire antérieur

AH: Acide Hyaluronique

APT : Acide Phosphotungstique

AR : Récepteur aux androgènes

CS : Chondroïtine Sulfate

CZ : zone Centrale

DAG: Di-acyl-Glycerol

DAP :Acide Di Amino-phosphatique

DHT: Di-Hydro-Testostérone

ER :Récepteur aux oestrogènes

FACIT: Fibril Associated Collagen with Iterupted Triplehelix

FGF: Fibroblaste Growth Factor

FSH: Folliculo-stimuling Hormon

GAGs: Glyco-Amino-Glycanes

GnRH: Gonadotrophine releasing hormon

HH: Hypothalamo-hypophysaire

HHG: Hypothalamo-Hypophyso-Gonadique

IHC : Immuno-Histo-Chimie

IL: Inter Leukine

IP3: Inositol-3-Phosphate

Kg: Kilogramme

KS: Kératane Sulfate

LH: Hormone Lutéinisante

MAPK:Mitogen Active Protein Kinase

ME: Eminence Median

MEC: Matrice Extra Cellulaire

MMP : Métallo-Protéase-Matricielle

MSMB : B-micro-sémino-Protein

PAS : Periodic Acid Schiff

PLC: Phospholipase C

PKc:Protein Kinase C

PSA :ProstaticSpecificAntigen

PSMA : Prostate Specific Membrane Antigene

PZ : Zone Périphérique

REL:Receptor Elastine-Laminine

RGD: Arginine Glycine Asparagine

Spz:Spermatozoide

TZ : Zone de transition

Sommaire

Introduction.....	1
Partie bibliographique.....	2
Chapitre I: Rappels anatomo-histologique et physiologie de la prostate	
I. Rappels sur l'appareil génital male :	3
I.1. Définition de l'appareil reproducteur male :.....	3
I.2. Anatomie de l'appareil reproducteur male chez le lapin :	3
I.3. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique :	3
I.4. Caractéristiques des lapins de la souche locale :	5
II. Structure de la prostate :	5
II.1. Définition de la prostate :	5
II.2. Génétique de la prostate :	5
II.3. Localisation de la prostate :	6
II.4. Anatomie de la prostate :	6
II.5. Histologie de la prostate :	7
II.6. Vascularisation et innervation :	8
III. Physiologie de la prostate	9
III.1. Développement de la glande prostatique	9
III.2. Activité de la glande prostatique :	9
III.2.1. La double fonction de la prostate :	9
III.2.2. Activité cellulaire de la prostate :	9
III.2.3. Expression Antigénique de la prostate (PSA) :	10
III.3. Métabolisme hormonal de la prostate :	11
<u>Chapitre II: Rappels sur la matrice extra cellulaire</u>	
I- Matrice extra cellulaire	4
I.1. Définition de la MEC :	4
I.2. Constituants moléculaire de la matrice extra cellulaire et origine génétique	
I.2.1. Partie fibrillaire	
I.2.1.1. Fibres de collagènes	

I.2.1.2. Fibres d'élastine	
I.2.2. Glycoprotéines	
II. Configuration et arrangement de la matrice extra cellulaire	
II.1. Constituants fibrillaires	
II.2. Constituants polysaccharidiques	
II.2.1. Glycoprotéines matricielles	
II.2.1.1 Fibronectine	
II.2.1.2. Laminine	
II.2.1.3. Ténascine	
II.2.2. Les glycosaminoglycanes et les protéoglycanes	
II.3. Lamelle basale	

III. Physiologie et rôles de la matrice extra cellulaire

III.1. Stabilité physiologique de la matrice extra cellulaire

III.2. Métalloprotéases matricielles

III.3. Rôles de la matrice extra cellulaire

Partie expérimentale

I. Objectif de l'expérimentation :	28
I.1. Lieu et durée de l'expérimentation :	28
I.2. Matériels biologiques :	28
II. Taxonomie du lapin :	28
II.1. Caractéristiques de la souche locale :	29
II.2. Récupération des blocs :	29
III. Coloration au Trichrome de Masson	30
III.1. Principe de la coloration :	30
III.2. Préparation des solutions :	30
III.3. Coloration proprement dite :	31
III.4. Montage des lames :	31
IV. Coloration PAS :	31
IV.1. Principe de la coloration :	32
IV.2. Procédure de la coloration :	32

IV.3. Montage des lames :	33
V. Immunohistochimie PSA.....	33
I- Evolution de la MEC au cours du développement post natale	47
Conclusion	

Introduction

Introduction

La prostate est un organe sexuel secondaire annexé à l'appareil reproducteur male. C'est en premier lieu ; une glande exocrine à l'origine de la production du liquide séminal (Boussit, 1989), et en particulier la synthèse d'une glycoprotéine de 237 acides aminés, la PSA « prostatic specific antigen » par l'épithélium prostatique exclusivement et dont la fonction principale est de lyser les protéines du liquide séminal et de rendre le sperme suffisamment fluide. (Chanez 2015)

Le fonctionnement de la prostate est lié à l'interaction de l'épithélium de nature glandulaire avec le stroma conjonctif riche en éléments matricielle ou matrice extracellulaire, ce qui permet un lien entre le milieu intra et extra cellulaire. En effet, la prostate est composée, en volume, d'environ 30% de cavité, 30% de tissu épithélial, 10 à 20% de tissu musculaire et environ 20% de tissu conjonctif riche en composant matriciel (Theresa Y 2000).

Cette matrice extracellulaire constitue un réseau structuré et complexe de diverses macromolécules de nature protéique et glucidique et d'enzymes protéolytiques. Ces molécules lient entre les cellules homologues ou hétérologues et les organisent en tissus (Huxley-Jones, et al ; 2008). Elle est constituée d'un groupe important et varié de macromolécules dynamiques qui fournissent un support structurel et constitue une barrière physique. La matrice suscite également des réponses cellulaires et leur régulation, en plus, ses interactions sont impliquées dans le développement et la formation des organes. (George E. 2000).

De plus, les cellules épithéliales ; des tissus glandulaires reposent sur une matrice spécialisée, la membrane basale, qui constitue l'élément matriciel fonctionnel du pôle basale des cellules. (Julien Chlasta 2016).

Ainsi, dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de distribution de la matrice extra cellulaire au niveau de la prostate au cours du développement post natale, ceci chez le lapin male de la souche locale. De ce fait, la contribution des profils de distribution de la matrice extra cellulaire permettra la compréhension de la physiologie prostatique d'une part et d'en savoir plus sur la relation entre la reproduction et la production de cette source indéniable de protéine dans notre région à fin d'en tirer différent profits.

La rédaction ci présente forme une mosaïque composée d'une visite bibliographique assez détaillée sur la prostate comme glande annexe de l'appareil reproducteur male en premier lieu, puis la matrice extra cellulaire comme environnement si intimement relatif à elle. En deuxième partie ; ça va partir sur la partie expérimentale ou nous avons utilisé la coloration spéciale des fibres de collagènes ainsi que des membranes basales pour mieux suivre leur distribution avec l'âge des animaux. De plus, nous avons réalisé une étude immuno-histo chimique en s'y servant de l'immuno-marquage de la PSA à fin de suivre l'évolution sur un autre aspect qui aidera à mieux comprendre la fonction exocrine de l'épithélium prostatique de la souche de lapin locale.

Partie bibliographique

Chapitre I

Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

I. Rappels sur l'appareil génital male

L'appareil génital du lapin male, se situe à la face postérieure, s'extériorise par des bourses peu marquées par rapport aux autres mammifères (Boussit 1989). Il a d'une manière générale deux fonctions primordiales ; la production des spermatozoïdes et leurs dépôts dans les voies génitales féminines d'une part et la sécrétion des hormones sexuelles d'une autre part (Alvarino 1989).

I.1. Définition de l'appareil reproducteur male

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

I.2. Anatomie de l'appareil reproducteur male chez le lapin

Chez le lapin l'appareil génital male est similaire à celui des autres rongeurs. Il comporte trois grandes portions qui sont : la portion glandulaire constituée par les testicules, la portion tubulaire constitué par l'épididyme, le canal déférent et l'urètre, la portion copulatrice constituée par le pénis comme le montre la **figure 1**. (Barron R. 2001)

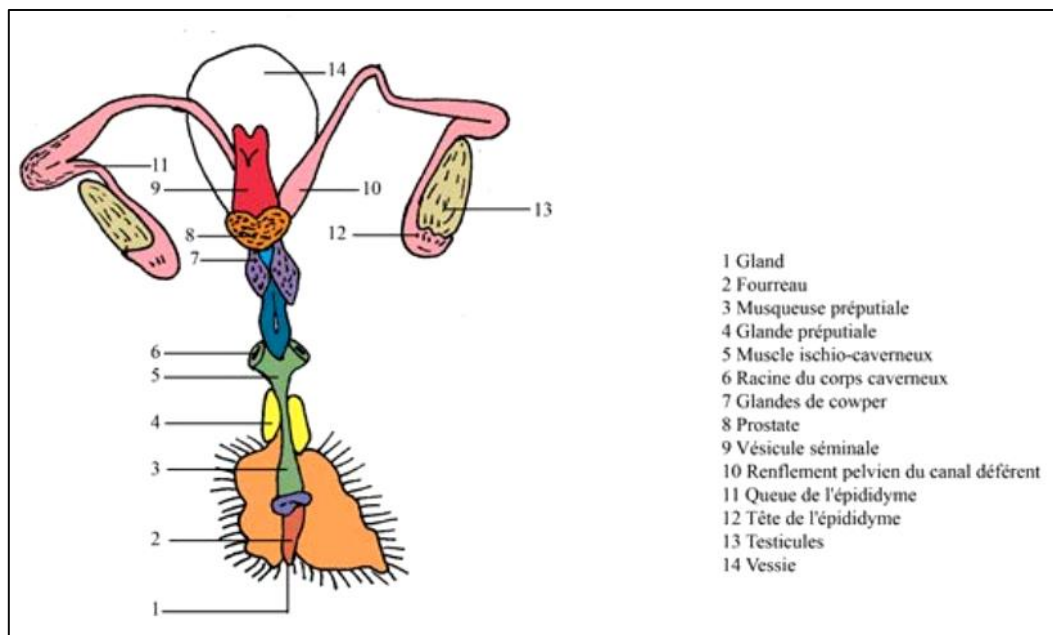


Figure 1 : Appareil génital du lapin male (Lebas et al 1996)

I.3. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique

Les circuits neuroendocrines qui orchestrent les fonctions gonadiques constituent le régulateur central principal de l'axe gonadotrope. D'une part, la population hypothalamique de neurones à GnRH constitue

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

l'incitateur des événements endocriniens qui permettent de synthétiser et de sécréter les gonadotrophines lutéinisante LH (Luteinizing Hormone) et folliculostimulante FSH (Follicle Stimulating Hormone) via l'action du neuropeptide GnRH qui représente l'effecteur principal de l'axe HHG, capable d'atteindre des cibles extra cérébrales et d'initier l'activation de l'axe hypophyso-gonadique. (Wildt, L. ; et al 1981)

La GnRH est synthétisée par les neurones à GnRH dont les corps cellulaires qui sont situés dans l'aire pré-optique et le septum médian et les terminaisons nerveuses projetant dans l'éminence médiane (ME). Les sécrétions pulsatiles de GnRH stimulent la sécrétion des gonadotrophines FSH (Follicle Stimulating Hormone) et LH (Luteinising Hormone). Les gonadotrophines sont libérées dans la circulation générale et stimulent la production des stéroïdes sexuels. Ces derniers exercent un rétrocontrôle sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (HH) pour réguler la production de FSH et LH. Chez le mâle les stéroïdes sexuels exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe (HH).(Drouiche, L. 2016)

La LH et la FSH sont sécrétées par les cellules gonadotropes. Sous l'effet de la LH, les cellules de Leydig du tissu interstitiel synthétisent de la testostérone qui agit de manière autocrine et paracrine sur les cellules de Sertoli localisées dans les tubes séminifères. Cette testostérone est également libérée dans la circulation sanguine afin d'agir sur les différents organes cibles et exerce également au niveau des cellules gonadotropes un signal de rétrocontrôle négatif sur la LH. La FSH exerce une action stimulatrice sur la cellule de Sertoli et régule la sécrétion de l'hormone antimüllérienne et l'inhibine B; cette hormone étant la principale régulatrice de la FSH au niveau central par rétrocontrôle négatif comme le montre la **figure 2**. (Bruno, F. M. 2016)

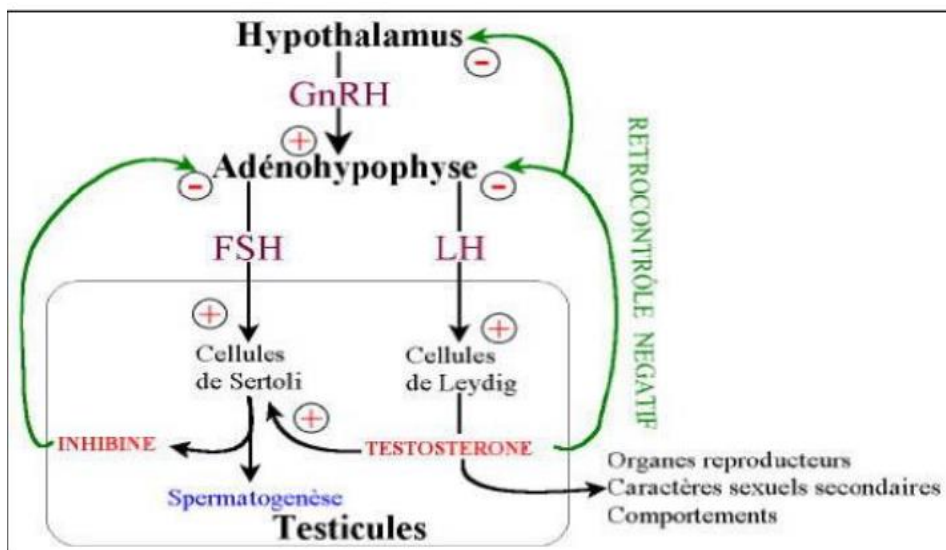


Figure2 : Axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique chez le mâle. (Valeri, 2013)

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

I.4. Caractéristiques des lapins de la souche locale

Les principales performances qui caractérisent la population locale des lapins sont : une variabilité phénotypique, un petit format, une prolificité faible, une bonne fertilité, un poids adulte beaucoup trop faible pour espérer produire avec ce type génétique des lapins de 2,3-2,4 Kg de manière rentable (poids d'abatage trop proche du poids adulte), et une bonne aptitude de reproduire toute l'année y compris en été avec les conditions climatiques du nord algérien. (Zerrouki N. 2006)

II. Structure de la prostate

II.1. Définition de la prostate

La prostate est une glande qui entoure le canal de l'urètre, qui permet l'évacuation de l'urine provenant de la vessie, ainsi que les voies spermatiques. Formés par la convergence des canaux déférents et suivis des vésicules séminales au niveau de la base prostatique pour recevoir le flux de spermatozoïdes depuis les testicules ainsi que le plasma séminal des vésicules séminales annexes et se mélangent au liquide prostatique, formant le sperme fécondant. Le fonctionnement de la prostate est lié à l'interaction de l'épithélium et du stroma prostatique qui contient la matrice extracellulaire, des fibroblastes, des capillaires, des cellules endothéliales lymphatiques, des cellules musculaires lisses, des cellules neuroendocrines et des axones. (Colls, P. 2020)

II.2. Génétique de la prostate

Certains gènes homeobox, parmi lesquels NKX3.1 et HOXB13, sont à l'origine du développement et la maturation prostatique.

HOXB13 joue un rôle dans le développement et l'entretien de la maturation et le NKX3.1 est un facteur de transcription, qui se lie préférentiellement à la séquence consensus 5'-TAAGT [AG]-3' et peut se comporter comme un répresseur transcriptionnel.

HOXB13 joue un rôle important dans le développement normal de la prostate, régulant la prolifération de l'épithélium glandulaire et dans la formation de canaux dans la prostate. NKX3.1 est un gène suppresseur de tumeur spécifique à la prostate et que la perte d'un seul allèle peut prédisposer à la carcinogénèse de la prostate (Uzgare, AR. 2004)

Les échanges entre cellules stromales et épithéliales couplé à l'action des stéroïdes sexuels sont la base du principe du fonctionnement de la glande prostatique, qui est à l'âge adulte dépendante de la testostérone plasmatique bio disponible.

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

II.3. Localisation de la prostate

La prostate est dans une situation topographique particulière, puisqu'elle est en contact étroit avec l'appareil urinaire. Les conduits déférents naissent de l'épididyme de chaque testicule, pénètrent dans l'espace sous-péritonéal par le canal inguinal pour rejoindre les canaux des vésicules séminales en arrière de la vessie et former ainsi les canaux éjaculateurs. (Older R.A., Watson L.R. 1996)

Elle entoure l'urètre prostatique dans son trajet depuis le col vésical jusqu'au sphincter strié situé autour de l'urètre membraneux sous l'apex prostatique (Walz J., 2010).

Comme c'est bien montré dans la figure 3 ; la prostate est une glande pelvienne médiane située dans l'espace sous péritonéal entre la symphyse pubienne, en avant, et le rectum en arrière. Elle comprend une base en rapport avec le col vésical et un apex reposant sur le plancher pelvien en contact étroit avec le muscle levatorani (Walker J.W. 1906).

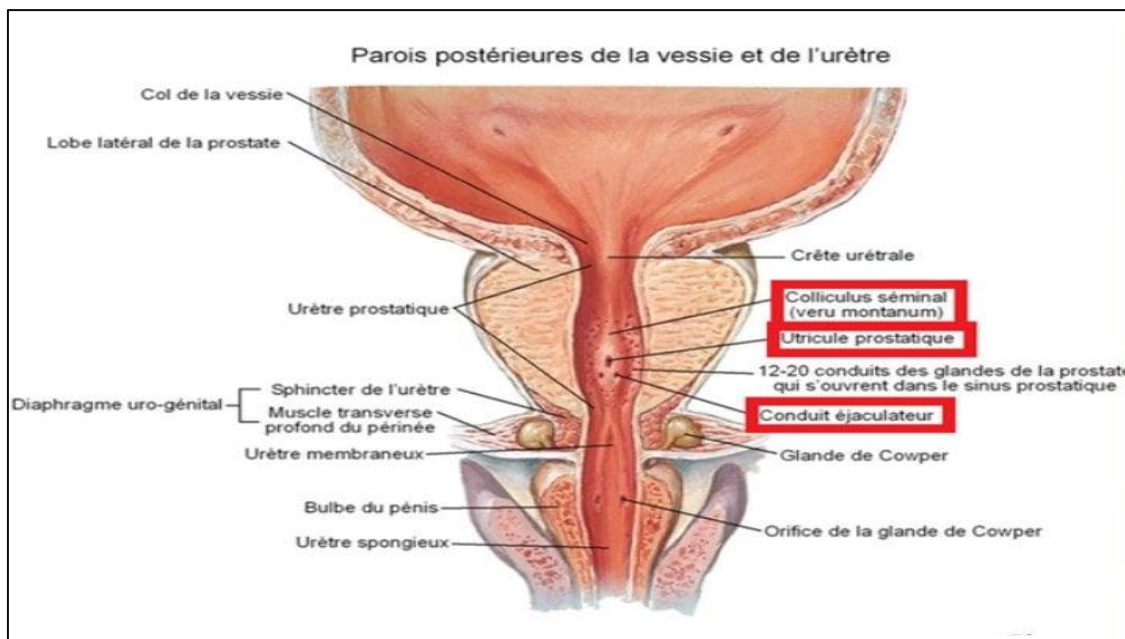


Figure 2 : localisation de la prostate (Walz J., 2010)

II.4. Anatomie de la prostate

La prostate est entourée d'une couche de fibres de collagènes et de cellules musculaire lisses qu'on appelle capsule prostatique. On distingue 4 zones de la prostate chacune avec une composition et une évolution particulière comme le montre la Figure 4 : la zone centrale, la zone de transition et la zone périphérique qui constitue la partie glandulaire et le stroma fibro-musculaire antérieur qui est une zone non glandulaire. La zone de transition est la zone de la base de la prostate directement autour de l'urètre. La zone centrale est la région de la base de la prostate autour des canaux éjaculateurs. La zone périphérique est la

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

plus importante et représente 80% de la prostate et se situe dans la zone postérieure de la prostate en contact avec le rectum. La dernière région est la zone antérieure qui est la plus proche de l'abdomen et composée d'un stroma fibro musculaire. (McNeal JE, Bostwick DG 1984)

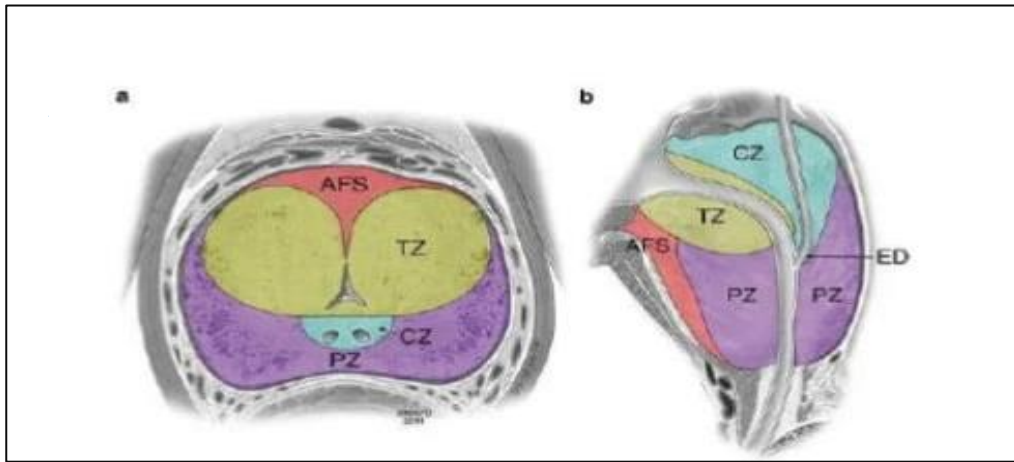


Figure 3 : Anatomie zonale de la prostate tel que décrite par (Hamm B. et Ros P. 2013)

Coupe axiale (a) et sagittale (b) AFS stroma fibromusculaire antérieur, CZ zone centrale, PZ zone périphérique, TZ zone de transition, ED canal éjaculateur.

II.5. Histologie de la prostate

La prostate est une glande complexe, formée de 30 à 40 glandes tubulo-alvéolaires formant des unités fonctionnels qu'on appelle lobules. On distingue les acinis où sont produits les liquides prostatiques et les canaux où sont excrétés. Les zones glandulaires de la prostate sont composées d'un épithélium qui constitue trois types cellulaires : les cellules luminales bien différenciées qui sécrètent le liquide prostatique et la PSA, les cellules basales indifférenciées sont localisées en profondeur entre les cellules luminales et la membrane basale sous-jacente, et en fin les cellules neuroendocrines qui représentent la population très minoritaire en contact avec la membrane basale dont l'action a une influence sur la viabilité des cellules ; cela est schématisé dans la **figure 5** à gauche. (Aurélien, T. 2020)

La glande prostatique est entourée d'une pseudo-capsule composée d'une couche interne musculaire lisse et d'une couche externe de collagène. L'urètre prostatique proximal est entouré de fibres musculaires lisses constituant le sphincter lisse urétral qui en se contractant lors de l'éjaculation, permet d'éviter l'éjaculation rétrograde. À l'apex prostatique, l'urètre est entouré des fibres musculaires lisses et striées du sphincter intrinsèque de l'urètre qui s'insinuent au niveau de la paroi distale de l'urètre prostatique. (Ayala AG et al; 1989).

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

La prostate est majoritairement constituée de tissu glandulaire tubulo alvéolaire et de fibres musculaires lisses. Mais aussi d'une zone du stroma fibro musculaire antérieur développé à partir du col vésical en proximal et du sphincter strié en distal. Située en avant de l'urètre prostatique, cette zone constituée de fibres musculaires lisses et striées est complètement dépourvue de tissu glandulaire. Ce stroma est composé entre autre par les cellules musculaires lisses, les cellules immunitaires, les fibroblastes les vaisseaux qui sécrètent les cytokines les facteurs de croissance et protéines de la matrice extracellulaire comme le démontre la **figure 5** à droite. (McNeal JE., 1988)

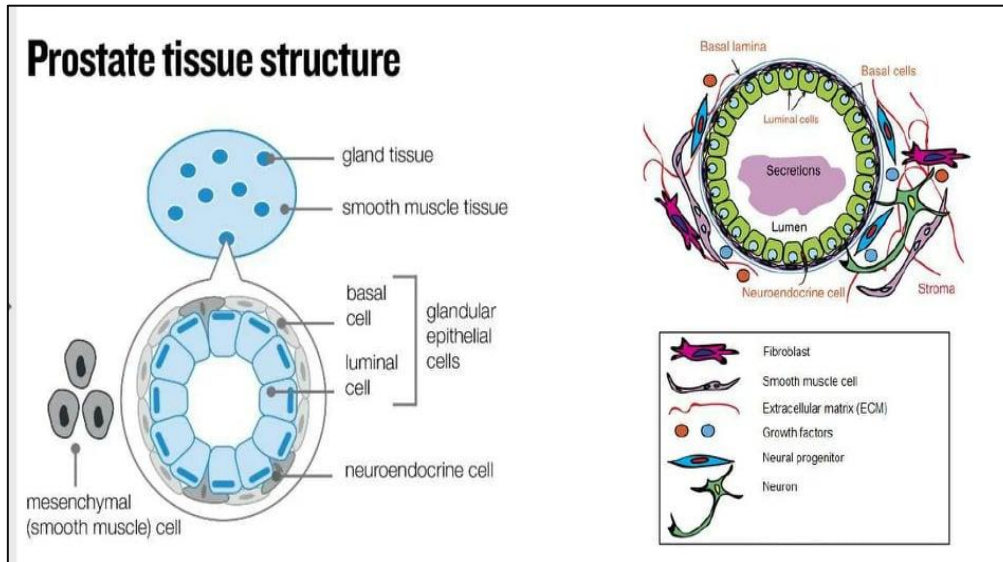


Figure 4: Organisation cellulaire de la prostate (à gauche représentation schématique de l'organisation général de la prostate ; et à droite représentation schématique d'un épithélium prostatique et de son stroma (Aurélie, T. 2020)

II.6. Vascularisation et innervation

La vascularisation de la prostate est issue de l'artère iliaque interne par l'intermédiaire de l'artère vésicale inférieure. Les branches urétrales vascularisent le col vésical et la prostate péri-urétrale alors que les branches capsulaires antérieures et postérieures vascularisent la prostate périphérique. Ces artères vésicales inférieures donnent une ou plusieurs artères pudendales accessoires qui passent sous la symphyse pubienne pour vasculariser les corps érectiles du pénis. Le drainage veineux prostatique se fait par le plexus de Santorini parcourant le fascia pré prostatique pour rejoindre les veines iliaques internes. (Dietrich H. et al .1997)

La prostate possède une riche innervation végétative et Le contingent glandulaire possède une innervation principalement cholinergique. Elle est entourée par des pédicules vasculo-nerveux participant à la réponse sexuelle masculine (nerfs caverneux et spongieux, artères pudendales accessoires et plexus veineux de Santorini). Mais son rôle direct dans la sexualité n'est lié qu'à l'éjaculation. (Colls, P. 2020)

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

III. Physiologie de la prostate

III.1. Développement de la glande prostatique

La prostate se développe chez les fœtus masculins au cours du 3ème mois, à partir du sinus urogénital. Sa formation est issue de l'invasion du tissu mésenchymateux adjacent par la composante épithéliale (mésodermique et endodermique) du sinus urogénital. La croissance dynamique de la glande et son développement en canaux systématisés et bilatéraux résulte d'une interaction moléculaire primordiale entre le tissu mésenchymateux et le tissu épithélial. (Cunha, GR. 1994)

De dimensions très réduites chez l'enfant, la prostate se développe extrêmement rapidement à la puberté et acquiert dans l'espace de 6 à 12mois la structure propre à la glande adulte. Sa croissance se poursuit lentement jusqu'à l'âge de 35 ans. Dès l'âge de 45ans la prostate subit une involution ou devient siège des altérations caractéristiques des hypertrophies prostatiques. (Fleisch, A.; et Krähenbühl, C. 1956).

III.2. Activité de la glande prostatique

III.2.1. La double fonction de la prostate

La localisation de la prostate au croisement de l'urètre et des canaux éjaculateurs semble être à l'origine de sa double fonction urinaire et génitale. La confluence entre les tractus urinaires et génitaux aux confins de la prostate explique la proximité anatomique et les rapports intimes entre les appareils urinaires et génitaux masculins. Les modifications anatomiques de la prostate en rapport avec le vieillissement peuvent par conséquent être impliquées dans l'apparition des symptômes urinaires et sexuels. (Seisena ; T., et al, 2012).

III.2.2. Activité cellulaire de la prostate

L'augmentation de la taille de la prostate à la puberté est très rapide, surtout quand on contraste avec son taux de croissance avant la puberté. De la naissance à 13 ans, le volume moyen passe d'environ 1 à 4 cm, tandis qu'entre la treizième et quatorzième année, le volume s'élève à environ 10cm. Cet élargissement est dû presque entièrement au développement du système alvéolaire. Les premiers changements observés consistent en un élargissement de la lumière des bourgeons terminaux des canaux prostatiques et de l'amincissement de leur épithélium à une couche unicellulaire. Les cellules s'allongent radialement et leurs noyaux prennent une disposition basale.(Swyer G. I. M. 1944)

Les interactions entre le stroma et l'épithélium sont indispensables pour le développement physiologique de la prostate. Les cellules luminales sont androgéno-dépendantes et la castration d'ailleurs les mènent à la mort par apoptose, contrairement aux cellules basales qui sont androgéno-sensible mais pas totalement androgéno-dépendante car elles survivent à la castration et sont ensuite capable de reformer un épithélium

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

prostatique complet. La composition du stroma est dépendant des androgènes et varie avec l'âge. (Aurélien, T. 2020)

III.2.3. Expression Antigénique de la prostate (PSA)

PSA; abréviation de l'anglais « Prostatic Specific Antigen », une glyco protéine de 237 acides aminés produite exclusivement par l'épithélium prostatique et s'agit d'une protéase dont la principale fonction est de lyser les protéines du liquide séminal et de rendre le sperme suffisamment fluide. La PSA ; se retrouve dans les canalicules et la lumière des glandes prostatiques mais une faible proportion est absorbée par le compartiment vasculaire. L'augmentation de son taux sanguin traduit une anomalie de la prostate qui peut être bénigne ou maligne. Son taux dans le sang est exprimé en nano grammes par millilitres (ng/ml) et le résultat est habituellement considéré comme normal quand c'est inférieur à 4 ng/ml.(Chanez 2015)

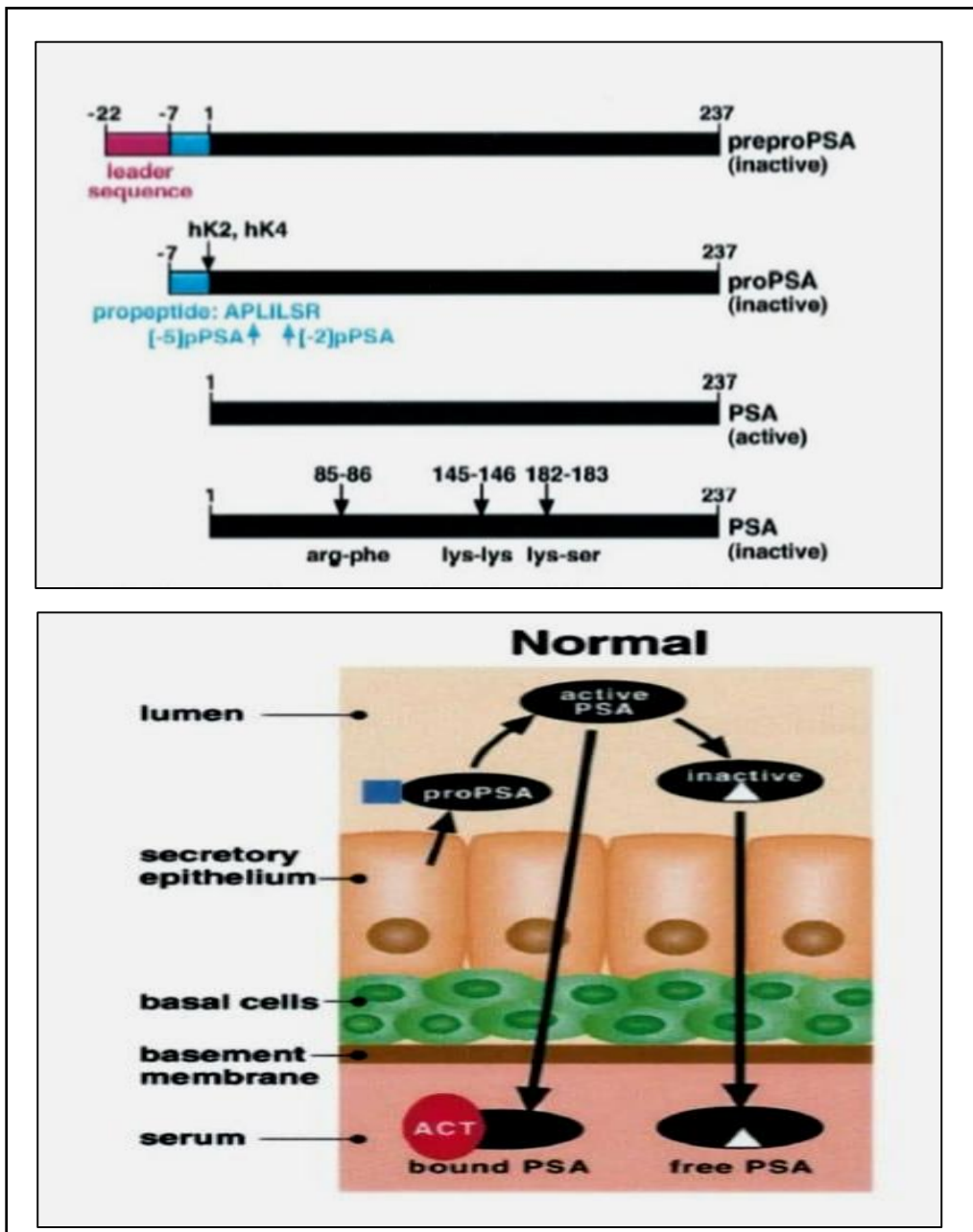


Figure 5: Model de synthèse de la PSA et ses différentes structures (Steven P. et al ; 2021)

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

La PSA est une sérine protéase régulée par les androgènes. Elle est produite principalement par l'épithélium canalaire et acineux de la prostate et sécrété dans la lumière où sa fonction est de cliver la séménogéline 1 et 2 dans le coagulum séminal. La PSA qui entre intact dans la circulation sanguine est rapidement lié par les inhibiteurs de la protéase. L'épithélium sécrétoire normal entouré de cellules basales et d'une membrane basale sécrète la proPSA dans la lumière où le pro peptide est éliminé par hk2 pour générer de la PSA active. Une fraction de cette PSA active peut entrer dans la circulation lorsqu'elle est liée par l'inhibiteur de protéase alpha 1 antichimotripsine. La PSA active subit également une protéolyse dans la lumière pour générer de la PSA inactif qui peut entrer dans la circulation sanguine et circuler à l'état non lié comme le montre la **Figure 6**. (Steven P. et al ; 2021)

Le gène PSA est un membre de la famille des gènes codant la kallekréine comme la sérine protéase. L'expression du PSA est principalement induite par les androgènes et régulée par les récepteurs aux androgènes au niveau transcriptionnel mais aussi un certain nombre de processus, y compris l'activation indépendante des androgènes et leurs récepteurs, sont impliqués comme le montre la **figure 7** ci-dessous. (Jashuan Kim and Gerhard A. Coetzee 2004)

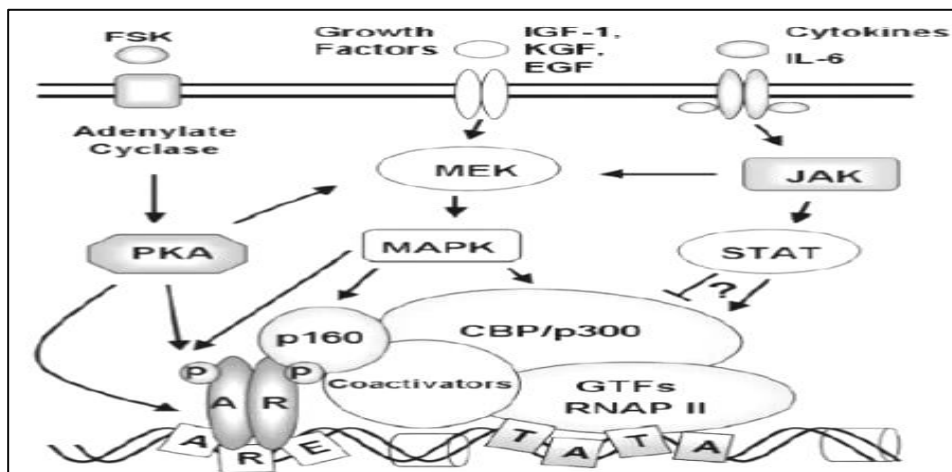


Figure 6: Activation indépendante des androgènes de la transcription du gène PSA via diverses voies de transduction du signal (Jashuan et al ; 2004)

III.3. Métabolisme hormonal de la prostate

Les hormones androgéniques stimulent la croissance, le métabolisme et les fonctions sécrétoires de la glande prostatique. Les hormones œstrogènes exercent en général une action inhibitrice. La croissance et le développement de la prostate sont androgéno-dépendant.

L'homéostasie prostatique inclut de nombreux mécanismes :

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

- ❖ une régulation endocrine (via testostérone, œstrogènes, prolactine, vitamines et peptides sanguins),
- ❖ un mode neuroendocrine (sérotonine, ...),
- ❖ un mode paracrine (des facteurs de croissance produits localement par la prostate diffusent localement vers les cellules adjacentes via la matrice extracellulaire),
- ❖ un mode autocrine (via la synthèse de la PSA)
- ❖ un rôle spécifique de la matrice extracellulaire elle-même en modifiant les paramètres d'adhésion cellulaire.

Ce fonctionnement complexe résulte de la production par les cellules prostatiques de nombreuses molécules à action locale ou à distance (mode endocrine) ainsi que des constituants libérés dans la lumière des acini prostatiques, constituants du sperme, dont le Prostate Specific Antigen (PSA), d'autres kallikréine, des transglutaminases et séménogélines, les prostate specific-membrane antigen (PSMA, et la β -microsémipoprotéine (MSMB)).

L'action des stéroïdes au niveau cellulaire prostatique provient essentiellement par la conversion de la testostérone en DHT sous la dépendance de deux isozymes : 5α RD1 et 5α RD2. Ces deux formes sont présentes dans la prostate mais également dans d'autres tissus. La 5α RD2 a une affinité plus élevée pour la testostérone. Ainsi, la conversion de la testostérone a lieu principalement dans les cellules stromales où la 5α RD2 est prédominante, mais est aussi possible dans les cellules épithéliales. La liaison de la DHT au récepteur des androgènes provoque l'activation ou la répression des gènes aboutissant à la sécrétion de PSA et PAP par la cellule épithéliale. Au sein de la cellule stromale, l'action de la DHT résulte en la production de substances variées, dont des facteurs de croissance et cytokines essentiels à l'homéostasie prostatique (prolifération, différenciation, apoptose). (Jean-Nicolas Cornu 2014)

Le rôle des œstrogènes au niveau des cellules prostatiques est complexe et mal connu. Les œstrogènes ont une influence sur l'homéostasie prostatique via les récepteurs aux œstrogènes ($ER\alpha$ et $ER\beta$), qui pourraient modifier l'action du couple DHT-AR sur l'ADN.

Le récepteur $ER\alpha$ est localisé dans les cellules stromales et son activation a un effet prolifératif sur ces dernières, et aboutit à une métaplasie épithéliale ; le récepteur $ER\beta$ est localisé dans les cellules épithéliales et son activation entraîne des fonctions antiprolifératives, de pro-différenciation, associées à un effet anti-inflammatoire et antioxydant. (Fung KY. et al, 2004)

La voie de signalisation du récepteur aux androgènes facilite ce rôle à la fois dans le compartiment épithélial et dans le stroma sous-jacent. Le stroma est un médiateur clé des effets androgènes sur l'épithélium et peut réguler à la fois le destin de la cellule souche épithéliale et potentiellement l'initiation et la progression du cancer de la prostate. Différents groupes de facteurs de croissance sont exprimés par le stroma, qui contrôlent la prolifération et la différenciation de l'épithélium de la prostate, démontrant un rôle critique du stroma dans

Chapitre I Rappels anatomo-histologiques et physiologie de la prostate

la croissance épithéliale et l'homéostasie. (Berry PA. et al 2008). Le **tableau** ci-joint résume certaines de ces actions que jouent les molécules sécrétées par la prostate.

Tableau 1: Principales molécules identifiées comme produites par les cellules stromales et épithéliales prostatiques, en réponse à une stimulation par la voie des androgènes (Berry PA. et al 2008)

Facteur	Récepteur	Actions
FGF-2	FGFR-1,4	Prolifération, angiogénèse, et chimiotactisme, action autocrine et paracrine prédominant sur les cellules stromales, faible sur les cellules épithéliales
FGF7	FGFR-2	Prolifération épithéliale, différenciation stromale, développement de canaux glandulaires
FGF8	FGFR-1,4	Prolifération, stimulé par les androgènes (andromédine)
FGF9	FGFR-3	Mitogène
FGF10	FGFR-2	Régulation paracrine de la croissance épithéliale
TGFβ 1-3	TGFβ R 1-2	Inhibiteur de la croissance et de la migration des cellules épithéliales, stimulation de la migration de cellules stromales Transdifférenciation des fibroblastes en myofibroblastes Blocage de la croissance des cellules stromales Induction de la production de matrice extracellulaire Favorise la production de FGF-2
PDF	ERK1/2 pathway	Prolifération des cellules porteuses de AR
PDGF	-	Stimulation de TGF beta, IGF-1, HGF, FGF-2, endothelin-3
EGF/ TGF alpha	EGFR/erbB1	Croissance cellulaires, mitogène
HGF	c-Met, nucleolin	Croissance cellulaire, angiogénèse Effet paracrine sur les myofibroblastes et epithelium
IGF-1	IGF-R1	Produit par les cellules stromales, stimule la croissance et la prolifération des cellules épithéliales, blocage de l'apoptose
IL-6	IL6-R	Sécrété par les cellules stromales, sur un mode autocrine et paracrine, module l'activation du récepteur AR
VEGF		Sécrété par les myofibroblastes, stimule l'angiogénèse tumorale

Chapitre II

Rappels sur la matrice extra cellulaire

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

L'activité des cellules de tout l'organisme est modulée par un grand nombre de facteurs présents dans leur environnement. En plus des facteurs solubles tels que les hormones, cytokines et facteurs de croissance, les cellules reçoivent aussi des signaux des macromolécules de la matrice extracellulaire (MEC) qui les environnent ce qui permet aux tissus d'effectuer leur fonction physiologique spécifiques (Maquart; 1999).

I- Matrice extra cellulaire

I.1. Définition de la MEC

La MEC décrite comme un support architectural, est considéré comme un véritable système intégré et dynamique dans lequel les différents composants qui la constituent confèrent des messages contrôlant l'activité cellulaire. (Maquart, 1999)

La matrice extracellulaire est un réseau structuré et complexe de diverses macromolécules de nature protéique et glucidique et d'enzymes protéolytiques. La MEC lie entre les cellules homologues ou hétérologues et les organisent en tissus. (Jones J et al 2008)

Les interactions entre cellules et la MEC permettent l'ancrage solide des cellules dans les tissus et rendent possible l'échange d'informations. Les informations peuvent passer des cellules vers la MEC (inside-out) et aussi des constituants de la matrice vers les cellules (outside-in) pour les informer de l'état et des modifications qui y sont rencontrées. Cette interaction cellule-matrice est spécifique de chaque tissu à la suite de la différenciation des cellules qui le constitue et définit ainsi la condition de la capacité des tissus d'effectuer leur fonction physiologique spécifique. (Keller 1995)

I.2. Constituants moléculaires de la MEC et origine génétique

La MEC est un assemblage de différents types de macromolécules. On y retrouve: des protéines fibreuses très volumineuses (collagène, élastine), des glucides complexes (polysaccharides: les Glycosaminoglycanes et les protéoglycanes) et des glycoprotéines moins volumineuses (fibronectine et laminine), importantes dans l'adhésion des différents constituants de la matrice avec les cellules ou entre eux (Labat-Robert, J. 2005).

I.2.1. Partie fibrillaire

I.2.1.1. Fibre de collagène

La molécule de collagène est synthétisée sous la forme d'un précurseur qui est le pro collagène, composé de 2 chaînes pro- α 1 et d'une chaîne pro- α 2 qui résulte de la transcription puis de la traduction respective des gènes COL1A1 et COL1A2. Chaque chaîne α est composée d'environ 1400 acides aminés qui présentent une partie globulaire à leur extrémité N- et C-terminale de 10nm de long et le motif Gly-X-Y

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

répété dans leur partie centrale sur une distance de ~300nm et sont stabilisées par des ponts disulfures intra et inter-chaînes pour former des triples hélices selon un mode d'association en fermeture éclair jusqu'à l'extrémité N-terminale et aussi globulaire. La présence des glycines, dont la chaîne latérale est composée d'un unique atome d'hydrogène, permet aux trois chaînes polypeptidiques de s'associer en une triple hélice. Les glycines vont se retrouver à l'intérieur de l'édifice et les résidus X et Y exposeront leurs chaînes latérales plus encombrantes à la surface de la triple hélice. (Wood et Keech, 1960)

La position X est très régulièrement occupée par des prolines ou des lysines qui vont être hydroxylées par des enzymes spécifiques qui nécessitent comme cofacteurs des atomes de fer, du dioxygène et de l'ascorbate pour réaliser la réaction d'oxydation des acides aminés. La position Y est le plus souvent occupée par des lysines, dont le groupement amine libre permet l'ajout de groupement osidiques acétylés. Les ajouts de sucre lors du processing de la protéine dans le réticulum endoplasmique ainsi que le degré et la position des hydroxylations des résidus Pro et Lys est dépendant du type de cellules (et donc du tissu) qui sécrètent la molécule de collagène.

Les trois chaînes α sont synthétisées et modifiées dans le réticulum endoplasmique indépendamment l'une de l'autre. A la sortie du réticulum endoplasmique, les triples hélices du pro collagène transitent par l'appareil de Golgi où elles sont concentrées dans des vésicules adressées à la membrane plasmique. Les molécules de pro collagènes sont solubles dans les vésicules de sécrétion. Leur relargage dans l'espace extracellulaire entraîne l'action des enzymes N et C pro peptidases qui vont cliver spécifiquement les deux pro peptides pour enfin former la molécule de collagène native sous la forme d'une triple hélice de 300nm de long et de 1,5nm de diamètre portant à ses deux extrémités une courte structure non hélicoïdale nommée N et C télépeptides comme le montre la **figure 8** ci-dessous. (Wood et Keech, 1960)

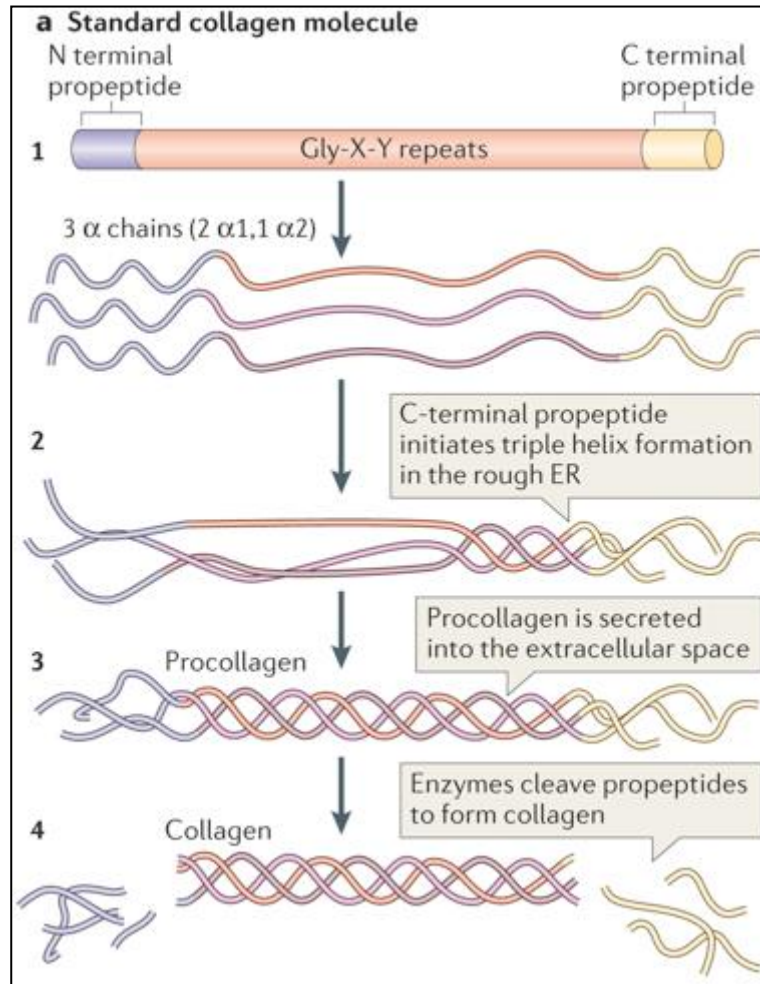


Figure 7 : Les différentes étapes de formation du collagène (Eloïse, G. 2019)

I.2.1.2. Fibre élastine

L'élastine est synthétisée par de nombreux types cellulaires incluant les fibroblastes, les cellules musculaires, et à un degré moindre par les kératinocytes, les chondrocytes et les cellules endothéliales. Le gène de l'élastine, présent en une seule copie, est localisé au niveau du chromosome 7 (7 q 11.1 — 21.1) et est constitué de 34 exons de faible taille (27—186 paires de bases), dispersés dans de larges introns. Ces exons codent de façon alternée des domaines hydrophobes et des domaines de type poly alanine-lysine. L'une des particularités du gène de l'élastine réside dans le fait qu'il peut être assujéti à un épissage alternatif important dans lequel un exon est inclus ou délité. (Wise SG 2008)

Les différentes étapes de synthèse de l'élastine sont :

- la transcription du gène
- l'épissage différentiel des ARN pré messagers
- la traduction des ARNm, l'hydroxylation de quelques résidus proline

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

- l'association de la protéine néo synthétisée (la tropoélastine) avec une protéine chaperonne de 67 kDa
- la sécrétion des molécules de tropoélastine dans l'espace extracellulaire et leur déposition sur le réseau des glycoprotéines de structure microfibrillaires.
- L'élastine devient insoluble et assure sa fonction d'élasticité après la synthèse des acides aminés de pontage, comme le montre la **Figure 9**.

La synthèse de l'élastine est très contrôlée au cours du développement surtout par de nombreux facteurs solubles tels que les cytokines, les vitamines et les hormones ainsi les contraintes hémodynamiques. Cela dans le but d'assurer sa fonction, la quantité et la qualité de l'élastine dans les tissus doivent être restée optimales. (Jacob, M. 2001)

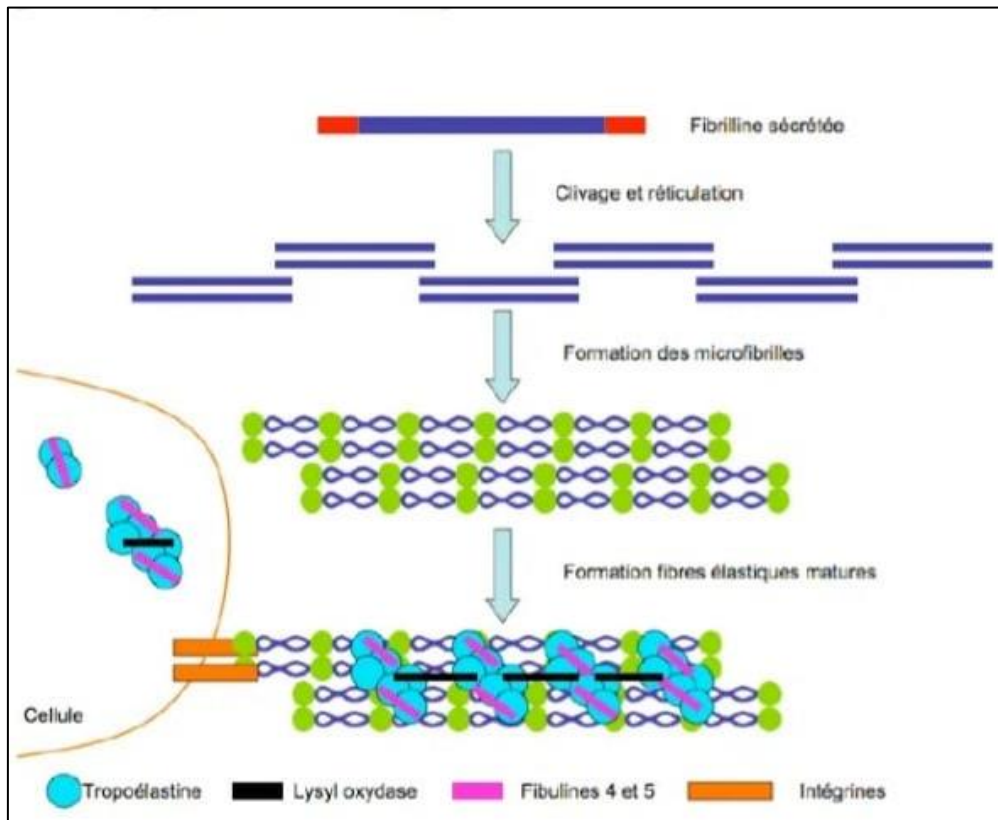


Figure 8 : Biosynthèse des fibres d'élastine (Eloïse, G. 2019)

I.2.2. Glycoprotéine

La biosynthèse des glycoprotéines matricielles est un processus complexe qui implique des réactions enzymatiques qui ont lieu dans le cytoplasme (synthèse des précurseurs nucléotidiques) et sur la face interne (synthèse d'intermédiaires liés aux lipides) et la face externe (réactions de polymérisation) de la membrane cytoplasmique. Les étapes cytoplasmiques de la biosynthèse des peptidoglycanes peuvent être divisées en quatre ensembles de réactions menant à la synthèse de (1) UDP-N-acétylglucosamine à partir de fructose 6-phosphate, (2) acide UDP-N-acétylmuramique de UDP-N-acétylglucosamine, (3) UDP-N-acétylmuramyl-

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

pentapeptide à partir d'acide UDP-N-acétylmuramique et (4) acide D-glutamique et dipeptide D-alanyl-D-alanine. (Hélène B., 2008)

Les chaînes polysaccharidiques sont bio synthétisées par un mécanisme qui semble résulter d'une séquence non ambiguë d'acides aminés. Suite à l'incorporation au niveau polysomal des résidus glucidiques (glycosylation), de nombreux résidus d'acides aminés sont modifiés (enzymatiquement) qui sont des groupements séryle, thréonyle et asparaginyne qui vont donner naissance à une glycoprotéine qui est une protéine liée de façon covalente à un oligosaccharide, ou une protéoglycane qui est une glycoprotéine liée à un glycosaminoglycane (GAGs). (Hélène B., 2008)

II. Configuration et arrangement de la MEC

II.1. Constituants fibrillaires

L'appartenance d'une protéine à la famille des collagènes se fait par la présence d'un motif d'acides aminés spécifique et d'un domaine en triple hélice dans sa structure tertiaire. La séquence primaire des molécules de collagène présente le motif répété Gly-X-Y, où à la position X on retrouve le plus souvent une proline et à la position Y une hydroxy proline. Suivant la molécule de collagène considérée, la triple hélice peut être homotypique, c'est-à-dire formée par l'assemblage de trois chaînes α identiques, ou hétérotypique résultant de l'association de au moins deux chaînes α différentes. A ce jour 28 molécules de collagène ont été identifiées, réparties selon 7 groupes en fonction de leur structure primaire et de leur organisation supramoléculaire. Les collagènes qui s'organisent en fibrilles sont les plus fréquemment rencontrés dans les tissus et représentent ~90% de l'ensemble des collagènes. Dans ce groupe on peut citer les plus importants que sont les collagènes I, II, III et V.

Les collagènes de la famille FACIT (Fibril Associated Collagen with Interrupted Triplehelix) sont retrouvés à la surface des collagènes fibrillaires et semblent impliqués dans la régulation de leur diamètre. Leurs structures, en triple hélice interrompue, les rend plus souples que les triples hélices pleines chaînes, ce qui augmente le nombre et la forme d'arrangements supra moléculaires potentiels.

La famille des collagènes formant des réseaux ; possède la spécificité d'être codé par 6 gènes dont les produits s'associent pour former trois hétérodimères différents. (Gelse et al, 2003)

Les collagènes formant des filaments perlés, dont la molécule phare est le collagène VI, sont retrouvés dans un grand nombre de tissus où ils forment des liens structuraux avec les cellules. Les triples hélices de collagène VI (hétérotrimère) s'associent deux à deux pour former un dimère, qui s'associe avec un second dimère pour former un tétramère qui finalement, s'organiseront les uns à la suite des autres en micro fibrilles flexibles présentant des excroissances latérales de leurs parties globulaires apparaissant ainsi comme des perles. (Canty et Kadler, 2005)

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

Les fibres élastiques sont constituées d'un composant amorphe principal : l'élastine, associée à des éléments micro fibrillaires et à des constituants situés à l'interface élastine-microfibrilles. Leurs architectures est différente selon le tissu considéré et reflète des fonctions spécifiques.

Leur formation est complexe et fait intervenir de multiples étapes impliquant des éléments régulant la synthèse, le transport, la coacervation et la réticulation de la tropoélastine, précurseur soluble de l'élastine. L'agencement de ces globules sur le manteau de microfibrilles contribue à la formation de ces fibres (Robert L. 1999).

Les fibres élastiques assurent l'élasticité du tissu conjonctif. L'élastine est le composant majeur des fibres élastiques ; elle est associée à des microfibrilles composées de glycoprotéines de structure comme les fibrillines et les microfibril-associated-glycoproteins (MAGP) constituant un réseau microfibrillaire, dépourvues de striation. L'élastine a tendance à s'enrouler sur elle-même et se lie aux collagènes pour éviter l'étirement et le déchirement des tissus. Les fibres de collagènes sont dispersées en nombre variable dans le tissu conjonctif lâche. (Kielty CM, 2002)

L'élastine est un composant majeur de la matrice extracellulaire. Les peptides d'élastine dérivent de sa dégradation et sont présents dans le sérum humain ; ils induisent des effets biologiques variés en interagissant avec des fibroblastes, des cellules phagocytaires, des lymphocytes, des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales, médiés par les récepteurs d'élastine-laminine présents sur ces mêmes cellules. La voie de signalisation du récepteur élastine-laminine (REL) implique l'activation de la phospholipase C (PLC) par une protéine G sensible à la toxine de Bordetellapertussis. La PLC induit la production d'inositol triphosphate (IP3) conduisant à l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire libre d'une part, et d'autre part du diacylglycérol (DAG) ; il s'ensuit la translocation de la protéine kinase C (PKC) à la membrane qui induit à son tour, la phosphorylation des protéines kinases mitogènes activées (MAPK), tel le p42/p44 MAPK. (Fülöp, T. 2001)

II.2. Constituants polysaccharidiques

II.2.1. Glycoprotéine matricielle

Les glycoprotéines de structure sont des protéines sur lesquelles sont greffées de courtes chaînes glucidiques. Certaines sont ubiquitaires comme la fibronectine, d'autres ont des localisations plus spécifiques comme les laminines des membranes basales. Bien qu'hétérogènes en taille, structure et distribution tissulaire, ces glycoprotéines ont plusieurs points communs : elles contiennent plusieurs domaines structuraux et fonctionnels, plusieurs sites de fixation aux cellules via les intégrines ou autre récepteurs dont le plus fréquent contient la séquence Arg-Gly-Asp (RGD), plusieurs sites d'interactions avec les autres macromolécules extracellulaires. La plupart de ces glycoprotéines sont des multimères.

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

II.2.1.1. La fibronectine

La fibronectine est une glycoprotéine extracellulaire ubiquitaire. Elle est présente sous forme soluble (fibronectine plasmatique sécrétée par les hépatocytes et les cellules endothéliales) dans les liquides de l'organisme et sous forme insoluble dans la MEC (fibronectine tissulaire) où elle est sécrétée par les fibroblastes, les cellules musculaires lisses, les chondrocytes, les cellules endothéliales et épithéliales. Elle présente de nombreux sites de liaison pour des protéines de la MEC (comme le collagène et la thrombospondine), des récepteurs membranaires (tels que les intégrines), des protéines du sang circulant (comme la fibrine), des GAGs (comme l'héparine et le chondroïtine-sulfate).

La fibronectine, en plus de son rôle de molécule majeure de l'adhérence cellulaire avec le tissu conjonctif, intervient dans la communication cellulaire. La liaison fibronectine-intégrines membranaires peut activer des voies de transduction du signal via des protéines kinases ou le cytosquelette modifiant le comportement cellulaire (par exemple prolifération, différenciation, motilité). Ainsi, la fibronectine joue un rôle fondamental au cours de l'embryogénèse (aide à la migration des cellules lors du développement embryonnaire) et dans de multiples processus physiologiques (cicatrisation, hémostase, angiogénèse) ou pathologiques (inflammation, cancérogénèse). La fibronectine possède également un rôle dans l'organisation de la MEC grâce à l'organisation des sites de fixation sur sa molécule et dans l'organisation du cytosquelette des cellules. (Verderio, EA. 2004)

II.2.1.2. La laminine

Les laminines sont des hétéros trimères de 850 kDa. Elles participent à la structure des membranes basales dans lesquelles elles interagissent avec le collagène de type IV via l'entactine/nidogène et le perlécan (protéoglycane à héparane-sulfate). Les laminines contrôlent l'adhésion, la prolifération, la différenciation et la polarisation des cellules avec lesquelles elles interagissent en plus de posséder certaines fonctions de signalisation. Dans la membrane basale, les laminines forment la base architecturale, avec le collagène de type IV.

Les autres glycoprotéines de structure sont la vitronectine, l'entactine, les ténascines, les thrombospondine, l'ostéonectine (ou SPARC/BM40) et les glycoprotéines associées à l'élastine. Chacune de ces molécules a une localisation et un rôle spécifique : lors de la synthèse des fibres élastiques par exemple ; les glycoprotéines forment une charpente sur laquelle se déposent les molécules de tropoélastine. Ainsi, l'entactine joue le rôle d'un connecteur multifonctionnel capable de relier laminine, collagène de type IV, fibuline et perlecan et stabilise donc la structure tridimensionnelle moléculaire de la MEC et maintient la cohésion tissulaire. (Hallmann, R. 2005)

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

II.2.1.3. La ténascine

Les ténascines sont une famille de glycoprotéine qui comporte quatre membres : les ténascines C, les ténascines R, les ténascines X, les ténascines W. Elles sont synthétisées par les cellules de la matrice extra cellulaire. Les ténascines ont des séquences répétées heptad et EGF-like, des domaines de fibronectines de type III et un domaine C-terminal globulaire. Au domaine N-terminal se trouve le domaine d'oligomérisation. Qui mène à la formation d'hexamères dans le cas des ténascines C et W et de trimères pour les ténascines R. Les ténascines X forment également d'oligomères. En tant que protéines matricellulaire, les ténascines vont réguler l'adhésion et la migration. Les ténascines C peuvent également inhiber l'activité de la focal adhesion kinase (FAK et Rho) qui sont des molécules qui peuvent influencer le cytosquelette d'actine. (Eloïse, G. 2019)

II.2.2. Les glycosaminoglycanes et les protéoglycanes :

Les protéoglycanes sont constitués d'une protéine centrale et d'une ou plusieurs chaînes GAG liées de manière covalente. Les GAG sont des polysaccharides linéaires, dont les éléments constitutifs (disaccharides) sont constitués d'un sucre aminé (soit GlcNAc ou GalNAc) et d'un acide uronique (GlcA et IdoA). Pratiquement toutes les cellules des mammifères produisent des protéoglycanes et les sécrètent dans la MEC, les insèrent dans la membrane plasmique ou les stockent dans des granules sécrétoires. Les protéoglycanes matriciels comprennent de petits éléments interstitiels (décorine, biglycane, fibromoduline), une forme de protéoglycane du collagène de type IX, et un ou plusieurs membres de la famille agrécane des protéoglycanes (aggrécane, brevican, neurocan ou versicane). Certains de ces protéoglycanes ne contiennent qu'une seule chaîne GAG (par exemple, la décorine), tandis que d'autres ont plus de 100 chaînes (par exemple, l'aggrécane). (Kjellen, L. et al, 1991)

Les GAG sont des chaînes polysaccharidiques linéaires sulfatées comprenant les Héparine/Héparan Sulfate (Hep/HS), Chondroïtin Sulfate (CS) et Keratan Sulfate (KS). L'acide hyaluronique (AH) est un GAG non sulfaté particulier non associé à un corps protéique. Les HS et les CS, sont des polysaccharides linéaires sulfatés situés à la surface des cellules et la matrice extracellulaire où ils influencent les fonctions des cellules. Les GAGs sont connus pour se lier et réguler l'activité d'un certain nombre de protéines différentes appelées «protéines de liaison héparine», y compris les chimiokines, facteurs de croissance, des enzymes et des molécules d'adhésion.

Les glycosaminoglycanes (GAG) sont nécessaires au bon fonctionnement de ce tissu en raison de leurs interactions avec les cytokines hématopoïétiques. (Lionel F. 2015)

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

II.3. La lame basale

La membrane basale est une forme spécialisée de matrice extracellulaire et a été reconnue comme un régulateur important du comportement cellulaire, plutôt que comme une simple caractéristique structurelle des tissus. La membrane basale médie la compartimentation des tissus et envoie des signaux aux cellules épithéliales sur le microenvironnement externe. Elle est également un composant structurel et fonctionnel important des vaisseaux sanguins, constituant un capteur de microenvironnement extracellulaire pour les cellules endothéliales et les péricytes. Son assemblage est un enchaînement de plusieurs étapes. Il s'agit principalement d'un autoassemblage de ses différents constituants : Collagène de type IV, Perlecan, Laminines et Nidogènes (Raghu Kalluri 2003)

Elle est formée de trois longues chaînes polypeptidiques qui se séparent. La membrane basale (MB) correspond à une région spéciale de MEC formant une couche complexe autour de tout ou partie de la membrane plasmique de certaines cellules.

La distribution topographique des MB est ubiquitaire : une MB se trouve à l'interface entre la face basale des cellules épithéliales et la MEC sous-jacente, mais également autour des adipocytes, des cellules musculaires, des cellules de Schwann, de certaines régions des astrocytes... Visible en microscopie optique sous la forme d'un trait rouge (après coloration par le PAS) ou noir (après imprégnation argentique) surlignant le pôle basal des cellules épithéliales, la MB apparaît en microscopie électronique sous la forme d'un fin feutrage de filaments irréguliers s'orientant dans les trois plans de l'espace. Elle est constituée de trois couches superposées de la membrane plasmique vers la MEC, successivement: la lamina rara, la lamina densa et la lamina reticulata.

L'aspect morphologique, la composition moléculaire, l'épaisseur des MB varient selon les types cellulaires : la famille des collagènes intraveineux est caractéristique des MB où ils forment un réseau stable de polymères, la famille des laminines participe aux MB ; Les molécules de laminine 1 s'assemblent pour former un réseau qui est associé au réseau formé par le collagène IV, constitue la trame de fond de la plupart des MB. La laminine 2 joue un rôle dans le maintien de la fonction normale du muscle squelettique. La laminine 5 se trouve dans les régions de MB situées en regard des hémidesmosomes, le nidogène/entactine relie au sein du double réseau de collagène intraveineux et de laminine des molécules diverses comme le perlecan (heparan-sulfate protéoglycane), la secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC), la fibuline.

En regard de la MB, la surface cellulaire présente de nombreux récepteurs à des molécules de la MEC en particulier, des récepteurs à la fibronectine (intégrines), des récepteurs à l'acide hyaluronique (comme le CD44), des récepteurs à de nombreuses cytokines.

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

Les fonctions des membranes basales en plus de leurs rôles de structure assurant l'ancrage des cellules dans le tissu conjonctif, les MB interviennent dans de nombreux processus physiologiques. Selon leur localisation, les MB peuvent déterminer des barrières physiologiques avec le milieu extérieur au niveau des épithéliums de revêtement exemple l'intestin ou avec le compartiment vasculaire, et peuvent jouer un rôle de filtre sélectif comme au niveau de la barrière glomérulaire. Enfin, les MB ont un rôle important dans la détermination de la polarité et de la différenciation cellulaires ainsi que dans les processus de réparation tissulaire (cicatrisation), où elle sert de support à la migration cellulaire ; mais également lors de la croissance embryonnaire. (Jaeger; C., 2012)

III- Physiologie et rôle de la matrice extra cellulaire

III.1. Stabilité physiologique

Les interactions bidirectionnelles qui s'établissent entre les cellules et leur microenvironnement matriciel régulent mutuellement leurs comportement et devenir. La diversité biochimique des constituants moléculaires de la matrice, leurs propriétés biophysiques, leur architecture comme leur dynamique sont d'une grande importance surtout représentent des signaux régulateurs pour l'activité cellulaire. En effet, les composants matriciels adoptent différentes conformations et différentes organisations structurales générant des signaux topographiques. Ces conformations structurales sont en perpétuelle dynamique en réponse aux variations physiologiques et/ou pathologiques de l'environnement telles que le pH et également en réponse aux mouvements cellulaires tels que la migration. En outre, les molécules matricielles interagissent au sein des MECs pour former des assemblages et auto assemblages également très labiles. (Rümezya B. 2014)

Elle fournit une charpente structurale et protectrice qui rend possible l'organisation et les propriétés physiques des tissus des êtres pluricellulaires. Elle régule la disponibilité des facteurs de croissance qui en interagissant avec des récepteurs de la surface cellulaire vont influencer l'activité des cellules permettant de gérer les événements développementaux et homéostatiques. Comme elle remplit l'espace entre les cellules, la MEC joue un rôle essentiel dans leurs communications vu son implication dans les contacts directs entre cellules (molécules d'adhérence et systèmes de jonction cellule-cellule) et dans l'action des diverses molécules de signalisation.

La MEC est un ensemble dynamique, en constant remodelage tant lors des processus physiologiques comme la cicatrisation en jouant un rôle important dans la migration des cellules inflammatoires ou encore dans la différenciation des cellules, que pathologiques tels que l'invasion tumorale. Elle joue un rôle majeur dans les interactions avec et entre les cellules, en générant et transmettant de nombreux signaux qui régulent l'ensemble du comportement cellulaire : survie, division, différenciation, migration.

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

Les différents composants de la MEC sont dégradés par différents protéinases (en particulier, les métalloprotéinases et le système plasmine/activateurs du plasminogène). Les MMP interviennent dans de nombreux processus physiologiques : embryogenèse, menstruation, ovulation, implantation du blastocyste, cicatrisation, angiogenèse, migration cellulaire, morphogenèse. En pathologie, les MMP facilitent l'extension tumorale, notamment par altération de la membrane basale des tissus épithéliaux, la dissémination métastatique, l'angiogenèse tumorale, l'altération du tissu conjonctif normal. (Jaeger; C., 2012)

III.2. Les métalloprotéases matricielles (remodelage tissulaire)

La conception simpliste selon laquelle les MMP sont des enzymes de dégradation de la MEC est simpliste car elle définit l'ensemble d'événements protéolytiques ciblant à la fois des substrats matriciels et non matriciels. L'identification des substrats des MMP in vivo et des effets biologiques de leurs produits de clivage est nécessaire pour optimiser l'utilisation des inhibiteurs synthétiques de ces enzymes dans le traitement et la prévention des maladies dont la physiopathologie est complexe. (Brigitte Lelongt et al, 2001)

Les métalloprotéases de la matrice extracellulaire forment une famille d'environ vingt-cinq enzymes calcium- et zinc-dépendantes, qui sont capables de dégrader la matrice extracellulaire. Les MMP sont des endopeptidases produites par différents types de tissus, mais surtout par une grande diversité de cellules comme les fibroblastes, les chondrocytes, les ostéoblastes, les neutrophiles, les macrophages et les cellules tumorales. Les enzymes appartenant à cette famille présentent un ensemble de caractères communs : une aptitude à dégrader des éléments de la matrice extracellulaire, une sécrétion sous une forme latente appelée pro-enzyme, une homologie de séquence au niveau de leur site actif. Il faut noter la présence d'un ion zinc dans le site actif complexé par trois résidus histidines; leur mécanisme d'hydrolyse fait intervenir un acide glutamique comme agent de transfert d'un proton et le carbonyle d'une alanine comme accepteur de proton. Elles présentent une activité à pH neutre et la possibilité d'être inhibées par des protéines tissulaires spécifiques appelées TIMP (Tissue Inhibitor of Matrix MetalloProteinase).

Toutes les MMP présentent la même structure minimale composée -d'un pro-domaine qui sert à bloquer l'activité de l'enzyme lors de sa sécrétion (par l'intermédiaire d'une fonction thiol qui vient se complexer sur l'ion zinc du site catalytique) -d'un domaine catalytique. En fonction de l'enzyme considérée, un certain nombre de domaines plus ou moins spécifiques viennent s'ajouter à cette structure minimale.

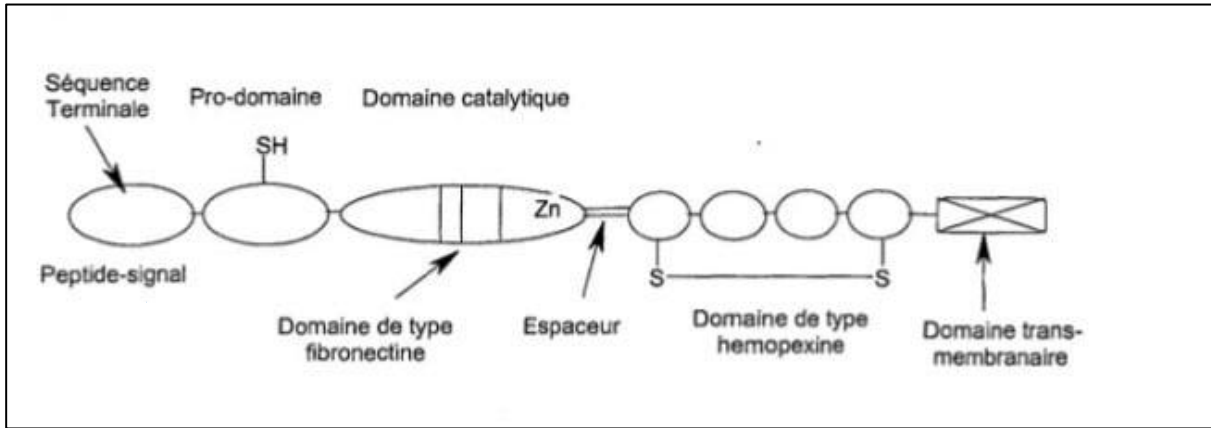


Figure 9: Structure générale des MMP (Frédéric D. 2003)

Les macromolécules de la matrice extracellulaire régulent l'activité des cellules en interagissant avec leurs récepteurs spécifiques qui activent des voies de transduction. Ces signaux aboutissent à l'activation de certains gènes pour une réponse qui peut être une prolifération cellulaire, une production de nouvelles macromolécules matricielles ou au contraire la production ou l'activation des protéinases matricielles (MMP), qui vont dégrader la matrice extracellulaire. Parmi les peptides ainsi libérés, certains vont à leur tour pouvoir agir sur les cellules environnantes par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques créant ainsi une nouvelle boucle de régulation au sein des tissus. Le renouvellement de la MEC détermine la croissance, le développement ou la réparation des tissus, mais intervient aussi dans de nombreux processus pathologiques (cancérogène, inflammation...). (Siméon et al, 1999)

Les métalloprotéases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs tissulaires (TIMP) jouent un rôle fondamental dans le remodelage des matrices extracellulaires de l'organisme. Une fois sécrétés au sein de la matrice, certains MMP et TIMP diffusent dans la circulation sanguine où leur concentration peut être mesurée. Les fluctuations de leurs taux plasmatiques reflètent probablement des modifications de leur expression et de leur sécrétion au cours du remodelage de la matrice extracellulaire en réponse à des pathologies. (Patrick R. et al, 2003)

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

III.3. Rôles de la MEC

Les rôles des constituants de la matrice extra cellulaire sont résumés dans le **tableau 2** ci suivant :

Tableau 2 : Principales composantes structurales de la matrice extracellulaire et rôles majeurs (Simon, M. 2010).

Composantes structurales	Rôles
Collagène	Intégrité, résilience, robustesse et résistance à l'étirement des structures, différenciation, adhésion, migration, prolifération et apoptose cellulaire.
Collagènes fibrillaires	1 et 3 : force de tension et résilience des fibres de collagène.
Collagènes non-fibrillaires	(FACIT) : association et formation des fibrilles de collagène de type 1. Molécule d'ancrage dans la membrane basale. Adhésion entre les cellules endothéliales et matrice environnante. Éléments structuraux de la membrane basale.
Collagènes formants des réseaux	Principal élément de structure de la membrane basale et adhésion cellulaire.
Fibres élastiques	Elasticité (flexion et extension) et rétraction, régulent l'activité du TGF- β , migration, survie et différenciation cellulaire.
Elastine	Composante majeure (90%) des fibres élastiques.
Fibrilline	Assemblage des fibres élastiques, régulation du TGF- β
Glycoprotéines associées aux micros fibrilles	Assemblage de l'élastine.
Fibullines	Adhésion, prolifération, migration cellulaire, formation des fibres élastiques, intégrité de la membrane basale.
Autres composantes	
Protéoglycans	Assemblage de la matrice extracellulaire, hydratation et filtration tissulaire, rétention lipidique, prolifération, adhésion et migration cellulaire, contrôlent biodisponibilité et stabilité de cytokines.
Fibronectine	Migration, croissance et différenciation cellulaire, signalisation.
Laminines	Développement et organisation de la structure e la membrane basale, adhésion et migration cellulaire, signalisation.

Chapitre II Rappels sur la matrice extra cellulaire

Nidogène	Composante majeure de la membrane basale.
Tthrombospondines	Influence fonction cellulaire en modulant les interactions cellule-matrice, migration cellulaire, cicatrisation, activation du TGF-b, angiogenèse, agrégation plaquettaire.
SPARC /ostéonectine	Régule interactions de facteurs de croissance avec récepteur, Régule les métalloprotéines matricielles, inhibition cycle cellulaire, synthèse du collagène.
Ténascines	Adhésion et migration cellulaire.
Vitronectine	Adhésion cellulaire, défense immunitaire, hémostase.

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I. Objectif de l'expérimentation

L'expérimentation a pour principal but l'étude de l'évolution de la glande annexe mal « prostate » sur ses différents plans mettant en évidence le rôle de sa matrice extra cellulaire; ce qui impose que ce modeste travail s'articule sur deux élans, le premier étant une étude immunohisto chimique qui coïncide avec l'évolution des récepteurs membranaires spécifique de cette dernière. Le second était des colorations spéciales dites signalétiques qui permettent d'accentuer le contraste et de mieux reconnaître les différents éléments de l'échantillon histologique également de visualiser différentes structures et composants des tissus (de la matrice extra cellulaire plus précisément) ; exemple les fibres de collagènes ou d'élastines, la membrane basale et en fin les glycoprotéines matricielles.

I.1. Lieu et durée de l'expérimentation

L'expérimentation s'est étalée sur six semaines divisées en deux périodes ; la première un stage pratique au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie du centre hospitalier universitaire Nadir Mohamed de Tizi Ouzou sur quatre semaines successives allant du 04 Avril au 29 Avril 2021. Durant cette période nous avons réalisé la coloration trichrome de Masson, PAS ainsi que l'immunohisto chimie. L'étude histomorphométrique et la prise de photo ont été réalisées au labo de physiologie animale au département de Biologie.

I.2. Matériels biologiques

Notre étude est portée sur des lapins de souche locale qui est qualifiée de population blanche par Zerrouki N. et al, (2014) à cause de la prédominance du phénotype blanc du néozélandais et californien, par rapport aux croisés (noir, gris, fauve et croisé).

II. Taxonomie du lapin

La classification scientifique du lapin de la population blanche est la suivante (Grasse PP. 1949 et Labas et al, 1984) :

- Règne : Animale.
- Embranchement : Mammifère.
- Super ordre : Glire.
- Ordre : Lagomorphes.
- Famille : Léporinae (lièvre et lapin).
- Sous-Famille : Leporinae.
- Genre : Oryctolagus.
- Espèce : Oryctolagus cuniculus.

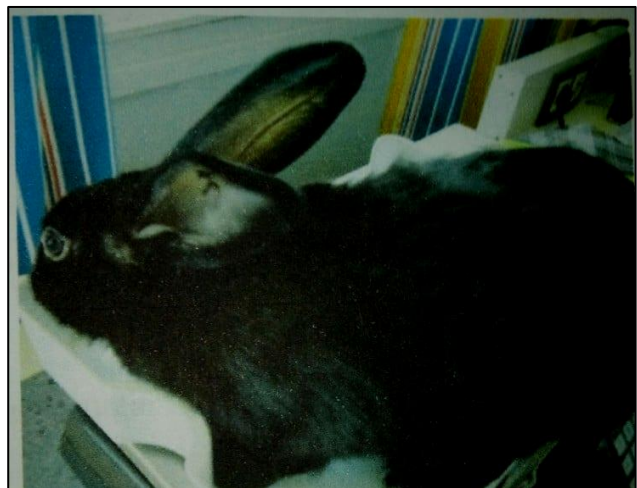


Figure 11: Lapin male de la souche locale

II.1. Caractéristiques de la souche locale

En Algérie la cuniculture est basée essentiellement sur l'élevage des lapins de population locale visant à assurer un approvisionnement des marchés urbains en protéines à moindres couts. De ce fait le développement de celle-ci doit se pencher sur la valorisation de la population locale en raison de ses qualités d'adaptations aux conditions d'élevage locales (Zerrouki et al, 2005).

De nombreux travaux ont permis de définir les principales performances de cette population locale, qui se caractérise par : une variabilité phénotypique, un petit format, une prolificité faible, une bonne fertilité, un poids adulte beaucoup trop faible pour espérer produire avec ce type génétique des lapins de 2,3-2,4 Kg de manière rentable (poids d'abatage trop proche du poids adulte), et une bonne aptitude de produire toute l'année y compris en été dans les conditions climatiques du nord de l'Algérie (Zerrouki N., 2006).

II.2. Récupération des blocs

Afin de réaliser notre expérience ; nous avons récupéré des anciens blocs d'échantillons sur lesquelles une étude histomorphométrique a été faite du mois de juin jusqu'au mois de septembre de l'an 2019 au niveau du laboratoire de recherche de chimie appliquée et génie chimique à l'université Mouloud Mammeri, sur des lapins males de la souche locale.

L'expérience se base sur l'évolution de la prostate, qui nous a mené à les reprendre et les sélectionner selon les différents lobes retrouvés et les différents âges lesquelles ont été sacrifiés ces animaux allant de celui d'un mois puis trois mois et en fin 6mois.



Figure12: Récupération des blocs

III. Coloration au Trichrome de Masson

La coloration spéciale au trichrome de Masson a pour principale but mettre en évidence les différences de perméabilité des différents constituants acidophiles du tissu surtout dévoiler la distribution spatiale des différents constituants de la matrice extra cellulaire



Figure13: Paillasse d'une coloration au Trichrome de Masson.

III.1. Principe de la coloration

A. L'hématoxyline de Weigert est utilisée pour les noyaux car le chlorure ferrique qu'elle contient lie fermement l'hématoxyline à l'acide nucléique.

B. La solution de la fushine acide colore les cytoplasmes et les muscles lisses.

C. L'acide phosphotungstique assure la mise en évidence d'une différenciation dans la solution d'acide, où l'APT accentue la coloration cytoplasmique

D. Le vert lumière est utilisé pour définir la coloration de papanicolaou pour s'étendre à une contre coloration, se lie au collagène et permet de différencier les cellules en fonction de leurs maturités et de leurs activités métaboliques

E. L'acide acétique pour l'éclaircissement

III.2. Préparation des solutions

A. Hemalin de Weigert :

1) Solution1 : 1g Hématoxyline cristallisé

100ml d'alcool 95°

2) Solution2 : 4ml de chlorure de fer en solution

95ml d'H₂O distillée

1ml d'HCL concentré

3) Solution de travail : mélange à partie égale de solution A et B.

B. Fushine : 2g de lonceau

1g de fushine acide

300ml d'H₂O distillée

3ml d'acide acétique glacial

C. Acide Phosphotungstique : 5g pour 100ml d'H₂O distillée

D. Vert lumière : 2g de vert lumière+98ml d'H₂O distillée +1ml d'acide acétique glacial

E. Acide acétique à 1% = 99ml d'H₂O à 1ml d'acide acétique glacial

III.3. Coloration proprement dite

- Déparaffinage total en éliminant les débris de paraffine dans le bain de xylène.
- Réhydratation en mettant l'échantillon dans l'alcool.
- Coloration Hématoxyline deweigert (mayer) en plongeant les lames pendant 5minutes.
- Rinçage à l'eau distillée.
- Coloration à la fushine Ponceau.
- Passage dans l'Acide phosphotungstique pour 10min d'incubation.
- coloration au vert lumière en le mettant pour 3minutes dedans.
- Rinçage à l'eau distillée
- Passage dans l'Acide acétique glacial pour 2minutes pour une déshydratation.
- Rinçage à l'eau distillée.

III.4. Montage des lames

Après avoir fini la coloration, le montage d'une lamelle sur une lame était dans la nécessité après avoir mis une goutte d'Eukitt pour éviter le décollement de la coupe et en faisant attention de prévenir les bulles d'air qui peuvent se mettre en place et qui nous empêcheront l'observation bien nette.

IV. Coloration PAS

La coloration PAS est une technique la plus polyvalente et la plus utilisée pour la visualisation des glucides. Elle met en évidence les mucines, les membranes basales, le glycogène ainsi que les filaments et spores mycéliens. La réaction à l'acide périodique de Schiff correspond à l'oxydation de certains polysaccharides par l'acide périodique, révélée par une coloration rouge (fixation de la leuco fuchsine de Schiff). Le PAS est couramment associé à la diastase (PAS-hydrolyse de l'amidon) qui digère le glycogène mais laisse persister la coloration rosée des mucines intra ou extracellulaires.



Figure 14 : Paillasse d'une PAS

IV.1. Principe de la coloration

La coloration PAS est basée sur une réaction d'oxydation avec la présence d'acide périodique et du réactif de Schiff. L'acide périodique fait que la molécule contenant du glycol crée des aldéhydes affectés par le réactif de Schiff qui les colore en rouge. Des colorations spécifiques sont créées en appliquant la méthode PAS sur des polysaccharides non substitués, des mucoprotéines et des glycoprotéines, des glycolipides et des phospholipides. Associé au bleu Alcian, il permet de détecter les mucosubstances acides (glycosaminoglycane).

IV.2. Procédure de la coloration

- Déparaffinage de la section grâce au xylène pendant 6minutes (après l'avoir sortie de l'étuve).
- Réhydratation à l'alcool pure pendant 2minutes.
- Réhydratation à l'eau courante pendant 3minutes.
- Traiter à l'acide périodique 0,8% pendant 10minutes.
- Rinçage à l'eau courante pendant 3minutes.
- Traiter au réactif de schiff pendant 20minutes.
- Rinçage à l'eau courante pendant 3minutes.
- Traiter à la solution du sodium méta bisulfite avec 5gouttes pendant 6minutes.
- Rinçage à l'eau courante pendant 3minutes.

- Eclaircissement à l'hématoxyline de Mayer avec 5 gouttes pendant 3 minutes.
- Rinçage à l'eau courante pendant 3 minutes.
- Déshydratation à l'alcool à degré croissant (à 70% puis 95% puis 100%).
- Eclaircissement dans le bain de xylène.

IV.3. Montage des lames

Les lames sont mises de cotés et des lamelles portant l'eukitt sont misent dessus à fin de protéger les prélèvements puis sont laissés à l'air libre pour sécher.

V. Immunohistochimie PSA

Les marquages immunohistochimiques ont été réalisés de manière semi automatisée sur un automate **bench Mark-Ultra ventana** après avoir fait les coupes grâce au microtome à épaisseur de deux micro mètres et passer les coupes dans un bain marie de 40° et les récupérer sur des lames célanisées dans le but d'éviter le décollement des échantillons.



Figure 15: Automate benchMark-Ultra Ventana.

- Déparaffinage : l'échantillon mis sur la lame est mis dans l'étuve de marque **SAKURA** à 35° toute la nuit (ou à 56° pendant une heure) puis passer dans un bain de xylène pour prévenir toute saturation de l'échantillon.



Figure 16: Etuve de marque SAKURA.

- Hydratation : En passant les échantillons dans l'alcool à des concentrations décroissantes commençant de 100° puis 96° puis 70° puis 50°.
- Démasquage des sites antigénique dans un bain marie grâce à une solution de démasquage
- Tamponner l'échantillon grâce au réactif PH9
- Blocage de la peroxydase exogène avec l'eau oxygénée(H₂O₂) pour éviter le bruit de fond en occupant les sites non intéressants et ouvrir les sites intéressants
- Application de l'Anti Corps primaire ensuite le rinçage
- Incubation à 30minutes ensuite encore le rinçage
- Application de l'Anti Corps secondaire spécifique au primaire à fin d'amplifier la réaction en suite l'incubation encore une fois à 30minutes
- Application du révélateur DAP (Acide Di Amino-phosphatique) en suite rincé

Remarque : un kit spécial placé dans l'automate assure la révélation des réactions (UV DAB Copper, UV DAB H₂O₂, UV Chronogen, UV HRP Multimer, UV DAB Inhibitor)



Figure 17: kit adéquat à l'automate et spécifique à l'IHC.

- Incubation à l'hématoxyline de Meyer pour une contre coloration pendant 5minutes.
- Rinçage à l'eau distillée pour éclaircir puis déshydrater.
- Montage d'une lamelle sur la lame après avoir appliqué l'Eukitt.

Remarque : un consommable adéquat à l'automate est responsable de ces différentes réactions de tamponner (EZ prep, ULTRALCS, 2XSSC, Réaction buffer, Réaction buffer, ULTRACC1, ULTRACC2, Option).



Figure 18: Planches consommables adéquates à l'automate.

VI- L'étude histomorphométrique

Au niveau du laboratoire de physiologie du département Biologie nous avons réalisé une étude histomorphométrique. En premier lieu, après la récupération des lames ; des photos ont été prises par un

Matériel et méthode

appareil photo numérique de la marque SAMSUNG depuis l'objectif du microscope optique de la marque LUMENLAB.

Une étude statistique a été faite grâce au logiciel Axio Vision qui a pris les mesures du stroma fibromusculaire puis le tissu conjonctif logeant l'espace inter acini.

Les moyennes ont été prises dans le logiciel Excel ainsi que les écarts types et des histogrammes ont été tracés.

Résultats

I. Coloration au trichrome de Masson

La coloration spécialisée à laquelle nous avons procédé, trichrome de Masson, a pour but d'étudier l'évolution des fibres de collagène de la prostate du lapin de la souche locale pour les trois âges 1, 3 et 6 mois. C'est une coloration histologique, topographique, tri chromique, associant à une coloration nucléaire (hématoxyline de weight), une coloration cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Fuchsine Ponceau) et une coloration élective du collagène (vert lumière).

Les résultats obtenus ont montré :

- 1-** Chez les lapins d'un mois, la coupe histologique est totalement visible au faible grossissement (Gx40) où on peut distinguer une couleur verte concentrée à la périphérie avec une surface de $245,67\mu\text{m}$ d'une matrice fibromusculaire et une couleur rosâtre juste à l'intérieur (planche 1 A).

Au grossissement GX100, on remarque un début d'organisation où on peut distinguer des lobules qui émettent des arborisations à l'intérieur d'une lumière réduite ou même absente. En effet, en passant au plus fort grossissement GX400, des fibres de collagène colorés en vert et organisés en faisceaux larges, sont concentrés essentiellement à la périphérie avec des fibres musculaires colorés en rose foncé disséminés entre eux et occupant la partie périphérique du tissu.

En parallèle, en utilisant le grossissement GX1000, des colorations ponctiformes noirâtres montrant les noyaux des cellules qui contiennent les acini prostatiques en début d'organisation avec de petites cellules entourant une lumière réduite due à la surface matricielle importante entre les acini d'une moyenne de $7,76\mu\text{m}$.

- 2-** Chez les lapins de trois mois, (planche 1 B) la coloration trichromique montre une architecture bien mise en place avec la possibilité de décerner chaque constituant. Au faible grossissement Gx40, une partie de la coupe peut être visible ce qui témoigne de l'augmentation du volume de la prostate où la zone périphérique est riche en fibre colorée en vert et organisé en faisceaux d'une surface maximale par rapport aux lapins des autres âges. Cependant, en passant au plus fort grossissement Gx400, on constate une organisation en acini bien déterminés avec des cellules épithéliales bien développées entourant une lumière assez large comparée à celle des animaux d'un mois, cela s'explique à l'épaississement de la surface de la MEC entre les acini pour atteindre sa maximale à cet âge avec une surface de $23,03\mu\text{m}$ et en fin tombe dans la diminution chez les animaux de six mois pour arriver à une surface de $21,17\mu\text{m}$. Cependant, en passant au plus fort grossissement Gx1000, on constate

une organisation en acini bien déterminés avec des cellules épithéliales bien développées entourant une lumière assez large comparée à celle des animaux d'un mois. (planche 1 B).

- 3- Chez les lapins de six mois, la coloration des coupes de la prostate a permis l'observation d'une partie de la coupe au faible grossissement comme pour les animaux de trois mois. Au Gx100, on distingue la zone périphérique fibromusculaire avec une épaisseur moyenne de 262,49 μm où sont distribuées les fibres de collagènes en vert, ces derniers présentent un aspect plus fin comparé surtout à celui observé chez le lapin de trois mois qui demeuraient d'une moyenne de 278,83 μm . En effet, au Gx400, on arrive à bien distinguer l'aspect filamenteux que prennent les fibres de collagènes, parallèlement, les acini glandulaires sont bien développés présentant des arborisations importantes délimitant une lumière bien visibles.

En plus de la zone périphérique, nous avons également obtenu une distribution des fibres de collagènes au niveau des espaces séparant deux acini glandulaires voisins. En effet, l'étude morphométrique de distribution des constituants de la MEC des tissus conjonctifs de la glande prostatique des lapins des trois âges a montré des variations de l'épaisseur de la zone fibromusculaire périphérique comme le tissu conjonctif séparant les acini, cela est présenté dans les données statistiques ci suivantes.

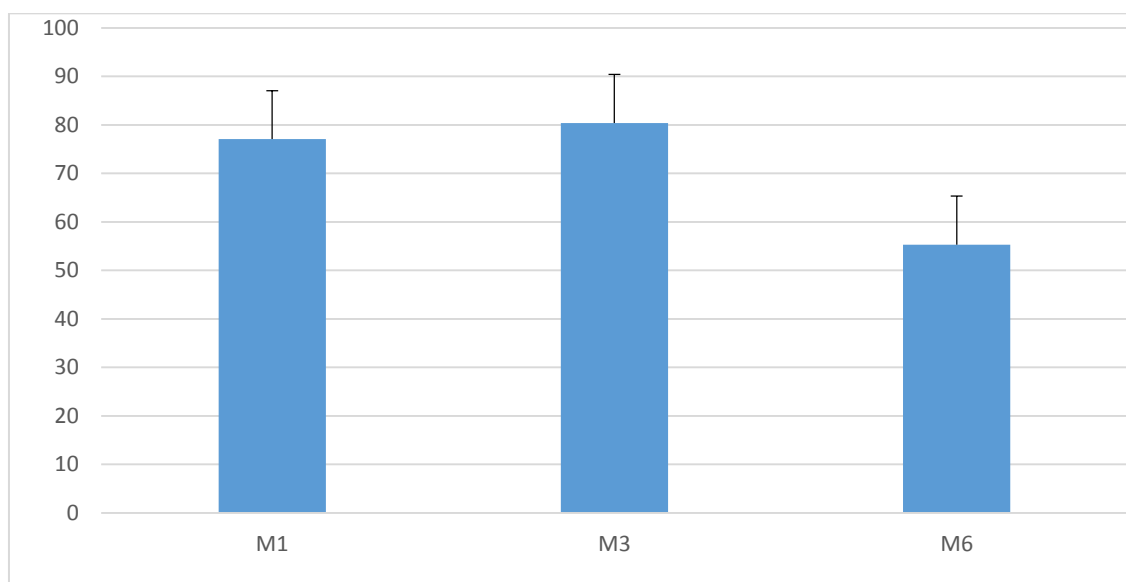


Figure 19 : Variation de la distribution de la MEC au niveau de l'espace séparant les acini glandulaires de la prostate du lapin de la souche locale au cours du développement post natal.

La surface de la MEC au niveau de l'espace séparant les acini glandulaires de la prostate est d'une valeur importante chez le lapin du premier mois et atteint son maximum à l'âge de trois mois ensuite diminue à l'âge de six mois.

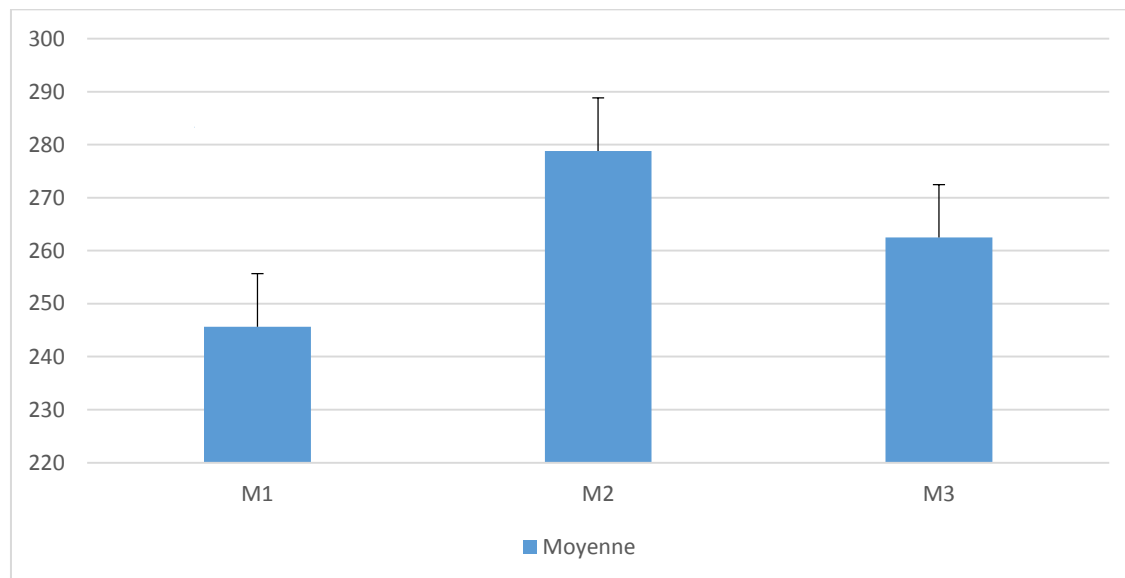


Figure 20 : Variation de la MEC au niveau de la périphérie de l'épithélium glandulaire de la prostate du lapin de la souche locale au cours du développement post natal.

La surface de la MEC au niveau de la périphérie de l'épithélium glandulaire de la prostate du lapin augmente dans le délai séparant le premier groupe du deuxième groupe pour atteindre sa maximale au 2eme mois et prend de chute chez le lapin du troisième mois.

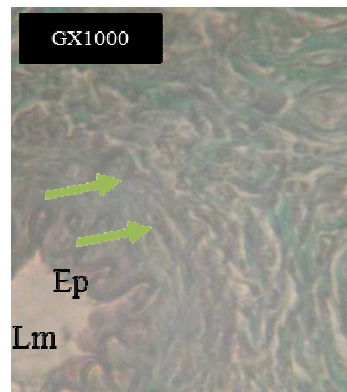
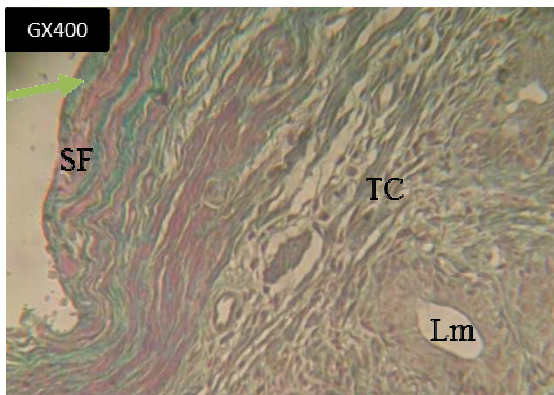
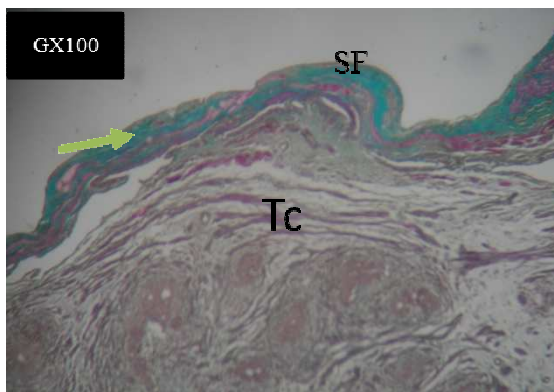
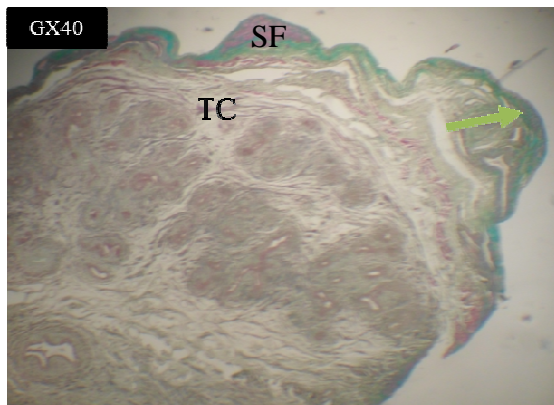



Planche 1 A

Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale âgé de un mois et traitées par une coloration de Trichrome de Masson, observée au microscope optique au grossissement: GX40, GX100, GX400 et GX1000; Ep: épithélium,  Fibre, Lm: lumière, TC: tissu conjonctif, SF: stroma fibromusculaire.

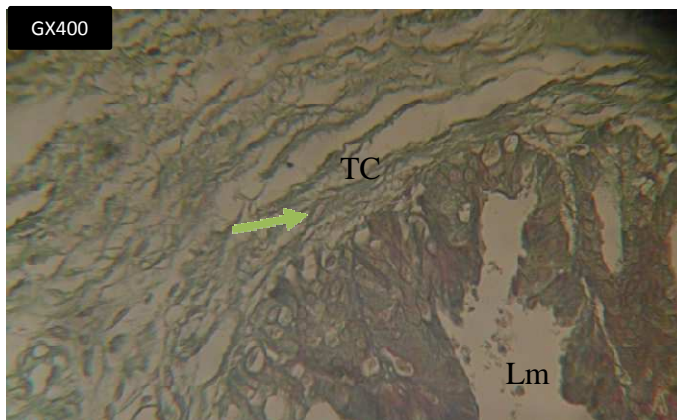
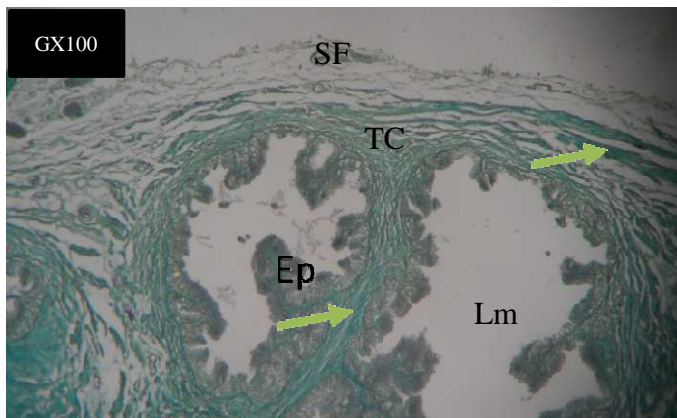
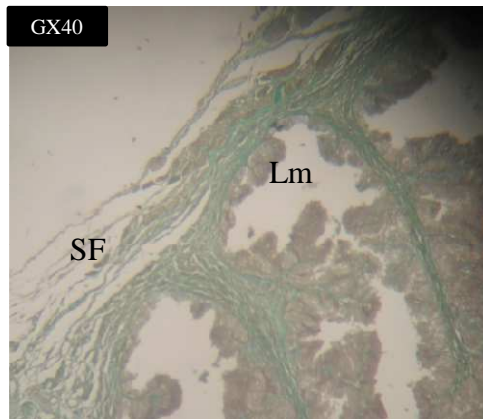


Planche 1 B

Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale âgé de trois mois et traitées par une coloration de Trichrome de Masson, observée au microscope optique au grossissement: GX40, GX100, GX400 et GX1000; →: fibres, Ep: épithélium, Lm: lumière, TC: tissu conjonctif, SF: stroma fibromusculaire

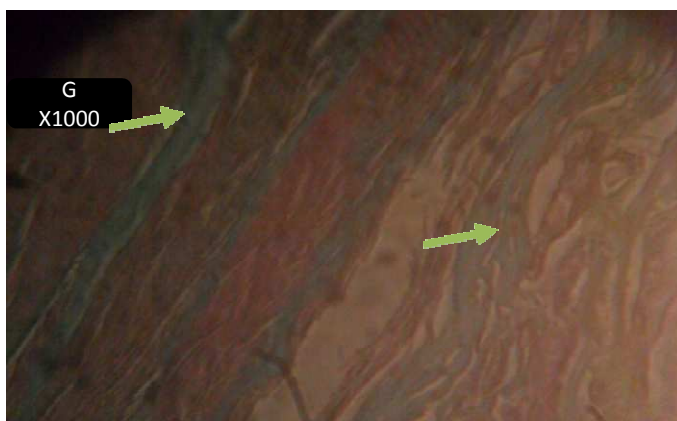
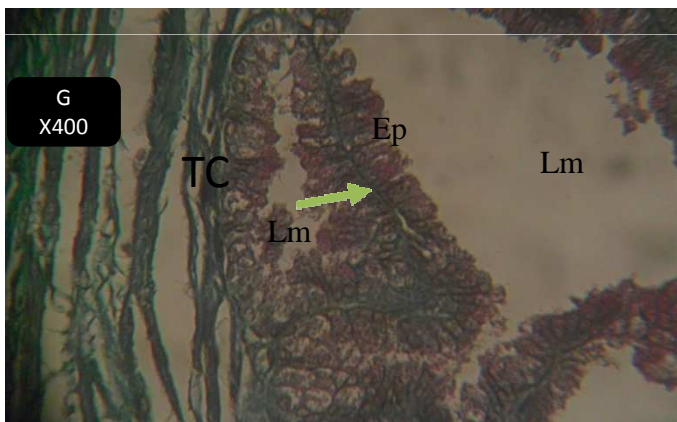
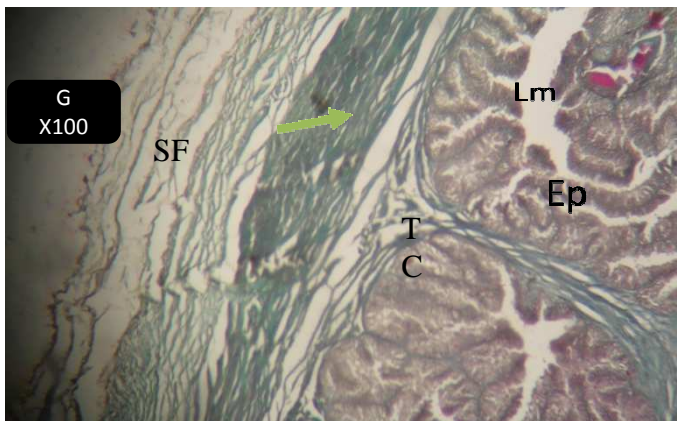
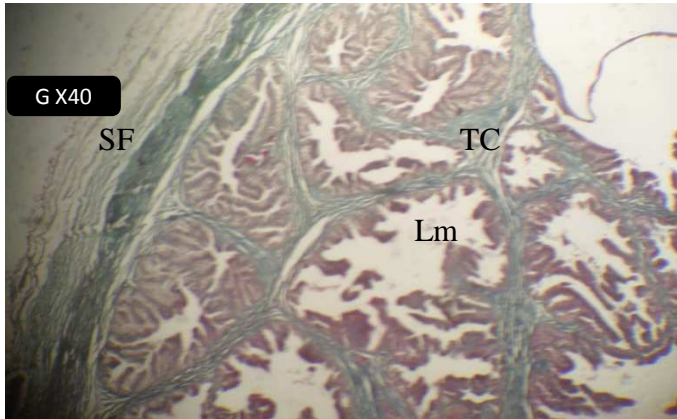



Planche 1 C

Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale âgé de un mois et traitées par une coloration de Trichrome de Masson, observée au microscope optique au grossissement: GX40, GX100, GX400 et GX1000;  : fibres, Ep: épithélium, Lm: lumière, TC: tissu conjonctif, SF: stroma fibromusculaire

II- La coloration Periodic-Acid-Schiff (PAS)

La coloration PAS est une coloration spéciale qui permet la mise en évidence des mucines utilisées en anatomie pathologique afin de mettre en évidence certaines infections ou inflammations. Son principe est basé sur les réactions biochimiques entre le réactif de Schiff et les groupements aldéhydes des molécules glucidiques. Cette coloration est également utilisée dans le cas des études sur les membranes basales. Dans ce travail, nous avons utilisé cette coloration afin d'étudier l'évolution des membranes basales du tissu prostatique des lapins de la souche locale sous rappel que les MB constituent une MEC spécialisée.

Les résultats obtenus sont montrés sur la planche 2 et décèlent que :

- 1- chez les animaux de 1 mois, les coupes histologiques montrent une coloration des membranes basales surtout autour des vaisseaux sanguins et même à la base de plusieurs cellules car on constate que les constituants tissulaires présentent une désorganisation ce qui signifie la non-achèvement du développement, d'ailleurs des structures cellulaires enchevêtrées avec une complexité d'agencement et des structures filamenteuses fines distribuées de façon concentrique sont observés.
- 2- Chez les lapins de 3 mois ; une organisation bien nette avec une lame basale qui soutient les cellules épithéliales émettant des arborisations à l'intérieur des lumières des acini. Une richesse en couleur pourpre à l'origine du réactif de Schiff qui montre l'abondance des glycoprotéines dans la matrice extra cellulaire qui entoure les cellules.
- 3- Chez les lapins de 6 mois ; les cellules épithéliales s'abouchent à la lumière et reposent sur une membrane basale bien visible avec un aspect continu ce qui explique le développement des glycoprotéines matricielles des lames basales et leur épaissement et leur localisation à la base des cellules épithéliales glandulaires.

II. Immunomarquage de la PSA

Dans notre étude, nous avons réalisé la technique immuno-histochimique enzymatique utilisant l'anticorps anti PSA. Cette technique nous a permis d'étudier l'activité des cellules épithéliales de la glande prostatique au cours du développement post-natal chez le lapin de la souche locale, en rappelant que la PSA constitue une glycoprotéine enzymatique spécifique de la prostate, autrement dit un marqueur prostatique. Les résultats obtenus sont résumés comme suit :

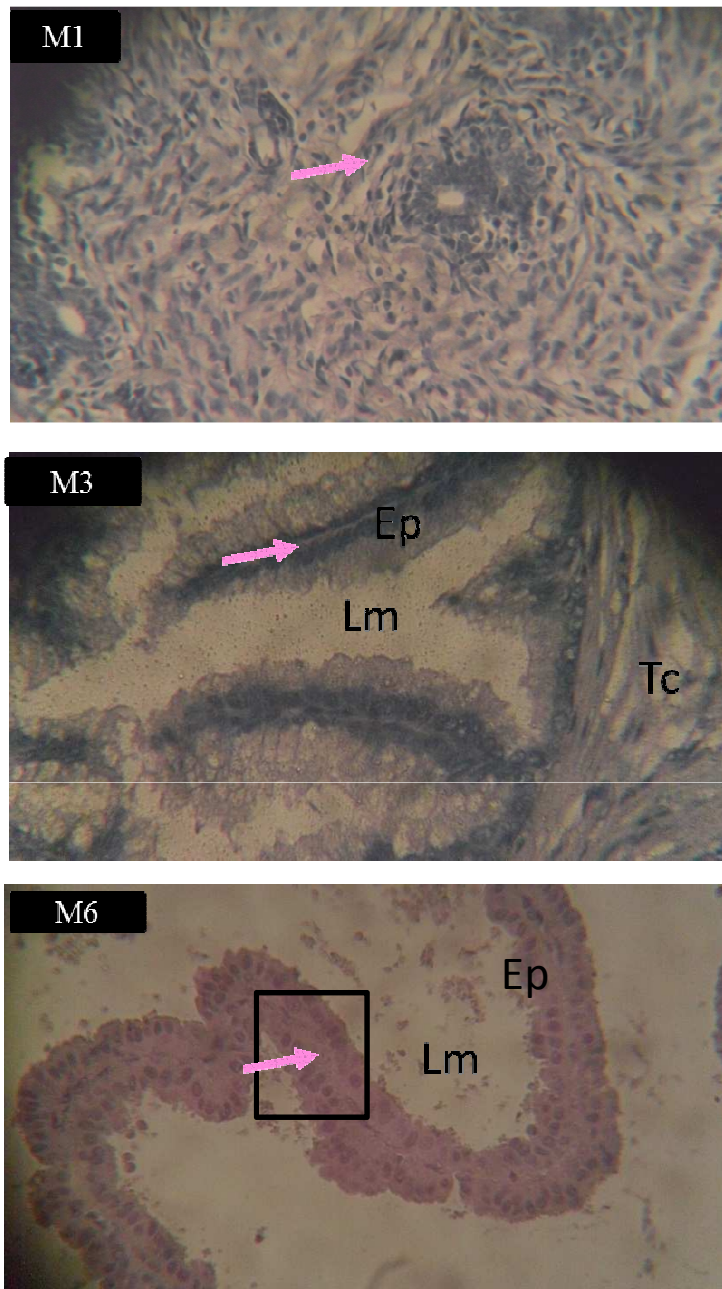



Planche 2: Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale en fonction de l'âge (M1, M3 et M6) et traitées par une coloration Periodic Acid Schiff, observée au microscope optique au grossissement: GX400;  : Lame basale, Ep: épithélium, Lm: lumière, TC: tissu conjonctif,.,

Distribution du marquage PSA au niveau des coupes prostatiques des lapins de 1 mois : Chez les lapins d'un mois, l'immunomarquage des coupes prostatiques glandulaire a montré un aspect diffus sur toute la surface apicale et luminale de la coupe observé au faible grossissement. Au plus fort grossissement, on constate des dépôts du DAB mais sans spécificité liée à des structures précises. Cependant, au GX100, on arrive à distinguer la coloration brune au niveau de certains noyaux (planche 3 A)

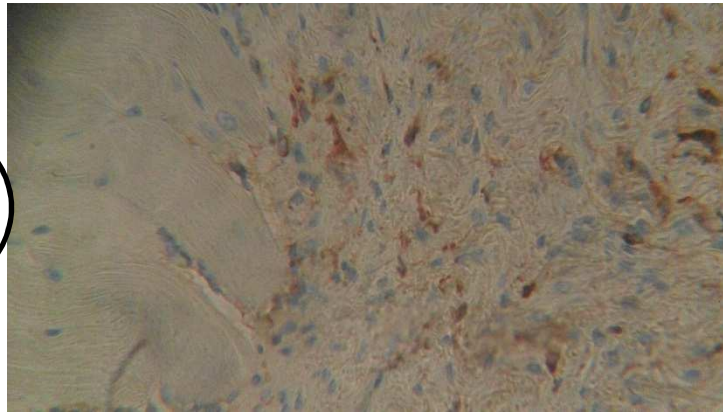
- 1- Distribution du marquage PSA au niveau des coupes prostatiques des lapins de 3 mois: Chez le lapin du 3^{ème} mois, on remarque au faible grossissement un marquage modéré différent de celui observé chez les animaux d'un mois et est localisé à la face apicale des cellules épithéliales. Au grossissement X10, des marquages au niveau de la lumière des acini ont été obtenu avec leur profusion au niveau luminale. Cela est bien mis en évidence en passant au plus grossissement fort (GX40), où le marquage est plus accentué au niveau du cytoplasme des cellules épithéliales glandulaires et au niveau des lumières des acini. En fin, ces observations sont constatées au grossissement GX100 qui nous laisse dire que les cellules épithéliales sont bien délimitées avec leurs noyaux qui ont achevés l'exocytose de la PSA.
- 2- Distribution du marquage PSA au niveau des coupes prostatiques des lapins de 6 mois : Chez le lapin de 6^{ème} mois, le marquage de la PSA présente comme pour les animaux de 3 mois une immunoréacion positive. Le marquage présente une distribution similaire surtout au niveau des surfaces apicales des cellules épithéliales. En effet, au grossissement GX40, une ligne fine et régulière d'immunomarquage est observée à la surface apicale des cellules épithéliales où les noyaux colorés en bleu sont bien évidents. Par contre, au niveau de la lumière des acini, peu de sécrétions marquée sont marquées, toujours comparées à ceux obtenus avec les animaux de 3 mois, d'ailleurs, en passant au grossissement GX100, l'épithélium est bien structuré et organisé et délimite de mieux la lumière et présente quelque dépôt de marquages (planche 3 C).

A partir de ces résultats, nous avons tracé le tableau suivant (tableau 4), qui résume la distribution de la PSA au niveau de l'épithélium prostatique et par conséquent l'activité sécrétoire des cellules épithéliales de la glande prostatique (sécrétions de la PSA).

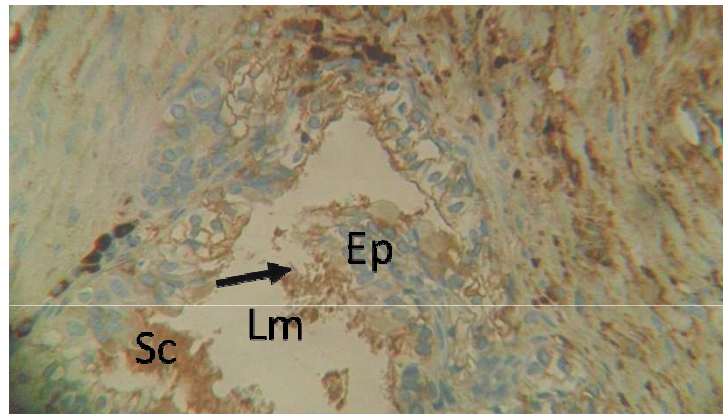
Agés des Lapins	M1	M3	M6
Marquage apicale	---	++++	++++
Marquage de la lumière	---	++++	++

Tableau 4: Distribution du marquage PSA au niveau des des épithéliums glandulaires prostatiques

M1



M3



M6

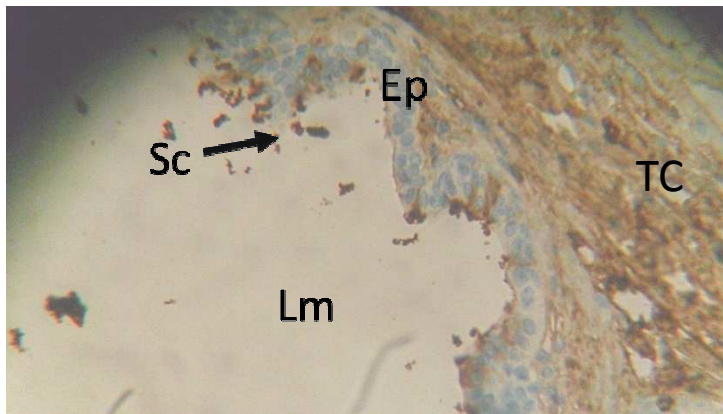



Planche3: Structure histologique de la prostate du lapin de la souche locale en fonction de l'âge (M1, M3 et M6) et traitées par une Immunohistochimie (PSA), observée au microscope optique au grossissement 400,  marquage, Ep: épithélium, Lm: lumière, TC: tissu conjonctif, SC: sécrétions

DISCUSSION

I- Evolution de la MEC au cours du développement post natale

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude évolutive et comparative des constituants de la matrice extra cellulaire du tissu prostatique de l'appareil reproducteur du lapin male de la souche locale au cours du développement. De ce fait, nous avons procédé par différentes colorations spéciales (trichrome de Masson et Periodic Acid Schiff).

La coloration trichromique, nous a permis de suivre l'évolution des fibres de collagènes qui présentent des distributions et des aspects différents au cours du développement de la prostate du lapin male. Ces fibres sont retrouvés principalement au niveau de la périphérie de la glande prostatique correspondant à la partie fibro-musculaire et au sein du tissu conjonctif entourant les cellules glandulaires.

Chez les animaux d'un mois (4semaines), les fibres de collagènes présentent un aspect en faisceau large avec une disposition parallèle avec celle des cellules du muscle lisse de la paroi fibro musculaire. Elles sont aussi observées entre les cellules en début d'organisation en acini glandulaire avec une lumière très réduite. Cette dernière distribution ne présente aucune organisation spécifique, les fibres de collagènes sont orientées dans différents sens. De plus, les membranes basales sont largement distribuées au sein du tissu à l'origine des épithéliums glandulaire prostatiques. Ces résultats sont en faveur du rôle de la MEC dans le développement en l'occurrence les fibres de collagènes et les constituants des membranes basales. En effet, les lapins âgés d'un mois sont toujours en développement et n'ont pas encore atteint l'âge de maturité (Lebas, 2000).

A partir de l'âge de trois mois des animaux, les fibres de collagènes sont toujours présentes en abondance au niveau de la paroi fibromusculaire, mais, contrairement au lapin d'un mois, leur aspect semble être moins large et présente une organisation en fibre avec une distribution régulière sur toute la surface de la paroi et toujours parallèle aux cellules musculaire lisses. A cet âge, qui correspond normalement à l'âge pré pubère, les acini glandulaires sont bien différenciés, reposent sur une membrane basale et entourant une lumière bien visible. Cet épithélium est entouré par le stroma prostatique riche en constituants matricielle, particulièrement, les fibres de collagènes. Ces caractéristiques indiquent la maturité de l'épithélium prostatique surtout avec l'apparition de la lumière des acini glandulaire. Selon Lebas et al, 1996, la formation de la lumière glandulaire chez le lapin constitue l'une des caractéristiques indiquant la maturité épithéliale.

A l'âge de six mois, correspondant théoriquement à l'âge pubère du lapin, les fibres de collagène de la paroi fibromusculaire ainsi que celui du stroma prostatique, présentent un aspect proche à celui des animaux de trois mois. Par contre, les acini glandulaires présentent plusieurs arborisations qui s'étendent dans la lumière et qui sont beaucoup plus développées que celles observées chez les animaux pré-pubères ce qui explique la diminution de l'épaisseur de la couche fibromusculaire où le tissu glandulaire s'étend vers la périphérie de la glande.

Ainsi nous constatons que les fibres de collagènes montrent des variations morphologiques au cours du développement du tissu prostatique chez le lapin male de la souche locale. Ces variations sont liées à l'implication de ces molécules de la matrice dans le développement. En effet, le rôle des fibres de collagènes dans le développement a largement été rapporté par les données de la littérature. Ces fibres présentent des variations au niveau de leurs tailles et leur organisation selon le stade du développement du tissu, les interactions avec les autres molécules matricielles et surtout la fonction contractile des cellules musculaires (Geoffrey Pickering, 2001).

De ce fait, ces variations morphologiques des fibres de collagène pourraient aussi être liées à leur rôle dans les processus de migration cellulaire qui constitue un processus important au cours du développement. La dégradation de la matrice extra cellulaire est un processus physiologique tantôt et pathologique aussi. L'association MMP-2/MT1 – MMP/TIMP-2 explique l'ambivalence du TIMP-2. À faibles doses, le TIMP-2 active la MMP-2 par le biais du MT1-MMP. À doses plus élevées, la molécule de TIMP-2 bloque le site actif du complexe tri moléculaire. (Semaan M. et al, 2005). MMP2 sérique suit la progression suivante: prostate normale < Cancer de la prostate localisé < Cancer de la prostate métastatique. La MMP2 est un facteur pronostique indépendant lorsqu'exprimée par les cellules cancéreuses et les cellules épithéliales bénignes. La MMP9 est impliquée à plusieurs niveaux de l'évolution du Cancer de la prostate, alors que la MMP14 est associée à son implantation. (Dominique T. 2004)

En effet, le collagène est une composante majeure de la matrice extracellulaire, il est responsable de l'intégrité et la résistance à l'étirement. Ces propriétés dépendent à leur tour de la composition, ainsi que du diamètre de la fibre de collagène (Ottani et al, 2001).

La coloration PAS a démontré un accroissement des membranes basales cela a été bien prouvé auparavant par des scientifiques qui l'ont qualifié de jouer un rôle majeur au cours des processus morphogénique. De nombreuses études montrent l'importance dans le devenir cellulaire ; en effet

une rigidité importante de la membrane basale orientera la cellule vers un lignage osseux alors qu'une rigidité simple orientera vers un lignage neuronal ; Ce processus est appelé mécano-transduction. (Julien chlasta 2016)

Par ailleurs, le collagène intervient également dans l'ancrage des lames basales au tissu interstitiel sous-jacent ce qui est en faveur de nos résultats. Les membranes basales riches en collagène de type IV jouent un rôle important dans l'organisation des tissus en particulier des épithéliums.

Outre ces rôles dans l'architecture des tissus, les collagènes interviennent dans la régulation des fonctions cellulaires à savoir la différenciation, la prolifération et l'apoptose cellulaires (Ottani et al, 2001).

Ainsi, la MEC régule la disponibilité de facteurs de croissance qui, en interagissant avec des récepteurs de la surface cellulaire, vont influencer l'activité des cellules de façon à gérer les événements tant développementaux qu'homéostatiques (Ramirez et al, 2004). C'est donc dire qu'elle entoure les cellules qui la synthétisent et module leur phénotype (Huxley-jones et al, 2008).

En effet, la régulation de la croissance et la maturité de la prostate implique des mécanismes complexes, cette régulation comprend à la fois l'action hormonale et la communication directe, cellule à cellule et les facteurs de croissances tels que le FGF, EGF ou l'IGF qui stimulent ou inhibent la croissance de la glande. Ils agissent à courte distance entre les cellules prostatiques voisines.

II- Activité des cellules épithéliales de la prostate en fonction de l'âge (distribution de la PSA)

En plus de l'étude de la distribution de la MEC, nous avons aussi étudié l'évolution de l'activité des cellules épithéliales prostatique en fonction de l'âge. Pour cela, nous avons marqué par immunohistochimie le PSA et nous avons suivi sa présence dans la lumière des acini glandulaires. On note que le PSA constitue une protéine enzymatique spécifique à la prostate et est considéré comme biomarqueur prostatique (Nicotera et al, 2009).

Les résultats obtenus ont montré, chez les animaux d'un mois l'absence du marquage et donc absence des sécrétions glandulaires vu qu'à cet âge l'épithélium n'est pas encore mis en place avec absence de lumière ce qui est en faveur des observations décrites précédemment.

Chez les animaux de 3 mois, la lumière glandulaire nettement observée montre des sécrétions prostatique abondantes ce qui témoigne du début de l'activité sécrétoire des cellules épithéliales. En revanche, chez les animaux de 6 mois, qui représentent le groupe d'animaux pubère, la lumière des

acini présente toujours des sécrétions (PSA marqué), comme pour les animaux de 3 mois, mais avec une quantité moindre. Ce résultat est intéressant car il répond aux mécanismes de sécrétion de PSA.

Le PSA est sécrété par les cellules épithéliales de la prostate et passe directement dans le liquide séminal, d'ailleurs, dans le cas normale en absence de pathologie, on le retrouve en très faible quantité dans la circulation (Rigollet et al ; 2007). Ceci explique la diminution de sécrétion présente dans la lumière des acini prostatique chez les animaux pubère comparé aux animaux prés pubères.

De plus, ces résultats sont également en faveur des mécanismes de régulation de l'activité sécrétoire prostatique. Le fonctionnement normal de la prostate repose sur les interactions entre épithélium et stroma, sous l'influence des androgènes (et dans une moindre mesure des estrogènes), qui guident la différenciation et l'activité cellulaire.

En effet, la prostate normale comprend 3 principaux types cellulaires, dont 2 expriment le récepteur aux androgènes à savoir les cellules du stroma et les cellules épithéliales luminales différenciées. Les cellules du stroma secrètent des facteurs qui permettent la prolifération des cellules basales et la différenciation des cellules luminales (Zerbib et Bouzeboc, 2011).

En outre, le rôle des androgènes dans cette régulation et dont l'action est contrôlée par des protéines corégulatrices (coactivateurs et corépresseurs) et par des voies de signalisation placées sous la dépendance de facteurs de croissance (Nelson et al ; 2003). Les gènes régulés par les androgènes codent pour des protéines impliquées dans la prolifération et la division cellulaire (CDK, cyclines, facteurs de croissance), la survie cellulaire, l'activité sécrétoire (PSA) et la migration et les relations avec l'environnement extracellulaire (Zerbib et Bouzeboc, 2011).

La détérioration de la PSA avec l'âge peut compromettre l'équilibre homéostatique entre production du sperme et son excrétion qui peut induire des inflammations vu sa non liquéfaction de plus la réponse immunitaire diminue avec l'âge car y a des changements dans le nombre des cellules innée avec le biais d'hématopoïèse en faveur des lignées myéloïdes.

Les conséquences de tout cela peuvent être grave en s'exprimant au niveau réticulaire par l'attraction des télomères qui accompagnent les cycles cellulaires prolifératifs qui conduit à la scénéissance réplivative et tout de même une augmentation du volume prostatique et attendu décrivant une hypertrophie prostatique qui engendre à son tour l'augmentation des taux de PSA sanguins qui devrait être très bas et qui va en parallèle avec la hausse des risques du cancer.

La PSA croit de façon linéaire jusqu'à l'âge adulte puis subit des fluctuations naturelles qui évoquent une accélération du volume prostatique à l'égard de son expression membranaire pour suivre une évolution

curvilinéaire mais des taux de PSA sanguins très élevés. Cette cinétique déduit depuis les observations nous aide mieux à comprendre le marquage établi par l'étude précédente.

Conclusion

L'appareil reproducteur male du lapin de souche locale constitué des organes génitaux et des glandes annexes représente un centre d'étude de grand intérêt pour la caractérisation de cette souche et une contribution majeure à la compréhension de la cinétique développementale et relationnelle entre les milieux interdépendants (MEC et cellule), et ainsi la maîtrise des spécificités de reproduction et de production de cette population en Algérie.

Comme nous venons de voir dans les résultats précédents qu'il y est une corrélation entre le développement prostatique et de la matrice extra cellulaire est bien établie et même l'expression antigénique spécifique de cette dernière.

La matrice extracellulaire est le composant non cellulaire présent dans tous les tissus et organes, et fournit non seulement un échafaudage physique essentiel pour les constituants cellulaires, mais initie également des signaux biochimiques et biomécaniques cruciaux nécessaires au développement post natale. Les fibres matricielles ont une place centrale dans l'orchestration et le maintien de l'écosystème histologique. En effet, grâce à leurs capacités de sécréter, assembler et modifier les composants de la MEC ; les fibres se créent des remodelages au cours de leurs développement qui peuvent affecter même la notion antigénique de cette dernière.

On a bien constaté que la prostate se développe en forme jusqu'à l'âge adulte et prend ainsi de l'ampleur en élargissant ses tissus et remodelant ses cellules grâce aux métalloprotéases matricielles ; d'où l'amincissement de la matrice extra cellulaire y compris les fibres qui la constitue pour donner des lumières de plus en plus importante et défie ainsi tantôt l'hyperplasie prostatique et tantôt son hypertrophie. D'autre part, l'espace extra cellulaire assure moindrement sa compartimentation car les composants glucidiques (glycoprotéines matricielles et membranes basales) synthétisées par les cellules et sécrétées dans l'espace extra cellulaire qui gênera la perméabilité capillaire et pourra être une source de la non disposition des cellules humorales dans le tissu prostatique et un réservoir trophique pour les cellules cancéreuses.

Selon les résultats obtenus l'expression antigénique de la prostate (PSA) est apparue dès un jeune âge et cela grâce à une synthèse non androgéno-dépendante mais s'affaiblit avec l'âge malgré la contribution des facteurs post-pubertaires. En conséquence majoritaire ; une altération de la qualité du sperme voir sa condensation. La désorganisation de l'architecture du tissu prostatique, est à l'origine d'un passage important de PSA dans la circulation générale.

Cela peut échapper à la physiologie et tombe ainsi dans la pathologie comme exemple le cancer de la prostate. Des perspectives thérapeutiques peuvent être tirées de ces analyses et qui tout de même devrait être complétées et vérifiées :

Conclusion

- Médicaments de substitutions ciblant la synthèse des fibres matricielles (remplacement de leurs précurseurs par d'autres)
- Médicaments interagissant avec le métabolisme des métalloprotéases matricielles (inhibition de la synthèse du calcium et du zinc qui sont l'élément clé des MMP)
- Médicaments interagissant avec les cibles endogènes (voir un agoniste de la PSA)

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 1- **Alvarino M. R. 1993** control de la reproduction en el conejo. 1^{ère} ed., IRYDA, mundi-prunsa, 137p.
- 2- **Aurélié T. 2020** Dissémination du cancer de la prostate : un chemin pavé de gras
- 3- **Ayala AG, Ro JY, Babaian R, Troncoso P, Grignon DJ. 1989**The prostatic capsule: does it exist? Its importance in the staging and treatment of prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*;13: 21- 7.
- 4- **Barron R. 2001** Anatomie comparée des mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie II. Edition Vigot frères 241-516.
- 5- **Berry PA, Maitland NJ, Collins AT. 2008**Androgen receptor signalling in prostate: effects of stromal factors on normal and cancer stem cells. *Mol Cell Endocrinol*;288:30-7.
- 6- **Bosch, J. L. H. R., Hop, W. C. J., Bangma, C. H., Kirkels, W. J., & Schröder, F. H. (1995)**. Prostate specific antigen in a community-based sample of men without prostate cancer: Correlations with prostate volume, age, body mass index, and symptoms of prostatism. *The Prostate*, 27(5), 241–249.
- 7- **Boussit D. (1989)**. Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; diffusion Lavoisier TEC et DOC : 250p. in *lakabi* 2017.
- 8- **Brigitte Lelongt, Pierre Ronco, Rémi Piedagnel 2001** Métalloprotéase matricielles infidélité à la matrice extra cellulaire
- 9- **Bruno M. F. 2016**, Contribution à la caractérisation des nouveaux gènes impliqués dans les hypogonadismes hypogonadotropes : caractérisation des mécanismes moléculaires et cellulaires
- 10- **Canty EG et Kadler KE. 2005**Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J. Cell. Science.*; 118: 1341-1353.
- 11- **Chanez,. Pasero, Olive,Gravis 2015**Immunotherapy for metastatic prostate cancer
- 12- **Charles S. 2016**dans thèse intitulée Impact du vieillissement du collagène de type I sur la prolifération des cellules tumorales Soutenue le 07-10-2016 à Reims , dans le cadre de Ecole doctorale Sciences, technologies, santé (Reims, Marne) , en partenariat avec (MEDYC) Matrice Extra-cellulaire et DYnamique Cellulaire (laboratoire) 2016
- 13- **Christelle Guillet (2010)**. Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète. , 24(3), 109–114.
- 14- **clémnt M. 2016** Tutorat PACES/ Licence Santé Lille Catho
- 15- **Collin; G. N. , R. J. Lee; G. B. Mckelvie; A. C. N. Rogers; M. Hehir (1993)**. Relationship between Prostate Specific Antigen, Prostate Volume and Age in the Benign Prostate. , 71(4), 445–450
- 16- **Colls, Philippe; Buxeraud, Jacques (2020)**. La prostate, rÃ les et dysfonctionnements. *ActualitÃ©s Pharmaceutiques*, 59(592), 18–1
- 17- **Cunha GR. 1994**Role of mesenchymal-epithelial interactions in normal and abnormal development of the mammary gland and prostate.;74:1030-44
- 18- **Dietrich H., Giovanni D. S., Charles-Pierre D.; 1997**. First description of urologically relevant structures in the small pelvis *Eur Urol* ; 32 : 124-127
- 19- **Dominique trudel 2004** Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en médecine expérimentale pour l'obtention du grade de maître des sciences. « Corrélation entre la protéase de la matrice extracellulaire MMP2 et le pronostic du cancer de la prostate : étude des mécanismes sous-jacents »
- 20- **Drouiche, L. 2016** ; Exposition développementale à l'éthinylœstradiol et fonction de reproduction chez la souris : effets neuroendocrines et comportementaux.
- 21- **Eloïse Grasset 2017** La rigidification de la matrice extracellulaire et la voie de signalisation de l'EGFR coopèrent pour induire l'expansion des carcinomes squameux par la régulation du canal calcique CaV1
- 22- **Fleisch, A. et C. Krahenbuhl: 1956** *Urol. Internation.* 3, 361-272.
- 23- **Frédéric D. 2003** ; Synthèse de nouveaux inhibiteurs de métalloprotéases dérivés d'hétéro-arylbene-sulfamides.

Références bibliographiques

- 24- **Fung KY, Glode LM, Green S, Duncan MW. 2004**A comprehensive characterization of the peptide and protein constituents of human seminal fluid. *Prostate*;61:171-81.
- 25- **Fülöp, Tamas; Jacob, Marie-Paule; Wallach, Jean; Hauck, Matyas; Seres, Ildiko; Varga, Zsuzsa; Robert, Ladislav (2001)**. Le récepteur de l'élastine-laminine. *Journal de la Société de Biologie*, 195(2), 157–164.
- 26- **Gelse K, Pöschl E, Aigner T. 2003** Collagens-structure, function, and biosynthesis. *Adv. Drug. Deliv. Rev*; 55: 1531-46.
- 27- **George E. Davis; Kayla J. Bayless; Michael J. Davis; Gerald A. Meininger (2000)**. Regulation of Tissue Injury Responses by the Exposure of Matricryptic Sites within Extracellular Matrix Molecules. , 156(5), 0–1498.
- 28- **Hallmann R, Horn N, Selg M, et al. 2005**Expression and function of laminins in the embryonic and mature vasculature. *Physiol Rev*; 85:979—1000.
- 29- **Hamm B. et Ros P. 2013** ; Abdominal imaging, volume 2. Berlin : Springer 2316p.
- 30- **Hélène Barreateau; Andreja Kovač; Audrey Boniface; Matej Sova; Stanislav Gobec; Didier Blanot (2008)**. Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis. , 32(2), 168–
- 31- **Huxley-Jones J, Foord SM, Barnes MR. 2008**Drug discovery in the extracellular matrix. *Drug Discov Today*;13:685—94.
- 32- **Jacob Marie Paul ; 2006**, matrice extracellulaire et vieillissement, medecine science Edition EDK mars
- 33- **Jacob, Marie Paule; Sauvage, Marie; Osborne-Pellegrin, Mary (2001)**. Régulation de la synthèse de l'élastine. *Journal de la Société de Biologie*, 195(2), 131–141
- 34- **Jaeger; C., P. Cherin (2012)**. Matrice extracellulaire, physiologie et vieillissement vasculaire. , 4(1), 41–53
- 35- **Jardin A. et De fourmestraux N. 1984**, In mauvais jarvis P. médecine de la reproduction masculine. Ed Flammarion Med Sci. : 15-23 in lakabi 2017
- 36- **Jashuan Kim and Gerhard A. Coetzee 2004**; Prostate Specific Antigen gene regulation by androgen receptor
- 37- **Jean-Nicolas Cornu. 2014**Facteurs de risques génétiques associés à la patho-biologie du vieillissement prostatique. *Génétique humaine*. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI,. Français. ffNNT : 2014PA066090ff.
- 38- **Jones J, Foord SM, Barnes MR.2008** Drug discovery in the extracellular matrix. *Drug Discov Today*;13:685—94.
- 39- **Julien Chlasta. 2016** ; Rôle de la membrane basale lors de la morphogenèse épithéliale chez *Drosophila melanogaster*. *Biologie cellulaire*. Université de Lyon, 2016.
- 40- **Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. 2002** Elastic fibres. *J Cell Sci* ;115:2817—28
- 41- **Kirollos, M.M. (1996)**. Prostate-Specific Antigen and Age. *European Urology*, 30(3), 296–301
- 42- **Kjellen, L; Lindahl, U (1991)**. Proteoglycans: Structures and Interactions. *Annual Review of Biochemistry*, 60(1), 443–475.
- 43- **Labat-Robert J, Robert L. 2005** Matrix biology in the 21st century. From a static-rheological role to a dynamic-signaling function. *Pathol Biol*;53:369—71
- 44- **Lebas, F. ; Coudert P. ; De Rochambeau, H. Thébault R.G. ; 1996** Word rabbit congress, Toulouse 1, 217-222
- 45- **Lebas F., 2000**. Système d'élevage en production cunicole. *Jornadas Internationals du Cuniculrura*, 24-25 Nov 2000. Vila real (Portugal), 163-170. Dans le mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique Intitulé Performances zootechnico-économiques d'un élevage cunicole (étude de cas dans la wilaya de M'Sila) Présenté par : Bendjilali Serine et Loukriz Soumia
- 46- **Lebas F., 2006**. Alimentation et santé digestive chez le lapin. Volume 33 pages 63 à 70. Dans le mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique Intitulé Performances zootechnico-

Références bibliographiques

- économiques d'un élevage cunicole (étude de cas dans la wilaya de M'Sila) Présenté par : Bendjilali Serine et Loukriz Soumia)
- 47- **Lionel F. 2015** Amplification ex vivo et greffe des cellules souches hématopoïétiques du sang de cordon ombilical : Rôle des glycosaminoglycanes
- 48- **Maquart, François-Xavier; Siméon, Alain; Pasco, Sylvie; Monboisse, Jean-Claude (1999).** Régulation de l'activité cellulaire par la matrice extracellulaire : le concept de matrikines. *Journal de la Société de Biologie*, 193(4-5), 423–428
- 49- **McNeal JE, Bostwick DG. 1984;** Anatomy of the prostatic urethra. *JAMA*; 251:890- 1
- 50- **McNeal JE. 1988**Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol*;12:619- 33.
- 51- **Mecari M. et Machado R. (1978).** Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of semen. *Labo. Anio.* 12:37-39.
- 52- **Older R.A., Watson L.R. 1996;** Ultrasound anatomy of the normal male reproductive tract *J Clin Ultrasound* 24: 389-404
- 53- **Ouhayoun J., 1983.** La croissance et le développement du lapin de chair. *Cuni-Sciences* Vol1, Fasc. 1, 1-14. Dans le mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique Intitulé Performances zootechnico-économiques d'un élevage cunicole (étude de cas dans la wilaya de M'Sila) Présenté par : Bendjilali Serine et Loukriz Soumia.
- 54- **Patrick Rossignol, Michèle Cambillau, Gilles Chatellier, Marie- Paule Jacob (2003)** Indications cliniques de dosages plasmatiques des métalloprotéases matricielles
- 55- **Pezet, M.; Mariko, B.; Jacob, M.-P.; Faury, G. (2009).** Les fibres élastiques : un régulateur du vieillissement normal ou pathologique des vaisseaux sanguins élastiques. *Médecine & Longévité*, 1(2), 64–75.
- 56- **Robert L. 1999**Aging of the vascular-wall and atherosclerosis. *Exp Gerontol*;34:491—501
- 57- **Rossignol A., Villiers A., Molinié V., Mazerolles C., Radère M. et Delverdier M. 2004.** Histologie et immunohistochimie de la prostate du chien. Validité du modèle animal pour l'étude des lésions précancéreuses 2004
- 58- **Rümeysa Bascetin 2014** dans thèse présentée pour l'obtention du grade docteur de l'université de Cergy Pontoise Ecole doctorale science et ingénierie domaine science de la vie et de la santé, spécialité biochimie
- 59- **Seisena ; T., Rouprêta M., Faixb S., Droupyc, 2012** Progrès en Urologie Volume 22, Supplement 1, Pages S2-S6
- 60- **Semaan M., Jovenin N., Birembaut P., Menard J., Staerman F. 2005.** Valeur pronostique de l'immunomarquage du stroma par la MMP2, la MT1-MMP et le TIMP2 dans l'adénocarcinome prostatique cliniquement localisé. ; *Prog Urol*, 2005, 15, 250-254
- 61- **Siméon A., Monier F., Emonard H., Wegrowski Y., Bellon G., Monboisse J. C., Cillery P., Homebeck W. & Maquart F. X., 1999:** Fibroblast-cytokine-extracellular matrix interactions in wound repair. In : *Current Topics in Pathology*, voi. 93, Des- moulière A., Tuchweber B. (eds), Springer-Verlag, Berlin, pp. 95-101
- 62- **Simon, M. 2010 ;** Modification de la Matrice Extra Cellulaire dans la rigidité artérielle.
- 63- **Sprenger CC. , Plymate SR., Roseau MJ. 2006**Influences extracellulaires sur l'angiogenèse tumorale chez l'hôte âgé
- 64- **Sweyer, G. I. W.: J. 1944;** relationships between the endocrine and reproduction *Anat.* 78, 138
- 65- **Sylvie Ricard-Blum; Florence Ruggiero (2005).** The collagen superfamily: from the extracellular matrix to the cell membrane. , 53(7), 0–442
- 66- **Theresa Y Chan; Alan W Partin; Patrick C Walsh; Jonathan I Epstein (2000).** Prognostic significance of Gleason score 3+4 versus Gleason score 4+3 tumor at radical prostatectomy. , 56(5), 0–827. doi:10.1016/s0090-4295(00)00753-6

Références bibliographiques

- 67- **Uzgare AR, Xu Y, Isaacs JT. (2004)** In vitro culturing and characteristics of transit amplifying epithelial cells from human prostate tissue. *J Cell Biochem* 2004; 91:196-205.
- 68- **Valeri, Clara; Schteingart, Helena F.; Rey, Rodolfo A. (2013)**. The prepubertal testis. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 20(3), 224–233
- 69- **Verderio EA, Johnson T, Griffin M. 2004**Tissue transglutaminase in normal and abnormal wound healing: review article. *Amino Acids* 26:387—404.
- 70- **Virginie, P. 2006** ; L'acrosome du spermatozoïde, de sa biogénèse à son rôle physiologique.
- 71- **Walker J.W. 1906**On the Surgical Anatomy of the Prostate *J Anat Physiol*; 40 : 189-209
- 72- **Walz; J. Arthur L. Burnett; Anthony J. Costello; James A. Eastham; Markus Graefen; Bertrand Guillonneau; Mani Menon; Francesco Montorsi; Robert P. Myers; Bernardo Rocco; Arnauld Villers (2010)**. A Critical Analysis of the Current Knowledge of Surgical Anatomy Related to Optimization of Cancer Control and Preservation of Continence and Erection in Candidates for Radical Prostatectomy. , 57(2), 179–192.
- 73- **Wildt, L., Hausler, A.; Marshall, G.; Hutchison, J. S.; Plant, T. M.; Belchetz, P. E.; Knobil, E. (1981)**. Frequency and Amplitude of Gonadotropin-Releasing Hormone Stimulation and Gonadotropin Secretion in the Rhesus Monkey*. *Endocrinology*,
- 74- **Wise SG, Weiss AS. 2008** Tropoelastin. *Int J Biochem & Cell Biol*; 44:10271—
- 75- **Wipff, P.-J., Rifkin, D. B., Meister, J.-J. & Hinz, B. 2007** Myofibroblast contraction activates latent TGF-beta1 from the extracellular matrix. *J. Cell Biol.* 179, 1311–1323
- 76- **Wood GC ET Keech MK. 1960**the formation of fibrils from collagen. *Biochemical Journal.* 75: 588-598.
- 77- **Zerrouki, N. 2006** ; Caractérisation d'une population locale de lapin en Algérie : Evaluation des performances de la reproduction des lapines en élevage rationnel. Thèse doctorat Université de Tizi-Ouzou (Algérie) P 131. In Lakabi 2017