

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



Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en sciences biologiques.

Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction (BPR)

Thème

Etude préliminaire sur l'effet de l'huile essentielle « *Mentha piperita* » sur la structure histologique des épидидymes des lapins mâle « *Oryctolagus cuniculus* » de la souche synthétique pubères et prépubères (3 et 5 mois).

Présenté par : M^{me} YAYAOUI Messaouda Ep. IDRES

Soutenu devant le jury composé par :

M^{lle} CHOUGAR S. « Maitre assistante A. UMMTO »présidente

M^{me} LAKABI L. Ep. AHMANACHE « Maitre de conférence B, UMMTO ».....Promotrice

M^{me} BOUAZIZ H. « Maitre de conférence B, UMMTO »..... Examinatrice

2017/2018




Remerciements

Avant tout je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Madame LAKABI L. Ep. AHMANACHE, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être ma promotrice, de me diriger tout au long de mon travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle m'a consacrée. Je vous remercie très sincèrement pour votre patience.

A M^{me} CHOUGARS. qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de jury, sincères remerciements et mon immense gratitude.

Ma grande reconnaissance et la marque de mon profond respect à M^{me} BOUAZIZ H. pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie toute l'équipe du laboratoire de recherche du professeur MEDJDOUB BENSAAD F. qui a contribué à l'accomplissement de ce modeste travail, un grand merci.





Dédicaces



J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail de fin d'étude à ceux que j'aime le plus au monde, mes très chers parents et mes beaux parents qui m'ont apporté leur soutien, dans les moments difficiles avec un tant d'amour et d'affection et qui ont souffert sans se plaindre pour m'élever et m'éduquer afin que j'atteigne ce niveau.

A mon très cher mari mohamed et ma petite fille Asma

A mes très chers frères : Amirouche et sa femme Safia et leurs petits Djawad et Adam Karim et sa fiancée Zahia et Ahmed et sa fiancée Ghania

A ma très chère sœur Yamina et son mari Hakim et leurs enfant Yanis et Sarah

A ma chère sœur Farida et son mari Kamel et leurs fils Aghiles et Amazigh

A mes très chers beau frères Aziz et sa femme Samia et leur petit Ayoub

Ilyes et sa femme Rym et leur petite Sofia

A mes très chère beaux frères Yacine et Wassim

A la mémoire de ma très chère grande mère Yamina que dieu l'accueil dans son vaste paradis.

A mes grands parents maternels et paternels que dieu les accueille dans son vaste paradis.

A mes chères copines lalouh, wardoch, lilya, nacera, ourida, safia, sabrina, kahina, dyhia, lydia et sarah

A toute la promotion de physiologie de reproduction 2017/2018.



MESSAOUDA



Figure 01 : Appareil reproducteur de lapins mâle (Lebas <i>et al.</i> , 1996)	2
Figure 02: Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002 modifié)	3
Figure 03 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).	5
Figure 04 : Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).....	7
Figure 05 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).....	8
Figure 06 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).....	12
Figure 07 : Représentation schématique de l'organisation cellulaire de l'épithélium épидидymaire de rat en coupe transversale et des différentes voies de régulation des fonctions épидидymaires (Robaire <i>et al.</i> , 2003 modifié)	13
Figure 08 : lapins issus d'un élevage privé à Tigzirt (Original, 2018).....	16
Figure 09 : Flacon de l'huile utilisée (Originale, 2018).....	18
Figure 10 : Huile essentielle utilisée « Menthe poivrée » (Original, 2018).....	18
Figure 11 : Constitution des lots de trois lapins (Originale, 2018)	20
Figure 12: pesé et administration de l'huile essentielle (originale, 2018)	20
Figure 13 : sacrifice des lapins et recueil du sang dans un tube sec (Originale, 2018).....	21
Figure 14 : Dissection du lapin et présentation de son appareil génital (Originale, 2018).....	22

Figure 15 : Mesure du poids et volume des épидидymes (Originale, 2018)	22
Figure 16 : Photographie de la série des bains de déshydratation des gonades (Originale, 2018)	24
Figure 17 : Inclusion des cassettes contenant des gonades dans des moules à paraffine (Originale, 2018)	25
Figure 18 : Blocs réfrigéré (Originale, 2018).....	25
Figure 19 : Microtome à paraffine de type Leica (Originale, 2018).....	26
Figure 20 : Batterie de circulation pour déparaffinage, hydratation et coloration topographique (Originale, 2018).....	27
Figure 21 : Evolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3 mois.....	29
Figure 22 : Evolution pondérale moyenne des lapins de 5 mois d'âge.....	30
Figure 23 : Evolution du poids des épидидymes gauches et droits des lapins âgés de 3 mois	31
Figure 24 : Evolution du poids des épидидymes gauche et droits pour les lapins de 5 mois d'âge	32
Figure 25 : poids total de l'épididyme des lapins âgés de 3 mois.....	33
Figure 26 : Evolution du poids total de l'épididyme des lapins de 5 mois	34
Figure 27 : Poids relatif des épидидymes des lapins de 3 mois d'âges	35
Figure 28 : Poids relatif des épидидymes des lapins de 5 mois d'âges	36
Figure 29 : Volume de l'épididyme des lapins âgés de 3 mois	37
Figure 30 : Volume de l'épididyme des lapins âgés de 5 mois.....	38

Listes des planches

Planche I : coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour des lapins âgés de
3 mois de lot T, D1 et D238

Planche II : coupe histologique de l'épididyme réalisées pour des lapins âgés de
5 mois de lot T, D1 et D240

Significations des abréviations

FSH: Folliculostimulatif hormone

LH: Leuteïnising hormone

N : Noyau

LT : Lymphocyte T

Mo : Monocyte

HE : Huile Essentielle

E : Expérimentaux

T : Témoin

D1 : Dose 1

D2 : Dose 2

ESM : Erreur standard à la moyenne

Jo : Avant traitement

J7 : Après traitement

TG : Testicule gauche

TD : Testicule droit

EPD : Epididyme droit

EPG : Epididyme gauche

Ep : Epithélium

Lu : Lumière

Tc : Tissu conjonctif

Cb : Cellule basale

Cp : Cellule principale

Ce : Cellule étroite

St: Stéréocils

Spz: Spermatozoïde

AB: Aposomes

EP: Epididymosomes

ILC: compartiment intra-Liminal

MV : microvillosité

Listes des figures

Listes des planches

Signification des abréviations

Introduction

Partie 1 : Rappels bibliographique

1. Anatomie et histologie de l'appareil génital mâle du lapin	2
1.1. Structure de l'épididyme	3
1.1.1. Anatomie	3
1.1.2. Histologie	4
1.1.2.1. Cellules principales	4
1.1.2.2. Cellules basales	4
1.1.2. 3. Cellules en halo	5
1.1.2.4. Cellules claires	5
1.1.2.5. Cellules apicales.....	6
1.1.2.6. Cellules étroites	6
1.1.2.7. Cellules dendritiques	6
1.1.2.8. Lumière du canal épидидymaire.....	7
2. Physiologie de la reproduction du lapin male	7
2.1. Développement des gonades et puberté	8
2.1.1 Développement pondéral.....	9
2.1.2. Développement de l'appareil génital externe	9
2.1.3. Maturation sexuelle	9
2.1.3.1. Phase infantile	9
2.1.3.2. Phase prépubertaire	9
2.1.3.3. Phase puberté.....	10
2.1.3.4. Maturité sexuelle	10

Sommaire

2.2. Fonctions de l'épididyme	10
2.2.1. Maturation des spermatozoïdes	11
2.2.2. Acquisition de la mobilité	11
2.2.3. Modification de la membrane des spermatozoïdes	11
2.3. Mode de sécrétion de l'épididyme	11
2.3.1. Sécrétion mérocrine.....	11
2.3.2. Sécrétion apocrine	12
2.4. Régulation de la sécrétion épидидymaire	13
2.5. Facteurs de variations de la fonction de reproduction du lapin.....	14
2.5.1. Age	14
2.5.2. Température.....	14
2.5.3. Alimentation.....	14
2.5.4. Saison	14
2.5.5. Eclaircissement.....	15
Partie 2 : Matériels et Méthodes	
1. Matériel biologique	16
1.1. Animal utilisé	16
1.2. Huile essentielle « <i>Mentha piperita</i> ».....	17
1.2.1. Menthe poivrée.....	17
1.2.2. Propriétés physico-chimiques de la menthe poivrée	18
1.3 Autres matériels.....	19
2. Expérimentation	19
2.1. Administration de l'huile essentielle.....	20
2.2. Sacrifices	21
3. Etude Histologique	23
3.1. Fixation.....	23
3.2. Déshydratation et éclaircissement	23

3.3. Imprégnation	24
3.4. Inclusion	24
3.5. Confection des coupes et étalement	26
3.6. Déparaffinage et hydratation	26
3.7. Coloration topographique.....	26
3.8. Observation des lames.....	27
4. Etude statistique	27

Partie 3 : Résultats et Discussion

1. Résultats	29
1.1. Poids corporel et épидидymaire.....	29
1.1.1. Poids corporel.....	29
1.1.1.1 Poids corporel des lapins de 3mois	29
1.1.1.2. Poids corporel des lapins de 5 mois	30
1.2. Poids épидидymaire	31
1.2.1. Poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins de 3 mois d'âge	31
1.2.2. Poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins de 5 mois d'âge	32
1.3. Poids total épидидymaire.....	33
1.3.1. Poids total épидидymaire des lapins de 3 mois	33
1.3.2. Poids total épидидymaire des lapins de 5 mois	33
1.4. Poids relatif de l'épididyme relatif à 100g de poids corporels.....	34
1.4.1. Poids relatif épидидymaire des lapins de 3 mois	34
1.4.2. Poids relatif épидидymaire des lapins de 5 mois	35
1.5. Volume épидидymaire des lapins âgés de 3 mois	36
1.2. Etude histologique des épидидymes des lapins	37
1.2.1. Étude histologique des épидидymes des lapins âgés de 3 mois.....	37
1.2.1.1. Lapins de lot témoin.....	39
1.2.1.2 Lapins traités	39
1.2.2. Etude histologique de l'épididyme des lapins âgés de 5mois	39
1.2.2.1. Lapins témoins	41

Sommaire

1.2.2.2. Lapins traités	41
2. Discussion	41
Conclusion et perspectives	44
Références bibliographiques	45



Introduction

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) présente plusieurs caractéristiques biologiques intéressantes concernant sa productivité et reproductivité. En effet il est caractérisé par un court intervalle entre les générations et par une prolificité importante c'est pour cette raison qu'il est fortement apprécié.

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

L'épididyme du lapin est un canal fortement pelotonné, relié au testicule en amont et le canal différent en aval. Anatomiquement, il est divisé en trois grandes parties : une tête qui coiffe le testicule (épididyme proximal), un corps effilé et une queue épaisse (épididyme distal).

il existe des huiles essentielles (HE) présentant des propriétés dites oestrogène-like qui sont susceptible de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en la perturbant comme L'huile essentielle de Menthe Poivrée qui présente des vertus médicinales connues depuis l'antiquité. De nos jours, elle est utilisée en médecine traditionnelle ; en pharmacologie et médecine moderne. Cependant, plusieurs plantes communément utilisées ont été signalées comme ayant un effet sur les fonctions reproductrices mâles chez les animaux et les humains (Franchomme, 2015).

Le but de notre travail est de mettre en évidence l'effet de l'huile essentielle « *Mentha Piperita* » sur la structure de l'épididyme des lapins de la souche synthétique âgé de trois et cinq mois. Notre travail s'organise en trois chapitres, le premier portera sur des rappels bibliographiques sur l'appareil reproducteur mâle du lapin, tandis que dans le deuxième chapitre nous aborderons matériels et méthodes utilisés. Le troisième chapitre présentera les résultats obtenus lors de notre expérimentation, suivi de leur discussion. Ce document sera clos par une conclusion, ainsi que par un ensemble de perspectives.



Chapitre I

Rappels bibliographiques

L'organisation des appareils reproducteurs est la même chez tous les mammifères et en particulier chez les ovins, caprins, porcins et lapins, avec néanmoins des différences concernant la taille, le poids et la forme des organes. Les organes reproducteurs mâles possèdent trois principales fonctions dont la production des spermatozoïdes dans le testicule, la maturation, le stockage et le transport des spermatozoïdes dans le canal déférent et enfin le dépôt de la semence dans le tractus génital femelle via le pénis (Hamon *et al.*, 1999).

1. Anatomie et histologie de l'appareil génital mâle du lapin

L'appareil de reproduction masculin comprend les testicules, les voies génitales excrétrices (épididyme et canal déférent), les glandes annexes (vésicules séminales, prostate et glandes bulbo-urétrales) et le pénis (Figure 1) (Dadoune *et al.*, 1990).

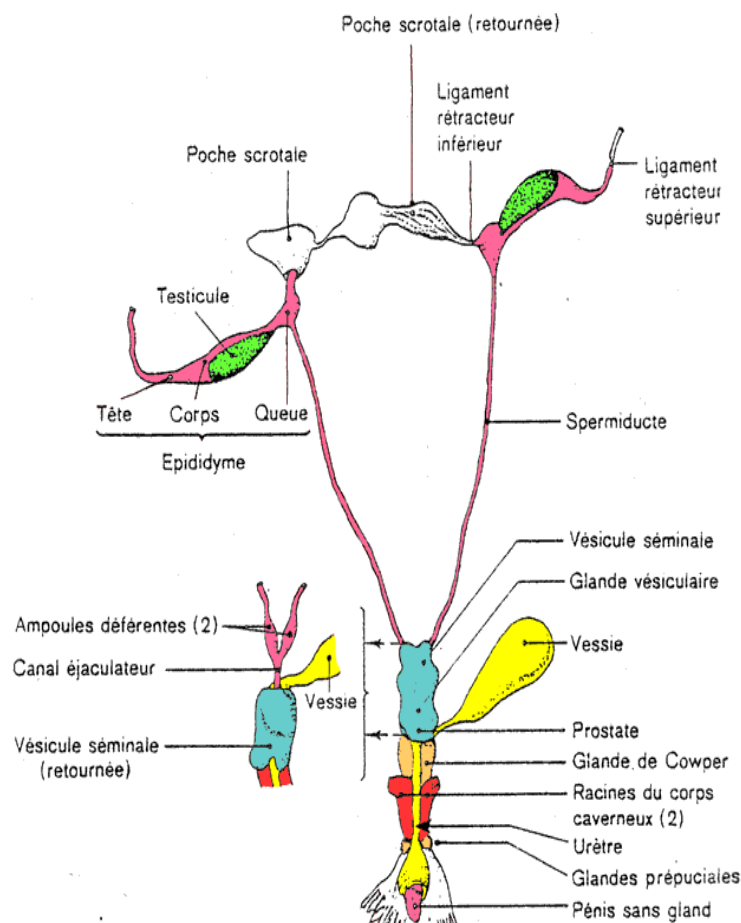


Figure 1 : Appareil génital du lapin mâle (Lebas *et al.*, 1996).

1.1. Structure de l'épididyme

L'épididyme, est un long canal unique en circonvolution, de longueur variable selon les espèces (1 à 60 m, respectivement chez la souris et le ver rat) et situé sur la face postérieure du testicule. Sur la base de sa morphologie et de son histologie, cet organe hautement différencié peut être divisé chez les mammifères, en trois régions anatomiquement distinctes : la tête (région proximale), reliée au hile du testicule par les canaux efférents ; le corps (partie médiane) et la queue (région distale), en continuité avec le canal déférent (Glover et Nicander, 1971 ; Hamilton, 1990).

La paroi du tube est constituée d'un épithélium pseudostratifié entouré de fibres musculaires lisses qui présentent des contractions péristaltiques régulières contrôlées par les fibres nerveuses noradrénergiques et cholinergiques (Figure 2) (Setchell *et al.*, 1994).

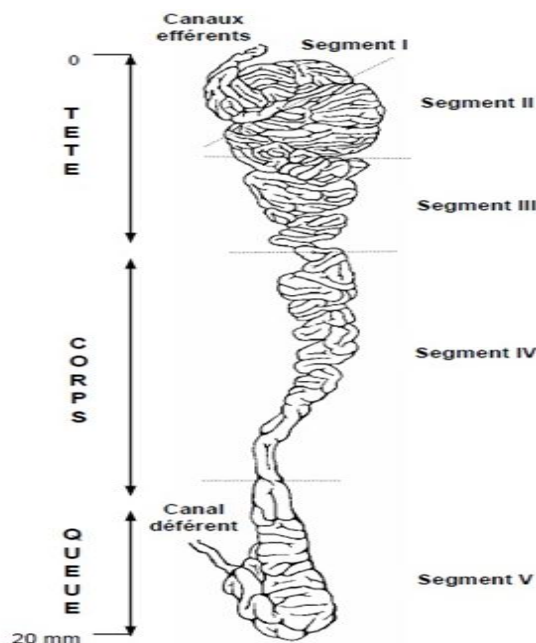


Figure 2 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002 modifié).

1.1.2. Histologie

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : un épithélium pseudostratifié et une lumière bordée par cet épithélium. Ce dernier est entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses et d'un tissu conjonctif contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins. Sept types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épидидymaire (Figure 3) et présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Robaire et Hermo, 1988 ; Daselva, 2011).

1.1.2.1. Cellules principales

Les cellules principales sont les plus représentées au niveau de l'épithélium épидидymaire. Ces cellules sont retrouvées dans la totalité du canal, mais présentent des différences de structure selon la région épидидymaire (Hermo et Robaire, 2002).

Ces cellules présentent un noyau basal, ainsi que des stéréocils qui diminuent en longueur entre la tête et la queue épидидymaire. De plus, la hauteur des cellules diminue, alors que leur largeur augmente, tout au long du canal. Selon la région étudiée, les cellules principales représentent 65 à 80% des cellules épithéliales épидидymaires. Leur structure et leurs fonctions varient de façon très importante entre les différentes régions épидидymaires. Ce sont des cellules prismatiques, très actives quant au transport et à la sécrétion de petites molécules organiques, à la synthèse et à la sécrétion de protéines, et à l'absorption du fluide et de particules (Robaire et Viger, 1995). Ces cellules ne se divisent pas chez l'adulte (Hermo et Robaire, 2002).

1.1.2.2. Cellules basales

Les cellules basales sont de petites cellules à la fois rondes et allongées. Elles ont, par conséquent, une apparence dite hémisphérique. De plus, ces cellules comportent de longues et minces projections qui enveloppent une grande proportion de la base de l'épithélium. Ces cellules sont distribuées tout le long de l'épididyme et sont situées du côté basal de l'épithélium (Girouard, 2009). Leur noyau est irrégulier et leur cytoplasme pauvre en organites (Soranzo *et al.*, 1982)

Bien que la fonction exacte de ces cellules ne soit pas encore bien établie, il est proposé que ces cellules, jouent un rôle de détoxification et de protection de l'épithélium en éliminant les radicaux libres par un des membres de la famille des glutathion-S-transférases. Ces cellules sont aussi impliquées dans la sécrétion de

facteurs servant comme régulateurs paracrines de certaines fonctions des cellules principales et des autres cellules environnantes. Entre autres, les cellules basales sont importantes dans la formation du fluide épидидymaire en régulant le transport des électrolytes et de l'eau par les cellules principales (Girouard, 2009).

1.1.2. 3. Cellules en halo

Les cellules en halo sont des petites cellules avec un bord étroit de claire cytoplasme et d'un noyau dense (Robaire *et al.*, 2006). Identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natal, ces cellules sont disséminées tout le long du canal épидидymaire (Figure 3). Les cellules en halo contribuent aussi à former une barrière immunologique au niveau de l'épидидyme (Hoffer *et al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

1.1.2.4. Cellules claires

Les cellules claires sont des cellules larges. Elles contiennent des vésicules de tailles diverses dans leur région apicale (dont des puits recouverts), des lysosomes dans leur région moyenne, et des gouttelettes lipidiques dans leur partie basale. Cette distribution d'organites est cohérente avec une fonction d'élimination active de matériel depuis la lumière épидидymaire. En effet, elles présentent une forte capacité d'endocytose (Robaire et Viger, 1995). De plus à l'instar des cellules apicales, un rôle dans l'acidification du fluide épидидymaire a été proposé pour les cellules claires (Hermo *et al.*, 2000) (Figure 3).

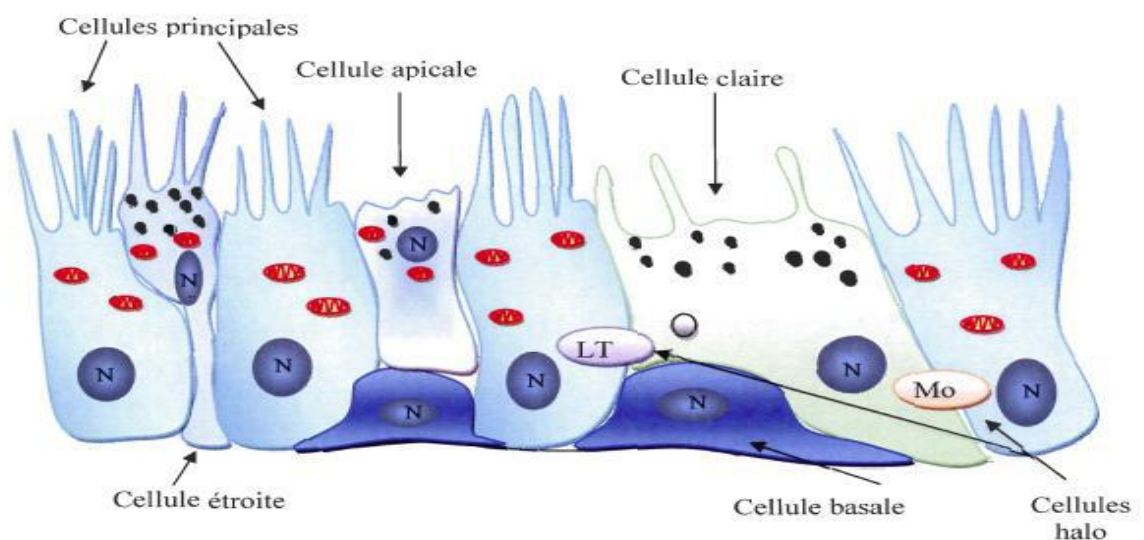


Figure 3: Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).

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

1.1.2.5. Cellules apicales

Les cellules apicales sont retrouvées principalement dans la tête épидидymaire. Ces cellules ont un noyau sphérique en position apicale, et n'entrent pas en contact avec la membrane basale. Leur cytoplasme est très riche en mitochondries (Martinez-Garcia *et al.*, 1995). Elles sont capable d'endocytose (Hermo et Robaire, 2002), et interviendraient dans l'acidification du fluide épидидymaire (Martinez-Garcia *et al.*, 1995) (Figure 3).

1.1.2.6. Cellules étroites

Les cellules étroites n'ont été retrouvées que dans les segments initial et intermédiaire du tube épидидymaire. Elles sont situées en position apicale de l'épithélium mais envoient un prolongement cytoplasmique très étroit vers la lame basale. Il leur a été associé une fonction d'endocytose du contenu luminal et celle d'acidification de ce milieu (Robaire et Hinton, 2014) (Figure 3).

1.1.2.7. Cellules dendritiques

Selon Da Selva (2011), des cellules dendritique ont été découvertes en 2011 au sein de l'épидидyme murin, elles forment un réseau dense situe à la base de l'épithélium avec des projections dendritique qui passent entre les cellules épithéliales et sont orientés en direction de la lumière du tubule.

Ces cellules possèdent des marqueurs de cellules immunitaires, dont le rôle serait de maintenir l'homéostasie immunitaire afin de protéger les spermatozoïdes (Wang *et al.*, 2016) (Figure 4).

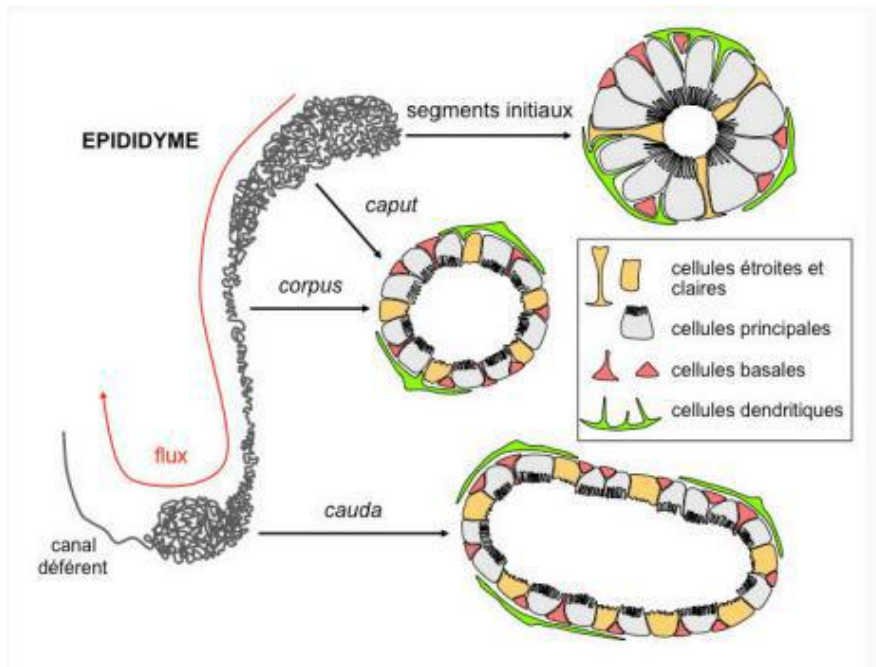


Figure 4 : Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).

1.1.2.8. Lumière du canal épидидymaire

Pour rejoindre le système éjaculateur depuis les gonades mâles, les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épидидymaire. Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules. Mais en raison d'une forte régionalisation tissulaire et cellulaire des activités de synthèse, de sécrétion et réabsorption des cellules épithéliales, la composition de ce fluide épидидymaire varie tout le long du canal (Adamali *et al.*, 1999 ; Hermo et Robaire, 2002).

2. Physiologie de la reproduction du lapin mâle

La physiologie de la reproduction suscite l'inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui du système neuroendocrinien.

La physiologie de reproduction du lapin suit la même organisation que celle des autres mammifères. Au niveau testiculaire, s'effectue la production de gamètes «la spermatogénèse», la maturation quant à elle, s'accomplira au niveau épидидymaire.

2.1. Développement des gonades et puberté

La différenciation des gonades commence au 16^{ème} jour après la fécondation, et la production des hormones androgènes débute le 19^{ème} jour de gestation. Les canaux de Müller régressent le 20^{ème} jour, et la formation de la prostate commence le 21^{ème} jour. Au 24^{ème} jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis (Figure 5) (Alvarino, 2000).

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

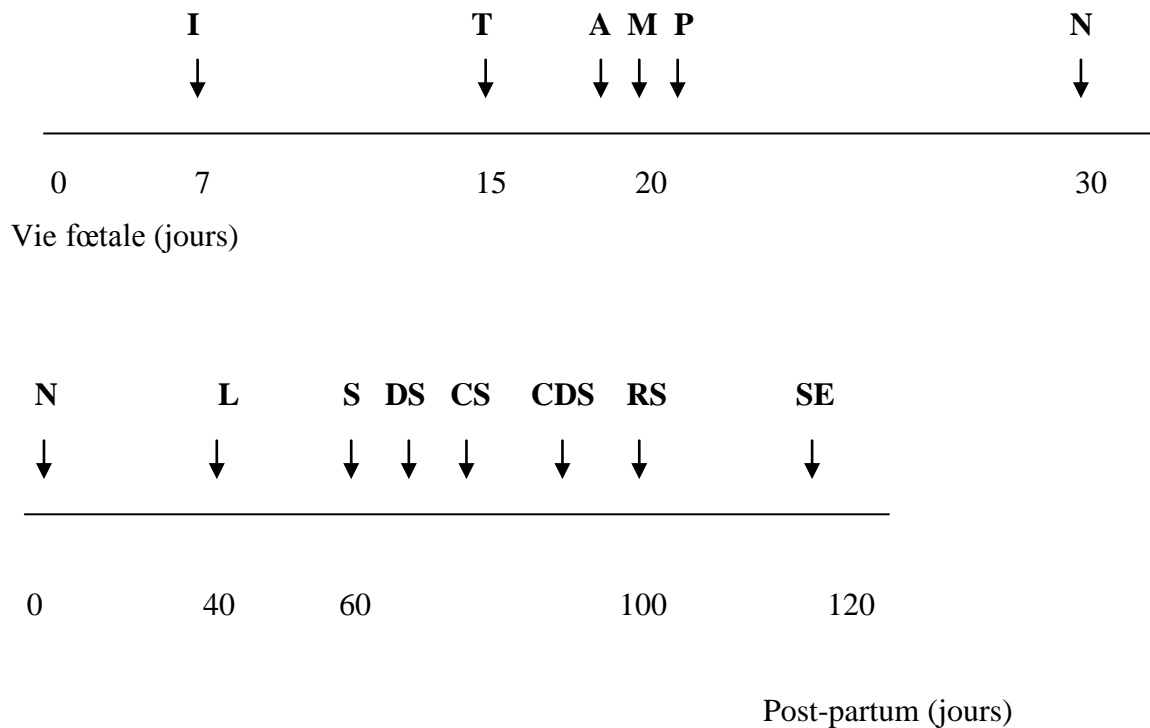


Figure 5 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).

I= Implantation;

T= différenciation des testicules;

M= dégénérescence des canaux de Müller;

N= Naissance;

DS= début de la spermatogénèse;

CDS= développement complet de la spermatogénèse

L= Maturation des cellules de Leydig;

A= sécrétion d'androgènes;

P= Croissance de la prostate;

S= Apparition du premier spermatozoïde;

CS= premier comportement sexuel;

RS= premiers rapports sexuels;

SE= Apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme

2.1.1 Développement pondéral

Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de 5 semaines. Pour la race Néo-Zélandaise, le gain de poids quotidien est de 2,4 mg/jour chez les lapins âgés entre 0 à 40 jours, et de 37 mg/jour chez les lapins âgés de 40 à 210 jours (Berger *et al.*, 1982).

D'après Alvarino (2000) et Lebas (2009), le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5^{ème} semaine d'âge. L'évolution du poids des testicules en fonction de l'âge montre une accélération de la croissance testiculaire, entre 70 et 110 jours environ.

2.1.2. Développement de l'appareil génital externe

A la naissance, les organes génitaux externes ne présentent pas de dimorphisme sexuel très marqué. La formation du scrotum débute vers le 2^{ème} mois d'âge, et à 3 mois les testicules descendent dans le scrotum. Le pénis se développe et acquiert la taille et la forme caractéristiques de l'adulte à la fin du 3^{ème} mois d'âge (Berger *et al.*, 1982).

2.1.3. Maturation sexuelle

La maturation sexuelle chez le lapin s'effectue en 4 phases : infantile, prépubertaire, puberté et maturité sexuelle.

2.1.3.1. Phase infantile

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

Durant ce stade, les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermato-génétique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger *et al.*, 1982).

2.1.3.2. Phase prépubertaire

Elle débute vers l'âge de 40 jours et est marquée par l'accélération de la croissance testiculaire et l'élévation des androgènes et des gonadostimulines dans le plasma, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge. Les premières cellules de Leydig matures apparaissent à 40 jours dont leur nombre augmente très rapidement, alors que le tissu interstitiel acquerra un aspect adulte entre 70 et 80 jours (Berger *et al.*, 1982 ; Boussit, 1989).

La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours d'âge (Lebas, 2009). La multiplication et la différenciation des cellules de Sertoli sont dépendantes des gonadotrophines (Alvarino, 2000).

2.1.3.3. Phase puberté

Selon Boussit (1989), la puberté serait définie par le moment où les organes reproducteurs du lapin mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes aptes à féconder un ovule qui s'effectue vers 4 à 5 mois d'âge.

Alors que Sabbagh (1983), rapporte que la puberté chez le lapin est le stade à partir duquel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques physiques et chimiques que chez l'adulte.

2.1.3.4. Maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne de spermatozoïdes n'augmente plus, est atteinte vers 30 à 32 semaines. Toutefois un jeune mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaines, en effet les premières manifestations de comportement sexuel peuvent apparaître vers 60 à 70 jours.

Le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement. Avec une faible viabilité des spermatozoïdes de leurs premiers éjaculats, il faut donc attendre 135 à 140 jours pour aboutir aux premiers accouplements féconds. Toutefois l'âge de puberté varie à cause des différences génétiques entre les races, les conditions d'élevage, l'alimentation et le climat (Lebas *et al.*, 1996).

2.2. Fonctions de l'épididyme

Les fonctions principales de l'épididyme sont le transport, la maturation et le stockage des spermatozoïdes. Ces fonctions sont attribuées à son épithélium qui assure plusieurs fonctions : il transporte les spermatozoïdes vers le système éjaculateur, il réabsorbe de l'eau, des ions et des protéines, il capte et transporte des substances provenant du sang dans la lumière du tube et sécrète dans la lumière des molécules organiques et des protéines spécifiques, dont la plupart sont des enzymes.

Les cellules épithéliales sont reliées entre elle par des jonctions qui constituent une barrière permettant au liquide épидидymaire d'avoir une composition très différente de celle du sang. Ainsi les cellules épидидymaires contrôlent la composition du fluide et la modifient graduellement selon les régions (Dacheux et Dacheux, 2001).

2.2.1. Maturation des spermatozoïdes

La maturation des spermatozoïdes est évaluée par l'acquisition de la motilité, la capacité de reconnaître la zone pellucide et la fusion avec l'ovocyte. Ces différentes propriétés sont acquises séquentiellement au cours du transit épидидymaire (Bonet et *al.*, 1992).

2.2.2. Acquisition de la mobilité

A la sortie du testicule et au niveau de la tête antérieure, les spermatozoïdes sont immobiles. Dans la tête distale, les cellules présentent une courbure statique avec oscillation de l'extrémité du flagelle sans déplacement. Dans le corps apparaissent les mouvements transitoires caractérisés par une grande courbure ce qui va entraîner des mouvements circulaires et erratiques. Dans la région caudale, les cellules présentent un mouvement mature caractérisé par une distribution symétrique des ondes de part et d'autre des flagelles permettant une trajectoire rectiligne (Dacheux et Paquignon, 1980).

Le contrôle de cette mobilité dépend des facteurs exogènes et endogènes. L'apparition de la mobilité est associée à l'augmentation intracellulaire de l'AMPc et des protéines kinases AMPc dépendantes et à la diminution du Ca⁺⁺ et de la calmoduline (Pariset et *al.*, 1985).

2.2.3. Modification de la membrane des spermatozoïdes

Le marquage par les lectines, les anticorps, les précurseurs radioactifs a montré de profonds changements dans la composition lipidique et protéique de la membrane des spermatozoïdes durant le transit épидидymaire. Ces changements résultent de plusieurs mécanismes incluant la redistribution ou la suppression après protéolyse, l'action des enzymes glycolytiques et l'intégration des composants néo synthétisés (Yanagimachi, 1994).

2.3. Mode de sécrétion de l'épididyme

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

2.3.1. Sécrétion mérocrine

La sécrétion mérocrine est le mode de sécrétion protéique classique. Effectivement, ce mode de sécrétion se produit dans la plupart des différents types cellulaires y compris les cellules principales de l'épithélium épидидymaire. La séquence primaire en acide aminé des protéines sécrétées de cette façon est caractérisée par la présence d'un peptide signal à l'extrémité N-terminale ce qui permet à la protéine de s'associer au réticulum endoplasmique. Ainsi, l'ARNm est traduit en protéine par les ribosomes associés au

réticulum endoplasmique rugueux de la cellule. Les protéines sont ensuite transportées jusqu'à l'appareil de Golgi, afin d'y subir différentes modifications post-traductionnelles telles que la glycosylation et l'acylation. Les protéines sont ensuite transférées et emmagasinées dans des granules de sécrétion. Ces granules migrent jusqu'à la membrane plasmique de la cellule et libèrent leur contenu à l'extérieur lors de la fusion avec la membrane plasmique. Les protéines ne présentant pas d'ancrage membranaire sont libérées dans la lumière de l'épididyme (Girouard, 2009).

2.3.2. Sécrétion apocrine

La sécrétion apocrine a été mise en évidence par microscopie électronique dans les cellules principales de l'épididyme. Outre les cellules principales de l'épididyme, la sécrétion apocrine a aussi été observée dans le canal déférent et dans différentes glandes, telles que la glande mammaire, la prostate et les glandes accessoires (Girouard, 2009).

Contrairement au mode mérocrine, la synthèse de même que les modifications post traductionnelles des protéines sécrétées selon le mode apocrine, s'accomplissent dans le cytoplasme des cellules (Sullivan *et al.*, 2005). Effectivement, puisque la séquence primaire de ces protéines est dépourvue de peptide signal, les protéines ne peuvent s'associer au réticulum endoplasmique. La synthèse a donc lieu exclusivement sur des ribosomes libres (Figure 6) (Girouard, 2009).

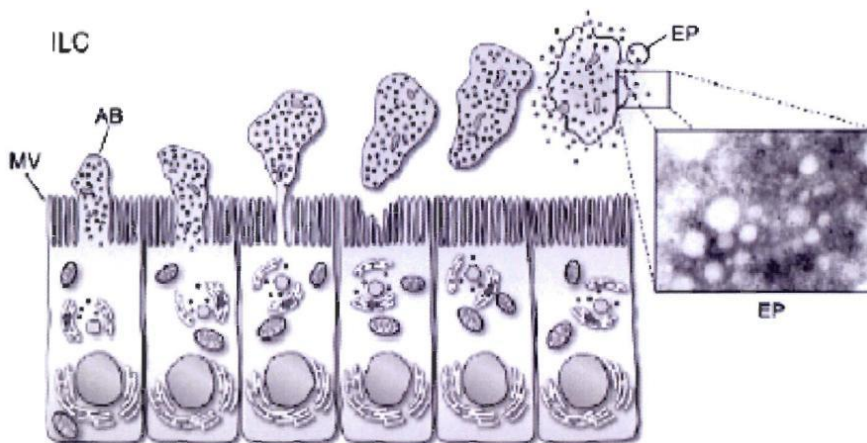


Figure 6 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).

AB: Aposomes; EP: Epididymosomes; ILC: compartiment intra-Liminal ;

MV : microvillosité

2.4. Régulation de la sécrétion épидидymaire

La régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire fait appel à un réseau complexe de molécules biochimiquement très variées et d'origines diverses, qui vont agir spécifiquement au niveau des cellules de l'épithélium épидидymaire pour réguler l'expression de gènes-cibles, et par conséquent, agir sur les fonctions physiologiques de cet organe.

Selon leur proximité par rapport aux cellules-cibles, on distingue premièrement parmi les principaux acteurs, les facteurs endocrines arrivant par la voie systémique (les androgènes, Les œstrogènes et les hormones thyroïdiennes) ; puis, les facteurs lumicrines apportés par la lumière du canal épидидymaire (endothéline et les facteurs de croissance) et enfin, les facteurs paracrines et/ou autocrines produits par les cellules avoisinantes ou les cellules elles-mêmes(angiotensine II, ions et eau)(Figure 7) (Robaire *et al.*, 2003).

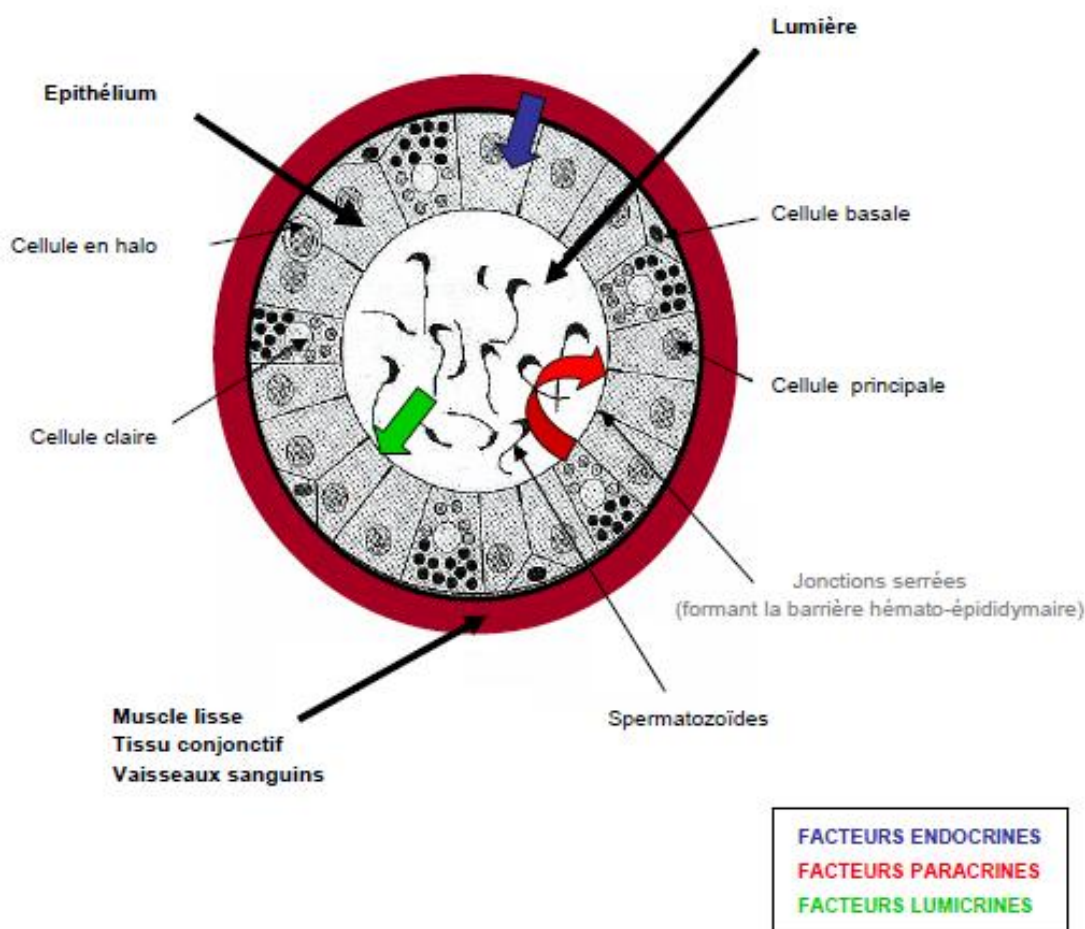


Figure 7: Représentation schématique de l'organisation cellulaire de l'épithélium épидидymaire de rat en coupe transversale et des différentes voies de régulation des fonctions épидидymaires (Robaire *et al.*, 2003 modifié).

2.5. Facteurs de variations de la fonction de reproduction du lapin

D'après Theau-clément (2005), les performances de reproduction varient en fonction d'une multitude de facteurs extrinsèques liés au milieu tels que : l'âge, saison, température, éclairage et qualité de l'alimentation.

2.5.1. Age

Villagran *et al.* (2003), rapportent un effet de l'âge sur l'ardeur sexuelle des mâles, en effectuant des séries de sollicitations de 4 minutes au chevauchement de mâles jeunes et adultes jusqu'à leur épuisement. Ils notent que les jeunes mâles (âgés de 6 à 12 mois) chevauchent et éjaculent 9 à 10 fois avant l'épuisement sexuel, alors que les adultes (âgés de 14-20 mois) n'ont que 6 à 8 fois avant refus.

2.5.2. Température

L'influence de la température sur la fonction de reproduction est attribuée plus à un effet d'hyperthermie qu'à un effet d'hypothermie, qui ne semble pas perturber le comportement sexuel des lapins (Boussit, 1989).

L'exposition des mâles à des températures élevées (34 C° pendant 8 h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogénèse, en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa et Thwaites, 1992).

Selon Finzi *et al.* (2000), l'effet de l'hyperthermie est plus rapide sur l'apparition des anomalies que sur la chute de la concentration spermatique.

2.5.3. Alimentation

Des études ont montré qu'un régime alimentaire limité réduit la libido et quelques traits séminaux chez le lapin mâle, cependant le facteur le plus important reste la qualité plutôt que la quantité du régime alimentaire (Luzi *et al.*, 1996).

La composition des aliments pendant la période d'élevage a un effet direct sur les performances de tous les animaux d'élevage. Une alimentation basée uniquement sur les fourrages grossiers est insuffisante pour la couverture des besoins de production chez le lapin (Coudert et Lebas, 1984 ; Berchiche et Zerouki, 2000).

2.5.4. Saison

Les effets de la saison regroupent les variations de durée d'éclairage, de température et de pluviométrie. Plusieurs auteurs (Marai *et al.*, 2002 ; Safaa *et al.*, 2008) ont

étudié l'effet saison sur l'activité sexuelle du lapin, et ont observé que la plupart des paramètres de la production spermatique sont affectés.

Selon Bannano et Costanzo (1987), la production spermatique (pourcentage de cellule motile, vitesse d'acheminement et concentration) est supérieure en automne comparée au printemps, alors qu'elle est nettement inférieure en été. La saison estivale a un effet dépressif sur le volume, la motilité et le nombre de spermatozoïdes par éjaculat.

2.5.5. Eclairage

Une durée d'éclairage de 12 heures sur 24 permet d'augmenter la taille des testicules et les réserves spermatiques dans l'épididyme, par rapport à des durées courtes de 8 heures sur 24 heures (Lebas *et al.*, 1996).

Une bonne conduite de l'élevage implique un éclairage de 30 à 40 Lux à condition que la lumière soit répartie de façon uniforme dans toute la pièce (Lebas *et al.*, 1990 ; Lebas *et al.*, 1991).

Chapitre II

Matériels et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche et de la souche synthétique.

L'objectif de ce travail est de déterminer l'effet de l'huile essentielle « *Mentha piperita* » sur la structure de l'épididyme des lapins mâles âgés de 12 à 20 semaines à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume épидидymaire

1. Matériel biologique

1.1. L'animal utilisé

L'expérimentation a été réalisée durant la période allant du mois de Mai au mois de Juillet de l'année 2018

La souche synthétique (*Oryctolagus cuniculus*) (figure8), a été initié à l'institut technique des élevage-Baba-Ali, Alger (ITELV) à partir de 2003 en collaboration avec l'INRA de Toulouse (Gacem et al., 2009). Cette souche est caractérisée par une prolificité importante (9 lapereaux nés vivant par mi-bas), un poids adulte sensiblement plus élevé et une meilleure aptitude à la croissance que la population locale algérienne (Lebas et al., 2010).

La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante (Grasse, 1949 ; Lebas et al., 1984) :

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



Figure8 : Lapins issus d'un élevage privé à Tizirt (Original, 2018).

1.2. Huile essentielle « *Mentha piperita* »

Selon la pharmacopée, l'huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie. L'extraction se fait soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif à sa composition (Vele, 2015).

La menthe poivrée est l'une des espèces la plus connue parmi des plantes médicinales (Figure9 et 10). Ses feuilles renferment une huile essentielle ayant des propriétés antiseptique dont le principe actif est le menthol, son contact procure une sensation de fraîcheur. Son usage en pharmacie, en alimentaire et en confiserie est très largement utilisée (Keller-Didier, 2004).



Figure 9 : Flacon de l'huile utilisée
(Originale, 2018)



Figure 10 : Huile essentielle utilisée
« Menthe poivrée » (Originale, 2018).

1.2.2. Propriétés physico-chimiques de la menthe poivrée

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles au fait de leur masse moléculaire relativement faible, ce qui leur confère la propriété olfactive qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques et les huiles végétales, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau. Elles présentent une densité en générale inférieure à celle de l'eau avec un indice de réfraction élevé (Bonnafous, 2013 ; El kalamouni, 2010).

Selon Couic-Marinier et Lobstein (2013), la composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement :

- Dans une même plante selon l'organe distillé (feuille, fleur, fruit, bois),
- Pour une même plante dans la même année selon la saison,
- Pour une même espèce selon les conditions de culture (ensoleillement, humidité, Longueur du jour, fertilité du sol),
- Pour une même espèce selon les races chimiques ou chémotypes (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques).

- Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation ; par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité ; de ce fait l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée.
- Bonnafous, (2013), rajoute qu'elles sont inflammables et ne contiennent aucun corps gras et elles ont un fort pouvoir de pénétration : en les appliquant sur la peau, il suffit de quelques heures pour en retrouver des traces dans les urines.

1.3 Autres matériels

Notre expérimentation a nécessité d'autres matériel tel que le papier absorbant, Bistouri, pinces à dissection, azote liquide, eppendorfs, marqueur pour l'identification, deux congélateurs l'un réglé à - 20°C et l'autre à - 80°C, balance à précision, balance analytique à affichage digital (0.1g), étiquettes, bavettes, gants, pince, centrifugeuse, microtome, cryotubes et cassettes d'inclusion.

2. Expérimentation

Avant d'entamer l'expérimentation, les animaux sont laissés au clapier pendant une semaine pour qu'ils puissent s'adapter au milieu, tout en évitant l'effet du stress.

Le suivie des lapins et l'administration de l'huile essentielle ont été effectués au niveau de l'Institut de Technologie Moyen et Agricole Spécialisé de Boukhalfa-Tizi Ouzou (ITMAS) et l'expérimentation s'est déroulée au niveau du laboratoire de recherche du professeur Medjdoub Bensaad au sein de l'université Mouloud Maamri Tizi Ouzou.

Les animaux sont répartis au hasard en trois lots (trois lapins pour chacun lot). Le premier lot comporte des lapins témoins (T), le deuxième et le troisième sont des lots expérimentaux (E), le deuxième lot comporte les lapins de la première dose (100 µl) et le troisième lot contient les lapins de la deuxième dose (200 µl).

Les animaux ont été répartis dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole. Ils sont tous exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement ambiant (Figure 11).



Figure 11 : Constitution des lots de trois lapins (Originale, 2018).

2.1. Administration de l'huile essentielle

L'expérimentation s'est effectuée en une période de 15 jours au niveau de l'ITMAS, durant laquelle des pesées corporels et un traitement par l'huile essentielle « *Mentha piperita* » sont effectués sur 17 lapins de sexe mâle.

L'huile essentielle a été administrée par voie orale à deux doses différentes (100ul/kg pour les lapins de première dose et 200ul/kg pour les lapins de deuxième dose), mélangé dans 0.5 ml d'eau potable puis laissé une semaine pour qu'ils s'adaptent au traitement.



Figure 12 : pesée et administration de l'huile essentielle (originale, 2018)

2.2. Sacrifices

Les animaux sont pesés puis sacrifiés par décapitation le matin entre 9 H:00 et 12 H:00. Juste après le sacrifice le sang est recueilli immédiatement dans les tubes à EDTA ou tube sec et centrifugé à 3000 tours/minute et le sérum est aliquoté dans des ependorfs pour des dosages hormonaux ultérieurs et congelé à 4°C (Figure 13).

La peau est immédiatement retirée, l'animal est disséqué, les épидидymes gauches sont prélevés puis dégraissés et pesés à l'aide d'une balance à précision (0.1g) et le volume déterminé par la méthode de la mesure du volume d'eau déplacé à l'immersion de l'organe dans une éprouvette graduée contenant un volume d'eau initialement connu (5ml) (Figure 14).

Les organes prélevés sont destinés à une étude histologique et sont plongés directement dans une solution de Bouin Hollande.

Les épидидymes droits sont immédiatement placés dans des cryotubes et congelés à 20°C (Figure 15).



Figure 13 : sacrifice des lapins et recueil du sang dans un tube sec (Originale, 2018).

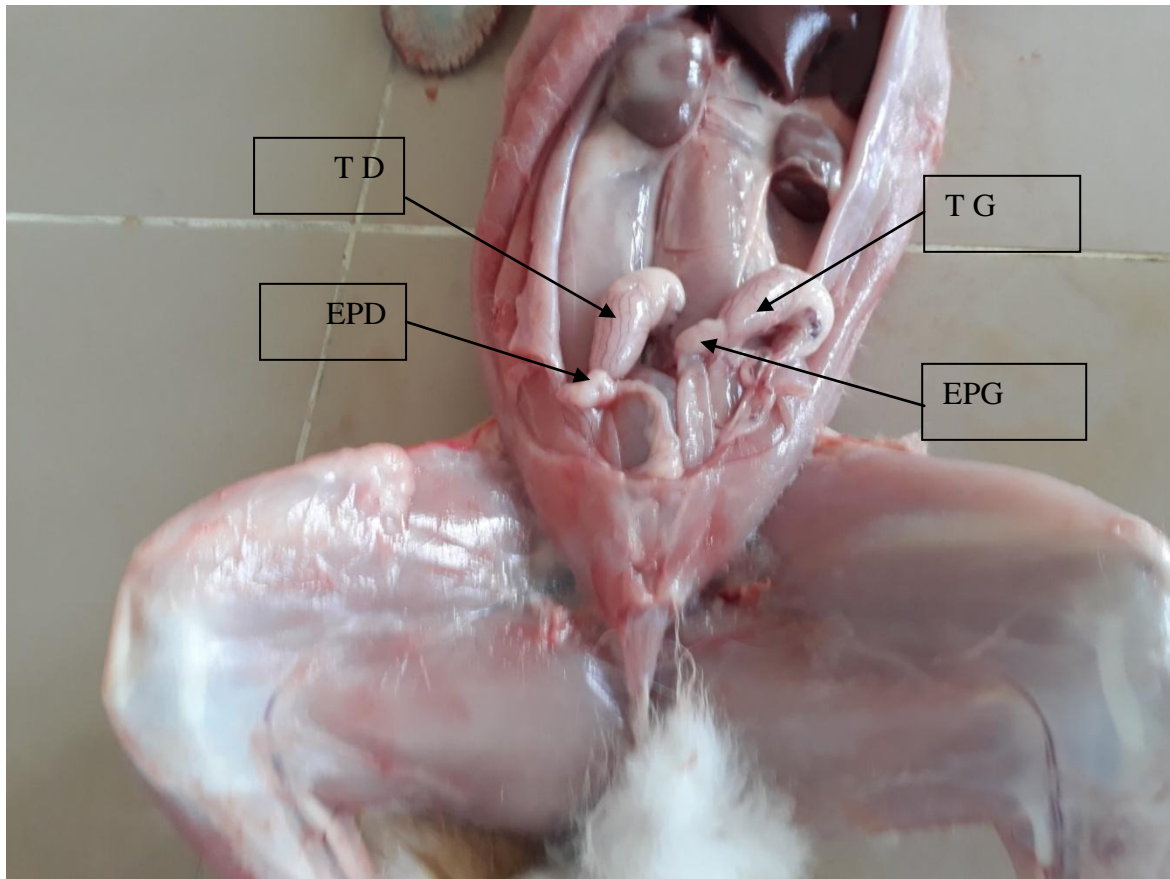


Figure 14 : Dissection du lapin et présentation de son appareil génital (Originale, 2018).

TD : testicule droit, EPD : épидидyme droit, TG : testicule gauche, EPG : épидидyme gauche.

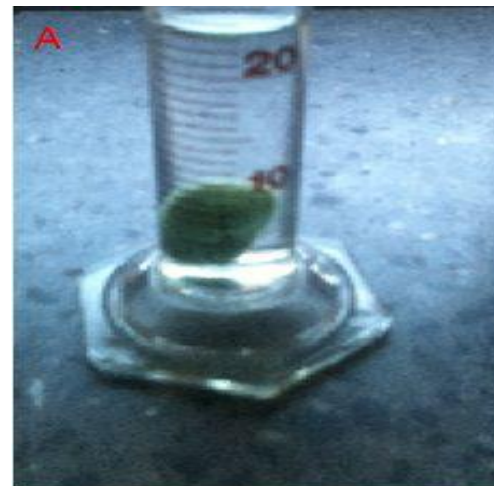


Figure 15 : Mesure du poids et volume des épидидymes (Originale, 2018).

3. Etude Histologique

L'étude histologique implique la mise en œuvre de plusieurs étapes obligatoires afin de réaliser des coupes de l'échantillon étudié. Ces étapes sont : la fixation, la déshydratation et l'éclaircissement, l'imprégnation, l'inclusion en paraffine, la confection des coupes et l'étalement, le déparaffinage et l'hydratation, la coloration topographique, et le montage suivie de l'observation microscopique (Martoja et Martoja, 1967 ; Gabe, 1968).

3.1. Fixation

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes permettant de pratiquer ultérieurement certaines manipulations avec un minimum de dommages pour les structures cellulaires. Elle permet notamment de les conserver dans un état aussi proche que possible de l'état vivant et d'éviter les raccourcissements et les distorsions possibles, mais aussi de protéger les cellules de l'attaque bactérienne ou encore de celle des enzymes.

Lors de notre expérimentation nous avons utilisé le fixateur Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) qui appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds.

Les organes sont déposés dans des disquettes étiquetées, plongées dans un volume de « Bouin Hollande » trois fois supérieur à celui de l'organe, afin de l'immerger totalement pendant 7 jours à température ambiante.

3.2. Déshydratation et éclaircissement

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

La technique de déshydratation se fait en passant progressivement l'organe dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°, 96°, 100°) pendant 40 minutes chacun, ceci permet d'éviter la désorganisation des structures. L'éclaircissement se fait dans des bains de xylène pendant 40 minutes également (Figure16).

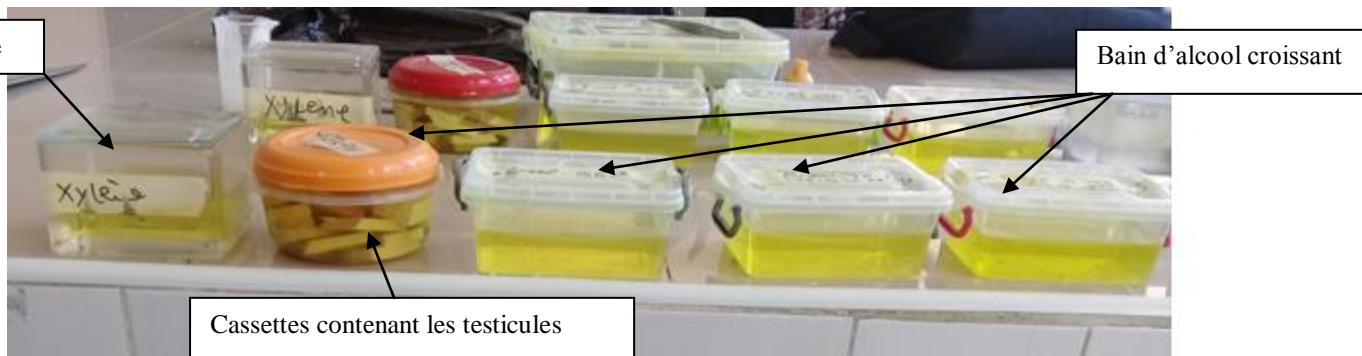


Figure 16 : Photographie de la série des bains de déshydratation des gonades (Originale, 2018).

3.3. Imprégnation

Elle se fait à chaud dans 2 bains successifs de 40 min chacun à la température de fusion de la paraffine (56 à 58°C). Le premier bain est formé d'un mélange de toluène et de paraffine, l'autre de paraffine pure. Un séjour prolongé des pièces dans le deuxième bain ne présente aucun inconvénient à condition que la température ne dépasse pas 60°C.

3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Cette étape consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C. Nous avons utilisé des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrits les numéros des échantillons et des moules de métal spécifiques et adaptés aux dimensions de l'organe et de la cassette. La paraffine liquide est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C, nous plaçons la partie marquée de sa cassette sur le moule et nous coulons de la paraffine fondue jusqu'à son débordement (la cassette soit totalement immergée) (Figure 17).

Les blocs sont refroidis rapidement sur une plaque réfrigérée et on les met au réfrigérateur et après leur durcissement ils sont démoulés facilement. Les blocs peuvent être ainsi conservés sans dommage (Figure 18).

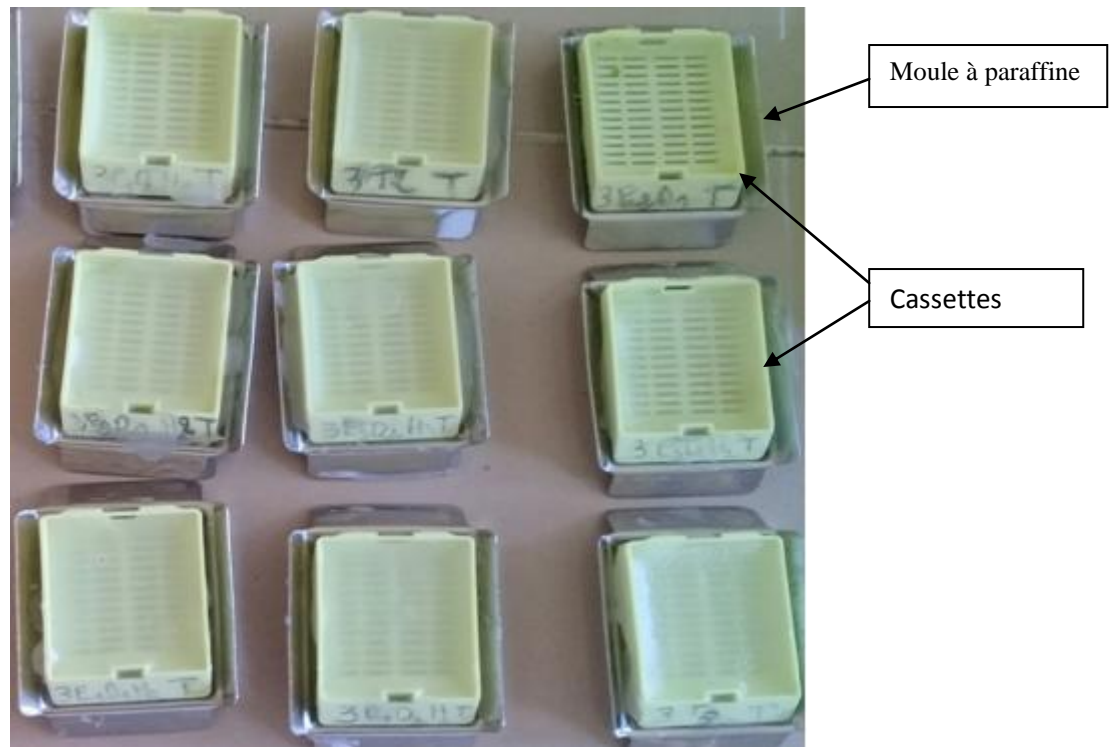


Figure 17 : Inclusion des cassettes contenant des gonades dans des moules à paraffine (Originale, 2018).

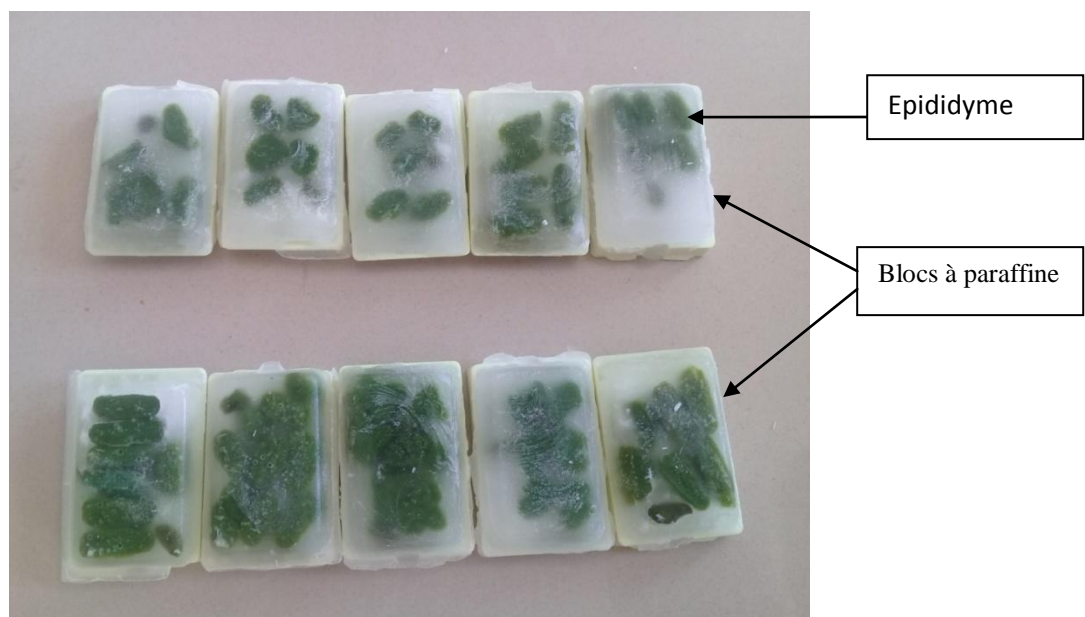


Figure 18 : Blocs réfrigéré (Originale, 2018)

3.5. Confection des coupes et étalement

Nous avons réalisé des coupes fines de 2 à 5 μ m d'épaisseur sur les blocs d'organes, en utilisant un microtome à paraffine de type Leica (Figure19) au niveau du laboratoire d'Anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Les coupes sont déposées sur de l'eau chaude (40°C) et récupérées sur des lames porte-objet propres qui seront incubées pendant une heure à 60°C dans une étuve.



Figure 19 : Microtome à paraffine de type Leica (Originale, 2018).

3.6. Déparaffinage et hydratation

Avant de procéder à la coloration des lames nous devons les déparaffiner et les placer dans un milieu aqueux, car les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux.

Le déparaffinage est une opération qui permet de retirer la paraffine qui imprègne la coupe grâce à deux bains de xylène suivi d'une réhydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés décroissants (100°, 96°, 70°, 50°).

3.7. Coloration topographique

La coloration topographique choisie est le Trichrome de Masson (voir Annexe) qui possède plusieurs avantages tels que la résistance au lavage, la rapidité d'exécution et les teintes obtenues de manière quasi-automatique.

Les colorants utilisés permettent de reconnaître les différents tissus, le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmiques. Les noyaux sont colorés en noir, les cytoplasmes acidophiles et les nucléoles en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes, les muscles sont rouges et les fibres collagènes vertes (Figure20).

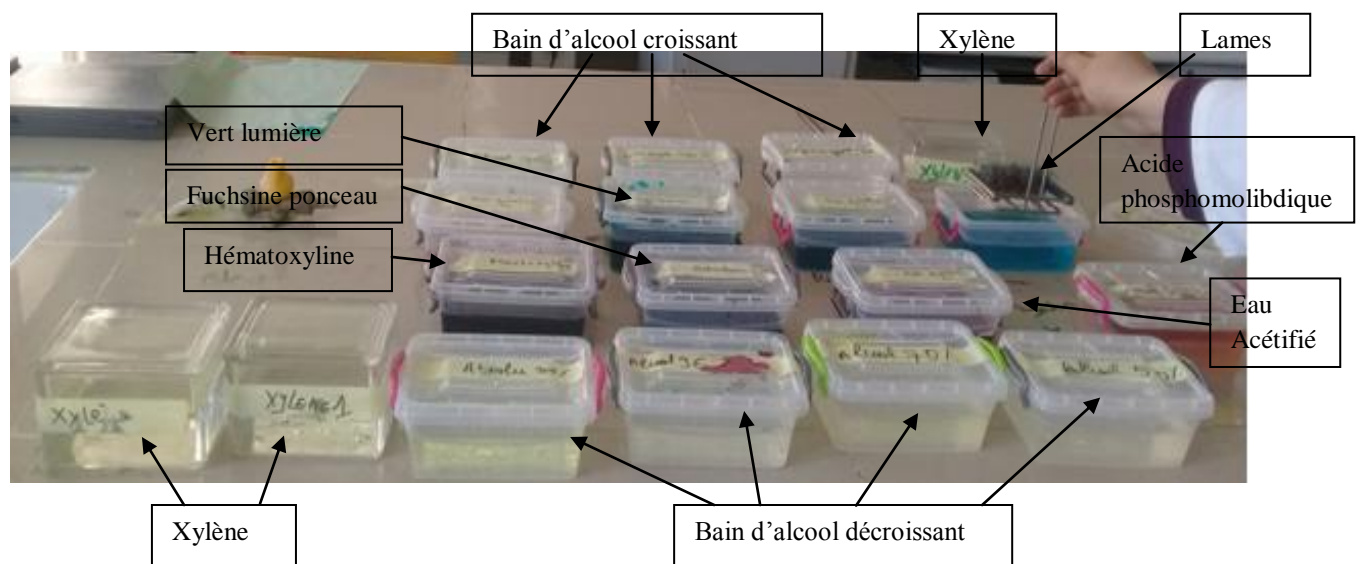


Figure 20 : Batterie de circulation pour déparaffinage, hydratation et coloration topographique (Originale, 2018).

3.8. Observation des lames

Les lames obtenues par la technique histologique sont observées au microscope photonique dans le but de rechercher toute modification histologique des structures étudiées après le traitement approprié.

Des photographies sont prises grâce à un appareil photos numérique, de ce fait le grossissement de l'observation change et est calculée de la manière suivante :

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

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

4. Etude statistique

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

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

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

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

Chapitre III

Résultats et Discussion

1. Résultats

Les résultats rapportés dans ce travail concernent les variations des paramètres macroscopiques de poids vifs, poids et volume épидidymaire des lapins mâles âgés de 3mois et 5mois après administration de l'huile essentielle « *Mentha piperita* » suivie d'une étude histologique des changements structuraux de l'épididyme.

1.1. Poids corporel

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

Les pesées ont été prises deux fois durant l'expérimentation (avant et après l'administration de l'huile essentielle) et ont permis de comparer le poids vifs des lapins entre les deux âges.

1.1.1. Poids corporel des lapins de 3mois

La figure 21 représente l'évolution du poids corporel des lapins de 3 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée à deux doses différentes (100 μ l/kg et 200 μ l/kg).

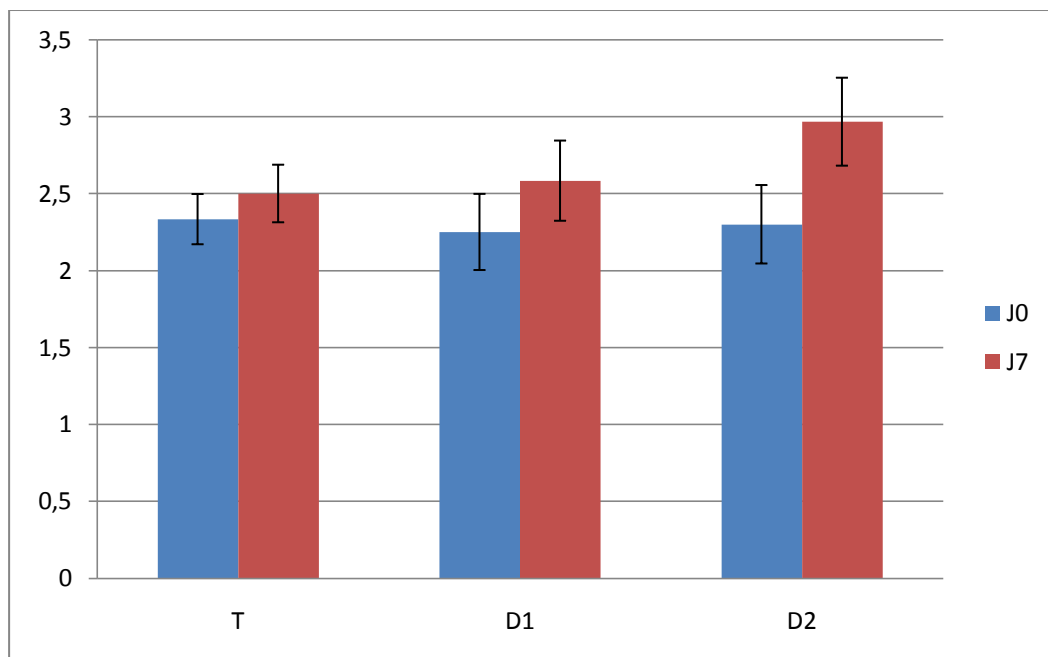


Figure 21 : Evolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3 mois

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

La valeur moyenne du poids corporel des lapins mâles âgés de 3 mois enregistré durant notre expérimentation après l'administration de l'huile essentielle (J7) est plus élevée respectivement chez les lapins traités à la dose 2 (D2) qui est de $2,96 \pm 0,285$ kg, puis chez ceux traités à la dose 1 (D1) à la valeur de $2,28 \pm 0,260$ kg par rapport au lot témoin (T) qui est de $2,5 \pm 0,187$ kg. Tandis qu'avant le traitement (J0), la valeur moyenne du poids corporel est faible par rapport en J7 (après le traitement) chez les lapins de lot témoin elle est de $2,33 \pm 0,163$ kg et chez les lapins de lot dose 1 la valeur moyenne du poids corporel est de $2,25 \pm 0,247$ kg et chez ceux de lot dose 2 elle est de $2,3 \pm 0,254$ kg.

La valeur moyenne de poids vif des lapins âgés de 3 mois après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée est plus élevée que celle avant le traitement.

1.1.2. Poids corporel des lapins de 5 mois

La figure 22 représente l'évolution du poids corporel des lapins de 5 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée à deux doses différentes ($100 \mu\text{l}/\text{kg}$ et $200 \mu\text{l}/\text{kg}$).

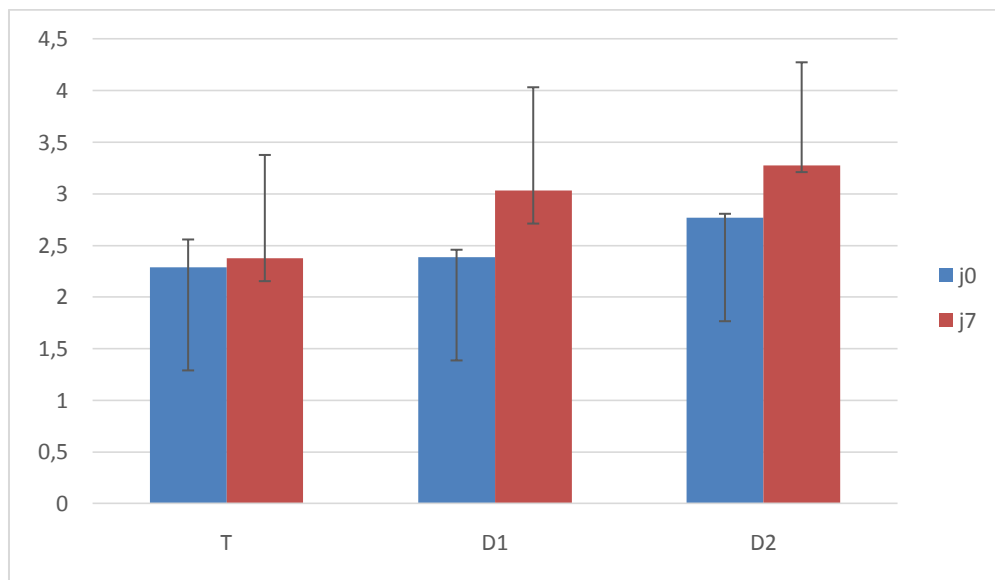


Figure 22 : Evolution pondérale moyenne des lapins de 5 mois d'âge.

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2 ; **J0** : avant traitement ; **J7** : après traitement

La valeur moyenne du poids corporel des lapins mâles âgés de 5 mois enregistré après l'administration de l'huile essentielle (J7) est plus élevée respectivement chez les lapins traités à la dose 2 (D2) qui est de $3,275 \pm 0,063$ kg, puis chez ceux traités à la dose 1 (D1) à la valeur de $3,03 \pm 0,32$ kg par rapport au lot témoin (T) qui est de $2,377 \pm 0,222$ kg. Tandis qu'avant le traitement (J0), la valeur moyenne du poids corporel est faible par rapport en J7 (après le traitement) chez les lapins de lot témoin elle est de $2,29 \pm 0,268$ kg et chez les lapins de lot dose 1 la valeur moyenne du poids corporel est de $2,38 \pm 0,072$ kg et chez ceux de lot dose 2 elle est de $2,76 \pm 0,04$ kg.

La valeur moyenne de poids vif des lapins âgés de 5 mois après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée est plus élevée que celle avant le traitement.

1.2. Poids épидидymaire

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

1.2.1. Poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins de 3 mois d'âge

La Figure 23 représente le poids moyen de l'épididyme gauche et droit des lapins âgés de 3 mois en fonction de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée.

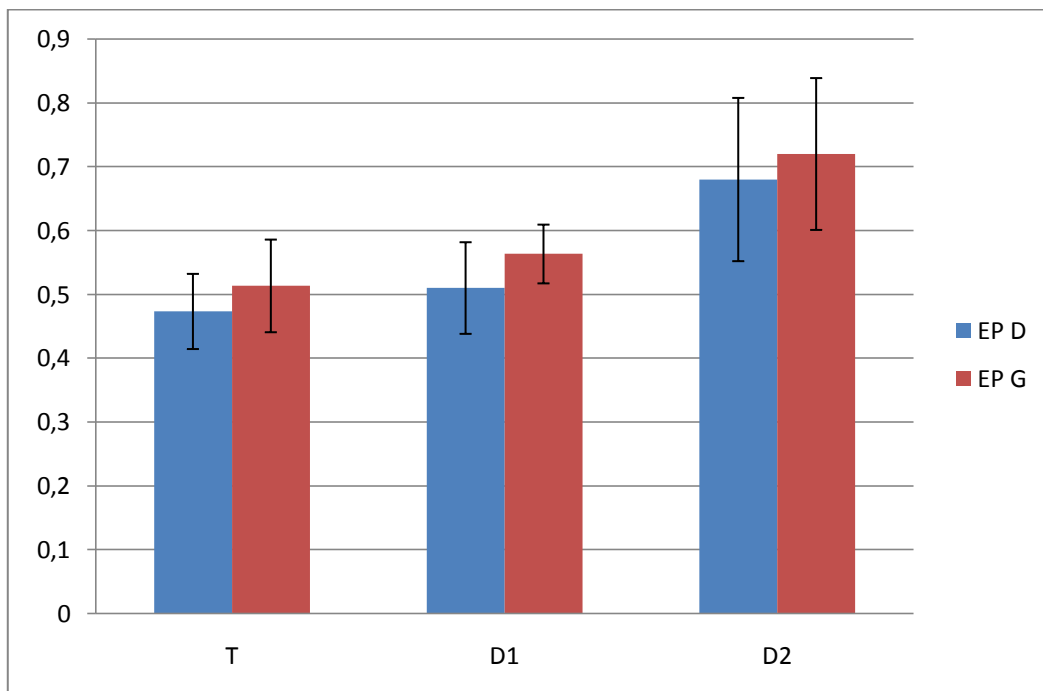


Figure 23 : Evolution du poids des épидидymes gauches et droits des lapins âgés de 3 mois

EPG : Epididyme Gauche ; **EPD :** Epididyme Droit ; **T :** Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose 2

Le poids de l'épididyme gauche et droit des lapins âgés de 3 mois traités par l'HE de la menthe poivrée à la dose 1 et dose 2 est plus élevé par rapport aux témoins. En effet les valeurs moyennes du poids épидидymaires gauches et droits est de $0.47 \pm 0.588g$ vs $0.51 \pm 0.072g$ des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 0.51 ± 0.071 vs 0.563 ± 0.046 chez les lapins traités à la première dose (D1) et elle est de 0.68 ± 0.127 vs 0.72 ± 0.118 chez ceux traités à la deuxième dose (D2). Néanmoins les valeurs moyennes du poids de l'épididyme gauche sont plus élevées que celles de l'épididyme droit.

1.2.2. Poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins de 5 mois d'âge

La Figure 24 représente le poids moyen de l'épididyme gauche et droit des lapins âgés de 5 mois en fonction de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée.

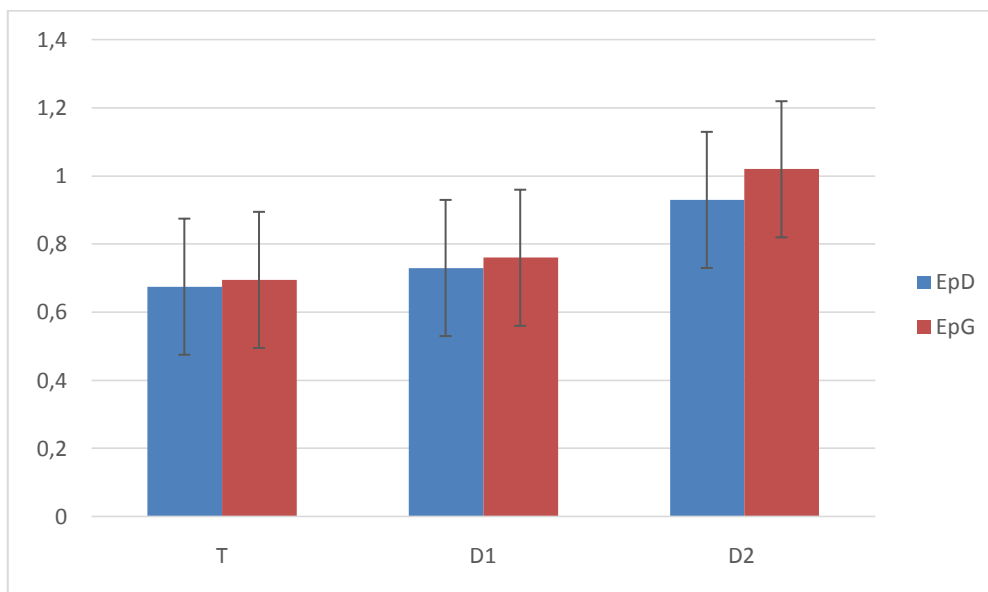


Figure 24: Evolution du poids des épидидymes gauche et droits pour les lapins de 5 mois d'âge

EPG : Epididyme Gauche ; **EPD :** Epididyme Droit ; **T :** Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose

Le poids de l'épididyme gauche et droit des lapins âgés de 5 mois traités par l'HE de la menthe poivrée à la dose 1 et dose 2 est plus élevé par rapport aux témoins. En effet les valeurs moyennes du poids épидидymaires gauches et droits est de $0.675 \pm 0.106g$ vs $0.695 \pm 0.007g$ des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 0.73 ± 0.024 vs 0.76 ± 0.007 chez les lapins traités à la première dose (D1) et elle est de 0.93 ± 0.235 vs 1.02 ± 0.196 chez ceux traités à la deuxième dose (D2). Néanmoins les valeurs moyennes du poids de l'épididyme gauche sont plus élevées que celles de l'épididyme droit.

1.3. Poids total épидидymaire

1.3.1. Poids total épидидymaire des lapins de 3 mois

La figure 25 représente le poids total de l'épididyme pour les lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée.

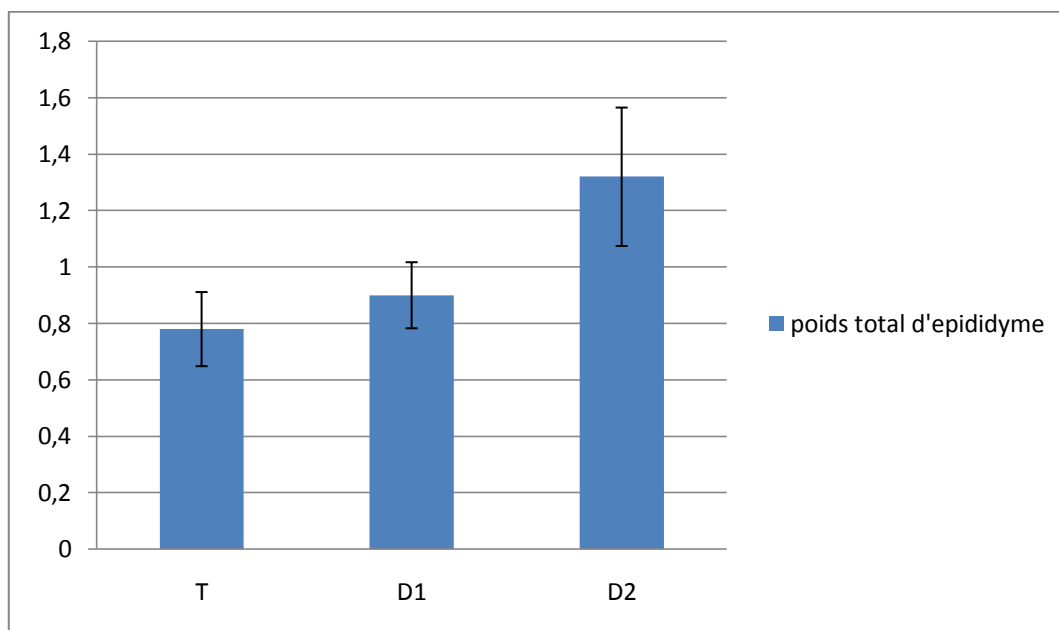


Figure 25 : Le poids total de l'épididyme des lapins âgés de 3 mois

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

La valeur moyenne du poids total de l'épididyme est élevée chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) par rapport aux témoins, où la valeur est de 0.78 ± 0.131 g pour les lapins de lot témoin (T), alors qu'elle est de 0.9 ± 0.117 g chez les lapins traités à la dose 1 (D1) et elle est de 1.32 ± 0.245 g chez ceux traités à la deuxième dose (D2).

1.3.2. Poids total épидидymaire des lapins de 5 mois

La figure 26 représente le poids total de l'épididyme pour les lapins âgés de 5 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée.

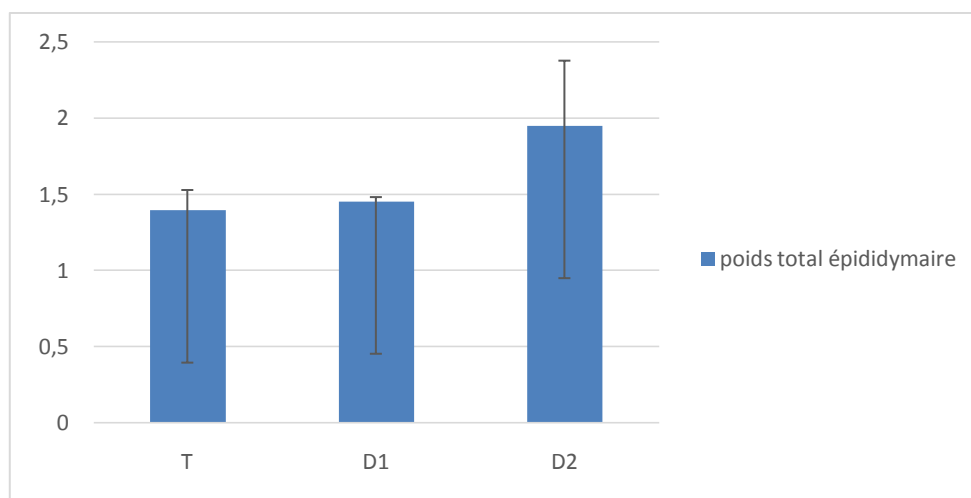


Figure 26 : Evolution du poids total de l'épididyme des lapins de 5 mois.

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

La valeur moyenne du poids total de l'épididyme est élevée chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) par rapport aux témoins, où la valeur est de 1.395 ± 0.134 g pour les lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 1.453 ± 0.029 g chez les lapins traités à la dose 1 (D1) et elle est de 1.95 ± 0.429 g chez ceux traités à la deuxième dose (D2).

1.4. Poids relatif de l'épididyme à 100g de poids corporels

1.4.1. Poids relatif épидидymaire des lapins de 3 mois

La figure 27 représente les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle de la menthe poivrée administrée.

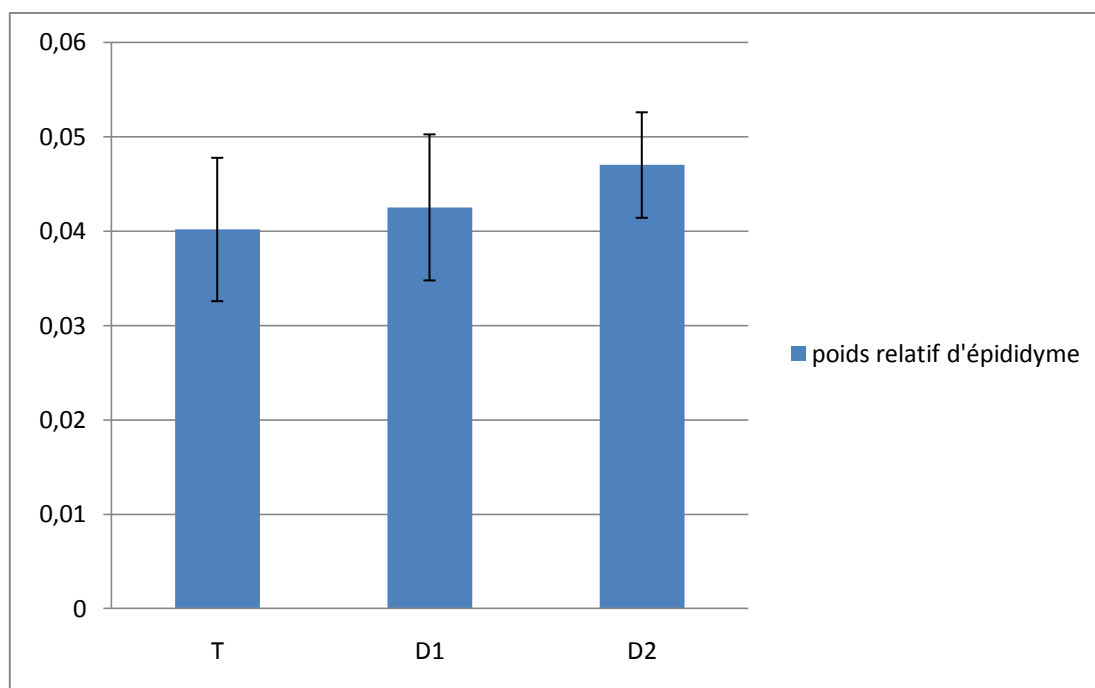


Figure 27 : Poids relatif des épидидymes des lapins de 3 mois d'âges

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes présente une élévation chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) de l'huile essentielle de la menthe poivrée par rapport au témoin. En effet la valeur moyenne chez les lapins de lot témoin (T) est de $0,04 \pm 0,007$ g alors qu'elle est de $0,04 \pm 0,007$ g chez les lapins de la première dose (D1) et elle est de $0,04 \pm 0,005$ g chez ceux traités à la deuxième dose (D2).

1.4.2. Poids relatif épидидymaire des lapins de 5 mois

La figure 28 représente les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins âgés de 5 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle de la menthe poivrée administrée.

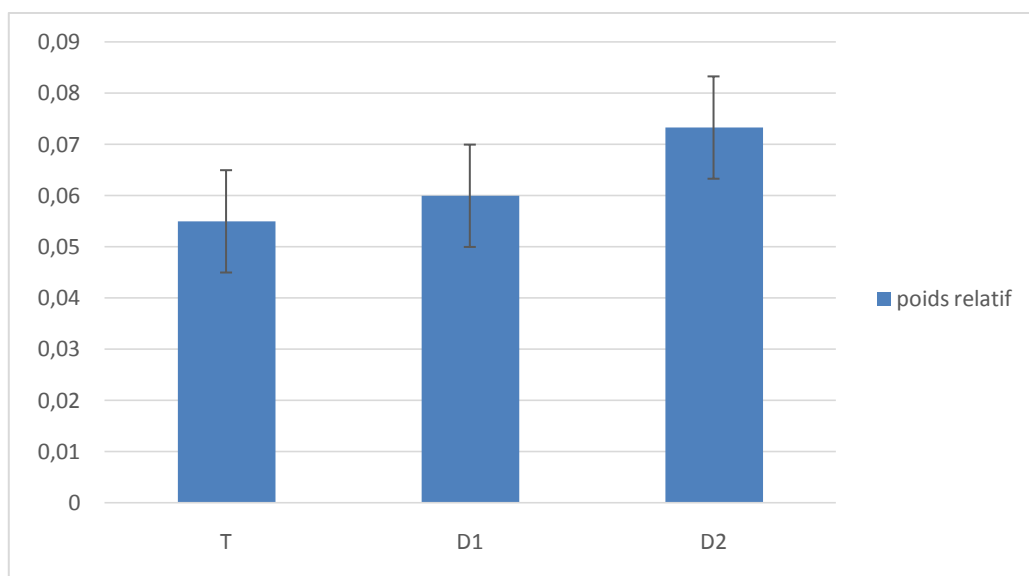


Figure 28 : Poids relatif des épидидymes des lapins de 5 mois d'âges

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes présente une élévation chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) de l'huile essentielle de la menthe poivrée par rapport au témoin. En effet la valeur moyenne chez les lapins de lot témoin (T) est de $0,055 \pm 0,007$ g alors qu'elle est de $0,06 \pm 0,007$ g chez les lapins de la première dose (D1) et elle est de $0,073 \pm 0,004$ g chez ceux traités à la deuxième dose (D2)

1.5. Volume épидидymaire

1.5.1. Volume épидидymaire des lapins âgés de 3 mois

Le graphe suivant représente l'évolution du volume total de l'épididyme pour les lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée.

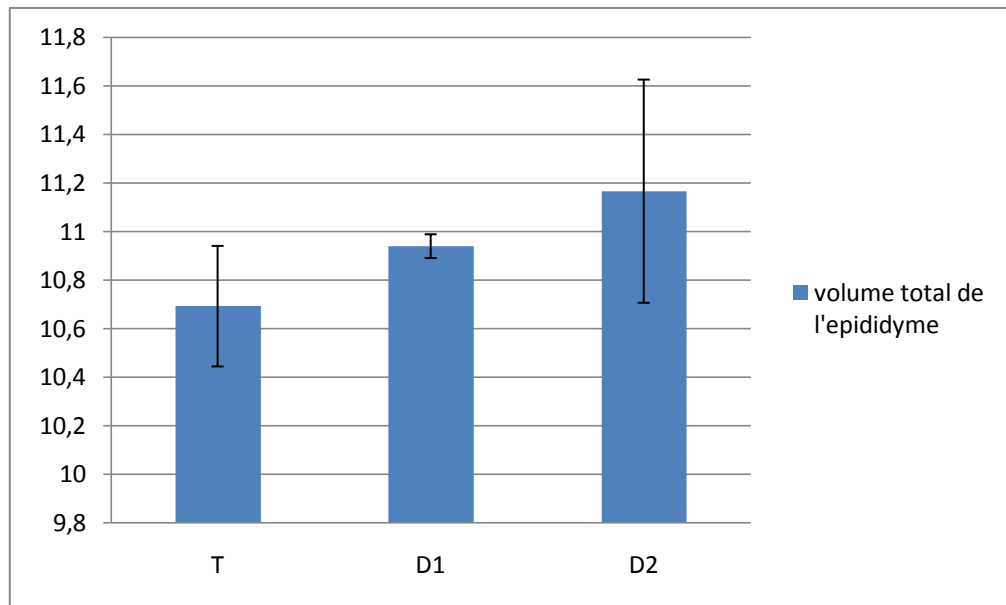


Figure 29: Volume de l'épididyme des lapins âgés de 3 mois

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

Le volume des épидидymes (Figure29) chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée est plus élevé par rapport aux témoins. En effet la valeur de volume total des épидидymes est de 10.69 ± 0.248 ml des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 10.94 ± 0.048 ml chez les lapins traité à la première dose (D1) et elle est de 11.16 ± 0.460 ml pour ceux traité à la dose (D2)

1.5.2. Volume épидидymaire des lapins âgés de 5 mois

Le graphe suivant représente l'évolution du volume total de l'épididyme pour les lapins âgés de 5 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée.

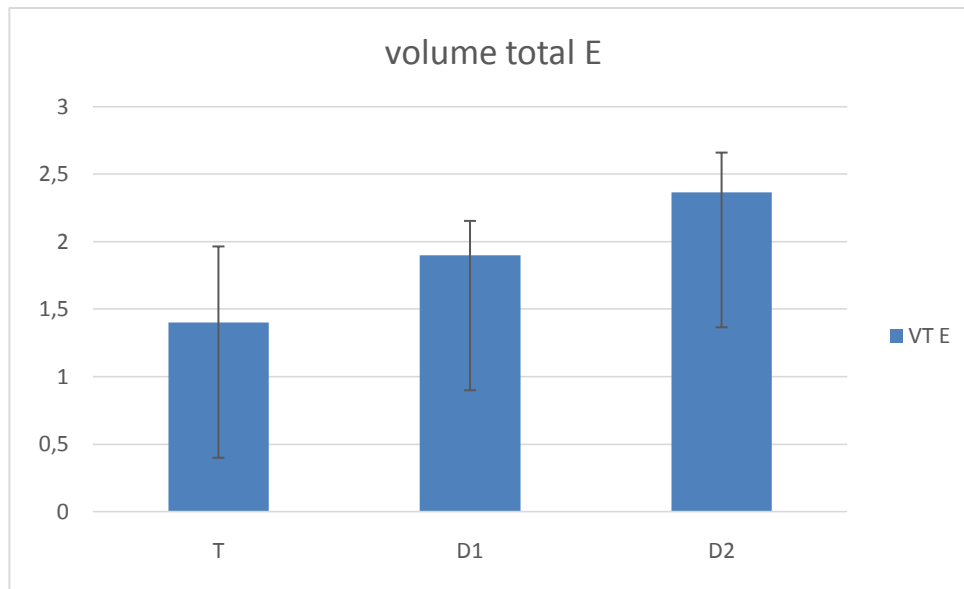


Figure 30: Volume de l'épididyme des lapins âgés de 5 mois

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

Le volume des épидидymes (Figure30) chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée est plus élevé par rapport aux témoins. En effet la valeur de volume total des épидидymes est de 1.4 ± 0.565 ml des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 1.9 ± 0.254 ml chez les lapins traité à la première dose (D1) et elle est de 2.36 ± 0.294 ml pour ceux traité à la dose (D2)

1.2. Etude histologique des épидидymes des lapins

La structure histologique des épидидymes révèle une grande variabilité entre les lapins de lot témoin, et les lapins traités à la dose1 (100 μ l/kg) et la dose 2 (200 μ l /kg) par l'HE de la menthe poivrée.

1.2.1. Étude histologique des épидидymes des lapins âgés de 3 mois

Les structures histologiques de l'épididyme des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observées au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 3 mois sont représentées dans la planche 1.

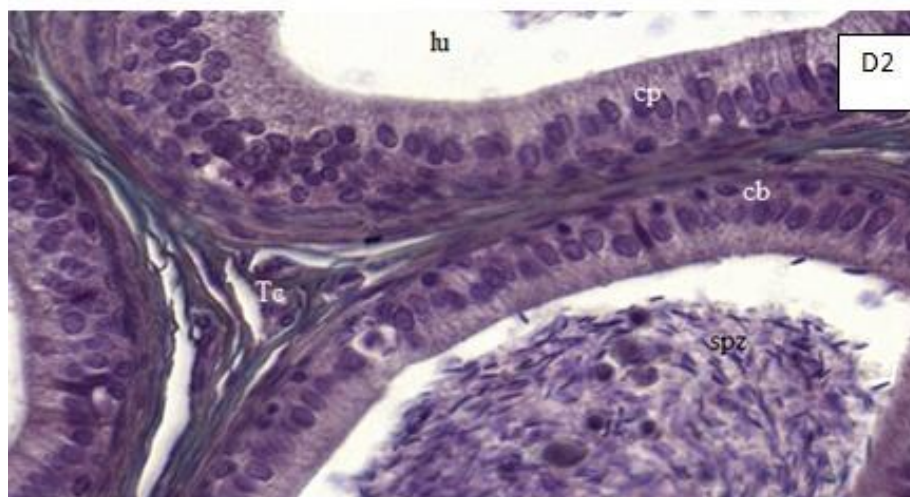
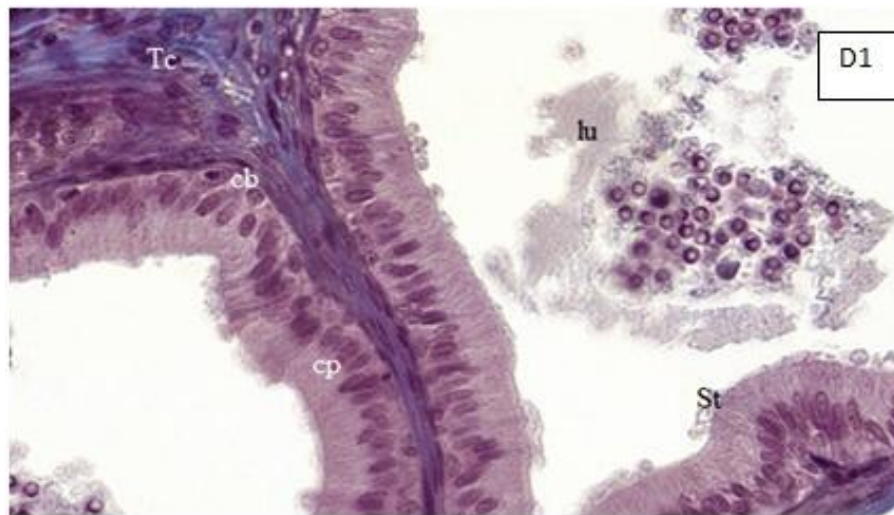
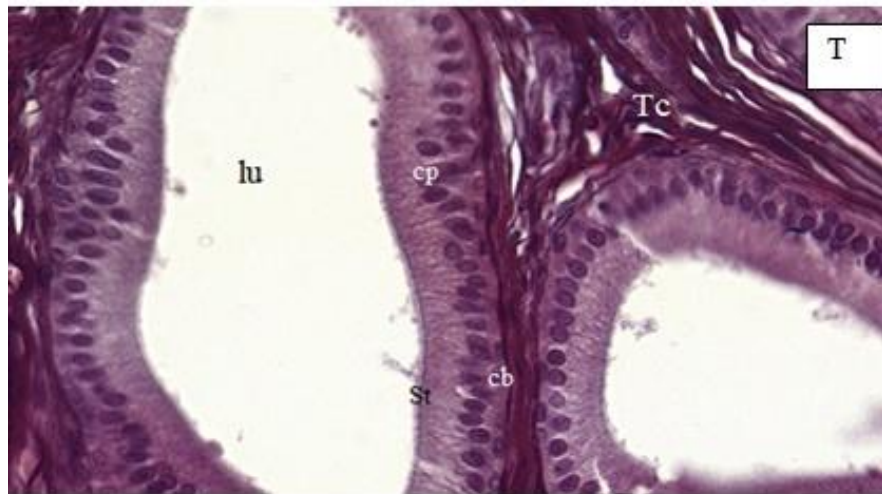


Planche 1: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 3 mois de lot T, D1 et D2

lu : lumière ; **Tc** : tissu conjonctif ; **Cb** : cellule basale ; **cp** : Cellules principales ; **st** : stéréocils **T** : Témoin ; **D1** : Dose 1

1.2.1.1. Lapins de lot témoin

Chez les lapins du lot témoin âgés de 3 mois, au fort grossissement, le tube épидидymaire apparait bordé par une fine paroi musculaire à laquelle adhère une couche d'épithélium prismatique constitué de deux catégories cellulaires (cellules principales et cellules basales) où ces différentes cellules ont une hauteur plus grandes et riches en stéréocils qui reposant sur une lame basale fine. Le tube épидидymaire présente également une lumière large et vide dépourvue de spermatozoïdes avec un début des sécrétions épидидymaire, un tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives, des faisceaux de collagène, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins (Planche 1 T).

1.2.1.2 Lapins traités

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 1 (100 µl/kg) montre, un épithélium prismatique pseudostratifié alors qu'il est cubique chez les lapins du lot témoin, et l'épithélium contient des cellules principales et basales, des stéréocils visible avec des sécrétions qui se concentre à la lumière des tubes sans aucune présence des spermatozoïdes. Le tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives mieux organisées, de cellules myoïdes, de fibroblastes et de vaisseaux sanguins (Planche 1 D1).

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 2 (200 µl/kg) montre, au fort grossissement, la même structure que celle des lapins du lot dose 1, néanmoins avec apparition de quelques spermatozoïdes qui se concentrent au niveau de la lumière épидидymaire (Planche 1 D2).

1.2.2. Etude histologique de l'épididyme des lapins âgés de 5 mois

Les structures histologiques de l'épididyme des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observées au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 5 mois sont représentées dans la planche 2.

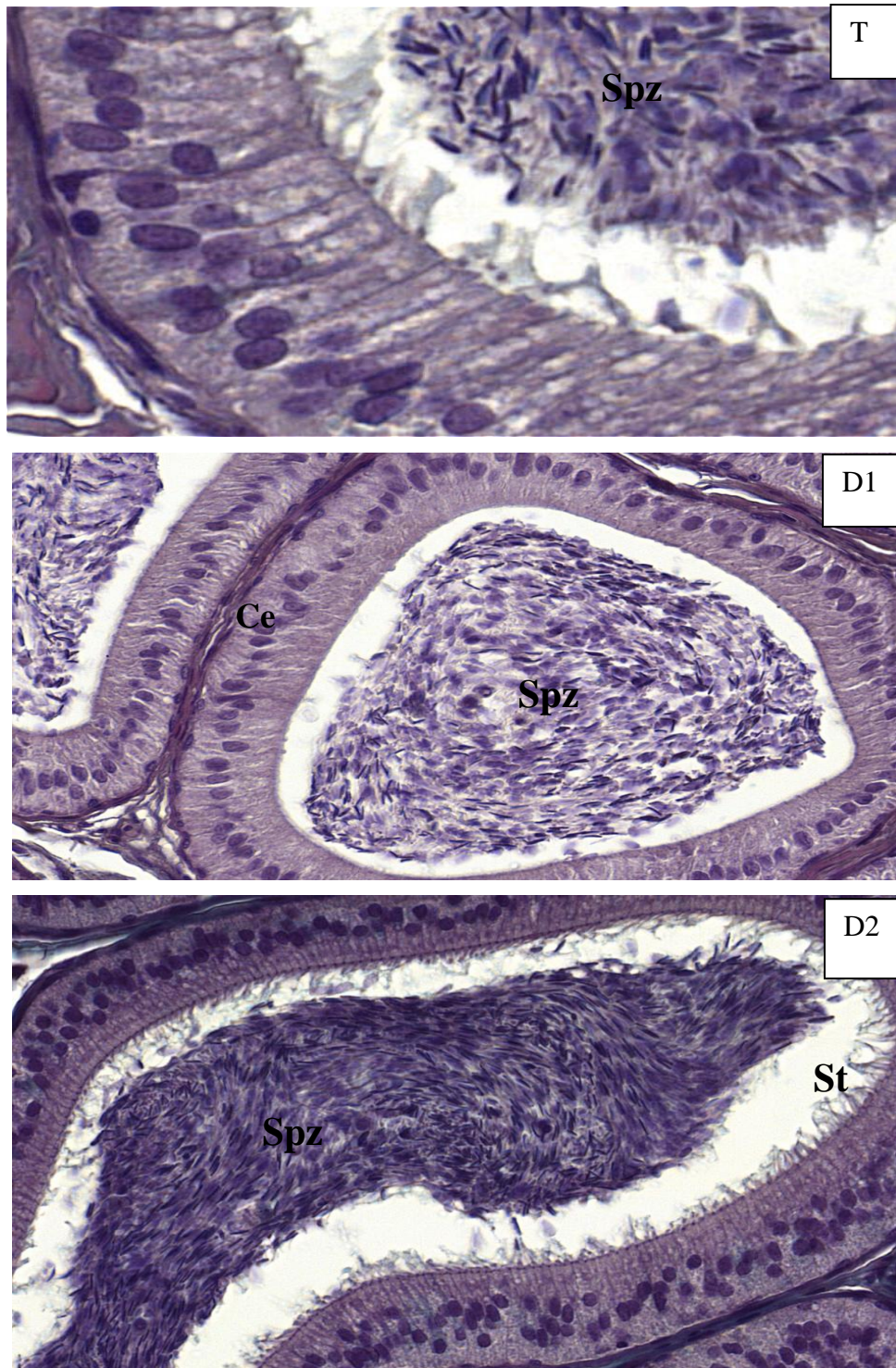


Planche 2 : coupe histologique de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 5 mois de lot T, D1 et D2.

Spz : spermatozoïdes, St : stéréocils, Ce : cellule étroite.

1.2.2.1. Lapins témoins

Pour les lapins témoins âgés de 5 mois, l'épididyme montre une différence de contenu de la lumière des tubes épидидymaires, certains ont une lumière vide alors, que d'autres contiennent au centre de la lumière des spermatozoïdes (planche 2 T).

1.2.2.2. Lapins traités

Pour les lapins traités par la dose 1, on observe que l'épithélium bordant les tubes épидидymaire est plus riche en cellules étroites et que la lumière apparaît bien définie avec une augmentation du nombre de spermatozoïde par rapport aux lapins témoins. Cependant ceux traités par la dose 2 présente une lumière plus riche en spermatozoïdes (planche 2 D1, D2).

2. Discussion

La présente étude sur l'effet de la menthe poivrée sur les paramètres macroscopiques (poids vif, poids et volume testiculaire) ainsi que sur les changements des structures histologiques des lapins âgés de 3 et 5 mois révèle que le poids corporel, le poids et volume épидидymaire chez les lapins âgés de 3 et 5 mois sont élevés respectivement chez les lapins traités par la dose D2 (200 µl/kg de pc) puis chez ceux traités par la dose D1 (100 µl/kg de pc) par rapport aux témoins.

Ainsi sur le plan histologique la menthe poivrée induit l'apparition de sécrétions qui se concentrent à la lumière des tubes sans aucune présence des spermatozoïdes chez les lapins âgés de 3 mois par la dose 100 µl/kg tandis que chez les lapins traités par la dose 200 µl/kg quelques spermatozoïdes qui se concentrent au niveau de la lumière épидидymaire et augmentation du nombre de spermatozoïdes dans la lumière chez les lapins traités de 5 mois par rapport aux témoins qui sont plus fréquents chez ceux traités par la dose 2.

Soy *et al.*, (2016) ont observé une augmentation du poids des rats traités avec un extrait éthanlique de feuilles de *Mentha Piperita* pendant 60 jours, et cela concorde avec nos résultats.

La croissance pondérale d'un animal résulte de développement en poids de chaque élément constitutif de son corps (Micol *et al.*, 1993).

Kumar (2014) n'a observé aucun changement significatif au niveau du système reproducteur après l'utilisation à court terme de menthe verte, mais l'utilisation à long terme a causé des dommages irréversibles à ce système, tels qu'une diminution significative du poids

des vésicules séminales, épидидyme, testicule et prostate avec changements histopathologiques significatifs dans ces tissus.

De plus une étude de l'action de l'extrait aqueux de la nigelle, administré par voie orale à 300 mg/kg pendant 60 jours, sur la fertilité du rat mâle, montre une augmentation du poids des organes reproducteurs par rapport aux témoins, ainsi qu'une stimulation des paramètres de reproduction tels que la motilité et le nombre de spermatozoïdes dans les canaux testiculaires et épидидymères. Une augmentation significative de l'activité de la spermatogenèse a été observée dans les tubules séminifères des rats traités au niveau des spermatides spermatocytes primaires et secondaires. Les épидидymes présentent un nombre élevé de spermatozoïdes et la lumière est différencié et plein des spermatozoïdes. Une hausse du taux d'hormones responsables de la spermatogénèse, la LH, la FSH et la testostérone, pourrait expliquer ces observations. De plus, une mise en contact de ces rats traités avec des femelles a provoqué une augmentation du nombre de femelles gestantes, par rapport aux rats non traités. Ceci s'expliquerait par l'augmentation de la motilité et de la densité du sperme des rats traités (Mukhallad *et al.*, 2009).

L'extrait aqueux des feuilles de *Psidium guajava* a été donné à des rats albinos mâles a une dose de 250 et 500 mg/kg a induit une réduction significative du poids des organes reproducteurs. Ainsi que le taux de testostérone de cholestérol total, de triglycérides et de HDL-concentration de cholestérol dans le sérum. Ces résultats ont confirmé que l'extrait aqueux de *Psidium guajava* a une activité contraceptive (Choudhury et Sinha., 2014).

L'extrait à l'éthanol de la plante entière de *Polygala rosmarinifolia* a été donné à un mâle des rats albinos à la dose de 100 et 200 mg/kg pc pendant 14 jours. Le résultat a montré une réduction significative de poids des testicules et l'épididyme et le nombre de spermatozoïdes épидидymaires. La motilité et les anomalie des spermatozoïdes ont également diminué de manière significative chez les rats traités. Le dosage hormonal des rats traités a montré une augmentation des taux sériques de FSH et d'œstrogène, mais diminué dans les niveaux sériques de LH et de testostérone. Par conséquent, il a conclu que, l'extrait d'éthanol de la plante de *Polygala rosmarinifolia* a inhibé la concentration de spermatozoïdes, la motilité et la testostérone entraîner une fertilité masculine (Alagammal *et al.*, 2013).

L'augmentation du nombre de spermatozoïdes, du diamètre des tubes séminifères et la diminution du nombre de spermatozoïdes anormaux montre l'effet positif de l'huile essentielle de rose sur le système reproducteur mâle de rats (Kose *et al.*, 2012) ce qui confirme nos résultats obtenues.

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

L'extrait aqueux de la graine de *Madhuca latifolia* a été donné à des rats albinos mâles à la dose de 2 g/kg pendant 21 jours. Le résultat a montré une réduction significative du poids des testicules, épидидyme, vésicule séminale et nombre de spermatozoïdes et le taux de testostérone. L'étude a révélé que cette graine est un puissant agent antispermatogène (Gopalkrishnan et Shimpi., 2011).

La menthe verte est une plante qui est généralement recommandé pour le traitement de nombreuses maladies, en particulier les problèmes du système digestif; Cependant, certaines études montrent que malgré ses effets bénéfiques, la menthe verte a des effets néfastes sur le système reproducteur des rats mâles (Akdogan *et al.*, 2004, Kumar *et al.*, 2014).



Conclusion

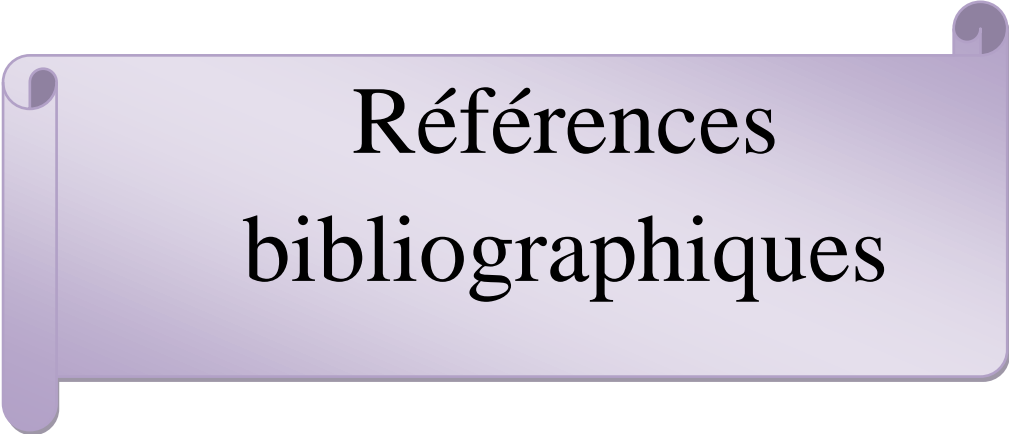
Au terme de notre étude sur les effets de l'huile essentielle « *Mentha piperita* » sur le développement épидидymaire chez les lapins de la souche synthétique pubères et prépubères à deux doses différentes (100 et 200ul/kg de poids corporel), il en ressort que le poids corporel, le poids et volume épидидymaires sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par la dose des deux(200ul) puis chez ceux traités par la dose D1(100ul) par rapport au témoin.

Sur le plan histologique la menthe poivrée a induit qu'au niveau épидидymaire on constate que chez les témoins des lapins âgés de 3 mois que l'épithélium est cubique formé de cellules principales et basales et un début de sécrétion dans la lumière et pour les lapins traités l'épithélium est prismatique pseudostratifié avec apparition de cellules basales et des stéréocils avec apparition de quelques spermatozoïdes. Chez les témoins des lapins âgés de 5 mois, on a constaté la présence de spermatozoïdes dans la lumière épидидymaire et leurs nombre augmentent chez les lapins traités par les deux doses de la menthe poivrée.

De ce fait il semblerait que la menthe poivrée aux doses utilisées aurait un effet positif sur le développement des gonades, spermatogenèse et la fertilité des lapins mâles pubères et prépubères (3mois et 5 mois).

Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt de réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus importantes sur un effectif plus grand et Renforcer cette étude par une étude histomorphométrique pour étudier les effets de la menthe poivrée sur le diamètre, volume des tubes séminifères, analyser la semence pour identifier les effets de cette huile sur la fertilité et enfin étudier les variations hormonales (testostérone, FSH et LH) ainsi que le dosage des paramètres biochimiques pour appuyer les résultats obtenus..

D'autres études précliniques et des essais cliniques chez l'homme sont nécessaires pour trouver une place possible dans les thérapies des troubles de la fertilité.



Références
bibliographiques

Adamali HI, Somani IH, Huang JQ, Gravel RA, Trasler JM et Hermo L. 1999. II: characterization and development of the regional and cellular specific abnormalities in the epididymis of the mice with beta-hexosaminidase A deficiency. *J Androl* 20(6):803-24.

AKdogan M., Ozguner M.,Kocak., Oncu M., et çice K E.,2004. Effects of pepper mint teas on plasma testosterone, follicle stimulating hormone, and luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. Vol.P:394-398.

Alagammal, M., Sakthidevi, G. et Mohan, VR (2013). Activité anti-fertilité des extraits de plantes entières de *Polygala rosmarinifolia* Wight & Arn contre les rats albinos mâles. *Journal of Advanced P*

Alvarino M.R., (1993). Control de la reproduction en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundi-prensa, 137p.

Alvarino J.M.R. (2000). Reproductive performance of male rabbits. *In: Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia Jul., 2000, vol. A, 13-35.*

Bannano A et Costanzo D. (1987). The effect of physiological and climatic factors on the main reproductive traits of artificially inseminated rabbits. *Coniglicoltura*, 24(3), 33-39.

Berchiche M et Zerrouki N, (2000). Reproduction des femelles de population locale: essai d'évaluation de quelques paramètres en élevage rationnelle 3ème JRPA (conduit et performances d'élevage) 13, 14 nov 2000.

Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckheim M., Veyssiere G., Blanc M.R., Poirier J.C. et Jean C. (1982). Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol.* **99**: 459-465.

Bonafous C. (2013). *Traité scientifique Aromathérapie - Aromatologie & aromachologie édition* Dangles.

Boussit D. (1989). Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez. Edition Association française de cuniculture, France ; Diffusion *Lavoisier* TEC & DOC : pp 17-34. ciculture.info/docs/indexbiol.htm. (Accès 03/2009).

Breton S. et Da Silva N. (2012). Rôle de l'épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med. Sci. Amer.* 1 : 1-20.

Choudhury, S. et Sinha, député (2014). Effets de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* sur la testostérone et les lipides sériques profil des rats albinos. *Journal du Moyen-Orient de la recherche scientifique*. 21 (10): 1893-1897.

Couic-Marinier F. et Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*.

Da Silva N., Cortez-Retamozo V., Reinecker HC., Wildgruber M., Hill E., Brown D, Swirski FK., Pittet MJ et Breton S., 2011. A dense Network of dendritic cells populates the murine epididymis *Reproduction* 141(5): 653-663.

Dacheux J.L. et Paquignon M. (1980). Relations between the fertilizing ability, motility and metabolism of epididymal spermatozoa. *Reprod. Nutr. Dev.* **20**: 1085-1099.

Dacheux F. et Dacheux J.L. (2001). L'épididyme et les glandes annexes in Thibault et Levasseur « La reproduction chez les mammifères et l'homme » ed.Ellipse : 290-315.

Dadoune JP. Hadjiisky P. Siffroi JP et Vendrely E. (1990). Histologie. Edition Médecine-science Flammarion, Paris : pp 333-348.

El kalamouni. (2010). Caractérisation chimiques d'extraits de plantes, 22-38.

Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000). Influence of chronique high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. *7th world Rabbit congress*.

Franchomme, P., (2015). La science des huiles essentielles médicinales. Guy Trédaniel, Paris.

Gabe M. (1968). Techniques histologiques. Eds Masson Paris **I**: 1113.

Gacem M, Zerrouki N, Lebas F, (2009). Comparaison des performances de production d'une Souche synthétique de lapin avec deux populations locales disponible en Algérie. 13ème journées de la recherche Cunicole, 17-18 novembre.France.

Girouard J. (2009). Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes bovins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.

- Glover T.D. et Nicander L. (1971).** Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis.
- Gopalkrishnan, B. et Shimpi, NS (2011).** Effet anti-fécondité de l'extrait de graine de machridure de *Madhuca latifolla* (Roxb.). *Revue internationale de biologie appliquée et de technologie pharmaceutique.* 2 (4): 49-53.
- Grasse P., (1949).** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.-Paris : Ed. Masson et Cie : 979 p.
- Hamilton D.W. (1990).** Anatomy of mammalian male accessory reproductive organs. In Marshall's Physiology of Reproduction, reproductive in the Male. *Ed. GE Lamming. Churchill Livingstone, Edinburgh.* 2: 691-746
- Hamon R, Thepot N. et Salaun G. 1999.** Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. Edition educagri : 132P
- Hermo L., Adamali HI., Andonian S., 2000.** Immunolocalization of CAII and H⁺ V⁻ ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymise. *J Androl* 21(3):376-391.
- Hermo L. et Robaire B., 2002.** Epididymal cell types and their function. In the Academic/plenum publishers,P:81-102. *Ology* 144,975-988.
- Hoffer A.P. Hamilton D.W. et Fawcet D.W., 1973.** The ultrastructurr of the principal cells and intraepitheliale leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat Rec* 175,169-201.
- Kasa I.W. et Thwaites C.J., (1992).** Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8h on either 1 or 5 days. *J. App. Rabbit Res.* 15:500-568.
- Keller-Didier c., 2004.** Les plantes médicinales ALS. P/ 58-64
- Kose E, Sarsilma M, Tas U, Kavakli A. et Turk G. 2012.** Rose oil inhalation protects against formaldehyde-induced Testicular damage in rats. . *Andrologia.* 44:342-348*harmaceutical Sciences.*, 3 (1): 385-393.
- Kumar. D., Agrawal. CP, Mishra. DD et Singh. V., (2014).** Effet anti-fertilité de l'extrait de benzène de fleurs d'*Hibiscus rosa sinensis* L. sur le système reproducteur chez des rats mâles albinos. *Indian Journal Applied & Pure Biology.*, 29 (2): 215-217.
- Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H., (1984).** Le lapin : élevage et pathologie édition FAO, Rome : 1984-298p.

Lebas F et Kennous. (1990). Résultats de reproduction des lapines locales tunisiennes N° 8.1990 93-96.

Lebas F., Marionnet D et Henaff., (1991). La production du lapin. Technique et Documentation Lavoisier pp 17-112.

Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G., (1996). Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227p.

Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G., (1996). Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227p.

Lebas F. (2009). Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle.
<http://www.com>

Lebas F, Zerrouki N, Gacem M, Meftah I,Bolet G., (2010) . Comparison of reproduction performances of a rabbit synthetic line and of rabbits of local populations in Algeria, in 2 breeding locations - First results. 6th Conference on Rabbit Production in Hot Climates, Assiut (Egypt) 1-4 February.

Luzi F., Meertens L., Mijten P. et Pizzi F., (1996). Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. *6th world Rabbit Congress.* Toulouse (France).

Marai I.F.M., Habeeb A.A.M. et Gad A.E. (2002). Rabbits, productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Lives. Prod. Sci.* 78: 71-90.

Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P., Palacios J., Paniagua R. et NistalM.1995. The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia* 27,199-206.

Martoja R. et Martoja M., (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Eds Masson et cie, Paris, 343p.

Micol D., Robelin J., Geay Y, (1993). Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscle chez les bovins en croissance et a l'engrais. INRA Production Animale. Vol 6 (1) :61-69.

MODIF. 2009. Pharmacopée européenne, 6^{ème} Ed.

MUKHALLAD, A., MOHAMAD, A., et HATHAM, D. (2009). Effects of Black Seeds (*Nigella Saitva*) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med Sci* , 4 (2), 386-390.

Nassem MZ., Patil SR. et Patil SB., 1998. Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albinos rats. *Journal of ethnopharmacology*. Vol 61: 9-16.

Pariset C.C., Feinberg J.M., Dacheux J.L. et Weinman S.J. (1985). Changes in calmodulin level and cAMP dependent protein kinase activity during epididymal maturation of ram spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 74:105-112

Robaire B. et Hermo L., 1988 .Efferent ducts, epididymis, and Vas deferens: Structure functions, and their regulation. In *The physiology of Reproduction* PP 999-1080 Eds E Knobil and J Neil. Raven Press, New-York.

Robaire B. et Viger RS. (1995). Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol. Reprod.* 52: 226-236.

Robaire B., Jervis K.M. et Ezer N. (2003). Cell Dynamics and Cell Death in the Epididymal Epithelium. In: *Third International Conference on the Epididymis*: 35-49, Hinton B.T. et Turner T.T. eds. 2003, *The Van Doren Company, Charlottesville, Virginia, USA*.

Robaire B., Hinton B.T. et Orgebin-Crist M.C. (2006). The epididymis. In: Neill J.D. (ed.) *Physiol. of Reprod. Third*. Edition. New York: Elsevier: 1071-1148.

Sabbagh M. (1983). Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires. Pp 113.

Safaa H.M., Emarah M.E. et Saleh N.F.A. (2008). Seasonal effects on semen quality in black baladi and white new zealand rabbit bucks. *World Rabbit Sci.* 16: 13-20 .

Serre V. et Robaire B., (1999). Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol. Reprod.* 61: 705-714.

Setchell B.P., Maddocks S. et Brooks D.E. (1994). Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. In : *The physiology of reproduction*, seconde édition, Knobil E. et Neill J.D. *Rav. Pres. Ltd, NY, 1994*: 1063-1175.

Soranzo L., Dadoune J.P. et Fainmaurel M.A., 1982.Segmentation of the epididymal duct in mouse an ultrastructural study. *Reprod Nutr Dev* 22,999-1012.

SOY A., SAHU R. et Rath S., 2016. A Histomorphological study of the effect of Mint on the testes of albios RATs.*Journal of dental and medical sciences*: 32-35

Sullivan R., Frenette G. et Legare C. (2005). Sécrétions apoclines et glandes annexes. *Endrol. 15 (1) : 35-40.*

Theau-clemen M. (2005). Préparation de la lapine à l'insémination : analyse bibliographique. 11^{ème} journées de la recherche cunicole, Paris (France), 9-30 novembre 2005, 67-82.

Vele Helene. (2015), valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments, p 39.

Vigueras-Villasenor R.M., Montelongo-Solís P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013). Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. *Acta Histochemica : 9.*

Villagran C., Navarro J. et Fuentes V.O. (2003). Sexual exhaustion in White New Zealand male rabbits of different ages. *Anim. Repro. Sci. 76*: 251-255.

Yanagimachi R. (1994). Mammalian Fertilization, 2nd ed. Raven Press, New York, NY, USA.

Wang P et Duan YG., 2016 Therole of dentritic cells in male reproductivetract. *Am J Reprod Immunol 76(3) : 186-192.*



Annexes

Fiche technique d'histologie

Fiche technique N° 1 :

Bouin hollandaise : fixateur (GABE, 1968)

Broyer à froid dans un mortier :

Acétate de cuivre 2,5 g

Eau distillée..... 100 ml

Agiter puis ajouter peu à peu :

Acide picrique..... 4 g

Le liquide se conserve indéfiniment.

Filtrer après complète dissolution et ajouter :

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

Acide acétique cristallisable.....1ml

Fiche technique N° 2:

Trichrome de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967)

Mode opératoire :

Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :

L'hématoxyline de Groat.. 3 minutes.

Lavage à l'eau courante 5 minutes.

Mélange fuchsine ponceau 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Orange G 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Vert lumière 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

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

Résultats :

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

Hématoxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

Première solution :

Acide sulfurique concentré.....0,8 ml

Alun de fer.....1g

Eau distillée.....50 ml

Deuxième solution :

Hématoxyline.....0,5g

Alcool à 95°.....50 ml

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

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

Préparation à froid :

Fuchsine acide.....0,1g

Ponceau.....0,2g

Eau distillée.....300 ml

Après dissolution ajouter :

Acide acétique.....0,6 ml

Conservation illimitée

Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Acide phosphomolybdique ou phosphotungstique.....3 à 5g

Eau distillée.....100 ml

Orange G.....2g

Conservation illimitée

Vert lumière (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Vert lumière.....1g

Eau distillée.....100 ml

Acide acétique.....0,2 ml

Conservation illimitée

Résumé

En Algérie, la menthe poivrée (*Mentha x piperita*) est largement consommée à des fins différentes, mais n'a pas été utilisée comme agent stimulant pour la reproduction masculine. L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de cette huile essentielle sur le poids corporel et le poids des organes reproducteurs de lapin (*Oryctolagus cuniculus* n = 17), ainsi que sur les structures épидидymaires, pour cela deux doses différentes de menthe poivrée ont été utilisées (100ul et 200ul) ont été administrées aux lapins expérimentaux par voie orale une seule fois, après une semaine de traitement les lapins ont été sacrifiés, les testicules sont prélevés, dégraissés puis pesés. Les résultats ont montré une augmentation du poids corporels, poids et volume épидидymaires. Une sécrétion épидидymaire a été observé et apparition de quelques spermatozoïde chez les lapins âgés de 3mois. Par contre la lumière de tube épидидymaire des lapins âgés de 5mois est riche en spermatozoïdes. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de Menthe poivrée aux doses utilisées aurait un effet positif sur le développement des gonades, la spermatogenèse et la fertilité des lapins âgés de 3 et 5 mois.

Mot clés : Lapin, épидидyme, Huile essentiel, Menthe Poivrée, fertilité.

Abstract

In Algeria, peppermint (*Mentha x piperita*) is widely consumed for different purposes, but has not been used as a stimulant for male reproduction. The objective of this study is to determine the effects of this essential oil on body weight and weight of rabbit reproductive organs (*Oryctolagus cuniculus* n = 17), as well as on epididymal structures, for this two different doses of peppermint were used (100ul and 200ul) were administered to experimental rabbits by oral voice only once, after a week of treatment the rabbits were sacrificed, the testes are removed, defatted and weighed. The results showed an increase in body weight, epididymal weight and volume. Epididymal secretion was observed and appearance of some spermatozoa in rabbits aged 3 months. On the other hand, epididymal tube light in rabbits aged 5 months is rich in spermatozoa. These results suggest that peppermint essential oil at the doses used would have a positive effect on gonad development, spermatogenesis and fertility in rabbits aged 3 and 5 months.

Key words: Rabbit, epididymis, essential oil, peppermint, fertility.