



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERRI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques
Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction.

Thème

Répercussions d'un traitement à l'acétate de plomb et
effets amélioratifs de l'huile de géranium sur la
fonction reproductive mâle chez la souris

Mus musculus

Réalisé par : Mlle. MECHETI LYDIA

Mlle. CHERIEF SONYA

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente : Mme AKDADER S.

MCB

UMMTO

Promotrice : Mme LAKABI-AHMANACHE L.

MCA

UMMTO

Co-Promotrice : Mlle BOULILA N.

Doctorante

UMMTO

Examinatrice : Mme CHOUGAR S.

MCB

UMMTO

2023/2024

Remerciements

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

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Madame **LAKABI L., Ep. AHMANACHE** maître de conférences A à UMMTO qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacrée, On vous remercie très sincèrement pour votre patience et vous encouragements.

Nos vifs remerciements vont également à notre co-promotrice Mademoiselle **BOULILA N.** Doctorante à UMMTO, pour son aide et sa gentillesse et d'avoir bien voulu nous accorder une partie de son temps pour corriger notre travail.

Nous voudrions aussi exprimer nos sincères remerciements à Madame **AKDADER S.** pour l'intérêt qu'elle porte à ce travail et nous avoir témoigné sa confiance en acceptant de présider la commission d'examen.

Notre grande reconnaissance et la marque de notre profond respect à Mme **CHOUGAR S.** pour avoir accepté d'examiner notre travail

Nous remercions toute l'équipe du laboratoire de Mme **MEDJDOUB BENSAAD F.** ainsi que toutes personnes qui ont contribué à l'accomplissement de ce modeste travail, un grand merci.

Dédicace

Le devoir de reconnaissance m'oblige de dédier ce modeste mémoire à tous ceux qui me sont chers, ce sont ceux à qui je dois mon succès.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, à ma merveilleuse maman Djermane Nora, aucun mot ne saurait capturer la profondeur de l'amour et de l'affection que je ressens pour toi, tu es bien plus qu'une mère tu es la prunelle de mes yeux tu as toujours été ma source de bonheur et le fil d'espoir qui allume mon chemin je te suis infiniment reconnaissante pour chaque instant où tu as été là pour moi, sans jamais faillir. Merci pour ta présence rassurante et pour tous ces instants où ton amour inconditionnel a été ma plus grande force je t'aime au-delà des mots.

A l'homme qui a toujours cru en moi, à mon cher père Rachid, chaque mot semble bien fade pour exprimer l'amour profond que j'ai pour toi, ce travail est le fruit des innombrables sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, À travers chaque succès et chaque défi de ma vie, je porte avec moi un désir profond : être une source de fierté pour toi je t'aime

A mon unique petit frère Yanis pour l'amour qu'il me réserve qui n'a jamais cessé de m'encourager et de croire en moi qui m'offre un excès de béatitude et sur lequel je m'épaule sans s'inquiéter, tu représentes mon bras droit Que chaque page de ce travail reflète notre lien indéfectible et notre amour fraternel.

A ma grand-mère, ta tendresse infinie est ma source inépuisable de réconfort merci pour ta bienveillance et ton amour indéfectible qui ont façonné la personne que je suis devenue. Chaque page de ce travail est imprégnée de ta douceur et de ta force tranquille je veux te remercier pour tout ce que tu as fait et tout ce que tu es, je t'aime d'un amour inconditionnel

A mon grand-père, mon modèle de force de sagesse Merci pour ta présence constante, pour ton amour inconditionnel et pour toutes les leçons que tu m'as apprises

A mon chère oncle Djermane Ramdane tu as été bien plus qu'un oncle pour moi, Tes conseils avisés et ton encouragement inébranlable ont été des phares dans ma vie

A toute personne formidable que je connais merci de me rendre bien entouré

A tous mes amis, merci pour les rires partagés, les moments de complicités riches en émotion et à la mémoire de mon amie Kesraoui alicia Même si tu n'es plus physiquement parmi nous. Je tiens aujourd'hui à te dire merci, pour chaque moment précieux que nous avons partagé

A Mlle Boulila Nacera et Mr Madouche Massinissa, merci du fond du cœur pour votre présence et votre soutien qui m'ont permis d'avancer et merci de me supporter.

A ma meilleure amie et binôme Sonya, qui était toujours la pendant le pire et le bien au nom de l'amitié qui nous réunit et au nom de nos souvenirs inoubliable je t'aime.

Enfin je dédie ce travail à moi-même.

LYDIA ♥

Dédicaces

Ce mémoire est dédié à la mémoire de ma grand-mère. Bien que tu aies été ma motivation pour réussir ma vie et mes études, tu n'as pas pu assister physiquement à ce moment. Que ce travail reflète un peu de la lumière que tu apportais autour de toi.

A vous, mes chères parents, qui ont été toujours présents à mes côtés pour me procurer les moyens, l'aide, le guide et la motivation, pour surpasser les différents obstacles, ce projet de fin d'études représente l'aboutissement de votre soutien et encouragement tout au long de ma scolarité.

A mon cher frère Sofiane, merci d'avoir illuminé ma vie de ta présence.

A mes deux merveilleuses sœurs Ibtissem et Aya.

A toutes les belles rencontres avec qui j'ai passé les meilleurs moments de joie.

A la mémoire de notre amie Alicia Kesraoui, qui avec ton sourire, ta gentillesse, ton sens de l'humour et ton intelligence ont marqué notre vie.

A mes amis Yanis Lynda Célia et Jiji, merci d'être toujours là pour moi, dans les bons comme les mauvais moments. Votre gentillesse et votre soutien sont inestimables.

À tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail, merci à Nacera et à Mr Madouche, pour leur aide et conseils et pour leurs encouragements tout au long de ce travail.

A mon binôme du travail et de vie Lydia, merci pour ta confiance, ton amitié, pour les souvenirs inoubliables et les innombrables heures de travail partagées. Ce mémoire est autant le tien que le mien, et je suis honorée d'avoir pu travailler à tes côtés.

Sonia ♥

Liste des figures

Figure 1 :Système reproducteur de la souris male (Knoblauch et True, 2012).....	3
Figure 2 :Testicule : a. Section du testicule et ses revetements. B. Section longitudinale d'un testicules et canal deferent (Waugh et Grant, 2010)	4
Figure 3 :Histologie du testicule (faible grossissement a gauche) et du tubule seminifere (grossissement eleve a droite) (Sontakke, 2020).	5
Figure 4 :Les cellules de l'épithelium seminifere (Gunasegaran, 2014).....	5
Figure 5 :Types de cellules dans les tubules seminiferes (Sontakke, 2020).....	6
Figure 6: Schema d'une cellule de sertoli (Oliveira et Alves, 2015)	7
Figure 7 :Formation des cellules germinales des mammiferes (Goodman, 2009).	8
Figure 8 :Morphologie et caracterisation des spermatocytes de souris a differents stades	9
Figure 9 :Processus de spermiogenese (Sontakke, 2020)	10
Figure 10 :Spermatozoïde humaine mature : schema et aspects en microscopie electronique (Barraud-lange et Gille, 2023).	11
Figure 11 :La steroïdogeneze dans les cellules de leydig (Njembele et Niquaise 2014)	12
Figure 12 :Representation schematique de l'épididyme de souris (a) et de rat (b) illustrant le partitionnement de l'épididyme (c), photographie de l'épididyme humaine dissequé du testicule (d) (Sullivan et Mieusset, 2016).	13
Figure 13 :Histologie de l'épididyme (faible grossissement a gauche et fort grossissement a droite) (Son-takke, 2020).....	14
Figure 14 :schema de l'organisation cellulaire dans une section representative de l'épididyme de rat (Cornwall, 2008).	15
Figure 15 :Prostate de souris (Knoblauch et True, 2012).....	18
Figure 16 :Regulation hormonale de la reproduction chez le male (Lamothe et al., 2015).	19
Figure 17 :Mecanisme d'action et effets physiopathologiques de l'alcool sur la fertilité masculine (Bendayan et al., 2018).	23
Figure 18 :illustration schematique de la methode de distillation a la vapeur (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).	27
Figure 19 :Diffuseur d'aromes (Lardry et Haberkorn, 2007).....	29
Figure 20 :Brule-parfum (Lardry et Haberkorn, 2007).	29
Figure 21 :Souris mus musculus (originale, 2024).	31
Figure 22 :Parties aeriennes de pelargonium graveolens l'her (Ghedira et Goetz, 2015).....	32
Figure 23 :Huile essentielle du geranium rosat (originale, 2024).	33
Figure 24 :Acetate de plomb trihydrate (originale, 2024).	34
Figure 25 :Administration des traitements par voie intraperitoneale (originale, 2024).	36

Liste des figures

Figure 26 :Dissection et prelevement d'organes (originale, 2024).	36
Figure 27: Deshydratation et eclaircissement des organes (originale, 2024).	37
Figure 28 :Mise en bloc (originale, 2024).	38
Figure 29 :Photographie representant la confection des coupes histologiques (originale, 2024)	38
Figure 30 :Photographie d'une serie d'une coloration topographique (originale, 2024).	39
Figure 31 :Observation des lames colorees au microscope optique (originale, 2024).	40
Figure 32 :Représentation graphique des variations du poids corporel moyens (g) des 3 groupes en fonction du temps	41
Figure 33 :Représentation graphique du poids total des testicules de souris	42
Figure 34 :Représentation graphique du poids total des epididymes des souris.	43
Figure 35 :Représentation graphique du poids total des vesicules seminales chez les souris..	44
Figure 36 :Représentation graphique des poids de la prostate chez les souris.....	45
Figure 37 :Représentation graphique des poids relatifs testiculaire chez les souris.	46
Figure 38 :Représentation graphique des poids relatif epididymaires chez les souris	47
Figure 39 :Représentation graphique des poids relatif des vesicules seminales chez les souris	48
Figure 40 :Représentation graphique de poids relatifs des prostates chez les souris.	49
Figure 41 :Dessin d'une coupe histologique transversale du testicule d'une souris temoin observee sous microscope photonique au grossissement (40 ×10).	50
Figure 42 :Dessin d'une coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitee a l'acetate de plomb apres coloration hematoxyline-eosine observe sous microscope photonique au grossissement (40 ×10).	51
Figure 43 :Dessin de la coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitee a l'acetate de plomb ensuite a l'huile de geranium apres coloration hematoxyline-eosine observe au microscope photonique au grossissement (40 ×10).	52

Liste des abréviations

17b-HSD3	17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 3.
3β -HSD	3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase.
ABP	Androgen Binding Protein.
AR	Androgènes.
BPA	Bisphénol A.
CDs	Disques optiques compacts.
DHT	Dihydrotestostérone.
FSH	Follicle-Stimulating Hormone.
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone.
HE	Huiles essentielles
HPG	L'axe hypothalamus-hypophyso-gonadique.
LH	Luteinizing Hormone.
SBP	La protéine de liaison aux stéroïdes sexuels.
SFME	Solvent-Free Microwave Extraction.
StAR	Steroidogenic Acute Regulatory protein

Sommaire

Listes des figures

Abréviations

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I : synthèse bibliographique

I. Anatomie et histologie de l'appareil reproducteur mâle	3
I. Testicules	3
I.1. Anatomie	3
1.2. Histologie	4
I.3. Fonction testiculaire	8
I.3.1. Spermatogenèse	8
1.3.1.1. Première phase : mitose	8
1.3.1.2. Deuxième phase : méiose	9
1.3.2. Spermiogénèse	10
1.3.3. Spermatozoïdes matures	10
1.3.4. Stéroïdogénèse	11
2. Epididyme	13
2.1. Anatomie	13
2.2. Histologie	13
2.3. Fonction épидидymaire	16
2.3.1. Maturation des spermatozoïdes	16
2.3.2. Acquisition de la motilité	16
2.3.3. Protection des spermatozoïdes	16
2.3.4. Stockage des spermatozoïdes	17

Sommaire

3. Organes annexes.....	17
3.1. Canal déférent	17
3.2. Vésicules séminales.....	17
3.3. Prostate	17
3.4. Urètre.....	18
3.5. Verge	18
II. Régulation endocrinienne de la fonction de reproduction	18
1. Axe hypothalamo- hypophysaire –gonadique	18
1.1. Au niveau hypothalamique	19
1.2. Au niveau hypophysaire.....	19
1.3. Au niveau gonadique.....	20
2. Régulation de la fonction épидидymaire	21
3. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par testicule	22
III. Facteurs impliqués dans l'infertilité masculine.....	22
1. Facteurs liés au mode de vie	22
1.1. Alcool.....	22
1.2. Le tabac	23
2. Exposition environnementale	24
2.1. Température	24
2.2. Les perturbateurs endocriniens.....	24
2.2.1. Pesticides organochlorés et hypofertilité.....	24
2.2.2. Le bisphénol A	25
2.2.3. Métaux lourds.....	25

Sommaire

IV. Aromathérapie	25
1. Huiles essentielles	26
2. Mode d'obtention des huiles essentielles	26
2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	26
2.2. Expression à froid.....	27
2.3. Extraction par solvant organique	27
2.4. Extraction assistée par micro-ondes	28
3. Voies d'administration des huiles essentielles	28
3.1. Voie trans-cutanée	28
3.2. Voie orale	28
3.3. Voie trans-pulmonaire	28
3.4. Voie rectale et vaginale	29
4. Activité pharmacologique des huiles essentielles	29
4.1. Effets de détente et de relaxation	29
4.2. Anti oxydant.....	29
4.3. Anti tumoral	30
4.4. Action hormonale	30

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Matériels.....	31
1.1. Matériels biologiques	31
1.1.1. Modèle animal.....	31
1.1.2. Modèle végétal	32
1.1.3. Acétate de plomb.....	33

Sommaire

1.2. Matériels non biologiques	34
2. Conception expérimentale	34
2.1. Période d'adaptation	34
2.2. Traitement	35
2.3. Sacrifice et prélèvement d'organes	36
3. Etude histologique	36
3.1. Fixation	36
3.2. Déshydratation et éclaircissement	37
3.3. Imprégnation	37
3.4. Mise en bloc	37
3.5. Confection des coupes histologiques	38
3.6. Coloration	39
3.7. Observations des coupes	40
4. Étude statistique	40

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Résultats de l'étude macroscopique	41
1.1. Poids corporel	42
1.2. Variation pondérale des organes reproducteurs	42
1.2.1. Poids testiculaire total	42
1.2.2. Poids épидидymaire total	43
1.2.3. Poids total des vésicules séminales	44
1.2.4. Poids de la prostate	44
1.3. Poids relatif des organes	45

Sommaire

1.3.1. Poids relatif testiculaire	45
1.3.2. Poids relatif épидидymaire	46
1.3.3. Poids relatif des vésicules séminales.....	47
1.3.4. Poids relatif des prostates	48
2.Résultat de l'étude microscopique	49
2.1. Etude histologique testiculaire	50
2.1.1. Etude histologique des testicules des souris témoins	50
2.1.2. Etude histologique des testicules des souris traitées par l'acétate de plomb	51
2.1.3. Etude histologique des testicules des souris traitées par l'acétate de plomb suivis par un traitement quotidien à l'huile de géranium	52
3.Discussion des résultats	53
3.1. Résultats macroscopiques	53
3.2. Résultats microscopiques	54
Conclusion et perspectives	56
Référence bibliographique	57

Résumé

Introduction

l'appareil reproducteur mâle se compose de deux testicules, de canaux extra testiculaires, qui comprennent les canaux efférents, l'épididyme et les canaux déférents, et des glandes sexuelles accessoires, qui comprennent les vésicules séminales, la prostate, les glandes bulbo-urétrales, ainsi que l'urètre et le pénis (Knoblauch et True, 2012), il permet une fonction exocrine qui est de générer, stocker et transporter le matériel génétique contenue dans les cellules sexuelles mâle « spermatozoïdes ». Il est aussi doté d'une fonction endocrine représenté par la stéroïdogénèse sous contrôle de l'axe hypothalamo- antéhypophysaire.

Notre modèle d'étude est la souris domestique *Mus musculus* qui est aujourd'hui largement reconnue comme un excellent modèle de mammifère pour l'étude d'une grande variété de caractéristiques et de maladies (Phifer-Rixey et Nachman, 2015). Ces mammifères sont choisis par le fait de la similarité très significative de leur organisme et leur physiologie avec l'homme.

Les perturbateurs endocriniens environnementaux sont des substances chimiques, qui altèrent les fonctions du système endocrinien et de ce fait induit des effets néfastes dans un organisme intact, Ils peuvent être des substances naturelles, telles que les phyto-œstrogène, ou des substances résultant de l'activité humaine conçues pour être utilisées dans l'industrie, l'agriculture ou dans des produits de consommation. Depuis une vingtaine d'années, les effets des perturbateurs endocriniens environnementaux (PEE), sur la santé humaine, préoccupent le monde scientifique et médical (Gaspari et *al.*, 2022).

Le plomb est l'élément chimique de numéro atomique 82, de symbole pb. C'est un métal gris bleuâtre malléable. De nombreuses études épidémiologiques montrent que le plomb perturbe la spermatogénèse (Garnier, 2005).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques, caractérisé par la présence de deux ou trois composants, généralement responsable de l'activité biologique (Contini et *al.*, 2020). plusieurs études menées apportent des preuves que certains extraits des plantes, principalement les huiles essentielles qui peuvent améliorer la qualité et la fonction spermatique (Nozhat et *al.*, 2014).

En ce sens, notre travail consiste à mettre en évidence la répercussion d'un traitement à l'acétate de plomb et l'effets amélioratif de l'huile de géranium sur la fonction reproductive

Introduction

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

Ce travail se divise en trois parties, une partie qui vise à introduire les notions fondamentales nécessaires à la compréhension du reste du manuscrit ; représentant une synthèse bibliographique de l'appareil reproducteur mâle, une partie matériels et méthodes et une partie résultats et discussions et nous terminons par une conclusion.

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique de
l'appareil reproducteur
mâle

I. Anatomie et histologie de l'appareil reproducteur mâle

Le système reproducteur mâle (Figure 01) comprend chez les mammifères, des testicules positionnés à l'extérieur de la cavité abdominale ; un système de conduits excréteurs, des glandes sexuelles accessoires, un scrotum et un organe copulateur (Evans et Ganjam, 2017).

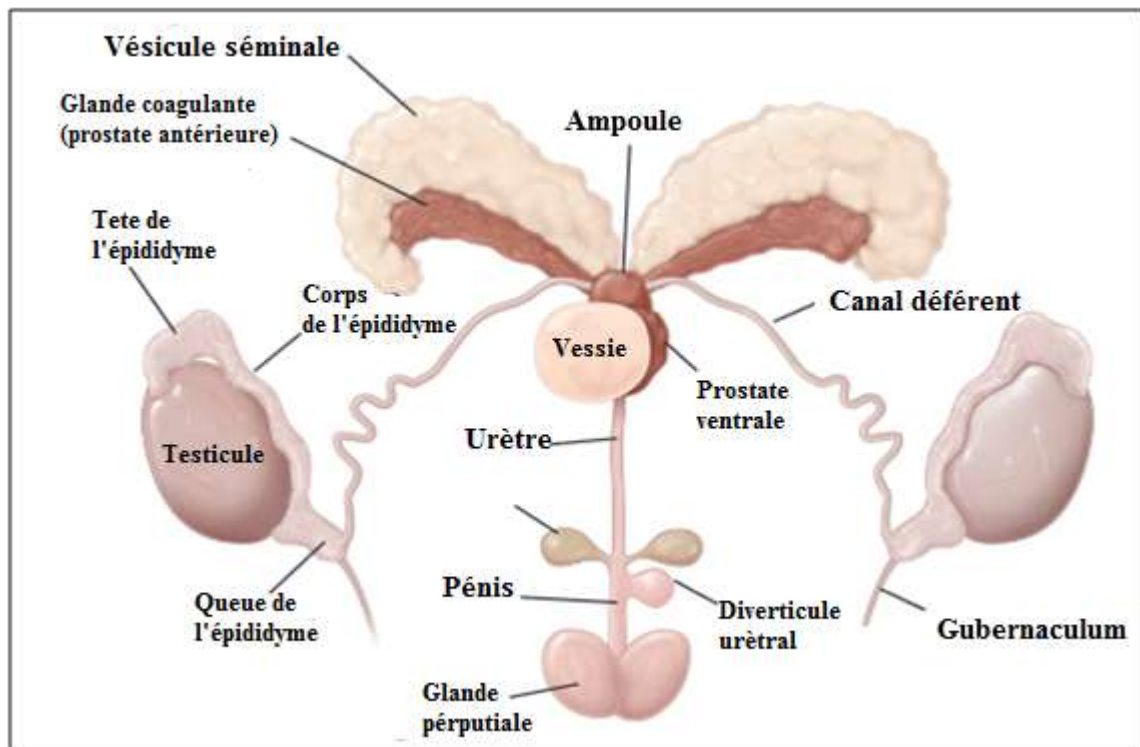


Figure 01 : Système reproducteur de la souris mâle (Knoblauch et True, 2012)

I. Testicules

I.1. Anatomie

Les testicules sont des glandes ovales paires situées dans le scrotum et mesurant environ 5 cm de long et 2,5 cm de diamètre (Figure 02). Les testicules se développent près des reins, dans la partie postérieure de l'abdomen, et commencent généralement à descendre dans le scrotum par les canaux inguinaux au cours de la seconde moitié du septième mois de développement du fœtus (Tortora et Derrickson, 2017).

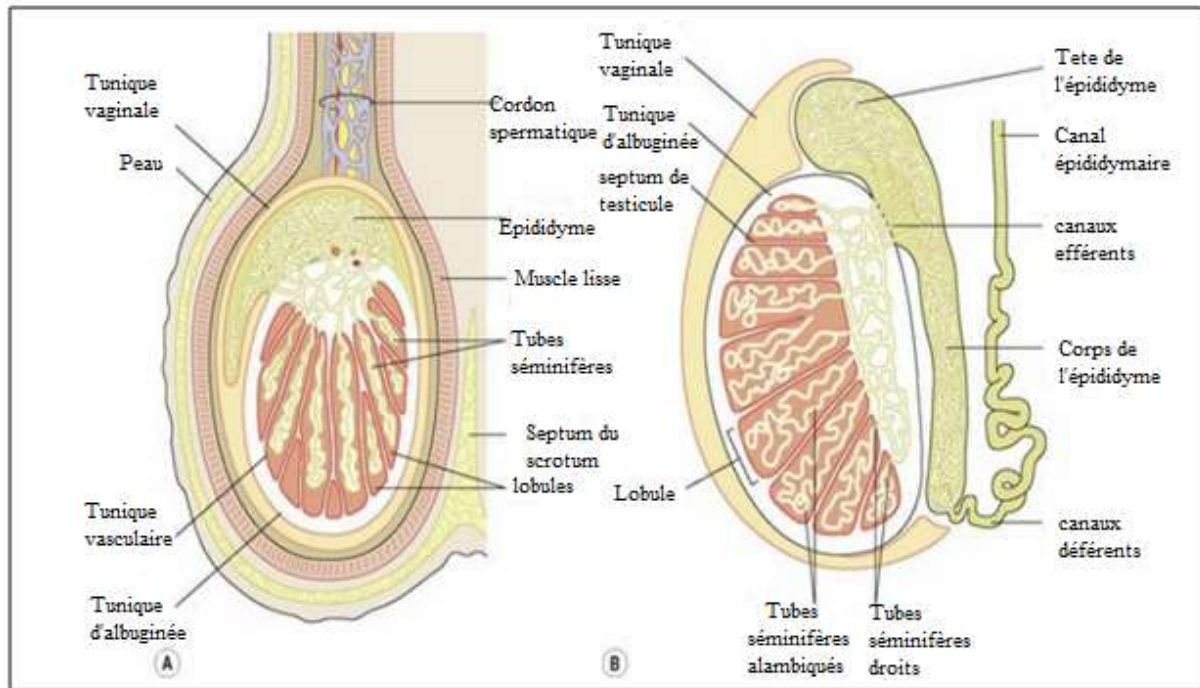


Figure 02 : Testicule : A. Section du testicule et ses revêtements. B. Section longitudinale d'un testicules et canal déférent (Waugh et Grant, 2010)

Les gonades mâles sont coiffées par l'épididyme et délimitées par la tunique albuginée, qui est considérée comme le tissu conjonctif le plus dense et le plus résistant de l'organisme (AL-Mamari, 2023). Sous la tunique albuginée se trouve une mince couche de tissu conjonctif contenant les vaisseaux sanguins superficiels et des conduits génitaux qui entrent ou sortent du testicule au médiastin (Lów et al., 2016).

Selon (Young et al., 2015), de nombreuses cloisons incomplètes s'étendent à partir de l'albuginé divisant le testicule en environ 250 lobules testiculaires. Dans chaque lobule se trouvent un à quatre tubes très complexes, les tubes séminifères, où sont produits les spermatozoïdes. Ces derniers convergent vers le plexus canalaire, *le rete testis* qui se rejoint au canal efférent qui transporte les spermatozoïdes de ces derniers vers l'épididyme.

1.2 Histologie

Les testicules sont composés principalement par deux compartiment distincts ; un espace tubulaire et un espace pérítubulaire ou interstitiel (Figure 03) (Whitney et Suttie, 2018).

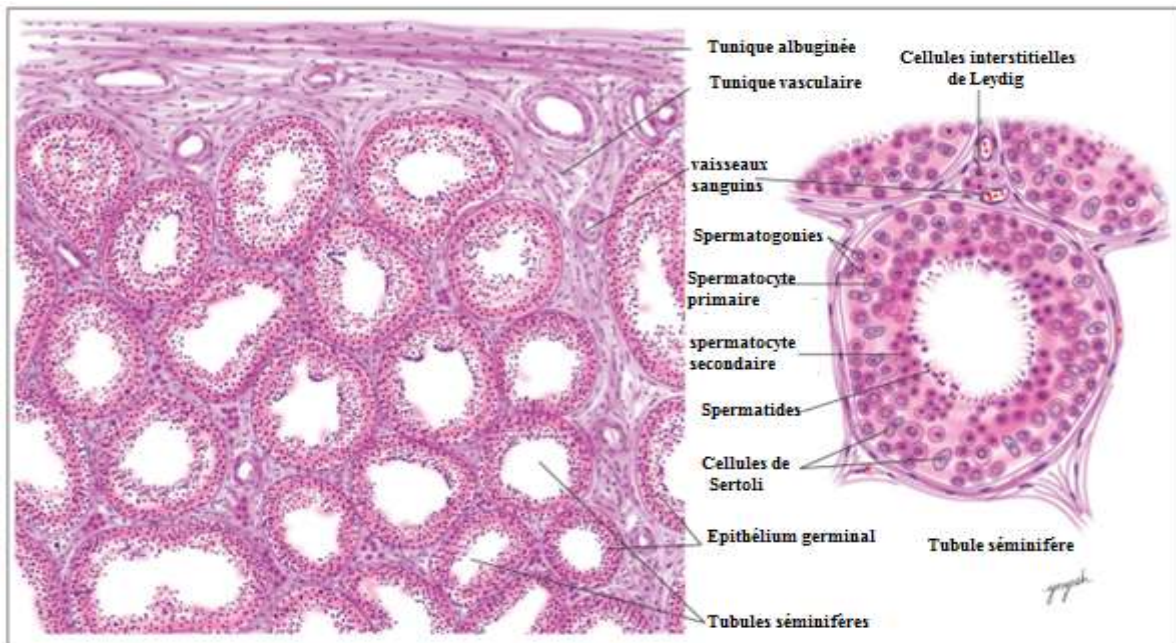


Figure 03 : Histologie du testicule (faible grossissement à gauche) et du tubule séminifère (grossissement élevé à droite) (Sontakke, 2020).

les tubules séminifères représentent 60 à 80 % du volume testiculaire, ils sont entourés d'une paroi stratifiée de fibres de collagène et de cellules myofibroblastiques appelée *lamina propria* composée de cinq à sept couches de cellules péritubulaires (myoïdes) (Ježek, 2013). Les tubules sont tapissés par une couche d'épithélium séminifère, également connu sous le nom d'épithélium germinale (Simoni et Huhtaniemi, 2017), le compartiment basal du tubule abrite les premiers stades, tandis que les plus matures sont disposés en séquence de développement vers la lumière (Ježek, 2013). Les cellules de la lignée spermatogène (Figure 04) comprennent quatre à huit couches de cellules concentriques (Mescher et Junqueira, 2013) entassées entre les cellules de Sertoli (Ježek, 2013).

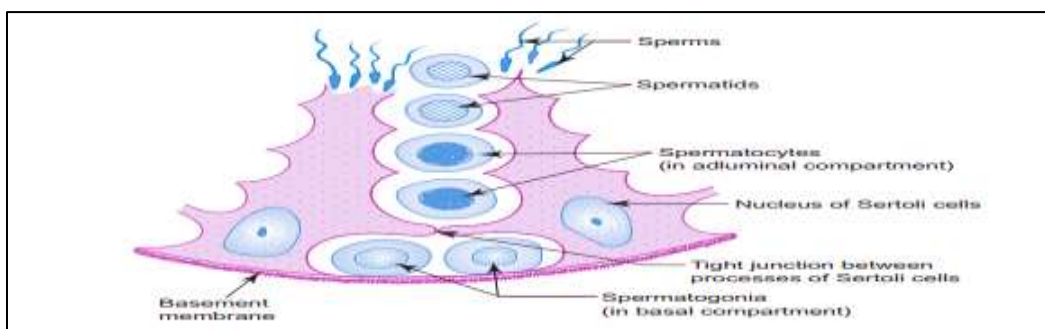


Figure 04 : Les cellules de l'épithélium séminifère (Gunasegaran, 2014).

Les spermatogonies, sont les cellules spermatogènes les plus immatures, sont de petites cellules rondes avec des noyaux ronds foncés adjacents à la membrane basale. Ceux-ci subissent des divisions mitotiques et produisent des spermatocytes primaires, des cellules plus grandes dont les noyaux montrent souvent une chromatine distincte. Les spermatocytes primaires subissent la première division méiotique donnant lieu à des spermatocytes secondaires plus petits qui sont rarement observés car ils subissent une division cellulaire peu après leur apparition, formant des spermatides haploïdes. Les premiers spermatides sont des cellules rondes avec des noyaux pâles qui se forment en grappes vers la lumière du séminifère (Figure 05), tandis que les tardifs sont caractérisés par de petites queues faibles, ovales à allongées, sombres et longues qui se projettent dans la lumière (Bacha et Bacha, 2005).

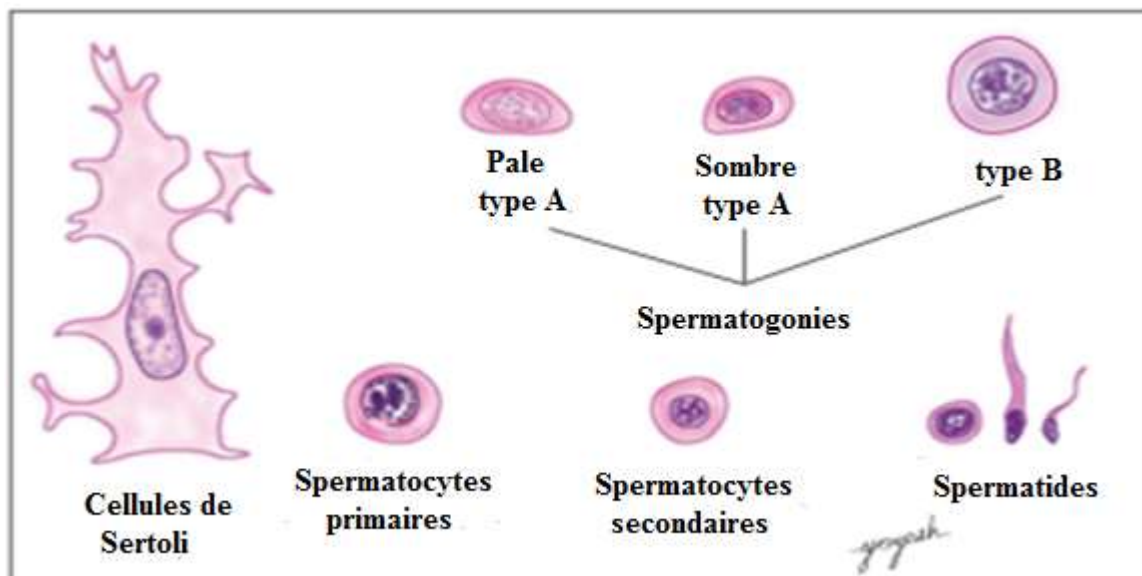


Figure 05 : Types de cellules dans les tubules séminifères (Sontakke, 2020)

Les cellules de Sertoli sont fondamentalement de hautes cellules colonnaires qui s'étendent de la membrane basale (Figure 06) jusqu'à la lumière des tubules séminifères présentant des noyaux ovales distincts avec des nucléoles bien développés ainsi que des projections cytoplasmiques entourant les cellules de lignée germinale (Gunasegaran, 2014). Le nombre de ces cellules est un déterminant de la capacité de production de spermatozoïdes et donc de la taille des testicules (Mäkelä et Toppari, 2017).

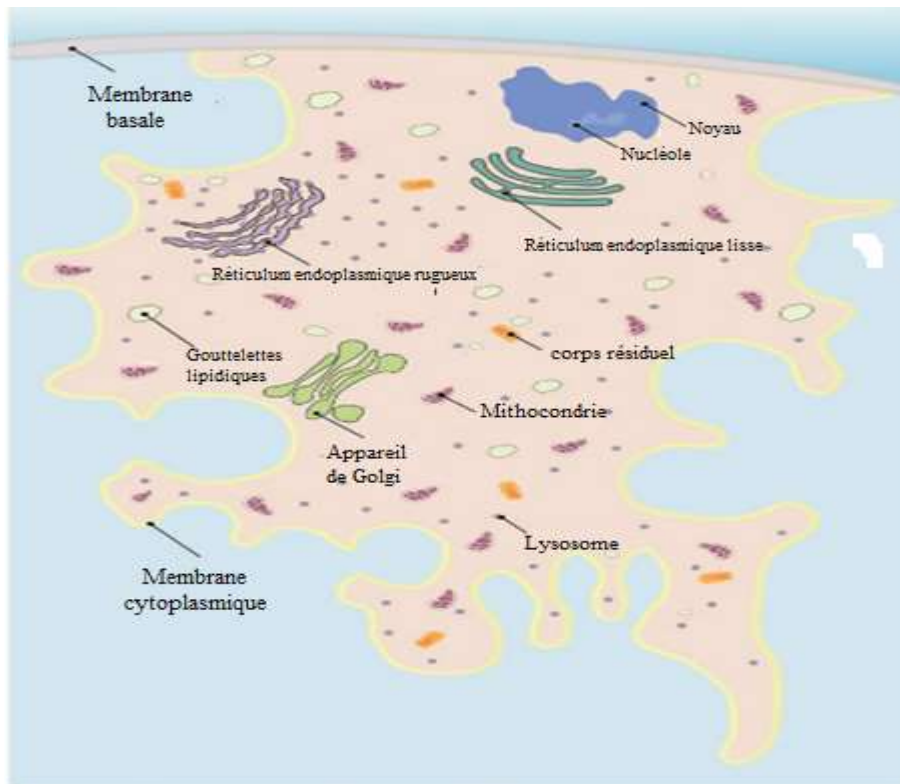


Figure 06 : Schéma d'une cellule de Sertoli (Oliveira et alves, 2015)

Les espaces intertubulaires du testicule contiennent un tissu conjonctif lâche, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, des fibrocytes, des cellules mononucléaires libres et des cellules endocriniennes interstitielles appelé cellule de Leydig (Eurell et Frappier, 2006).

Selon les mêmes auteurs, les cellules endocriniennes interstitielles constituent environ 1% du volume testiculaire entier chez les béliers adultes, environ 5% chez les taureaux et 20 à 30% chez les sangliers, environ 3 à 6 % chez la souris. Chez les mâles reproducteurs saisonniers, le volume et le nombre de ces cellules peuvent changer au cours de l'année (Eurell et Frappier, 2006). Elles se distinguent par la présence d'un noyau rond, d'un nucléole proéminent et de cristaux de Reinke au sein de leurs cytoplasme (Goldstein et *al.*, 2013). Selon (Cheng et Sun, 2021) Elles présentent également toutes les caractéristiques ultra structurales d'une cellule stéroïdogène, telles qu'un nucléole proéminent, un vaste réseau de réticulum endoplasmique agranulaire, de nombreuses mitochondries tubulovésiculaires et des inclusions lipidiques .

I.3. Fonctions testiculaires

Les testicules assurent plusieurs fonctions

I.3.1. Spermatogenèse

La spermatogenèse est un processus physiologique complexe qui permet à partir de cellules souches diploïdes, les spermatogonies, la formation des spermatozoïdes, cellules haploïdes hautement différenciées (Figure 07). Qui est un processus qui débute à la puberté et se déroule de manière continue durant toute la vie synthétisée au sein du testicule, les gamètes mâles achèvent leur maturation dans l'épididyme (Barraud-Lange et Gille, 2023).

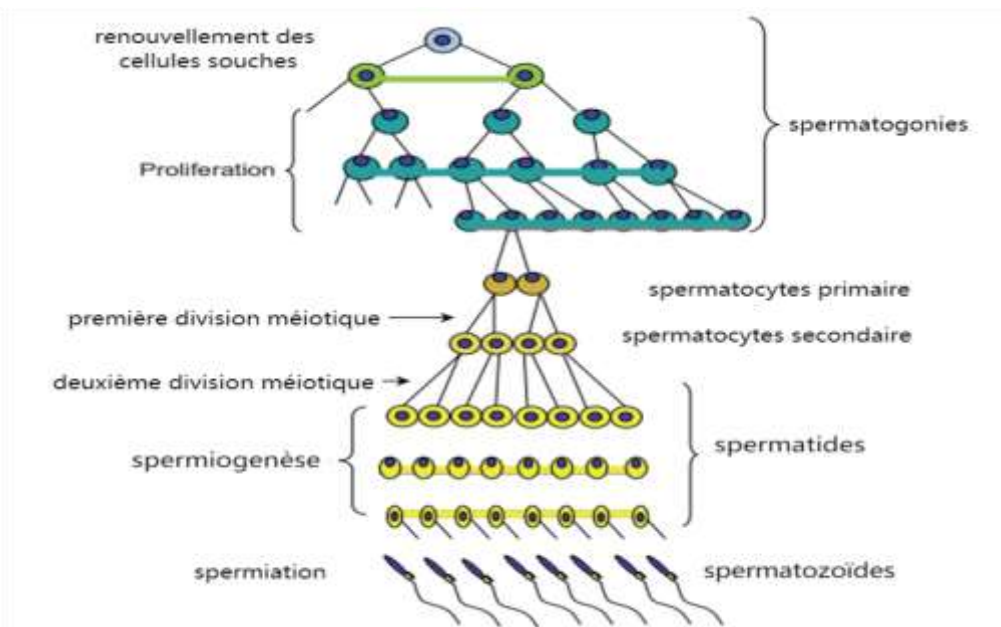


Figure 07 : Formation des cellules germinales des mammifères (Goodman, 2009).

La spermatogenèse a une durée variable d'une espèce à une autre : 74 jours dans l'espèce humaine, 35 jours chez la souris. Ce processus se déroule en deux phases (Rives et *al.*, 2012)

1.3.1.1. Première phase : mitose

Les divisions mitotiques des spermatogonies constituent la base de la capacité de production des spermatozoïdes (Mäkelä et Toppari, 2017).

Chapitre I Synthèse bibliographique de l'appareil reproducteur mâle

Le nombre de mitoses chez l'homme elle est d'environ 15 divisions mitotique et chez la souris/le rat environ 5 à 6 divisions mitotiques des spermatogonies (Simoni et Huhtaniemi, 2017). Les spermatogonies sont des cellules germinales diploïdes (2n) qui se divisent par mitose et résident sur la membrane basale, différents types de spermatogonies sont reconnus comme étant de type A, intermédiaire et de type B. Chez les rongeurs de laboratoire bien étudiés, comme les rats et les souris, quatre classes de spermatogonies sont présents : Spermatogonie de type A indifférenciée unique (As), A appariée (Apr), A alignée (Aal) ; spermatogonie de type A différenciée (A1, A2, A3, A4) ; spermatogonie intermédiaire (In) ; et spermatogonie de type B (B) (Hess et De Franca, 2009).

1.3.1.2. Deuxième phase : méiose

Le programme méiotique implique des changements spectaculaires dans la structure des chromosomes, qui sont pilotés par l'association et la dissociation régulées de différents complexes protéiques des chromosomes (Hillers, 2017). Les spermatocytes primaires au repos se frayent un chemin dans un compartiment des tubules séminifères (Figure 08). Ces derniers subissent deux stades de méiose (première division méiotique et deuxième division méiotique). Chaque cellule diploïde avec 23 paires de chromosomes devient, pendant la méiose, quatre cellules haploïdes prêtes à être utilisées dans les spermatozoïdes et à se joindre aux chromosomes haploïdes dans l'ovule. Dans le processus de la méiose, chaque paire de chromosomes est d'abord dupliquée (générant quatre chromatides) dans la prophase 1-leptotene, puis liée ensemble dans la prophase 1-zygotène (Cole, 2016).

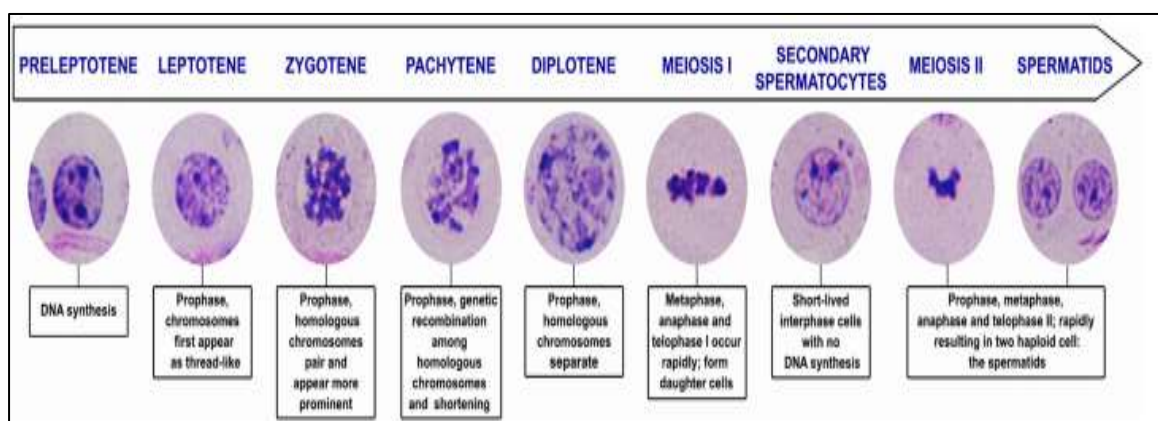


Figure 08 : Morphologie et caractérisation des spermatozoïdes de souris à différents stades de la phase méiotique de la spermatogenèse (Lara et al., 2018).

1.3.2. Spermiogénèse

La spermiogénèse fait référence à la transformation complexe des spermatides haploïdes rondes en spermatozoïdes. La spermiogénèse prend 24 jours chez les humains et 35 à 40 jours chez la souris (De Kretser et *al.*, 2016). La spermiogénèse représente le processus de différenciation cellulaire le plus remarquable dans le corps humain (Simoni et Huhtaniemi, 2017). Ce processus correspond à un ensemble de transformations morphologiques (Figure 09) et physiologiques qui aboutissent à la transformation d'une cellule sans particularité (la spermatide ronde) en une cellule hautement différenciée : la spermatide allongée, qui va elle-même évoluer en spermatozoïde (Guérin, 2016).

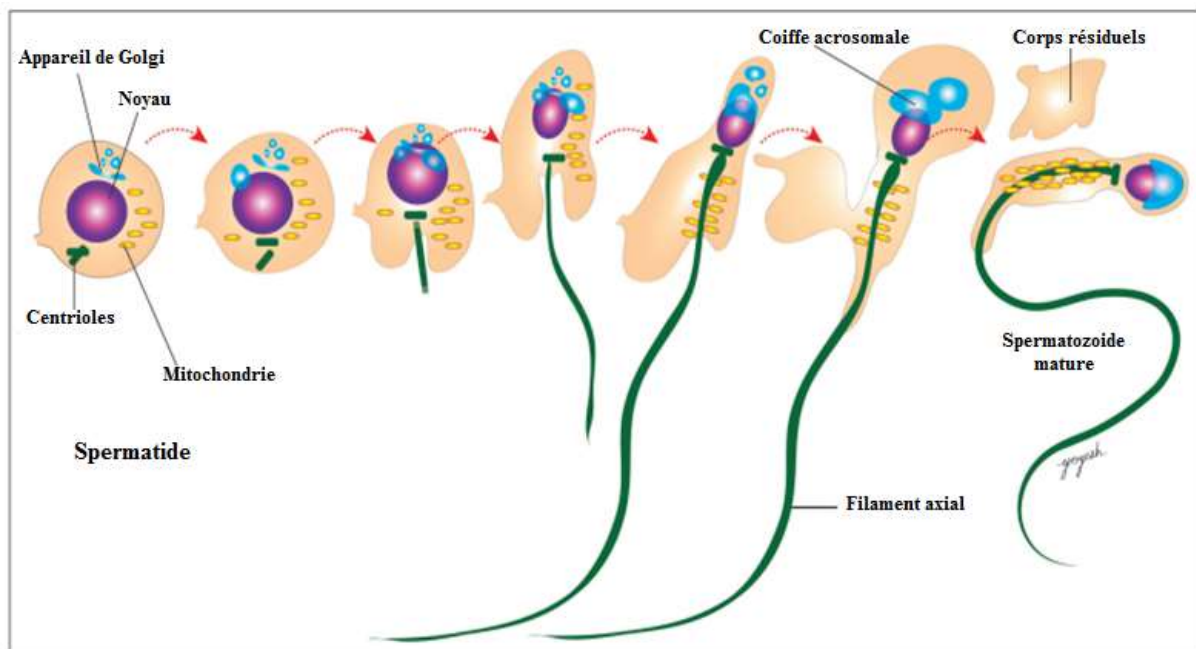


Figure 09 : Processus de spermiogénèse (Sontakke, 2020)

1.3.3. Spermatozoïdes matures

Les spermatozoïdes mûrissent (Figure 10) pendant le transit épидидymaire et acquièrent une compétence fonctionnelle. Bien que les mécanismes par lesquels l'épididyme remplit ses fonctions de maturation, de transport et de stockage des spermatozoïdes, on pense que ces fonctions sont affectées par les cellules et le milieu fluide dans la lumière épидидymaire. Au cours de leur développement, les spermatozoïdes tubules sont continuellement baignés dans des

Chapitre I Synthèse bibliographique de l'appareil reproducteur mâle

sécrétions liquides fournies par les séminifères et les conduits épидидymaires (Esteves et Miyaoska, 2015).

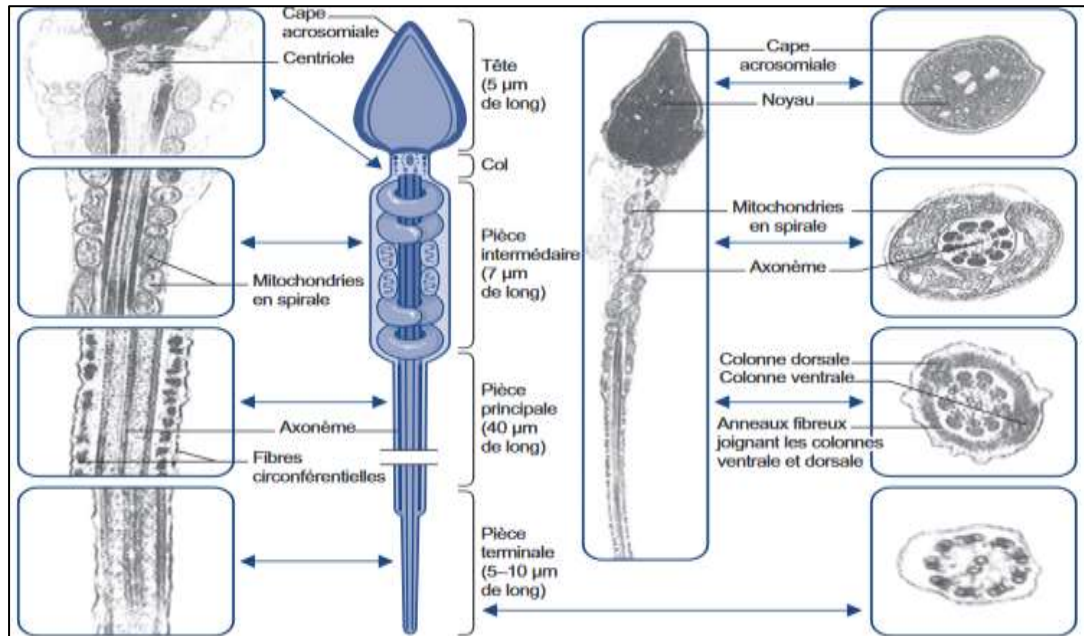


Figure 10 : Spermatozoïde humain mature : schéma et aspects en microscopie électronique (Barraud-Lange et Gille, 2023).

Des études micro analytiques ont révélé que plusieurs changements biochimiques critiques pour la maturation et la survie des spermatozoïdes se produisent dans le canal épидидymaire. Le fluide dans l'épидидyme proximal est assez acide avec un pH autour de 6,5, qui augmente à environ 6,8 dans la région distale. La maturation des spermatozoïdes comprend également des changements dans la dimension et l'apparence de l'acrosome et du noyau, la migration de la gouttelette cytoplasmique le long de la queue et des changements structurels dans les organites intracellulaires (Esteves et Miyaoska, 2015).

1.3.4. Stéroïdogénèse

La biosynthèse des androgènes testiculaires est réalisée dans les cellules de Leydig et, comme pour la surrénale, suit la voie classique $\Delta 5$ avec une contribution mineure de la voie $\Delta 4$ (Schiffer et *al.*, 2018).

La stimulation aiguë des cellules de Leydig par la LH entraîne un transfert de cholestérol dans les mitochondries en partie grâce aux actions de la protéine régulatrice aiguë stéroïdogène (STAR). Le transport du cholestérol dans les mitochondries, l'étape limitante de la biosynthèse des stéroïdes, suivi de sa conversion en prégnénolone par l'enzyme cytochrome P450 par un clivage de la chaîne latérale du cholestérol C27 (CYP11A1) située du côté matrice de la membrane mitochondriale interne. La prégnénolone est ensuite métabolisée en testostérone par la 3β-hydroxystéroïde déshydrogénase (3β-HSD; HSD3B), la 17α-hydroxylase/17,20 lyase (CYP17A1) et la 17β-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 3 (17β-HSD3, HSD17B) dans le réticulum endoplasmique lisse (Figure 11) (Wang et al., 2017).

La majeure partie de la DHT circulante provient de la conversion périphérique de la T par la 5α-réductase de type 1 et de type 2. La différence structurale entre la 5α-dihydrotestostérone et la T, est que la T possède une double liaison 4,5 sur l'anneau A (Ando et al., 2021)

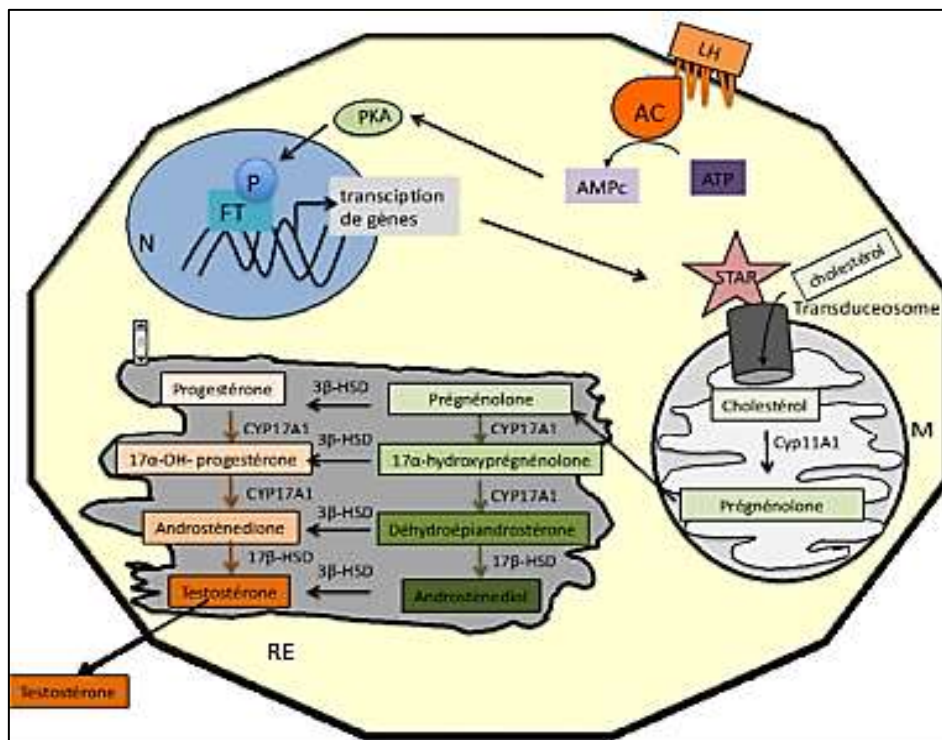


Figure 11 : Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig (Njembele et Niquaise 2014)

2. Epididyme

2.1. Anatomie

L'épididyme est une structure en forme de virgule qui se trouve le long de la surface de chaque testicule (Jones et Lopez, 2014), avec une longueur de 1 m chez la souris, 3 m chez le rat, 3 à 6 m chez l'homme (Figure 12). Il est généralement divisé en quatre régions anatomiques : le segment initial, la tête (caput), corps (corpus) et queue (cauda) (Bernard et *al.*, 2006). Les spermatozoïdes terminent leur maturation et leur flagelle devient fonctionnel au sein de cet organe (Valerie et Tina, 2007).

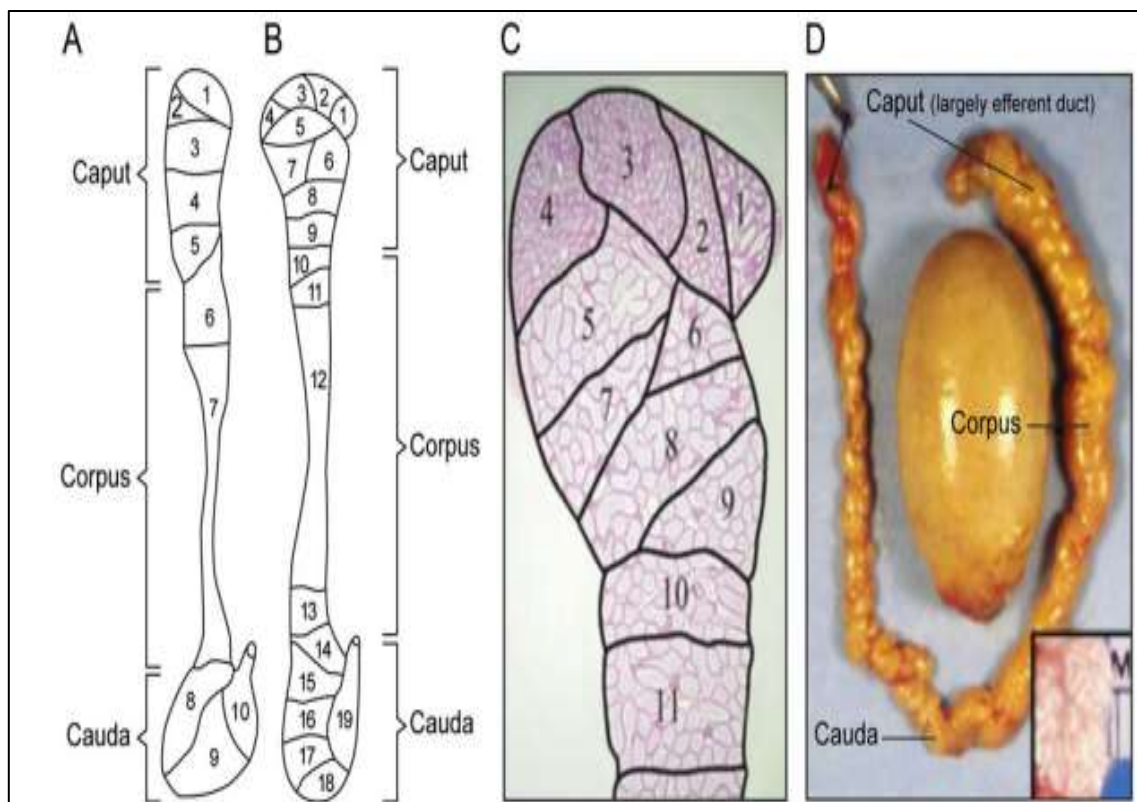


Figure 12 : Représentation schématique de l'épididyme de souris (A) et de rat (B) illustrant le partitionnement de l'épididyme (C), Photographie de l'épididyme humain disséqué du testicule (D) (Sullivan et Miesusset, 2016).

2.2. Histologie

L'épididyme est un canal unique très alambiqué bordé par un épithélium pseudostratifié (Figure 13) complexe constitué de plusieurs types de cellules, c'est-à-dire des cellules

principales, des cellules basales, des cellules claires, des cellules apicales, cellule étroite et des cellules en halo, dont le nombre et l'apparence des types de chaque cellulaire varient selon les segments de l'épididyme (De Grava Kempinas et Klinefelter, 2015)

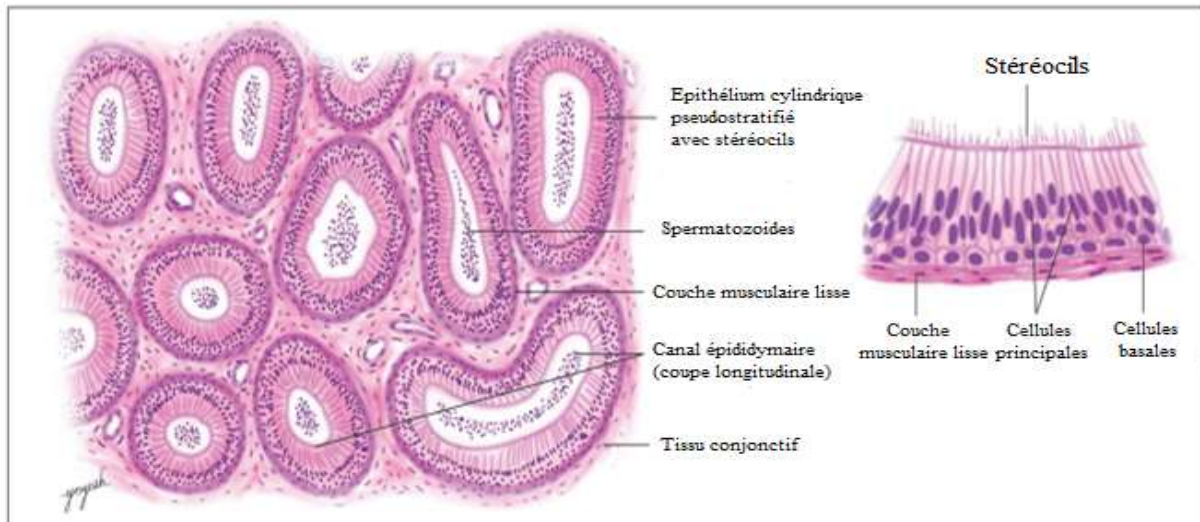


Figure 13 : Histologie de l'épididyme (faible grossissement à gauche et fort grossissement à droite) (Sontakke, 2020)

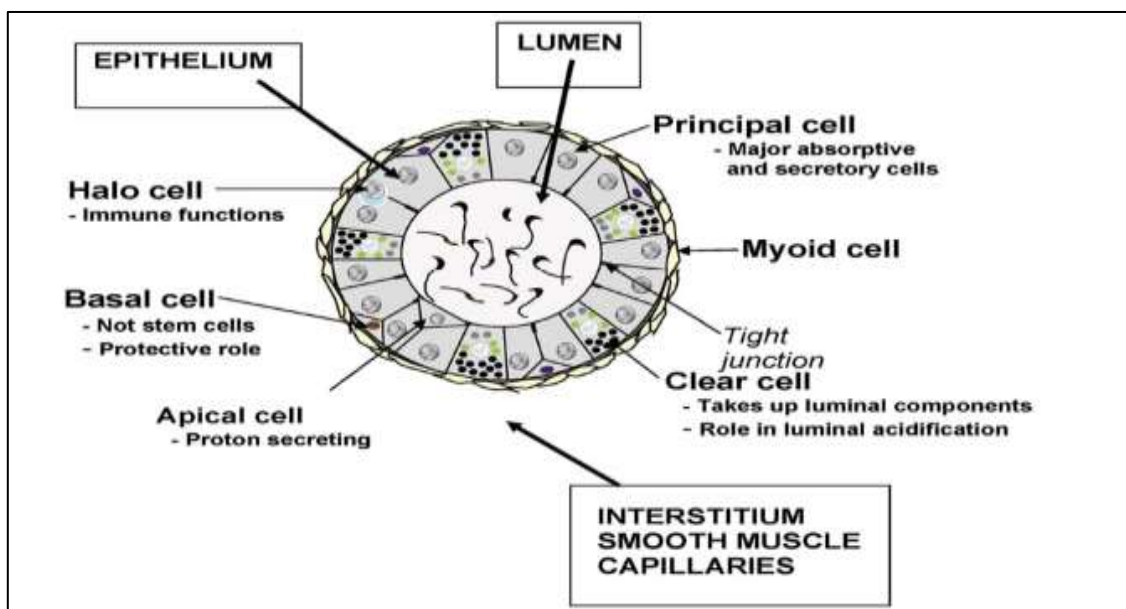


Figure 14 : Schéma de l'organisation cellulaire dans une section représentative de l'épididyme de rat (Cornwall, 2008).

Chapitre I Synthèse bibliographique de l'appareil reproducteur mâle

La plupart des types cellulaires décrits dans le Tableau 1, se trouvent chez la plupart des mammifères examinés, mais il y a quelques exceptions (Robaire et Hinton, 2002).

Les types de cellules épithéliales épидидymaires (Singh, 2016)

Type de cellules	Structure	Fonction
Cellule basale	Plates et allongées	Forment la structure du sous-sol de l'épithélium et jouent également un rôle majeur dans la détoxification
Cellule principale	Présence de microvillosités hautes, qui forment une bordure de brosse distincte.	Constituent 65 % à 80 % de l'épithélium, du transport et de la sécrétion de petites molécules organiques, de la synthèse des protéines et de la sécrétion et de l'absorption des fluides et des particules
Cellule étroite	Elles sont principalement présentes dans le segment initial et se caractérisent par la présence de plusieurs vésicules endocytaires	Les interactions entre les cellules et entre les cellules et la matrice extracellulaire facilitent la formation d'un environnement luminal distinct du milieu environnant.
Cellules claires	Grandes cellules endocytaires	Participer à l'endocytose des gouttelettes cytoplasmiques, libérées par les spermatozoïdes lorsqu'ils traversent le canal épидидymaire
Cellules halo	Des cellules de halo sont trouvées tout au long de l'épидидyme et dans diverses positions à l'intérieur de l'épithélium mais ne le recouvrent pas	Les cellules de halo ont été décrites comme lymphocytes ou monocytes. Ces cellules fonctionnent peut-être comme les cellules immunitaires primaires de l'épидидyme

Chaque segment contribue spécifiquement au microenvironnement luminal qui est essentiel à la maturation des spermatozoïdes testiculaires lorsqu'ils atteignent la cauda. Dans le segment initial, les cellules principales hautement cylindriques sont responsables de la résorption de l'eau ; les ions et les petites molécules organiques sont également absorbés. Les cellules principales du caput sont impliquées dans la sécrétion de protéines. Ces protéines s'adsorbent sur la membrane du spermatozoïde et modifient sa composition protéique. Les cellules principales du corpus possèdent d'abondants lipides dans leur région supranucléaire. Ces cellules peuvent contribuer à la modification de la composante lipidique de la membrane plasmique du spermatozoïde (De Grava Kempinas et Klinefelter, 2015).

2.3. Fonction épидидymaire

D'après Badran et Hermo (2002), l'épididyme accomplit plusieurs fonctions aboutissant à la maturation des spermatozoïdes, l'acquisition de la motilité, la modification de la membrane des spermatozoïdes, ainsi que la protection et le stockage des spermatozoïdes.

2.3.1. Maturation des spermatozoïdes

La maturation des spermatozoïdes est un processus essentiel à la fertilité masculine qui se produit pendant le transit épидидymaire. Les spermatozoïdes subissent de nombreux changements au cours de cette période, mais surtout ils acquièrent la motilité et les facteurs nécessaires à la réussite de la fécondation d'un ovocyte. Le processus de maturation se produit par contact direct des spermatozoïdes avec le contenu de la lumière épидидymaire. L'environnement luminal est spécifique à chaque région de l'épididyme et les différences entre les régions sont dues à la composition cellulaire variée de l'épithélium et à la régulation hormonale, entre autres facteurs (James et *al.*, 2020)

2.3.2. Acquisition de la motilité

Lorsque les spermatozoïdes atteignent l'épididyme caudal, la majorité des cellules sont capables d'une mobilité progressive. On pense que la motilité est intrinsèque aux spermatozoïdes et qu'elle peut être développée artificiellement dans certaines conditions. La lumière de l'épididyme fournit cependant le meilleur environnement pour que cette activation ait lieu. D'un point de vue morphologique et structurel, les spermatozoïdes subissent de nombreux changements qui contribuent à faciliter leur mobilité (James et *al.*, 2020)

2.3.3. Protection des spermatozoïdes

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

2.3.4. Stockage des spermatozoïdes

Dans l'intervalle des éjaculations, les spermatozoïdes sont stockés dans la queue de l'épididyme (Barone, 2001) où ils baignent dans un liquide qui permettra de les conserver et qui servira de réservoir durant l'attente de la prochaine éjaculation (Hinton et Palladino, 1995).

3. Organes annexes

Les organes annexes de l'appareil reproducteur mâle sont :

3.1. Canal déférent

Le canal déférent est un tube rigide dont la fonction est de transmettre les spermatozoïdes à partir de l'épididyme à l'urètre, au moyen de son épithélium sécrétoire, pour contribuer au milieu dont les spermatozoïdes sont baignés pendant le transit. Le canal déférent est en continuité directe avec la queue de l'épididyme (Dixon et al., 1998). Chez la souris, il de la Queue de l'épididyme et aboutit à l'ampoule, qui s'ouvre dans l'urètre au niveau du colliculus seminalis. Chez l'homme, il est relié à la queue de l'épididyme au niveau de l'ampoule. Cette dernière se connecte à un court conduit drainant la vésicule séminale à l'intérieur de la prostate pour former le canal éjaculateur qui se connecte à l'urètre prostatique (Treuting et Dintzis, 2012).

3.2. Vésicules séminales

Les vésicules séminales sont des structures canalaire paires situées sur la face postéro-latérale de la base de la vessie et sécrètent un liquide qui constituera une partie du sperme. Ce liquide contient des protéines, des enzymes, du mucus et des nutriments tels que le fructose (Parker et Picut, 2016)

3.3. Prostate

La prostate est composée de quatre lobes appariés chez la souris : les lobes antérieurs, ventraux, dorsaux et latéraux. En raison de la proximité des lobes dorsal et latéral, ils sont communément appelés lobe dorso-latéral (Figure 15). Contrairement aux lobes du rongeur, la prostate humaine est classée par zones centrale, transition et périphérique et est entourée d'une épaisse capsule fibromusculaire (Cunha et al., 2019).

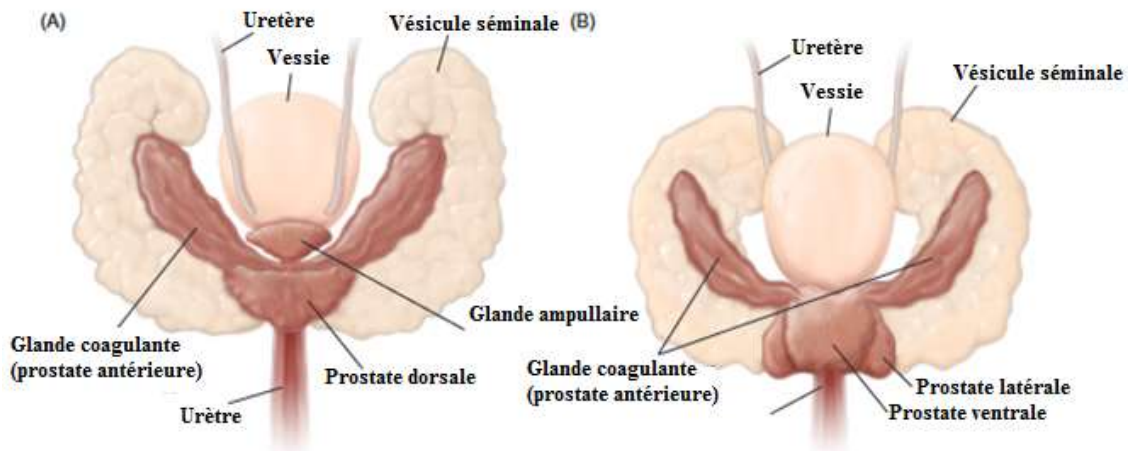


Figure 15 : prostate de souris (Knoblauch et True, 2012).

3.4. Urètre

L'urètre est le dernier des canaux par lesquels le sperme circule, et sa partie la plus longue est enfermée dans le pénis (Valerie et Tina, 2007).

3.5. Verge

Le pénis contient trois structures érectiles les deux corps caverneux situés sous la face dorsale de la verge et le corps spongieux qui entoure l'urètre à la face ventrale. L'albuginée est l'enveloppe qui entoure les corps caverneux (Cornud et Eiss, 2015).

II.Régulation endocrinienne de la fonction de reproduction

1. Axe hypothalamo- hypophysaire –gonadique

La reproduction est régulée par un système hormonal complexe dans lequel l'hypothalamus et l'hypophyse ont un rôle essentiel (Figure 16). L'élaboration et la maturation des spermatozoïdes sont sous la dépendance étroite des hormones gonadotropes et des androgènes (Lamothe et *al.*, 2015).

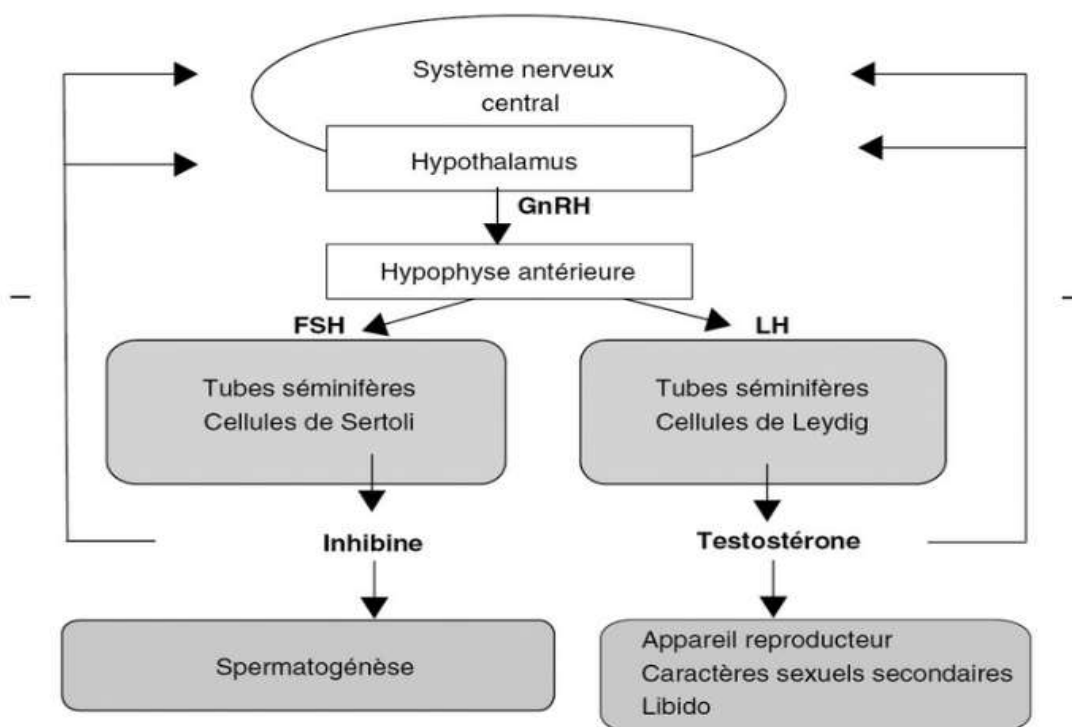


Figure 16 : Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle (Lamothe et *al.*, 2015).

1.1. Au niveau hypothalamique

Le fonctionnement gonadique est sous la dépendance d'une gonadolibérine la GnRH (gonadotropin releasing hormone), c'est un décapeptide qui régule la sécrétion hypophysaire de l'hormone lutéinisante (LH) et de l'hormone folliculo-stimulante (FSH). Sa sécrétion pulsatile est freinée par les hormones sexuelles gonadiques (Pillon, 2012).

1.2. Au niveau hypophysaire

L'activité physiologique du testicule est régie par deux hormones gonadotropes hypophysaires : l'hormone folliculostimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH). Ce sont des hormones glycoprotéiques étroitement liées, constituées d'une sous-unité commune et de sous-unités uniques qui leur confèrent une spécificité de FSH ou de LH. Les trois sous-unités sont les produits de trois gènes qui sont régulés indépendamment. Et sont synthétisées et sécrétées par une seule catégorie de cellules hypophysaires, les gonadotropes (Johnson, 2003).

Les actions de la FSH et de la LH sont clairement séparées dans les testicules. La FSH agit principalement sur les cellules de Sertoli pour stimuler la sécrétion d'agents paracrines

nécessaires à la spermatogenèse. La LH, en revanche, agit principalement sur les cellules de Leydig pour stimuler la sécrétion de testostérone (Widmaier et *al.*, 2008).

1.3. Au niveau gonadique

Les effets des androgènes sont médiés par le récepteur des androgènes (AR), qui est une protéine de 110 kD localisée dans le noyau et le cytoplasme. Il n'existe pas de récepteurs fonctionnels pour les androgènes dans les cellules germinales. Au lieu de cela, la testostérone qui se diffuse dans les cellules de Sertoli se lie à l'AR présent dans le cytoplasme et le noyau pour déclencher les réponses fonctionnelles nécessaires au soutien de la spermatogenèse (Smith et Walker, 2014).

La testostérone libérée par les cellules de Leydig peut diffuser dans les capillaires voisins pour être transportée dans la circulation générale ou dans les tubules séminifères voisins, où elle joue son rôle essentiel dans la spermatogenèse (Johnson, 2003). Outre son action paracrine essentielle dans les testicules et ses effets de rétroaction négative sur l'hypothalamus et l'hypophyse antérieure, cette hormone exerce de nombreux autres effets chez l'homme (Widmaier et *al.*, 2008) qui sont

1. Nécessaire à l'initiation et au maintien de la spermatogenèse (agit par l'intermédiaire des cellules de Sertoli)

2. Diminue la sécrétion de GnRH par une action sur l'hypothalamus

3. Inhibe la sécrétion de LH par une action directe sur l'hypophyse antérieure

4. Induit la différenciation des organes reproducteurs accessoires masculins et maintient leur fonction

5. Induit les caractéristiques sexuelles secondaires masculines ; s'oppose à l'action des œstrogènes sur la croissance des seins

6. Stimule l'anabolisme protéique, la croissance osseuse et l'arrêt de la croissance osseuse

7. Nécessaire à la libido et peut renforcer le comportement agressif 8. Stimule la sécrétion d'érythropoïétine par les reins

La quantité de testostérone est plus élevée que les autres, et peut donc être considérée comme l'hormone testiculaire la plus importante. Cependant, la plus grande partie est convertie dans les tissus effecteurs en dihydrotestostérone (DHT), une hormone plus active, car elle a une plus grande affinité pour le récepteur intracellulaire des androgènes (AR) (Goonewardene et *al.*, 2022).

2. Régulation de la fonction épидидymaire

La régulation de la fonction épithéliale de l'épididyme utilise des réseaux moléculaires complexes. Leurs propriétés biochimiques sont très diverses et proviennent de nombreuses sources, elles agissent spécifiquement au niveau cellulaire de l'épithélium épидидymaire pour réguler l'expression gènes cibles, affectant ainsi les fonctions physiologiques de cet organe (Britan et Drevet, 2006).

Les récepteurs androgènes (AR) dans les tissus reproducteurs mâles sont essentiels dans la régulation des facteurs qui maintiennent la spermatogenèse , et qui assurent la production d'un environnement physiologique qui permet la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme (Zhou et *al.*, 2002). Bien que de nombreuses hormones tels que les œstrogènes, la prolactine, la vitamine D, la mélatonine, la progestérone et les facteurs de croissance jouent un rôle spécifique dans la régulation de la fonction épидидymaire (Robaire et Hamzeh, 2011).

En plus de dépendre de la présence d'androgènes circulants, l'épididyme dépend également de la présence de facteurs de fluide luminal provenant du testicule ou de l'épididyme lui-même (Robaire et *al.*, 2006).

L'épididyme reçoit les androgènes de la circulation périphérique et aussi du liquide en provenance du testicule (Dadoune, 1992). La testostérone arrivant par voie sanguine liée à la protéine de liaison aux stéroïdes sexuels (SBP), et par le fluide testiculaire liée à la protéine de liaison aux androgènes (ABP) au niveau épидидymaire est médiée par le dihydrotestostérone (DHT) (Britan et Drevet, 2006).

La captation de la testostérone et sa conversion en DHT est particulièrement élevée dans le segment initial de l'épididyme où la concentration d'ABP est maximale. Le complexe ABP-testostérone est internalisé par endocytose dans les cellules épithéliales, où la testostérone est

convertie en DHT par la 5 α -réductase. Le DHT est considéré comme le seul androgène indispensable à l'acquisition du pouvoir fécondant des spermatozoïdes (Dadoune, 1992).

3. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par testicule

Chez l'homme, l'axe hypothalamo-hypophysaire est contrôlé par une rétroaction négative, qui a deux voies. Dans la première voie, la testostérone elle-même rétroagit sur l'hypothalamus et le lobe antérieur, où elle inhibe la sécrétion de GnRH et de LH. Au niveau hypothalamique, la testostérone diminue à la fois la fréquence et l'amplitude des impulsions de GnRH (Costanzo, 2018). Dans la seconde voie, les cellules de Sertoli sécrètent une substance appelée inhibine qui est une glycoprotéine qui inhibe en retour la sécrétion de FSH par l'hypophyse antérieure. Ainsi, les cellules de Sertoli, qui produisent les spermatozoïdes, synthétisent leur propre inhibiteur de rétroaction qui sert d'indicateur de l'activité spermatogène des testicules (Costanzo, 2018).

III. Facteurs impliqués dans l'infertilité masculine

Les causes d'infertilité masculine sont variées et souvent multifactorielles, se traduisant dans 61 % des cas par une anomalie quantitative et/ou qualitative du sperme. Le testicule peut être soumis à des lésions traumatiques et ischémiques (torsion du cordon spermatique, chirurgie, varicocèle) pouvant altérer définitivement sa fonction exocrine. Cette dernière est également sensible à l'hyperthermie, aux rayonnements ionisants, aux toxiques environnementaux voire médicamenteux, au stress oxydant associé à de nombreuses situations pathologiques (varicocèle, infection, inflammation génitale) (Schlosser *et al.*, 2007).

1. Facteurs liés au mode de vie

Plusieurs facteurs liés au mode de vie sont impliqués dans l'infertilité masculine

1.1. Alcool

Les actions de l'alcool sur le système reproducteur masculin semblent se produire à tous les niveaux de l'axe hypothalamus-hypophyso-gonadique (HPG) (Figure 17). Il semble interférer avec la production de GnRH, FSH, LH et de testostérone, et altérer les fonctions des cellules de Leydig et de Sertoli. En conséquence, la production, le développement morphologique et la maturation des spermatozoïdes pourraient être altérés. La spermatogenèse

semble diminuer progressivement avec l'augmentation des niveaux de consommation d'alcool. L'arrêt spermatogène partiel ou complet et le syndrome des cellules de Sertoli étaient plus fréquemment présents chez les gros buveurs que chez les non-buveurs (Durairajanayagam, 2018)

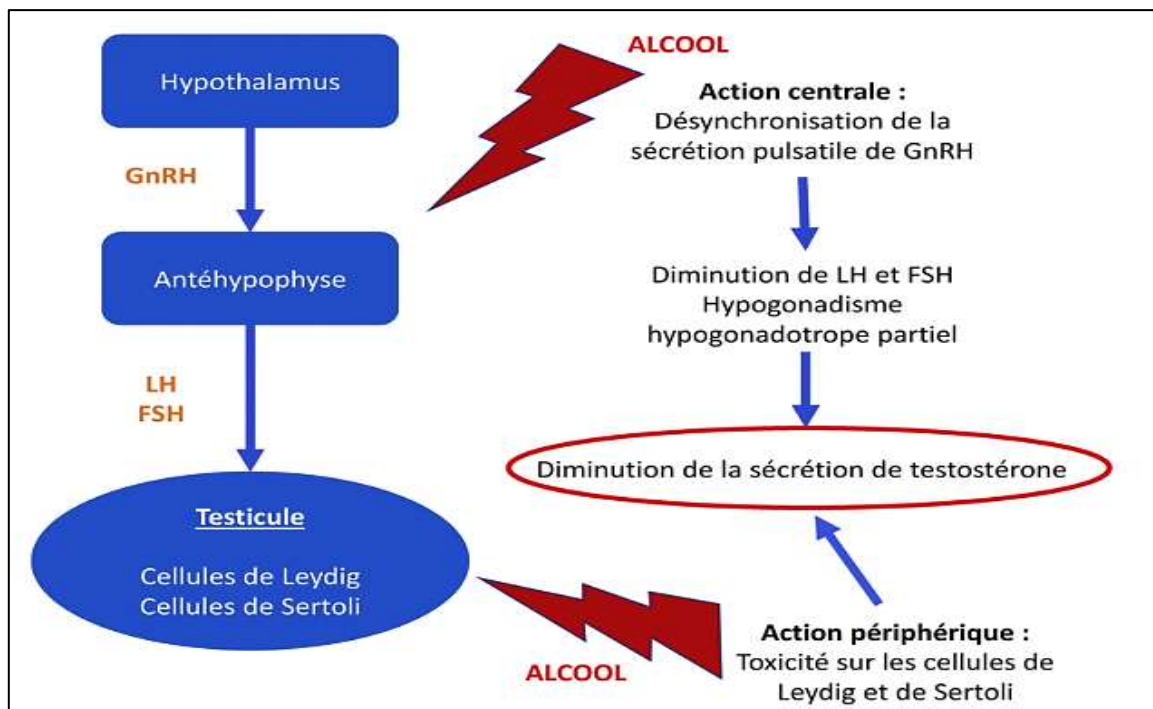


Figure 17 : Mécanisme d'action et effets physiopathologiques de l'alcool sur la fertilité masculine. GnRH : gonadotropin releasing hormone ; LH : luteinizing hormone ; FSH : folliclestimulating hormone (Bendayan et *al.*, 2018).

1.2. Tabac

Il a été suggéré que le tabagisme affecte négativement tous les systèmes impliqués dans le processus de reproduction. Les spermatozoïdes des fumeurs ont une capacité de fécondation réduite et les embryons présentent des taux d'implantation plus faibles (Mostafa, 2010).

Le plasma séminal des fumeurs devient un environnement toxique pour les spermatozoïdes. Des altérations des paramètres spermiologiques classiques ont été notées. Une tendance à une diminution de la numération des spermatozoïdes est observée dans plusieurs études, en relation avec une atrophie testiculaire et une altération de la spermatogenèse (Sepaniak et *al.*, 2004).

2. Exposition environnementale

L'exposition environnementale a aussi des influences négatives sur la fertilité masculine

2.1. Température

La spermatogenèse se fait de manière optimale à une température inférieure de 2 à 4°C à celle du corps. L'augmentation de la température scrotale, affecte négativement la quantité et la qualité des spermatozoïdes éjaculés. Elle induit une apoptose des cellules germinales et une fragmentation de l'ADN spermatique. Les cellules germinales sont en effet plus sensibles et plus vulnérables aux variations de température en raison de leur activité mitotique (Bendayan et *al.*, 2018).

Selon le même auteur, il existe des sources endogènes de chaleur telle que l'obésité, varicocèle, épisodes fébriles, cryptorchidie, et des sources exogènes comme les saunas, bains chauds, exposition professionnelle chez les boulangers, restaurateurs

2.2. Perturbateurs endocriniens

Un perturbateur endocrinien est une substance exogène qui interfère avec la production, la sécrétion, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles responsables de la maintenance de l'homéostasie et la régulation des processus du développement (Multigner et Kadhel, 2008).

2.2.1. Pesticides organochlorés et hypofertilité

Les pesticides organochlorés (également connus sous le nom d'hydrocarbures chlorés) sont des composés organiques comportant cinq atomes de chlore ou plus (Yadav et Devi, 2017). Ils possèdent des propriétés anti-androgéniques démontrées chez l'animal. Par ailleurs, en inhibant la transformation de la testostérone médiée par l'aromatase, ces produits orientent le métabolisme de la testostérone vers la production de métabolites inactifs. Ils pourraient également perturber la libération par les cellules de Sertoli de substances favorisant la maturation spermatique (Charlier et Plomteux, 2002).

2.2.2. Le bisphénol A

Le BPA est utilisé dans la production de polycarbonates et de résines époxy. On peut le retrouver dans les lunettes de soleil, les disques optiques compacts (CDs), les biberons (Dewalque et Charlier, 2012).

Au cours des dernières décennies, les résultats de recherches précliniques ont révélé les effets perturbateurs endocriniens du BPA sur les fonctions reproductrices masculines, clarifiant ainsi les mécanismes possibles par lesquels le BPA peut interférer avec la régulation de la spermatogenèse, principalement dans l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Castellini et al., 2020)

2.2.3. Métaux lourds

L'exposition aux métaux lourds est considérée comme un facteur de risque environnemental associé à l'infertilité masculine chez 30 % des couples infertiles dans le monde. Plusieurs études ont décrit les effets néfastes de l'arsenic, du cadmium, du plomb et du mercure sur la fertilité des hommes, tels que la réduction de la production de spermatozoïdes, d'hormones, la qualité du plasma séminal et la viabilité des spermatozoïdes (Machado-Neves, 2022). Le plomb a été le premier métal dont l'effet néfaste sur la fertilité masculine a été démontré. L'analyse du nombre de spermatozoïdes chez les travailleurs du plomb a montré une diminution du nombre de spermatozoïdes ainsi qu'une diminution de la motilité et de la durée de vie des spermatozoïdes, en relation directe avec le niveau du plomb dans le sang (Olayemi, 2010).

IV. Aromathérapie

L'aromathérapie a une histoire longue et riche qui s'étend des civilisations anciennes aux temps modernes. Dans l'Égypte ancienne, les huiles essentielles telles que l'encens (*Boswellia sacra* Fluck) et la myrrhe (*Commiphora myrrha* T.Nees) étaient utilisées dans les rituels religieux, l'embaumement et les préparations médicinales. La médecine traditionnelle chinoise incorpore des substances aromatiques pour équilibrer l'énergie et traiter les maux. La médecine ayurvédique en Inde utilise des plantes et des huiles aromatiques à des fins curatives et spirituelles. Au Moyen Âge, les cultures arabes ont contribué de manière significative à

l'aromathérapie, distillant des substances aromatiques et les utilisant dans des remèdes et des parfums (Vora et *al.*, 2024).

Le terme d'aromathérapie apparaît en 1937 (Kaloustian et *al.*, 2008). Il tire son nom du mot arôme, qui signifie parfum ou odeur, et de thérapie, qui signifie traitement. C'est une thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles, comme principaux agents thérapeutiques, qui sont considérées comme des substances hautement concentrées extraites de fleurs, de feuilles, de tiges, de fruits et de racines, et également distillées à partir de résines (Babar et *al.*, 2015).

1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés volatils, naturels et complexes, caractérisés par une forte odeur extraite à partir des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires connues pour leurs propriétés antiseptiques, c'est-à-dire bactéricides, virucides et fongicides, et médicinales (Bakkali et *al.*, 2008).

2. Mode d'obtention des huiles essentielles

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des méthodes d'extraction délicat. La méthode sélectionnée ne doit pas provoquer de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de variations de pH ou de perte de composés volatils (Miloudi et *al.*, 2018).

2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La distillation lente à la vapeur d'eau, effectuée sans ou à basse pression dans un alambic, est la méthode la plus couramment utilisée pour obtenir des huiles essentielles complètes et très riches. Dans cette technique, les plantes sont mélangées à l'eau, puis chauffées. La vapeur d'eau, qui emporte avec elle les HE, monte dans un tube réfrigérant avant de passer dans un séparateur. À la fin du processus, on obtient l'essence de la matière première. Après la distillation, les HE sont séparées de l'eau (Aboughe et *al.*, 2015).

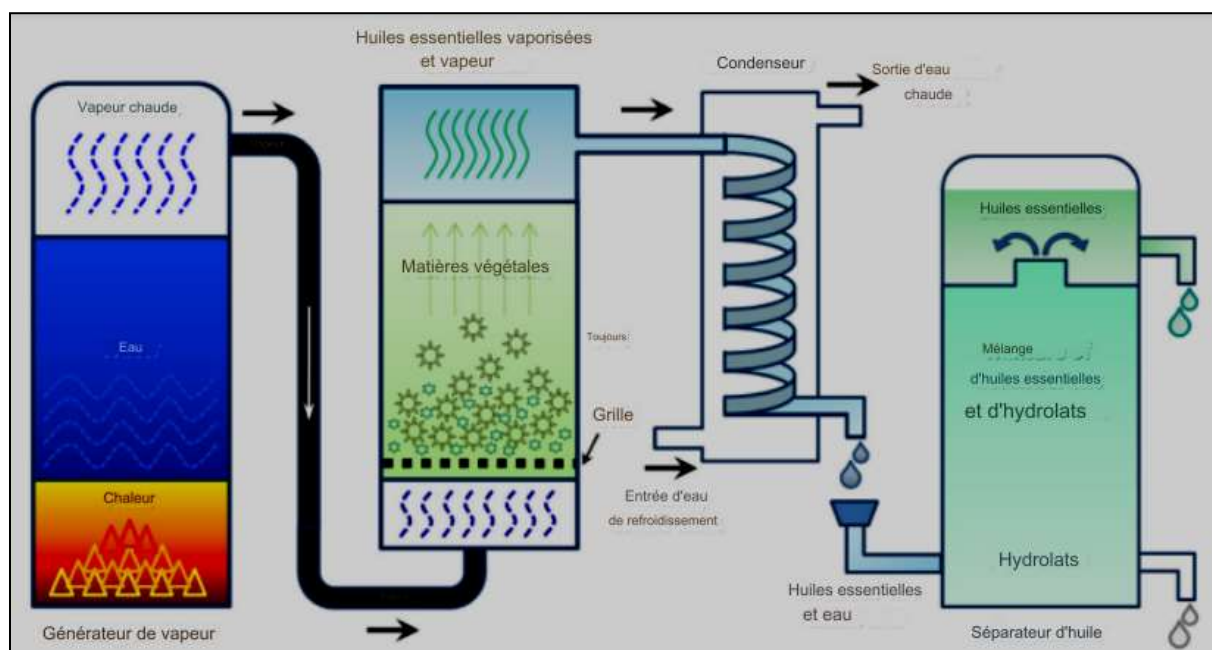


Figure 18 : Illustration schématique de la méthode de distillation à la vapeur (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

2.2. Expression à froid

L'expression à froid est particulièrement utilisée pour les huiles essentielles (HE) d'agrumes comme l'orange, la mandarine, le citron et le pamplemousse. Elle consiste à appliquer une pression sur les fruits pour extraire les HE de leur écorce. Aujourd'hui, cette extraction est effectuée à l'aide de centrifugeuses (Aboughe et *al.*, 2015).

2.3. Extraction par solvant organique

La technique d'extraction classique par solvant consiste à placer un solvant volatil et la matière végétale dans un extracteur. Par des lavages successifs, le solvant se charge en molécules aromatiques, puis est envoyé au concentrateur pour être distillé à pression atmosphérique. Le solvant choisi doit être autorisé et stable face à la chaleur, la lumière et l'oxygène. De plus, il doit avoir une température d'ébullition basse pour faciliter son élimination et ne pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée à l'aide d'un appareil de Soxhlet (Nadjib et Amine, 2019).

2.4. Extraction assistée par micro-ondes

Le protocole expérimental de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) est structuré autour de trois points clés : premièrement, la quantité de matière végétale, la puissance des micro-ondes et enfin le temps total d'extraction. Le but d'éliminer l'utilisation de solvants organiques est d'obtenir un produit pur et d'obtenir suffisamment d'huile essentielle (HE) (Nadjib et Amine, 2019).

3. Voies d'administration des huiles essentielles

Les voies d'administration des huiles essentielles dépendent des usages thérapeutiques distincts et à l'efficacité des composés aromatiques, elles peuvent être administrées par :

3.1. Voie trans-cutanée

Désigne la voie d'administration des HE à travers la peau. Cela peut se faire par des cataplasmes, des massages, des perfusions aromatiques, des bains, des fumigations, des masques, de l'embaumement aromatique, ou peut être ajoutée dans un lait corporel (Lardry et Haberkorn, 2007)

3.2. Voie orale

Les HE ne doivent jamais être absorbées pures mais diluées, soit dans un verre d'eau tiède, dans une tisane, dans les plats cuisinés ou par gélules uniquement sur prescription médicale (Lardry et Haberkorn, 2007)

3.3. Voie trans-pulmonaire

Comprends deux procédés soit une diffusion générale dans une pièce qui se fait soit à l'aide d'un diffuseur d'arômes (Figure 19) ou à l'aide d'un brûle-parfum (Figure 20), ou soit par diffusion individuelle dite «l'inhalation» qui consiste l'absorption de l'huile essentielle par inhalation dans les narines, via un diffuseur avec de la vapeur , des pierres aromatiques et une bande de tissu parfumée à l'huile ou par la cire de bougie chauffée, le détergent, et les nettoyeurs pour salles de bains et sols (Lardry et Haberkorn, 2007).



Figure 19 : diffuseur d'arômes (Lardry et Haberkorn, 2007).



Figure 20 : brûle-parfum (Lardry et Haberkorn, 2007).

3.4. Voie rectale et vaginale

Les voies rectale (suppositoires) et vaginale (ovules) sont réservées à l'usage médical (Lardry et Haberkorn, 2007).

4. Activité pharmacologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont plusieurs activités pharmacologiques

4.1. Effets de détente et de relaxation

Il en ressort que les huiles essentielles (notamment associées aux massages) pourraient avoir une action de détente et de relaxation sur les patients hospitalisés. Mais ces constatations ne sont qu'empiriques. Les auteurs insistent cependant, devant les risques potentiels encourus en cas de mauvaise indication dans les soins dispensés aux malades, sur la nécessité de former spécifiquement le personnel soignant à l'utilisation des huiles (Lardry et Haberkorn, 2007).

4.2. Anti oxydant

L'activité antioxydante peut être définie comme les molécules capables de réagir avec les radicaux ou ayant un pouvoir réducteur pour contrecarrer le stress oxydatif provoqué par les radicaux. L'effet antioxydant de nombreuses HE est dû à la capacité inhérente de certains de leurs composants, en particulier les phénols, à arrêter ou à retarder l'oxydation aérobie de la matière organique. D'un autre côté, il existe des HE sans phénol qui expriment un comportement

antioxydant, ce qui est dû à la chimie radicalaire de certains terpénoïdes et d'autres constituants volatils (Elshafie et Camele, 2017).

4.3. Anti tumoral

Malgré les avancées dans la compréhension des mécanismes de transformation cellulaire, le cancer reste un problème de santé mondial majeur. Les huiles essentielles ont démontré des propriétés anti tumorales à travers des études empiriques et in-vitro. Les composés tels que les phénols, les alcools et les aldéhydes présents dans les huiles essentielles montrent une forte efficacité cytotoxique contre diverses lignées cellulaires cancéreuses. Certaines HE, comme celles de l'eucalyptus et de la camomille, de l'armoise et de la verveine officinale, sont capables d'induire l'apoptose dans les cellules tumorales, tandis que d'autres perturbent le potentiel membranaire mitochondrial (Bouyahya et *al.*, 2018).

4.4. Action hormonale

Le géranium, le néral, le géraniol, le nérol et le trans-anéthole sont bien connus pour leur stimulation de la réponse œstrogénique, contrairement à l'eugénol qui a une activité anti-œstrogénique. Le citra, c'est-à-dire la combinaison du géraniol, du nérol et de l'eugénol, s'est avéré efficace pour remplacer le [3H]17 β -estradiol dans les récepteurs œstrogéniques des cellules de levure recombinantes (Ali et *al.*, 2015).

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. L'objectif de ce présent travail est d'évaluer la toxicité de l'acétate de plomb et déterminer si l'huile essentielle de géranium peut atténuer ces effets néfastes.

1. Matériels

1.1. Matériels biologiques

1.1.1. Modèle animal

La présente étude a été menée sur la souris *Mus Musculus* (Figure 21) considérée comme l'organisme modèle le plus largement utilisé dans la recherche biomédicale. Elle est utilisée pour l'étude d'une grande variété de traits et de maladies en particulier, celles qui sont impliquées dans le métabolisme, le développement, les problèmes neurologiques, l'immunité (Pfeffer-Rixey et Nachman, 2015).



Figure 21 : Souris *Mus Musculus* (originale, 2024).

Cette espèce présente plusieurs avantages, notamment sa taille modeste, sa durée de vie relativement courte (environ un an), sa capacité à se reproduire rapidement et son faible coût par rapport à d'autres modèles animaux. Ces caractéristiques permettent d'élever une population suffisante de souris dans un délai raisonnable (Hardin-Pouzet et Morosan, 2019).

La classification systématique de ce petit mammifère est représentée ainsi (Nagarajan et al., 2021).

Règne	Animal
Phylum	Chordés
Classe	Mammifères
Ordre	Rodentiens
Famille	Muridés
Sous-famille	Murinés
Genre	Mus
Espèce	Musculus

1.1.2. Modèle végétal

Les plantes aromatiques sont utilisées depuis l'Antiquité pour leurs propriétés conservatrices et médicinales, ainsi que pour donner de l'arôme et de la saveur aux aliments (Edris, 2007). Le géranium rosat est un pélargonium (Figure 22) buissonnant pouvant atteindre 1 m 30 de hauteur et 60 cm de largeur, il s'agit d'une plante vivace, pleine de suc en début de végétation, puis ligneuse, à écorce brun clair, cultivée en annuelle ou en pérenne selon le pays (Boukhatem et al., 2011).



Figure 22: Parties aériennes de *Pelargonium graveolens* L'Hér (Ghedira et Goetz, 2015).

Le géranium est utilisé depuis de nombreuses années en médecine traditionnelle comme antiasthmatique, antiallergique, antioxydant, antidiarrhéique, antihépatotoxique, diurétique, tonique, hémostatique, stomachique et antidiabétique. Certaines de ses activités anti-inflammatoires et antioxydantes ont été trouvées dans ses fractions riches en polyphénols et d'autres dans ses huiles essentielles (Figure 23) (Elmann et *al.*, 2010).



Figure 23 : Huile essentielle du *Géranium Rosat* (Originale, 2024).

1.1.3. Acétate de plomb

L'acétate de plomb (Figure 24) connu sous le nom de « sucre de plomb » constitue l'une des formes de plomb les plus biodisponibles et extrêmement toxiques. En présence d'eau, l'acétate de plomb forme le trihydrate, $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ (Ghazi et Millette, 1964).

Les principales voies potentielles d'exposition humaine au plomb sont l'ingestion, l'inhalation et le contact cutané (AL-Megrin et *al.*, 2020), ce qui peut provoquer une anémie, des troubles rénaux, des anomalies de la reproduction et des troubles neuronaux tels que des convulsions soudaines et des anomalies comportementales (Mokhtari et Zanoori, 2011).

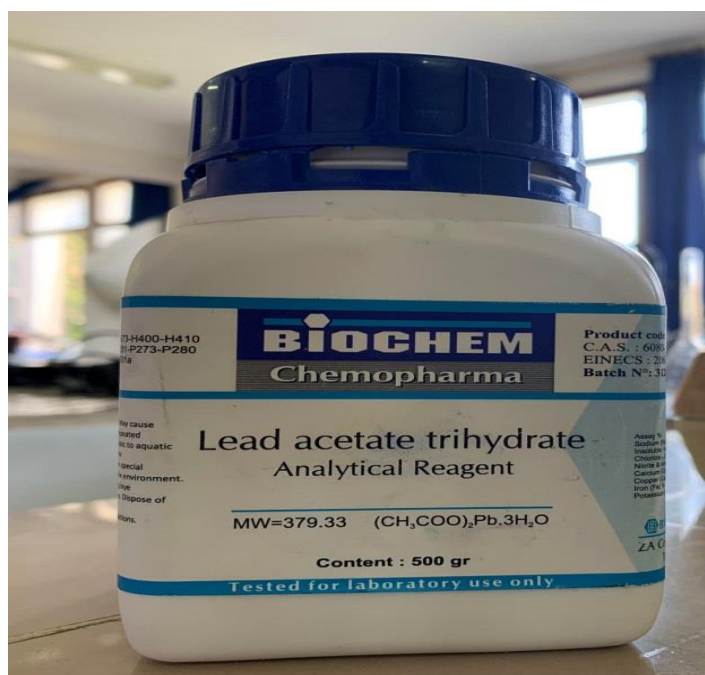


Figure 24 : Acétate de plomb trihydraté (Originale, 2024).

1.2. Matériels non biologiques

Afin de faciliter la réalisation de notre expérimentation, nous avons été équipés de tout le matériel nécessaire : Gant, bavettes, seringues, bistouri, cassettes, trousse de dissection, lames porte objet, lamelles, microtome, étuve, balance à précision, microscope optique et des réactifs biochimique (Bouin de Holland, hématoxyline, éosine, paraffine, xylène, éthanol)

2. Conception expérimentale

2.1. Période d'adaptation

Dans ce protocole expérimental, les souris *Mus Musculus* ont été hébergées dans l'animalerie du département de Biologie de la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Elles ont été maintenues dans des conditions uniformes de température et d'humidité, avec une ventilation adéquate. Les souris ont été placées dans des cages en polypropylène, tapissées de sciure de bois régulièrement renouvelée. Chaque cage était équipée d'une mangeoire et d'un biberon, permettant un accès libre à l'eau et à la nourriture administrée *ad libitum* avec un aliment sec granulé.

Les cycles de lumière et d'obscurité étaient régulés par un minuteur électrique, offrant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les souris ont été acclimatées à cet environnement pendant une semaine avant le début de l'expérience.

2.2. Traitement

Nous avons utilisé une approche expérimentale avec un groupe témoin et des groupes expérimentaux pour tester l'effet de l'acétate de plomb et de l'huile de Géranium sur la structure gonadique des souris mâles.

Les souris ont été réparties par groupes de six dans chaque cage, et marquées de différentes couleurs pour les identifier au cours de l'étude. Les lots se composent d'un lot témoin (lot T) de 6 souris mâles, injectées quotidiennement avec du sérum physiologique ; un lot expérimental 1 (lot LA1) de 6 souris mâles, injectées quotidiennement avec 20 mg d'acétate de plomb par kilogramme de poids corporel ; et un lot expérimental 2 (lot LA1 G1) de 6 souris mâles, injectées d'abord avec 20 mg d'acétate de plomb par kilogramme de poids corporel pendant une semaine, puis avec 100 µl d'huile de géranium par kilogramme de poids corporel pendant trois semaines.

Les souris sont pesées afin de déterminer la dose de l'injection des solutions de plomb et de Géranium pendant 28 jours, par voie intra péritonéale (Figure 25).



Figure 25 : Administration des traitements par voie intrapéritonéale (Originale, 2024).

2.3. Sacrifice et prélèvement d'organes

Les souris sont pesées puis sacrifiées par saignement. Le sang est recueilli puis centrifugé, le plasma obtenu est placé dans des eppendorfs puis sont mis en congélation pour des dosages hormonaux ultérieurs.



Figure 26 : Dissection et prélèvement d'organes (Originale, 2024).

La souris est ensuite disséquée (Figure 26), et les organes (Epididyme proximal et distal, testicules, prostate, vésicules séminales, reins) sont prélevés, puis débarrassés de leurs tissus adipeux et pesés séparément.

3. Etude histologique

Les étapes de l'étude histologique sont

3.1. Fixation

La fixation est un traitement chimique ou physique des cellules vivantes qui permet d'effectuer certaines manipulations ultérieures avec un minimum de dommages à la structure cellulaire. Cela permet notamment de les conserver dans un état le plus proche possible du vivant.

Nous avons placé les organes prélevés dans des cassettes d'inclusion identifiants les échantillons, puis immergés totalement dans un volume de « Bouin Hollande », trois fois plus supérieur à celui des organes.

3.2. Déshydratation et éclaircissement

Les organes sont déshydratés dans une série de bains d'alcool éthylique à titre croissant (70°, 90°, 100°) durant 1 heure chacun, ceci permet d'éviter la désorganisation des structures, puis transférés dans des bains de xylène pendant 1 heure permettant l'éclaircissement des échantillons (Figure 27).



Figure 27 : Déshydratation et éclaircissement des organes (Originale, 2024).

3.3. Imprégnation

L'imprégnation est effectuée grâce à une étuve réglée à une température de 60° C. Cette étape consiste à imprégner les cassettes dans 2 bains de paraffine pendant 1 heure chacun.

3.4. Mise en bloc

La paraffine est coulée dans un petit moule en métal légèrement préchauffée (Figure 28), puis l'organe y est disposé et orienté, afin de produire des blocs en cassettes. Le moule est mis en congélation pendant 15 minutes permettant ainsi le durcissement de la paraffine.



Figure 28 : Mise en bloc (Originale, 2024).

3.5. Confection des coupes histologiques

Des coupes d'une épaisseur de $5\mu\text{m}$ d'épaisseur, disposées en séries régulières sous forme de ruban sont réalisées à l'aide d'un microtome de type Leica (Figure29). Les sections sont placées sur de l'eau gélatinisée, puis récupérées sur des lames portes objet préalablement étiquetées.

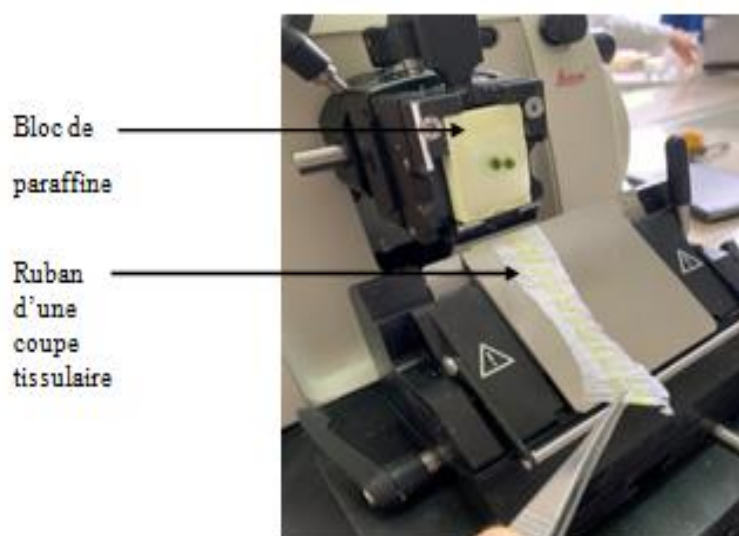


Figure 29 : photographie représentant la confection des coupes histologiques (Originale, 2024)

3.6. Coloration

La coloration hématoxyline/éosine (Figure 30) est une coloration d'usage technique couramment utilisée en histologie et en histopathologie. Elle permet de visualiser la morphologie des cellules afin de déterminer leur répartition, architecture et structure. C'est la plus simple technique combinée qui s'effectue avec deux colorants (bichromatique).

Cette technique fait agir successivement par :

- Passage des lames préalablement déparaffinées et réhydratées dans un bac contenant l'hématoxyline de Harris (2 à 3min).
- Rinçage à l'eau courante (5 min).
- Immersion des lames dans un bac d'éosine (2min).
- Les lames colorées ont été soumises successivement dans 3 bacs d'éthanol à des concentrations croissantes (70%, 96%, 100%) permettant la déshydratation des coupes histologiques, suivi de deux bains de xylènes 2 minutes chacun.
- Montage des lames.

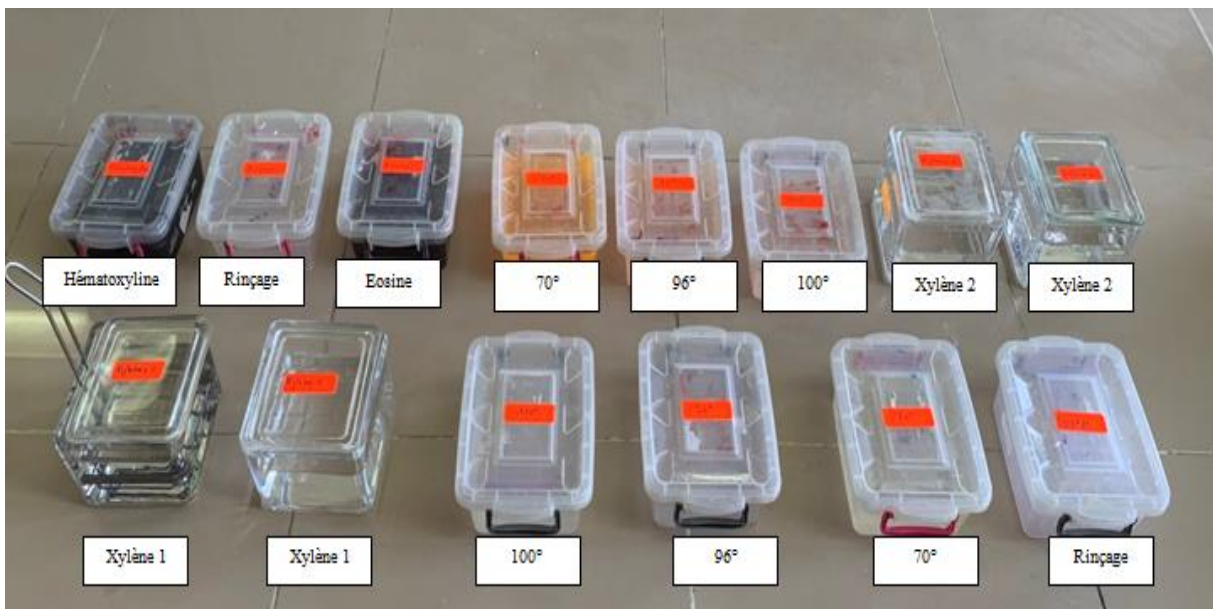


Figure 30 : Photographie d'une série d'une coloration topographique (originale, 2024).

3.7. Observations des coupes

Après le montage, les lames sont séchées, puis analysées à l'aide d'un microscope optique de type LEICA (Figure 31), avec deux grossissements 100 (G10x10) et 400 (G40x10), afin d'étudier et de rechercher des modifications histologiques des échantillons étudiés.



Figure 31 : Observation des lames colorées au microscope optique (originale, 2024).

4. Étude statistique

Les données obtenues, à savoir les poids corporels des animaux, les poids vifs ainsi que les poids relatifs des testicules, épididymes, et de la prostate ont été analysées par le test d'ANOVA au moyen du logiciel R version 4.4.0 destiné aux statistiques et à la science des données.

Les résultats obtenus sont représentés graphiquement et sous forme de moyenne \pm ESM. L'analyse des données statistiques a été déterminée à l'aide d'un logiciel statistique « R » et la valeur des probabilités « p » :

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

Chapitre III :
Résultats et
discussions

Les résultats rapportés dans ce travail concernant l'effet de l'acétate de plomb et de l'huile essentielle de Géranium sur les paramètres macroscopiques (poids corporel, poids des organes et poids relatif des organes) ainsi que les paramètres microscopique (histologique) des souris mâle *Mus Musculus*.

1. Résultats de l'étude macroscopique :

Les souris ont été pesées durant toute l'expérimentation, ce qui a permis de suivre leurs évolutions pondérales.

1.1. Poids corporel

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

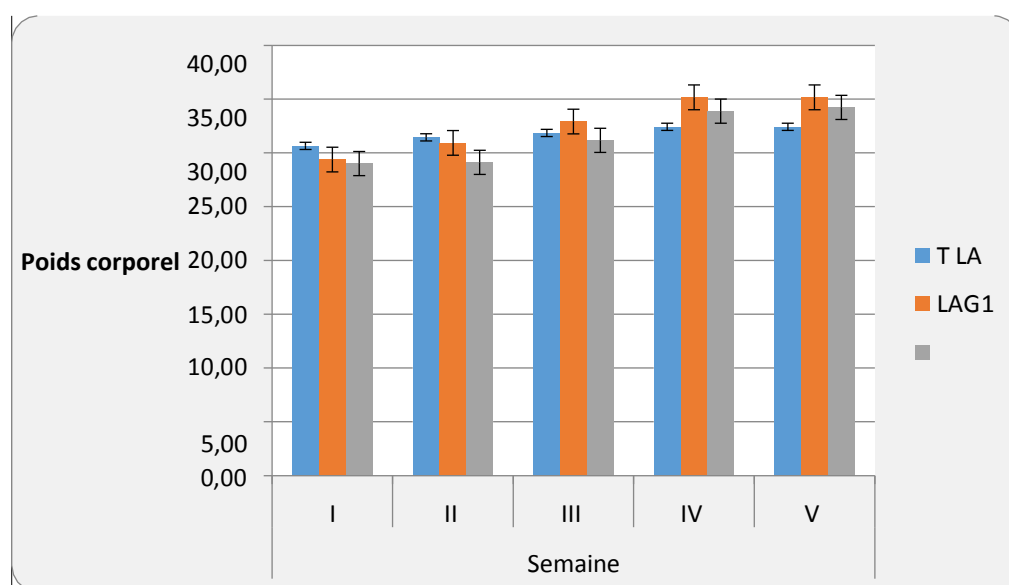


Figure 32 : Représentation graphique des variations du poids corporel moyens (g) des 3 groupes en fonction du temps. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **LA** : souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

L'évolution du poids corporel des souris témoins augmente légèrement en fonction du temps allant de la valeur de $30,66 \pm 0,473$ g au début de l'expérimentation à la valeur $32,44 \pm 1,240$ g à la fin de l'expérimentation. Le poids corporel des souris traité à l'acétate de plomb et les souris du lot LAG1 augmente progressivement avec le temps dont la valeur du

poids des souris du lot LA passe de $29,39 \pm 0,871$ g à $35,17 \pm 0,592$ g et du lot LAG1 passe de $29,02 \pm 0,365$ g à $34,24 \pm 0,964$ g. L'analyse statistique de ces valeurs montre une valeur hautement significative ($p < 0,001$).

1.2. Variation pondérale des organes reproducteurs

1.2.1. Poids testiculaire total

Le poids testiculaire totale des testicules des souris témoins, souris traitées à l'acétate de plomb et des souris traitées à l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium est présenté dans la figure 33.

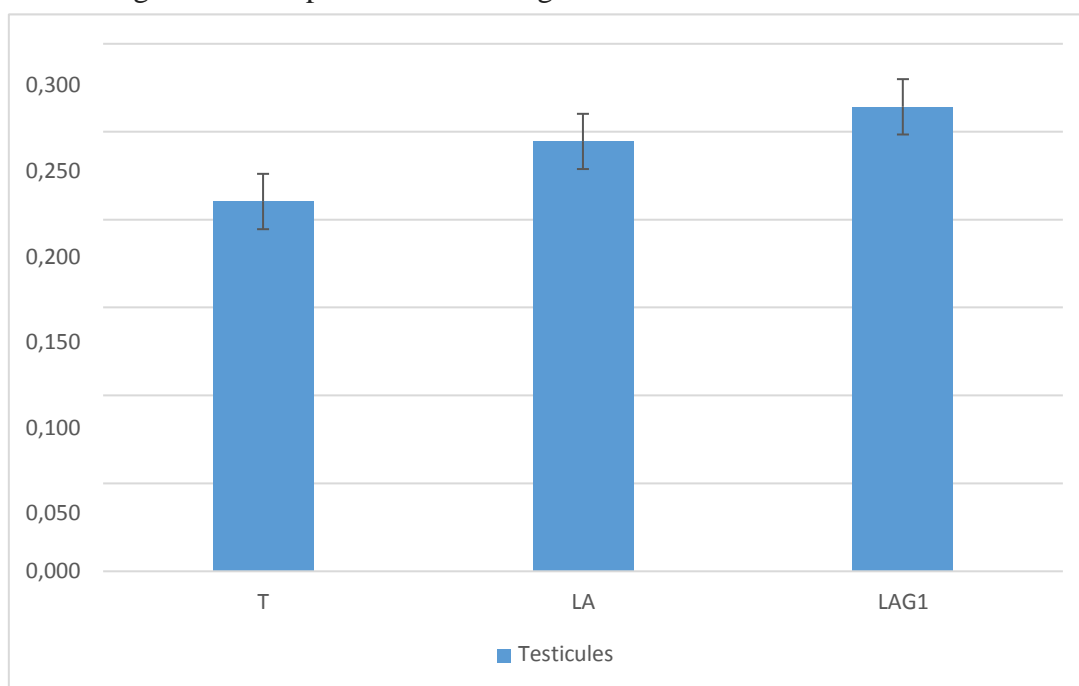


Figure 33 : Représentation graphique du poids total des testicules de souris. **T** : souris témoin recevant de l'eau physiologique ; **LA** : souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium

Les variations du poids testiculaire total exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard lié à la moyenne (ESM), varie entre les différents lots. En effet la valeur la plus élevée est obtenus chez les souris prétraitée avec l'acétate de plomb et suivi d'un traitement avec l'huile de géranium ($0,264 \pm 0,012$ g) par rapport à ceux enregistrés chez les souris du lot LA ($0,245 \pm 0,012$ g), et du témoin ($0,210 \pm 0,013$ g). Cependant ces variations présentent une valeur significative ($p < 0,05$).

1.2.2. Poids épидидymaire total

Le poids total des épидидymes sont illustrés dans la figure 34

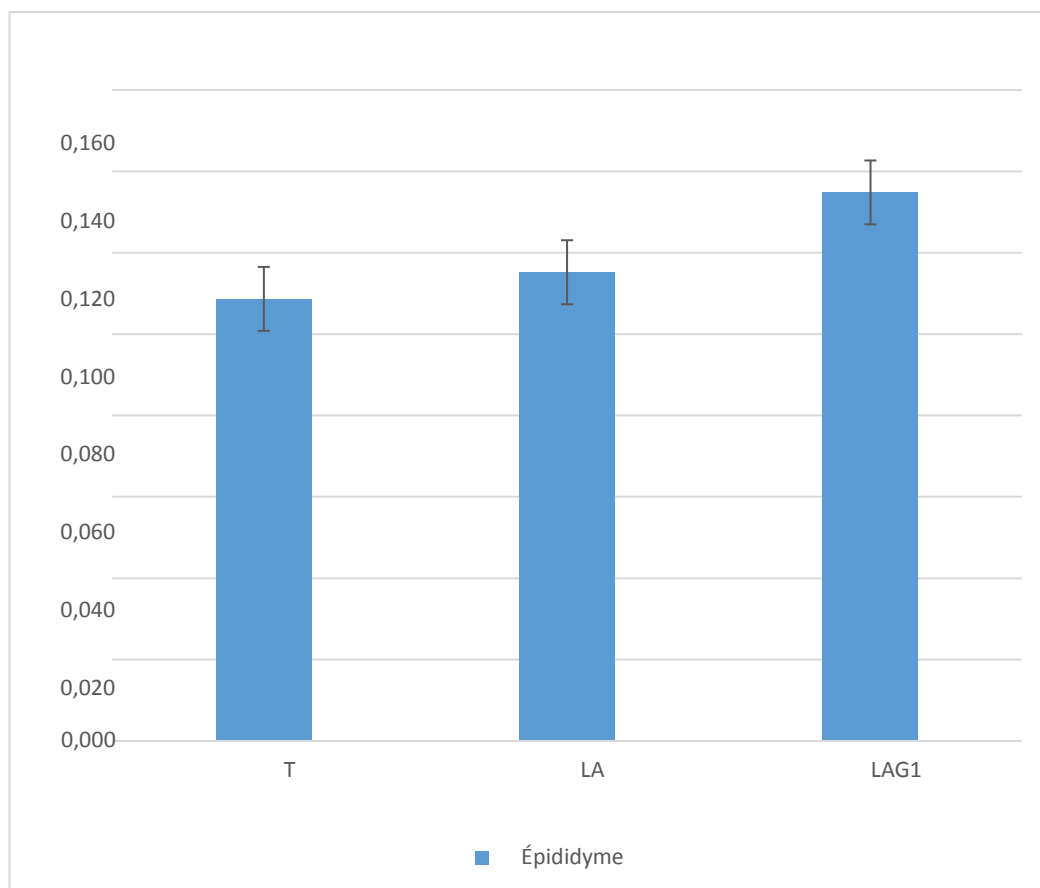


Figure 34 : Représentation graphique du poids total des épидидymes des souris. **T :** souris témoins recevant de l'eau physiologique ; **LA :** souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1 :** souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

Les poids moyens totaux des épидидymes des souris du lot LAG1 ($0,135 \pm 0,008g$), et sont supérieurs par rapport à ceux des lots LA ($0,115 \pm 0,015g$) et lot témoin ($0,109 \pm 0,007g$). Cependant il n'y a aucune différence significative ($p > 0,05$).

1.2.3. Poids total des vésicules séminales

Le poids total des vésicules séminales sont illustrées dans la figure 35.

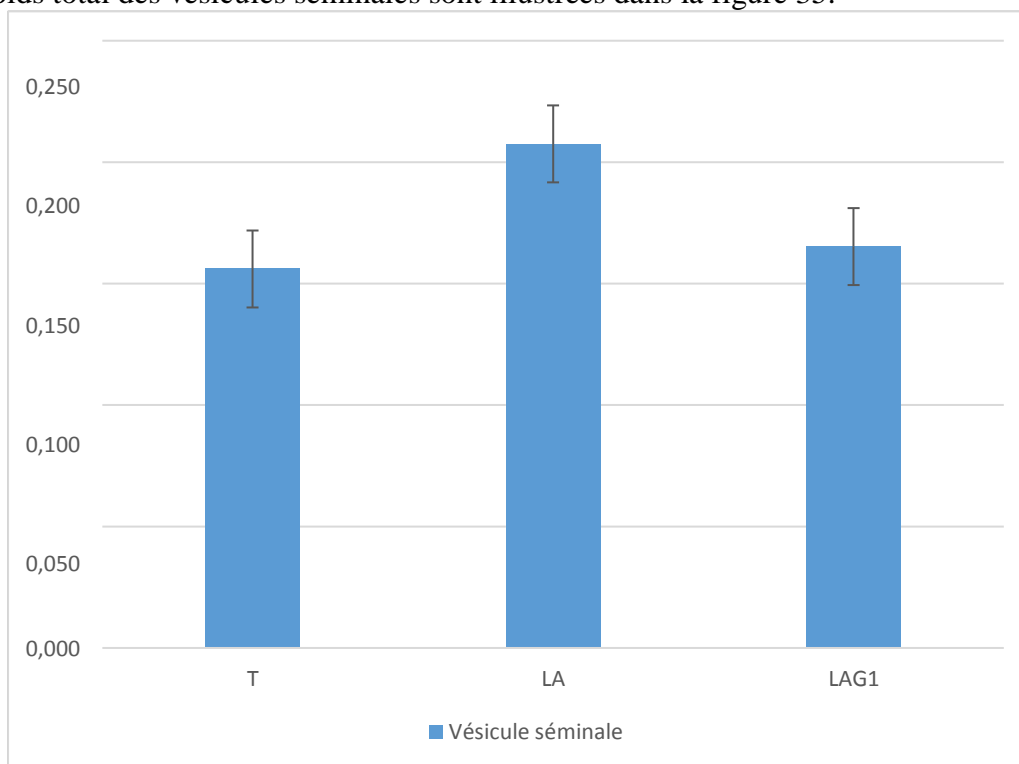


Figure 35 : Représentation graphique du poids total des vésicules séminales chez les souris.

T : souris témoins recevant de l'eau physiologique ; **LA :** souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1 :** souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

Les poids moyens totaux des vésicules séminales des souris qui ont reçus une injection intrapéritonéale de l'acétate de plomb ($0,208 \pm 0,027\text{g}$), sont supérieur par rapport à ceux du lot LAG1 ($0,165 \pm 0,019\text{g}$) et du lot témoin ($0,156 \pm 0,014\text{g}$). Cependant l'étude statistique de ces valeurs n'a révélé aucune différence significative.

1.2.4. Poids de la prostate

Les poids de la prostate sont illustrés dans la figure 36.

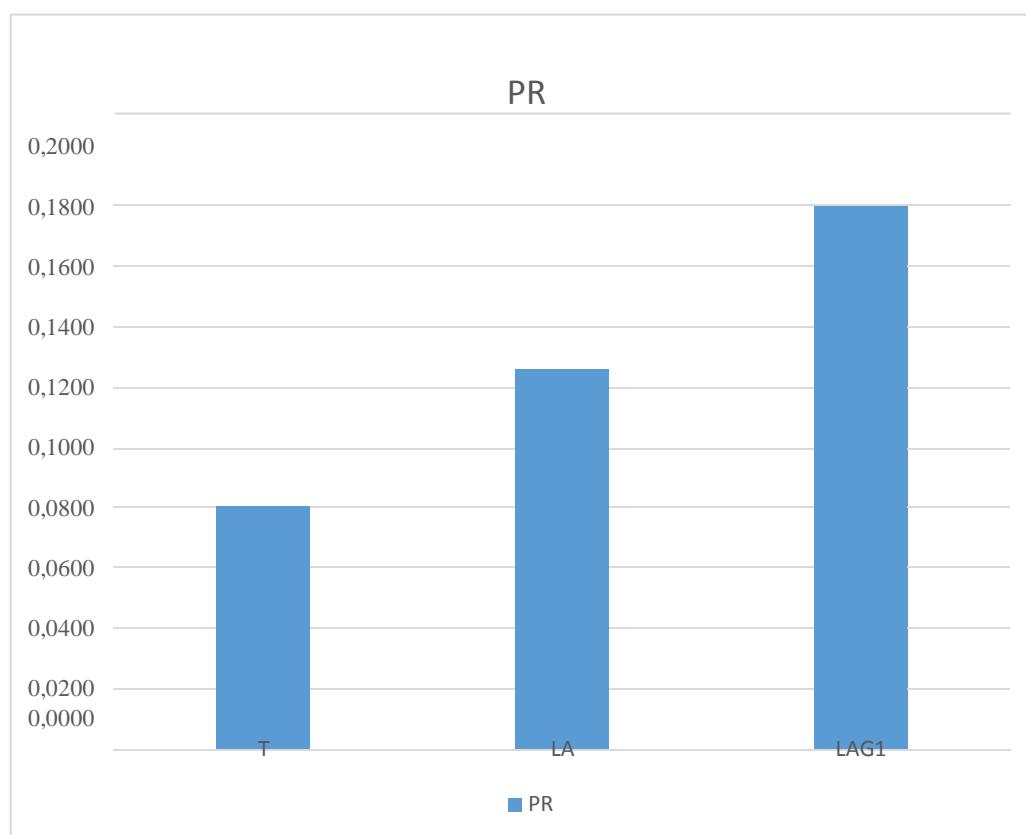


Figure 36 : Représentation graphique des poids de la prostate chez les souris. **T** : souris témoins recevant de l'eau physiologique ; **LA** : souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

Les résultats montrent une augmentation significative du poids de la prostate chez les souris du groupe LAG1, sa valeur elle est de $0,1803 \pm 0,0160$ g elle est plus élevée par rapport au deux autres lots, l'étude statistique a montré une différence très hautement significative ($p < 0,05$).

1.3. Poids relatif des organes

1.3.1. Poids relatif testiculaire

Le poids relatif des testicules est illustré dans la Figure 37.

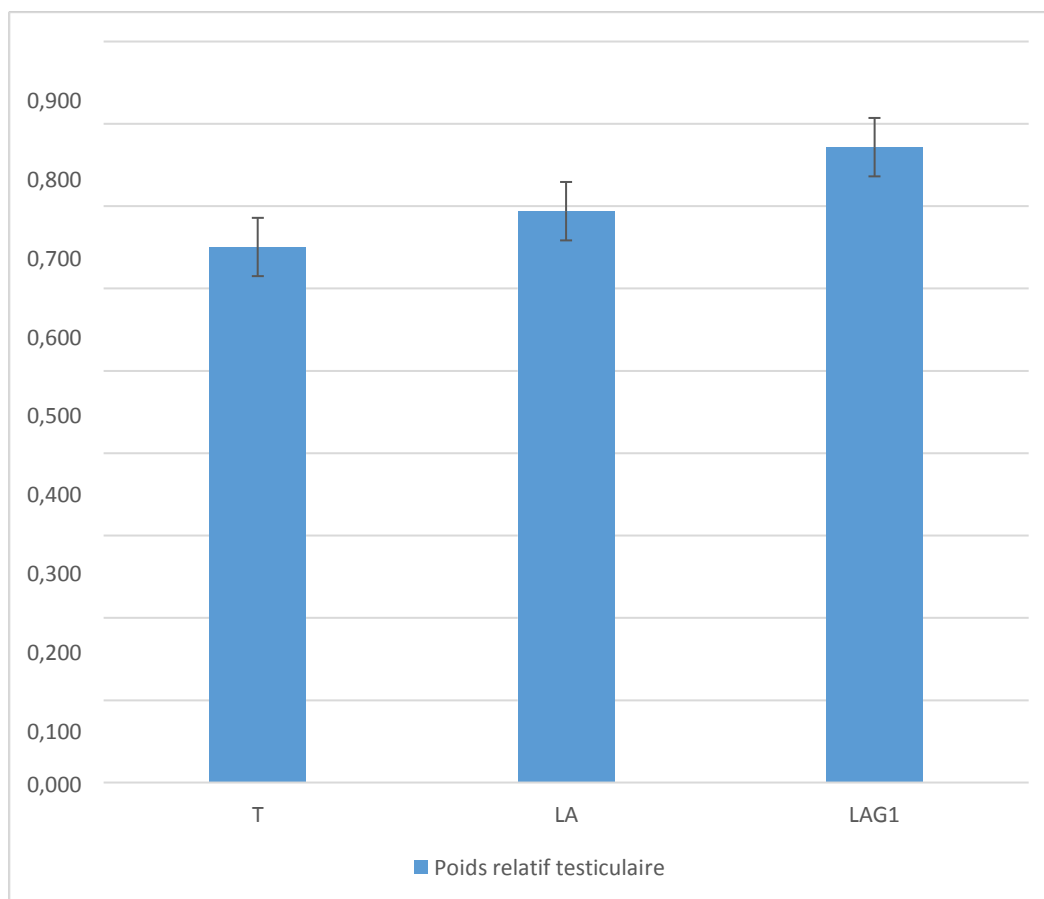


Figure 37 : Représentation graphique des poids relatifs testiculaire chez les souris. **T** : souris recevant de l'eau physiologique ; **LA** : souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

Le poids relatif testiculaire chez la souris traitée à l'acétate de plomb est légèrement plus élevé ($0,694 \pm 0,025g$), par rapport au lot témoins ($0,650 \pm 0,040g$), en effet la valeur la plus élevée est obtenus chez les souris LAG1 ($0,772 \pm 0,030g$) cependant ces valeurs présentent une différence significative ($p < 0,05$).

1.3.2. Poids relatif épидидymaire

Le poids relatif des épидидymes est illustré dans la Figure 38.

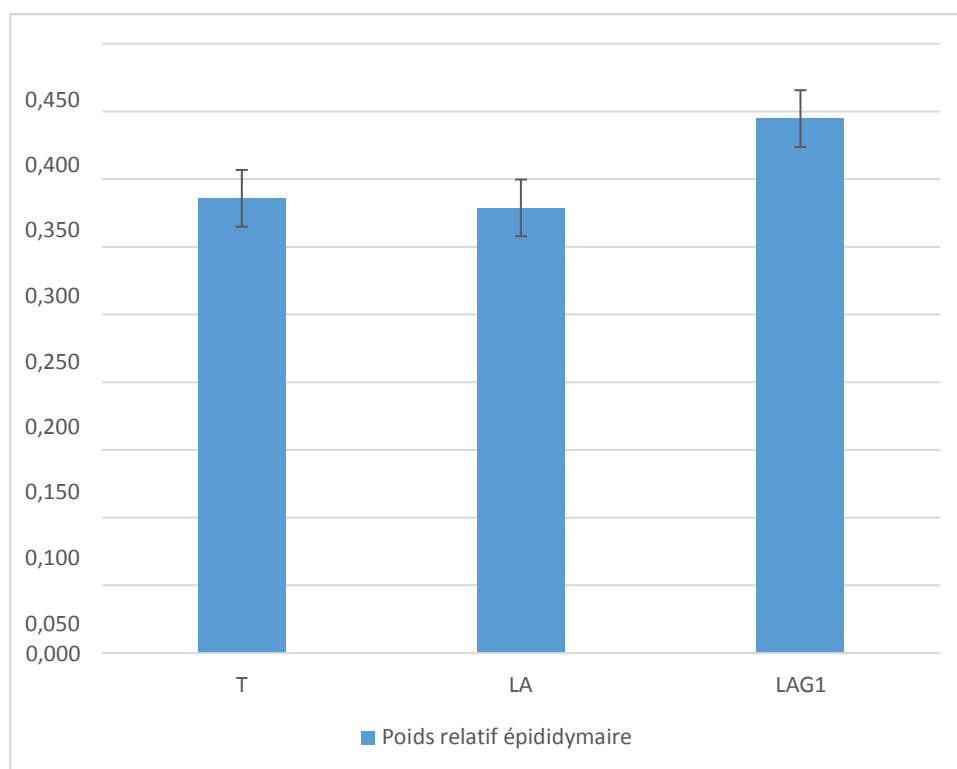


Figure 38 : Représentation graphique des poids relatif épидидymaires chez les souris. **T :** souris témoins recevant de l'eau physiologique ; **LA :** souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1 :** souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

La valeur moyenne des poids relatifs des épидидymes chez les souris témoins est légèrement plus élevée ($0,336 \pm 0,020g$), par rapport au lot des souris traitées à l'acétate de plomb ($0,329 \pm 0,044g$), tandis qu'une augmentation significative est marquée chez les souris prétraitée a l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium ($0,395 \pm 0,026g$). Ces valeurs ne présentent aucune différence significative ($p > 0,05$).

1.3.3. Poids relatif des vésicules séminales

Le poids relatif des vésicules séminales est représenté dans Figure 39.

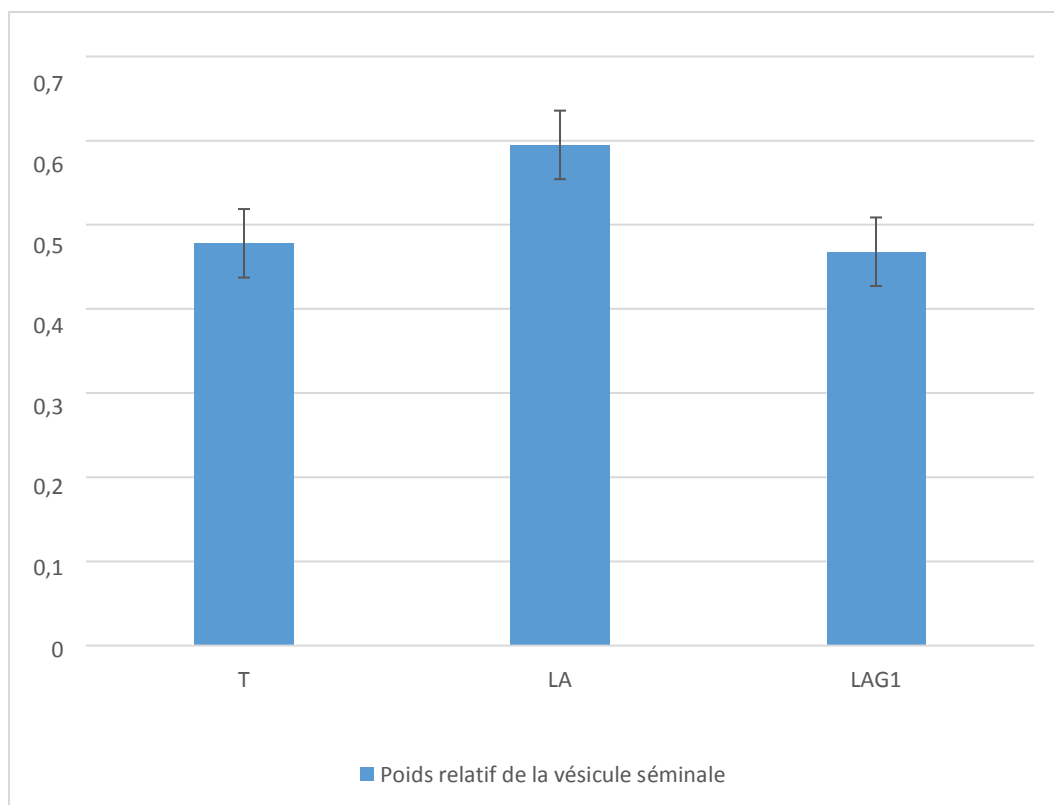


Figure 39 : Représentation graphique des poids relatif des vésicules séminales chez les souris. **T** : souris témoins recevant de l'eau physiologique ; **LA** : souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1** : souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

La comparaison des poids relatifs des vésicules séminales entre les différents lots montre une augmentation chez les souris traitées à l'acétate de plomb ($0,595 \pm 0,087g$), tandis que le poids relatif des souris témoins et des souris du lot LAG1 sont presque identiques. L'étude statistique de ces valeurs n'a révélée aucune différence significative ($p > 0,05$).

1.3.4. Poids relatif des prostates

Le poids relatif des prostates est représenté dans la Figure 40.

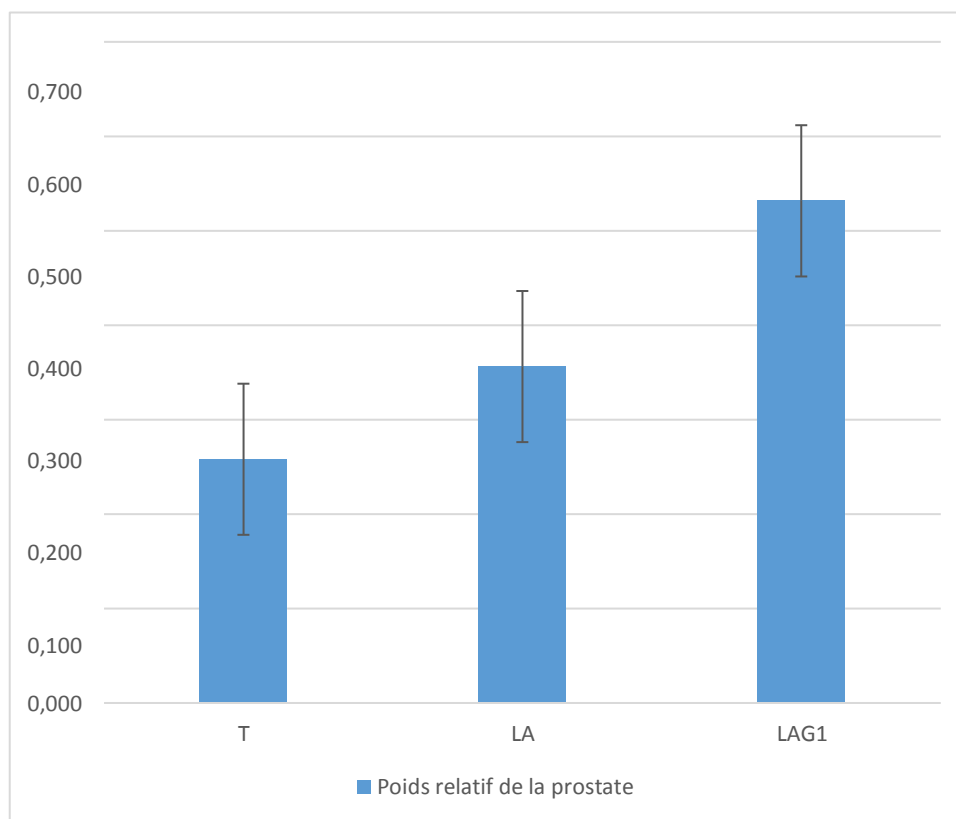


Figure 40 : Représentation graphique de poids relatifs des prostates chez les souris.

T : souris témoins recevant de l'eau physiologique ; **LA :** souris traitées avec l'acétate de plomb ; **LAG1 :** souris prétraitées avec l'acétate de plomb suivi d'un traitement avec l'huile essentielle de géranium.

La valeur moyenne des poids relatifs de la prostate est plus élevée chez les souris traitées à LAG1 dont la valeur est de $0,532 \pm 0,0569g$, par rapport au groupe témoin et au groupe traitée à l'acétate de plomb, avec une différence très hautement significative ($p < 0,05$).

2. Résultat de l'étude microscopique

L'étude microscopique porte sur les changements histologiques du testicule des souris *Mus Musculus* traitées à l'acétate de plomb et l'huile essentielle de Géranium.

2.1. Etude histologique testiculaire

2.1.1. Etude histologique des testicules des souris témoins

La figure 41 montre une observation microscopique a fort grossissement (G40×10) d'une coupe histologique au niveau du testicule des souris appartenant au groupe témoins.

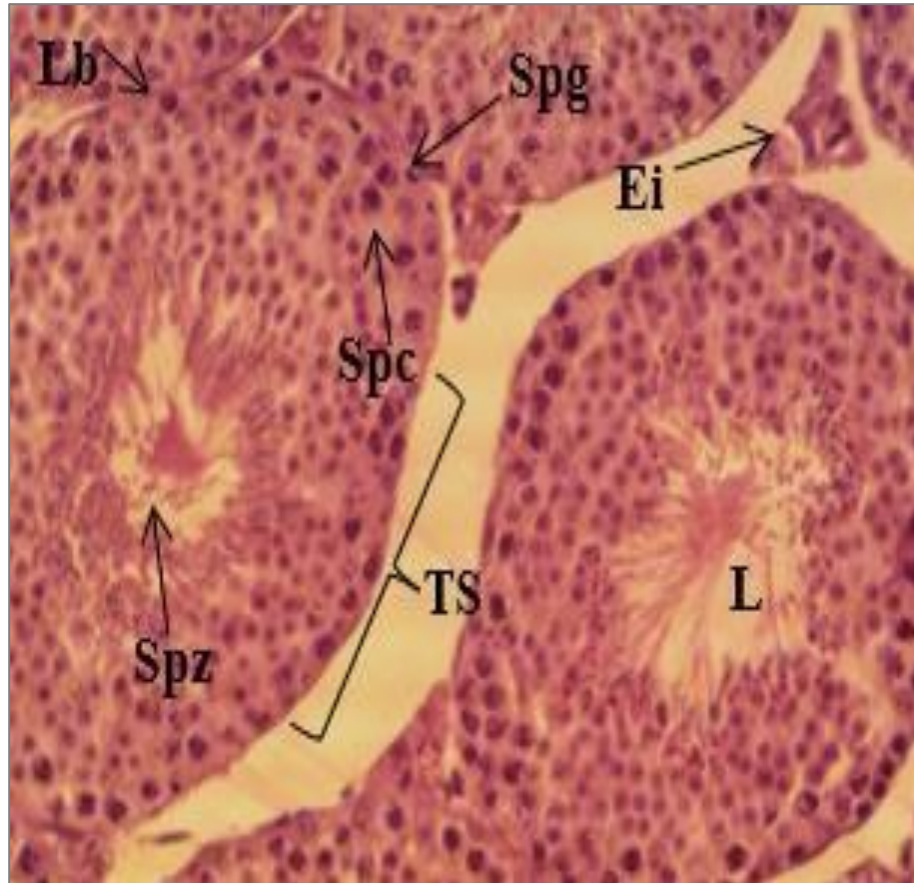


Figure 41 : Dessin d'une coupe histologique transversale du testicule d'une souris témoin observée sous microscope photonique au grossissement (40 ×10). **L** : Lumière ; **Ts** : tube séminifère ; **Spg** : spermatogonie ; **Spc** : spermatocyte ; **Lb** : lame basale ; **Ei** : espace interstitiel contenant des cellules de Leydig ; **Spz** : spermatozoïde.

L'observation au fort grossissement (40 ×10) des coupes histologiques des testicules témoins révèle une architecture organisée en deux grands compartiments : tubulaires appelé les tubes séminifères, et inter-tubulaires également nommé interstitium. Les tubes séminifères sont bordés d'un épithélium germinale stratifié, formé d'une mosaïque cellulaire incluant les

différents stades de la spermatogenèse à savoir : les spermatogonies, les spermatocytes, les spermatides et les spermatozoïdes. Dans l'espace péri-tubulaires sont logés des amas de cellules endocrinocytes cellule de Leydig.

2.1.2. Etude histologique des testicules des souris traitées par l'acétate de plomb

Afin de confirmer la présence d'altération avec le groupe témoin.

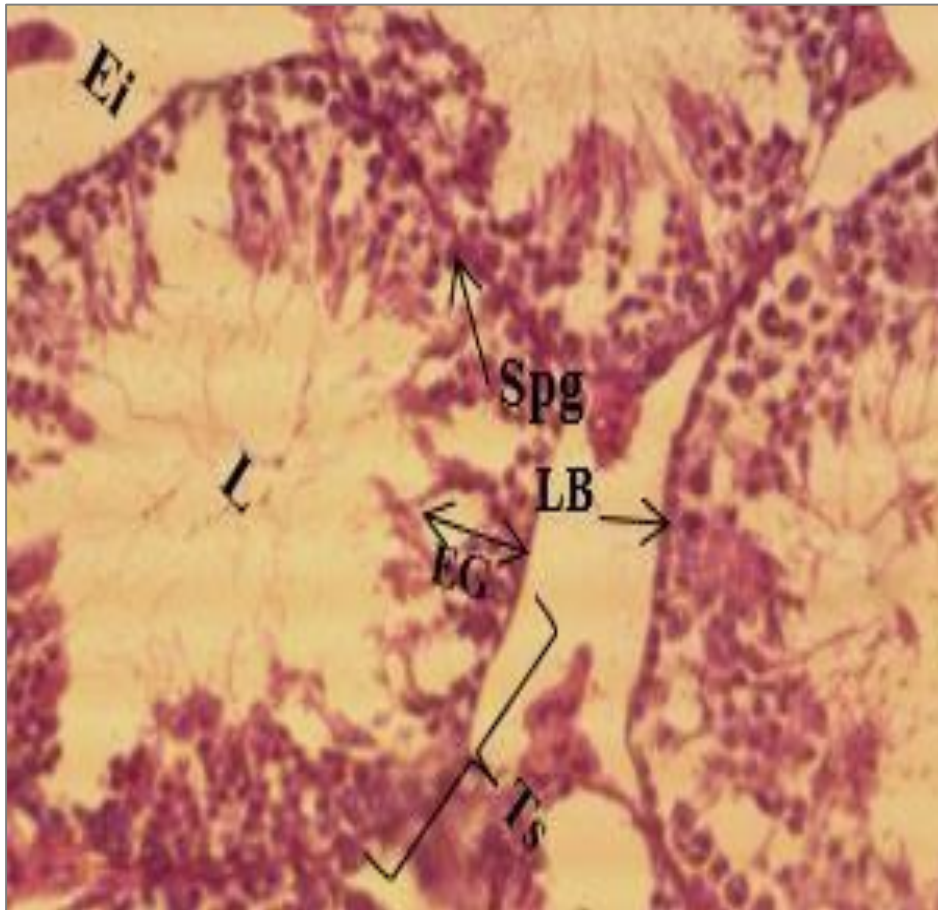


Figure 42 : Dessin d'une coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitée à l'acétate de plomb après coloration hématoxyline-éosine observé sous microscope photonique au grossissement (40 ×10). **L :** Lumière ; **Ts :** tube séminifère ; **Spg :** spermatogonie ; **Ei :** espace interstitiel contenant des cellules de Leydig ; **LB :** lame basale ; **EG :** épithélium germinatif désorganisé.

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

2.1.3. Etude histologique des testicules des souris traitées par l'acétate de plomb suivis par un traitement quotidien à l'huile de géranium

L'effet de l'huile essentielle de géranium dans le traitement des lésions causées par une injection intra-péritonéale d'acétate de plomb, est illustré dans la figure 43.

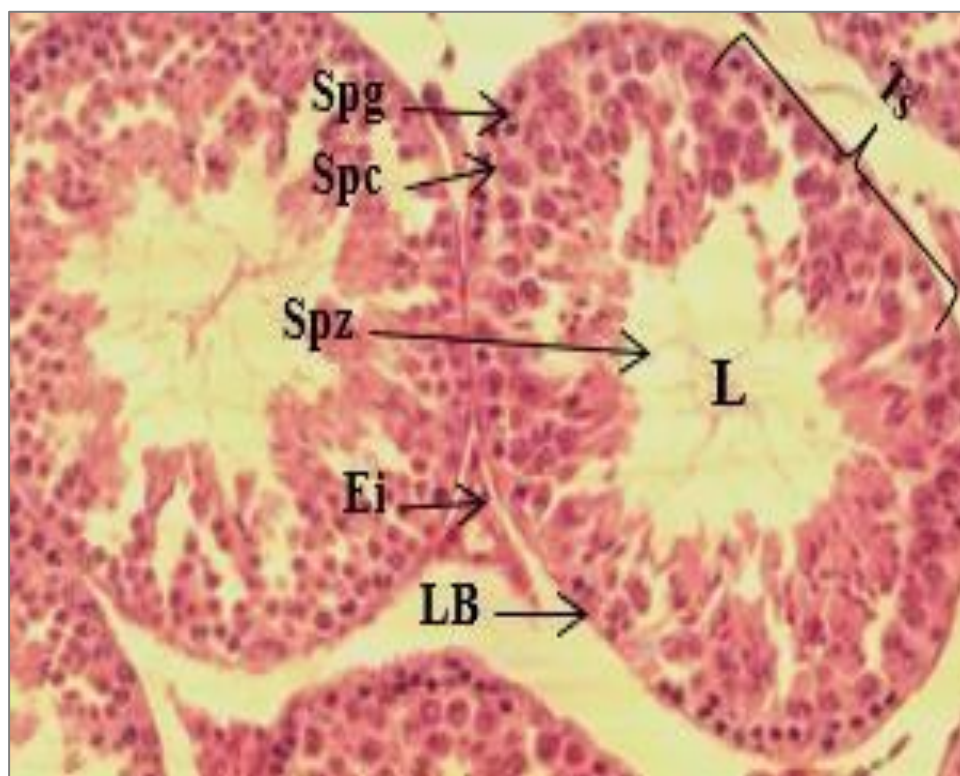


Figure 43 : Dessin de la coupe histologique transversale du testicule d'une souris traitée à l'acétate de plomb ensuite à l'huile de géranium après coloration hématoxyline-éosine observé au microscope photonique au grossissement (40 ×10). **L** : Lumière ; **Ts** : tube séminifère ; **Spg** : spermatogonie ; **Spc** : spermatocyte ; **LB** : lame basale ; **Spz** : spermatozoïde.

L'observation a fort grossissement (40 ×10) de coupes histologiques de testicules de souris appartenant au groupe LAG1, a montré une organisation comparable aux structures des tubes séminifères des souris témoins notamment la reprise du processus de spermatogenèse.

3. Discussion des résultats

3.1. Résultats macroscopiques

Dans notre étude, les résultats montrent une différence significative du poids corporel et du poids des organes sexuels dont les testicules, étudiés chez le groupe de souris traité avec l'acétate de plomb, chez le groupe traité avec l'acétate de plomb suivi de l'huile de géranium, par rapport au groupe témoin. Ces résultats corroborent les travaux de Abu-Khudir et *al.*, (2023), qui ont montré que l'administration de 100mg/kg de poids corporel d'acétate de plomb à des rats mâles Wistar pendant 30 jours, entraîne une augmentation hautement significative du poids corporel final de ces animaux. L'étude de Dkhil et *al.*, (2016), ont montré que l'administration de l'acétate de plomb à une dose de 20 mg/kg de poids corporel induit des augmentations significatives du poids testiculaire et du poids testiculaire relatif par rapport au groupe témoin.

Cependant, ils contredisent les conclusions de El-Sayed et El-Neweshy (2010), qui leurs données ont révélées après une exposition chronique à une faible dose (0.1%) de l'acétate de plomb que le poids final du corps, des testicules et de l'épididyme à la fin de l'expérience ne différaient pas significativement avec le groupe témoin de rats. De même, Shan et *al.*, (2009) ont constaté qu'après l'administration de 20 mg/kg de poids corporel d'acétate de plomb pendant 6 semaines, il n'y a eu aucun changement significatif du poids corporel et du poids testiculaire.

Les travaux de Ahmed et *al.*, (2021) ont montré une baisse significative de poids corporel et de poids testiculaire et épидидymaire après administration de 100mg/kg de poids corporel d'acétate de plomb. Des études similaires de Haouas et *al.*, (2015) ont montré que le poids absolu et relatif des testicules ont diminués ainsi que le poids corporel des rats traités avec 2g/L d'acétate de plomb, de même pour le poids épидидymaire qui, selon El-Magd et *al.*, (2016), diminue chez les animaux traités avec 50 mg/L d'acétate de plomb. Les poids corporels, ainsi que les poids de prostate, vésicules séminales, épидидymes, testicules ont baissés significativement, après une administration de 30mg/kg de poids corporel d'acétate de plomb chez des rats mâles (Ibrahim et *al.*, 2021).

Concernant l'effet de l'huile essentielle de *Géranium Rosat* sur le poids corporel et testiculaire, une augmentation significative a été observée. Selon une étude de Hajri et *al.* (2016), il a été démontré que le gain de poids a considérablement diminué chez les rats diabétiques induits par l'alloxane par rapport aux rats sains non diabétiques. Après l'administration de 42.5 ml/kg de poids corporel d'huile essentielle de géranium les rats diabétiques ont été protégés contre la perte du poids. Selon d'autres travaux, il a été montré que le poids corporel des rats mâles adultes traités à l'acétate de plomb a été réduit par rapport aux témoins, tandis que le poids corporel des animaux du groupe traité avec de l'acétate de plomb suivi de l'administration de huile de palme (1 et 2ml) a augmenté (Jegade et *al.* 2015). Une étude similaire a montré une diminution du poids corporel chez le groupe d'animaux injectés à l'acétate de plomb, après l'administration d'huile de lin (0,3 ml une fois par jour pendant 5 jours à une dose de 1000 mg/kg de poids corporel) le poids corporel chez les rats a été restauré (Moniem et *al.* 2010).

3.2. Résultats microscopiques

La comparaison des coupes histologiques des testicules des souris traitées à l'acétate de plomb avec les souris témoins a révélé la présence de profondes altérations qui consiste en un élargissement de l'espace interstitiel, une perturbation de processus de spermatogenèse au niveau de l'épithélium germinatif et une réduction du nombre des cellules germinales avec une lumière très large et dépourvus de spermatozoïdes. Ces résultats sont similaires avec celles de Haouas et *al.* (2015) où il a été démontré que le plomb a induit une perturbation de la spermatogenèse, l'épithélium germinal est devenu simple, une absence de cellules de Sertoli entre les cellules germinales dans les parois détruites, avec une séparation complète entre la paroi des tubules séminifères et leur lame basale qui est devenue épais et irrégulier. Ils ont également constaté que le nombre de spermatogonies, de spermatocytes I et surtout de spermatides a fortement diminué, avec une agglutination des cellules de Leydig autour des vaisseaux sanguins. Une nécrose s'est produite sévèrement dans les testicules chez les rats traités avec 100, 75 et 50 mg/kg d'acétate de plomb (Nkechi et Bright 2015).

Les coupes histologiques des testicules de souris appartenant au groupe LAG1, a montré une organisation comparable aux structures des tubes séminifères des souris témoins notamment la reprise du processus de spermatogenèse. Chez un groupe traité à l'acétate de

plomb (100µl de 20mg/kg), le testicule a montré une structure anormale des tubules séminifères avec des changements dégénératifs vacuolaires apparaissant dans le cytoplasme de l'épithélium spermatogène et une absence de cellules germinales de stade avancé. Ces changements dégénératifs causés par l'acétate de plomb sont sauvés de façon significative après le traitement des rats avec de l'huile de lin (Moniem et *al.* 2010). L'étude de Ramah et *al.* (2015) a montré que l'administration de l'acétate de plomb suivi d'huile de graines de citrouille n'a montré aucune altération histologique au niveau gonadique.

Des souris exposées au deltaméthrine présentaient des changements histopathologiques sévères dans les testicules tels que les tubules séminifères atrophiés, ces tubules affectés étaient tapissés par moins de cellules spermatogéniques. De plus une apparition de cellules géantes multi nucléées, vacuolisation dans les cellules de Sertoli et une absence de cellules germinales. Cependant, l'administration d'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* et de vitamine E au groupe traité au deltaméthrine a réduit les altérations histopathologiques dans les testicules. Ces derniers ont montré une structure histologique normale, les tubules séminifères présentés une spermatogenèse complète et une augmentation dans les spermatozoïdes à l'intérieur de la lumière des tubes séminifères. L'administration d'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* exerce un fort effet protecteur contre les dommages oxydatifs des protéines dans les testicules induite par la toxicité de la deltaméthrine (Ben Slima et *al.*, 2013).

Conclusion

Conclusion

Les travaux de recherche entrepris au cours de ce projet auront permis de mettre en évidence l'efficacité de l'huile essentielle de géranium dans l'amélioration de la fonction testiculaire contre la toxicité induite par l'acétate de plomb.

Sur le plan corporel, une variation hautement significative des poids corporels et testiculaires a été enregistré au sein des trois lots (témoins, acétate de plomb, acétate de plomb suivi de l'huile essentielle de géranium rosat).

Sur le plan histologique nous avons constaté que l'acétate de plomb avait des effets toxiques sur le testicule qui se présente par des altérations de l'architecture épithéliale, notant la diminution de la surface des tubes séminifères, un ralentissement du processus de spermatogénèses, un élargissement de l'espace interstitielle et une quasi absence de spermatozoïdes.

Concernant le traitement à l'huile essentielle de géranium nous avons constaté au niveau testiculaire une architecture normale des tubules séminifères, une spermatogénèse normale et complète.

A la lumière des résultats obtenus on peut conclure que l'huile essentielle de géranium rosat contribue à l'amélioration de la fertilité masculine.

Il serait intéressant d'approfondir d'avantage nos recherches sur les effets de l'acétate de plomb sur l'appareil reproducteur et ces résultats sur l'effet positif de l'huile essentiel de géranium rosat sur la structure gonadique des souris mâles laissent entrevoir différentes perspectives, la première est d'étudier les variations hormonales (testostérone, FSH, LH). La deuxième est d'identifier des biomarqueurs spécifiques associés à la toxicité du plomb et à la protection de l'huile de géranium.

Enfin il serait intéressant d'élargir l'étude avec l'utilisation des doses plus élevées de cette huile essentielle.

Références
Bibliographiques

- **Aboughe Angone, S., Aworet Samseny, R. R. R., et Eyele Mve Mba, C. (2015).** Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. *Phytothérapie*, 13(5), 283-287.
- **Abu-Khudir, R., Almutairi, H. H., El-Rahman, S. S. A., et El-Said, K. S. (2023).** The Palliative and Antioxidant Effects of Hesperidin against Lead-Acetate-Induced Testicular Injury in Male Wistar Rats.
- **Ahmed, H. A., Ali, H. A., et Mutar, T. F. (2021).** Protective effects of olive leaf extract against reproductive toxicity of the lead acetate in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(44), 63102-63110.
- **Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., et Anwar, F. (2015).** Essential oils used in aromatherapy : A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601-611.
- **AL-Mamari, S. A. (2023).** Anatomy of the Scrotum and Testicles. In S. A. AL-Mamari (Éd.), *Urogenital Trauma : A Practical Guide* (p. 355-370). Springer Nature.
- **AL-Megrin, W. A., Soliman, D., Kassab, R. B., Metwally, D. M., Ahmed E. Abdel Moneim, et El-Khadragy, M. F. (2020).** Coenzyme Q10 Activates the Antioxidant Machinery and Inhibits the Inflammatory and Apoptotic Cascades Against Lead Acetate-Induced Renal Injury in Rats. *Frontiers in Physiology*, 11, 64.
- **Ando, H., Ukena, K., et Nagata, S. (Éds.). (2021).** HANDBOOK OF HORMONES Comparative Endocrinology for Basic and Clinical Research (2e éd., Vol. 1). Elsevier Academic press.
- **Babar, A., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., et Anwar, F. (2015).** Essential oils used in aromatherapy : A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601-611.
- **Bacha, W. J., & Bacha, L. M. (2005).** Color atlas of veterinary histology (2. ed., [Nachdr.]). Lippincott Williams et Wilkins.
- **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., et Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- **Barraud-Lange, V., et Gille, A.-S. (2023).** Spermatogenèse. In *Protocoles cliniques de Port-Royal pour la prise en charge de l'infertilité* (1re éd., p. 13-20). Elsevier.
- **Ben Slima, A., Ali, M. B., Barkallah, M., Traore, A. I., Boudawara, T., Allouche, N et Gdoura, R. (2013).** Antioxidant properties of *Pelargonium graveolens* L'Her essential

oil on the reproductive damage induced by deltamethrin in mice as compared to alpha-tocopherol. *Lipids in Health and Disease*, 12(1), 30.

- **Bendayan, M., Alter, L., Swierkowski-Blanchard, N., Caceres-Sanchez, L., Selva, J., Robin, G., et Boitrelle, F. (2018).** Toxiques, mode de vie, environnement : Quels impacts sur la fertilité masculine ? *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*, 46(1), 47-56.
- **Boukhatem, M. N., Saidi, F., Hamaidi, M. S., Hakim, Y., et Mekarnia, M. (2011).** Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) en Algérie : État des lieux et perspectives. *Phytothérapie*, 9(5), 304-309.
- **Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., et Dakka, N. (2018).** Les huiles essentielles comme agents anticancéreux : Actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie*, 16, 254-267.
- **Britan, A., et Drevet, J. R. (2006).** Régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire des mammifères : État des lieux. *Andrologie*, 16(3), 197-228.
- **Castellini, C., Totaro, M., Parisi, A., D'Andrea, S., Lucente, L., Cordeschi, G., Francavilla, S., Francavilla, F., & Barbonetti, A. (2020).** Bisphenol A and Male Fertility : Myths and Realities. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 353.
- **Charlier, C., et Plomteux, G. (2002).** EFFETS PERTURBATEURS ENDOCRINIENS DES PESTICIDES ORGANOCHLORES : ENDOCRINE DISRUPTION AND ORGANOCHLORINES RESIDUES. *Acta Clinica Belgica*, 57(sup1), 2-7.
- **Cheng, C. Y., et Sun, F. (Éds.). (2021).** *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis* (Vol. 1381). Springer International Publishing.
- **Cole, L. A. (2016).** Human Male Spermatogenesis. In *Biology of Life* (p. 135-141).
- **Cornud, F., et Eiss, D. (2015).** Appareil génital masculin.
- **Cornwall, G. A. (2008).** New insights into epididymal biology and function. *Human Reproduction Update*, 15(2), 213-227.
- **Costanzo, L. S. (2018).** *Physiology* (Sixth edition).
- **Cunha, G. R., Sinclair, A., Ricke, W. A., Robboy, S. J., Cao, M., et Baskin, L. S. (2019).** Reproductive tract biology : Of mice and men. *Differentiation*, 110, 49-63.
- **Dadoune, J.-P. (1992).** Le transit epididymo-deferentiel. *Andrologie*, 2(2), 44-47.
- **De Grava Kempinas, W., et Klinefelter, G. R. (2015).** Interpreting histopathology in the epididymis. *Spermatogenesis*, 4(2), e979114.
- **De Kretser, D. M., Loveland, K., et O'Bryan, M. (2016).** Spermatogenesis. In *Endocrinology : Adult and Pediatric* (p. 2325-2353.e9).

- **Dewalque, L., et Charlier, C. (2012).** La fertilité masculine menacée par la présence de perturbateurs endocriniens dans l'environnement ? *Rev Med Liège*, 7.
- **Dixon, J. S., Jen, P. Y. P., & Gosling, J. A. (1998).** Structure and autonomic innervation of the human vas deferens : A review. *Microscopy Research and Technique*, 42(6), 423-432.
- **Dkhil, M. A., Moneim, A. E. A., et Al-Quraishy, S. (2016).** Indigofera oblongifolia Ameliorates Lead Acetate-Induced Testicular Oxidative Damage and Apoptosis in a Rat Model. *Biological Trace Element Research*, 173(2), 354-361. 0
- **Durairajanayagam, D. (2018).** Lifestyle causes of male infertility. *Arab Journal of Urology*, 16(1), 10-20.
- **Edris, A. E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents : A review. *Phytotherapy Research*, 21(4), 308-323.
- **El-Magd, M. A., Kahilo, K. A., Nasr, N. E., Kamal, T., Shukry, M., et Saleh, A. A. (2016).** A potential mechanism associated with lead--induced testicular toxicity in rats. 1-9.
- **Elmann, A., Mordechay, S., Rindner, M., et Ravid, U. (2010).** Anti-neuroinflammatory effects of geranium oil in microglial cells. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 17-22.
- **El-Sayed, Y. S., et El-Neweshy, M. S. (2010).** Impact of lead toxicity on male rat reproduction at "hormonal and histopathological levels". *Toxicological et Environmental Chemistry*, 92(4), 765-774.
- **Elshafie, H. S., et Camele, I. (2017).** An Overview of the Biological Effects of Some Mediterranean Essential Oils on Human Health. *BioMed Research International*, 2017, e9268468.
- **Esteves, S. C., et Miyaoska, R. (2015).** Chapter 34—Sperm Physiology and Assessment of Spermatogenesis Kinetics In Vivo. In *NuTRITIoN, LIFeSTyLe, aNd MaLe FeRTILITy*.
- **Eurell, J. A., et Frappier, B. L. (2006).** *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology* (6e éd.).
- **Evans, T. J., et Ganjam, V. K. (2017).** Reproductive Anatomy and Physiology. In *Reproductive and Developmental Toxicology* (p. 7-37).
- **Ghazi, A. M., et Millette, J. R. (1964).** Lead. In *Environmental Forensics* (p. 55-79).

- **Ghedira, K., et Goetz, P. (2015).** Géranium rosat : *Pelargonium graveolens* L'Hér. (Géraniaceae). *Phytothérapie*, 13(3), 197-201.
- **Goldstein, M., Schlegel, P. N., et Costabile, R. (2013).** Anatomy and physiology of the male reproductive system. In *Surgical and medical management of male infertility* (1re éd., p. 1-7).
- **Goodman, H. M. (2009).** *Basic medical endocrinology* (fourth ed). Academic Press.
- **Goonewardene, S. S., Brunckhorst, O., Albala, D., et Ahmed, K. (Éds.). (2022).** *Men's Health and Wellbeing*. Springer International Publishing.
- **Guérin, J.-F. (2016).** Chapitre 8—La spermatogenèse. In R. Frydman (Éd.), *Infertilité* (p. 59-64). Elsevier Masson.
- **Gunasegaran, J. P. (2014).** *Textbook of Histology and Practical guide* (2nd ed). Elsevier Health Sciences APAC.
- **Hajri, A., Selmi, S., Rtibi, K., Lamjed Marzouki, M., et Sebai, H. (2016).** Protective Effect of *Pelargonium graveolens* Essential Oil Against Alloxan-Induced Diabetes and Oxidative Stress in Rats. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 6(4), 299-314.
- **Haouas, Z., Zidi, I., Sallem, A., Bhourri, R., Ajina, T., Zaouali, M., et Mehdi, M. (2015).** Reproductive Toxicity of Lead Acetate in Adult male Rats : Histopathological and Cytotoxic Studies. 6(1).
- **Hardin-Pouzet, H., et Morosan, S. (2019).** Des souris, des rats et des hommes : En quoi les modèles rongeurs restent indispensables pour la production de connaissances. *médecine/sciences*, 35(5), 479-482.
- **Hess, R. A., et De Franca, L. R. (2009).** Spermatogenesis and Cycle of the Seminiferous Epithelium. In C. Y. Cheng (Éd.), *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis*
- **Hillers, K. J. (2017).** Meiosis. *WormBook*, 1-43.
- **Hinton, B. T., et Palladino, M. A. (1995).** Epididymal epithelium : Its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microscopy Research and Technique*, 30(1), 67-81.
- **Ibrahim, I. A., Shalaby, A. A., Abd Elaziz, R. T., et Bahr, H. I. (2021).** *Chlorella vulgaris* or *Spirulina platensis* mitigate lead acetate-induced testicular oxidative stress and apoptosis with regard to androgen receptor expression in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(29), 39126-39138.

- **James, E. R., Carrell, D. T., Aston, K. I., Jenkins, T. G., Yeste, M., et Salas-Huetos, A. (2020).** The Role of the Epididymis and the Contribution of Epididymosomes to Mammalian Reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5377.
- **Jegede, A. I., Offor, U., Azu, O. O., et Akinloye, O. (2015).** Red Palm Oil Attenuates Lead Acetate Induced Testicular Damage in Adult Male Sprague-Dawley Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-7.
- **Ježek, D. (Éd.). (2013).** Atlas on the Human Testis : Normal Morphology and Pathology.
- **Johnson, L. R. (Éd.). (2003).** ESSENTIAL MEDICAL PHYSIOLOGY (3e éd.).
- **Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., et Vergnes, M. (2008).** Étude de six huiles essentielles : Composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6, 160-164.
- **Knoblaugh, S., et True, L. (2012).** Male Reproductive System. In *Comparative Anatomy and Histology* (p. 285-308).
- **Lamothe, L., Theau-Clement, M., Combes, S., Allain, D., Lebas, F., Normand, B. L., et Gidenne, T. (2015).** *Physiologie générale*. 45.
- **Lara, N. L. M., Costa, G. M. J., Avelar, G. F., Lacerda, S. M. S. N., Hess, R. A., et De França, L. R. (2018).** Testis Physiology—Overview and Histology. In *Encyclopedia of Reproduction* (p. 105-116).
- **Lardry, J.-M., et Haberkorn, V. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, la Revue*, 7(61), 14-17.
- **Lardry, J.-M., et Haberkorn, V. (2007).** Les huiles essentielles : Principes d'utilisation. *Kinésithérapie, la Revue*, 7(61), 18-23.
- **Lów, P., Molnár, K., et Kriska, G. (2016).** Atlas of Animal Anatomy and Histology (1re éd.).
- **Machado-Neves, M. (2022).** Effect of heavy metals on epididymal morphology and function : An integrative review. *Chemosphere*, 291, 133020.
- **Mäkelä, J.-A., et Toppari, J. (2017).** Spermatogenesis. In M. Simoni et I. T. Huhtaniemi (Éds.), *Endocrinology of the Testis and Male Reproduction* (p. 417-455).
- **Mescher, A. L., et Junqueira, L. C. U. (2013).** Junqueira's basic histology : Text and atlas (Thirteenth edition). McGraw-Hill Medical.

- **Miloudi, K., Tilmatine, A., Benmimoun, Y., Hamimed, A., Taibi, A., et Bellebna, Y. (2018).** Intensification of Essential Oil Extraction of *Artemisia herba alba* Using Pulsed Electric Field. 2018 International Conference on Electrical Sciences and Technologies in Maghreb (CISTEM), 1-5.
- **Mokhtari, M., et Zanboori, M. (2011).** The Effects of Lead Acetate on Sexual Behavior and the Level of Testosterone in Adult Male Rats. *International Journal of Fertility et Sterility*, 5(1), 13-20.
- **Moniem, A. E. A., Dkhil, M. A., et Al-Quraishy, S. (2010).** Protective role of flaxseed oil against lead acetate induced oxidative stress in testes of adult rats. 9(42), 7216-7223.
- **Mostafa, T. (2010).** Cigarette smoking and male infertility. *Journal of Advanced Research*, 1(3), 179-186.
- **Multigner, L., et Kadhel, P. (2008).** Perturbateurs endocriniens, concepts et réalité. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 69(5-6), 710-717.
- **Nadjib, B. M., et Amine, F. (2019).** MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE.
- **Nagarajan, P., Gudde, R., et Srinivasan, R. (Éds.). (2021).** *Essentials of Laboratory Animal Science : Principles and Practices.*
- **Nkechi, F., et Bright, C. (2015).** The Effect of Lead Acetate on the Testes of Male Albino Rats. 38, 1-5.
- **Olayemi, F. O. (2010).** A review on some causes of male infertility. 9(20), 2834-2842.
- **Parker, G. A., et Picut, C. A. (2016).** *Atlas of histology of the juvenile rat.* Academic Press is an imprint of Elsevier.
- **Phifer-Rixey, M., et Nachman, M. W. (2015, avril 15).** The Natural History of Model Organisms : Insights into mammalian biology from the wild house mouse *Mus musculus*. eLife.
- **Pillon, F. (2012).** Rôle des hormones sexuelles et hypothalamo-hypophysaires, et stérilité. *Actualités Pharmaceutiques*, 51(512), 12-15.
- **Pöllänen, P., et Cooper, T. G. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *Journal of Reproductive Immunology*, 26(3), 167-216.
- **Ramah, A., EL-shwarby, R., M.A., N., et El-shewey, E. (2015).** The effect of lead toxicity on male albino rats reproduction with ameliorate by vitamin E and pumpkin seeds oil. *Benha Veterinary Medical Journal*, 28(1), 43-52.

- **Rives, N., Milazzo, J.-P., Arkoun, B., Travers, A., Perdrix, A., Bironneau, A., et Macé, B. (2012).** Gamète mâle . . . un spermatozoïde ou une spermatide ? *Gynécologie Obstétrique et Fertilité*, 40(11), 671-674.
- **Robaire, B., et Hamzeh, M. (2011).** Androgen Action in the Epididymis. *Journal of Andrology*, 32(6), 592-599.
- **Robaire, B., et Hinton, B. T. (Éds.). (2002).** The Epididymis : From Molecules to Clinical Practice: A Comprehensive Survey of the Efferent Ducts, the Epididymis and the Vas Deferens (1re éd.).
- **Robaire, B., Hinton, B., et Orgebinrist, M. (2006).** The Epididymis. In Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Vol. 1, p. 1071-1148).
- **Schiffer, L., Arlt, W., et Storbeck, K.-H. (2018).** Intracrine androgen biosynthesis, metabolism and action revisited. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 465, 4-26.
- **Schlosser, J., Nakib, I., Carré-Pigeon, F., et Staerman, F. (2007).** Infertilité masculine : Définition et physiopathologie. *Annales d'Urologie*, 41(3), 127-133.
- **Sepaniak, S., Forges, T., Fontaine, B., Gerard, H., Foliguet, B., Guillet-May, F., Zaccabri, A., et Monnier-Barbarino, P. (2004).** Impact négatif du tabac sur la fertilité masculine : Des spermatozoïdes à la descendance. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 33(5), 384-390.
- **Shan, G., Tang, T., et Zhang, X. (2009).** The protective effect of ascorbic acid and thiamine supplementation against damage caused by lead in the testes of mice. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 29(1), 68-72.
- **Simoni, M., et Huhtaniemi, I. T. (Éds.). (2017).** Endocrinology of the Testis and Male Reproduction.
- **Singh, S. K. (2016).** Mammalian Endocrinology and Male Reproductive Biology (1re éd.).
- **Smith, L. B., et Walker, W. H. (2014).** The Regulation of Spermatogenesis by Androgens. *Seminars in cell et developmental biology*, 0, 2-13.
- **Sontakke, Y. A. (2020).** Textbook of Human Histology with Color Atlas, 3D Illustrations and Flowcharts (1re éd.). CBS Publishers et Distributors.
- **Sullivan, R., et Mieusset, R. (2016).** The human epididymis : Its function in sperm maturation. *Human Reproduction Update*, 22(5), 574-587.
- **Tongnuanchan, P., et Benjakul, S. (2014).** Essential Oils : Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7).

- **Tortora, G. J., et Derrickson, B. (2017).** Manuel d'anatomie et de physiologie humaines. De Boeck Supérieur.
- **Treuting, P. M., et Dintzis, S. M. (Éds.). (2012).** Comparative anatomy and histology : A mouse and human atlas (1st ed).
- **Valerie, C. S., et Tina, S. (2007).** Fondements d'anatomie et de physiologie—Lecteur PDF (5e éd.).
- **Vora, L. K., Gholap, A. D., Hatvate, N. T., Naren, P., Khan, S., Chavda, V. P., Balar, P.C., Gandhi, J., et Khatri, D. K. (2024).** Essential oils for clinical aromatherapy :A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*, 330, 118180.
- **Wang, Y., Chen, F., Ye, L., Zirkin, B., et Chen, H. (2017).** Steroidogenesis in Leydig cells : Effects of aging and environmental factors. *Reproduction*, 154(4), R111-R122.
- **Waugh, A., et Grant, A. (2010).** Ross et Wilson ANATOMIE et PHYSIOLOGIE dans la santé et la maladie Onzième édition Anne—Lecteur PDF (11e éd.). Churchill Livingstone.
- **Whitney, K. M., et Suttie, A. W. (2018).** Chapter 28—Testis and Epididymis. In A. W. Suttie (Éd.), *Boorman's Pathology of the Rat (Second Edition)* (p. 563-578).
- **Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T., et Vander, A. J. (2008).** Vander's human physiology : The mechanisms of body function (11th ed). McGraw-Hill Higher Education.
- **Yadav, I. C., et Devi, N. L. (2017).** Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. In *NVIRONMENTAL SCIENCE AND ENGINEERING (Vol.6p. 140-158.)*. Studium Press LLC.
- **Young, B., O'Dowd, G., et Woodford, P. (2015).** Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater. De Boeck Supérieur.
- **Zhou, Q., Nie, R., Prins, G. S., Saunders, P. T. K., Katzenellenbogen, B. S., et Hess, R.A. (2002).** Localization of Androgen and Estrogen Receptors in Adult Male Mouse Reproductive Tract.

Résumé

Ce travail nous a permis de détecter la toxicité de l'acétate de plomb sur l'appareil reproducteur et d'évaluer l'efficacité de l'huile essentielle de géranium rosat. Notre étude porte sur 18 souris mâles repartis en 03 lots différents ; un lot témoin, un lot traité par 20mg/kg et un lot traité d'abord avec 20mg/kg d'acétate de plomb pendant une semaine, puis avec 100 µL d'huile essentielle de géranium pendant trois semaines. A la fin de l'expérimentation, les souris ont été sacrifiées disséquées, les organes prélevés, pesés puis fixés pour effectuer une étude histologique, les résultats obtenus, une différence significative a été rapporté dans le poids corporel et testiculaire. Les résultats histologiques montrent une architecture testiculaire altérées avec une diminution de la spermatogenèse chez les souris intoxiquées. En revanche, la réparation de la structure testiculaire a été observé suite au traitement a l'huile essentiels de géranium rosat. Par conséquent, il semblerait que cette huile contribue à l'amélioration de la reproduction des mâles ainsi qu'à la préservation des spermatozoïdes.

Mot clé : acétate de plomb, toxicité, huile essentielle *géranium rosat*.

Abstract

This work enabled us to detect the toxicity of lead acetate on the reproductive system and evaluate the effectiveness of rose geranium essential oil. Our study involved 18 male mice divided into 3 different groups : a control group, a group treated with 20 mg/kg of lead acetate, and a group initially treated with 20 mg/kg of lead acetate for one week followed by 100 µL of rose geranium essential oil for three weeks. At the end of the experiment, the mice were sacrificed, dissected, their organs removed, weighed, and fixed for histological study. The results showed a significant difference in body and testicular weight. Histological findings revealed altered testicular architecture with reduced spermatogenesis in intoxicated mice. Conversely, testicular structure repair was observed following treatment with rose geranium essential oil. Therefore, it appears that this oil contributes to improving male reproduction and preserving spermatozoa.

Keywords : *Lead acetate*, toxicity, *rose geranium* essential oil.