

#### République Algérienne Démocratique et populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud MAMMERI, Tizi-Ouzou

#### Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques Département des sciences biologiques

#### Mémoire de Fin d'Etudes

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

**Spécialité**: Biologie et physiologie de la reproduction

## Sujet

Effet de l'huile essentiel de *Mentha peperita* à différentes doses sur les structures testiculaires chez les lapins mâles infantiles de la population blache.

Présenté par : M<sup>elle</sup>Merabti Asma

M<sup>elle</sup>Sellah Dihia

Soutenu devant le jury composé de :

2019/2020



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

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

Nous voudrions exprimer notre gratitude à Madame **LAKABI L., Ep. AHMANACHE** maître de conférence à l'Université Mouloud Mammeri qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacré, nous la remercions pour sa patience et ses encouragements.

Nous voudrions aussi exprimer nos sincères remerciements à Madame MADJDOUB BENSAAD F. professeur à l'Université Mouloud Mammeri Pour l'intérêt qu'elle porte à ce travail et nous avoir témoigné sa confiance en acceptant de présider la commission d'examen.

On exprime nos reconnaissances à Madame **BOUAZIZ H., Ep. YAHIATENE** maitre de conférences qui a bien voulu nous accorder une partie de son temps pour examiner et juger ce travail.

On exprime nos reconnaissances à Madame **MEHALLI. OULDKADI** N. Doctorante à l'Université Mouloud Mammeri notre co-promotrice, pour avoir accepté de corriger notre travail.

A la fin, nous tenons à remercier toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



#### DEDICACES

Je tiens d'abord à remercier le bon Dieu le tout puissant pour la volonté et le courage qu'il m'a donné pour mener à terme ce travail.

J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail de fin d'étude à :

Ceux que j'aime le plus au monde, mes très chers parents qui m'ont apporté leur soutien, dans les moments difficiles

avec un tant d'amour et d'affection et qui ont souffert sans se plaindre pour m'élever et m'éduquer afin que j'atteigne ce niveau,

que le bon dieu leur accorde une longue vie plein de prospérité.

A mon très cher frère «Abdellah» qui a toujours cru en moi merci de m'avoir toujours soutenue dans ce que je voulais faire.

Avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.que Dieu le protège.

A mon très cher frère «Ibrahim» et sa femme «Zahira», qui m'ont toujours encouragés soutenu tout le long

de mon travail, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de et que dieu, vous protège et vous garde.

A ma chère petite nièce « Alaa».

A mes grands parents et tous mes proches.

« que dieux vous protège ».

A tous mes amies en particulier « Tifina» et « Ourida ».

A ma très chère copine et binôme « Dyhia » celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail.

Merci pour tous les moments partagés ensembles et tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre,

m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail.





#### DEDICACES

Je tiens d'abord à remercier le bon Dieu le tout puissant pour la volonté et le courage qu'il m'a donné pour mener à terme ce travail.

Je dédie ce modeste travail particulièrement à mes chers parents, qui ont consacrés leur existence à bâtir la mienne, pour leur soutien, patience, tendresse et affection et pour tout ce qu'ils ont fait pour que je puisse arriver à ce stade.

A ma très chère mère, quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon cher père, pour le goût à l'effort qu'il a suscité en moi, qui a tout sacrifier pour mon bien et qui a éclairé ma route par sa compréhension, son soutien et son amour, je lui confirme mon attachement et

mon profond respect.

A mon cher Fiancé « Omar », aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour Profond, le respect que je ressens pour toi, ni ne serait te remercier pour ton aide sans limites et ta présence permanente à mes côtés, ta patience, ton soutien et ta compréhension, que Dieu puisse te protège et te garde pour moi.

A mes chères sœurs «Hamida» et « Yasmine », je vous souhaite une vie pleine de bonheur, santé et surtout beaucoup de réussite et de succès, que dieu vous protège et vous garde.

A mon cher et unique frère « Ghilas », que Dieu le protège.

A mes beaux-parents, que le bon Dieu leur accorde une longue vie.

A ma chérie Asma, que je considère comme ma sœur, avec laquelle j'ai partagé des moments de bonheur, ainsi celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail.

A mes grands-parents, a tous mes oncles et mes tantes.



Liste des abréviations

# Hbréviations

ABP: Androgen Binding Protein

ATP: Adénosine Triphosphate

CHU: Centre hospitalier universitaire

EM: Eminence Médiane

**FSH:** Follicle Stimulating Hormone

**GnRH**: Gonadoliberine

hCG: Chorionique gonadotrope humaine

**HCO3**: Bicarbonates

**LH**: Luteinizing Hormon

**LHRH**: Luteinizing Hormone Releasing Hormone

**ONAB** : Office National de l'Aliment de Bétail

PH: Potentiel Hydrogène

**REL** : Réticulum endoplasmique lisse

**SKEO:** Satureja khuzestanica essential oil

## Liste des figures et planche

# Liste des figures et planche

Figure 1: Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas et al., 1996)	2
Figure 2 : Structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié)	4
Figure 3: Détails d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007)	5
Figure 4: Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993)	6
Figure 5: Spermatozoïde des mammifères (Le Moigne et Foucrier, 2009).	8
Figure 6: Vascularisation du testicule (Gouaze, 1998).	10
Figure 7: Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002)	11
Figure 8: Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009)	12
Figure 9: Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant le différent	
segment et illustrant les différents types cellulaires épithéliales et les cellules dendritiques	
(Breton et Da Silva, 2012)	12
Figure 10 : développement chronologique de la différentiation de l'appareil reproducteur	du
lapin mâle (Alvarino, 2000).	18
Figure 11: Différentes étapes de la spermatogenèse (Marieb, 2006)	22
Figure 12: Stéroidogenése dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de	e
Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).	23
Figure 13 : Axe hypotalamo-hypophyso-testiculaire et régulation de la fonction	26
Figure 14 : Lapin infantile âgé en moyen d'un mois issu d'un élevage cunicole privé de	31
Figure 15: L'huile essentielle Menthe Poivrée.	32
Figure 16: Pesée et administration de l'huile essentielle.	33
Figure 17: Pesée et sacrifice des lapins.	34
Figure 18: Dissection d'un lapin mâle et traitement de l'appareil génital.	34
Figure 19 : Fixation des organes par le fixateur Bouin hollande sublimé	35
Figure 20: Série de bains d'alcool éthylique et bain de xylène	36
Figure 21: Appareil de circulation du laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de	37
Figure 22 : Machine à enrobage du laboratoire d'Anatomo-pathologie du CHU de Tizi-O	uzou
	37
Figure 23: Organes placés dans des moules qui recevront la Paraffine	38
Figure 24: Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à	à
droite	38
Figure 25: Rains d'alcool et de vylène de la circulation	30

Figure 26: Série d'une coloration topographique
Figure 27: Observation des lames au microscope optique.
Figure 28 : Représentation graphique du poids corporel des lapins infantiles traités par l'h
essentielle Menthe poivrée à différentes doses
Figure 29: Représentation graphique du poids testiculaires droits et gauches des lapins
infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée à différentes doses
Figure 30: Représentation graphique du poids total des testicules des lapins traités par l'huile
essentielle Menthe poivrée à différentes doses
Figure 31 : Représentation graphique du poids testiculaire relatif à 100 g du poids corporel des
lapins mâles infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée aux doses différentes. 44
Planche 1 : Coupes histologiques des testicules des lapins infantiles du lot témoin et ceux
traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » aux doses respectives 200 $\mu$ l/kg , 30 $\mu$ l /kg, 400 $\mu$ l/kg , 400 $\mu$ l/kg $\mu$
μl/kg, 500 μl/kg et 700 μl/kg

## Sommaire

#### Abréviations Liste de figures et planche

Introduction	1
Chapitre I :Rappels anatomo-histologiques de l'appareil reproducteur du lapir	ı mâle
Structure de l'appareil génital mâle du lapin	2
2. Anatomie et histologie fonctionnelle du testicule	3
2.1. Anatomie du testicule	3
2.2. Histologie de testicule	3
2.2.1. Tubes séminifères	4
2.2.1.1. Cellules de Sertoli	5
2.2.1.2. Cellules germinales	6
2.2.1.2.1. Spermatogonie	7
2.2.1.2.2. Spermatocytes	7
2.2.1.2.3. Spermatides	7
2.2.1.2.4. Spermatozoïdes	7
2.2.2. Tissu interstitiel	8
2.2.2.1. Cellules de Leydig	9
2.2.3. Liquide des compartiments intra-testiculaire	9
2.2.4. Vascularisation et innervation du testicule	9
3. Anatomie et histologie fonctionnelles de l'épididyme	10
3.1. Anatomie de l'épididyme	10
3.2. Histologie fonctionnelle de l'épididyme	11
3.2.1. Cellules principales	13
3.2.2. Cellules basales	13
3.2.3. Cellules en halo	14
3.2.4. Cellules claires	14
3.2.5.Cellules apicales	14
3.2.6. Cellules étroites	15
3.2.7. Cellules dendritiques	15
3.3. Lumière du canal épididymaire	15
4. Canal déférent	16
5. Urètre	16
6. Glandes annexes	16
6.1. Vésicule séminale	16
6.2. Prostate	17

6.3. Glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cooper	17
7. Pénis	17
Chapitre II : Physiologie de la reproduction	
1. Physiologie de la reproduction du lapin mâle	18
1.1. Développement des gonades et puberté	18
1.1.1. Développement pondéral	19
1.1.2. Développement de l'appareil génital externe	19
1.1.3. Maturation sexuelle	19
1.1.3.1. Phase infantile	19
1.1.3.2. Phase prépubertaire	20
1.1.3.3. Phase puberté	20
1.1.3.4. Maturité sexuelle	20
1.2. Physiologie et fonction du testicule	21
1.2.1. Fonction exocrine : spermatogénèse	21
1.2.2. Fonction endocrine : stériodogenése	22
1.3. Physiologie et fonction de l'épididyme	23
1.3.1. Acquisition de la motilité	23
1.3.2. Maturation des spermatozoïdes	24
1.3.3. Stockage des spermatozoïdes	25
1.3.4. Protection des spermatozoïdes	25
2. Régulation hormonale de la fonction de reproduction	25
2.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique	25
2.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule	26
3. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction	27
3.1. Effet de la température	27
3.2. Effet de l'alimentation	27
3.3. Effet de la Photopériode	28
3.4. Effet de la saison	28
3.5. Effet de l'humidité relative ambiante	28
3.6. Effet des huiles essentielles	29
Chapitre III : Matériel et méthodes	
1. Matériel biologique	30
1.1. Modèle animal	
1.2. Huile essentielle utilisée	
2. Expérimentation	
•	

2.1. Protocole expérimental	32
2.2. Pesée et administration de l'huile essentielle	33
2.3. Sacrifices et prélèvement	33
3. Etude histologique	35
3.1. Fixation des échantillons	35
3.2. Déshydratation et éclaircissement	36
3.3. Imprégnation	36
3.4. Inclusion	37
3.3. Confection des coupes et collage	38
3.6. Déparaffinage et réhydratation	38
3.7. Coloration topographique et Déshydratation	39
3.8. Observation des lames	40
4. Etude statistique	40
Chapitre IV : Résultats et discussion	
1. Poids corporel	41
1.1. Poids corporel des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée	41
2. Poids testiculaire	
2.1. Poids testiculaire absolue	42
2.2. Poids testiculaires relatifs à 100 g du poids corporel des lapins infantiles traités par l'essentielle Menthe poivrée	
3. Etude histologique des structures testiculaires	45
3.1. Testicules des lapins témoins	45
3.2. Testicules des lapins traités par la Menthe poivrée	46
4. Discussion	47
4.1. Poids corporels et testiculaires	47
4.2. Histologie testiculaire	50
Conclusion	52
Références bibliographiques	53

Annexes

### Introduction

En Algérie, les productions animales sont de plus en plus diversifiées, mais leurs performances restent toujours insuffisantes. Pour couvrir le déficit en protéines animales, le développement de la reproduction des lapins constitue une alternative intéressante pour réduire ce déficit.

Le lapin (*Oructolagus cuniculus*) est une espèce considérée à la fois comme animal de compagnie et modèle de recherche. Cette situation lui confère un statut particulier, notamment dans le domaine de la reproduction où il offre beaucoup d'avantage intéressant concernant sa productivité et reproductivité. En effet il est caractérisé par un court intervalle entre les générations, une prolificité importante et une bonne qualité de sa viande (Joly et Theau-Clément, 2000).

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

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

Plusieurs facteurs peuvent influencer positivement ou negativement sur la fertilite des lapins mâles tell que les facteurs génétiques, facteurs environnementaux et les huiles essentielles.

Ces derniers sont des produits aromatiques riches en phyto-oestrogène, susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant soit en le perturbant (El Kalamouni, 2010).

De ce fait, le but de notre travail est de mettre en évidence l'influence de huile essentielle la Menthe poivrée à différentes doses sur les poids corporel et la structure histologique des testicules chez des lapins infantiles âgés d'un mois.

Notre travail se présente sous forme de quatre chapitres, le premier chapitre présentera l'anatomo-histologique de l'appareil reproducteur, le deuxième chapitre portera sur la physiologie de la reproduction chez le lapin mâle. Ensuite nous aborderons dans le troisième chapitre les matériels et les méthodes utilisées, et le quatrième chapitre présentera les résultats obtenus ainsi que leurs discussions. Ce document sera clos par une conclusion ainsi qu'un ensemble de perspectives.

## Chapitre I

Rappels anatomo-histologiques de l'appareil reproducteur du lapin mâle

L'organisation des appareils reproducteurs est la même chez tous les mammifères et en particulier chez les ovins, caprins, porcins et lapins, avec néanmoins des différences concernant la taille, le poids et la forme des organes (Hamon et *al.*, 1999).

#### 1. Structure de l'appareil génital mâle du lapin

L'appareil génital mâle est situé postérieurement et s'extériorise par des bourses peu marquées par rapport aux autres mammifères (Boussit, 1989).

Selon Stevens et Lowe (1997), cet appareil comporte les testicules qui produisent les spermatozoïdes, l'épididyme, le canal déférent, le canal éjaculateur et l'urètre qui constituent un système de canaux assurant le transport des spermatozoïdes vers l'extérieur. Les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrale (glande de cowper) élaborent la majeur partie du sperme en fournissant un milieu de transport liquide et nutriments aux spermatozoïdes et en fin, le pénis, qui est l'organe copulateur (Figure 1).

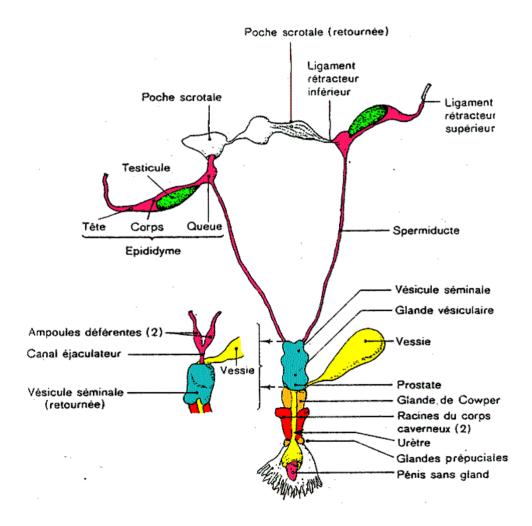


Figure 1: Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas et al., 1996).

#### 2. Anatomie et histologie fonctionnelle du testicule

Les testicules sont des organes pairs dotés d'une double structure, compartiment tubulaire et compartiment interstitiel. Ils ont une double fonction : endocrine correspondant à la synthèse et la sécrétion d'hormones principalement la testostérone et exocrine, en rapport avec la production de spermatozoïdes (Muller et Clos, 1997).

Selon Van et Nathalie (2007), les testicules sont des organes pairs situés dans le scrotum, à l'extérieur de la cavité abdominale. Cette situation leur permet de se maintenir à une température inférieure de 2 à 3°C de la température du corps, une température de 34 à 35°C est essentielle à une spermatogenèse normale.

#### 2.1. Anatomie du testicule

Les testicules du lapin sont des organe pairs de forme ovoïde (Bedosa, 1998) amincis aux extrémités avec un pôle caudal plus pointu mesurant 3 à 3,5cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur, 1 à 1,3 cm d'épaisseur et pesant 1,5 à 2g. Ils peuvent atteindre 6g dans certaines races (Herbertetal, 2005). Ils sont situés de part et d'autres de la ligne médiane inguinale, protégés et soutenus par une enveloppe appelée scrotum ou sac scrotal constitué d'une fine couche de peau recouvrant divers couches fibro-élastiques et musculaires dont la plus importante est le dartos (Barone, 2001).

Selon Boussit (1989) et Barone (2001), les testicules du lapin sont alternativement exorchide lorsqu'ils montent dans la cavité abdominale en raison de l'absence de fermeture du canal inguinale, sous l'effet de la frayeur, ou énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire appelé crémaster.

#### 2.2. Histologie de testicule

Le testicule est revêtu par une capsule blanche, épaisse et résistante parcourue par les vaisseaux testiculaires ; l'albuginée (Dadoune et *al.*, 2000). Cette enveloppe conjonctive est riche en fibres de collagène et en cellules musculaires lisses dans la région postérieure (Siffroi, 2001).

Cette albuginée s'épaissit au niveau de la coiffe épididymaire pour former le médiastin du testicule ou corps d'highmore au niveau du *rete testis*. Des septa fibreux provenant du médiastin du testicule s'étendent à l'intérieur de la masse testiculaire, divisant le tissu en 250 à 300 lobules. Chaque lobule contient un à quatre tubes séminifères (Figure 2) (Abraham et Kierszenbaum, 2006).

Selon Thibault et levasseur (2001), le testicule comprend deux compartiments cellulaires distincts issus de la partie interne de l'ébauche gonadique : un compartiment germinal composé de cellules germinales et de cellules somatiques appelées cellules de Sertoli, l'autre compartiment interstitiel composé uniquement de cellules endocrines dites les cellules de Leydig.

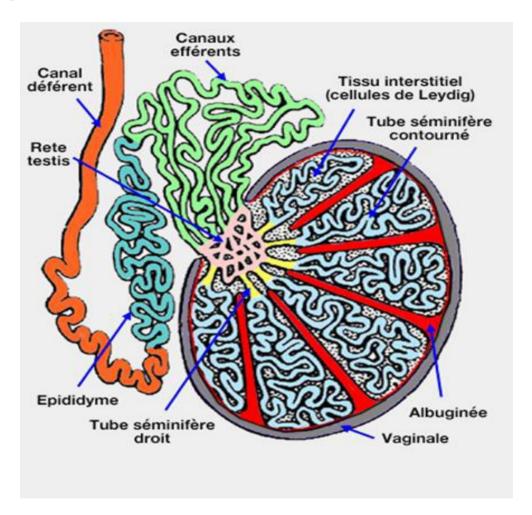


Figure 2 : Structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié).

#### 2.2.1. Tubes séminifères

Le tube séminifère constitue l'unité fonctionnelle du testicule, il est très long, flexueux (30 cm à 1m de longueur pour un diamètre de 300 à 400 μm), et constitué essentiellement de cellules germinales à des stades de développement variés (spermatogonies, spermatocytes, spermatides) et de cellules de sertoli qui se reposent sur une membrane basale (Figure 3) (Frend et *al.*, 1973). Ces cellules ont un rôle de protection et de contrôle de la maturation et la migration des cellules germinales (Wrobel, 1990).

La paroi des tubes séminifères est constituée d'une membrane basale revêtue de plusieurs assises myoïdes surmontées d'une couche de fibres de collagènes (Hochereau de Reviers et Royere, 1996).

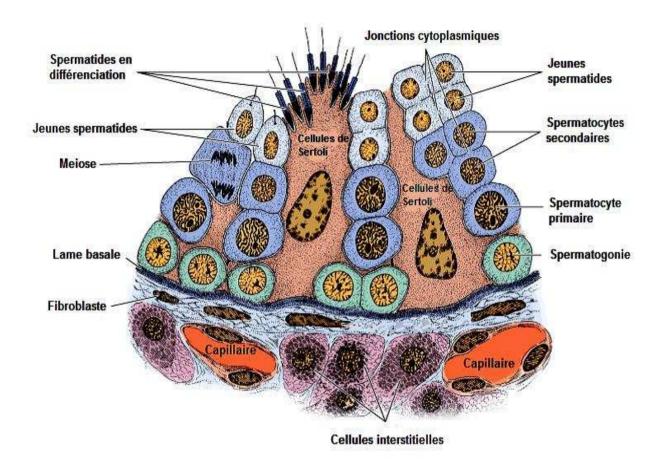


Figure 3: Détails d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007).

#### 2.2.1.1. Cellules de Sertoli

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale possèdant un noyau allongé ou polygonal de 9 à 12µm de longueur (Raymond, 1988; Dadoune et *al*, 1990). Elle s'étend sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère caractérisée par un réticulum endoplasmique granuleux et un réticulum endoplasmique lisse développés, un cytosquelette formé de microtubules et un réseau dense de microfillaments d'actine et de filaments intermédiaires.

Chaque cellule de Sertoli est connectée aux cellules adjacentes par des jonctions serrées disposées au pôle basal limitant deux compartiments : un compartiment basal, périphérique et un compartiment central ou adjacent à la lumière. D'autres types de jonction relient les cellules Sertoli entre elles et avec les cellules germinales dont des jonctions d'ancrage et des jonctions communicantes de types gap (figure 4) (Hazard et Perlemuter, 2000).

La cellule de Sertoli joue un rôle protecteur contre les réactions immunitaires. Elle exerce ainsi, une fonction mécanique et trophique, permettant la migration et la maturation des cellules germinales. Elle est responsable de la production du plasma séminal primitif et assure une activité sécrétoire importante pour le soutient et la maturation des cellules germinales (Holstein et *al.*, 2003 ; Mruk et cheng, 2004).

D'après Imbeaud (1994), l'inhibine, activine et l'hormone anti mullierienne, sont parmi les glycoprotéines sécrétées par les cellules de Sertoli nécessaires au contrôle de la prolifération, la différenciation et au métabolisme des cellules germinale.

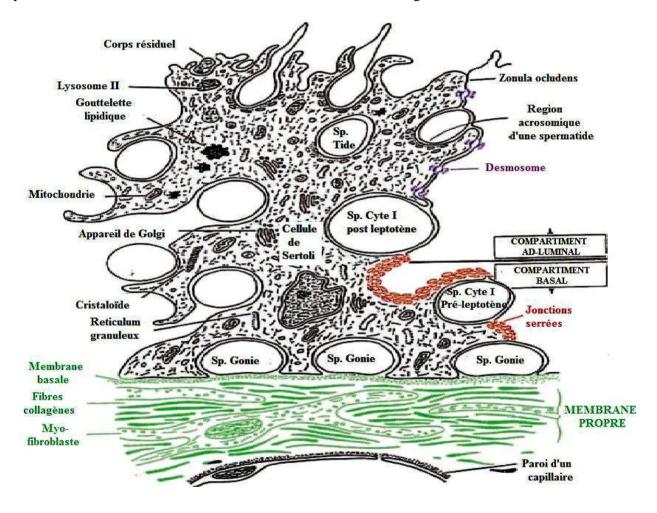


Figure 4: Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993).

#### **2.2.1.2.** Cellules germinales

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

#### 2.2.1.2.1. Spermatogonie

Les spermatogonies du lapin, comme celles de tous les mammifères, se divisent en deux catégories principales : spermatogonies de type A qui en se proliférant donnent naissance à des spermatogonies de type B (Fawcett et Burgos, 1956).

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

Les spermatogonies de type B sont caractérisées par un noyau arrondi, foncé, avec une chromatine en amas (spermatogonies croûtelleuses) (Dadoune et *al.*, 2000).

#### **2.2.1.2.2. Spermatocytes**

D'après Marthin et Barry(2001), deux types de spermatocytes sont produits au cours de cette activité spermatique : le spermatocyte de 1<sup>er</sup> ordre et le spermatocyte de 2<sup>ème</sup>ordre. Le premier type est caractérisé par un cytoplasme abondant et un noyau volumineux contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments, facilement reconnaissable. C'est une cellule déjà engagée dans les premières étapes de la méiose. Le spermatocyte II issu de la première division de la méiose des spermatocytes I, est une cellule plus petite qui va rapidement terminer la deuxième division de la méiose et engendrer des cellules à n chromosomes, les spermatides.

#### **2.2.1.2.3. Spermatides**

Les spermatides sont des cellules haploïdes de petite taille, ovoïdes avec un noyau rond et clair contenant un ou deux masses nucléolaires (Dadoune et *al.*, 2000). Elles se localisent à proximité de la lumière des tubes séminifères (Junqueira et Carneiro, 2007).

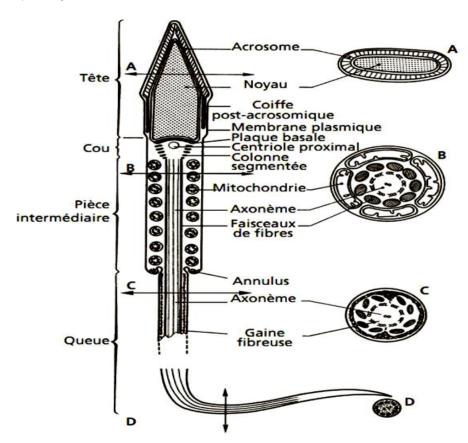
Ces cellules vont subir une différenciation durant laquelle elles vont devenir plus petites et effilée, aboutissant à la formation des spermatides allongé puis des spermatozoïdes via la spermiogénèse (Ramé et *al.*, 2007).

#### 2.2.1.2.4. Spermatozoïdes

Selon Vaissaire (1977), les spermatozoïdes sont des cellules profondément transformées aptent à féconder un ovule maternel d'une même espèce. La structure morphologique du

spermatozoïde du lapin est semblable aux autres mammifères, de 55 à 57 µm de diamètre. Il comporte deux parties principales, la tête (formes et dimensions variables) et la queue (flagelle) unies par un col très bref (Figure 5).

La tête ovoïde est formée par le noyau coiffé de l'acrosome (Robert et Vincent, 1995) qui est pourvu d'enzymes responsable de la pénétration de la membrane de l'ovocyte lors de la fécondation (Barone 2001).Le col est une pièce d'union entre la tête et la queue, il s'attache à l'extrémité postérieure du noyau par une pièce basale d'où nait le centriole proximal. La queue du spermatozoïde du lapin mesure 45 µm, composé d'un complexe axonème typiquement mammalien ; deux microtubules centraux et neuf diplo-microtubules périphériques (Baronne, 2001; Boiti, 2005).



**Figure 5:** Spermatozoïde des mammifères (Le Moigne et Foucrier, 2009).

#### 2.2.2. Tissu interstitiel

Le tissu interstitiel est un tissu conjonctif lâche qui se situe entre les tubes séminifères, il comporte des vaisseaux sanguins, lymphatiques et nerfs, ainsi que des ilots de cellules endocrines produisant la testostérone (les cellules Leydig) et d'autre cellules libres les macrophages, les lymphocytes et les fibroblastes (Frend et *al.*, 1973).

#### 2.2.2.1. Cellules de Leydig

Ce sont des cellules polygonales (10 µm chez l'homme), qui sont soit isolés, soit groupés en amas autour des capillaires sanguins, présentant un noyau rond avec un nucléole volumineux, un cytoplasme riche en citernes de REL et des mitochondries de taille variables et peu nombreuses (Dadoune et Demoulin, 2001).

Les cellules de Leydig élaborent à partir du cholestérol, la testostérone, hormone mâle indispensable au déroulement de la spermatogenèse. La testostérone est également responsable de l'expression des caractères sexuels secondaires et tertiaires (Robaire et Hermo, 1988). Elle constitue l'hormone principale dans la régulation de la fonction de reproduction (Amann, 2011).

Selon Johnson et Everitt (2002), les cellules de Leydig produisent par ailleurs, un grand nombre de facteurs bioactifs (peptides ou protéines) impliqués dans les régulations paracrines et autocrines du testicule.

#### 2.2.3. Liquide des compartiments intra-testiculaire

Les cellules de Leydig et les tubes séminifères logent dans les espaces peritubulaires et baignent dans le liquide interstitiel, qui participe aux fonctions endocrines et paracrines du testicule et contribue au transport des spermatozoïdes, ainsi qu'à leur nutrition et qu'il a pour origine le plasma sanguin et il est riche en sucres, minéraux, neurotransmetteurs, hormones et il est composé à 90% d'eau (Marieb, 2006). Tandis que la composition du liquide du *Rete testis* est remaniée, qui est probablement due aux échanges avec les veines testiculaires (Hocherau de Reviers et Royere, 1996).

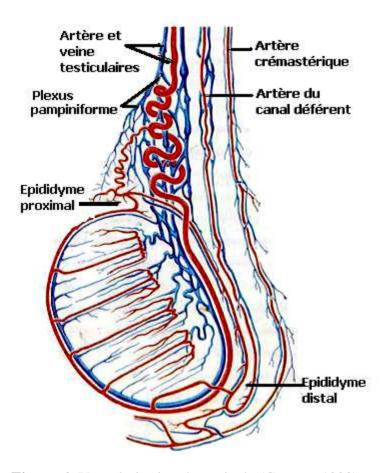
#### 2.2.4. Vascularisation et innervation du testicule

Le testicule renferme un complexe vasculaire formé par les artères testiculaires et les veines testiculaires et épididymaire (Hochreau de Reviers et Royere, 1996).

La vascularisation artérielle des testicules est assurée par l'artère spermatique, qui nait le plus souvent de la face antérolatérale de l'aorte juste au-dessous de l'artère rénale (Bailleul et Mauroy, 1999).

Les testicules sont irrigués par les artères testiculaires et sont drainés par les veines testiculaires qui constituent une ramification du plexus pampiniforme autour de l'artère testiculaire située sous la vaginale du testicule. L'innervation dépend de deux plexus nerveux;

le plexus spermatique qui est parasympathique et le plexus différentiel qui est sympathique (Jardin et De Fourmestraux, 1984) (Figure 6).



**Figure 6:** Vascularisation du testicule (Gouaze, 1998).

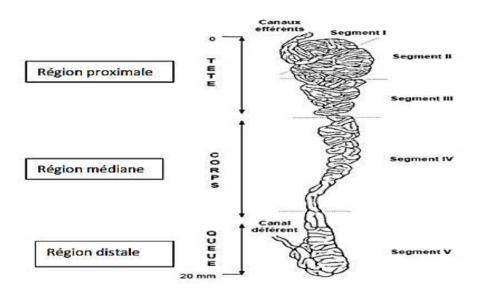
#### 3. Anatomie et histologie fonctionnelles de l'épididyme

#### 3.1. Anatomie de l'épididyme

L'épididyme, organe du tractus génital mâle, est accolé à la face postérieure du testicule et relie les canaux efférents au canal déférent. Chez les mammifères, c'est un long tubule unique fortement contourné dont la taille varie selon les espèces, il mesure 1,5 à 3 cm chez les lapins (Grasse, 1995; Barone, 1978) et peut atteindre jusqu'à 5 mètres chez l'homme (Sullivan, 2004).

Sur la base de sa morphologie et de son histologie, cet organe peut être divisé en trois parties distinctes : la tête ou région proximale qui est reliée au hile du testicule par les canaux efférents et le *rete testis*, le corps ou région médiane, accolé au testicule jusqu'à sa partie postérieure et la queue ou région distale connectée au canal déférent (Figure 7)(Abe et *al.*, 1983 ; Abou-Haila et Fain-Maurel, 1984).

En raison de la présence de cloisons conjonctives ou *septa*, l'épididyme peut être subdivisé en segments dont le nombre diffère en fonction des espèces (Abou-Haila et Fain-Maurel, 1984). En complément de leur rôle de support interne pour l'organisation de l'organe, les septa permettent l'expression spécifique de gènes et de protéines et la création d'un microenvironnement spécifique à chaque segment (Kirchhoff, 1999 ; Cornwall et *al.*, 2002 ; Turner et al., 2003 ; Johnston et *al.*, 2005 ; Tomsing et *al.*, 2006 ; Turner et *al.*, 2007).



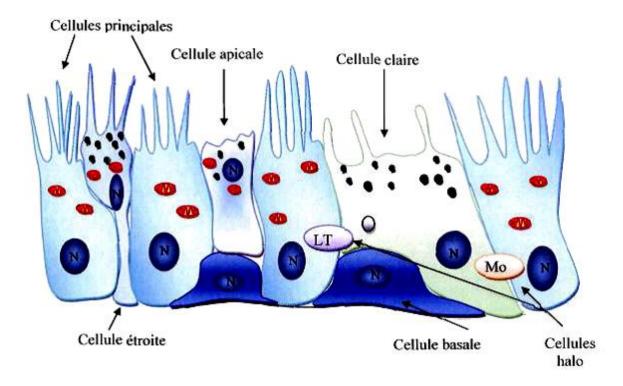
**Figure 7:** Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).

#### 3.2. Histologie fonctionnelle de l'épididyme

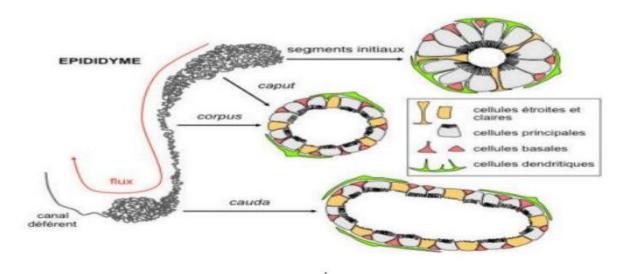
Le canal épididymaire comprend deux compartiments : un épithélium pseudostratifiéet une lumière qui le borde (Robaire et *al.*, 2006). L'épithélium est composé d'un tissu conjonctif contenant des terminaisons nerveuses, des vaisseaux sanguins et lymphatiques (Robaire et Hermo, 1988).

Autour du canal épididymaire, on note la présence d'une mince couche de fibres musculaires lisses, qui par leurs contractions péristaltiques régulières contrôlées par les fibres nerveuses, permettent le transit des spermatozoïdes de la tête vers la queue de l'organe (Setchell et *al.*, 1994).

Sept types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épididymaire : les cellules principales, basales, en halo, claires, apicales, étroites et dendritiques (Figure 8),dont la proportion varie tout au long de l'organe, assurant ainsi une évolution de la composition du fluide épididymaire (Figure 9) (Robaire et *al.*, 2006 ; Cornwall ; 2009 ; Shum et *al.*, 2011).



**Figure 8**: Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009). N : noyau ; LT : lymphocyte T ; Mo : monocyte.



**Figure 9:** Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant le différent segment et illustrant les différents types cellulaires épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).

#### 3.2.1. Cellules principales

Les cellules principales sont les cellules les plus abondantes de l'épithélium épididymaire, constituent environ 80% de la population cellulaire totale dans le segment initial et ne représentent que 65% de la population cellulaire totale dans la queue de l'épididyme (Trasler et *al.*, 1988) (Figure 8).

Elles présentent des modifications morphologiques en fonction des régions dans lesquelles elles se situent, en lien avec l'évolution de leur fonction (Hermo et *al.*, 1994).

Dans le segment initial, ces cellules sont hautes et possèdent à leur pôle apical de nombreuses microvillosités qui se projettent dans la lumière du tubule (Abe et *al.*, 1983). La hauteur de ces cellules ainsi que le nombre et la taille des microvillosités diminuent fortement dans la queue de l'épididyme.

Ces cellules jouent un rôle important dans le transport, la sécrétion et l'absorption de petites particules et de protéines induisant ainsi la maturation épididymaire des spermatozoïdes (Hermo et Robaire, 2002) et participent également à la formation de la barrière hémato-épididymaire via l'établissement des jonctions serrées (Suzuki et Nagano, 1978).

#### 3.2.2. Cellules basales

Les cellules basales représentant 10 à 20% de la population cellulaire totale de l'épithélium épididymaire (Soranzo et *al.*, 1982). Ces petites cellules allongées, localisées tout le long du canal épididymaire, reposent sur la membrane basale formant ainsi un réseau en dessous des cellules principales. Leur noyau est irrégulier et leur cytoplasme pauvre en organites (Soranzo et *al.*,1982) (Figure 8). Elle possèdent de longues projections pouvant s'étendre jusqu'à la lumière de l'épididyme (Veri et *al.*, 1993 ; Cooper, 1998 ; Seiler et *al.*, 2000).

D'après Veri et *al.* (1993), il semblait que ces cellules participent à la protection contre les radicaux libres, ainsi que la protection immunitaire des spermatozoïdes et à la formation de la barrière hémato-épididymaire (Seiler et *al.*, 2000), ainsi en raison de la présence de cellules exprimant des marqueurs macrophagiques en position basale de l'épithélium épididymaire, certains auteurs ont associés les cellules basales à des macrophages résidents (Yeung et *al.*, 1994; Seiler et *al.*, 1998).

Cependant, des expériences d'immunofluorescence et de cytométrie en flux ont permis de montrer que les cellules basales (exprimant le marqueur cytokératine 5) sont différentes des macrophages épithéliaux (exprimant le marqueur F4/80) (Shum et *al.*, 2014).

#### 3.2.3. Cellules en halo

Les cellules en halo sont des petites cellules à bord étroit avec un cytoplasme clair et un noyau dense (Robaire et *al.*, 2006). Elles sont présentent tout au long de l'épithélium et se situent vers la base de l'épithélium épididymaire (Figure 8).

Elles ont été décrite comme des cellules d'origine immunitaire et identifier comme des lymphocytes intra épithéliaux ou des macrophages .les cellules en halo contribuent à former une barrière immunologue au niveau de l'épididyme (Hoffer et *al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

#### 3.2.4. Cellules claires

Ces grandes cellules prismatiques sont présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo et *al.*, 1982). Elle sont caractérisées par la présence de vésicules claires en position apicale, de lysosomes en partie médiane et de nombreuses inclusions lipidiques en position basale (Robaire et Hermo, 1988) (Figure 8).

Ces cellules ont un rôle d'endocytose bien plus important que celui des cellules principales (Olson et Hinton, 1985; Robaire et Hermo, 1988) et sont capables de récupérer le contenu des gouttelettes cytoplasmiques relarguées par les spermatozoïdes lorsqu'ils traversent le canal épididymaire (Hermo et *al.*, 1988; Robaire et Hermo, 1988). Elles sont également impliquées dans l'absorption de certains composés présents dans le compartiment luminal comme la V-ATPase (Beaulieu et *al.*, 2005) et dans la régulation du pH du fluide épididymaire (Kujala et *al.*, 2007).

#### 3.2.5. Cellules apicales

Qualifiées ainsi en raison de la localisation de leur noyau au pôle apical de l'épithélium, les cellules apicales présentent quant à elles un cytoplasme dense très riche en mitochondries. Elles se trouvent principalement dans le segment initial où elles représentent 10% de la population cellulaire totale de l'épididyme, leur nombre diminue tout au long de l'organe pour ne représenter que 1% des cellules dans la queue de l'épididyme (Adamali et Hermo, 1996).

Elles participent à l'acidification du fluide épididymaire; grâce à la production d'anhydrase carbonique qui permet la sécrétion des ions H+ et la réabsorption des bicarbonates(HCO3-) (Martínez-García et *al.*, 1995; Hermo et *al.*, 2005) et sont aussi capables d'endocyter des substances présentes dans la lumière (Robaire et Hermo, 2002).

De plus, elles semblent également jouer un rôle dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol au sein de l'épithélium épididymaire (Ouvrier et *al.*, 2009) (Figure 8).

Enfin, la proportion de ce type cellulaire est augmentée en cas de stress inflammatoire tel que celui occasionné lors d'une carence en magnésium, sans que leur implication dans ces processus inflammatoires soit réellement connue (Vernet et *al.*, 2004).

#### 3.2.6. Cellules étroites

Les cellules étroites se retrouvent dans le segment initial et intermédiaire de l'épididyme, pourvue d'un noyau allongé en position apicale. Ces cellules se prolongent entre les cellules principales pour atteindre la région basale de l'épithélium épididymaire, ce qu'ils leur confèrent un aspect en calice. Leur cytoplasme est riche en vacuole, vésicules endocytiques, lysosome et mitochondrie et leur membrane apicale émet des villosité courte, épaisse et irrégulière (Hermo et *al.*, 2000) (Figure 8).

Elles semblent participer à l'acidification du fluide épididymaire car elles possèdent une activité anhydrase carbonique et sont capables de sécréter des protons dans la lumière (Cohen et *al.*, 1976; Hermo et *al.*, 2005).

#### 3.2.7. Cellules dendritiques

Selon Da Selva (2011), des cellules dendritiques ont été découvertes au sein de l'épididyme murin en 2011, qui formeraient un réseau dense situe à la base de l'épithélium avec des projections dendritiques qui passent entre les cellules épithéliales et seraient orientées en direction de la lumière du tubule. Ces cellules posséderaient des marqueurs de cellules immunitaires, dont le rôle serait de maintenir l'homéostasie immunitaire afin de protéger les spermatozoïdes (Wang et Duan, 2016) (Figure 9).

#### 3.3. Lumière du canal épididymaire

Pour rejoindre le système éjaculateur depuis les gonades mâles, les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épididymaire. Ce dernier est composé principalement d'ions, des molécules organiques et des protéines spécifiques dont la plupart sont des enzymes.

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

#### 4. Canal déférent

La queue de l'épididyme se poursuit par le canal déférent qui fait suite au canal épididymaire, il mesure 12 à 15cm de longueur chez le lapin (Barone, 2001) et 45 cm chez l'homme (Dadoune et *al.*, 1990 ; Marieb, 2006). Ce canal pénètre dans la cavité abdominale et atteint la face dorsale de la vessie formant un très léger renflement pelvien avant de se jeter dans l'urètre. Le canal déférent assure le transit jusqu'à l'urètre grâce à un péristaltisme basal, additionné d'une motricité brusque lors de l'éjaculat (Barone, 1978 ; Bonnes et *al.*, 2005).

#### 5. Urètre

C'est un conduit de 12 à 13 cm de longueur, dont 8 à 9 cm tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité (Baronne, 2001).

Il fait partie à la fois du système urinaire et du système génital, assurant l'évacuation de l'urine lors de la miction et du sperme lors de l'éjaculation et il se divise en trois parties : urêtre prostatique, partie membranacée qui se trouve dans le diaphragme urogénital et une partie spongieuse qui passe dans le pénis et s'ouvre vers l'extérieur par le méat urétral (Marieb, 2006).

#### 6. Glandes annexes

Trois glandes sont annexées au tractus génital mâle : la vésicule séminale, la prostate et les glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cooper. L'ensemble de leur sécrétion constitué le liquide spermatique qui mélangé aux spermatozoïdes, constitue le sperme (Tortora et *al.*, 1995).

#### **6.1. Vésicule séminale**

Chez le lapin, la vésicule séminale est impaire mais bilobée à son extrémité, avec une longueur d'environ 2,5 cm et un aspect ajouré (Abraham et Kierzembaum, 2002; Welsh, 2002), qui débouche dans le conduit déférent (Roger, 2002).

Sa partie caudale fusionne avec les canaux déférents pour former un canal éjaculateur impair qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre au niveau de *calliculus seminalis* (Barone, 1984).

Ses sécrétions alcalines (PH: 7,19) représentent aves les sécrétions prostatiques la majorité de la masse du sperme et contiennent une source d'énergie pour le déplacement des spermatozoïdes ; le fructose (Larsen et Dhem, 2007).

#### 6.2. Prostate

La prostate proprement dite est un peu petite, étirée d'un côté à l'autre, de couleur jaunerosée, qui est remplacée par un complexe de plusieurs glandes (Lebas, 1996), toutes
développées à partir de diverticules de la paroi urétrale au voisinage de *calliculus séminal*. Elle
est constituée d'une partie diffuse disséminée dans la paroi de l'urètre et d'une partie
conglomérée (Roger, 2002).

Selon Siffroi (2006), elle sécrète un liquide riche en enzyme (dont les phosphatases) et en prostaglandine et peut transférer des lipides et des enzymes par infusion membranaire avec les spermatozoïdes (Arien et *al.*, 1997).

#### 6.3. Glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cooper

Ce sont des formations sphériques paires, bilobées, volumineuses chez les lapins et placées postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elle s'ouvre par au moins 4 canaux (Sabbagh, 1983).

Ces glandes, entourées chacune par une capsule conjonctive (Roger, 2002), sécrètent un liquide mucoïde semblable au liquide prostatique qu'elles déversent dans la région postérieure de l'urètre membraneux (Boussit, 1989).

#### 7. Pénis

Le pénis, organe mâle de copulation et de miction chez les mammifères, est un organe érectile de transfert du sperme, court, en forme de tube légèrement en pointe qui mesure environ 8 cm de long et dirigé caudalement au repos (Lebas et *al.*, 1990 ; Barone, 1978) , prolongeant les voies génitales mâles et rétrofléchies chez le lapin qui est logé dans le prépuce et ne sort que lors de l'accouplement.

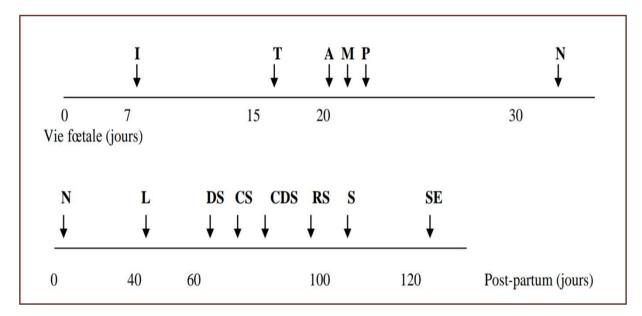
# Chapitre II Physiologie de la reproduction

De même que chez les autres mammifères, les mécanismes régulant la fonction de la reproduction chez les lapins sont complexes et reposent sur l'inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui de système neuroendocrinien qui comprend l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Joly et Theau Clément, 2000).

#### 1. Physiologie de la reproduction du lapin mâle

#### 1.1. Développement des gonades et puberté

La différenciation des gonades commence au 16<sup>ème</sup> jour après la fécondation, tandis que la production des hormones androgènes débute le 19<sup>ème</sup> jour de gestation. Cependant, les canaux de Muller régressent le 20<sup>ème</sup> jour, et la formation de la prostate commence le 21<sup>ème</sup> jour. Au 24<sup>ème</sup> jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Muller sont bien établis (Figure 10) (Alvarino, 2000). En effet, entre 21éme et 30éme jours de gestation, la testostérone est présente au niveau des testicules de fœtus mâle (Skinner, 1967).



**Figure 10**: Développement chronologique de la différentiation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).

I= implantation ; N= naissance ; L= maturation des cellules de Leydig ; A= sécrétion d'androgènes ;

T= différentiation des testicules ; CDS= développement complet de la spermatogénèse ;

P= croissance de la prostate ; RS= premiers rapports sexuels. CS= premier comportement sexuels ;

S= apparition du premier spermatozoïde ; M= dégénérescence des canaux de Müller ;

**DS**= début de la spermatogénèse ; **SE**= apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme.

Selon Mitchell et Sharma (2005), les testicules sécrètent activement des androgènes et l'hormone anti mullérienne (HAM ou MIS : Mullarian Inhibitory substance) qui sont les messagers de la différentiation masculine. En leurs absences, il se produit une différenciation sexuelle féminine.

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

#### 1.1.1. Développement pondéral

Le développement du poids corporel jusqu'à l'âge de 5 mois ne présente pas de dimorphisme sexuel. En effet, la croissance pondérale d'un animale résulte du développement en poids de chaque éléments constitutif de son corps. Néanmoins, la croissance testiculaire a une allure sigmoïdale ; d'abord plus lente que celle du corps puis elle subit une accélération vers 45 jours d'âge (Martinet, 1973).

Selon Alvarino (2000), la taille des testicules augmente jusqu'à l'âge de huit mois, et durant cette période les vésicules séminales croissent rapidement. Le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86kg après la 5<sup>ème</sup> semaine d'âge.

#### 1.1.2. Développement de l'appareil génital externe

Chez le Lapin comme la plupart des mammifères, les testicules, d'abord en position intraabdominale, vont migrer de l'avant vers l'arrière pour se retrouver dans un petit diverticule de la cavité abdominale appelé le scrotum (Barone, 1976).

La formation du scrotum débute vers le 2<sup>ème</sup> mois d'âge avec descente des testicules vers 3 mois. Le pénis se développe et acquiert la taille et la forme caractéristique de l'adulte à la fin du 3<sup>ème</sup> mois d'âge (Berger et *al.*, 1982).

#### 1.1.3. Maturation sexuelle

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

#### 1.1.3.1. Phase infantile

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

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

#### 1.1.3.2. Phase prépubertaire

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

La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes séminifères sont actifs vers 84 jours d'âge (Lebas, 2009).

#### 1.1.3.3. Phase puberté

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

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

Cependant, Macari et Machado (1978 in Lebas, 2009) signalent que la puberté est atteinte uniquement lorsque le lapin devient capable de se reproduire par l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat, vers l'âge de 110 jours.

D'après Lebas et al (1996), le début de la puberté varie d'une race à une autre, en fonction des conditions du milieu et l'alimentation.

#### 1.1.3.4. Maturité sexuelle

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

Le jeune lapin commence à faire des tentatives de chevauchement, avec une faible viabilité des spermatozoïdes dans leur premier éjaculats et il faut donc attendre 135 à 140 jours pour aboutir aux premiers accouplements féconds (Lebas et *al.*, 1996).

Cependant, la production quotidienne est dépendante de nombreux facteurs tels que la fréquence de la collecte, l'âge, la santé, l'alimentation, la photopériode et la température, elle est de l'ordre de 2.107 spermatozoïdes.

#### 1.2. Physiologie et fonction du testicule

Le testicule a deux fonctions, exocrine (élaboration des spermatozoïdes) et endocrine (sécrétion d'hormones mâles : les androgènes) (Gibod et Lansac, 2019). La fonction endocrine est assurée par les cellules de Leydig qui élaborent les hormones testiculaires alors que la fonction exocrine est assurée par les tubes séminifères qui élaborent les gamètes mâles ou spermatozoïdes (spermatogénèse) (Trouche, 2013).

#### 1.2.1. Fonction exocrine : spermatogénèse

La spermatogenèse est le processus de production des gamètes mâles matures (spermatozoïdes), à partir des cellules souches sexuelles (spermatogonies) au niveau des tubes séminifères, qui s'amorce pendant la puberté et se poursuit tout au long de la vie (Tortora et Derrickson, 2009).

Chez le lapin, elle débute entre 40 et 50 jours d'âge, avec apparition des premiers spermatozoïdes peu viables dans les éjaculats à 110 jours d'âge (Lebas, 2009). La durée de la spermatogenèse ou temps nécessaire pour une spermatogonie d'évoluer vers un spermatozoïde est de 38 à 41 jours (Martinet, 1973).

Sur le plan fonctionnel, la spermatogenèse peut être décomposée en trois phases : la phase proliférative, la phase méiotique et la spermiogenèse (Figure 11) (Bellve et *al.*, 1977; Jégou,1995).

La phase proliférative de la spermatogenèse portant sur les spermatogonies qui se divisent par des mitoses produisant des spermatocytes de premier ordre (Clermont et Perey, 1957; De Rooij et Russell, 2000; Nakatsuji et Chuma., 2001; Werner et Deluca., 2001).

Cette phase assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (Little et Holyoke, 1992 ; Barone, 2001).

La phase méiotique est caractérisée par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes de premier ordre induisant la production des spermatocytes de deuxième ordre qui vont subir à leur tour la méiose produisant des spermatides haploïdes (Amann, 1993).

La spermiogenèse est la dernière phase de la spermatogenèse conduisant à la différenciation morphologique des spermatides issues de la deuxième division méiotique en spermatozoïdes. À

partir de ce stade il n'y a plus de divisions cellulaires, mais on observe surtout des métamorphoses extrêmement complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire des spermatides, pour aboutir à la formation des spermatozoïdes (Schulz et *al.*, 2005) possédant une tête aplatie avec un noyau condensé et une queue nécessaire à la motilité (Johnson, 1991; Baril et *al.*, 1993).

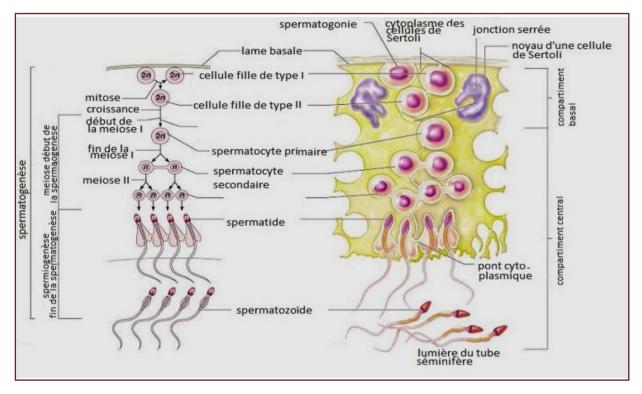


Figure 11: Différentes étapes de la spermatogenèse (Marieb, 2006).

#### 1.2.2. Fonction endocrine: stériodogenése

La biosynthèse de la testostérone se fait à partir de cholestérol et stimulé par la LH et HCG, dans les cellules de Leydig situées dans les espaces interstitiels des cordons séminifères (Habert et Picon, 1984 ; Gnessi et *al.*, 2000; Tang et *al.*, 2004).

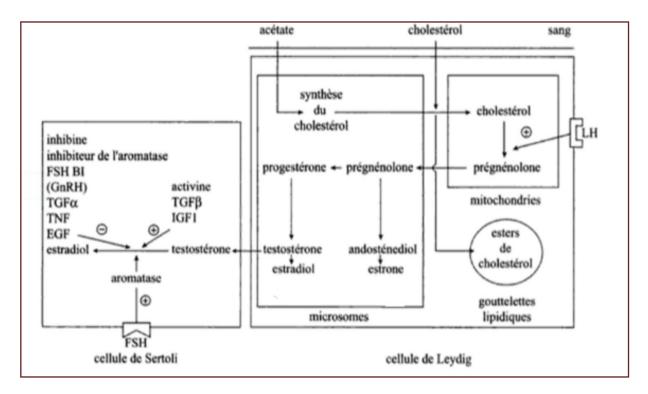
Le transport du cholestérol du cytoplasme vers la membrane mitochondriale est une étape clef, faisant intervenir plusieurs protéines dont la plus importante est la protéine STAR (Steroidogenic Acute Regulatory protein) (Clark et *al.*, 1994).

La transformation du cholestérol en testostérone nécessite plusieurs étapes qui permettent la conversion du cholestérol en prégnénolone par le cytochrome P450scc au niveau de la membrane interne de la mitochondrie (O'Shaughnessy et Murphy, 1991).

Si la testostérone est l'hormone gonadique majoritaire chez le male, elle n'est pas la seule à être synthétisée et capable d'agir sur les tissus cibles, comme la 5α-dihydrotestostérone

produite sous l'influence de l'enzyme  $5\alpha$ - réductase à partir de la testostérone qui participe entre autres, à la différenciation masculine des organes génitaux externes au cours du développement embryonnaire (Shimazaki et *al.*, 1965), et l'æstradiol également produit suite à la conversion de la testostérone par l'aromatase cytochrome P450 (Ryan et *al.*, 1972; Simpson et *al.*, 1994).

En association avec la FSH, la testostérone est essentielle pour l'initiation et le maintien de la spermatogenèse et agit sur les cellules de Sertoli, et les cellules péri tubulaires, via des récepteurs spécifiques pour stimuler indirectement la spermiogenèse par une voie paracrine (Figure 12) (Wosnitzer et Paduch, 2013).



**Figure 12**: Stéroidogenése dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).

#### 1.3. Physiologie et fonction de l'épididyme

D'après Badran et Hermo (2002), l'épididyme doit remplir plusieurs fonctions : l'acquisition de la motilité, maturation des spermatozoïdes, stockage et protection des spermatozoïdes.

#### 1.3.1. Acquisition de la motilité

La durée de transit des spermatozoïdes dans l'épididyme est de l'ordre de 12 jours environ (Rowley et *al.*, 1970). Chez la plupart des mammifères, la motilité débute dans le corps mais la

motilité progressive est acquise dans la région caudale de l'épididyme. À la sortie du testicule et dans la tête antérieure, les spermatozoïdes sont immobiles. Dans la tête distale, les spermatozoïdes présentent une grande courbure statique avec quelques oscillations de l'extrémité du flagelle sans déplacement. Dans le corps de l'épididyme apparaissent les mouvements transitoires non coordonnées, et dans la région caudale, les spermatozoïdes présentent une trajectoire rectiligne (mobilité progressive) (Dacheux et *al.*, 1990).

Selon Carr et *al.* (1985), l'immobilité des spermatozoïdes dans l'épididyme est due à l'immaturité de leur équipement mitochondrial (dans les régions proximales du tubule), à la faible tension intraluminale en oxygène et au fait que le pH et la disponibilité en substrat énergétique ne sont pas optimaux.

#### 1.3.2. Maturation des spermatozoïdes

La maturation des spermatozoïdes est un processus complexe qui dépend d'un certain nombre de modifications morphologiques et physiologiques, durant ce processus les spermatozoïdes acquirent leur motilité et leur pouvoir de féconder un ovule. Ce processus commence dans les testicules et se poursuit lors de leur passage dans les cônes efférent et l'épididyme (Yeung et *al.*, 1998).

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

Parmi les modifications post traductionnelles, générées par des enzymes et des molécules du fluide, se trouvent entre autres la glycosylation de certain protéines membranaire (Tulsiani et *al.*, 1993), ainsi que leur phosphorylation par des protéines kinases (Nath et Majumder, 1999), et l'endocytose des glycoprotéines sécrétées par les cellules de l'épididyme (Liu et *al.*, 2000).

Des protéines à la surface des spermatozoïdes peuvent être ajouter ou modifier durant la traverser de l'épididyme (Légaré et *al.*, 2001) comme les protéines p34H impliquées et indispensables dans la réaction entre les spermatozoïdes et la zone pellucide (Boue et *al.*,1996).

#### 1.3.3. Stockage des spermatozoïdes

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).

Lors de l'éjaculation les spermatozoïdes sortent de la queue de l'épididyme et se mélangent au sécrétions des glandes annexes (vésicules séminale et la prostate) et commençant ainsi leur course à la rencontre de l'ovocyte à féconder (Jones, 1979).

#### 1.3.4. Protection des spermatozoïdes

D'après Pollanen et Cooper (1994), une des fonctions de l'épididyme est la protection des spermatozoïdes matures, qui sont les cibles de multiples agressions. La barrière hémato-épididymaire les protège contre les attaques du système immunitaire et certaines protéines sécrétées par l'épithélium épididymaire ont, quant à elles, une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatifs.

#### 2. Régulation hormonale de la fonction de reproduction

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

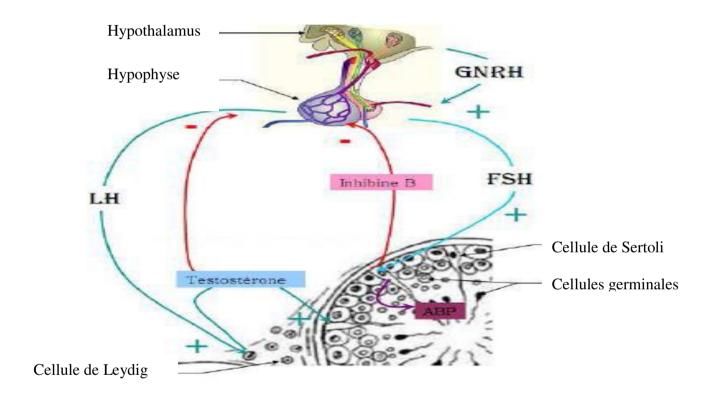
#### 2.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique

Au niveau hypothalamique, le fonctionnement gonadique est sous la dépendance d'une gonadolibérine la GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormone ou gonadolibérine), qui est un décapeptide sécrété par des neurones embryologiquement issus de la placode olfactive, dont les corps cellulaires sont situés dans l'hypothalamus médiobasal (noyau arqué) et antérieurs (noyaux pré et supra optiques) et dont les axones se terminent pour la plupart dans l'éminence médiane (EM) (Thibault et Levasseur, 2001).

Les neurones à GnRH sont eux-mêmes régulés par des neurotransmetteurs, des neuromodulateurs et des facteurs du microenvironnement local (en particulier les cellules gliales environnantes). Ces neurones présentent un mode de sécrétion pulsatile, ce qui est indispensable aux mécanismes de la reproduction. Cela se traduit par des changements de concentration plasmatique, à intervalles plus ou moins réguliers (Cohen-Tannoudji et *al.*, 2014; Duittoz et Prévot, 2014).

La GnRH exerce une action stimulatrice en se fixant sur ces récepteurs localisés sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse et stimule ainsi la synthèse et la sécrétion de deux gonadotrophines : LH (Luteinizing hormon ou hormone lutéinisante) et FSH (follicule stimulating hormon ou hormone folliculostimulante) qui jouent un rôle primordial dans le développement et la fonction endocrine des gonades (Counis et *al.*,2001).

Au niveau testiculaire, la LH se lie aux récepteurs situés sur les cellules de Leydig et stimule la sécrétion de la testostérone (androgène principale sécrétés continuellement à partir de la puberté) qui favorise la spermatogenèse (Widmaier et *al.*, 2009), tandis que la FSH se lie à des récepteurs présents sur les cellules de Sertoli, induisant la production de facteurs Sertoliens tel que l'ABP (Androgen Binding protein), la transferrine et divers agents nécessaires au bon déroulement de la spermatogenèse (Figure 13).



**Figure 13**: Axe hypotalamo-hypophyso-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire (Christiansen et *al.*,2002).

#### 2.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule

Le contrôle exercé par l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire est modulé par un rétrocontrôle assuré par les hormones testiculaires de nature stéroïdienne (testostérone) et protéique (inhibine) (Roser, 2008).

La testostérone circulante induit la puberté et la virilisation, exerce un rétrocontrôle inhibiteur sur la sécrétion de LHRH et LH et à moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus (Bridges et *al.*, 1993; Dohle et *al.*, 2003).

Selon l'intensité de la spermatogenèse, les cellules de Sertoli sécrètent l'inhibine  $\beta$  dans le sang (Anderson et Sharpe, 2000), qui exerce un rétrocontrôle inhibiteur de la sécrétion de FSH par l'hypophyse (Ying, 1988; Hancock et *al.*, 1992; Tilbrook et Clarke, 2001; Dohle et *al.*, 2003).

#### 3. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction

Chez les mammifères supérieurs dont l'homme, l'environnement n'a quasi pas d'effet sur la reproduction contrairement aux autres mammifères où la reproduction est très influencée par les paramètres de l'environnement, tels que la température, l'alimentation, la lumière, la photopériode, la saison et l'humidité.

#### 3.1. Effet de la température

L'influence de la température sur la fonction de reproduction est attribuée plus à un effet d'hyperthermie qu'à un effet d'hypothermie, qui ne semble pas perturber le comportement sexuel des lapins (Boussit, 1989). La température favorable pour la reproduction se situe entre 15 et 18°C (Lebas, 2009).

Chou et *al.* (1974) démontrent que des lapins exposés pendant 20 mn par jour à 43°C durant 3 jours successifs ne présentent plus de spermatozoïdes ni de spermatides dans leurs tubes séminifères dès le 30ème jour après le traitement thermique et que le retour à la normale ne s'effectue que vers la 10ème et la 14ème semaine. De plus les températures supérieures à 30°C réduisent la *libido* des mâles (Lebas et *al.*, 1990).

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

#### 3.2. Effet de l'alimentation

Dans les zones tropicales ou subtropicales, la sous-alimentation est probablement un des facteurs principaux de l'environnement qui limite les performances de reproduction. En effet, selon Luzi et *al.* (1996),un protocole alimentaire restreint réduit la *libido* et quelques caractères séminaux et la restriction des apports énergétiques ou azotés, provoque un retard dans l'âge à la première saillie et une diminution de la production initiale du sperme.

Des carences en vitamine A peuvent provoquer des lésions de l'appareil génital et bloquer la spermatogenèse, alors que l'absence de vitamine E dans la ration entraînant l'atrophie des testicules et la formation d'oedème interstitiel (Chevrel et Cormier, 1948).

Par contre, des niveaux élevés de cholestérol dans le régime alimentaire agissent négativement sur le métabolisme des cellules de Sertoli et le processus normal de la spermatogenèse (Yamamoto et *al.*, 1999).

#### 3.3. Effet de la Photopériode

Selon Lebas et *al.* (1990), des mâles exposés à un éclairement artificiel pendant 16 heures sur 24 heures ont significativement plus de spermatozoïdes dans les gonades que chez ceux exposés à la lumière pendant 8 heures.

#### 3.4. Effet de la saison

Les variations saisonnières de la fonction de reproduction de nombreux mammifères se traduisent par une alternance entre une période d'activité et une période de quiescence. Le moment de l'année où les animaux présentent une reproduction active varie selon les espèces et les latitudes.

Le rythme saisonnier de l'activité de reproduction dépend de la durée de la gestation, mais aussi de la nécessité de synchroniser la gamétogenèse, le comportement sexuel et les périodes de gestation durant l'année (Bronson and Heideman, 1994). C'est ainsi que le volume des éjaculats et leur concentration en spermatozoïdes sont maximum en mars (Frolich, 1948)et minimum en juillet (Brambell, 1944).

Ces variations s'accompagnent d'une réduction de la taille des testicules de mars à juillet, de l'ordre de 60% du poids maximum et d'un accroissement testiculaire dès août. Il s'en suit une "stérilité estivale" associée à une augmentation du pH du sperme, une baisse de la motilité des spermatozoïdes, une diminution de la concentration en spermatozoïdes, une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux et une baisse de la *libido* (Hiroe et Tomizuka, 1965).

#### 3.5. Effet de l'humidité relative ambiante

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

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

#### 3.6. Effet des huiles essentielles

Des études récentes ont montrés que les variations de la fonction de la reproduction chez le lapin ne peuvent pas se limiter aux facteurs cités en dessus.

D'autres facteurs peuvent influencer positivement ou negativement sur la fertilite des lapins mâles comme : facteurs génétiques, facteurs environnementaux et les huiles essentielles.

En effet, kammerer et *al.* (2012) ont mise en evidance que les huiles essentielles selon la plante et la dose utiliséesont capables de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en la perturbant.

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche. L'objectif de ce présent travail est l'étude des effets de l'huile essentielle Menthe poivrée sur la structure des testicules des lapins mâles infantiles âgés en moyenne d'un mois à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids des gonades.

#### 1. Matériel biologique

#### 1.1. Modèle animal

La présente étude est portée sur 41 lapins mâles de la population blanche (*Oryctolagus cuniculus*) âgés d'un mois, provenant d'un élevage cunicole privé situé dans la région deDjebla, wilaya de Tizi-Ouzou.

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantage dans le domaine de la reproduction et permet la mise en évidence de quelques processus reproducteurs comme les changements morphologiques de cycle épithéliale séminifère (figure 14) (Ewuola et Equinike, 2010).

Cette souche est caractérisée par une prolificité importante (9 lapereaux par mi-bas), un poids adulte sensiblement plus élevé et une meilleure aptitude à la croissance que la population algérienne (Lebas et *al.*, 2010).

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

- Règne : Animal

- Embranchement : Vertébrés

- Classe: Mammifères

- Super Ordre: Glires

- Ordre: Lagomorphes

- Famille : Léporides (lièvre et lapin)

- Sous-famille : Leporinae

- Genre : Oryctolagus

- Espèce : Oryctolagus cuniculus



**Figure 14 :** Lapin infantile âgé en moyen d'un mois issu d'un élevage cunicole privé de Diebla.

#### 1.2. Huile essentielle utilisée

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

L'huile essentielle de la Menthe poivrée la plus polyvalente (Figure 15), obtenue par distillation complète des feuilles de menthe (la méthode la plus utilisée est l'hydrodistilation).

Elle possède une couleur jaune clair rafraîchissante et une forte odeur due au menthol. Son usage en pharmacie, en industrie alimentataire et en confiserie est très largement répandu (Keller-Didier, 2004).

Ses principaux constituants sont : Le menthol (monoterpénol) : 35 à 70 % et la menthone (Cétone) ; 20 à 30 %, et d'autres composés minoritaires tels que la menthofuranne : les monoterpènes les sesquiterpènes, les esters (Acétate de menthyle), les oxydes (cinéole) (Abadlia et Chebbour, 2014).



Figure 15: L'huile essentielle Menthe Poivrée.

Les huiles essentielles sont des liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles végétales. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que l'alcool, entraînables à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau avec un indice de réfraction élevé. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation et ont un fort pouvoir de pénétration (El Kalamouni, 2010).

#### 2. Expérimentation

L'administration de l'huile essentielle et les sacrifices sont effectués au niveau de l'élevage cunicole. Tandis que l'étude histologique est réalisée au niveau du laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestres au sein de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

#### 2.1. Protocole expérimental

Des lapins mâles âgés d'un mois sont pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées à l'élevage cunicole et répartis en six lots ; le premier lot est destiné aux témoins (7 lapins) les 5 autres lots (34 lapins) sont destinés aux expérimentaux pour les doses respectives : 200 (μl/kg), 300 (μl/kg), 400 (μl/kg), 500 (μl/kg) et 700 (μl/kg).

Tous les animaux sont exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement et nourris *ad libitum*, avec un aliment sec granulé fabriqué et commercialisé par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de Bétail). L'eau est distribuée en accès libre permanent par des pipettes individuelles.

#### 2.2. Pesée et administration de l'huile essentielle

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle à administrer pour chaque animal et chaque dose et ceci s'explique selon la règle suivante : 1 (kg) — dose (µl)

Poids corporel (kg) → X volume à administré

Le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin. Cette opération s'est déroulée chaque matin pendant 03 jours (Figure 16).



Figure 16:Pesée et administration de l'huile essentielle.

#### 2.3. Sacrifices et prélèvement

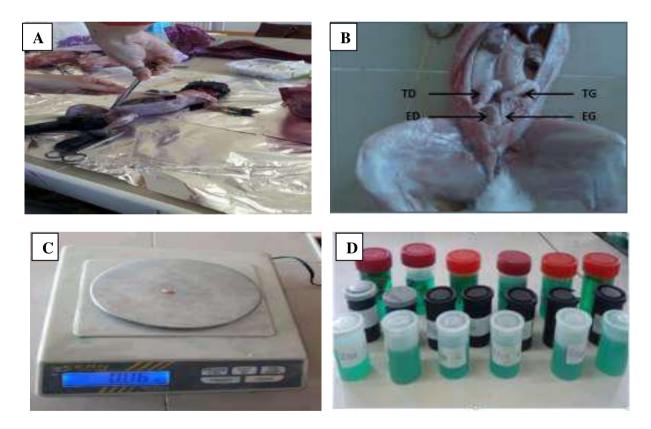
Une semaine après l'administration de l'huile essentielle Menthe poivrée, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9h : 00 et 12h : 00 au niveau de l'élevage cunicole et le laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestres à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.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





Figure 17: Pesée et sacrifice des lapins.

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



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

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

#### 3. Etude histologique

L'étude histologique se déroule en une série d'étapes successives obligatoires qui vont aboutir à l'obtention de coupes fines prêtes à recevoir la coloration histologique d'intérêt. Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes :

- > Fixation des échantillons
- Déshydratation et éclaircissement
- Imprégnation
- > Inclusion
- ➤ Confection des coupes et collage
- Déparaffinage et réhydratation
- > Coloration topographique et Déshydratation
- ➤ Observation des lames

#### 3.1. Fixation des échantillons

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

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

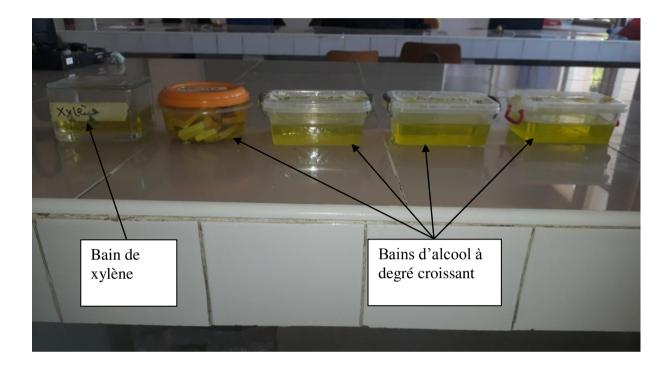




Figure 19 : Fixation des organes par le fixateur Bouin hollande sublimé.

#### 3.2. Déshydratation et éclaircissement

Les pièces ont été déshydratées dans une série d'alcool éthylique de titre croissant (50°, 70°, 90°,100°) pendant 2 heures chacun, ceci permet d'éviter la désorganisation des structures, puis transférés dans des bains de xylène pendant 2 heures pour l'éclaircissement (Figure 20).



**Figure 20:** Série de bains d'alcool éthylique et bain de xylène.

#### 3.3. Imprégnation

L'imprégnation consiste à plonger les organes dans 3 bains successifs de paraffine, de 2 heures pour chaque bain à 60°C, immédiatement après les bains de xylène pour que la paraffine pénètre à l'intérieur de l'organe. Le deuxième et le troisième bain renferment de la paraffine pure, tandis que le premier est constitué d'une moitié de paraffine et moitié toluène. Un séjour prolongé des pièces dans le deuxième bain ne présente aucun inconvénient, à condition que la température ne dépasse pas 60°C.

La déshydratation et l'imprégnation sont réalisées grâce à un automate de circulation de type Leica au niveau du laboratoire d'anotomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Ces deux étapes se font après la programmation de l'appareil et l'insertion des cassettes marquées contenant les pièces (Figure 21).



**Figure 21:** Appareil de circulation du laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou.

#### 3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Cette opération consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C dans un appareil d'enrobage de type Leica (Figure 22). Les organes sont placés dans des moules qui recevront la paraffine. Les cassettes identifiant chaque échantillon, sont placées à la surface des moules (Figure 23). De la paraffine est coulée dans les moules jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante de l'appareil (-10 à -15°C) jusqu'à solidification du bloc.



Figure 22: Machine à enrobage du laboratoire d'Anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou.

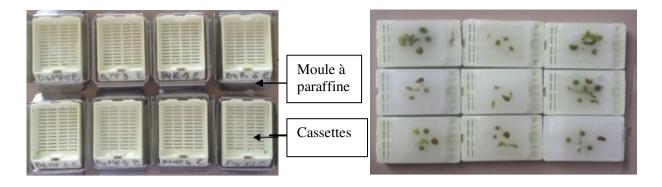
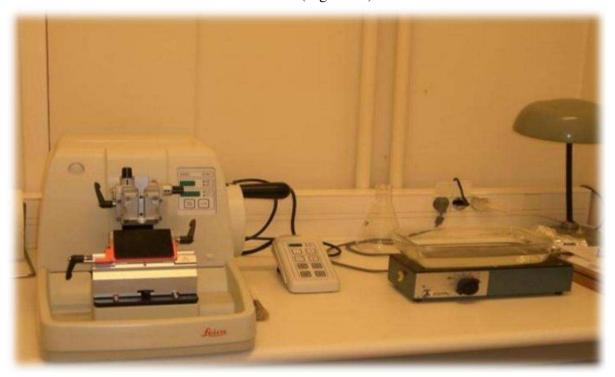


Figure 23: Organes placés dans des moules qui recevront la Paraffine.

#### 3.5. Confection des coupes et collage

Des coupes fines ont été réalisé de 2 à 5µm d'épaisseur sur les blocs d'organes, enutilisant un microtome à paraffine de type Leica au niveau de laboratoire d'anatom-pathologiedu CHU de Tizi-Ouzou. Les coupes sont récupérées sur des lames porte-objet propres qui seront incubées toute une nuit à 38°C dans une étuve (Figure 24).



**Figure 24:** Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite.

#### 3.6. Déparaffinage et réhydratation

Avant de procéder à la coloration, les lames doivent être déparaffiner et placées dans un milieu aqueux, car les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux.

Le déparaffinage est une opération qui permet de retirer la paraffine qui imprègne la coupe. Il est suivi d'une réhydratation, qui est une séquence inverse de celle de la déshydratation (Figure 25). Il consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à des degrés décroissants (100°, 90°, 70°,50°).



Figure 25: Bains d'alcool et de xylène de la circulation.

#### 3.7. Coloration topographique et Déshydratation

Le but de la coloration histologique est la différenciation optique qui consiste à faire ressortir des constituants déterminés de la préparation microscopique. La coloration effectuée sur des échantillons est celle de la coloration topographique de Trichrome de Masson (Figure 26).

La coloration permet de mettre en évidence (grâce aux colorants utilisés) le noyau en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres de collagènes sont vertes.

Cette coloration est suivie d'une déshydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°,90°, 100°).

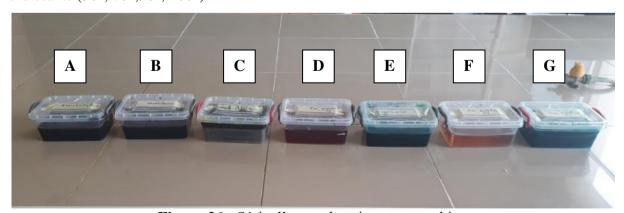


Figure 26 : Série d'une coloration topographique

A: Hématoxyline ; B: Fuschine Ponceau ; C: Eau Acétifiée ; D: Acide Phosphomolybdique

;E: EauAcétifiée; F: Vert Lumière; G: Eau Acétifiée

#### 3.8. Observation des lames

L'observation des lames se fait à l'aide d'un microscope photonique de type optica qui permet d'observer toutes variations ou modifications des structures histologiques des gonades (figure 27). Des photographies sont prises grâce à un appareil photo numérique, de ce fait le grossissement de l'observation change et est calculé de la manière suivante :

G= Vobj x Vz x Agrandissement de l'appareil

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



Figure 27: Observation des lames au microscope optique.

#### 4. Etude statistique

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

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque paramètre, suivie par la valeur de l'erreur standard liée à la moyenne « ESM ».La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisés à l'aide d'un logicielle informatique OriginLab 2007 et la valeur des probabilités « P » est la suivante :

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

Les résultats rapportés dans cette recherche concernent le poids corporel avant et après administration de l'huile essentielle menthe poivrée ainsi que le poids des testicules gauches et droits et le poids relatifs, des lapins infantiles âgés de 1 mois, puis nous avons réalisé une étude histologique sur les structures gonadiques testiculaire.

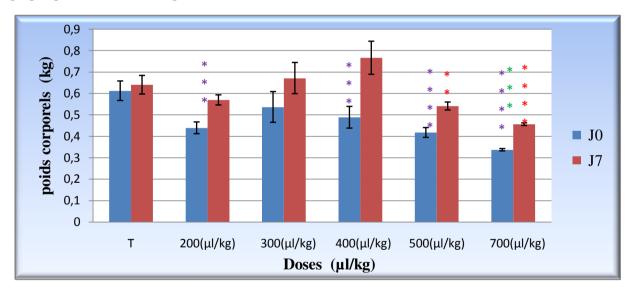
#### 1. Poids corporel

La pesée des lapins a été effectuée deux fois, avant et après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée pour évaluer l'effet de cette l' huile sur le poids corporel des lapins infantiles âgés de 1 mois à des doses différentes 200 (μl/kg), 300 (μl/kg), 400 (μl/kg), 500 (μl/kg) et 700 (μl/kg).

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

#### 1.1. Poids corporel des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée

Le poids corporel des lapins infantiles âgés en moyenne d'un mois avant et après administration de l'huile essentielle Menthe poivrée aux différentes doses est exprimé graphiquement dans la Figure 28.



**Figure 28** : Représentation graphique du poids corporel des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée à différentes doses.

T : Témoin ; Jour 0 : avant traitement ; Jours 7 : après traitement

- (\*): Comparaison entre J0 et J7.
- (\*): Comparaison entre témoins et doses.
- (\*): Comparaison entre doses successives

Selon le graphe, la valeur moyenne du poids corporel des animaux à J7 est supérieure à celui de J0. Néanmoins, l'écart entre J7 et J0 est faible chez les témoins (0.028 kg) et important chez les lapins traités par la Menthe poivrée qui varie entre 0.119 kg pour la dose 5 et 0.278 kg pour la dose 3.

La comparaison des poids corporels entre J0 et J7 a montré une différence très significative (P<0.01) aux doses 1 (200  $\mu$ l/kg) et 3 (400 $\mu$ l/kg) et hautement significative (P< 0.001) aux doses 4 (500  $\mu$ l/kg) et 5 (700  $\mu$ l/kg).

Cependant, après le traitement J7 les valeurs moyennes du poids corporel des lapins témoins est de  $0.640 \pm 0.043$  alors que chez ceux traités est de  $0.569 \pm 0.023$  à la dose  $1(200 \,\mu\text{l/kg})$  qui augmente jusqu'à  $0.766 \pm 0.077$  à la dose  $3(400 \,\mu\text{l/kg})$  pour ensuite diminuer jusqu'à  $0.455 \pm 0.005$  à la dose  $5(700 \,\mu\text{l/kg})$ .

Néanmoins, nous avons constaté une différence très significative (P<0.01) entre les lapins témoins et ceux traités à la dose 5 (700 μl/kg).

Toutefois, l'effet dose sur le poids corporel a révélé une augmentation des poids vifs à partir de la dose 1 (200  $\mu$ l/kg) jusqu'à la dose 3 (400  $\mu$ l/kg), cependant à partir de la dose 500 ( $\mu$ l/kg) ces paramètres sont inversement proportionnelles à la dose administrée. Ces variations révèlent une différence peu significative (P<0.02) à la dose 4 (500  $\mu$ l/kg) et hautement significative (P<0.001) à la dose 5 (700  $\mu$ l/kg).

#### 2. Poids testiculaire

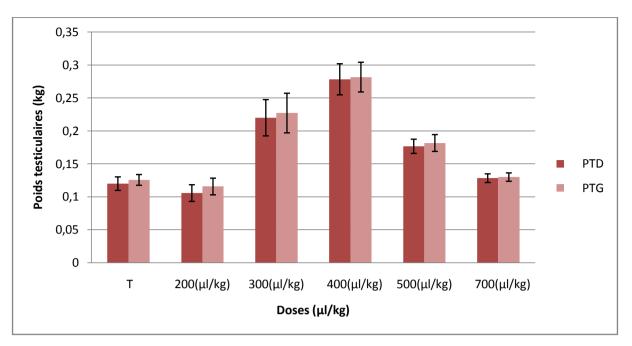
Après l'administration de l'huile essentielle Menthe poivrée et la dissection des animaux, les testicules ont été récupérés puis pesés dans le but d'évaluer l'évolution de leur poids.

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

#### 2.1. Poids testiculaire absolue

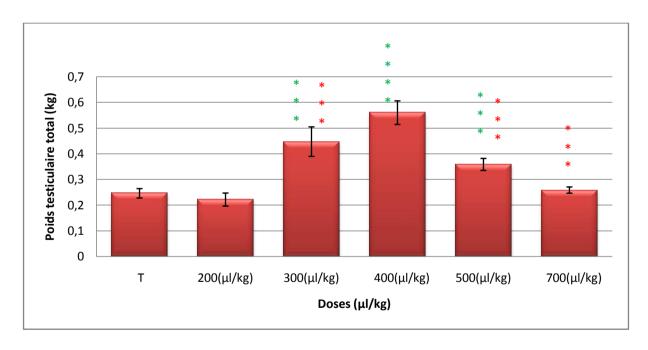
Les figures 29 et 30 représentent les poids des testicules gauches et droits et le poids total des lapins infantiles âgés en moyenne d'un mois en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée Menthe poivrée.

Les valeurs moyennes du poids des testicules gauches sont légèrement supérieures à celles des testicules droits chez tous les lapins témoins et traités.



**Figure 29:** Représentation graphique du poids testiculaires droits et gauches des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée à différentes doses.

T : Témoin ; PTD: Poids testiculaire droit ; PTD: Poids testiculaire gauche.



**Figure 30:**Représentation graphique du poids total des testicules des lapins traités par l'huile essentielle Menthe poivrée à différentes doses.

T: témoin

(\*): Comparaison entre témoins et doses.

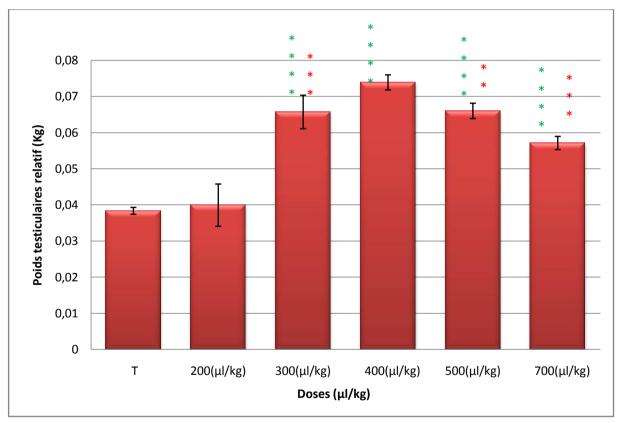
(\*): Comparaison entre doses successives.

Le poids testiculaire total est de  $0.245\pm0.018$  chez le témoin alors que chez ceux traités, il est de  $0.221\pm0.025$  à la dose 1 puis augmente à la valeur de  $0.56\pm0.045$  à la dose 3 qui représente une valeur maximale et importante pour ensuite diminuer jusqu'à la valeur de  $0.258\pm0.012$  à la dose 5.

La comparaison entre les lots témoins et le lot traités a montré une différence très significative (P < 0.01) à la dose 2 et 4 et hautement significative (P < 0.001) à la dose 3 tandis que la comparaison des traités entre eux a montré une différence très significative (P < 0.01) aux doses 2,4 et 5.

### 2.2. Poids testiculaires relatifs à 100g du poids corporel des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée

Les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules des lapins infantiles âgés en moyen d'un mois traités par l'huile essentielle Menthe poivrée est présentée dans la figure 31.



**Figure 31 :** Représentation graphique du poids testiculaire relatif à 100 g du poids corporel des lapins mâles infantiles traités par l'huile essentielle Menthe poivrée aux doses différentes.

- (\*): Comparaison entre témoins et doses.
- (\*): Comparaison entre doses successives.

Le poids testiculaire relatif à 100g du poids corporel révèle une variation entre les lots expérimentaux (dose 1 ; dose 2 ; dose 3 ; dose 4 et dose 5) et le lot témoin. En effet, sa valeur moyenne est de  $0.038 \pm 0.0009$  chez les lapins témoins, alors que chez les lots traités elle est de  $0.039 \pm 0.005$  à la dose 1 et s'élève pour atteint une valeur maximale et importante qui est de  $0.073 \pm 0.002$  à la dose 3 puis elle diminue à  $0.057 \pm 0.001$  chez ceux traités à la dose 5 .

Cependant, on a constaté une différence hautement significative (P < 0.001) entre les lapins témoins et ceux traités aux doses 2, 3, 4 et 5. Tandis que la comparaison des traités entre eux a montré une différence très significative aux doses 2 et 5, ainsi qu'une différence peu significative (P < 0.02) à la dose 4.

#### 3. Etude histologique des structures testiculaires

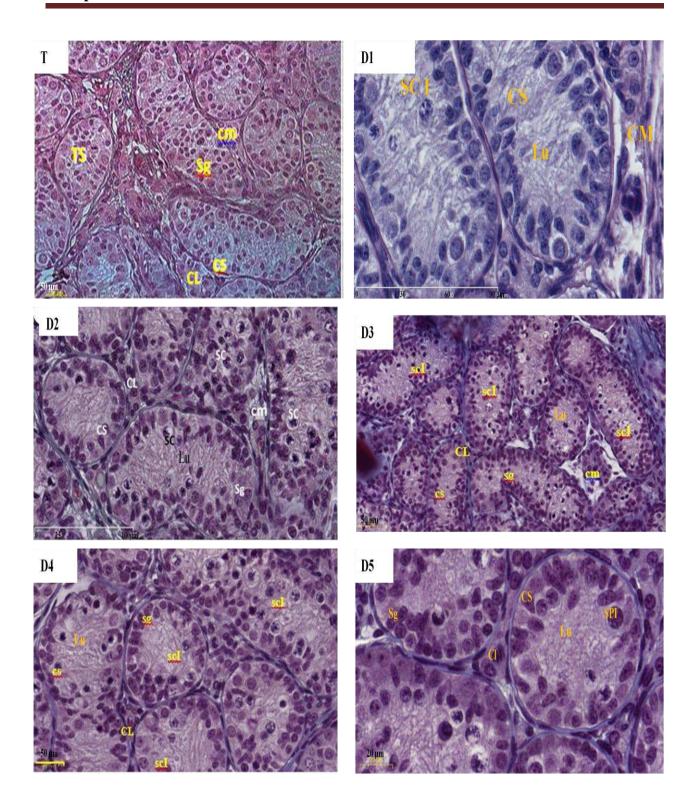
La structure histologique des testicules des lapins âgés en moyen d'un mois qui est représentée dans la planche 1, révèle une grande variabilité entre les lapins traités par l'huile essentielle Menthe poivrée aux différentes doses :200 (μl/kg), 300 (μl/kg), 400 (μl/kg), 500 (μl/kg) et 700 (μl/kg) est observée sous un microscope optique au fort grossissement.

#### 3.1. Testicules des lapins témoins

Les structures testiculaires des lapins témoins âgés de 1 mois révèlent, au fort grossissement, des tubes séminifères dépourvus d'une lumière et formés d'un épithélium séminifère constitué de deux types cellulaires : des spermatogonies et des cellules de Sertoli.

Les spermatogonies sont des cellules peu volumineuses, à noyaux arrondis et une chromatine condensée distribuées sur toute la section du tube à la périphérie. Les cellules de Sertoli, reconnaissables par leurs noyaux à encoches, de forme irrégulière, conique, pyramidale, ou triangulaire, sont des cellules de grande taille reposant sur la lame basale qui s'étendent jusqu'à la lumière du tube séminifère et émettent des expansions cytoplasmiques apicales.

Un espace interstitiel important et richement vascularisé est visible entre les tubes séminifères constitué des cellules de Leydig qui sont organisées en amas ou bien dispersées dans cet espace et des cellules fusiformes appelées cellules péritubulaires ou cellules myoïdes entourant les tubes séminifères (planche 1).



**Planche 1 :** Coupes histologiques des testicules des lapins infantiles du lot témoin et ceux traités par l'huile essentielle Menthe poivrée aux doses respectives 200  $\mu$ l/kg, 30 $\mu$ l/kg, 400  $\mu$ l/kg, 500  $\mu$ l/kg et 700  $\mu$ l/kg.

 $\textbf{Lu}: Lumière, \textbf{Sg}: spermatogonie \textbf{; Cs}: cellule de Sertoli \textbf{; Sc}: spermatocytes \textbf{; Cm}: cellule myoïde \textbf{; CL}: cellule de Leydig \textbf{; T}: Témoin \textbf{; D1}: Dose \textbf{1}(200\mu\text{l/kg}) \textbf{; D2}: Dose\textbf{2} (300\mu\text{l/kg}) \textbf{; D3}: Dose\textbf{3} (400\mu\text{l/kg}) \textbf{; D4}: Dose\textbf{4} (500\mu\text{l/kg}) \textbf{; D5}: Dose\textbf{5} (700\mu\text{l/kg}).$ 

#### 3.2. Testicules des lapins traités par la Menthe poivrée

La structure des testicules des lapins traités par la Menthe poivrée aux doses respectives de 200 (μl/kg), 300 (μl/kg), 400 (μl/kg), 500 (μl/kg) et 700 (μl/kg), révèle la mise en place de la lumière au niveau de tous les tubes séminifères avec un épithélium constitué de cellules de Sertoli à noyaux triangulaires qui se prolongent jusqu'à la lumière et de spermatogonies à noyaux ronds condensés. La structure histologique des testicules des lapins traités à la dose 1 (200μl/kg), révèle l'apparition des premiers spermatocytes I à noyaux volumineux, décondensés et grossiers dans quelques tubes séminifères, alors que chez ceux traités à la dose 2 (300μl /kg) montrent la présence des spermatocytes I dans la plupart des tubes séminifères. Cependant, ceux traités à la dose 3 (400 μl/kg) présentent plusieurs spermatocytes I dans tous les tubes séminifères, à l'inverse ceux traités à la dose 4 (500 μl/kg) et 5 (700 μl/kg) présentent peu de spermatocytes I dans tous les tubes séminifères qui sont plus nombreux à la dose 4 par rapport à la dose 5 (planche1).

#### 4. Discussion

La phase infantile s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours et durant ce stade les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermato-génétique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger et *al.*, 1982). En effet, après l'administration de l'huile essentielle Menthe poivrée, les résultats obtenus dans cette étude révèlent des modifications des structures testiculaires, ainsi que des paramètres macroscopiques (poids corporel, poids testiculaires absolus et relatifs) chez des lapins mâles infantiles traités par cette l'huile.

#### 4.1. Poids corporels et testiculaires

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

Les poids corporels et testiculaires des lapins infantiles traités par la Menthe poivrée sont plus élevés que chez les témoins d'un part, d'autre part ces paramètres sont doses dépendants aux doses inférieure à 400 (µl/kg), car ils augmentent avec l'augmentation de la dose administrée. Néanmoins, à partir de la dose 500 (µl/kg) ces paramètres diminuent alors que la dose augmente.

Les résultats obtenus corroborent avec ceux obtenus par Smah et Ould Mokhtar (2018) qui ont constatés également l'augmentation des poids corporels et testiculaires des lapins infantiles traités par la Menthe poivrée aux doses 200 et 400 (µl/kg).

L'étude de Nantia et *al.* (2007) porté sur l'effet de l'extrait au methanol de *Bsella alba L*. à la dose de 80 (µl) pendant 30 jours chez le rat mâle, révèle que le poids corporel des animaux croit avec le temps.

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

Kuçukyilmez et *al*. (2017) soulignent une augmentation du poids corporel de 47et 83 (g) chez les oiseaux nourris avec 24 et 48 (mg) d'huile essentielle de lavande pendant 60 jours sans consommation d'aliments supplémentaires, cette huile pourrait être considérée comme un facteur de croissance.

De même, les résultats sur l'augmentation du poids corporels sont similaires à ceux d'études antérieures sur la supplémentation des régimes de poulets de chair avec des huiles essentielles d'origan, romarin, sauge et de lavande (Alçiçk et *al.*, 2003, Alçiçk et *al.*, 2004, Botsoglou et *al.*, 2004, Bozkurt et *al.*, 2009, Bozkurt et *al.*, 2012).

A l'inverse, les résultats sont contradictoire avec l'étude réalisée par Eitimad (2017), sur l'effet de l'extrait aqueux de la menthe (*crispa* et *piperita*) sur le poids corporel des rats sauvages (*Rattus Norvegicus*) qui diminue à la dose de 50mg/kg.

L'extrait aqueux des feuilles de *Psidium guajava* a été donné à des rats albinos mâles a une dose de 250 et 500 (mg/kg) a induit une réduction significative du poids corporels et des organes reproducteurs (Choudhury et Sinha., 2014).

Les résultats obtenus sur le développement du poids des testicules corroborent avec ceux obtenus par Haeri et *al.* (2006), qui ont montré que l'administration de l'huile essentielle de la sarriette *Satureja khuzestanica* (SKEO) par voie orale aux doses 75, 150 et 225 (mg/kg/jour) pendant 45 jours a provoqué une augmentation significative du poids des testicules, des épididymes et vésicules séminales qui sont dues à l'augmentation du nombre de spermatogonies, de spermatides, de cellules de Leydig et de spermatozoïdes et un taux plus élevé de spermatogenèse, confirmé par leur résultats d'histopathologie.

Par conséquent, le poids des organes sexuels élargi est le résultat de l'augmentation des taux sériques de FSH et de testostérone sous l'effet de l'huile essentielle de la sarriette *Satureja khuzestanica* (SKEO).

Morakinyo et *al.* (2008) ont démontrés une augmentation significative du poids testiculaire des rats après 28 jours de traitement par du *Zingiber* en fonction de la dose et de la durée par rapport aux témoins.

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

Selon Prins et *al*. (1991) et Kamtchouing et *al*. (2002) l'augmentation du poids absolue des testicules pourrait être due à une biosynthèse accrue des androgènes comme en témoigne une augmentation accrue des taux sérique de testostérone chez des rats expérimentaux traités par du Zingiber.

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

A l'inverse les résultats obtenues par Bashandy (2007), démontrent qu'il y'a une diminution significative du poids du testicule après 2 mois de traitement par l'huile essentielle de *Nigella Sativa* par rapport aux rats témoins.

L'extrait de la menthe verte *Mentha spicata* à la dose de 20 (g/l) pendant 35 jours provoquée chez des rats une diminution significative du poids des testicules, épididymes, vésicule séminale et de la prostate tandis que à la dose de 40 (g/l) de la menthe verte pendant 25 jours, a causé une diminution significative de la LH sérique, FSH, la testostérone et la concentration des spermatozoïdes au niveaux de l'épididyme (Kumar et *al.*, 2008).

En effet, l'administration de l'extrait de fleurs de benzène d'*Hibiscus rosa sinensis* à des rats albinos mâles, à la dose de 200 (mg/kg) de poids corporel, a induit une diminution du poids corporel et des organes reproducteurs tels que les testicules et les épididymes avec une réduction significative de la numération des spermatozoïdes et de motilité du sperme. L'étude a révélé que l'extrait de fleurs de benzène d'Hibiscus *rosa sinensis* à une activité antifertilité (Kumar et *al.*, 2014).

Les effets de différentes doses d'extraits de méthanol de feuilles, d'écorce, de tige et de racine de la plante *Ximenia americana* sur le système reproducteur masculin ont été étudiés chez des rats mâles. Les résultats obtenus ont montré que ces extraits ont induit une diminution de poids du testicule et du nombre de spermatozoïdes et une augmentation des anomalies morphologiques du spermatozoïde (Adeiza et *al.*,2011).

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

#### 4.2. Histologie testiculaire

Nous avons constatés que la structure histologique des testicules des lapins mâles infantiles traités par la Menthe poivrée diffère de celle des témoins, avec la mise en place de la lumière au niveau de tous les tubes séminifère ainsi que l'apparition des nouveaux stades de spermatogenèse tels que l'apparition des premiers spermatocytes I. En effet, au fur et à mesure qu'on augmente la dose, le nombre de ces cellules et les tubes séminifères augmentent jusqu'à la doses 400 (µl/kg), néanmoins à partir de la dose 500 (µl/kg) leur nombre est inversement proportionnelle.

Sur le plan histologique la Menthe Poivrée a induit l'apparition de plusieurs spermatocyte I dans tous les tubes séminifères chez les lapins mâles infantiles traités à la dose 400 (µl/kg), tandis que ceux traités à la dose 500 (µl/kg) présente à l'inverse peu de spermatocytes I dans tous les tubes séminifères (Saidj et Tamani ., 2018).

Selon l'étude de Mukhallad et *al.* (2009) sur l'action de l'extrait aqueux de la nigelle, administré par voie orale à 300 mg/kg pendant 60 jours, sur la fertilité du rat mâle, montre une augmentation significative du poids des organes reproducteurs par rapport aux témoins, ainsi qu'une stimulation des paramètres de reproduction tels que la motilité et le nombre des spermatozoïdes dans les canaux testiculaires. Une augmentation significative de l'activité de la spermatogenèse a été observée dans les tubules séminifères des rats traités au niveau des spermatides, spermatocytes primaires et secondaires.

Al-Sa'aidi et *al.* (2009) observent lors de leurs études sur l'effet des extraits alcooliques de *Nigella sativa* sur la fertilité du rat une augmentation significative du poids du testicule, du diamètre et de l'épaisseur des tubes séminifères contenant des spermatogonies et spermatocytes, ainsi qu'une augmentation de la hauteur des cellules épithéliales entourant l'épididyme chez les groupes expérimentaux.

Akdogan et *al.* (2004) rapportent lors de leur étude sur l'effet de la *Mentha Piperita* sur la reproduction du rat mâle, que le diamètre des tubes séminifères augmente.

A l'inverse les résultats obtenus par Bashandy (2007), démontrent qu'il y'a une diminution significative du poids du testicule après 2 mois de traitement par l'huile essentielle de Nigella *sativa* par rapport aux rats témoins.

Selon The Jashwini et *al.* (2012), une réduction significative du nombre de spermatozoïdes, du poids des organes reproducteurs et du niveau de testostérone sérique, ainsi que sur le plan histologique une réduction du diamètre des tubes séminifères et du diamètre des cellules de Leydig chez des souris Swiss albinos traités par l'extrait éthanolique de gousses de *Cyamposis psoralioides* (gomme guar) aux doses de 200 et 400 (mg/kg) de poids corporel pendant 40 jours.

### Conclusion

Au terme de notre étude portée sur les effets de l'huile essentielle Menthe poivrée sur les paramètres macroscopiques et le développement des structures testiculaires chez les lapins infantiles de la population blanche à différentes doses : 200 (μl/kg), 300 (μl/kg), 400 (μl/kg), 500 (μl/kg) et 700 (μl/kg). Il en ressort que ces différents paramètres changent suite au traitement et en fonction de la dose administré.

En effet, les poids corporels et testiculaires des lapins infantiles traités par la Menthe poivrée sont plus élevés que chez les témoins d'un part, d'autre part ces paramètres sont doses dépendants aux doses inférieure à 400 ( $\mu$ l/kg), car ils augmentent avec l'augmentation de la dose administrée. Néanmoins, à partir de la dose 500 ( $\mu$ l/kg) ces paramètres diminuent alors que la dose augmente.

Sur le plan histologique, la structure testiculaire des lapins traités révèle l'apparition des premiers spermatocytes I dans quelques tubes séminifères à partir de la dose 200 (μl/kg), dont le nombre de cellules et le nombre des tubes séminifères la contenant augmentent en fonction de la dose administrée jusqu'à la dose 400 (μl/kg), cependant on a constaté l'inverse à partir de la dose 500 (μl/kg).

De ce fait, il semblerait que l'huile essentielle Menthe poivrée a un effet positif sur le développement des poids corporels et testiculaires à partir de la dose  $200(\mu l/kg)$  jusqu'à la dose  $400~(\mu l/kg)$ , favorisant ainsi la fertilité des lapins infantiles, tandis qu'elle a un effet inverse à partir de la dose  $500~(\mu l/kg)$ , c'est pour cette raison qu'elle est considérée comme un produit phyto-æstrogène dont l'action est semblable à celle d'une hormone.

Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt d'analyser la semence pour identifier les caractéristiques de la fertilité des lapins traités avec cette huile essentielle, étudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus, renforcer cette étude par une étude histo-morphométrique afin d'étudier les effets de la Menthe poivrée sur les paramètres microscopiques (le diamètre des tubes séminifères, la hauteur des cellules épithéliales), de réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus importantes sur un effectif plus grand, d'étudier l'impact de l'huile essentielle de la Menthe poivrée sur la fertilité féminine ainsi que les effets d'autres huiles sur les structures testiculaires et épididymaires.

# Références Bibliographiques

- ➤ Abadlia M. et Chebbour A.H. (2014). Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire Master: Métabolisme secondaire. Département de biologie et écologie végétale : Université Constantine : 90 p.
- ➤ **Abe K., Takano H., et Ito T.** (1983).Ultra-structure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. *Arch. Histol.Jpn.*,46: 51–68.
- ➤ **Abou-Haïla A. et Fain-Maurel M.A.** (1984). Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: Morphological and histo chemical characterization. *Anat. Rec.*, 209: 197–208.
- ➤ Abraham L. et Kierszenbaum. (2002). Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. De Boeck, Paris : 529p.
- ➤ Adamali H.I. et Hermo L. (1996). Apical and narrow cells are distinct cell types differing in their structure, distribution, and functions in the adult rat epididymis. *J. Androl.*, 17: 208–222.
- Adamali H. I., Somani I.H., Huang J. Q., Mahuran D., Gravel R.A., Trasler J. M. et Hermo L. (1999). Abnormalities in cells of the testis, efferent ducts, andepididymis in juvenile and adult mice with beta-hexosaminidase A and B deficiency. *J.Androl.*, 20: 779-802.
- Adeiza A., Abubakar M. et Minka N.S. (2011). Effects of methanol extract of *Ximenia americana* on sexual behaviour, testicular weight, sperm count and sperm morphology of wister rats. *Annals of Bio. Res.*, 2:107-113.
- Akdogan M.,Ozguner M.,Kocak., Oncu M. et çice K.E.(2004). Effects of peppermiut teas of plasma testosterone, follicle-stimul ating hormone, a luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. *Reprod.*, 44:394-398.
- ➤ Alçiçek A., Bozkurt M. et Çabuk M. (2003). The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. S. Afr. J. Anim. Sci., 33: 89-94.
- ➤ Alçiçek A., Bozkurt M. et Çabuk M. (2004). The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. S. Afr. J Anim. Sci., 34: 217-222.
- ➤ Allrich R.D., Christenson R.K., Ford J.J. et Zimmerman D. R. (1983). Pubertal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and in vitro production of testosterone and estradiol-17 beta. *Bio. Reprod.*, 28.(4):902-909.

- ➤ Al-Saaidi J.A., AL-Khuzai A.L.D.et Al-Zobaydi N.F.H. (2009). Effect of alcoholic extract of Nigella Sativa of fertility in male rats. *Reprod.*, *14*: 123-128.
- ➤ Alvarino J.M.R. (1993). Control de la reproduction en el conejo. 1er éd., IRYDA, Mundiprensa : 137p.
- ➤ Alvarino J.M.R. (2000). Reproductive performance of male rabbits. In: Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia: 135 p.
- ➤ Amann R.P. (1993). Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, VOSS JL(eds), Equine Reproduction, 1 ed., Lea et Febiger ed., Philadelphia : 1154 p.
- ➤ Amann R.P. (2011). Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (eds), Equine Reproduction, 2ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell: 988 p.
- ➤ Anderson R.A. et Sharpe R.M.(2000). Regulation of inhibin production in the human male and its clinical application. *Int. J. Andro.*, 23: 136-144.
- ➤ Arient I.G., Carlini E., Verdacchi R. et Palmerini C.A.(1977). Transfert of aminopeptidase activity from prostasomes to sperm. *Biochim.biophys.acta.*,(1336): 269-274.
- ➤ **Badran H. H. et Hermo L. (2002).** Expression and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *J. andro.*, 23:358-373.
- ➤ Bailleul J.P., et Mauroy B. (1991). Anatomie des testicules et voies spermatiques et des bourses, éd. techniques EMCnéphrologie-urologie, France : 1860 p.
- ➤ Baril G., Chemineau P., Cognie Y., Guerin Y., Leboeuf B., Orgeur P. et Vallet J.C. (1993). Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Ed. FAO, Rome: 231p.
- ➤ Barone R. (1976). Anatomie comparée des Mammifères domestiques. Tome 3 : Splanchnologie 2 : Appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale. Paris : 896 p.
- ➤ Barone R. (1978). Color atlas of veterinary anatomy. *Anat.Rec.*, vol.1-2: 59-64.
- ➤ Barone R. (1984) .Anatomie comparée des mammifères domestique, tome 2 : Splanchnologie 1, appareil digestif, appareil respiratoire. Eds. Vigot, Paris (France) : 853 p.
- ➤ Barone R. (2001). Anatomie comparée des mammifères doméstiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot Frères, Paris : 896 p.

- ➤ **Bashandy S.** (2007). Effect of fixed oil of nigella sativa of male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *Int. j. pharmaco.*, (1): 27-33.
- ▶ Beaulieu V., Da Silva N., Pastor-Soler N., Brown C.R., Smith P.J.S., Brown D. et Breton S. (2005). Modulation of the actin cytoskeleton via gelsolin regulates vacuolar H+-ATPase recycling. J. Biol. Chem., 280: 8452–8463.
- ➤ **Bedford J.M.** (1979). Evolution of the sperme maturation and sperm storage functions of the epididymis. In: fawcett dw, Bedford JM(éd). The spermatozoa. Baltimore: 138 p.
- ➤ **Bedossa L. (1998).**Exploration de la fonction de reproduction. Versant masculin. Cahier de formation, bio. méd.,42 : 12-15.
- ➤ Bellve A.R., Cavicchia J.C., Millette C.F., OBrien D.A., Bhatnagar Y.M. et Dym M. (1977). Spermatogenic cells of the prepuberal mouse. Isolation and morphological characterization. *J. Cell Biol.*, 74: 68-85.
- ➤ Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckhein M., Veyssiere G., Blanc M.R., Poirier J.C. et Jean C. (1982). Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrino.*, 99: 459-465.
- ➤ **Boiti C.** (2005). Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *Worl. Rabbit Sci.*, 13: 71-91.
- Bonnes G., Desclaude J., Desclaude J., Drogoul C., Gadoud R., Jussiau R., Le Loc'h A., Montémas L. et Robin G. (2005). Reproduction des animux d'élevage. 2éme Ed. Educagri., Jenève : 407p.
- > Botsoglou N.A., Christaki E., Florou-Paneri P., Giannenas I., Papageorgiou G. et Spais A.B. (2004). Effect of a mixture of herbal essential oils or α-tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. S. Afr. J. Anim. Sci., 34: 52-61.
- ➤ Boue F., Blais J. et Sullivan R. (1996). Surface localization of P34H an epididymal protein, during maturation, capacitation, and acrosome reaction of human spermatozoa. *Bio. reprod.*,54 : 1009-1017.
- ➤ **Boussit D.** (1989). Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion Lavoisier tec. et doc. France : 240p.
- ➤ Bozkurt M., Küçükyılmaz K., Çatlı A.U. et Çınar M. (2009). Effect of dietary mannan oligosaccharide with or without oregano essential oil and hop exctrat

- supplementation on the performance and slaughter characteristics of male broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, *39* (*3*): 223-232.
- ➤ Bozkurt M., Küçükyılmaz K., Çatlı A.U., Özyıldız Z., Çınar M., Çabuk M. et Çöven F. (2012). Influences of an essential oil mixture supplementation to corn versus wheat-basedpractical diets on growth, organ size, intestinal morphology and immune response of male and female broilers. *Ital. J. Anim. Sci.*, 11: 290-297.
- ➤ **Brambell F.W.R.** (1944). The reproduction of the wild rabbit, oryctolagus cuniculus. *proc. zool. Soc. lond.*, 114: 1-114.
- ➤ Breton S. et Da Silva N. (2012). Rôle de l'épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med. Sci. Amer.*, 1: 1-20.
- ➤ Bridges N.A., Hindmorsh P.C. Pringle P.J., Matthews D.R. et Brouk C.G. (1993). The relationship between endogenous testosterone and gonadotrophin secretion. *Clin. Endo.38*: p.373-378.
- ➤ Bronson F. H. et Heideman P. D. (1994). Seasonal regulation of reproduction in mammals, the physiology of reproduction. Eds. Knobil et Neill, Lenders: 2684 p.
- ➤ Carr D.W., Usselman M.C. et Accot T.S. (1985). Effects of pH, lactate, and viscoelastic drag on sperm motility: a species comparison. *Biol. Reprod.*, 33:588–595.
- ➤ Cheverel M.l. et Cormier M. (1948). Effets de la carence en vitamine A sur le système génitale male du lapin. *CR. acad. Sci.*, 8 : 226-1854.
- ➤ Chou I.P., Chuanl Y.I. et Chen-Chao. (1974). Effect of heating on rabbit spermatogenesis. *Chinese med. J.* 6:365-375.
- ➤ Choudhury S. et Sinha D. (2014). Effets de l'extrait aqueux de *Psidium guajava* surla testostérone et les lipides sériques profil des rats albinos. *Journal du Moyen-Orient de larecherche scientifique*. 21 (10): 1893-1897.
- ➤ Christiansen P., Andersson A., Skakkebaek N.E. et Juul A. (2002). Serum inhibin B, FSH, LH and testosterone levels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism. *Eur. Jour. Endoc.*, 147: 95-101.
- ➤ Clark B.J., Wells J., King S.R. et Stocco D.M. (1996). The purification, cloning and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (STAR). *J. bio. Chem.*, 269 (45): 224-283.
- ➤ Clermont Y. et Perey B. (1957).Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.*, 100(2): 241-267.

- ➤ Cohen J.P., Hoffer A.P. et Rosen S. (1976). Carbonic anhydrase localization in the epidimymis and testis of the rat: histo chemical and biochemical analysis. *Biol. Reprod.* 14: 505-517.
- ➤ Cohen-Tannoudji J., Combarnous Y., Counis R., Saint-Dizier M. et Chastand Mailard S. (2014).La sécrétion des hormones Gonadotropes hypophysaires et sa régulation; In la reproduction animales et humaine. Edi. Quae : 912 p.
- ➤ Cooper T. G. (1998). Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 53:119-136.
- ➤ Cornwall G.A. et Hsia N. (2002). Cres (cystatin-related epididymal spermatogenic gene regulation and function. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 8: 313–318.
- Cornwall G.A., (2009). New insights into epididymal biology and function. Hum. Reprod. Upd. 15: 213-227.
- Counis R., Combarnous Y., Chabot V., Taragnat C., Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires. In la reproduction chez l'homme et les mammifères. Quae, France :954 p.
- ➤ Curtis S. K. et Amann R.P. (1981). Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.*, *53*: 1645-1657.
- ▶ Da Silva N., Cortez-Retamozo V., Reinecker H.C., Wildgruber M., Hill E., Brown D., Swirski F.K., Pittet M.J et Breton S. (2011). A dense Network of dentritic cells populates the murine epididymis Reproduction. *Biol.Reprod.*, 141(5): 653-663.
- ➤ Dacheux J., Chevrier C., Dacheux F., Jeulin C., Gatti J., Pariset C. et Paquignon M.(1990). Sperm biochemical changes during epididymal maturation In : Gamete.
- ➤ Dadoune J.P., Hadjhsky P. et Vendrly J.P.S. (1990). Histologie. Edition Médecine Science Flammarion, France : 352-353.
- ➤ Dadoune J.P., Hadjisky P., Siffroi J.P. et Vendrely G. (2000). Histologie : de la biologie à la clinique. 2<sup>ème</sup> édi. Méd.sci. flammarion, Paris : 960 p.
- ➤ Dadoune J.P. et Demoulin P. (2001). Structure et fonction du testicule chez les mammifères chez l'homme. Edition INRA, Paris : 669 p.
- ➤ **De Rooij D.G, Russell LD. (2000).** All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. *J. Androl.*, 21(6): 776-798.
- ➤ **Dohle G.R., Smit M. et Weber R.F. (2003).** Androgens and male fertility. *World J. Urol.*, 21(5): p.341-345.

- ➤ Duittoz A., Prevot V., Saint-Dizier M. et Chastand Mailard S. (2014). developpement neuroanatomie et fonction des neurones à Gonadotropin Releasing Hormone .In la reproduction animales et humaine. Quae , France : 839 p.
- ➤ Eitmad H.(2017). The effects of Mentha crispa on the spermatogenesis of wild rats(Rattus norvegicus) from Sudan. *Repro.* 2(1): 16-19.
- ➤ EL kalamouni. (2010). Caractérisations chimiques d'extraits de plantes. J. végét. Sci., 40 : 22-38.
- ➤ El-Masry K.A., Nasr A.S. et Kamal T.H. (1994). Influence of season and dietary supplementation with selenium and vitamin E or zinc on somme blood constituents and semen quality of new Zealand white rabbit males. *Worl. Rabbit sci.*, 3: 79-86.
- ➤ Ewuola E.O. et Equnike G.N. (2010). Effects of dietary of fumonisin B1 on the onset of puberty, semenquality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reprod.*,139: 439-450.
- Fawcette D.D.W. et Burgos M.H. (1956). Observation on the cutomophosis of the germinal and interstitialcells of the human testes. *In*: Ciba fondation colloquium on Agein., 2: 84-86.
- Finzi A., Morera P. et Macchioni P. (1994). Modification of some rabbit spermatic parameters in relationship to high ambient rabbit spermatic parameters in relationship to high ambient temperatures. *cath.option Méd.*, 8: 333-336.
- Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000). Influence of chronique high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. 7th worldRabbit congress.
- Frend R., Bogerd J., França L. et Vilela D.A.R. (1973). La fonction reproductive masculine. Organisation de la sante, Genève : 520 p.
- Frolich A. (1948). Sorne factors affecting semen production in rabbits. Ed. Primo. congointern. fisiopat. h.iprod. animal fecond. artif., Milano: 1088 p.
- ➤ Gibad L.b. et lansac J. (2019). Pathologie chirurgicale : chirurgie urologie et gynécologie. Elsevier masson. Paris : 695 p.
- ➢ Girouard J., (2009). Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épididymaire des spermatozoïdes bovins. Thése de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.

- Gnessi L., Basciani S., Mariani S., Arizzi M., Spera G., Wang C., Bondjers C., Karlsson L. et Betsholtz C. (2000). Leydig cell loss and spermatogenic arrest in platelet-derived growth factor (PDGF)-A-deficient mice. J. Cell Biol., 149: 1019–1026.
- ➤ Gopalkrishnan B. et Shimpi N.S. (2011). Effet anti-fécondité de l'extrait de graine demachridure de *Madhuca latifolla* (Roxb.). *Int.bio. app. tec. pharm.*, 2 (4): 49-53.
- ➤ Gouaze A. (1998). Etymologie et structures des termes médicaux. Sauramps, France : 229p.
- ➤ Grasse P.P., (1949). Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie. Ed. Masson et Cie, Paris : 979 p.
- ➤ Habert R. et Picon R. (1984). Testosterone, dihydrotestosterone and estradiol-17 beta levels in maternal and fetal plasma and in fetal testes in the rat. *J. Steroid. Biochem.*, 21:193–198.
- ➤ Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M. (2006). Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on male rat fertility. *Elsevier*, *Fitoterapia*, 77: 495-499.
- ➤ Hamon R., Thepot N., et Salaun G. (1999). Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. Editions Educagri, France : 132p.
- ➤ Hancock A.D., Robertson D.M. et Kretser D.M. (1992). Inhibin and inhibin alphachain precursors are producted by immature rat Sertoli cells in culture. *Bio. Reprod.*, 46: 155-161.
- Hazard J. et Perlemuter L. (2000). Endocrinologie, Abrégé. Edition Masson, Paris : 679 p.
- ➤ Hermo L., Dworkin J. etOko R. (1988). Role of epithelial clear cells of the rat epididymis in the disposal of the contents of cytoplasmic droplets detached from spermatozoa. *Am. J. Anat.*, 183: 107–124.
- ➤ Hermo L., Oko R. et Morales C.R. (1994). Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. *Int. Rev. Cytol.*, 154: 106–189.
- ➤ Hermo L., Adamali H. I. et Andonian S. (2000).Immuno localization of CA II and H+ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J. Androl.*, 21: 376-391.
- ➤ Hermo L. et Robaire B. (2002). Epididymal cell types and their functions; Dans: The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice. *Kluwer Academic/Plenum.*,42: 81–102.

- ➤ Hermo L., Chong D.L., Moffatt P., Sly W.S., Waheed A. et Smith C.E. (2005). Region- and cell-specific differences in the distribution of carbonic anhydrases II, III, XII, and XIV in the adult rat epididymis. *J. Histochem. Cytochem.*, 53: 699–713.
- ➤ **Hinton B.T. et Palladino M.A. (1995).** Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc. Res.Tech.*, 30: 67–81.
- ➤ Hiroe K., et Tomizuka T. (1965). Effets d'un environnement à température élevée sur la production de sperme chez les animaux domestiques. *Bulletin nat.lns. of animal ind.*,9: 27-35.
- ➤ Hochereau De Reviers M.H.T et Royere D. (1996). Anatomie fonctionnelle du testicule adulte. In : Drosdowsky M.A, Belaich J et Vermeulen A. Endocrinologie masculine. Editions Doin, Paris : 265 p.
- ➤ Hoffer A.P., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1973). The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat. Rec.*, 175: 169-201.
- ➤ Holstein A.F., Schulze W. et Davidoff M. (2003). Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod. Biol. Endocrino.*, 14:100-107.
- ➤ **Imbeaud S.** (1994). Molecular genetics of the persistent mullerian duct syndrome: a study of 19 families. *Hum. Mol. Genet.*, 3(1):125-31.
- ➤ Jardin A. et De Fourmestraux N. (1984). In Mauvais-Jarvis P. médecine de la reproduction maasculine. Ed. Flammarion Med. Sci., Paris : 1523 p.
- ➤ **Jégou B.** (1995).La cellule de Sertoli : actualisation du concept de cellule nourricière. *Méd./ sci.*, 11 : 519-672
- ➤ **Johnson L.** (1991). Spermatogenesis. In: CUPPS, P.T. (Ed.) Reproduction in domestic animals. 4th Ed., Academic Press, Inc. San Diego. New York. Boston. London. Sydney, Tokyo: 670 p.
- ➤ **Johnson M.H. et Everrit B.J. (2002).** Reproduction. Edition De Boeck, Paris : 561 p.
- ➤ Johnston D.S., Jelinsky, S.A., Bang H.J., DiCandeloro P., Wilson E., Kopf,G.S. et Turner T.T. (2005). The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. *Biol. Reprod.*, 73: 404–413.
- ➤ **Joly T. et Theau-clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction. 7éme Congrès mondial de cuniculture. Edi. Ombres et Lumières, Valencia : 1788p.
- ➤ Jones R., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1979). Morphology of the epithelium of the extra testicular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. *Am. J. Anat.*, 156: 373-400.

- ➤ Junqueira L.C. et Carneiro J. (2007). Basic histology. 11th ed. Copyright © The Mc Grow hill companies, New York: 812 p.
- ➤ **Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012).** 100 Intoxications chez les animaux de companie. Edition Maloine, Paris : 986 p.
- ➤ Kamtchouing P., Fandio G.Y.M., Dimo T., jasta H.B. (2002). Evaluation of androgenic activity of Zingiber officinale and pentadiplandra drazzeana in male rats. *Asian J Androl.*, 4:299-301.
- ➤ **Keller-Didier .C(2004).** Les plantes médicinales .*ALS*. 8:58-64.
- ➤ **Kirchhoff C. et Hale G. (1996).** Cell-to-cell transfer of glycosy lphosphatidyl inositol-anchored membrane proteins during sperm maturation. *Mol. Hum. Reprod.*,2: 177–184.
- KuçuKyilmaz K., Kigma Z., AKdag A., çetinKaya M., AtalayH., Ates A., Gursel F.E.et BOZKurt M.( 2017).effet of lavender (Lavandula stoechas) essential oil on growt animal. *Reprod.*, 47: 178-186.
- ➤ Kujala M., Hihnala S., Tienari J., Kaunisto K., Hästbacka J., Holmberg C., Kere J., et Höglund P. (2007). Expression of ion transport-associated proteins in human efferent and epididymal ducts. *Reprod.*, 133: 775–784.
- ➤ Kumar V., Kural MR., Pereira BMJ. et Roy P. (2008). Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats altered levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food Chem Toxicol.*, 46:3563—3570.
- ➤ Kumar. D., Agrawal. C.P, Mishra D.D et Singh V. (2014). Effet anti-fertilité de l'extraitde benzène de fleurs d'*Hibiscus rosa sinensis* L. sur le système reproducteur chez des ratsmâles albinos. *Indian J.Applied Pure Bio.*,29 (2): 215-217
- ➤ Larsen W.J. et Dhem A. (2007). Embryologie humaine. De boeck, Paris-Malonie: 708 p.
- Le Moigne A. et Foucrier J. (2009). Biologie du développement. 7ème Edi. DUNOD Inc, Paris : 200 p.
- ➤ **Lebas F.** (2009). Biologie du lapin. Reproduction du mâle. Collection F.A.O : production et santé animale, Rome : 320 p.
- Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et De Rochambeau H. (1984). Le lapin : élevage et pathologie. Ed. F. A.O., Rome : 298 p.
- ➤ Lebas F., Coudert p., Derochambeau H. et Thibault R.C. (1996). Le lapin, élevage et pathologie. Nouvelle édition FAO, Rome : 227p.

- ➤ Légaré C., Thabet M., Picard S. et Sullivan R. (2001). Effect of vasectomy on P34H messenger ribonucleic acid expression alongthe human excurrent duct: A reflexion on the function of the human epididymis. *Bio. reprod.*, 64:720-727.
- ➤ Little T.V. et Holyoak G.r. (1992). Reproductive anatomy and physiology of the stallion. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 8 (1): 1-29.
- ➤ Liu H.W., Lin Y.C., Chao C.F., Change S.Y. et Sun Gh. (2000). GP-83 and GP-39, two glycoproteins secreted by human epididymis are conjugated to spermatozoa during maturation. *Mol.human reprod.* 6 : 422-428.
- Luzi F., Meartens L., Mijten P. et Pizzi F. (1996). Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. Ed. 6th world Rabbit Congress, Toulouse (France): 1030 p.
- ➤ Macari M. et Machado C.R. (1978). Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of semen. *Labo. Anim.*, 12:37-39.
- ➤ Marieb N.E. (2006). Anatomie et physiologie humaines. 6éme éd. Renouveau pédagogique, France : 1096 p.
- ➤ Marthin H. J. et Barry J. E. (2001). Reproduction. De Boeck, Paris: 298p.
- ➤ Martinet L. (1973). Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. Conférence, Session ITAVI Toulouse : 589 p.
- ➤ Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P., Palacios J., Paniagua R. et Nistal M. (1995). The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andr.*,27: 195-206.
- ➤ Micol D., Robelin J. et Geay Y. (1993). Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscle chez les bovins en croissance et a l'engrais. *INRA Prod.Anim.* 6 (1): 61-69.
- Mitchell B. et Sharma R. (2005). Embryologie. Editions elsevier, Paris: 850 p.
- ➤ Mruk D.D. et Cheng C.Y. (2004). Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocrno. Rev.*, 25(5): p. 747-806.
- ➤ Mukhallad A., Mohamad A. et Hatham D. (2009). Effects of Black Seeds (Nigella Saitva) on Spermatogenesis ans fertility of Male Albino Rats. *Res. Med. Med. Sci.*, 4 (2): 386-390.
- ➤ Muller Y. et Clos J. (1997). La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Natnan, Paris : 931 p.

- Nakatsuji N. et Chuma S. (2001). Differentiation of mouse primordial germ cells into female or male germ cells. *Int. J. Dev. Biol.*, 45(3): 541-548
- ➤ Nantia E.A., Moundipa P.F., Beboy NS., Mousees TK.et carreauS.(2007). Etude de l'effetandrogénique de l'extrait au methanol de Basella alba L. (Basellaceae) sur la fonction dereproduction du rat mâle. *J. andro.*, 2:129-133.
- ➤ Nassem M.Z., Patil S.R. et Patil S.B.(1998). Antispermatogenic and androgenic activities of *Momordica charatia* (Karela) in albinos rats. *J. ethmopharmaco.*, 61: 9-16.
- ➤ Nath D. et Majumber G.C. (1999). Maturation-dependent modification of the protein phosphorylation profile of isolated goat sperm plasma membrane. *J. reprod.* fertil.,115: 29-30.
- ➤ O'Shaughnessy .P.J. et Murphy L. (1991). Sterodogenic enzyme activicty in the rat testis following leyding cell destruction by ethylene 1,2 dimethane sulphate and during subsequent leydig cell regeneration. *J. Endocrino.*, 131 (3): 451-460.
- ➤ Olson G.E. et Hinton B.T. (1985). Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J. Androl.*,6: 20–34.
- > Oud Moukhtar S. et Samah H. (2018). étude des effets d'huile essentielle la Menthe poivre à deux doses (200μl/kg et 400μl/kg) sur les structures gonadiques des lapins mâles infantiles et pré pubères. Université Mouloud Mammeri ; Tizi-Ouzou ; (Algérie) : 40-41.
- ➤ Ouvrier A., Cadet, R., Vernet P., Laillet B., Chardigny J.-M., Lobaccaro J.-M.A., Drevet J.R., et Saez F. (2009).LXR and ABCA1 control cholesterol homeostasis in the proximal mouse epididymis in a cell-specific manner. *J. Lipid Res.*, 50: 1766–1775.
- ▶ Piles M., Gianola D., Varona L. et Blasco A. (2003). Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. J. Anim. Sci., 81:14–24.
- ➤ Pollanen P. et Cooper T.G. (1994). Immunology of the testicular excurrent ducts. *J. Reprod. Immunol.*, 26: 167-216.
- ➤ Prins S.G., Brich L .et Greene G.L. (1991). Androgen receptor localization in different cell types of the adult rat prostate. *Endocrino.*, 129: 87-99.
- ➤ Ramé, Alain, Sylvie T. et hérond N. (2007). Anatomie et physiologie. Elsevier Masson SAS, paris : 592 p.
- ➤ **Raymond E.** (1988). Effects of testosterone on neuronal nitric oxide Synthaxe and tyrosine hydroxylase. *Brain. Research.*, 836(1-2):90-98.

- ➤ Robaire B. et Hermo L. (1988). Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure functions, and thier regulation. In: knobil E., Neill J.(éd.). The physiology of Reproduction, New York: 1085 p.
- ➤ Robaire B. Hinto B.T. et Orgebin-Cris M.C. (2006). The epididymis. In: Neill J.D. ed. physiol.of Reprod.third, New York: 1071-1148.
- ➤ Robert C. et Vincent P. (1995). Biologie Physiologie Humaine. Edition Vuibert, Paris: 700p.
- ➤ Roger T. (2002). Anatomie comparée des Animaux de Laboratoire. Edition Médecine Science Flammarion, Lyon: 200 p.
- ➤ Roser J.F. (2008). Regulation of testicular function in the stallion: an intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. *Anim. Reprod. Sci.*, 107(3-4): p.179-96.
- ➤ Rowley M.J. Teshima F. et Heller C.G. (1970). Duration of transit of spermatozoa through the human male ductular system. *Fertil. Steril.* 21: 390–396.
- Russell L.D. et Griswold. M.D. (1993). Sertoli cell. In: The Sertoli cell (LD Russel, MD Griswold, eds), Cache River Press, Clearwater, États-Unis: 947 p.
- > Ryan K.J., Naftolin F., Reddy V., Flores F. et Petro Z. (1972). Estrogen formation in the brain. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 114:454–460.
- ➤ Sabbagh M. (1983). Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique Oryctolagus cuniculus à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique,le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires : 113 p.
- ➤ Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011). Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J. Androl.*, 13: 11-17.
- > Saidj T. et Tamani S. (2018).étude des effets des huiles essentielles la Menthe poivre et Romarin à Verbénone a deux doses (400μl/kg et 500μl/kg) sur les structures gonadiques des lapins mâles infantiles et pré pubères. Université Mouloud Mammeri ; Tizi-Ouzou (Algérie) : 55-56.
- > Schulz R.W., Menting S., Bogerd J., França L.R., et Vilela D.A.R. (2005). Sertoli cell proliferation in adult testi-evidence from two fish species belonging to different orders. *Biol.Reprod.*, 73:891-898.
- ➤ Seiler P., Wenzel I., Wagenfeld A., Yeung C.H., Nieschlag E. et Cooper T.G. (1998). The appearance of basal cells in the developing murine epididymis and their temporal expression of macrophage antigens. *Int. J. Androl.*, 21: 217–226.

- ➤ Seiler P., Cooper T.G. et Nieschlag E. (2000). Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int. J. Androl.*, 23: 65-76.
- > Serre V. et Robaire B. (1999). Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol. Reprod.*, 61: 705-714.
- ➤ Shimazaki J., Kurihara H., Ito Y. et Shida K. (1965). Metabolism of testosterone in prostate. 2. Separation of prostatic 17-beta-ol-dehydrogenase and 5-alpha-reductase. Gunma. *J. Med. Sci.*, 14: 326–333.
- ➤ Shum W.W., Ruan Y.C., Da Silva N.(2011). Establishment of cell-cell cross talk in the epididymis: control of luminal acidification. *J. Androl.* 32: 576-586.
- Shum W.W., Smith T.B., Cortez-Retamozo V., Grigoryeva L.S., Roy J.W., Hill E., Pittet M.J., Breton S. et Da Silva N. (2014). Epithelial basal cells are distinct from dendritic cells and macrophages in the mouse epididymis. *Biol. Reprod.*, 90: 85-90.
- ➤ **Siffroi J.P.** (2001). L'appareil génital masculin. Service d'Histo. Biol. Reprod. Cyto. génét.,Paris: 886 p.
- ➤ **Siffroi J.P.** (2006). Aspect moléculaires des anomalies génétique rencontrées dans l'infertilité humaine : des chromosomes aux gènes. *Med. reprod.*, 8 : 311-318.
- ➤ Simpson E.R., Mahendroo M.S., Means G.D., Kilgore M.W., Hinshelwood M.M., Graham L.S., Amarneh B., Ito Y., Fisher C.R. et Michael M.D. (1994). Aromatase cytochromeP450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr. Rev.*, 15:342–355.
- > **Skinner J. D.** (1967). Puberty in the male rabbit (Brief communication). J. Reprod.Fert., 14:151-154.
- ➤ Soranzo L., Dadoune J.P. et Fain-Maurel M.A. (1982). [Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study]. Reprod. Nutr. Dev., 22: 999-1012.
- ➤ SOY A., SAHU R. et Rath S. (2016). A Histomorphological study of the effect of Mint on the testes of albios rats. *J. den. Med. Sci.*, 4: 32-35.
- ➤ **Stevens et Lowe.** (1997). Anatomie pathologique générale et spéciale. De Boeck, France : 552 p.
- Sullivan R. (2004). Male fertility markers, myth or reality. *Anim. Reprod. Sci.*,83: 341-347.
- > Suzuki F. et Nagano T. (1978). Development of tight junctions in the caput epididymal epithelium of the mouse. *Dev. Biol.*, 63: 321–334.

- ➤ Tang P., Park D.J., Marshall Graves J.A. et Harley V.R. (2004). ATRX and sex differentiation. *Trends Endocrinol. Metab.*, 15:339–344.
- ➤ Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle Edi. Ellipses, Paris : 928 p.
- ➤ Tilbrook A.J. et Clarke I.J. (2001). Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotrophin-regulating hormone in males. *Biol. Reprod.*, 64(3):735-742.
- ➤ Tomsig J.L., Usanovic S. et Turner T.T. (2006). Growth factor-stimulated mitogenactivated kinase (MAPK) phosphorylation in the rat epididymis is limited by segmental boundaries. *Biol. Reprod.*, 75 : 598–604.
- ➤ Tortora G. J., Grabowski S. R. et Parent J.C. (1995). Biologie humaine Cytogénétique régulation-reproduction. Edition CEC, collégial et universitaire, p 311-322.
- ➤ Tortora G.J. et Derrickson (2009). Manuel d'anatomie et de physiologie humaine. Paris : 382 p.
- ➤ Trasler J.M., Hermo L. et Robaire B. (1988). Morphological changes in the testis and epididymis of rats treated with cyclophosphamide: a quantitative approach. *Biol. Reprod.*, 38: 463–479.
- ➤ Trouche C. (2013). Etude de la relation entre l'infection par Brucella Ovis et la fonction sexuelle de bélier. thèse de docteur vétérinaire.
- ➤ Tulsiani D.R., Skudlarek M.D., Holland M.K. et Orgebin-Crist M.C. (1993). Glycosilation of rat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Bio. reprod.*, 48:417-428.
- ➤ Turner T.T., Bomgardner D., Jacobs J.P. et Nguyen Q. T. (2003). Association of segmentation of the epididymal interstitium with segmented tubule function in rats and mice. *Reprod.*, 125: 871–878.
- ➤ Turner T.T., Johnston D.S., Finger J.N. et Jelinsky S.A. (2007). Differential gene expression among the proximal segments of the rat epididymis is lost after efferent duct ligation. *Biol. Reprod.*,77: 165–171.
- ➤ Vacheret N. (1999). Histologie fonctionnelle des organes. Faculté de Médecine, Laennec.-Université Claude Bernard Lyon 1 France:128 p.
- ➤ Vaissaire J. P. (1977). Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Edition Maloine S.A., Paris : 667 p.
- ➤ Van N.T. et Nathalie F. (2007). La reproduction des vertèbres. De Boeck mémento sciences, Paris : 840 p.

- ➤ Veri J. P., Hermo L. et Robaire B. (1993). Immunocyto-chemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J. Androl.*, 14: 23-44.
- ➤ Vernet P., Britan A., Gueux E., Mazur A. et Drevet J.R. (2004). Dietary magnesium depletion does not promote oxidative stress but targets apical cells within the mouse caput epididymidis. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1675: 32–45.
- ➤ Vézinhet A.(1968). Effets de l'hypophysectomie sur la croissance pondérale du lapin. Acad. Sci. Ser., 266: 2348-2351.
- Vigueras-Villasenor R.M., Montelongo-Solís P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013). Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. Acta Histochemica, 9: 66-78.
- ➤ Virag G.Y., Mezes M. et Bersenyi A. (1992). Effect of independent factors on semen caracteristics in rabbits. *J.Appl.Rabbits res.*, (15): 499-504.
- ➤ Wang P. et Duan Y.G. (2016). Therole of dentritic cells in male reproductive tract.

  Am. J. Reprod. Immunol., 76(3): 186-192.
- ➤ Welsch U. (2002). Précis D'histologie. Cytologie, Histologie, Anatomie Microscopique. Ed. Médicales internationales, Tournai (Belgique): 260 p.
- ➤ Werner E.A. et DeLuca H.F. (2001). Metabolism of a physiological amount of all-trans-retinol in the vitamin A-deficient rat. *Arch. Biochem. Biophys.*, 393(2):262-270.
- ➤ Widmaier H., Raff K. et Strang T. (2009). Physiologie humaine. Edi. maloine., Paris: 703 p.
- ➤ Wosnitzer M.S. et Paduch D.A. (2013). Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *Am. J. Med. Genet. Semin.*, 163 (1): 16-26.
- ➤ Wrobel K.H. (1990). Male reproduction system. 2<sup>éme</sup> Ed In: Textbook of Veter. Histo., France: 665 p.
- ➤ Xu L., Yang G., Chen Z., Hung S., Chen J., Jin S. et Ye Y. (1992). Studies on integrative measures of raising the reproductive ability of the domestic rabbit duringhot seasons. *J. Appl. Rabbit Res.*, (15): 569-574.
- ➤ Yamamoto Y., Shimamamoto K., Sofukitis N. et Miyagawa I. (1999). Effect of hypercholesterolemia on Leydig and Sertoli cell secretory function and the overall sperm fertilizing capacity in the rabbit. *Human Reprod.*, 14:1516-1521.

- ➤ Yeung C.H., Nashan D., Sorg C., Oberpenning F., Schulze H., Nieschlag E. et Cooper T.G. (1994).Basal cells of the human epididymis-antigenic and ultrastructural similarities to tissue-fixed macrophages. *Biol. Reprod.*, 50: 917–926.
- ➤ Yeung C.H., Sonnenberg-Riethmacher E. et Cooper T.G. (1998). Receptor tyrosine kinase crosknock out mice as a model for the study of epididymal regulation of sperm function. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 53:137-147.
- ➤ Ying S.Y. (1988). Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle stimuling-hormone. *Endo. Rev.*, 9:267-293.

# Annexes

### Annexe 1 : Fiche technique d'histologie

# Fiche technique $N^{\circ}$ 1 :

<b>Bouin hollande :</b> fixateur (GABE, 1968)		
Broyer à froid dans un mortier :		
Acétate de cuivre		
Eau distillée		
Agiter puis ajouter peu à peu :		
Acide picrique		
Le liquide se conserve indéfiniment.		
Filtrer après complète dissolution et ajouter :		
Formaldhéhyde 36- 40% (en solution saturée) 10ml		
Acide acétique cristalisable1ml		
Fiche technique $N^{\circ}$ 2 :		
Eau gélatinée de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967).		
Gélatine en poudre		
Eau distillée		
Verser la poudre dans l'eau distillée et laisser gonfler pendant un moment puis tiédir sur une		
platine chauffante.		
Conservation limitée.		
Fiche technique $N^{\circ}$ 3 :		
Trichrome de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967)		
<b>Trichrome de Masson</b> (MARTOJA et MARTOJA, 1967) Mode opératoire :		
Mode opératoire :		
Mode opératoire : Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :		
Mode opératoire :  Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :  L'hématoxyline de Groat 3 minutes.		
Mode opératoire :  Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :  L'hématoxyline de Groat		
Mode opératoire :  Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :  L'hématoxyline de Groat		
Mode opératoire :  Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :  L'hématoxyline de Groat		

Eau acétifiée à 1% Rinçage.
Ensuite les coupes sont déshydratées et montées au baume de Canada.
Résultats :
Les noyaux sont colorés en brun noir.
Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.
Hématoxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :
Préparation à froid :
Première solution : Acide sulfurique concentré
Deuxième solution : Hématoxyline
Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant une heure et filtrer.
Se conserve pendant trois mois environ.
Mélange fuchsine acide ponceau (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :
Préparation à froid :
Fuchsine acide
Après dissolution ajouter : Acide acétique
Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967):
Acide phosphomolybdique ou phosphotungstique
Conservation illimitée

#### **Annexes**

# Vert lumière (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

#### Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de l'huile essentielle *Mentha peperita* sur les poids corporels et testiculaires ainsi que sur la structure histologique des testicules chez des lapins mâle infantiles. L'étude est portée sur 41 lapins mâles infantiles répartis en 6 lots ; un lot témoin et 5 lots traités par cette l'huile essentielle aux doses respectives de 200 µl/kg, 300 µl/kg 400 µl/kg, 500 µl/kg et 700 ul/kg (D1, D2, D3, D4 et D5). Les animaux ont été pesés puis traités une seule fois par la Menthe poivrée administrée par voie orale et une semaine après le traitement, les lapins sont sacrifiés par saignement, les testicules sont prélevés et traités pour effectuer une étude histologique. Les résultats obtenus révèlent que l'augmentation des poids corporels et testiculaires sont doses dépendants pour les lots traités par la Menthe poivrée à la dose inférieure à 400 µl/kg, cependant à partir de la dose 500 µl/kg ces paramètres sont inversement proportionnelles à la dose administrée. Sur le plan histologique, la structure testiculaire des lapins traités révèle l'apparition des premiers spermatocytes I dans quelques tubes séminifères à partir de la dose 200 µl/kg, dont le nombre de cellules et de tubes séminifères la contenant augmentent en fonction de la dose administrée jusqu'à la dose 400 µl/kg, cependant on a constaté l'inverse à partir de la dose 500 µl/kg. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle Menthe poivrée selon les doses utilisées aurait un effet positif sur la fonction reproductrice masculine (développement des testicules) ,la spermatogenèse et sur la fertilité des lapins mâles infantiles.

Mots clés: lapins mâle, testicules, reproduction, fertilité, huile essentielle, Menthe poivrée.

#### **Abstract**

The objective of this study is to determine the effects of Peppermint essential oil on body and testicular weight as well as on the histological structure of the testes in infantile male rabbits. The study is carried out on 41 male rabbits infantile divided in to 6 batches; a control batch and 5 batches treated with this essential oil at the respective doses of 200  $\mu$ l/kg, 300  $\mu$ l/kg 400  $\mu$ l/kg, 500  $\mu$ l/kg et 700  $\mu$ l/kg (D1, D2, D3, D4 et D5). The animals were weighed and then treated only once with Peppermint administered orally and one week after the treatment, the rabbits are sacrificed by bleeding, the testes are removed and processed for a histological study. The results obtained show that the increase in body and testicular weights are dose dependant for the batches treated with Peppermint at a dose of less than 400  $\mu$ l/kg, however from the 500  $\mu$ l/kg dose these parameters are inversely proportional to the administered dose. Histologically the testicular structure of treated rabbits reveals the appearance of the first spermatocytes I in some someniferous tubes from the dose 200  $\mu$ l/kg, the number of cells and semeniferous tubes of which increase according to the dose administered up to the dose of 400  $\mu$ l/kg, however the reverse was observed from dose 500  $\mu$ l/kg. These results suggest that Peppermint essential oil depending on the dose used would have a positive effect on male reproductive function (development of the testes), spermatogenesis and the ironitis of male infantile rabbits.

**Keywords:** rabbits, testes. reproduction, fertility, essential oil, Peppermint.