



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

Mémoire de fin d'études

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

Spécialité : Biologie et Physiologie de la reproduction (BPR)

Thème

Etude préliminaire sur l'effet de l'huile essentielle « *Mentha piperita* » sur le développement des gonades mâles (testicule et épидидyme) chez des lapins infantiles et pubères.

Présenté par

M^{elle} : Ould Slimane Dyhia

M^{elle} : Hani Ounissa

Soutenu devant le jury :

Présidente : Mme. Medjdoub Bensaad F.

Professeur

UMMTO

Promotrice : Mme. Lakabi L.

Maitre de conférences B

UMMTO

Examinatrice : Mme. Chougar S.

Maitre assistante A

UMMTO

Remerciements

Avant tout nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à **Mme le Dr. LAKABI-AHMANACHE L.** Maitre de conférence B 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 vous remercions très sincèrement pour votre patience.

A Mme **MADJDOUB BENSAAD F.** Professeur qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury, sincères remerciements et notre immense gratitude.

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

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

Dédicaces

Je tien tous d'abord à remercier Dieu de m'avoir aidé à réaliser ce mémoire.

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

A mes très chers frères : Hocine, Boudjemàa et Kouceila. , qui ont 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.

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

A tous mes amis (es) en particulier Hdjila et Farida

A mon très cher fiancé Hocine qui a toujours été à mes côtés.

Ainsi celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail, ma chère copine et binôme Ounissa.

Dyhia

Dédicaces

Je tien tous d'abord à remercier Dieu de m'avoir aidé à réaliser ce mémoire.

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.

A mes très chers frères : Faredj et Lyes.

A mes très chères sœurs : Fetta et Ouahiba

A ma chère petite nièce Malak.

A tous mes cousins en particulier : Essaid, Kamelia et Soraya

A la mémoire de mon frère Ali que dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A la mémoire de mes grands parents paternels et maternels

A tous mes oncles et tantes

A tous mes amis (es) : Djedjiga, Hdjila, Farida, Hanane, Nadia et soraya

Ainsi celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail, ma très chère copine et binome Dyhia.

Ounissa

Listes des figures

Figure 01 : Schéma de l'appareil reproducteur de lapins mâle (Lebas <i>et al.</i> , 1996).....	2
Figure 02 : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié).....	4
Figure 03 : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007)...	5
Figure 04 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993).....	6
Figure 05 : Le cycle spermato-génétique chez le lapin (Boussit, 1989).....	7
Figure 06 : Vascularisation du testicule (GOUAZE <i>et al.</i> , 1977).....	8
Figure 07 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).....	9
Figure 08 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).....	12
Figure 09 : Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).....	12
Figure 10 : Schémas générale de la spermatogénèse (Marieb, 2006).....	16
Figure 11 : lapins issus d'un élevage cunicole de Tizirt. (originale, 2018).....	23
Figure 12 : flacon de la menthe poivrée. (originale, 2018).....	25
Figure 13 : pesé et administration de l'huile essentielle (originale, 2018).....	26
Figure 14 : Mesure du poids et volume des testicules et épидидymes (originale, 2018).....	27
Figure 15 : Appareil génital du lapin (originale, 2018).....	27
Figure 16 : photographie des organes placés dans des moules à paraffine (originale, 2018)....	29
Figure 17 : Etapes de la coloration (originale,2018).....	29
Figure 18 : Microtome à paraffine de type Leica (originale, 2018).....	30
Figure 19 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins de 1 mois d'âge.....	32
Figure 20 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins de 5 mois d'âge.....	33
Figure 21 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 1 mois.....	34
Figure 22 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 5 mois.....	35
Figure 23 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 1 mois.....	36
Figure 24 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 5 mois.....	37

Listes des figures

Figure 25: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 1 mois d'âges.....	37
Figure 26 : Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 5 mois d'âges.....	38
Figure 27 : Evolution du volume total testiculaire des lapins de 5 mois d'âges.....	39
Figure 28 : Représentation graphique présentant l'évolution du poids des épидидymes gauche et droits pour les lapins de 1 mois d'âge.....	40
Figure 29 : Représentation graphique présentant l'évolution du poids des épидидymes gauche et droits pour les lapins de 5 mois d'âge.....	41
Figure 30 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme des lapins de 1mois.....	41
Figure 31 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme des lapins de 5 mois.....	42
Figure 32 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins de 1 mois d'âges.....	43
Figure 33 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins de 5 mois d'âges.....	43
Planche 01 : coupe histologique du testicule du lapin de agés de 1 mois.....	45
Planche 02 : coupe histologique du testicule du lapin ages de 5mois	47
Planche 03 : coupe histologique de l'épididyme de lapins âgé de 1	49
Planche 04 : coupe histologique de l'épididyme de lapins âgé de 5 mois	51

Signification des abréviations

DHT	Dihydrotestosterone
SBP	Sexsteroid-binding protein
ABP	Androgen-binding protein
AR	Recepteur nucléaire spécifique de la DHT
ARE	Elément de réponse aux androgènes
GnRH	Gonadotropin releasing hormone
FSH	Folliculo stimulatig hormone
LH	Leuteinising hormone
ISCH	Interstitialcellstimulatig hormone
EGF	Epidermal growth factor
NGF	Nerve growth factor
IL	Interleukine
GPC	Glycérylephosphoryl choline
N	Noyau
LT	Lymphocyte T
Mo	Monocyte
T	Témoin
D1	Dose 1
D2	Dose 2
ESM	Erreur standard à la moyenne
Jo	Avant traitement
J7	Après traitement
TG	Testicule gauche
TD	Testicule droit
EPD	Epididyme droit
EPG	Epididyme gauche
TS	Tube séminifère
Sg	Spermatogonie

CL	Cellule Leydig
Cm	Cellule myoïde
CS	Cellule Sertoli
SC	Spermatocyte
Cb	Cellule basale
Ce	Cellule étroite
St	Stéréocils
Spz	Spermatozoïde
IGF	Insuline-like growth factor

Introduction

Générale

Introduction

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

Le lapin présente plusieurs caractéristiques biologiques intéressantes concernant sa productivité et reproduction. En effet il est caractérisé par un court intervalle entre les générations et par une prolificité importante, raison pour laquelle il est fortement apprécié.

Les études qui ont été faites en Algérie jusqu'à présent concernent surtout la lapine et sa gestation, chez le mâle ces études s'orientent vers les propriétés physico-chimiques de la semence. A notre connaissance aucune de ces études n'a été faite sur l'effet des huiles essentielles sur les performances de reproduction du lapin mâle.

Le testicule est constitué principalement de tubes séminifères où se déroule la spermatogenèse et de tissu interstitiel riche en cellule de Leydig qui synthétise et libère des androgènes, principalement la testostérone, jouant un rôle dans le maintien de la spermatogenèse.

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

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-œstrogène, ces composés sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en la perturbant, de ce fait le but de notre travail est de mettre en évidence l'influences des huiles essentielles sur la fonction de reproduction des lapins mâles âgés de 1 et 5 mois.

Notre travaille se présente sous forme de trois chapitres, le premier abordera les rappels bibliographiques sur l'appareil reproducteur mâle du lapin, le deuxième abordera les matériels et méthodes et le troisième présentera les résultats obtenu ainsi que leurs discussion. Ce document sera clos par une conclusion ainsi qu'un ensemble de perspectives.

Chapitre I :
Rappels
Bibliographiques

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

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

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

Il a une manière générale deux fonctions primordiales, la production des spermatozoïdes et leur dépôt dans les voies génitales femelles d'une part, et la sécrétion des hormones sexuelles d'autre part (figure 01) (Alvarino, 1993).

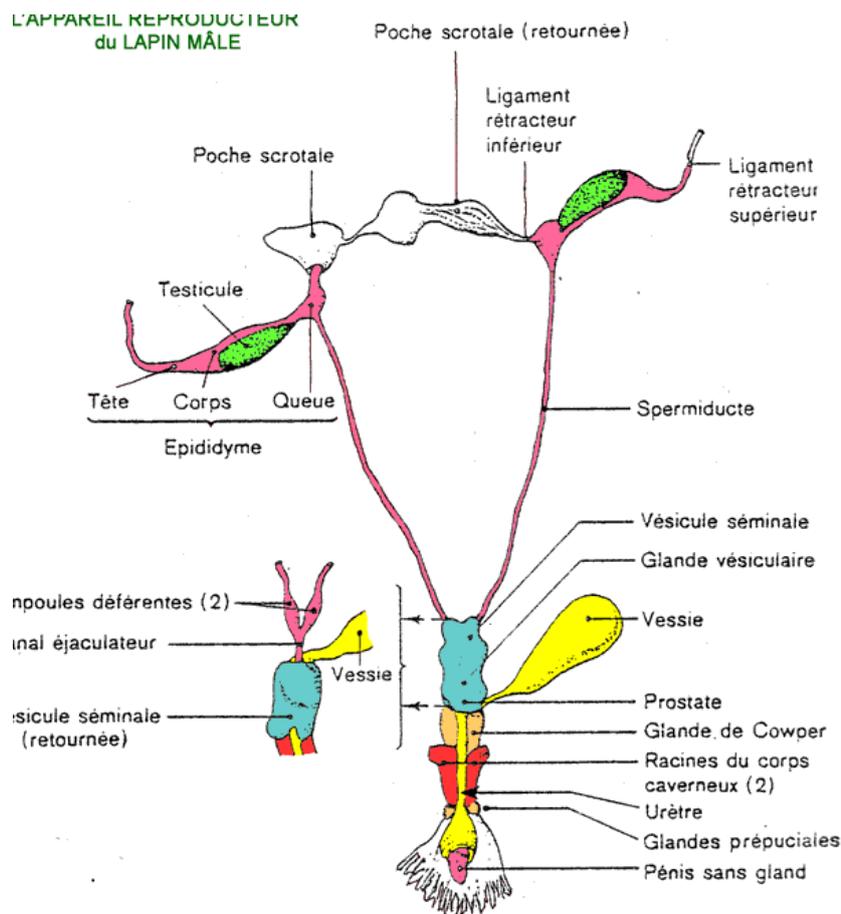


Figure 01 : Schéma de l'appareil reproducteur de lapins mâle (Lebas *et al.*, 1996).

1.1 Testicule

Le testicule est une glande amphicrine dont la fonction exocrine permet la production des gamètes mâles par le processus de spermatogenèse et dont la fonction endocrine concerne la production des hormones stéroïdes masculines (œstrogènes, essentiellement la testostérone. Chez les mammifères le testicule est l'un des organes les plus complexes, tant d'un point de vue structural que fonctionnel (Chocu S, 2014)

1.1.1. Anatomie

Le testicule du lapin est un organe pair de forme ovoïde (Bedossa, 1998) amincis aux extrémités avec un pôle caudal plus pointu mesurant 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur, 1 à 1,3 cm d'épaisseur et pesant 1,5 à 2g. Il est situé de part et d'autre de la ligne médiane inguinale, protégé et soutenu par une enveloppe appelée scrotum, constituée d'une fine couche de peau recouvrant divers couches fibro-élastique et musculaire, dont la plus importante est le dartos (Barone, 2001)

1.1.2. Histologie

L'organisation interne du testicule est semblable chez tous les mammifères étudiés (figure 1). Les testicules sont délimités par une enveloppe dense appelée : albuginée (*tunicaalbuginea*) dont la surface interne est constituée d'un tissu conjonctif qui s'étend vers une région du testicule, appelée *media tinum testis*, à l'intérieur de laquelle se situe un réseau de conduits anastomosés, dénommé *rete testis*.

Le tissu conjonctif qui constitue l'albuginée est très vascularisé et contient des fibres musculaires lisses, ce qui confère à cette structure enveloppant le parenchyme testiculaire, la capacité de se contracter. Le parenchyme testiculaire est composé de nombreux lobules et chaque lobules comporte de très nombreux conduits, appelés les tubes séminifères, qui constituent le lieu d'élaboration des gamètes mâles (figure 02) (Jègou *et al.*, 2014)

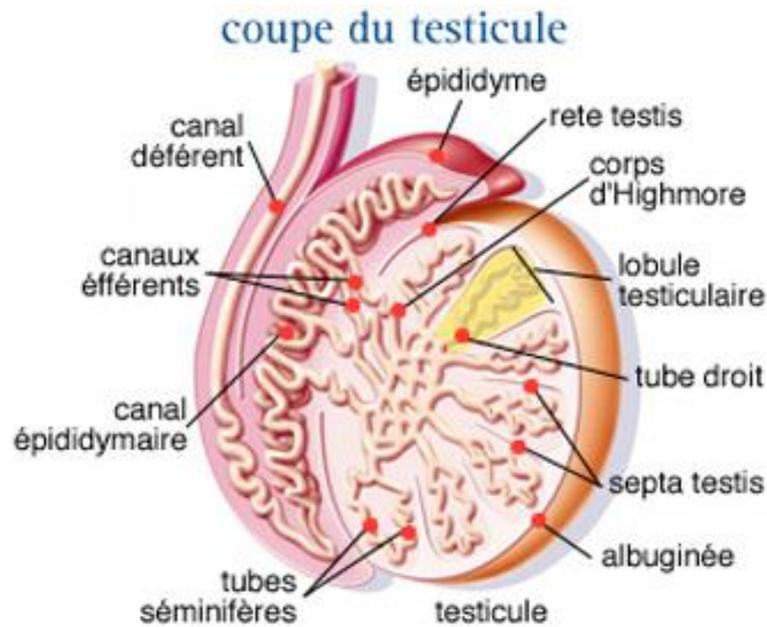


Figure 02 : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié).

1.1.2.1. Tubes séminifères

Le tube séminifère est l'unité fonctionnelle du testicule, il est très long et flexueux (30cm à 1m de longueur pour, un diamètre de 300 à 400 chez le lapin), il est constitué de cellules germinales à des stades de développement variés (spermatogonies, spermatocytes, spermatides) et de cellule de Sertoli formant l'épithélium séminifères qui se repose sur une lame basale et d'une lumière bordée par cet épithélium (Frend et *al.*, 1973 ; Wrobel, 1990). La membrane basale est revêtue de plusieurs assises myoïdes surmontées d'une couche de fibre de collagène (figure 03) (Hochereau de Reviers et Royere, 1996).

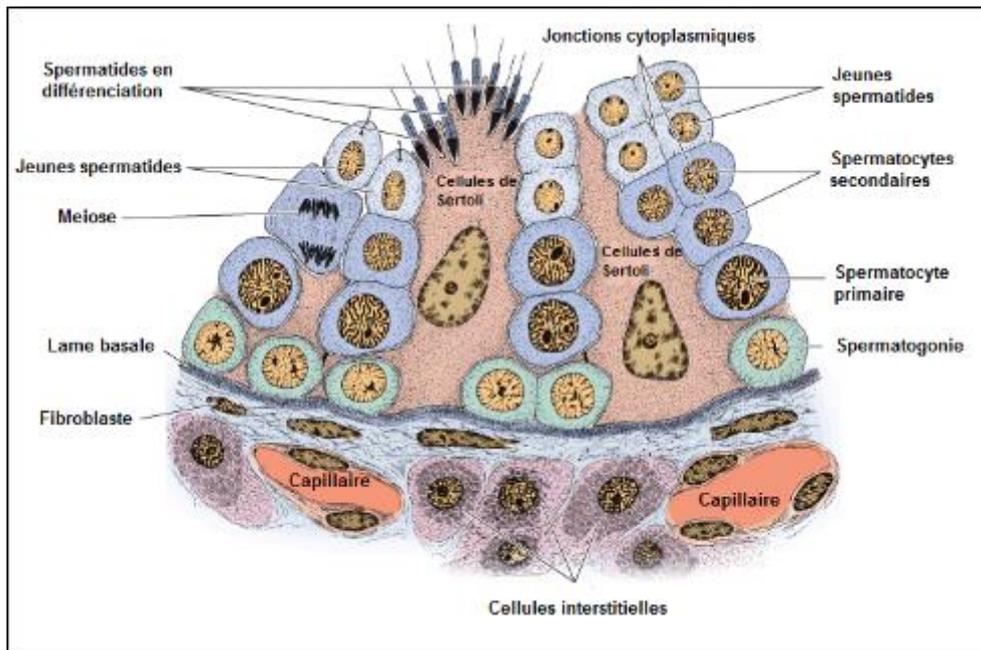


Figure 03 : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).

1.1.2.2. 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 îlots de cellules endocrines produisant la testostérone (les cellules Leydig) et d'autres cellules libres les macrophages, les lymphocytes et les fibroblastes (Frend *et al.*, 1973).

1.1.2.3. Liquide des compartiments intra-testiculaire

Les cellules 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 (Hocherau de Reviers et Royere, 1996). Il est composé à 90 % d'eau. Il a pour origine le plasma sanguin aussi il est riche en sucres, minéraux, neurotransmetteurs, hormones (Marieb, 2003)

Le liquide contenu dans les tubes séminifères contribue au transport des spermatozoïdes ainsi qu'à leur nutrition. C'est un liquide riche en minéraux, principalement en potassium, en phosphore, en calcium et en chlore. Il est très riche en Androgen Binding Protéines (ABP) et pauvre en autres protéines.

Tandis que le liquide de *rete testis* est d'une composition remaniée, probablement dû aux échanges avec les veines testiculaires (Hocherau de Reviers et Royere, 1996).

1.1.2.4. Cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli, de forme pyramidale et allongée, s'intercalent avec les cellules de la lignée germinales. Leur base repose sur la membrane basale de la gaine péri-tubulaire, alors que l'apex atteint fréquemment la lumière du tube séminifère (Dadoune, 2000).

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

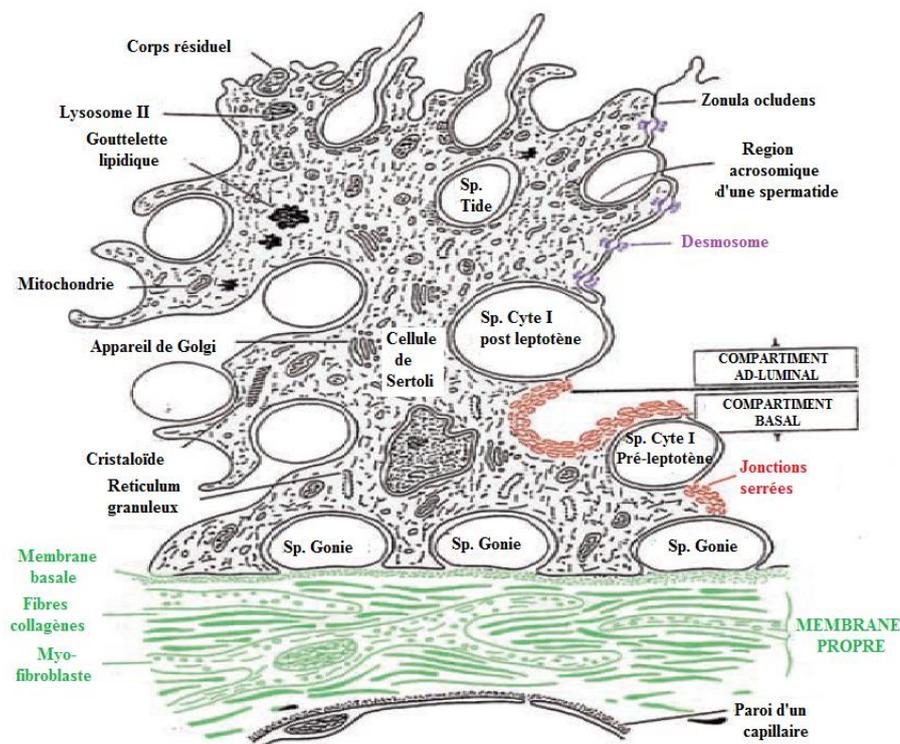


Figure 04 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993)

1.1.2.5. Cellules de Leydig

Les cellules de Leydig sont des éléments polyédriques de 15 à 20 µm de diamètre, possédant un noyau arrondi avec un cytoplasme dense et riche en citernes de REL ; peu de mitochondries de taille variable et des enclaves lipidiques abondantes dans les cellules matures (Dadoune, 2000).

Différents types de jonctions ont été mis en évidence sur la membrane plasmiques qui peuvent être de type GAP, desmosome et plus rarement des jonctions septées (Dadoune et Demoulin, 2001).

1.1.2.6 . Cellules germinales

Les cellules germinales proviennent des cellules souches. Elles sont à l'origine de la formation des cellules reproductrices, ou gamètes : les spermatozoïdes.

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

Les spermatogonies du type B recrutées effectuent une réplication de l'ADN suivie de la première division de méiose qui les transforme en spermatocytes I tétraploïde. L'achèvement de cette première division conduit à deux spermatocytes II diploïdes (Krester, 1969). Chacun d'entre eux subit alors la deuxième division de méiose, sans synthèse d'ADN, ce qui conduit à la formation de deux spermatides haploïdes. La dernière phase est la spermiogénèse, qui transforme les spermatides en spermatozoïdes figure (05) (Clermont, 1963).

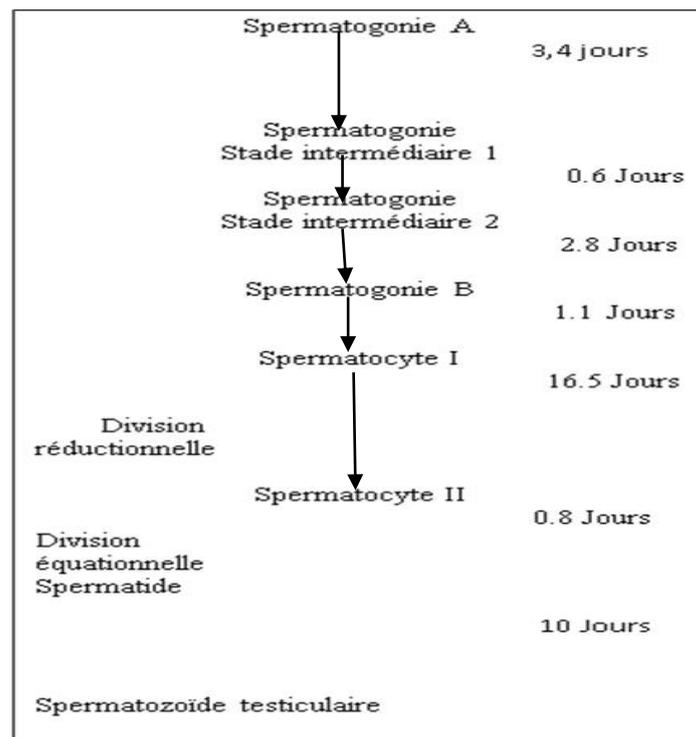


Figure 05 : Le cycle spermato-génétique chez le lapin (Boussit, 1989).

1.1.2.7. Vascularisation

Le testicule renferme un complexe vasculaire formé par l'artère testiculaire et les veines testiculaire et épидидymaire (Hochreau de Reviers et Royere, 1996).

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

Les veines sont au nombre de deux : la veine testiculaire droite rejoint généralement la veine cave inférieure, la veine testiculaire gauche, contrairement à la droite, rejoint la veine rénale gauche. Les veines en provenance de l'épididyme, sortent par l'arrière du testicule ; elles se rejoignent ensuite et forment un plexus alambiqué appelé veineux pampiniforme.

Les capillaires lymphatiques du testicule constituent un réseau assez dense dans les lobules autour des tubes séminifères, de là ils passent dans les cloisons et gagnent le médiastin du testicule en formant plusieurs vaisseaux pour gagner enfin le bord postéro-supérieur de la glande figure (06) (Bailleul et *al.*, 1991).

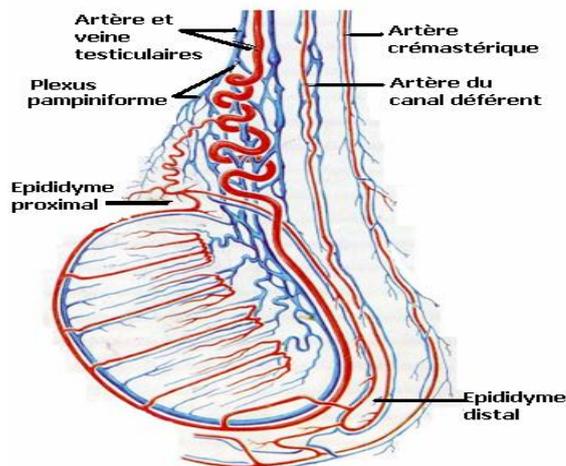


Figure 06 : Vascularisation du testicule (GOUAZE *et al.*, 1977).

1.2 Epididyme

L'épididyme est un conduit unique extrême tortueux qui relie les canaux efférents au canal déférent, il est l'un des composants majeur du système d'excrétion (Klinfelter, 2002), il mesure 1.5 à 3 cm chez le lapin.

Ce tube contourné forme des lobules séparés par des travées conjonctives ou *septaet* présente 03 segments anatomiques et fonctionnels, une tête qui représente la région proximale reliée au hile du testicule par les canaux efférents, un corps qui constitue la partie médiane et la queue

qui forme la région distale en continuité avec le canal déférent. L'épididyme peut être divisé en cinq segments I, II, III, IV, VI, en fonction de leurs sécrétions et leurs activités enzymatiques (figure 07) (Hinton et Turner, 1988).

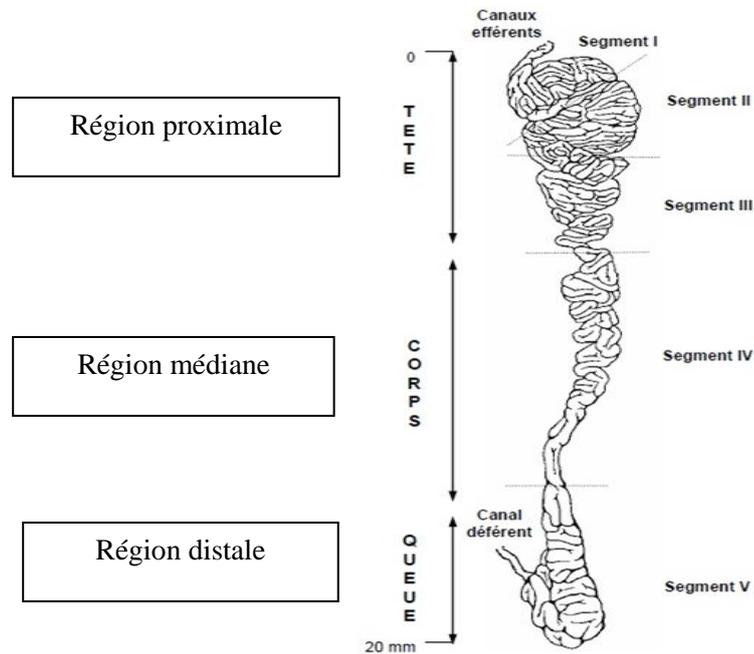


Figure 07 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Herme et Robaire, 2002)

L'épididyme joue plusieurs rôles essentiels pour la fertilité mâle, la tête et le corps épididymaire sont responsable de la maturation spermatique alors que la queue est plus impliquée dans le stockage assurant ainsi un nombre suffisant de gamètes présent à chaque éjaculation (Johnston et al., 2005).

1.2.1. Histologie de l'épididyme

Le canal épididymaire comprend deux compartiments, un épithélium pseudostratifié, constitué de sept types cellulaires, les cellules principales, basales, en halos, claires, apicales et étroite (figure 6), entourées de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses et d'un tissu conjonctif contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins d'une part, et d'une lumière bordée par cet épithélium d'autre part (Robaire et Herme, 1988).

1.2.1.1. Cellules principales

Les cellules principales représentent 65 à 80 % de la population des cellules épithéliales épидидymaire totale. Ce sont de larges cellules prismatiques avec un aspect variable d'un segment à l'autre, elles sont reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes.

Elles possèdent plusieurs rôles à différents niveaux, transport et sécrétion de petites molécules organiques, synthèse et sécrétion des protéines et enfin réabsorption de fluide épидидymaire figure (08) (Ramos et Dym, 1978).

1.2.1.2. Cellules basales

Les cellules basales sont des petites cellules allongées de forme triangulaire, représentent 10 à 20 % des cellules épидидymaires. Reposant sur la lame basale, elles sont caractérisées par un noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites.

Elles sont jointes aux cellules principales avoisinantes par des desmosomes. Leurs fonctions sont inconnues mais il semblerait qu'elles jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libres (Soranzo *et al.*, 1982) ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à ce qu'on appelle, la barrière hémato épидидymaire figure (08) (Seiler *et al.*, 2000).

1.2.1.3. Cellules en halos

Les cellules en halos sont disséminées tout le long du canal épидидymaire et contribuent à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme figure (08) (Hoffer *et al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

1.2.1.4. Cellules claires

Les cellules claires sont de grandes cellules prismatiques sont présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo *et al.*, 1982). Elles contiennent de nombreuses vésicules contenant des gouttelettes lipidiques dans leur région basale (Robaire et Hermo, 1988). Elles joueraient un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire figure (08) (Olson et Hinton, 1985).

1.2.1.5. Cellules apicales

Les cellules apicales sont qualifiées ainsi en raison de la localisation de leur noyau dans les tiers apical des cellules, elles présentent, quant à elles, un cytoplasme dense très riche en mitochondries, contenant des lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H^+ et la réabsorption des bicarbonates (HCO_3^-). Elles seraient ainsi responsable de l'acidification du fluide épидидymaire (Martinez-Garcia *et al.*, 1995).

Il a également été montré qu'elles sont capables d'endocyter des substances contenues dans la lumière figure (08) (Hermo et Robaire, 2002).

1.2.1.6. Cellules étroites

Les cellules étroites sont localisées dans des segments spécifiques, elles sont peu nombreuses, et se caractérisent par un renflement cytoplasmique, un noyau allongé situé dans la portion supérieure, un grand nombre de petites vésicules dispersées dans la région apical de la cellule et par une base très étroite les reliant à la membrane basale. Ces cellules seraient impliquées dans l'acidification de la lumière de l'épididyme figure(08) (Hermo *et al.*, 2000).

1.2.1.7. Cellules dendritiques

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

Ces différents types cellulaires présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (figure 08) (Shum *et al.*, 2011)

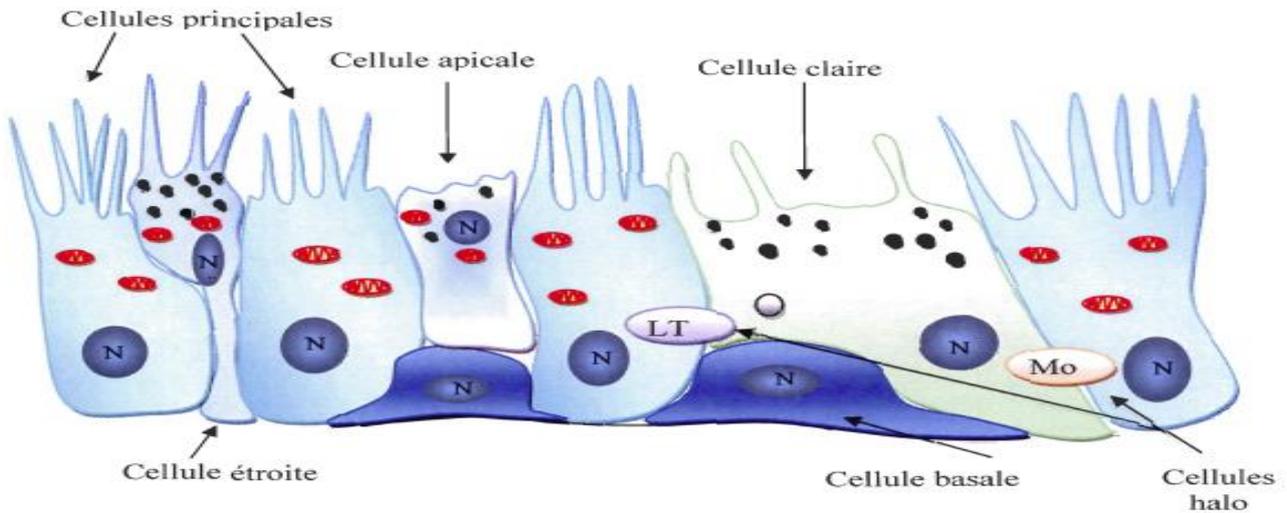


Figure 08 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).

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

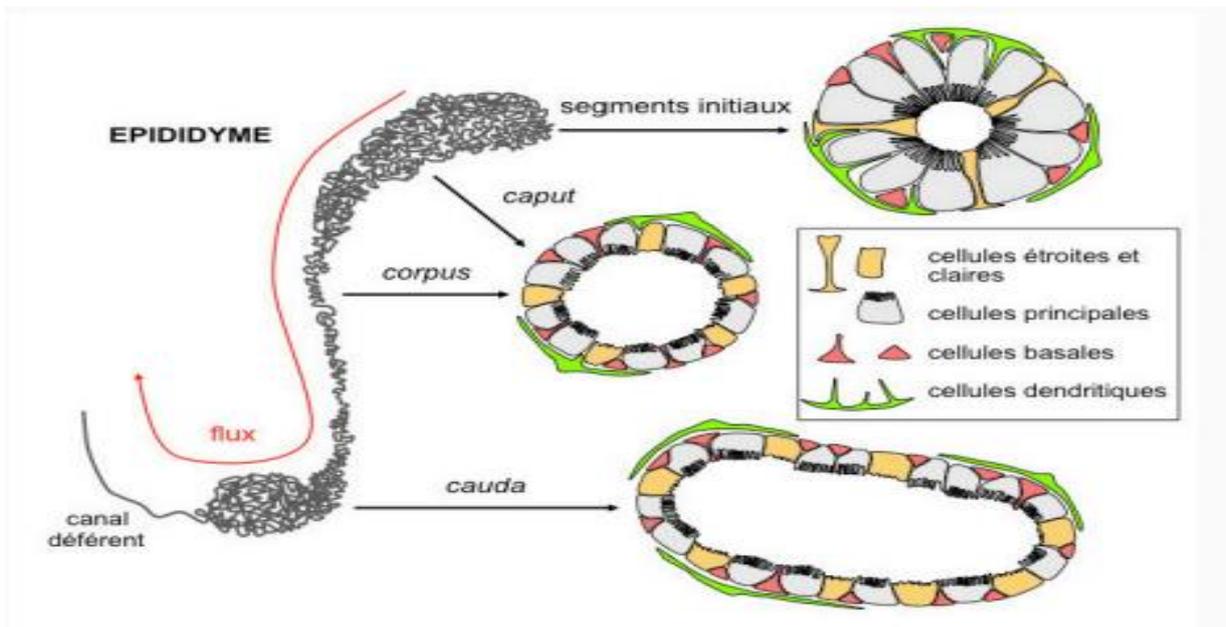


Figure 09 : Schéma représentatif de l'épидидyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).

1.2.1.8. Lumière de l'épididyme

Les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de la lumière pour rejoindre le système éjaculateur depuis les gonades mâles.

Les spermatozoïdes transportés baignent dans un liquide très complexe : le fluide épидидymaire qui contient essentiellement des ions, des molécules organiques, et des protéines spécifiques, dont la plupart sont des enzymes (Hermo et Robaire, 2000).

2. Physiologie de la reproduction du lapin

La physiologie de la reproduction du lapin suit la même organisation que celle des autres mammifères. Au niveau testiculaire, s'effectue la production de gamètes : la spermatogenèse, la maturation quant à elle, s'accomplira au niveau épидидymaire (Alvariño, 2000).

2.1. Fonctions de la cellule Sertoli

La cellule Sertoli assure divers rôles dont la nutrition, le contrôle de la position et déplacement des cellules germinales et leur migration du pôle basal vers le pôle apical, en mouvements centrifuges, et aussi elle assure la phagocytose des cellules germinales dégénérantes.

Elle a aussi un rôle dans le contrôle de la spermatogenèse en synthétisant l'ABP (androgen binding protein) et en sécrétant le liquide séminal primitif (Van Nguyen et Ferry, 2007).

2.2. Fonctions de la cellule Leydig

Les cellules de Leydig synthétisent et libèrent les androgènes principalement la testostérone ; qui joue un rôle dans le développement des caractères masculins, et les organes annexes de l'appareil reproducteur. Elles sont la source de cholestérol (précurseur immédiat des stéroïdes synthétisés par les cellules de Leydig) (Raymond, 1988).

Elles élaborent des facteurs de croissance qui ont un effet mitogène sur la cellule de cellule de sertoliprépubère (EGF, TGFB, IL-1) (Dadoune et Demoulin, 2001).

Il semblerait que les cellules de Leydig produisent également l'inhibine, ainsi que l'activine. L'inhibine module la stéroïdogenèse leydigienne ; ainsi dans la culture de cellules de leydig, l'inhibine potentialise les effets de la LH sur la stéroïdogenèse, l'activine ayant un rôle opposé (De krester et Hedger, 1996).

2.3. Développement des gonades

La différenciation des organes sexuels mâles se déroule durant la vie fœtale. D'après Alvariño (2000), On retrouve ainsi par ordre chronologique

Durant le développement embryonnaire, l'albuginée se forme aux alentours du 14^{ème} et 15^{ème} jour de gestation, quelques jours plus tard se sont les tubes séminifères qui se forment à leur tour. La production d'androgènes se fait au 19^{ème} jour de gestation.

Au 20^{ème} jour de gestation, le canal de Müller commence à régresser. Dès lors, il y a stabilisation du développement des canaux de Wolff tout cela grâce à une hormone prédominante qui est la testostérone.

Les testicules impubères sont contrôlés par l'hypophyse. La multiplication et la différenciation des cellules de Sertoli sont dépendantes des gonadotrophines.

A partir de la naissance, La testostérone et la FSH ont une concentration constante de la naissance au 40^e jour. La LH commence à diminuer au 20^{ème} jour. Suite à une augmentation significative du taux de testostérone et de FSH et une petite augmentation de LH, les cellules de Leydig apparaissent.

La taille des testicules augmente jusqu'à l'âge de huit mois. Durant cette période les vésicules séminales croissent rapidement. Le processus de spermiogénèse s'établit aux alentours de 70 jours. Au 84^e jour tous les tubes séminifères sont actifs.

2.4. Maturation sexuelle

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

2.4.1. Phase infantile

La phase infantile s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours. Elle se caractérise par une croissance lente des testicules et des vésicules séminales, et de faibles concentrations plasmatiques en FSH et testostérone (Boussit, 1989). Durant ce stade, les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermatogénétique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger *et al.*, 1982).

2.4.2. Phase prépubertaire

Elle débute vers l'âge de 40 jours et marque l'accélération de la croissance testiculaire et de 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, leur nombre augmente très rapidement, et, entre 70 et 80 jours, le tissu interstitiel a acquis un aspect adulte (Berger *et al.*, 1982 ; Boussit, 1989).

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

2.4.3. Puberté

La puberté est définie d'après Boussit (1989), par le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes aptes à féconder un ovule (vers 4 à 5 mois d'âge).

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.

2.4.4. Maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne de spermatozoïdes n'augmente plus, est atteinte vers 30 à 32 semaines. Toutefois un jeune mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de 20 semaines, en effet les premières manifestations de comportement sexuel peuvent apparaître vers 60 à 70 jours. Dans ces premiers éjaculats la viabilité des spermatozoïdes est faible, il faut donc attendre 135 à 140 jours pour aboutir aux premiers accouplements féconds. Toutefois l'âge de puberté varie à cause des différences génétiques entre les races, les conditions d'élevage, l'alimentation et le climat (Lebas *et al.*, 1996).

2.5. Spermatogenèse

La spermatogenèse est le processus de production de gamètes mâles matures, à partir de cellules souches au niveau du testicule. Chez le lapin, elle débute entre 40 et 50 jours d'âge, avec apparition des premiers spermatozoïdes peu viables dans les éjaculats à 110 jours d'âge (Lebas, 2009)

La spermatogenèse comporte 03 grandes étapes : prolifération, méiose et spermiogénèse. Durant la phase multiplication, des cellules germinales souches ou spermatogonies se divisent par mitose produisant des générations successives de cellules ; les spermatocytes.

La méiose est le processus de divisions successives des spermatocytes diploïdes aboutissant à la formation de spermatides haploïdes (Van Nguyen et Ferry, 2007).

Johnson et Everitt (2002) rappelle que la spermiogénèse est la dernière phase conduisant à la formation des spermatozoïdes à partir des spermatides. où, se mettent en place les modifications les plus visibles de la spermatogénèse :

- La forme des spermatides se modifie pour donner des spermatozoïdes allongés
- Une queue se forme en vue de la propulsion
- Une pièce intermédiaire contenant les mitochondries (générateurs énergétique de la cellule) reliée à la tête spermatique par les centrioles
- Développement de l'acrosome à partir de l'appareil de golgi (figure 10)

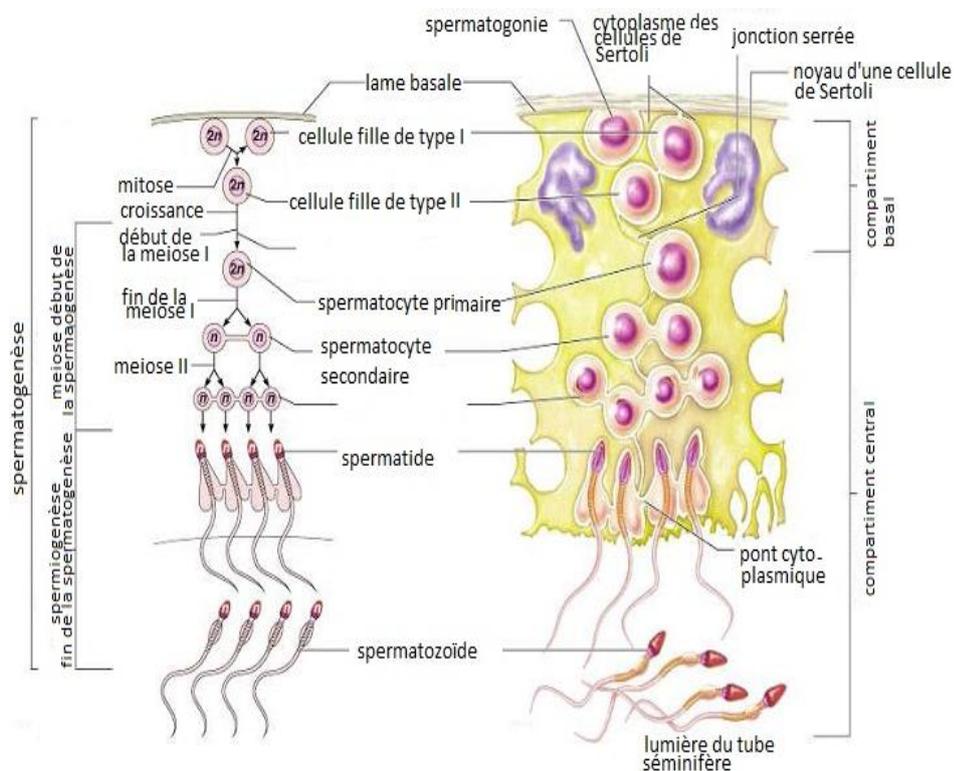


Figure 10 : Schémas générale de la spermatogénèse (Marieb, 2006)

2.6. Fonctions de l'épididyme

L'épithélium et la lumière sont les deux composantes principales de l'épididyme, dont chacune assure des fonctions précises.

L'épithélium joue un rôle important dans la composition du fluides épидидymaire. Tandis que la lumière assure le transport, la maturation et le stockage des spermatozoïdes.

2.6.1. Fonctions de l'épithélium épидидymaire

2.6.1.1. Absorption et réabsorption

L'épithélium de l'épididyme joue un rôle primordial dans la composition du fluide séminal en absorbant un large volume de liquide et de molécules provenant de testicule et en réabsorbant des ions, des protéines et de l'eau.

La majorité des protéines présentes dans le fluide testiculaire sont réabsorbées par endocytose fluide ou spécifique, ou par transcytose, et sont remplacées par de nouveaux composés sécrétés par les cellules épithéliales (Thibault et Levasseur, 2001), ce qui permet de multiplier la concentration des spermatozoïdes à leurs entrées dans l'épididyme (Hamilton, 1975).

2.6.1.2. Sécrétion

L'épithélium sécrète dans le lumen une variété d'ions et de protéines telle que la GlycérylePhosphoryl Choline (GPC) et des protéines spécifique majoritairement des enzymes tel que phosphatase acides et alcalines, les glucosidases et les protéases procathepsine L qui modifient la membrane des spermatozoïdes, les glycosyltransférases qui peuvent modifier le fluide épидидymaire, la lactofférine et la clustérine qui permettent la survie et la protection des spermatozoïdes au cours du transit épидидymaire (Thibault et Levasseur, 2001).

2.6.1.3. Métabolisme

La structure de l'épithélium de l'épididyme possède aussi une activité métabolique, en plus d'assurer le métabolisme intermédiaire du glucose, elle permet le métabolisme de la testostérone en 5 α -dihydrotestostérone (DHT) (Cooke et Robaire, 1987).

L'épididyme est aussi impliqué dans la biosynthèse, le métabolisme et la conjugaison du glutathion, la biosynthèse des prostaglandine et le métabolisme de la vitamine D (Blodorn *et al.*, 1996, Leung *et al.*, 1998).

2.6.1.4. Spermiphagie

La majorité des spermatozoïdes sont absorbés, puis détruite par les cellules apicales de l'épididyme et le canal déférent par Spermiphagie qui est une phagocytose des spermatozoïdes non éjaculés. Tandis que une portion de spermatozoïdes est évacuée dans l'urine (Glover, 1974 ; Bedford, 1975).

2.6.2. Fonctions au niveau de la lumière

2.6.2.1. Transport

Le transport des spermatozoïdes le long de la lumière épидидymaire est possible grâce à la pression hydrostatique qui varie le long du tubule, aux contractions musculaires et à l'activité ciliaire des parois du tubule (Beford, 1975 ; Robaire et Hermo, 1988).

De plus, le passage des spermatozoïdes à travers la lumière du tubule épидидymaire semble être un processus bien régulé et le temps requis pour le trajet est relativement constant et oscille entre 10 et 14 jours, sauf chez l'homme ou celui-ci est plutôt variable (Orgebin-crist, 1998).

2.6.2.2. Maturation

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

2.6.2.3. Stockage

Les spermatozoïdes matures atteignent la queue de l'épididyme qui servira de réservoir durant l'attente de prochaine éjaculation. Ils baignent dans un liquide qui permet de les conserver dans un stade quiescent, pour une période pouvant aller de quelques jours à plus d'un mois (Hinton et Palladino, 1995).

3. Régulation

3.1 Régulation interne

3.1.1. Régulation de la spermatogenèse

Le contrôle et le maintien de la spermatogenèse chez l'adulte sont sous la dépendance des gonadotrophines hypophysaire :

- ❖ La LH stimule la production de la testostérone par les cellules Leydig, cette dernière passe dans les tubes séminifères, se lie aux récepteurs des cellules de Sertoli et permet le maintien de la spermatogenèse (Johnson et Everitt, 2002).

- ❖ La FSH en se fixant sur des récepteurs membranaires couplés aux protéines des cellules de Sertoli, active la production de facteurs sertoliens tel que l'ABP, la transferrine et divers agents nécessaires aux bons déroulements de la spermatogénèse.
- ❖ L'inhibine est une hormone produite chez le mâle par les cellules de Sertoli et qui exerce son effet sur l'hypophyse antérieure afin de réduire la sécrétion de FSH (Campbell *et al.*, 2009)
- ❖ EGF (epidermal growth factor) et NGF (nerve growth factor), synthétisés par les spermatides et les spermatocytes, modulent le fonctionnement des cellules de Sertoli (augmentation de la synthèse d'ABP par exemple)
- ❖ Les cellules de sertoli libèrent des facteurs de croissances qui modulent la production de testostérone par les cellules de Leydig (IGF1 stimule la stéroïdogénèse et TGF- β l'inhibe)
- ❖ Les corps résiduels des spermatides matures stimulent la sécrétion d'interleukines (IL-1, IL-6) par les cellules de Sertoli impliqués dans la multiplication et la différenciation des cellules germinales
- ❖ La testostérone sécrétée par les cellules Leydig diminue l'activité des enzymes de la stéroïdogénèse (rétrocontrôle négatif) (Van Nguyen et Ferry, 2007)

3.1.2. Régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire

La fonction sexuelle de lapin mâle fait l'objet d'une régulation de type neuroendocrine, les hormones intervenant dans cette régulation ont deux origine. D'une part, le complexe hypothalamo-hypophysaire via une gonadolibérine la GnRH (gonadotropin releasing hormone), qui se fixe sur des récepteurs localisées sur les cellules gonadotrope de l'antéhypophyse et stimule ainsi la synthèse et la sécrétion de deux gonadotrophines: FSH et ISCH (interstitial cell stimulating hormone) équivalent de LH (Thibault et Levasseur, 2001) et d'autre part, les testicules où se trouve les récepteurs spécifiques de chacune des deux gonadotrophines (Bonnes *et al.*, 2005).

La moitié des protéines épидидymaire sont sous contrôle androgénique (positif ou négatif), pour les autres, 43% sont modulés par des facteurs locaux, et 6% ne sont pas influencés quelles que soient les conditions physiologiques (Dacheux *et al.*, 2005).

Les fonctions lumorales et épithéliale de l'épididyme, sont sous un contrôle d'un réseau complexe de molécules biochimiquement très variées et d'origines diverses, qui vont agir spécifiquement au niveau des cellules de l'épithélium épидидymaire pour réguler l'expression des gènes-cibles, et par conséquent, agir sur les fonctions physiologiques de cet organe (Holland et Orgebin-Crist, 1988).

Parmi les androgènes essentiels dans la régulation des fonctions de l'épididyme, on trouve la testostérone et son métabolite la dihydrotestostérone (DHT) qui proviennent des testicules et des glandes surrénales et qui jouent un rôle très important dans la régulation de l'activité épидидymaire (Adamali *et al.*, 2000).

Leur action notamment la testostérone surrénalienne arrivent par la voie sanguines « contrôle endocrine » liées à la SBP (sexsteroid-binding protein) (Mercier- Bodard *et al.*, 1970). et par le fluide testiculaire « contrôle lumicrine » liée à l'ABP (androgen binding protein) (Brooks, 1981 ; Holland et Orgebin-Crist, 1988) au niveau épидидymaire, par la 5 α -dihydrotestostérone (DHT) est le médiateur de l'action de la testostérone, obtenue après la conversion de ce dernier par la 5 α -réductase de type I et II, principalement au niveau du segment initial (Robaire et Hermo, 1988 ; Robaire *et al.*, 2000; Ezer et Robaire, 2003).

La DHT agit via un récepteur nucléaire spécifique AR, le complexe ainsi formé se fixe sur un élément de réponse au androgènes (ARE), qui est une séquence nucléique située au niveau de promoteur des gènes cible pour réguler positivement leur expression ou les réprimer. Les récepteurs des androgènes sont présents au niveau des cellules principales de toutes les régions de l'épididyme chez les différentes espèces (Robaire *et al.*, 2000).

Néanmoins, selon Eddy *et al.* (1996) ; Hess *et al.*, (1997), d'autres hormones tel que : l'ocytocine, l'activine et l'inhibine, l'angiotensine II, la mélatonine, et de nombreux facteurs de croissance ..., peuvent intervenir dans :

- Le développement et le maintien de la structure de l'épithélium épидидymaire.
- La régulation de ces fonctions.
- La protection des cellules épithéliales des dommages oxydatifs.

- La stimulation des cellules principales et leur fonction sécrétrice.
- Le maintien d'un pH favorable à l'acquisition de la motilité des spermatozoïdes et leurs états de quiescence lors de leur stockage au niveau de la queue de l'épididyme.
- La maturation des spermatozoïdes lors de leur transit épидидymaire.

3.2. Régulation externe

3.2.1. 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.

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

La température favorable pour la reproduction se situe entre 15 et 18° C (Lebas, 2009).

3.2.2. Lumière

Des études ultérieures réalisées sur l'effet de l'éclairage artificiel sur la fertilité et la production spermatique du mâle se contredisent. En effet, Walter *et al.* (1968) ; Adams et Sinch (1981), cités par Boussit (1989) montrent que la concentration spermatique ou le poids testiculaire étaient au minimum pour des durées d'éclairage longues (+ de 14 h).

Alors que Boyd (1985 cité par Theau-Clément, 1994) et Theau-Clément (1994), observent une augmentation du poids testiculaire et du pourcentage de spermatozoïdes vivant après un passage de 8h à 16h, et une diminution du même paramètre, si l'opération est inversée. Les caractéristiques qualitatives et quantitatives des éjaculats étaient significativement plus élevées pour le lot de 16h d'éclairage, seul le volume était plus élevé pour le lot de 8h d'éclairage.

3.2.3. Age

L'âge des mâles influence significativement le pH, la concentration et le nombre de spermatozoïdes totaux et motiles par éjaculat. En effet, les mâles adultes (au-delà de 43 semaines) ont une semence de concentration et un nombre de spermatozoïdes totaux et motiles plus élevés (Panella et Castellini, 1990).

3.2.4. Alimentation

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

D'ailleurs il est recommandé que la nourriture donnée aux lapins comporte plus de 15% de protéines (Nizza *et al.*, 2000).

3.2.5. Humidité

Les lapins ne sont pas sensibles à une hygrométrie trop élevée, car si elle est élevée l'évaporation est très faible dans le local et l'animal se trouve alors dans une situation inconfortable qui pourrait aboutir à la prostration. De ce fait, il est de préférence de maintenir l'humidité entre 55 et 80% (idéalement entre 60 et 70%) (Lebas, 2009).

Chapitre II :
Matériel et
Méthodes

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

L'objectif de ce présent travail est l'étude de l'effet de l'huile essentielle « menthe poivrée » sur la structure des testicules et épидидymes de lapin mâles à différents âges à travers une étude histologique et morphométrique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume testiculaire et épидидymaire.

1. Matériel biologique

1.1. Animal

L'expérimentation a été réalisée durant la période allant du mois de Mai au mois de Juillet de l'année 2018 (figure 11).



Figure 11 : lapins issus d'un élevage cunicole de Tizirt. (Originale, 2018)

L'étude a porté sur 17 lapins de sexe mâle de la souche synthétiques (9 lapins âgés de 1 mois et 8 âgés de 5 mois) provenant d'un élevage cunicole privé de la région de Tizirt.

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

La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est selon Lebas *et al.* (1984) comme suit :

- Règne : Animal
- Embranchement : Vertébrés

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

1.2. L'huile essentielle (menthe poivrée)

Selon la pharmacopée européenne, l'huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie. L'extraction se fait soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif à sa composition (EDQM., 2017).

Parmi les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles on retrouve qu'elles sont

- Liquides à température ambiante mais aussi volatiles au fait de leur masse moléculaire relativement faible, ce qui leur confère la propriété olfactive qui les différencie des huiles dites fixes (Bonnafous, 2013).
- Inflammables et ne contiennent aucun corps gras (Bonnafous, 2013).
- Odorantes, et pour la plupart colorées (leur couleur varie selon la plante aromatique utilisée) (Lakhdar, 2015).
- Présentent une densité généralement inférieure à celle de l'eau, et un indice de réfraction élevé (Lakhdar, 2015).
- Liposolubles et solubles dans les solvants organiques et les huiles végétales, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (elles sont hydrophobes) (AFSSAPS, 2008).

L'huile essentielle *Menta piperita* est une huile essentielle obtenue par distillation complète des feuilles de la menthe. Ayant des propriétés antiseptiques dont le principe actif est le menthol (figure 12) (Keller-Didier. 2004).



Figure 12 : flacon de la menthe poivrée. (Originale, 2018)

Les principes actifs de la menthe poivrée sont principalement du Menthol, néomenthol, isomenthol, menthone ; tanins dont surtout de l'acide rosmarinique et des dérivés de l'acide caféique et les flavonoïdes (MODIF, 2009).

1.3. Autres matériels

Notre expérimentation a nécessité l'utilisation d'autres matériels tel que les papiers filtres, portoirs, micropipettes, balance de précision, ciseaux, pince, spatule, poire, pissettes, endorfins, cassettes d'inclusion, cryotubes et moules à paraffine.

2. Protocole expérimental

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

Avant de commencer l'expérimentation, les animaux ont été laissés une semaine d'adaptation dans le nouveau milieu (clapiers de l'ITMAS) à fin d'éviter l'effet du stress.

Au total 17 lapins ont été utilisés durant notre étude et répartie en 5 lots différents, un lot témoin (n=3), deux lots de lapins âgés de 1 mois aux doses respectives 100ul et 200ul et deux lots de lapins âgés de 5 mois aux doses respectives de 100ul et 200ul.

3. Expérimentation

3.1. Pesé et administration de la menthe poivrée

L'expérimentation s'est effectuée durant 15 jours au niveau de l'ITMAS, les 17 lapins de sexes mâles ont été pesés puis traités une seule fois par l'huile essentielle « menthe poivrée » mélangée dans 0.5 ml d'eau puis administrée par voie orale à deux doses différentes 100ul/kg pour les lapins de première dose et 200ul/kg pour les lapins de deuxième dose puis (figure 13).



Figure 13 : pesé et administration de l'huile essentielle (originale, 2018).

3.2. Sacrifices des animaux et prélèvements

Les lapins sont identifiés, pesés puis sacrifiés par saignement. Le sang est recueilli immédiatement dans des tubes secs et congelé à 4°C pour le dosage des paramètres biochimiques et hormonaux ultérieurs.

La peau est immédiatement retirée, l'animal disséqué et éviscéré. Les testicules et épидидymes gauches sont prélevés, dégraissés, puis pesés à l'aide d'une balance de précision (0,01g) et le volume déterminé par la méthode de la mesure du volume d'eau déplacé à l'immersion de l'organe dans une éprouvette graduée, contenant un volume d'eau initialement connu (5ml). Ces organes prélevés sont destinés à une étude histologique et sont plongés directement dans une solution de fixation, la solution de Bouin Hollande.

Les testicules et épидидymes droits sont immédiatement placés dans des cryotubes et congelés à 20°C (figure 14).



Figure 14 : Mesure du poids et volume des testicules et épидидymes (originale, 2018).

3.2. 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.

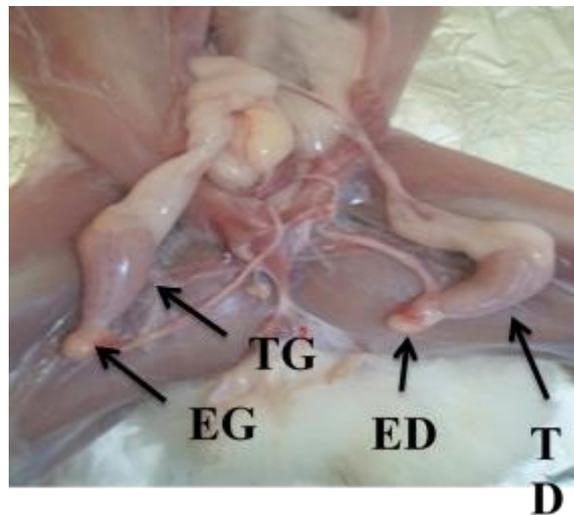


Figure 15 : Appareil génital du lapin (originale, 2018).

3.3.1. Fixation

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes et permettant de réaliser des manipulations avec un minimum de dommage pour les structures cellulaires. Les organes prélevés sont immédiatement débarrassés de la graisse qui les entoure

et plongées dans le fixateur pour conserver les structures et le durcissement des pièces anatomiques, cette étape est d'une grande importance car une mauvaise fixation aura pour conséquence la perte de l'organe.

Nous avons utilisé la solution du Bouin Hollande comme fixateur. C'est une solution préparée au laboratoire sur la base d'un mélange de formol, d'acide picrique, d'acétate de cuivre, d'eau distillée et d'acide acétique cristallin.

Les organes sont mis dans des cassettes soigneusement étiquetées, plongées dans un volume de fixateur, pendant 6 à 7 jours, à température ambiante.

3.3.2. Déshydratation et éclaircissement

Cette opération consiste à évacuer toute l'eau contenue dans l'organe, a pour but de préparer la pièce à l'inclusion dans la paraffine.

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

3.3.3. Imprégnation

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

3.3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Les organes sont placés dans des moules spécifiques dont les formes sont adaptées aux dimensions de l'organe, et dont on a versé de la paraffine au préalable. Lorsque les bordures de la paraffine commencent à durcir, nous plaçons la partie marquée de sa cassette dans le moule, nous coulons de la paraffine fondue jusqu'à ce que celle-ci soit totalement immergée. Les moules sont ensuite posés sur une plaque refroidissante pour durcir. Les blocs obtenus sont démoulés facilement et peuvent être conservés sans dommage (figure 15).



Figure 16 : photographie des organes placés dans des moules à paraffine (originale, 2018).

3.3.5. Confection des coupes et collage

Des coupes fines de 2 à 5 μ m d'épaisseur ont été réalisées sur les blocs d'organes, en utilisant un microtome à paraffine de type Leica (figure 16) au niveau du laboratoire d'Anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Les coupes sont déposées sur de l'eau chaude (40°C) et récupérées sur des lames porte-objet propres qui seront gravé puis incubées pendant une heure à 60°C dans une étuve.



Figure 17 : Microtome à paraffine de type Leica (originale, 2018).

3.3.6. Déparaffinage et réhydratation

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

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

3.3.7. Coloration topographique

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

Les colorants utilisés permettent de reconnaître les différents tissus, le cytoplasme, le noyau et les principales inclusions cytoplasmiques. Le noyau est coloré 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 figure(15).



Figure 18 : Etapes de la coloration (originale,2018).

3.3.8. Observation des lames

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

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

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

3.4. Etude statistique

Les variables (poids vifs, poids et volume des testicules et épидидymes) obtenus durant cette étude sont soumis à une analyse de variance «ANOVA ». Le traitement statistique et les présentations graphiques des résultats ont été réalisés sous Microsoft Office Excel 2013.

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles suivie de l'erreur standard à la moyenne « ESM » sont calculés pour chaque paramètre.

La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA et la valeur des probabilités « p » :

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

Chapitre III :
Résultats et
Discussions

1. Résultats

1.1. Evolution du poids corporel et gonadique

Les résultats rapportés dans ce travail concernent l'évolution pondérale des lapins mâles âgés de 1 mois et 5 mois et aussi celle des gonades à savoir les testicules et les épидидymes ainsi que leurs volumes et leurs poids relatifs, puis nous avons réalisé une étude histologique des structures gonadiques testiculaire et épидидymaire.

1.1.1. Evolution du poids corporel

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

Les pesées ont été prises deux fois durant l'expérimentation (avant et après l'administration de l'huile essentielle) et ont permis de suivre l'évolution pondérale corporelle des lapins à deux âges différents.

1.1.1.1. Evolution du poids corporel des lapins âgés de 1 mois

Le graphe (Figure 19) représente l'évolution du poids corporel des lapins âgés de 1 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle « Menthe poivrée » à deux doses différentes.

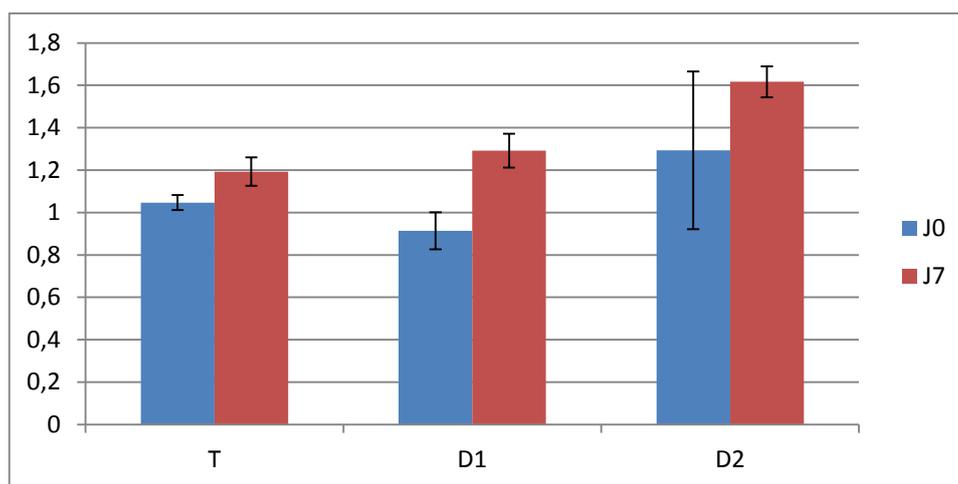


Figure 19 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 1 mois.

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

Les lapins âgés de 1 mois montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle (J7). En effet les valeurs moyennes du poids corporel passe de $1.193 \pm 0.067 \text{Kg}$ pour le lot témoin à $1.292 \pm 0.0797 \text{Kg}$ pour le lot dose1 (D1) jusqu'à $1.617 \pm 0.074 \text{Kg}$ de lots dose2 (D2) avec une différence significative ($p=0.006$) entre T et D2, et entre D1 et D2 ($P= 0.214$). Tandis qu'avant le traitement la valeur moyenne du poids corporels pour le lot de la première dose est faible de à $0.913 \pm 0.08 \text{Kg}$, par rapport au lot témoins de $1.046 \pm 0.046 \text{Kg}$.

Les valeurs moyennes de poids vif des lapins traité par l'huile essentielle « Menthe poivrée » (J7) sont élevé en fonction de la dosé administré que celles avant le traitement (J0)

1.1.1.2. Evolution du poids corporel des lapins âgés de 5 mois

Le graphe (Figure 20) représente l'évolution du poids corporel des lapins âgés de 5 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle « Menthe poivrée » à deux doses différentes.

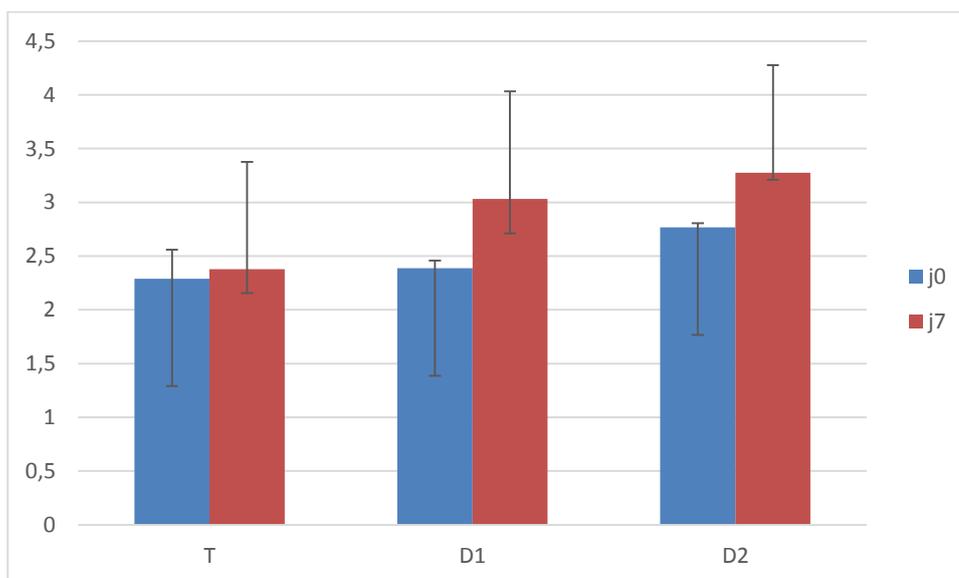


Figure 20 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 5 mois.

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

Les lapins âgés de 5 mois montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle (J7). En effet les valeurs moyennes du poids corporel passe de $2,377 \pm 0,222 \text{Kg}$ pour le lot témoin à $3,033 \pm 0,32 \text{Kg}$ pour le lot dose1 (D1) jusqu'à $3,275 \pm 0,063 \text{Kg}$ pour le lot dose2 (D2) , tandis qu' avant le traitement la valeurs moyenne du

poids corporels des lots dose 1 et dose 2 n'augmente pas significativement par rapport au lot témoin (passe de de $2,29 \pm 0,268\text{Kg}$ pour le lot témoin à $2,38 \pm 0,072\text{Kg}$ pour le lot dose1(D1) jusqu'à $2,76 \pm 0,04\text{Kg}$ pour le lot dose2 (D2)).

1.1.2. Evolution du poids testiculaire

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

1.1.2.1. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins âgés de 1mois

Le premier graphe (Figure 21) représente l'évolution des poids des testicules gauches et droits des lapins âgés de 1mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée.

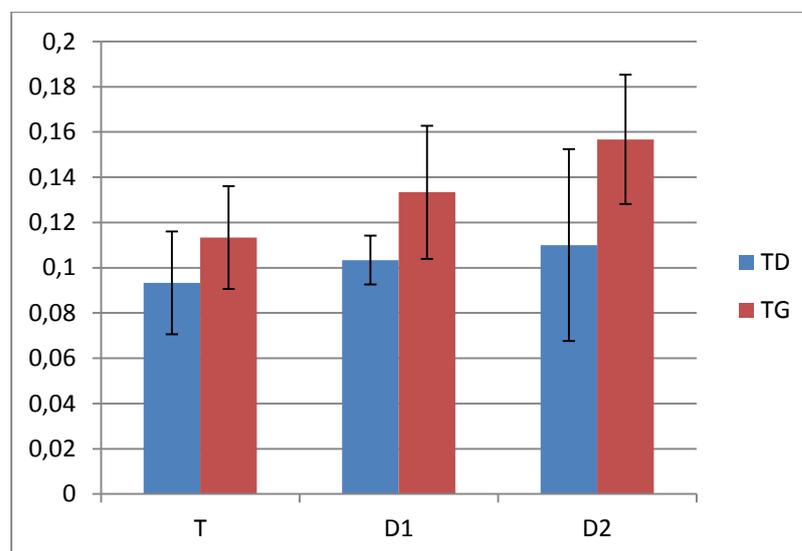


Figure 21 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins âgés de 1mois.

T : Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose2 ; **TG :** testicule gauche ; **TD :** testicule droit

Les valeurs moyenne des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administré, en effet les testicules des lapins témoins(T) présente un poids plus faible, par rapport à ceux des lots expérimentaux(D1) et (D2) et qui passe de $0,09 \pm 0,023$ vs $0,113 \pm 0,023$ pour le lot témoin(T) jusqu'à $0,11 \pm 0,042$ vs $0,157 \pm 0,029$ au lot de deuxième dose (D2). Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules droit sont plus élevées que celle de testicule gauche

1.1.2.2. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins âgés de 5 mois

Le graphe (Figure 22) présente l'évolution des poids de testicules gauches et droits des lapins âgés de 5 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée.

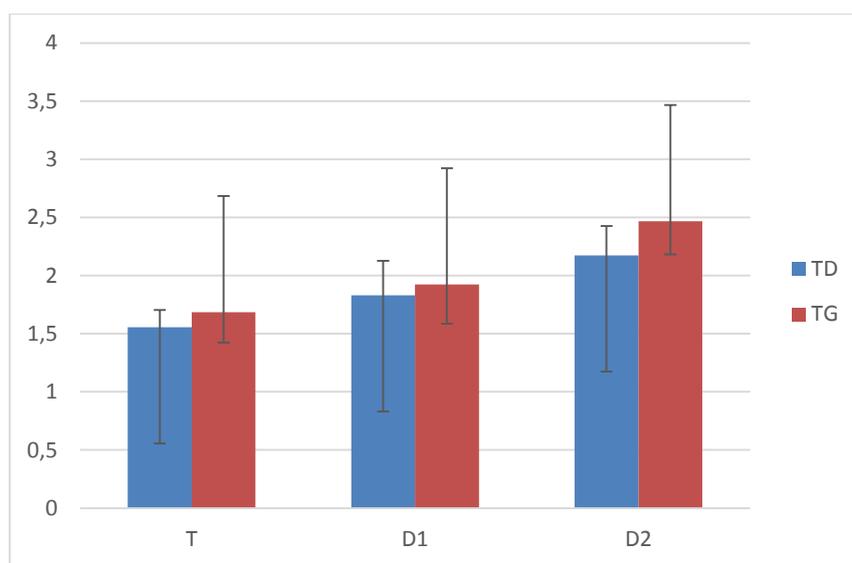


Figure 22 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins âgés de 5 mois.

T : Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose 2 ; **TG :** testicule gauche ; **TD :** testicule droit

Les valeurs moyennes des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose administrée en effet les testicules des lapins témoins(T) présente un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux(D1) et (D2) et qui passe de 1.55 ± 0.148 vs 1.685 ± 0.261 pour le lot témoin(T), jusqu'à 2.17 ± 0.251 vs 2.466 ± 0.286 pour le lot de deuxième dose (D2). Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauche sont plus élevées que celle du testicule droit.

1.1.3. Evolution du poids total des testicules

1.1.3.1. Poids total des testicules des lapins âgés de 1 mois

La figure (23) représente l'évolution du poids total de testicule pour les lapins âgés de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée.

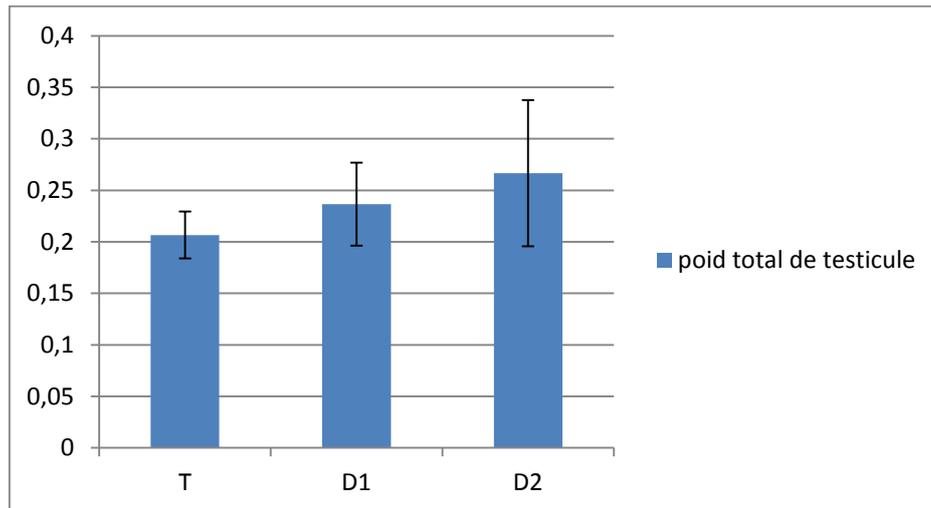


Figure 23 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins âgés de 1 mois.

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

Les valeurs moyennes du poids total des testicules présentent une augmentation progressive où les valeurs passent de 0.207 ± 0.023 g pour le lot témoin(T) à 0.237 ± 0.040 g pour le lot dose 1(D1) jusqu'à 0.267 ± 0.070 g pour le lot de deuxième dose(D2).

1.1.3.2. Poids total des testicules des lapins âgés de 5 mois

La figure (24) représente l'évolution du poids total de testicule pour les lapins âgés de 5 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée.

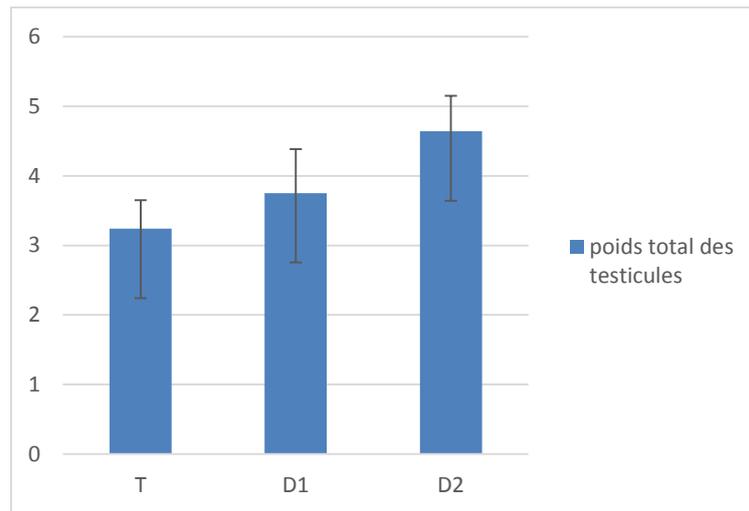


Figure 24 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins âgés de 5 mois.

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

Les valeurs moyennes du poids total des testicules présentent une augmentation progressive où les valeurs passent de $3,24 \pm 0,41$ g pour le lot témoin(T) à $3,753 \pm 0,633$ g pour le lot dose 1(D1) jusqu'à $4,64 \pm 0,511$ g pour le lot de deuxième dose(D2).

1.1.4. Evolution du poids des testicules relatif à 100g de poids corporel

1.1.4.1. Poids relatif des testicules des lapins âgés de 1 mois

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapins âgés de 1 mois est présentée dans la figure (25).

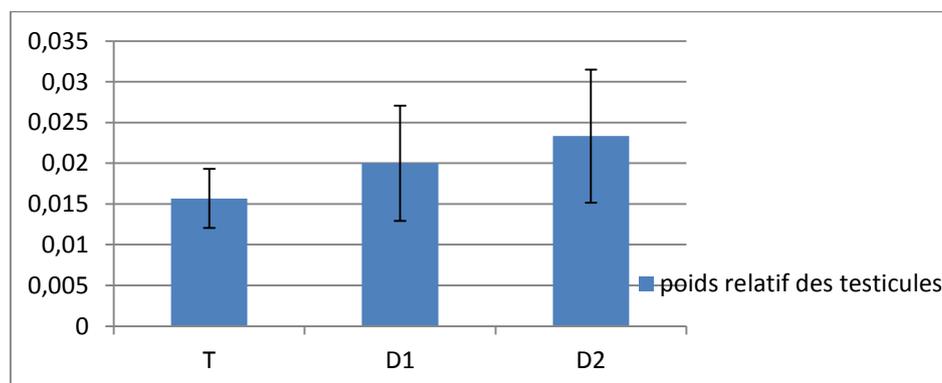


Figure 25 : Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins âgés de 1 mois

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administré .En effets les valeurs passent de 0.016 ± 0.004 g pour le lot témoin (T) à 0.02 ± 0.007 g pour le lot de la première dose(D1) puis, atteignent 0.023 ± 0.008 g pour le lot de deuxième dose(D2).

1.1.4.2. Poids relatif des testicules de lapins âgés de 5 mois

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapins âgés de 5 mois est présentée dans la figure (26).

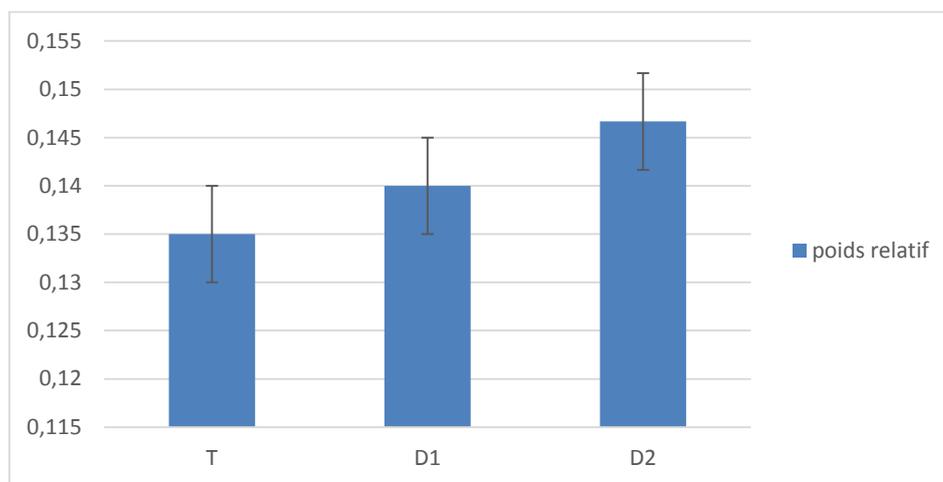


Figure 26 : Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins âgés de 5 mois.

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée .En effets les valeurs passent de $0,135\pm 0,007$ g pour le lot témoin à $0,14\pm 0,025$ g(D1) pour le lot de la première dose puis, atteignent $0.146\pm 0,016$ g pour lot de deuxième dose(D2).

1.1.5. Evolution du volume moyen testiculaire des lapins âgés de 5 mois

Le volume moyen testiculaire augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée. En effets les valeurs passent de $3,425\pm 0,289$ g pour le lot témoin à $3,696\pm 0,577$ g pour le lot de la première dose puis atteint $4,133\pm 0,588$ g pour lot de la deuxième dose(D2).

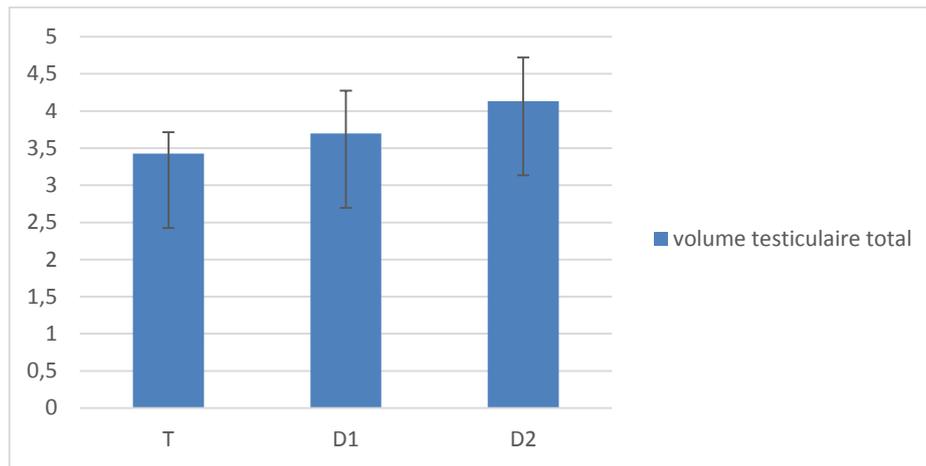


Figure 27 : Evolution du volume total testiculaire des lapins âgés de 5 mois.

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

1.1.6. Evolution du poids épидидymaire

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

1.1.6.1. Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins âgés de 1 mois

Le poids de l'épididyme gauche et droit (Figure 28) des lapins âgés de 1mois montre une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée. En effet les valeurs moyennes du poids épидидymaire gauche et droit passe de 0.107 ± 0.035 g vs 0.123 ± 0.035 g pour le lot témoin (T1) et s'élève de 0.123 ± 0.349 vs 0.143 ± 0.036 pour le lot de première dose(D1), puis les valeurs atteignent 0.147 ± 0.035 vs 0.173 ± 0.053 pour le lot de deuxième dose(D2), alors que les valeurs moyenne du poids de l'épididyme gauche sont plus élevées par rapport au poids de l'épididyme droit.

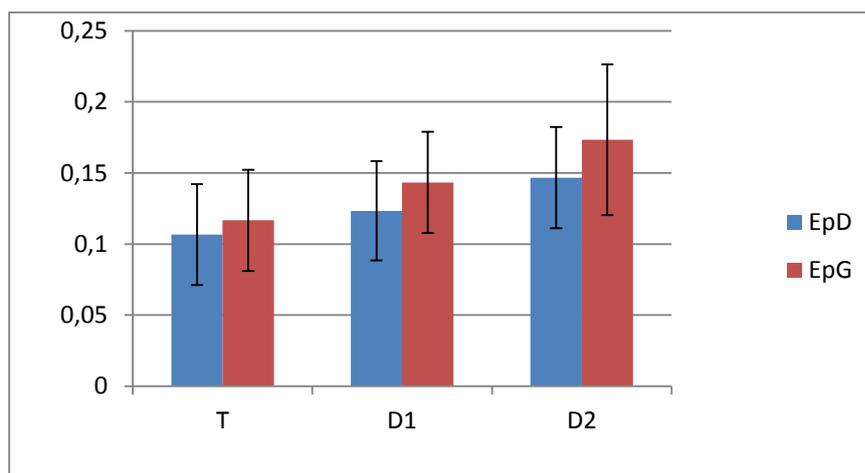


Figure 28 : Représentation graphique présentant l'évolution du poids des épидидymes gauche et droits pour les lapins âgés de 1 mois

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

1.1.6.2. Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins âgés de 5 mois

Le poids de l'épididyme gauche et droit (Figure 29) des lapins âgés de 5 mois montre une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée. En effet, les valeurs moyennes du poids épидidymaire gauche et droit passent de $0,675 \pm 0,106$ g vs $0,695 \pm 0,007$ g pour le lot témoin (T1) et s'élèvent de $0,73 \pm 0,024$ vs $0,76 \pm 0,007$ g pour le lot de première dose (D1), puis les valeurs atteignent $0,93 \pm 0,235$ vs $1,02 \pm 0,196$ g pour le lot de deuxième dose (D2), alors que les valeurs moyennes du poids de l'épididyme gauche sont plus élevées par rapport au poids de l'épididyme droit.

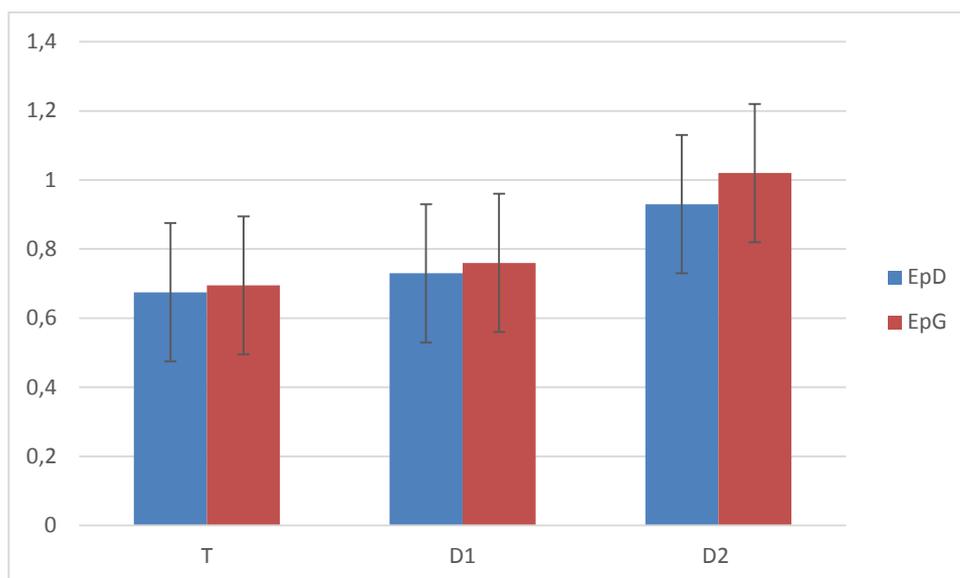


Figure 29 : Représentation graphique présentant l'évolution du poids des épидидymes gauche et droits pour les lapins âgés de 5 mois

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

1.1.7. Evolution du poids total épидидymaire

1.1.7.1. Evolution du poids total épидидymaire des lapins âgés de 1 mois

L'évolution du poids total de l'épididyme pour les lapins âgés de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée est présenté dans la Figure (30)

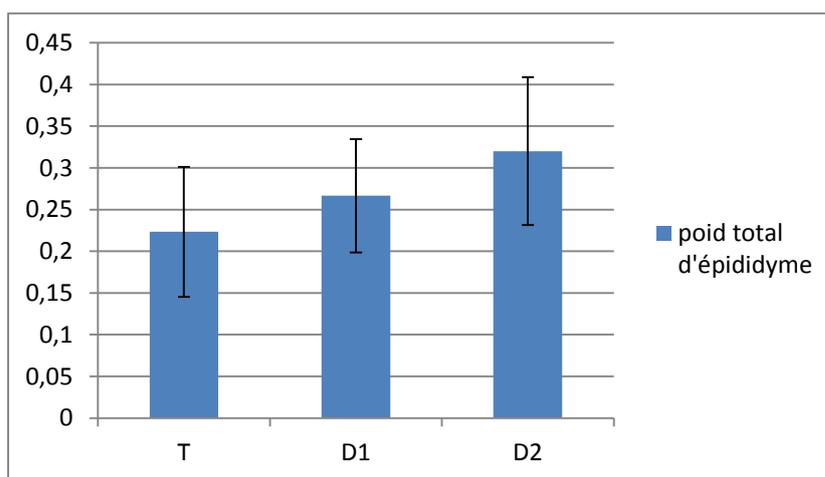


Figure 30 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme des lapins âgés de 1mois.

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

Les valeurs moyennes du poids total de l'épididyme présente une augmentation progressive où les valeurs passent de 0.223 ± 0.077 g pour le lot témoin(T) à 0.267 ± 0.067 g pour le lot dose 1(D1), jusqu'à 0.23 ± 0.088 g pour le lot de deuxième dose(D2).

1.1.7.2. Evolution du poids total épидидymaire des lapins âgés de 5 mois

L'évolution du poids total de l'épididyme pour les lapins âgés de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée est présenté dans la Figure (31)

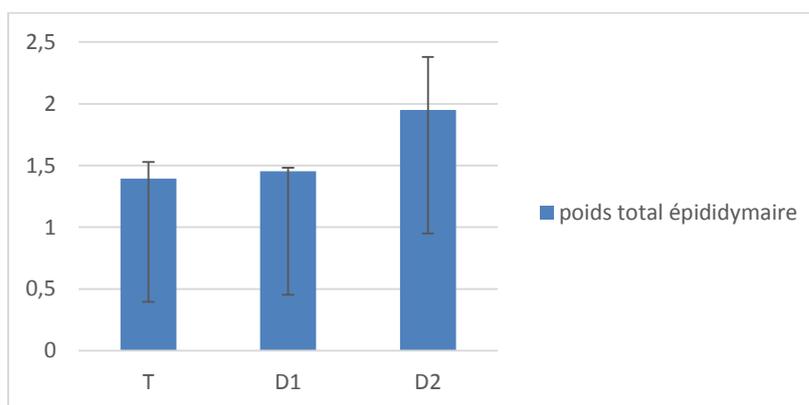


Figure 31 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme des lapins âgés de 5 mois.

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

Les valeurs moyennes du poids total de l'épididyme présentent une augmentation progressive, où les valeurs passent de $1,395 \pm 0,134$ g pour le lot témoin(T) à $1,453 \pm 0.029$ g pour le lot dose 1(D1) jusqu'à $1,95 \pm 0.429$ g pour le lot de deuxième dose(D2).

1.1.8. Evolution du poids relatif de l'épididyme relatif à 100g de poids corporels

1.1.8.1. Evolution du poids relatif épидидymaire des lapins âgés de 1 mois

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins âgés de 1mois est présentée dans la figure (32).

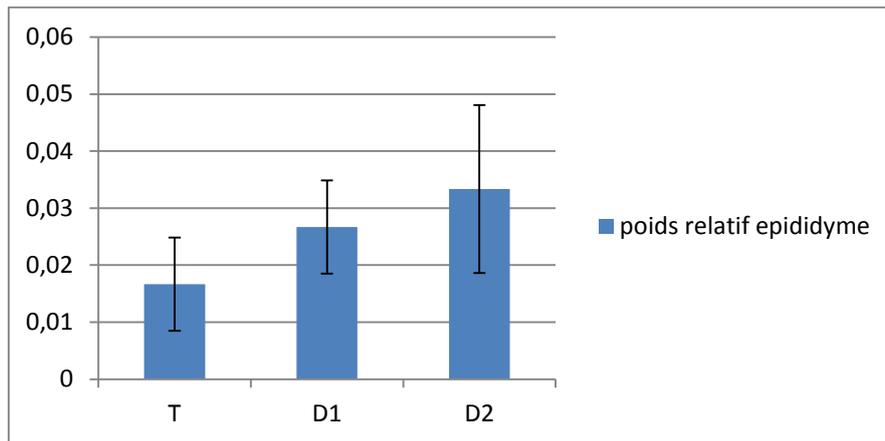


Figure 32 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins âgés de 1 mois

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée .En effets les valeurs passent de $0.017 \pm 0.008g$ pour le lot témoin (T) à $0.027 \pm 0.008g$ pour le lot de la première dose(D1) puis atteignent $0.033 \pm 0.014g$ pour le lot de deuxième dose(D2).

1.1.8.2. Evolution du poids relatif épидидymaire des lapins âgés de 5 mois

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins âgés de 5 mois est présentée dans la figure (33).

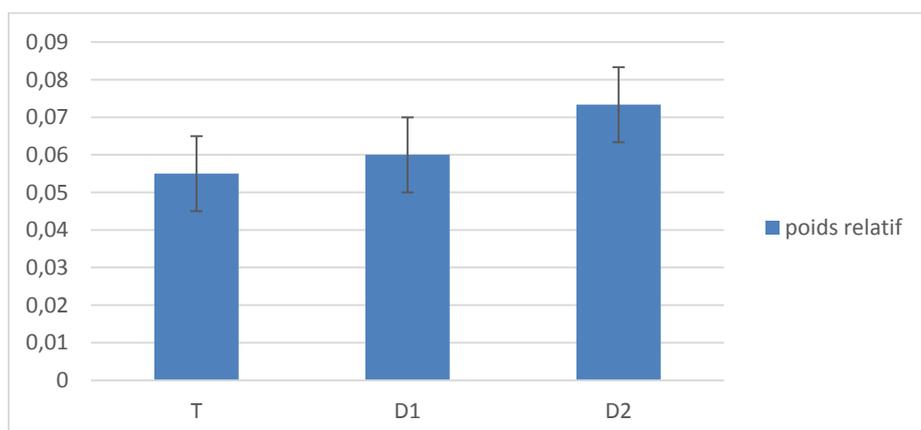


Figure 33 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins âgés de 5 mois

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée. En effet, les valeurs passent de $0,055 \pm 0,007$ g pour le lot témoin (T) à $0,06 \pm 0,007$ g au lot de la première dose (D1) puis atteignent $0,073 \pm 0,004$ g pour le lot de deuxième dose (D2).

1.2. Etude histologique des testicules des lapins

1.2.1. Étude histologique des testicules des lapins âgés de 1 mois

1.2.1.1. Lapins témoins

Pour les lapins témoins, les tubes séminifères sont de taille variable, certains sont petits et d'autres sont allongés. Ces tubes sont entourés par un tissu conjonctif intertubulaire riche en cellules peritubulaires à noyaux aplatis et des cellules Leydig à noyaux arrondis. Dans les tubes séminifères, on remarque des cellules près de l'épithélium séminifère qui sont au stade spermatogonies à noyaux ronds condensés et aussi des cellules Sertoli à noyaux triangulaires (planche 1A)

1.2.1.2. Lapins traités

Pour les lapins traités par la dose 1, la lumière des tubes séminifères commence à apparaître, leur épithélium contient des spermatogonies à noyaux ronds condensés et apparition dans certains tubes séminifères des premiers spermatocytes I à noyaux volumineux décondensés grossiers (planche 1B).

L'histologie du testicule des lapins traités par la dose 2 montre une lumière bien définie, avec un épithélium contenant des spermatogonies à noyaux ronds condensés et des spermatocytes I à noyaux volumineux et à chromatine décondensée grossiers dans les tubes séminifères mais avec une quantité variable d'un tube à un autre, certains possèdent peu d'autres sont à l'inverse riches en spermatocytes I (planche 1C).

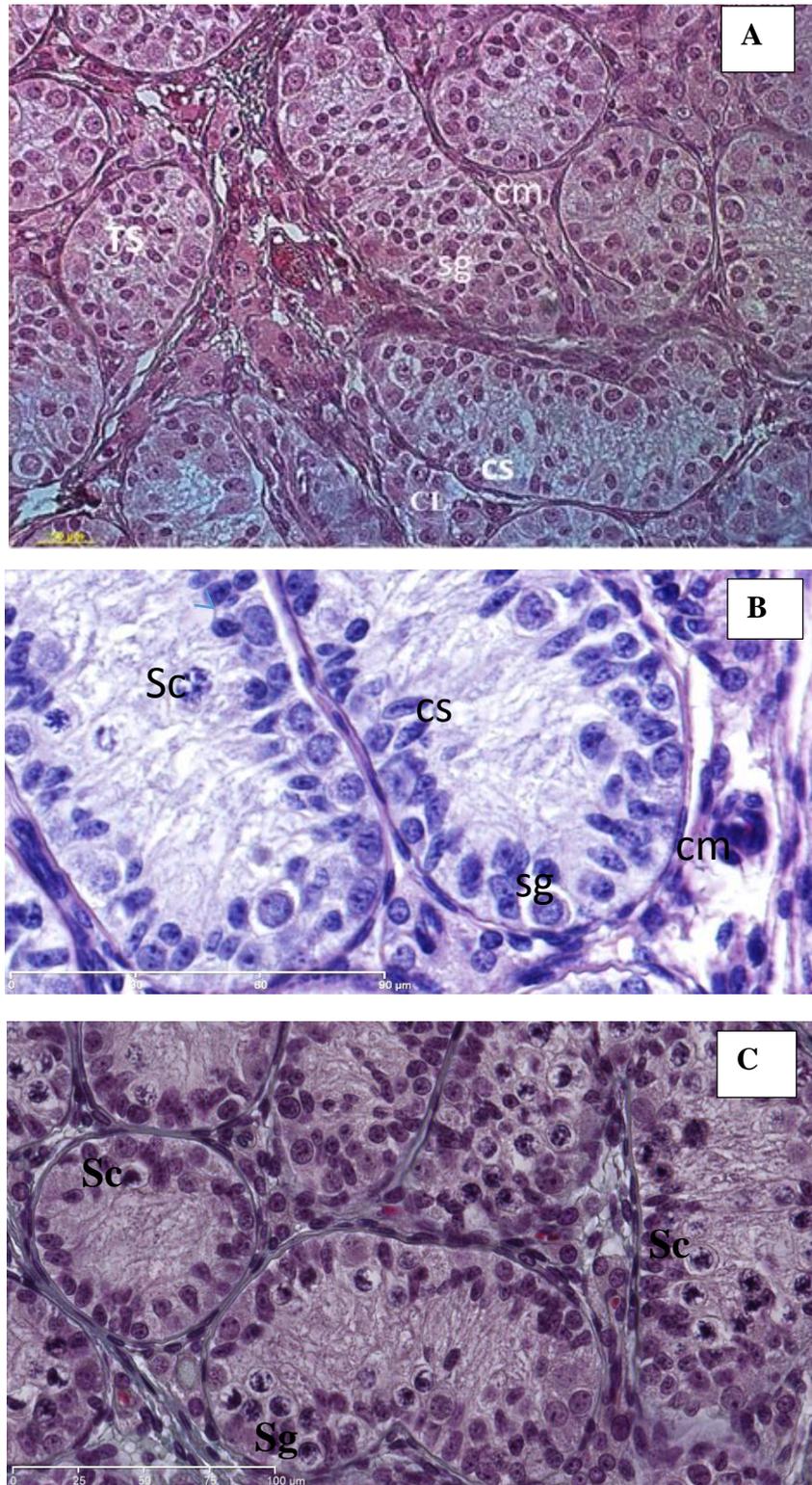


Planche 01 : coupe histologique du testicule du lapin âgés de 1 mois

A : lot témoins, B : lot dose 1, C : lot dose 2.

SC : spermatocyte, Sg : spermatogonie, Cm : cellule myoïdes, Cl : cellule Leydig, Cs : cellule Sertoli.

1.2.2. Étude histologique des testicules des lapins âgés de 5 mois

1.2.2.1. Lapins témoins

Pour les lapins témoins, le testicule montre une organisation bien définie, les tubes séminifères sont volumineux et accolés entre eux.

Dans les tubes séminifères, on observe une prolifération intense des cellules germinales avec des différents types cellulaires de la spermatogenèse jusqu'au stade spermatides allongés, néanmoins les premiers spermatozoïdes apparaissent dans la lumière de certains tubes (planche 2A).

1.2.2.2. Lapins traités

Pour les lapins traités par la dose 1, le testicule montre une organisation bien définie avec une lumière bien distincte. On remarque que la spermatogenèse s'est bien établie à l'intérieur du tube séminifère du stade spermatogonies au stade spermatozoïdes et une augmentation du taux de spermatozoïdes dans la lumière. Cependant ceux traités par la dose 2 présentent une lumière plus riche en spermatozoïdes (planche 2 B-C).

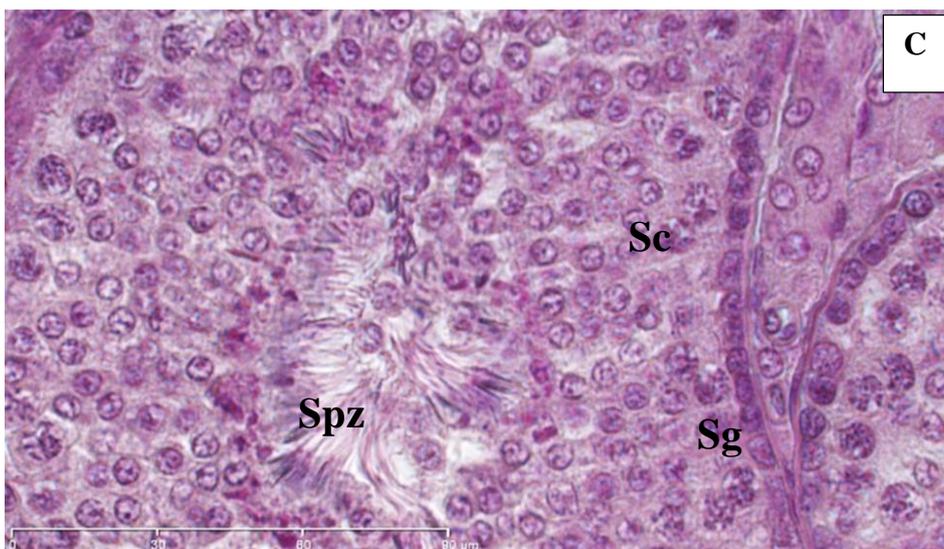
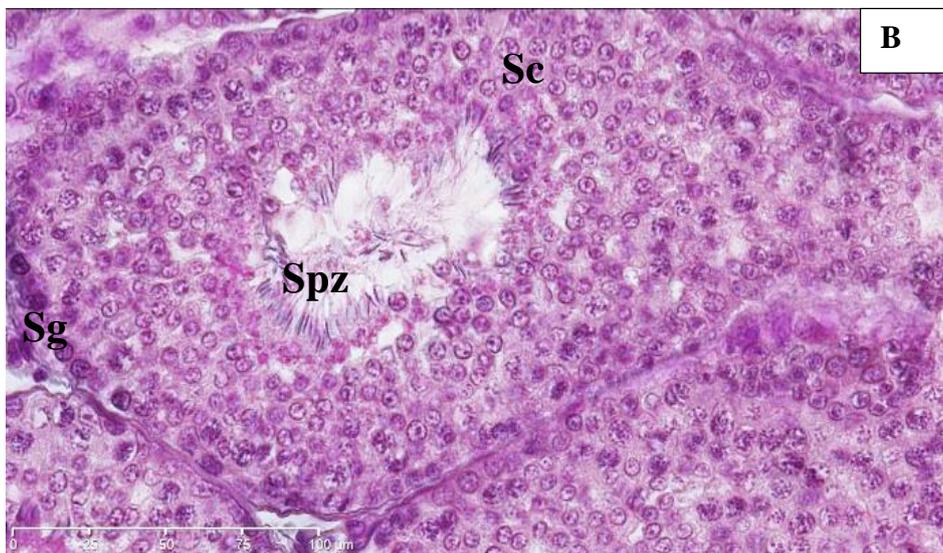
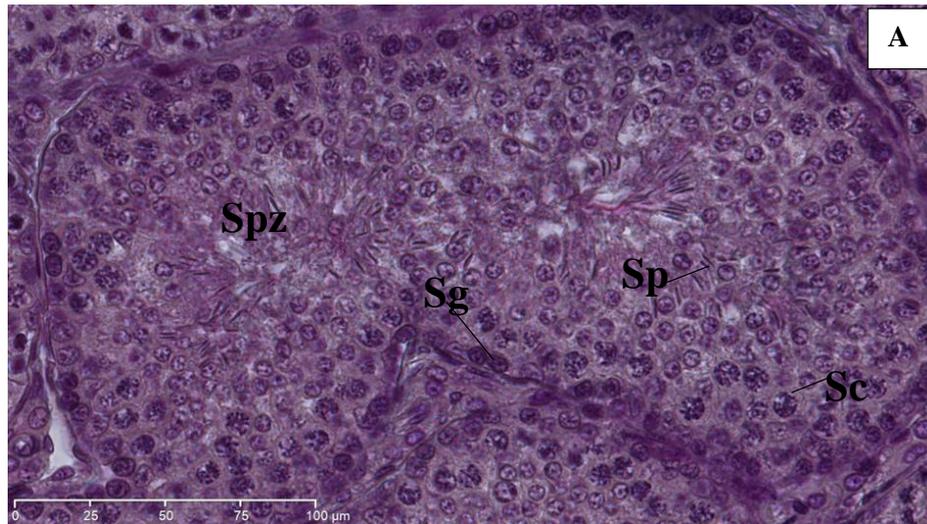


Planche 02 : coupe histologique du testicule des lapins âgés de 5 mois du lot témoin.

SC : spermatocyte, Sg : spermatogonie. Sp : spermatide, Spz : Spermatozoïde.

A : lot témoins, B : lot dose 1, C : lot dose 2

1.3. Etude histologique des épидидymes des lapins

1.3.1. Étude histologique des épидидymes des lapins âgés de 1 mois

1.3.1.1. Lapins témoins

L'observation des coupes histologiques des lapins témoins âgés de 1 mois au grossissement 400 montre plusieurs sections de tubes épидидymaires dépourvu de spermatozoïdes. Ses sections sont maintenues entre elles par un tissu conjonctif intertubulaire.

Au grossissement 1000, le tube est bordé par une couche d'épithélium cubique formé de cellules principales de forme prismatique avec des microvillosités (planche 3A).

1.3.2.2. Lapins traités

Pour les lapins traités par la dose 1, on observe que le tube épидидymaire est bordé par un épithélium prismatique pseudostratifié contenant des cellules principales à stéréocils réduits et apparition de cellules basales reposant sur la lame basale en dessous des cellules principales avec un noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites (planche 3B)

Pour les lapins traités par la dose 2, on observe une augmentation de la hauteur de l'épithélium d'où la diminution du diamètre de la lumière du tube épидидymaire.

Le tube est bordé par un épithélium prismatique pseudostratifié contenant des cellules principales de forme prismatique richement stéréociliées, des cellules basales à noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites ainsi des cellules étroites s'insérant entre les cellules principales (planche 3C).

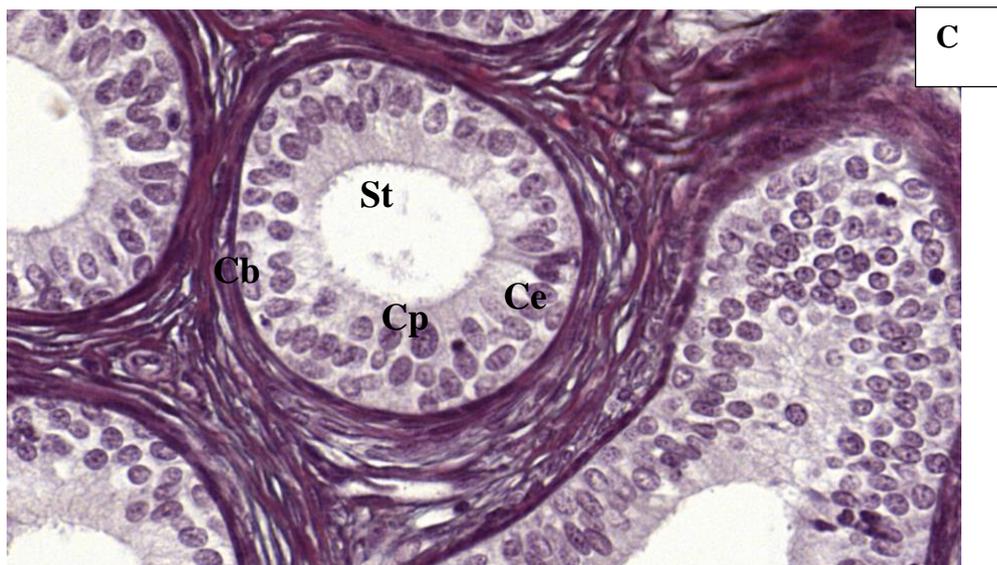
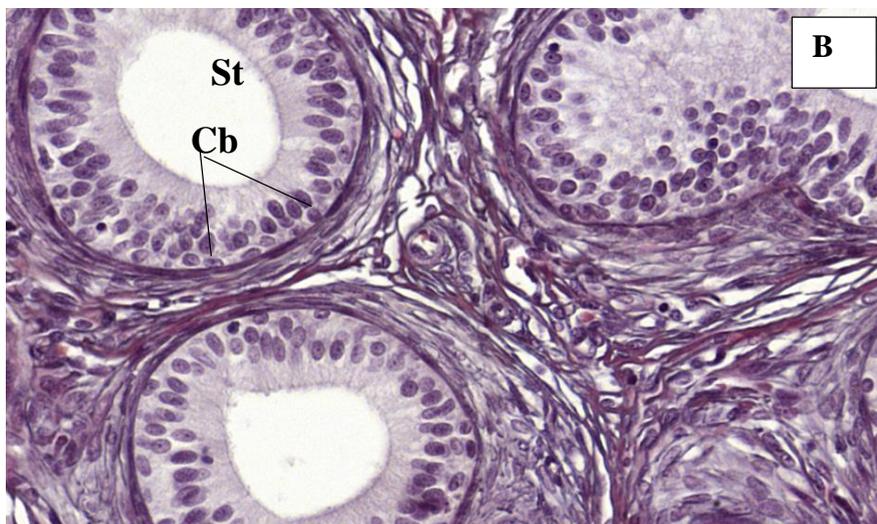
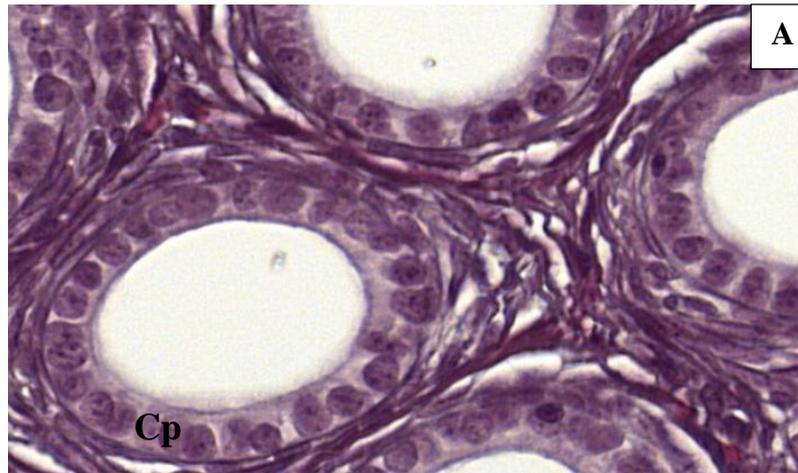


Planche 03 : coupe histologique de l'épididyme de lapins âgé de 1 mois du lot dose 2.

Cp : cellule principale, Cb : cellule basale, Ce : cellule étroite, St : stéréocils.

A : lot témoins, B : lot dose 1, C : lot dose 2

1.3.2. Étude histologique des épидидymes des lapins âgés de 5 mois

1.3.2.1. Lapins témoins

Pour les lapins témoins âgés de 5 mois, l'épididyme montre une différence de contenu de la lumière des tubes épидидymaires, certains ont une lumière vide alors que d'autres contiennent au centre de la lumière des spermatozoïdes.

1.3.2.2. Lapins traités

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

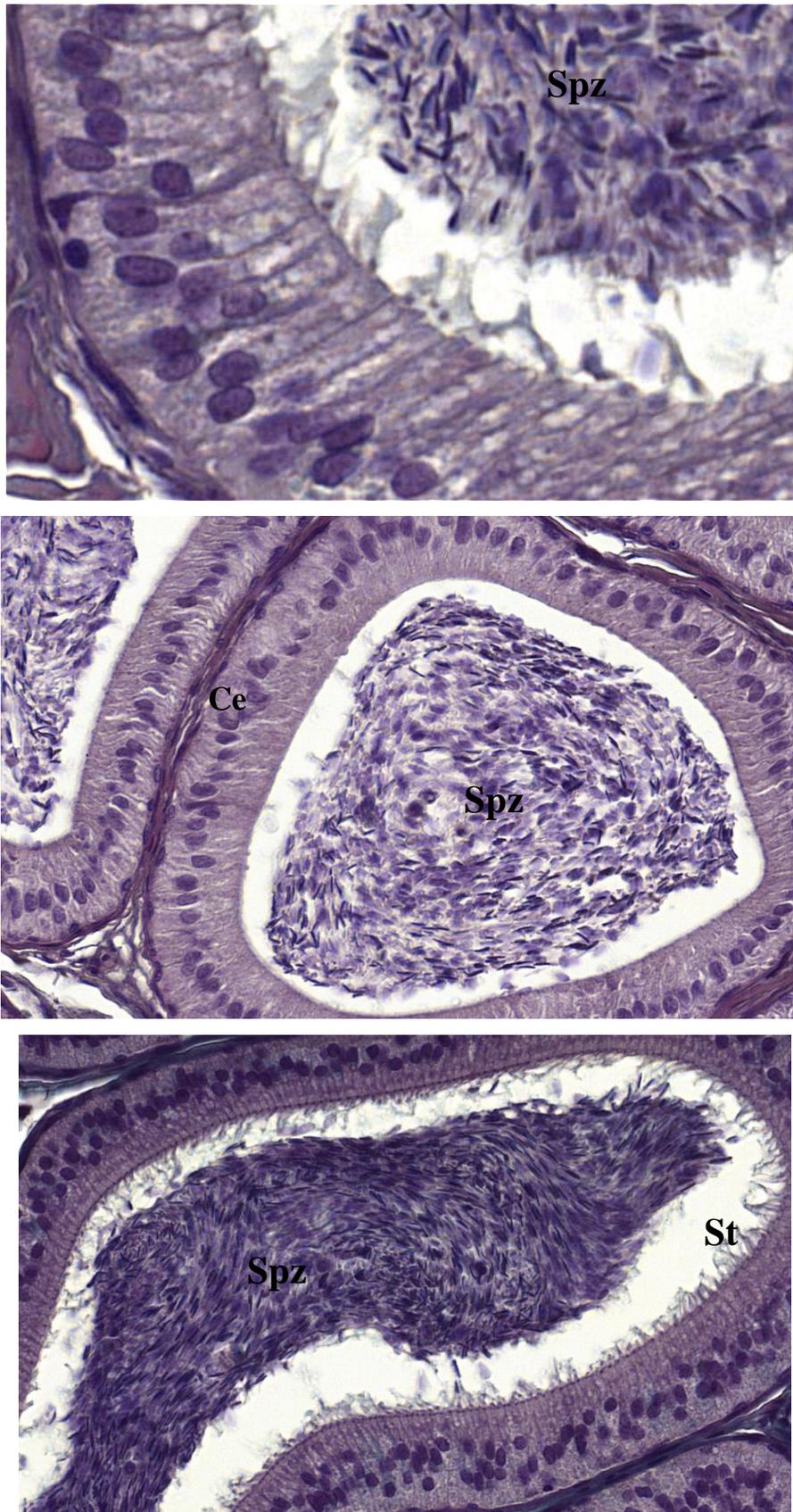


Planche 04 : coupe histologique de l'épididyme de lapins âgé de 5 mois du lot dose 2.

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

A : lot témoins, B : lot dose 1, C : lot dose 2.

2. Discussion

Le poids corporel et le poids et le volume des testicules et épидидymes des lapins âgés de 1 et 5 mois (prépubères et pubères) sont plus élevés chez les lapins traités par la menthe poivrée et chez les lapins traités par la dose 2 par rapport aux lapins traités par la dose 1.

Sur le plan histologique la menthe poivrée a induit l'apparition de spermatocyte I chez les lapins traités âgés de 1 mois et l'augmentation du nombre de spermatozoïdes dans la lumière chez les lapins traités de 5 mois par rapport au témoins qui sont plus fréquent chez ceux traités par la D2

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

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

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

Les résultats concernant le gain de poids 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).

L'évolution du poids et volume gonadique testiculaire et épидидymaire présente des variations non significatives en fonction de la dose d'huile essentielle *Mentha Piperta* administrée. Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Morakinyo *et al.*, (2008), qui a démontré une augmentation significative du poids testiculaire après 28 jours de traitement par du *Zingiber* en fonction de la dose et de la durée par rapport au témoins.

L'augmentation du poids absolue du testicule et épидидyme 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*. Il a été démontré que les androgènes sont nécessaire au développement, croissance et bon fonctionnement du testicule (Prins *et al.*, 1991 et Kamtchouing *et al.*, 2002)

L'augmentation du nombre de spermatozoïdes observée corrobore avec les résultats rapportés par Morakinyo *et al.* (2008). Ce qui montre que le traitement par du *Zingiber* améliore la capacité de fertilisation du sperme.

L'augmentation du nombre de spermatozoïdes, du diamètre des tubes séminifères et la diminution du nombre de spermatozoïdes anormaux montre l'effet positif de l'huile essentielle de rose à la dose de 40ul pendant 30 jours sur le système reproducteur masculin (Kose E *et al.*, 2012).

Al-Sa'aidi *et al.* (2009) observent lors de leurs études sur l'effet des extraits alcoolique 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.

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

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.

Akdogan *et al.* (2004) rapportent lors de leur étude sur l'effet de la *Mentha Piperita* sur la reproduction du rat mâle que la *Mentha Piperita* augmente le diamètre tubulaire séminifère et que son seul effet sur le tissu testiculaire était l'arrêt de la maturation dans les tubes séminifères. Ce qui est contradictoire aux résultats obtenues dans notre étude.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

Au terme de notre étude sur les effets de l'huile essentielle « *Mentha piperita* » sur le développement des gonades mâles (testicules et épидидyme) chez des lapins infantiles et pubères à 2 doses différentes (100ul et 200ul). Il en ressort que le poids corporel, le poids et Volume testiculaire ainsi que celui de l'épididyme chez les lapins âgés de 1 et 5 mois (prépubères et pubères) sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par la dose D2 de 200ul puis chez ceux traités par la dose D1(100ul) par rapport au témoins.

Sur le plan histologique la « *Mentha piperita* » a induit l'apparition de spermatocyte I chez les lapins traités âgés de 1mois et l'augmentation du nombre de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères chez les lapins traités de 5mois par rapport au témoins qui sont plus fréquemment chez ceux traités par la D2. Ainsi que, l'augmentation du nombre de stéréocils et apparition de cellules basales et étroites chez les lapins âgés de 1 mois et l'augmentation du nombre de spermatozoïdes dans la lumière épидидymaire chez les lapins traités âgés de 5 mois.

De ce fait il semblerait que la « *Mentha piperita* » aux doses utilisées aurait un effet positif sur le développement des gonades la spermatogenèse et la fertilité des lapins male âgés de 1mois et de 5mois.

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

- Analyser la semence pour identifier les caractéristiques de la fertilité des lapins traités par cette huile.
- Etudier les variations hormonales.
- Etudier l'effet sur la fertilité féminine.
- Etudier l'effet sur un effectif plus élevé et d'âge différent.

Résumé

Le testicule est constitué de tube séminifère où se déroule la spermatogenèse et de tissu interstitiel riche en cellule de Leydig.

L'épididyme est un conduit unique extrême tortueux qui relie les canaux efférents au canal déférent. Il est divisé en 3 parties : Tête, corps et queue.

En Algérie, la menthe poivrée est largement consommée à des fins différentes, mais n'a pas été utilisée comme agent stimulant pour la reproduction masculine. L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet de cette huile essentielle sur le poids corporel et le poids des organes reproducteurs de lapin (*Oryctolagus cuniculus* n=20), ainsi que sur les structures testiculaires et épидидymaires pour cela deux doses (100ul et 200ul) de menthe poivrée ont été utilisées.

Les résultats ont montré une augmentation des poids corporel, poids et volume testiculaire et épидидymaire et apparition de spermatocyte I chez les lapins âgés de 1 mois et une spermatogenèse importante chez les lapins âgés de 5 mois. Cependant une absence de spermatozoïdes dans la lumière épидидymaire a été observé chez les lapins âgés de 1 mois par contre la lumière épидидymaire des lapins âgés de 5 mois est riche en spermatozoïdes .

Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de Menthe poivrée a des effets stimulateurs sur la spermatogenèse mâle qui pourraient être utiles dans le développement des agents stimulateurs et favorisants pour la reproduction masculine.

Références
Bibliographiques

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

Adamali HI., Somani IH., Huang JQ., Mahuran D., Gravel RA., Trasler J M., et Hermo L. 2000. I. Abnormalities in cells of the testis, efferent ducts, and epididymis in juvenile and adult mice with beta-hexosaminidase A and B deficiency. *J Androl* 20, 779-802.

AFSSAPS A. F. d. S. S. d. P. d. S. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.

AKdogan M., Ozguner M.,Kocak., Oncu M., et çice K E.,2004. Effects of peppermint tea on plasma testosterone, follicle stimulating hormone, and luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. Vol.P: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.

AL-Saaidi JA., AL-Khuzai ALD. et AL-Zobaydi NFH., 2009. Effect of alcoholic extract of *Nigella Sativa* on fertility in male rats. Supplement II: 123-128.

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

Alvarino M.R., (1993). Control de la reproducción en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundiprensa, 137p.

Bailleul B., et Mauroy L. 1999. Anatomie du testicule, des voies spermatiques et des bourses. EMC 1999.N°42, 12-15.

Bailleul E., Cherny N., et Simonenko V., 1991. Anatomie du testicule, voie spermatiques des bourses. Encyclopedie medico chirurgicale. Tome IV, P13

Barone R. 2001. Chapitre II : Appareil génital mâle. In : Anatomie domestique. Tome 4 Vigot.896p.3

Bashandy S., 2007. Effect of fixed oil of *nigella Sativa* on male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *International journal pharmacology* (1):27-33.

- Bedford, J.M., 1975** .Passage of spermatozoa through the epididymis. *In:Handbook of Physiology. Hamilton, D.W., Greep, R.O. Edit. Sect.7 Vol.5 pp.303-305 of Physiology. Hamilton, D.W., Greep, R.O. Edit. Sect.7 Vol.5 pp.303-305.*
- Bedossa., 1998.** Exploration de la fonction de reproduction. Versant masculin. Cahier de formation, biologie médicale. N°42, 12-15.
- Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckheim M., Veysiere G., Blanc M.R., Poirier J.C. et Jean C. 1982.** Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol.* 99: 459-465.
- Blodorn B., Mader M., Urade Y., Hayaishi K., Felgenhauer K., et Bruck W., 1996.** “ Chroid plexus: the majore site of mRNA expression for the beta-trace protein (prostaglandin D synthase) in human brain “ *.Neurosciences Letters, vol .209, p.117-120*
- Bonnafous C. (2013).** Traité scientifique Aromathérapie - Aromatologie & aromachologie
- 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 : 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
- Boussit D., 1989.** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l’association française de cuniculture ; Difusion lavoisier TEC 8 DOC : 240p
- Bozkurt M., Küçükylmaz 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., Küçükylmaz K., Çatlı A.U., Özyıldız Z., Çınar M., Çabuk M. et Çöven, F., 2012a.** Influences of an essential oil mixture supplementation to corn versus wheat-based practical diets on growth, organ size, intestinal morphology and immune response of male and female broilers. *Ital. J. Anim. Sci.* 11, 290-297
- Breton S. et Da Silva N. (2012).** Rôle de l’épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med. Sci. Amer.* 1: 1-20.
- Brooks D.E. (1981).** Metabolic activity in the epididymis and its regulation by androgens. *Physiol. Rev.* 61: 515-555
- Chocu S., 2004.** Découverte de nouvelles protéines impliquées dans la spermatogenèse chez le rat. *Biologie de la reproduction. Université Rennes 1, Français.*

- Clermont Y. 1963.** The cycle of the seminiferous epithelium in man, *Amer J. anat.*, 35-112
- Cooke G.M. et B.Robaire., 1987.** The mechanism of rat epididymal 4-ene steroid -5 α -reductase “*Journal of Steroid Biochemistry*”, vol. **26,p** . 361-368.
- Cooper T.G. 1998.** Interaction between epididymal secretion and spermatozoa. *J Reprod Fertil Supp L* 53, 119-136.
- Da Silva N., Cortez-Retamozo V., Reinecker HC., Wildgruber M., Hill E., Brown D,Swirski FK., Pittet MJ et Breton S., 2011.** A dense Network of dendritic cells populates the murine epididymis *Reproduction* 141(5): 653-663.
- Dacheux J. L., Castella S., Gatti J. L., and Dacheux F., 2005.** *Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation. Theriogenology* **63**, 319-341.
- Dadoune JP. et Demoulin P., 2001.** Structure et fonction du testicule chez les mammifères et chez l’homme. Edition INRA,Paris.P256-289.
- Dadoune JP., 2000.** Histologie du Testicule. Flammarion, N° 520.P 229-241.
- De Krester D.M. et Hedger M.P., 1996.** Inhibines et activines. In : Drosdowsky M.A, Belaich J. et Vermeulen A. (1996). *Biotechnologie masculine*. Edition : Doin, Paris :103-113.
- Eddy E.M., Washburn T.F., Bunch D.O., Goulding E.H., Gladen B.C., Lubahn D.B. et Korach K.S. 1996.** Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinol.* **137**: 4796-805.
- EDQM., 2017.**Huiles essentielles -Aetherolo pharmacopée Européenne.9^{eme} Ed.
- Ezer N., et Robaire B., 2003.** *Gene expression is differentially regulated in the epididymis after orchidectomy*
- Fawcette D D.W. et Burgos M.H., 1956.** Observation on the cutomophosis of the germinal and interstitial cells of the human testes.in : Ciba fondation colloquium on Agein, vol.2, p86
- Flickinger C.J, Howards S.S et English H.F. 1978.** ultrastructural differences in efferent ducts and Several regions of the epididymis of the hamster. *Am J Anat* 152, P557-585.
- Frend R., Bogerd J., França L.R et Vilela D.A.R. 1973.** La fo nction reproductive masculine. Organisation de la santé Gêneve 1973, N°520.P :6-11.
- Girouard J. (2009).** Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes bovins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.
- Glover T.D., 1974.** “Recent progress in the study of male reproductive physiology : testis stimulation ;sperm formation, transport and maturation (epididymal physiology) ; semen analysis, storage and artificial insemination “ . In *AG Cuyton et D .Horrobin (éd.) .Reproductive*

Références bibliographiques

physiology, vol. 8. *MIR International Review of of Sciences* . University Park Press. Baltimore, p. 221-270

Hamilton D.W., 1975 . “Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymis, and ductus deferens in the rat” .In *R.O. Geep et E. B. Astwood (éd). Handbook of physiology, Section 7, Volume 5. Washington, DC: American Physiology Society, p. 259-301.*

Hamon R, Thepot N. et Salaun G. 1999. Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. Edition educagri : 132P

Hazard J. et Perlemuter L., 2000. Embryologie, Abrégé. Edition Masson, Paris :363-375

Hermo L. et Robaire B., 2002. Epididymal cell types and their function. In the Academic/plenum publishers, P:81-102. *Ology* 144,975-988.

Hermo L., Adamali HI., Andonian S., 2000. Immunolocalization of CAII and H⁺ V⁻ ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymise. *J Androl* 21(3):376-391.

Hess R.A., Bunick D., Lee K.H., Bahr J., Taylor J.A., Korach K.S. et Lubahn D.B., 1997. *A role for oestrogens in the male reproductive system. Nat.* 39: 509-512.

Hinton B et Turner T. (1988). Is the epididymis a kidney analogue ? *News physiol. Sci.*, 3 :28-31

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

Hochereau De Reviere M.H.T et Royere D. 1996. Anatomie fonctionnelle du testicule adulte. In : Drosowsky M.A, Belaich J et Vermeulen A. *Endocrinologie masculine.* Editions : Doin, Paris : 35-46

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.

Holland M. K., et Orgebin-Crist M. C., 1988. Characterization and hormonal regulation of protein synthesis by the murine epididymis. *Biol Reprod* 38, 487-496.

Jardin A. et De Fourmestraux N. 1984. In Mauvais-Jarvice P., *Médecine de la reproduction masculine.* Edition Flammarion Médecine/Science. PP 15-23.

Jégou B., Rolland A., et Albert O., 2014. Le testicule. In : SAINT-DIZIER M et CHASTANT-MAILLARDS. Editions quae. P752.

Jhonson MH. et Everitt BJ., 2002. *Reproduction.* 5^{ème} Ed anglaise par Fernand le Roy. P 56-57.

Johnston D.S., JelinSky S.A., Bang H., Di Candeloro 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.

Junqueira L.C et Carneiro J., 2007. Basic Histology 11th ed. Copyright© the MC Grow hill companies.

Kamtchouing P, Fandio GYM, Dimo T, Jatsa HB. (2002). Evaluation of androgenic activity of Zingiber officinale and pentadiplandra brazzeana in male rats. *Asian J Androl.* 4:299-301

Keller-Didier ç., 2004. Les plantes médicinales ALS. P : 58-64

Klinfelter G., 2002. Actions of Toxicants on the structure and Function of the epididymis. In the epididymis From Molecule to Medical Practice. Edited by Robaire B and Hinton BT. *New York: Kluwer Academic/olenum:*353-369.

Kose E, Sarsılma M, Tas U, Kavakli A. et Turk G. 2012. Rose oil inhalation protects against formaldehyde-induced Testicular damage in rats. . *Andrologia.* 44:342-348

Kretser D.M., 1969 Ultrastructural features of human spermiogenesis, *Z.MiKr. anat. Farsch*,98,477.

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(47) N⁰2: 178-186.

Lakhdar L. (2015). Eavluation de l'activité antibacterienne d'huiles essentielles

Lebas F., 2009. Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (accès 03/2009).

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

Leung P. S., Chan H. C., Chung Y. W., Wong T. P., et Wong, P. Y., 1998. The role of local angiotensins and prostaglandins in the control of anion secretion by the rat epididymis. *J Reprod Fertil Suppl* 53, 15-22

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. 6th world Rabbit Congress. Toulouse (France).

Marieb N.E. (2006). Anatomie et physiologie humaines. 6ème ed. renouveau pédagogique : 1096.

Marocaines sur aggregatibacter actinomycetemcomitans : étude in vitro. Faculté de médecine dentaire de Rabat, centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la santé.

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

Mercier-Bodard C., Alfsen A. et Baulieu E.E., (1970). Sex steroid binding plasma protein (SBP). Act. Endocrinol. Suppl. (Copenh) 147: 204-224.

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

Morakinyo A O., Adeniyi OS. Et AriKawe AP., 2008. Effects of Zingiber Officinale on reproductive functions in the male rat. Journal biomedical research, Vol II: 329-334.

Muller O. et Clos P., 1997. La reproduction (gonades, gametes, et fécondation). Editions Nathan, Paris.P9-13.

Muller Y. et Clos J. (1997). La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris: 9-31.

Nantia EA., Moundipa P.F., Beboy NS., Mouses TK. et Carreau S., 2007. Etude de l'effet androgénique de l'extrait au méthanol de *Basella alba* L. (Basellaceae) sur la fonction de reproduction du rat mâle. Journal of andrologie, N^o2 :129-133.

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

Nizza N., Di Meo C. et Taranto S., (2000a). Influence of dietary protein content on libido and semen characteristics bucks. 7th World Rabbit Congress. Valencia (Spain).

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.

Orgebin-Crist M.-C., 1998. The epididymis across 24 centuries. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* **53**, 285-292.

Panella F. et Castellini C., (1990). Fattori ambientali e genitriche influiscono sulle caratteristiche del seme di coniglio. Riv. Di. Conigliolt. 27(8): 39-41.

Prins SG., Birch L. et Greene GL. (1991). Androgen receptor localization in different cell types of the adult rat prostate. Endocrinology. 129: 3187-99.

Ramos A.S. et Dym M., 1977. Fine structure of monkey Epididymis. Am J Anat 149, 501-531.

Raymond, 1988. Effects of testosterone on neuronal nitric oxide synthase 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 their regulation. *In The physiology of Reproduction PP 999-1080 Eds E Knobil and J Neil. Raven Press, New-York.*

Robaire B., Syntin P. et Jervis K., (2000). The coming of age of the epididymis. In Testis, Epididymis and Technologies in the year 2000: 229-262 Eds Jegou B., Pineau C. et Saez J. Springer-Verlag, New-York.

Russel L.D et Griswold M.D., 1993. The Sertoli cell. Cache River press, Clearwater, FL .P:826

Références bibliographiques

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.

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.

Siffroi F. 2003. La spermatogenèse. Service d'histologie, biologie de la reproduction et cytogénétique. Hospital. Tenon, p56

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

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

Theau-Clément. (1994a). Etude de quelques facteurs de variation de la fertilité des femelles et de la production de semence des mâles, pour le développement de l'insémination artificielle chez le lapin : *Oryctolagus cuniculus*. Thèse d'ingénieur, école nationale supérieure agronomique de Toulouse.

Thibault C. et Levasseur M.C., 2001 La reproduction chez les mammifères et l'homme. *Nouvelle édition, éd. Ellipses (Paris) : 928p.*

Van Nguyen et Ferry., 2007. La reproduction des vertébrés. P 58.

VELE HELENE. (2000), valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments, p 39.

Veri J et Robaire B. 1993. Immunocytochemical localization of the YF subunit of glutathione S-Transferase P Shows regional variation in the staining of epithelial Cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat *J. Androl* 14, 23-44.

Wang P et Duan YG., 2016 The role of dendritic cells in male reproductive tract. *Am J Reprod Immunol* 76(3):186-192.

Wrobel k.H., 1990. Male reproduction system. In : textbook of veterinary histology. 2^{ème} Ed : 226-243.

Yeung CH., Sonnenberg-Riethmacher E. et Cooper TG., 1998. Receptor tyrosine kinase c-ros knock out mice as a model for the study of epididymal regulation of sperm function. *JReprod Fertil Suppl* 53:137-147.

Annexes

Fiche technique d'histologie

Fiche technique N° 1 :

Bouin hollandaise : fixateur (GABE, 1968)

Broyer à froid dans un mortier :

Acétate de cuivre 2,5 g

Eau distillée..... 100 ml

Agiter puis ajouter peu à peu :

Acide picrique..... 4 g

Le liquide se conserve indéfiniment.

Filtrer après complète dissolution et ajouter :

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

Acide acétique cristallisable.....1ml

Fiche technique N° 2 :

Eau gélatinée de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967).

Gélatine en poudre0,1 à 0,5g

Eau distillée..... 100 ml

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

Conservation limitée.

Fiche technique N° 3 :

Trichrome de Masson (MARTOJA et MARTOJA, 1967)

Mode opératoire :

Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :

L'hématoxyline de Groat.. 3 minutes.

Lavage à l'eau courante 5 minutes.

Mélange fuchsine ponceau 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Orange G 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Vert lumière 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

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

Résultats :

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

Hématoxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

Première solution :

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

Deuxième solution :

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

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

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

Préparation à froid :

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

Après dissolution ajouter :

Acide acétique.....0,6 ml

Conservation illimitée

Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

Vert lumière (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée