



Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département biologie animale et végétale

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en sciences Biologiques
Spécialité : Biologie et Physiologie de la reproduction (BPR)

Thème

Étude préliminaire sur les effets de l'huile
essentielle de la menthe poivrée sur la structure
des testicules et épидидymes des lapins mâle de la
souche synthétique, au sevrage et pré pubère

Présenté par : M^{elle} FELLAG Messad
M^{elle} FETHOUN Milia

Soutenu devant le jury composé de :

M^{me} KHELFAKANE K. Ep. GOUCEM « Maitre de conférence UMMTO ».....présidente
M^{me} LAKABI L. Ep. AHMANACHE « Maitre de conférence UMMTO ».....Promotrice
M^{me} BOUAZIZ H. Ep. YAHIAATENE « Maitre de conférence UMMTO »...examinatrice

Remerciements

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

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

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

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

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

*On tient à remercier vivement l'équipe de la coopérative agricole de l'ITMA de Boukhalfa
(TO) ainsi qu'aux membres de l'équipe du laboratoire Anatomie et pathologie de CHU
Nedir Mohammed (TO), d'avoir contribué à l'accomplissement de cette étude, un grand
merci.*

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

Je dédie ce travail :

- ✓ *A mes chers parents (mon cher **père**, ma **mère** et ma **grand mère**) pour leur soutien inconditionnel dans toutes les étapes de ma vie, quelques lignes ne suffisent pas à faire une longue et belle phrase digne de vous, alors juste un grand merci pour vous les trois, pour tout, et que le bon dieu vous accorde une longue vie plein de prospérité.*
- ✓ *A mes très chers frères et sœurs surtout **Ghania** et **Sonia** merci pour tout l'aide que vous m'avez offert et un grand merci pour **Samira** pour son soutien et de m'avoir accompagné de loin et de pris tout au long de mes études, je vous remercie vivement parce que ca fait du bien d'avoir des personnes sur lesquelles on sait qu'on peut compter sur eux, « **que dieux vous protège** ».*
- ✓ *Sans oublier mon amie, celle que j'ai l'imminence plaisir de partagé ce travail, M^{elle} **Fethoun Milia***
- ✓ *Et enfin à tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer*

FELLAG Messad



Dédicace



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

Je dédie ce travail:

À mes parents, mes frères et sœurs, et ma grand-mère Dahbia,

Pour votre soutien constant, votre affection, vos innombrables sacrifices et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et inculqué.

Recevez ici ma profonde gratitude pour votre patience et votre confiance.

À la personne qui nous a quittés très tôt, tu resteras toujours gravé dans nos mémoires que la grâce de DIEU t'accompagne.

À mes amis,

Latifa, Céline, Nassim, Meriem, Mina, Sihem et les autres, avec lesquels j'ai pu partager des moments de bonheur uniques, ainsi celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail, M^{elle} Fellag Messad.

Tous mes collègues de la même spécialité : la promotion 2017/2018.

À tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail.

Milia Fethoun.



Liste des Abréviations

Abréviations

- 17b-HSD** : 17b-Hydrox stéroïde déhydrogénase
- 3b-HSD**: 3b- Hydrox stéroïde déhydrogénase
- ABP**: Androgen Binding Protein
- Ad** : Spermatogonie à chromatine fine et sombre
- AMH**: Hormone antimüllérienne
- Ap** : Spermatogonie à chromatine claire
- APS** : Acide Périodique-Schiff
- ATP**: Adénosine Triphosphate
- CHU**: Centre hospitalier universitaire
- DHT** : Dihydrotestostérone
- EM**: Eminence Médiane
- ESM** : Erreur standard à la moyenne
- FGF**: Fibroblast growth factor
- FSH**: Follicle Stimulating Hormone
- GnRH**: Gonadoliberine
- H+**: Protons
- HAM**: Hormone antimüllérienne
- HCO₃**: bicarbonates
- HE**: Huile Essentielle
- IGF-1**: Insulin growth factor-1
- INRA** : Centre d'activités scientifiques pluridisciplinaires
- ITEVL** : Institut Technique des Elevages
- ITMA**: Institut de Technologie Moyen Agricole
- LH**: Luteinizing Hormone

LHRH: Luteinizing Hormone Releasing Hormone

MIS: Müllerian inhibitory substance

ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail

P: Probabilité

P34H: Protéine sperm surface protéin

pH: potentiel Hydrogène

SGF: Seminiferous Growth Factor

SKEO: Satureja khuzestanica essential oil

SP II: Spermatocyte II

Sp: Spermatogonie

SpB: Spermatogonie B

SPI: Spermatocyte I



**Liste des figures et des
planches**

LISTE DES FIGURES ET DES PLANCHES

Figure 1 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas <i>et al.</i> , 1996).....	03
Figure 2 : Représentation schématique des enveloppes testiculaires (Barone 2001).....	05
Figure 3 : Vascularisation du testicule. (Bailleul et Mauroy., 1991).....	06
Figure 4 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).....	08
Figure 5 : Schéma illustrant l'organisation cellulaire des tubes séminifères (Amann, 2011).	09
Figure 6 : Schémas de spermatozoïde de mammifère(Le Moigne <i>et</i> Foucrier, 2009).....	12
Figure 7 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).....	14
Figure 8 : Différentes étapes de la spermatogenèse (Mareib, 2006).....	18
Figure 9 : Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000).....	23
Figure 10 : Axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire (Christiansen <i>et al.</i> , 2002).....	26
Figure 11 : Lapins issus d'un élevage cunicole de Tigzirth (Originale, 2018).....	31
Figure 12 : photographie de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » (Originale, 2018).....	32
Figure 13 : Administration de l'huile essentielle « menthe poivrée » par voie orale (Originale, 2018).....	34
Figure 14 : Présentation de l'appareil génital du lapin lors du sacrifice (Originale, 2018)....	35
Figure 15 : Détermination du poids et du volume des organes (Originale ; 2018).....	35

Figure 16 : Piluliers de fixateur contenant les organes (Originale, 2018).....	37
Figure 17 : Photographie d'une série de bains d'alcool éthylique (Originale, 2018).....	38
Figure 18 : photographie des organes placé dans des moules qui recevront la Paraffine (Originale, 2018).....	39
Figure 19 : Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite (Originale, 2018).....	39
Figure 20 : photographie des bains d'alcool et de xylène de la circulation (Originale, 2018).....	40
Figure 21 : Photographie d'une série d'une coloration topographique Originale, 2018).....	41
Figure 22 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 1 mois.....	43
Figure 23 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3 moi	44
Figure 24 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins âgés de 1mois	45
Figure 25 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins âgés de 3 mois.....	46
Figure 26 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins âgés de 1mois	47
Figure 27 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois.....	48
Figure 28 : Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins âgés de 1 mois	49

Figure 29: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois	50
Figure 30: Représentation graphique du volume des testicules des lapins âgés de 3 mois ..	51
Figure 31 : Représentation graphique présentant l'évolution du poids des épидидymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle administré pour les lapins âgés de 1 mois	52
Figure 32 : Représentation graphique présentant l'évolution du poids des épидидymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle administré pour les lapins âgés de 3 mois	53
Figure 33 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme des lapins âgés de 1mois	54
Figure 34 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme des lapins de 3 mois	55
Figure 35 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins âgés de 1 mois	56
Figure 36 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins âgés de 3 mois	57
Figure 37: Représentation graphique du volume des épидидymes des lapins âgés de 3 mois	58
Planche 1 : coupes histologiques du testicules des lapins âgés de 1 mois pour lot T, D1 et D2	59
Planche 2 : coupes histologiques du testicules des lapins âgés de 3 mois pour lot T, D1 et D2	61
Planche 3 : coupes histologiques de l'épididyme réalisé pour les lapins âgés de 1mois pour lot T, D1 et D2	63
Planche 4 : coupes histologiques de l'épididyme réalisé pour les lapins âgés de 3 mois T, D1 et D2	65



Sommaire

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures et des planches

Introduction générale1

Chapitre I : Rappels Anatomo-histologie de l'appareil reproducteur mâle du lapin

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle du lapin3

1.1. Anatomie du testicule4

1.1.1. Caractéristique et position du testicule4

1.1.2. Enveloppe du testicule4

1.1.3. Innervation et vascularisation6

1.2. Anatomie de l'épididyme.....7

2. Histologie de testicule.....8

2.1. Tube séminifère.....9

2.1.1. Cellule de Sertoli.....10

2.1.2. Cellules germinale10

2.2. Tissu interstitiel.....13

2.2.1. Cellule de leydig13

3. Histologie de l'épididyme13

3.1. Cellules principales.....14

3.2. Cellule basales.....15

3.3 Cellule claires.....15

3.4. Cellules apicales.....15

3.5. Cellules en halos.....16

3.6. Cellules étroites.....16

3.7. Lumière de canal épидидymaire.....16

Chapitre II : Physiologie de la reproduction

1. Fonctions physiologique de testicule.....17

1.1. Spermatogenèse17

1.2. Stéroïdogenèse.....18

2. Fonction physiologique de l'épididyme19

2.1. Maturation des spermatozoïdes.....19

2.2. Acquisition de la mobilité20

2.3. Modification de la membrane des spermatozoïdes.....20

2.4. Protection des spermatozoïdes21

2.5. Stockage des spermatozoïdes.....21

3. Développement des gonades et puberté22

3.1. Différenciation et développement des gonades22

3.2. Développement pondéral.....23

3.3. Maturation sexuelle24

3.3.1. Phase infantile.....24

3.3.2. Phase pré pubère.....24

3.3.3. Puberté.....24

3.3.4. Maturité sexuelle.....25

4. Régulation endocrinienne de la fonction de la reproduction chez le lapin25

4.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique25

4.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule27

5. Influence des facteurs de l'environnement sur la reproduction des lapins27

SOMMAIRE

5.1. Effet de la température.....	27
5.2. Effet saison	28
5.3. Effet d'éclairement et Photopériode	28
5.4. Effet de l'humidité relative ambiante	28
5.5. Effet de l'alimentation.....	29
5.6. Autres facteurs.....	29

Chapitre III : Matériels et Méthode

1. Matériel biologique.....	30
1.1. Modèle animal.....	30
1.2. Huile essentielle utilisée (Menthe poivrée).....	31
1.3. Autres Matériels.....	33
2. Expérimentation.....	33
2.1. Protocole expérimentale.....	33
2.2. Pesée et administration de la menthe poivrée	33
2.3. Sacrifices et prélèvement	34
3. Etude histologique	36
3.1. Fixation des échantillons.....	36
3.2. Déshydratation et éclaircissement	37
3.3. Imprégnation	38
3.4. Inclusion	38
3.5. Confection des coupes et collage	39
3.6. Déparaffinage et réhydratation	40
3.7. Coloration topographique	40

SOMMAIRE

3.8. Observation des lames	41
4. Etudes statistique.....	42

Chapitre VI : Résultats

1. Evolution du poids corporel.....	43
2. Evolution du poids testiculaire.....	45
2.1. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins âgés de 1 et 3 mois.....	45
2.2. Poids total des testicules des lapins âgés de 1 et 3 mois.....	47
2.3. Poids relatifs des testicules des lapins âgés de 1 et 3 mois.....	48
2.4. Evolution du volume testiculaire des lapins âgés de 3 mois	51
3. Evolution du poids épидидymaire.....	51
3.1. Poids des épидидymes gauches et droits des lapins âgés de 1 et 3 mois	52
3.2. Evolution du poids total de l'épididyme des lapins âgés de 1 et 3 mois	54
3.3. Evolution des poids relatifs épидидymaires des lapins âgés de 1 et 3 mois	56
3.4. Evolution du volume épидидymaire des lapins âgés de 3 mois	57
4. Etude histologique des testicules des lapins âgés de 1 et 3 mois	58
5. Etudes histologique de l'épididyme des lapins âgés de 1 mois et 3 mois	62

Chapitre V : Discussion

1. Poids corporel.....	67
2. Evolution des poids et volume testiculaires et épидидymaire des lapins.....	67
3. Histologie testiculaire et épидидymaire	69

Conclusion	73
-------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	74
---	-----------

Annexe



Introduction

Introduction

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

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

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

L'épididyme, long tubule pelotonné reliant le testicule au canal déférent, représente un endroit sécuritaire pour la maturation et l'entreposage des spermatozoïdes qui transitent dans son tubule. Lors de leur entrée dans l'épididyme, les spermatozoïdes sont fonctionnellement immatures et ce n'est qu'au cours de leur transit à travers l'épididyme, qu'ils acquièrent progressivement la capacité à se mouvoir et à féconder un ovocyte.

L'acquisition de la maturité des spermatozoïdes tout au long de l'épididyme jusqu'à la queue où ils seront stockés, se fait grâce aux protéines qui se retrouvent dans le fluide épидидymaire où ils baignent (Kirchhoff, 1999).

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-œstrogènes dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée. Ces composés sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en le perturbant (El Kalamouni, 2010).

De ce fait, le but de notre travail est de mettre en évidence les effets de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles au sevrage et pré pubère, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume testiculaire et épидидymaire.

Introduction

Notre travail se présente sous la forme de cinq chapitres qui traiteront dont le premier chapitre l'anatomo-histologique de l'appareil reproducteur, le deuxième chapitre portera sur la physiologie de la reproduction chez le lapin mâle. Ensuite nous aborderons dans le troisième et quatrième chapitre les matériels et méthodes, suivie des résultats obtenus lors de notre expérimentation, et nous terminerons par la discussion des résultats et une conclusion globale ainsi qu'un ensemble de perspectives.

Chapitre I

Rappels bibliographiques

Le système reproducteur du lapin mâle est très similaire à celui des autres mammifères, sauf pour la capacité supplémentaire de pouvoir rétracter les testicules dans l'abdomen.

Ce système assure 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 (Alvarino, 1993).

1. Anatomie de l'appareil reproducteur 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, qui comprend (Figure1) : les testicules, l'épididyme, le canal déférent, les vésicules séminales, les canaux éjaculateurs, la prostate et le pénis (Jardin et De Fourmestaux, 1984).

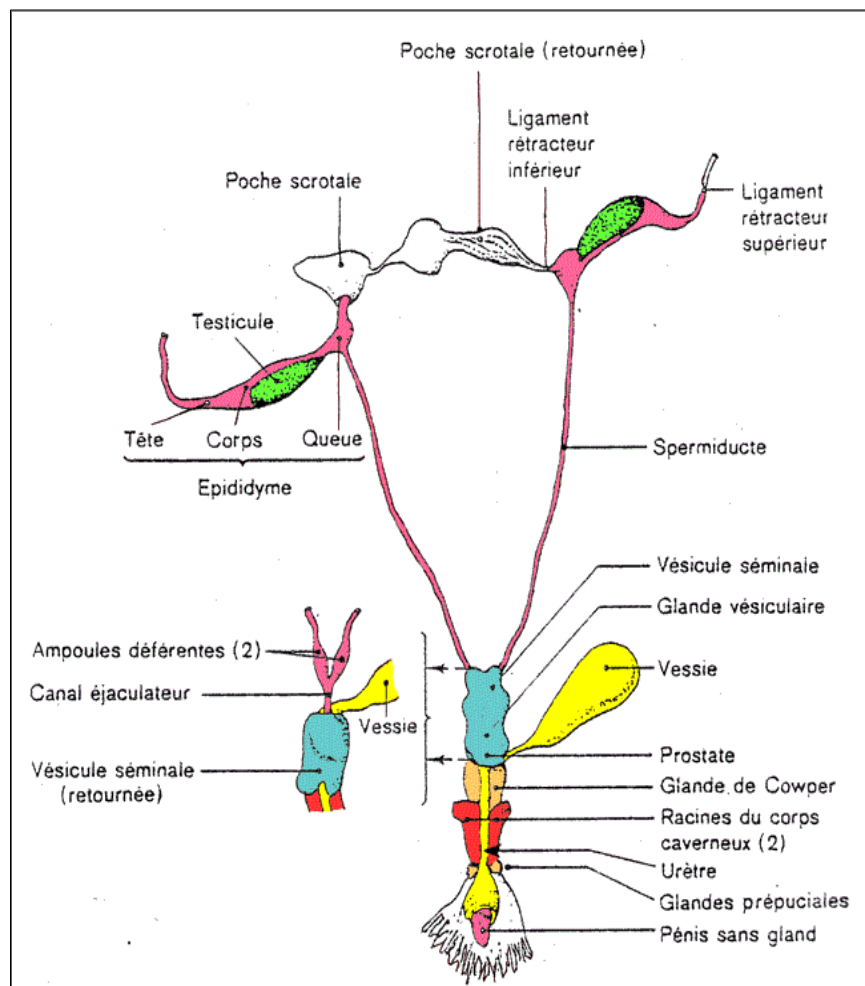


Figure 1 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas *et al.*, 1996)

1.1. Anatomie du testicule

Le testicule est la glande génitale du mâle, qui est un organe pair, ovoïde aminci aux extrémités, logé dans deux scrota bien distinct, en position périnéale haute.

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

Le testicule mesure de 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur et pèse 1 à 2g chez l'adulte (Barone, 2001).

1.1.1. Enveloppes testiculaires

Les enveloppes du testicule protègent et soutiennent cette glande ainsi que ses premières voies d'excrétion (épididyme et début du conduit déférent) et ses vaisseaux. On peut distinguer six plans membraneux, dont deux plans superficiels (le scrotum et le dartos), un plan intermédiaire (la tunique celluleuse : fascia spermatique externe) et trois plans profonds (le crémaster, la tunique fibreuse : fascia spermatique interne et la tunique séreuse vaginale) (Figure 2).

Le scrotum n'est bien visible que dans les périodes d'activité sexuelle, où se loge les testicules, il est alors double et forme de chaque côté un sac volumineux, très allongé et dirigé caudalement sous le bassin, jusqu'au voisinage du prépuce, dont il reste indépendant. Sa peau très fine, est presque glabre, intimement adhérente au dartos, avec lequel il est mobilisable sans difficulté (Barone, 2001).

Le dartos est une couche musculaire lisse, fortement mêlé de fibre de collagènes et surtout de fibre élastiques. C'est une enveloppe propre à chaque testicule qui assure leurs suspensions et maintient leurs enveloppes profondes grâce à la texture particulière du fascia spermatique externe, qui l'en sépare (Barone, 2001).

Le fascia spermatique externe est une enveloppe qui constitue un premier plan de clivage entre les différentes structures des bourses testiculaires. Elle est constituée de deux couches d'aspect lamellaire séparées par du tissu conjonctif lâche. Il s'agit d'une zone de

désolidarisation entre les enveloppes superficielles (scrotum et dartos) et les testicules, ce qui assure une protection mécanique par exemple contre les chocs (Roger, 2009).

Le muscle crémaster est un sac musculaire complet, très développé, de couleur rouge vif, qui est directement continu avec le muscle oblique interne de l'abdomen autour de l'anneau inguinal profond, qui est large avec un diamètre suffisant pour permettre le passage des testicules et l'épididyme. Il reçoit en outre, quelques faisceaux du muscle transverse de l'abdomen. La contraction de muscle crémaster est volontaire et rapide, en effet lors d'un stress, le muscle crémaster se contracte et entraîne la rétraction du testicule dans la cavité abdominale (Barone, 2001).

Selon Barone (2001) et Roger (2009), le fascia spermatique interne forme un sac piriforme débutant à l'anneau inguinal profond. Il est fortement solidarisé à la lame pariétale de la cavité vaginale ; ils constituent à eux deux la tunique fibro-séreuse.

La tunique vaginale est très ample, piriforme et le canal vaginal est long et vaste, elle constitue la séreuse du testicule et de son cordon (Barone, 2001).

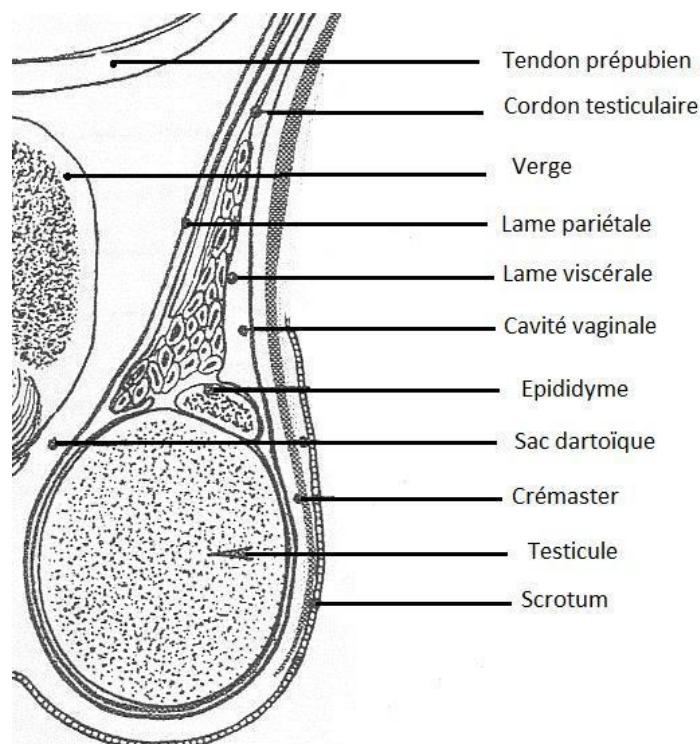


Figure 2 : Représentation schématique des enveloppes testiculaires (Barone, 2001)

1.1.2. Innervation et vascularisation

Le système testiculaire est vascularisé et drainé par un complexe d'artères et de veines qui assurent l'approvisionnement sanguin : l'artère testiculaire, les veines testiculaires et épидидymaires (Figure 3).

L'artère se divise en une multitude de branches qui irriguent l'albuginée et les cloisons inter lobulaires du testicule. Les veines quant à elles, se regroupent pour former le plexus pampiniforme sur le pôle dorsal du testicule. Le sang veineux testiculaire est extrêmement riche en testostérone et stéroïdes sulfates et les vaisseaux lymphatiques transportent aussi une grande quantité de stéroïdes conjugués.

L'innervation du complexe testiculaire est étroitement liée au système vasculaire. Les terminaisons nerveuses adrénergiques innervent les muscles lisses de la gaine péricrémastérique et les vaisseaux dont elles contrôlent la vasomotricité. Le tractus nerveux testiculaire contient des fibres afférentes sensibles, impliquées dans la perception de la douleur suite à des traumatismes testiculaires (Thibault et Levasseur, 2001).

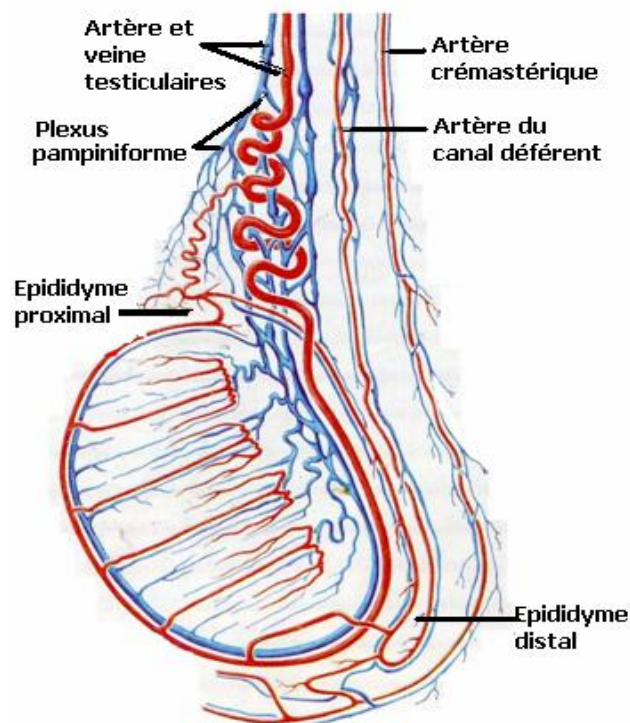


Figure 3 : Vascularisation du testicule (Bailleul et Mauroy., 1991)

1.2. Anatomie de l'épididyme

L'épididyme du lapin est situé au bord médial du testicule avec lequel il est lié. C'est un canal extrêmement replié sur lui-même à l'intérieur d'une tunique conjonctive qui lui confère une forme globale allongée en croissant d'un pôle à l'autre du côté dorsal du testicule (Figure 4). Sa longueur diffère selon les espèces de rongeurs (elle est de 6,38cm environ chez les aulacodes (Sickangueng, 2011) et 1,5 à 3 cm chez les lapins) (Grasse, 1955 ; Barone, 1978).

Selon Barone (1978), l'épididyme comporte 3 parties ;

- Une tête (région proximale) volumineuse, qui coiffe largement l'extrémité capitée du testicule ;
- Un corps (région médiane) représentant la portion moyenne, qui est épaisse chez le lapin ;
- Une queue (région distale), bien détachée qui forme un appendice globuleux et mobile.

Chacune de ces parties elles-mêmes subdivisées en segments anatomiquement séparées par des travées conjonctives, les septa (Abou-Haila et Fain-maurel, 1984).

D'après Hermo et *al.* (1991 ; 1992), les différentes caractéristiques structurales et fonctionnelles des cellules forment l'épididyme ont suggéré la division de l'épididyme en plusieurs régions ou segments. Cependant, ces régions sont difficiles à distinguer et cela dû à la forme tortueuse et entremêlée du tubule de l'épididyme.

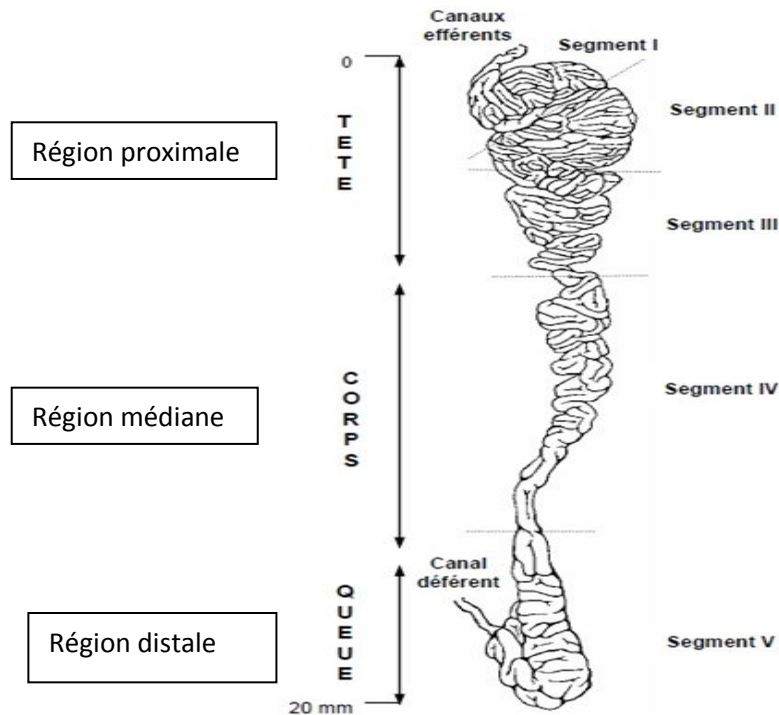


Figure 4 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Herme et Robaire, 2002)

2. Histologie du testicule

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

Cette capsule s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un réseau de canalicules, le rete testis. Du corps d'Highmore partent des cloisons conjonctives, les septa testis, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires. Chaque lobule testiculaire contient 2 à 4 tubes séminifères ou séminipares très longs qui débouchent par de courts segments rectilignes, les tubes droits, dans le rete testis (Vacheret, 1999).

2.1. Tubes séminifères

Les tubes séminifères, 2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin (Alvarino, 1993). Chaque tube est d'abord composé d'une partie courbée, puis se termine par une partie rectiligne (tube droit). L'ensemble des tubes droits s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le « rete testis », qui est ensuite drainé par des canaux efférent en communication avec la tête de l'épididyme.

La paroi de chaque tube est constituée par un épithélium séminifère de revêtement pluristratifié, qui comprend des cellules de Sertoli et des cellules de la lignée germinale à différents stades de la spermatogenèse, reposant sur une enveloppe péri tubulaire ou lamina propria (Figure 5).

Le liquide contenu dans les tubes séminifères assure le transport des spermatozoïdes relargués dans la lumière (Barone, 2001 ; Thibault, 2001).

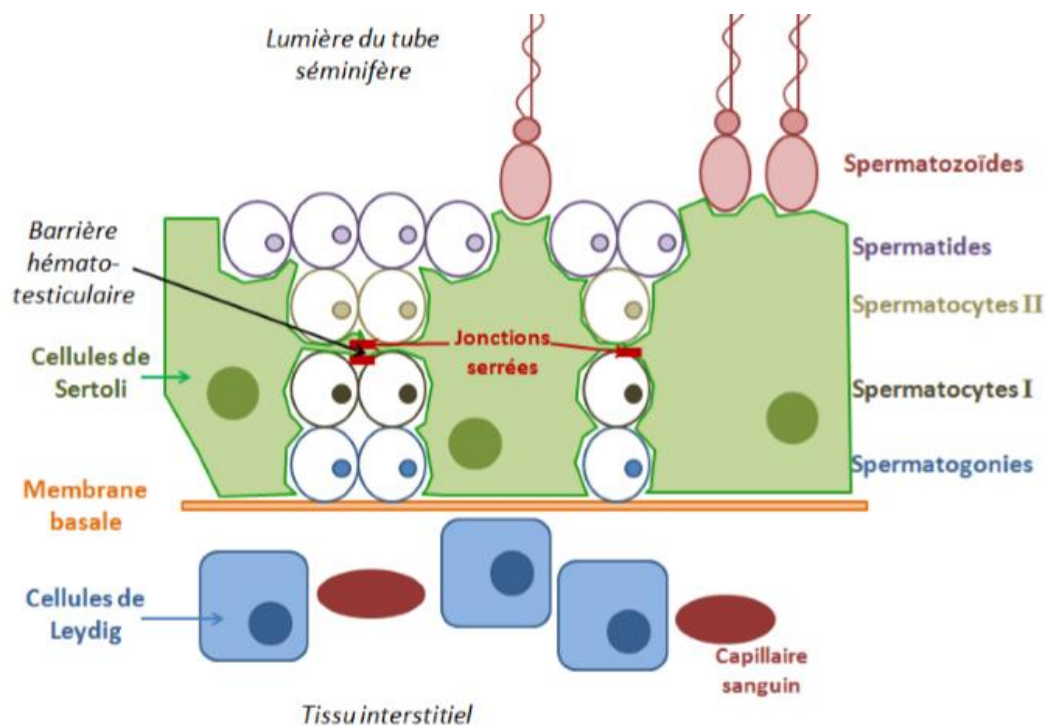


Figure 5 : Schéma illustrant l'organisation cellulaire des tubes séminifères (Amann, 2011)

2.1.1. Cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli constituent le support des cellules de la lignée spermatogène, en formant un syncytium appelé « syncytium de Sertoli », dont le nombre se multiplie jusqu'au démarrage de la période de la spermatogenèse.

Le cytoplasme de ces cellules renferme de nombreux organites : mitochondrie, gouttelettes lipidique, grains de sécrétion, ribosome, microfilaments et microtubules (Barone, 2001). Chaque cellule de Sertoli est reliée aux cellules adjacentes via des jonctions intercellulaires particulières (des jonctions serrées), ce qui délimitent deux compartiments au sein du tubule séminifère : le compartiment basal, siège de la spermatocytogenèse, et le compartiment adluminal qui contient les spermatocytes secondaires, les spermatides et les spermatozoïdes.

La barrière ainsi constituée, appelée barrière hémato-testiculaire, sépare les spermatides et les spermatozoïdes de la circulation générale sanguine et lymphatique, en empêchant les cellules de système immunitaire de la traverser, car les spermatides et spermatozoïdes présentent des caractéristiques antigéniques reconnues comme étrangères par ce système. En effet, lorsque cette barrière ne remplit pas son rôle, des anticorps anti spermatiques peuvent se développer et être responsables d'une orchite auto-immune et donc d'une stérilité (Little et Holyoak, 1992 ; Amann, 1993).

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

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

2.1.2. Cellules germinales

Tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère, à savoir ; Les spermatogonies (Sp), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (SP I), les spermatocytes de deuxième ordre ou

spermatocytes II (SP II), les spermatides et les spermatozoïdes (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.1.2.1. Spermatogonies et spermatocytes

Les spermatogonies sont des petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 µm de diamètre, adhérentes à une membrane basale. On distingue trois sortes de spermatogonies selon l'aspect de leurs noyaux Ad, Ap et B :

Les spermatogonies à chromatine fine et sombre Ad (dark), qui sont les cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense, les spermatogonies à chromatine claire Ap (poussiéreuses ou pâles) qui sont des cellules de renouvellement dont les cellules filles sont des spermatogonies B à noyau ovalaire clair à chromatine mottée et au nucléole bien visible (Sp B).

Les spermatocytes I issues de la division mitotique des spermatogonies B, sont des cellules arrondies volumineuses à noyau souvent en méiose, particulièrement au stade très long de la prophase méiotique, qui se transforment en spermatocytes II, qui sont aussi des cellules rondes, plus petites et moins nombreuses sur les coupes car elles sont d'existence fugace (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.1.2.2. Spermatides et spermatozoïdes

Les spermatides sont des cellules de petite taille, de 6 à 7 µm de diamètre, très nombreux et situés en position interne, ovoïde à noyau rond et clair, avec un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde, ce processus est appelé la spermiogénèse (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

Les spermatozoïdes sont des cellules allongés, de 55 à 57 µm de diamètre chez le lapin, il comporte une tête et une queue unies par un col très bref (Figure 6).

La tête est la partie essentielle, car elle renferme une masse homogène de chromatine représentant le noyau, coiffée à sa partie antérieure par l'acrosome qui est pourvu d'enzymes probablement utilisés pour la pénétration de la membrane de l'ovocyte lors de la fécondation. Chez le lapin la tête est piriforme et rétrécie caudalement, où elle mesure environ 6,5 µm de longueur sur 4 de largeur.

Le col ou pièce d'union est une partie cytoplasmique rétrécie et très courte de 2 à 3 μm , elle représente le segment initial qui unit la tête à la queue.

La queue ou flagelle forme la quasi-totalité de la cellule, elle présente trois parties successives : La pièce intermédiaire, qui fait directement suite au col, longue de 7 à 8 μm de diamètre qui se caractérise par la présence d'une gaine mitochondriale, la pièce principale de 45 μm de diamètre, constituée de neuf faisceaux de fibres denses, ainsi que d'une gaine protéique fibreuse périphérique et la pièce terminale, de 1 à 2 μm de diamètre, comporte le filament axial (Barone, 2001).

La production journalière de spermatozoïdes chez le lapin est estimée de 25 à 60 millions par gramme du testicule, soit une production de 100 à 250 millions des spermatozoïdes par animal et par jour. Celle-ci varie en fonction de la race (surtout selon le format), de l'âge (en fonction des variations de poids testiculaire) et de l'environnement (Boussit, 1989).

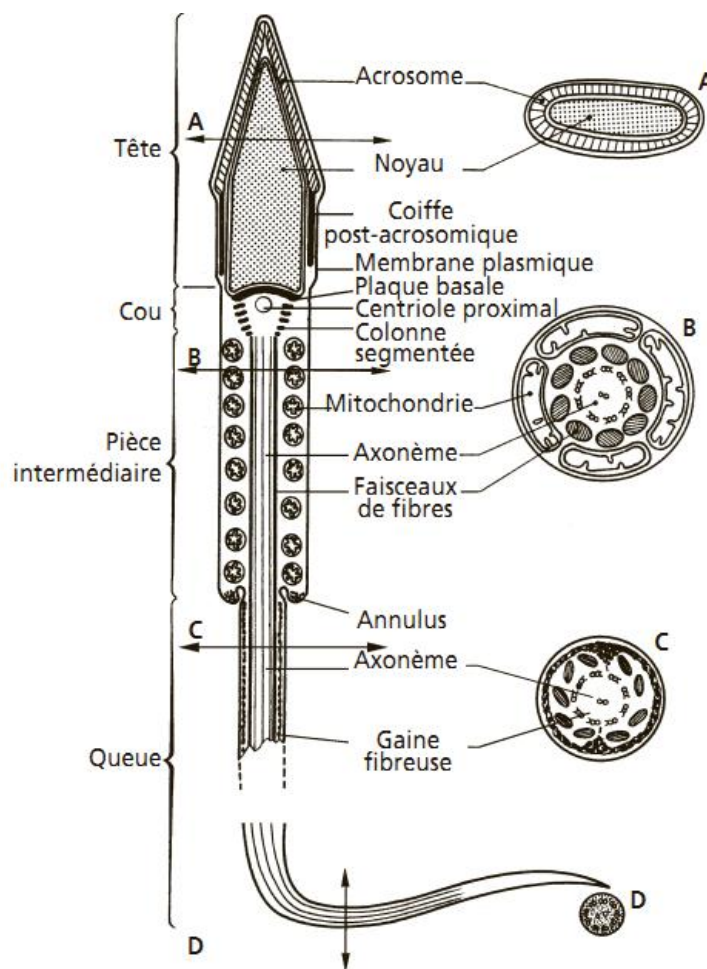


Figure 6 : Schéma du spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009)

2.2. Tissu interstitiel

Le tissu interstitiel est un tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en nerfs, dans lequel sont réparties des cellules interstitielles en amas, appelées cellules de Leydig ainsi que diverses cellules libres (fibroblastes, macrophages, lymphocytes...) (Wrobel, 1990).

2.2.1. Cellules de Leydig

Sur le plan histologique, les cellules de Leydig apparaissent comme des cellules polyédriques de 10 à 15 μm de diamètre, entourées par une lame basale discontinue. Elles sont pourvues d'un noyau arrondi, parfois double, dont la chromatine est peu abondante et périphérique.

L'activité stéroïdogénique des cellules de Leydig est caractérisée sur le plan histologique par la présence dans le cytoplasme d'un abondant réticulum endoplasmique lisse, de nombreuses mitochondries à crêtes lamellaires ou tubulaires, d'un appareil de Golgi développé et d'inclusions lipidiques (Barone, 2001 ; Tran *et al.*, 2006 ; Haider, 2007).

Leur rôle principal est la synthèse et la sécrétion d'hormones stéroïdiennes qui vont participer à la régulation de l'activité de l'épithélium spermatogène, de l'axe hypothalamo-hypophysaire et des glandes sexuelles accessoires (Amann, 1993).

La testostérone, la dihydrotestostérone et le 17- β -œstradiol sont les trois principaux stéroïdes testiculaires synthétisés par la cellule de Leydig issues d'un précurseur commun qui est le cholestérol. La testostérone constitue l'hormone principale dans la régulation de la fonction de reproduction (Amann, 2011).

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

3. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : le premier compartiment est constitué d'un épithélium pseudo-stratifié reposant sur un chorion de tissu conjonctif richement innervé et vascularisé, lui-même entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires

lisses ; tandis que le deuxième compartiment est constitué d'une lumière bordée par cet épithélium (Robaire *et al.*, 2006) .

Six types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épидидymaire: les cellules basales, étroites, apicales, claires, en halos et principales (Figure 7), qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Robaire *et al.*, 2006) .

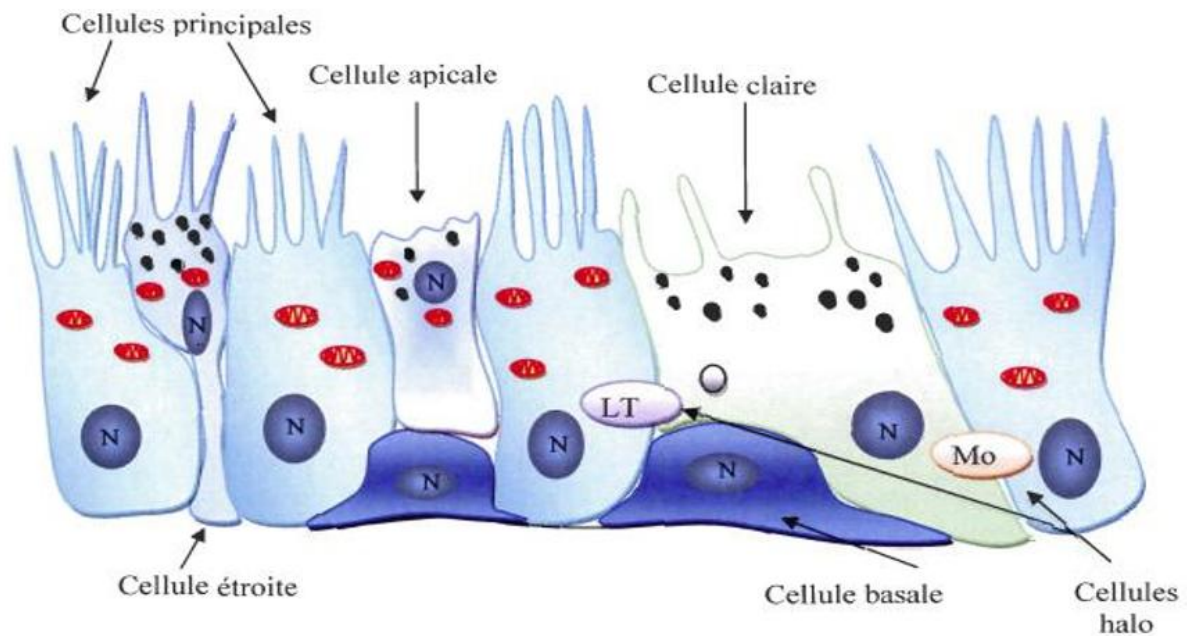


Figure 7 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009)

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

3.1. Cellules principales

Les cellules principales, sont plus nombreuses, constituent 65-80 % de la population de cellules épithéliales épидидymaire totale. Leur hauteur est plus élevée dans la tête que dans la queue de l'épididyme, tout comme la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôles apical (Jones *et al.*, 1979). Ces cellules, reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes, sont très actives dans le transport et la sécrétion des protéines, et la réabsorption du fluide épидидymaire (Robaire et Viger, 1995; Cooper, 1998).

3.2. Cellules basales

Les cellules basales sont des petites cellules hémisphériques, situées à la base de l'épithélium, qui peuvent être en contact avec la lumière du tubule épидидymaire par des prolongements cytoplasmiques. Elles sont présentes tout au long de l'épididyme et représentent 10 à 20 % de l'ensemble des cellules épидидymaires selon les segments. Il semblerait que ces cellules participent à la protection contre les radicaux libres (Veri *et al.*, 1993), ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à ce qu'on appelle, la barrière hémato-épидидymaire (Seiler *et al.*, 2000).

3.3 Cellules claires

Les cellules claires sont des grandes cellules prismatiques, présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo *et al.*, 1982). Elles sont caractérisées par la présence de nombreuses vésicules claires en région apicale, de lysosomes en région médiane et de nombreuses inclusions lipidiques dans leur région basale (Robaire et Hermo, 1988).

D'après Olson et Hinton (1985), elles joueraient un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire.

3.4. Cellules apicales

Les cellules apicales, retrouvées principalement dans le segment 1 de l'épididyme (la partie proximale de la tête) présentent un noyau en position apicale, d'où leur nom, et de microvillosités courtes et peu nombreuses. Il semble qu'elles ne traversent pas toujours l'épithélium, ainsi certaines ne sont pas en contact avec la membrane basale.

Ces cellules ont en revanche, un cytoplasme dense, très riches en mitochondries et en lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H⁺ et la réabsorption des bicarbonates (HCO₃⁻). Elles seraient ainsi impliquées dans l'endocytose des éléments du fluide épидидymaire et dans l'acidification de ce fluide (Martínez-García *et al.*, 1995).

3.5. Cellules halo

Les cellules en halo, sont rondes et de petites tailles, présentent tout au long de l'épididyme et se situent vers la base de l'épithélium épididymaire. Elles ont un cytoplasme réduit contenant un nombre variable de granules denses. Il s'agirait de lymphocytes T ou de monocytes (Hermo et Robaire, 2002).

3.6. Cellules étroites

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

3.7 Lumière du canal épididymaire

La lumière du conduit épididymaire est assez régulièrement circulaire sur les coupes histologiques (Barone, 2001). Les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épididymaire. Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules.

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

Chapitre II

Physiologie de la reproduction

De même que chez les autres mammifères, les mécanismes régulant la fonction de la reproduction chez les lapins sont complexes et sous-tendent l'inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui de système neuroendocrine qui comprend l'axe hypothalamo-hypophysaires qui est l'interrupteur général du fonctionnement testiculaire (Joly et Theau-Clément, 2000).

1. Fonctions physiologique du testicule

Les testicules sont des organes doués d'une double fonction, la fonction gamétogénèse ou spermatogénèse, assimilable à une véritable fonction exocrine, qui est assurée par les tubes séminifères et la fonction endocrine constitue par la production des hormones stéroïdes qui est assurée par les cellules de Leydig (Dadoune et Démoulin, 2001).

1.1. Spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus de production des gamètes mâles matures, à partir des 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 durée de la spermatogénèse ou temps nécessaire pour une spermatogonie d'évoluer vers le stade final du spermatozoïde est de 38 à 41 jours (Martinet, 1973).

Amman (1993) rappelle que la spermatogénèse se déroule au sein des tubules séminifères des testicules. Trois grandes étapes sont nécessaires pour passer d'une spermatogonie à un spermatozoïde : la spermatocytogénèse, la méiose et la spermiogénèse (Figure 8).

La spermatocytogénèse est caractérisée par une phase de multiplication (par mitoses) et de différenciation des spermatogonies, ce qui aboutit à la formation des spermatocytes primaire, observée vers 60 jours d'âge chez le lapin (Martinet, 1973), qui possède encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristique de l'espèce (lapin : 44 chromosomes). La phase de multiplication cellulaire assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (Little et Holyoak, 1992 ; Barone, 2001).

La deuxième étape, fait intervenir le phénomène de méiose caractérisée par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires,

induisant à la production des spermatozoïdes, ensuite, les deux divisions successives de la méiose produisent les spermatides haploïdes (Amann, 1993).

Durant la spermiogénèse, les spermatides subissent une série remarquable de modifications qui aboutissent (sans autre division) à la libération des spermatozoïdes mûrs (Barone, 2001).

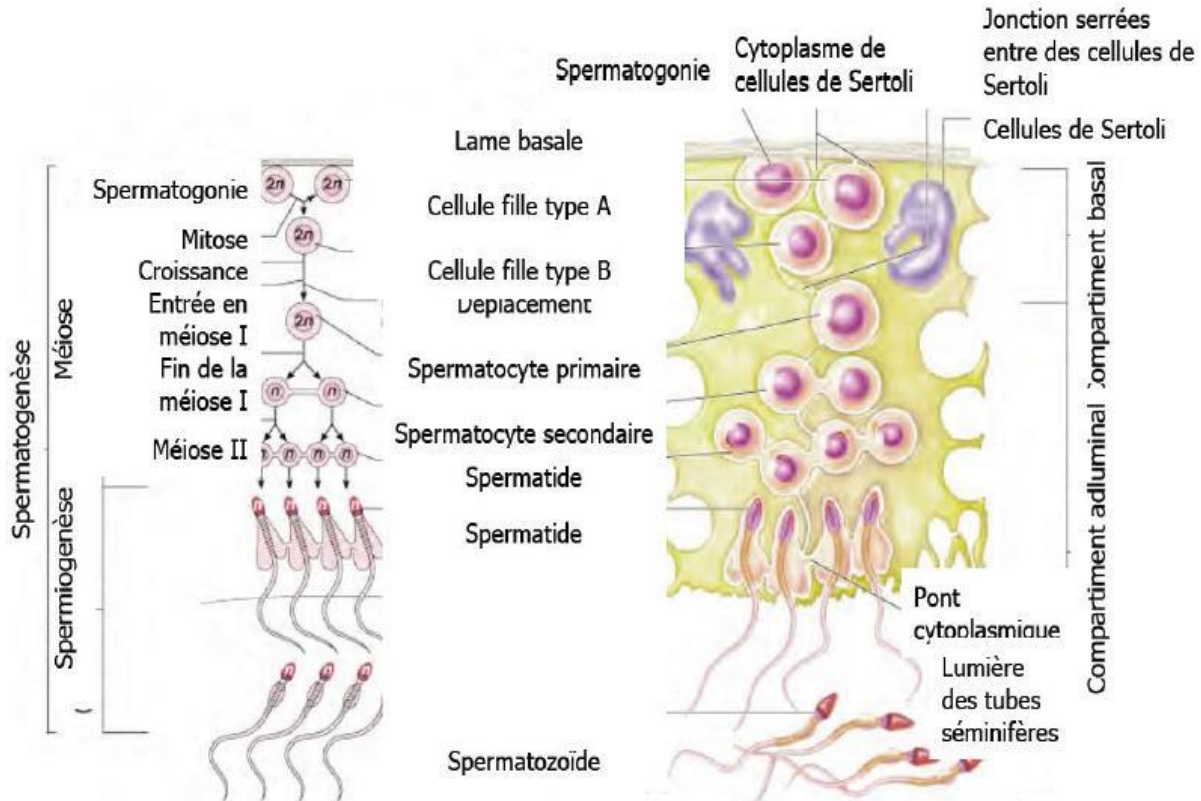


Figure 8 : Différentes étapes de la spermatogénèse (Marieb, 2006)

1.2. Stéroïdogénèse

La fonction endocrine du testicule est assurée par des petits amas d'endocrinocytes interstitiel (cellules de Leydig) qui sécrètent les hormones androgènes en particulier la testostérone, nécessaires à la spermatogénèse, ainsi qu'au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génitale mâle. Cette sécrétion contrôle en outre les caractères sexuels secondaires et l'activité sexuelle (Barone, 2001).

En effet, la testostérone agit directement sur la différenciation des canaux de Wolf, le développement et le maintien des caractères sexuels secondaires, après son métabolisme en

dihydrotestostérone par l'enzyme 5- α réductase dans les tissus périphériques (prostate, épидидyme, vésicule séminale).

Par ailleurs la testostérone a une action anabolisante au niveau de tous les tissus, en particulier musculaire et osseux, et intervient dans le dimorphisme sexuel cérébral et la physiologie du comportement sexuel.

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

2. Fonctions physiologique de l'épididyme

L'épididyme doit remplir plusieurs fonctions afin d'assurer la maturation des spermatozoïdes (Badran et Hermo, 2002). Parmi ses fonctions on distingue: la maturation des spermatozoïdes, acquisition de la motilité, modification de la membrane des spermatozoïdes, protection et stockage des spermatozoïdes.

2.1. Maturation des spermatozoïdes

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

Dans les spermatozoïdes, on peut observer la migration d'une goutte cytoplasmique de la région du cou du flagelle jusqu'à la queue, pour finalement disparaître. Le contenu de cette goutte est retrouvé dans le fluide épидидymaire ainsi que dans le cytoplasme des cellules claires de la queue de l'épididyme. De plus il y a une augmentation de pont dissulfure à l'intérieur du noyau des spermatozoïdes au fur et à mesure qu'ils rejoignent la queue de

l'épididyme. Tous ces changements morphologique et biologique contribuent collectivement à la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme (Robaire et Hermo, 1988).

2.2.Acquisition de la motilité

Le contrôle de la motilité des gamètes mâle dépend des facteurs exogène et endogène qui est généré par le cytosquelette interne du spermatozoïde nommé axonème. L'activation de la motilité du flagelle est rendue possible grâce à l'environnement crée par l'épididyme dont le changements de concentration de différents ions et la présence de source d'énergie par plusieurs métabolites parmi eux; le fructose et le glucose qui permettent alors d'acquérir un taux élevé d'ATP dans la queue de l'épididyme pour activer le mouvement (Ho et Suarez, 2001 ; Mukai et Okuno, 2004).

L'activation des mitochondries permet la production d'ATP et la mise en route de la phosphorylation des résidus tyrosines sur la totalité de flagelle du spermatozoïdes, qui se produit d'une façon graduelle au cours de sa progression dans la lumière de l'épididyme pour atteindre son maximum dans la queue (cauda) où le spermatozoïde est plainement mature et aquière la capacité de se mouvoir (Aitken *et al.*,2007).

L'absence de phosphorylation des spermatozoïdes dans la région proximale de l'épididyme serait due à l'absence de molécule d'ATP, molécule limitante dans la réaction des kinases. En effet, dans les régions proximales de l'épididyme, les mitochondries sont réprimées par des facteurs qui disparaissent lorsqu'on s'approche des régions distales (Aitken *et al.*, 2004 ; Baker *et al.*, 2004).

Au final, l'épididyme permet aux spermatozoïdes d'acquérir la capacité de se mouvoir et restreindre les mouvements avant leur sortie (Inaba, 2003).

2.3.Modification de la membrane des spermatozoïdes

La membrane cytoplasmique des gamètes va subir un profond remodelage lipidique et protéique, ce processus confère aux gamètes une mobilité vigoureuse et l'addition ou la modification de protéines essentielles à la reconnaissance de l'ovocyte et de la fertiliser (Saez *et al.*, 2011 ; Cooper, 1998).

Saez *et al.* (2011) observent sur le plan lipidique une perte de phospholipides, une augmentation de la proportion d'acides gras polyinsaturés, une perte importante de cholestérol, contrebalancée par une acquisition de desmostérol (le dernier intermédiaire de la voie de biosynthèse du cholestérol) et une diminution du rapport cholestérol/phospholipides, indiquant une augmentation de la fluidité membranaire.

Les protéines, quant à elles, peuvent être éliminées, incorporées ou associées à la membrane, relocalisées ou modifiées (Dacheux *et al.*, 2003, 2009). Parmi ces modifications posttraductionnelles, générées par des enzymes et des molécules du fluide, se trouvent entre autres la glycosylation de certaines protéines membranaires (Tulsiani *et al.*, 1993), ainsi que leur phosphorylation par des protéines kinases (Nath et Majumder, 1999), et l'endocytose des glycoprotéines sécrétées par les cellules de l'épididyme (Liu *et al.*, 2000).

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

2.4. Protection des spermatozoïdes

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

La barrière hémato-épididymaire protégerait ainsi les spermatozoïdes de dommages protéolytiques, qui pourraient avoir lieu lors d'une libération prématurée des enzymes acrosomiales durant le transit épididymaire (Vernet *et al.*, 1996, 1999).

2.5. Stockage des spermatozoïdes

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

Lors de l'éjaculation les spermatozoïdes sortent de la queue de l'épididyme et seront mélangés aux sécrétions des glandes annexes (vésicules séminales et la prostate) et pourront ainsi commencer leur course à la rencontre de l'ovocyte afin de le féconder (Jones, 1999).

Chez le lapin le taux de fécondation est seulement 1 à 2 % avec des spermatozoïdes prélevés dans la tête de l'épididyme, alors qu'ils atteignent 95 à 98% avec ceux prélevés dans la queue de l'organe (Barone, 2001).

3. Développement des gonades et puberté

3.1 Différentiation et développement des gonades

La différenciation en deux sexes dépend de l'activité endocrinienne du testicule fœtal. Les testicules sécrètent activement deux hormones essentielles; les androgènes et l'hormone antimüllérienne (HAM ou MIS : Müllerian inhibitory substance) qui sont les messagers de la différenciation masculine émis par le testicule. En leurs absences se produit une différenciation sexuelle féminine (Mitchell et Sharma, 2005).

D'après Alvarino (2000), la différenciation des organes reproducteurs mâles du lapin a lieu pendant la vie fœtale (Figure 9). Cependant la formation de l'albuginée se produit entre le 14^{ème} et 15^{ème} jours de gestation, quelques jours plus tard les tubes séminifères apparaissent entourés de cellules germinales, au 19^{ème} jour de gestation il y a la production des androgènes.

Les canaux de Müller régressent à partir de 20^{ème} jour, et la formation de la prostate commence le 21^{ème} jour et au 24^{ème} jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis. Entre 21^{ème} et 30^{ème} jours de gestation, la testostérone est présente au niveau des testicules de fœtus mâle (Skinner, 1967).

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

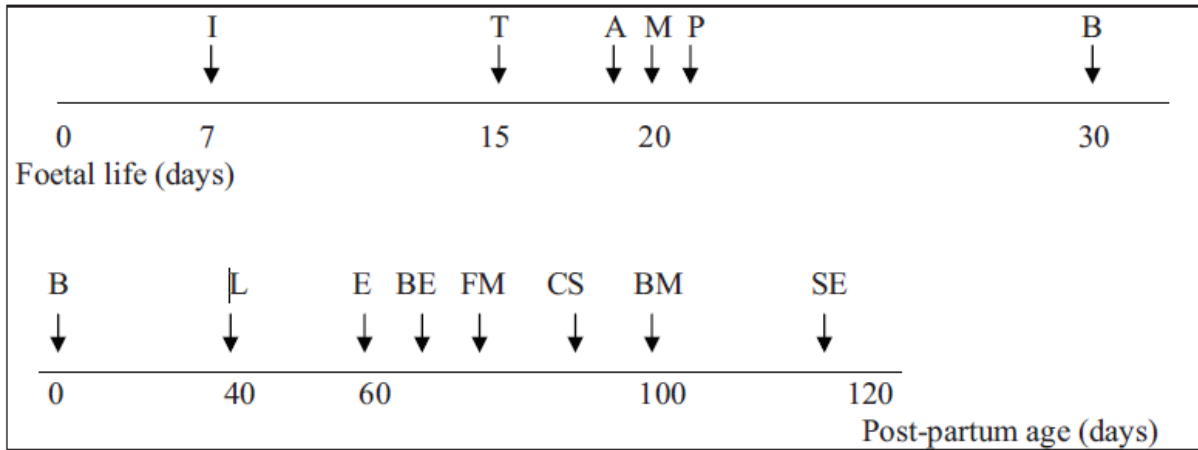


Figure 9: Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000)

I : Implantation; **L :** Maturation des cellules de Leydig; **T :** Différenciation des testicules; **A :** Sécrétion d'androgènes; **M :** Dégénérescence des canaux de Müller; **P :** Croissance de la prostate; **N :** Naissance; **S :** Apparition du premier spermatozoïde; **DS :** Début de la spermatogénèse; **CS :** Premier comportement sexuel; **CDS :** Développement complet de la spermatogénèse ; **RS :** Premiers rapports sexuels; **SE :** Apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme.

3.2. Développement pondéral

Le développement du poids corporel jusqu'à l'âge de 5 mois ne présente pas de dimorphisme sexuel. En effet le poids des lapins mâles et femelles est identique.

D'après Martinet (1973), la croissance testiculaire a une allure sigmoïdale ; d'abord plus lente que celle du corps puis elle subit une accélération vers 45 jours d'âge.

Selon Alvarino (2000), la taille des testicules augmente jusqu'à l'âge de huit mois, et durant cette période les vésicules séminales croissent rapidement.

Le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5^{ème} semaine d'âge. La spermatogénèse est établie vers l'âge de 70 jours, et au 84^{ème} jour tous les tubes séminifères sont actifs.

3.3. Maturation sexuelle

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

3.3.1. Phase infantile

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

3.3.2. Phase prépubertaire

La phase prépubère commence vers l'âge de 40 jours. Une augmentation importante des niveaux de testostérone (+921%) et de FSH (+384%) se produit entre 40 et 60 jours, la croissance des testicules s'accélère, et les cellules de Leydig responsable de la spermatogenèse commence fonctionner (Boussit, 1989), entraînant les premières divisions goniale vers 45 jours. La croissance des vésicules séminale et les premières différenciations des spermatogonies s'accélère vers 70 jours, quand les niveaux d'androgène circulants sont les plus élevés et les premiers spermatozoïdes apparaissent vers l'âge de 110 jours (Skinner, 1967).

3.3.3. Puberté

Il existe des données contradictoires quant à la définition de la puberté chez le lapin. Mann et Parsons (1950), définissent la puberté comme le stade à partir duquel, la fonction endocrine devient évidente et les glandes annexes commencent la sécrétion du fructose et d'acide citrique.

Dans ce cas, la puberté serait alors atteinte dès l'âge de 42 jours, bien avant l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat du mâle (Skinner, 1967).

La puberté serait 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, qui est atteinte vers quatre à cinq mois peu après la descente des testicules dans le scrotum.

Macari et Machado (1978) n'observent plus de différence au niveau des caractéristiques d'éjaculat d'un lapin Néo-Zélandais Blanc à partir de 24^{ème} semaine d'âge par rapport à un adulte (42 semaines).

Cependant, selon Sabbagh (1983), la puberté chez le lapin se définit par le stade à partir duquel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques physiques et chimiques que chez l'adulte.

3.3.4. Maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production journalière de sperme n'augmente plus et serait atteinte vers sept mois pour la race Néo-Zélandais Blanche. Ensuite, la production de sperme récolté reste stable ou décroît légèrement.

Par contre, il semblerait que le volume, donc à priori la sécrétion de plasma séminal, augmenterait jusqu'à l'âge de 12 mois (Amann et Lambiase, 1967). Toutefois, un mâle peut être utilisé pour la reproduction dès l'âge de cinq mois mais avec un rythme moins intensif, par rapport à un adulte mature sexuellement (Lebas, 2009).

4. Régulation endocrinienne de la fonction de reproduction chez le lapin

4.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique

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

La sécrétion pulsatile de la gonadolibérine (GnRH) par l'hypothalamus stimule la production et la sécrétion des gonadotrophines, l'hormone lutéinisante (LH) et de la folliculostimuline (FSH) par l'adénohypophyse (Figure 10) (Hammoud *et al.*, 1997). La GnRH se fixe sur des récepteurs situés à la surface des cellules gonadotropes de l'antéhypophyse, après l'activation d'un nombre de ces récepteurs leurs nombres diminuent (phénomène de désensibilisation ou down-regulation, liée à l'internalisation des récepteurs

par endocytose), ce qui permet la récupération des récepteurs en surface (up-regulation), alors qu'une sécrétion continue maintient la down-régulation (Thibault et Levasseur, 2001).

Les gonadotrophines (FSH et LH) circulent dans le sang pour atteindre le testicule, chaque hormone agit sur un type bien précis de cellules ; la FSH agit sur les cellules de Sertoli en se fixant sur ses récepteurs pour activer la production de facteurs Sertoliens tel que l'ABP, la transferrine et divers agents nécessaires au bon déroulement de la spermatogenèse. Tandis que la LH agit sur les cellules de Leydig pour la sécrétion de la testostérone (androgène principale sécrétée continuellement à partir de la puberté) qui favorise la spermatogenèse (Widmaier *et al.*, 2009).

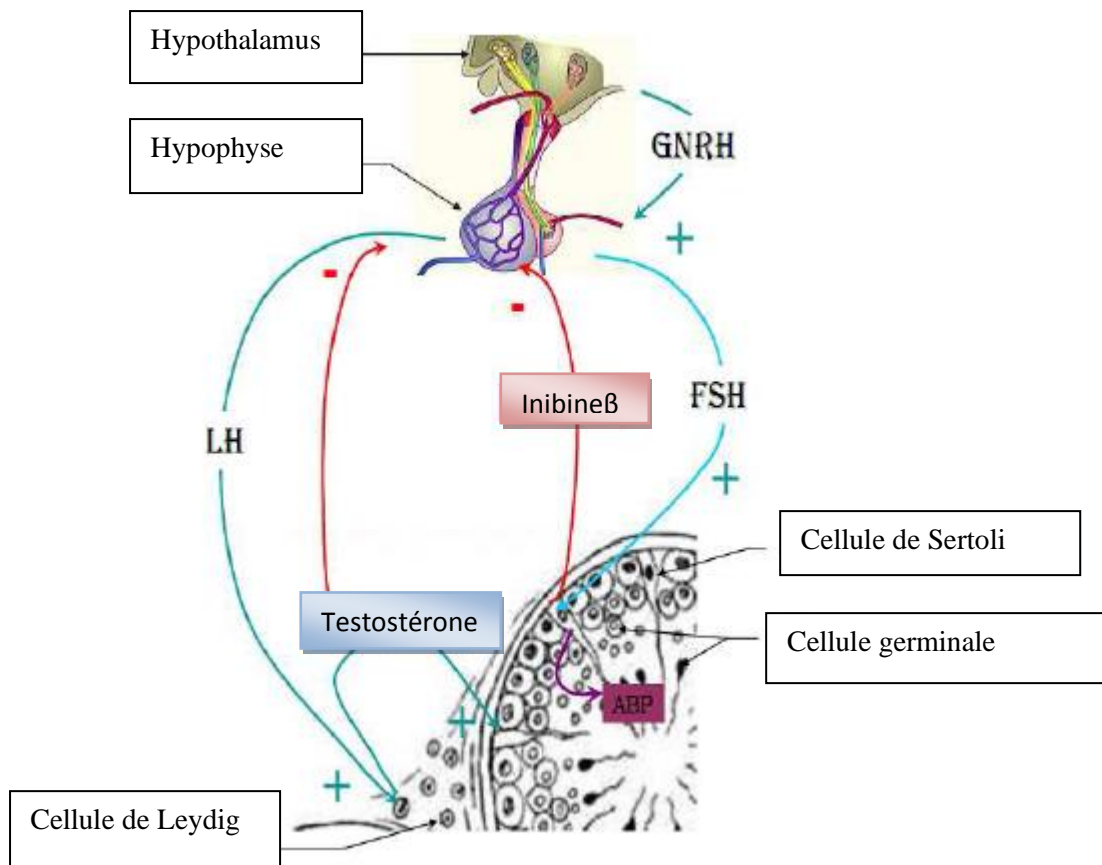


Figure 10 : Axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire (Christiansen *et al.*, 2002)

4.2. Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule

Le contrôle exercé par l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire est modulé par un rétrocontrôle assuré par les hormones testiculaires de nature stéroïdienne (testostérone) et protéique (inhibine) (Figure 10) (Roser, 2008).

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

Selon l'intensité de la spermatogenèse, les cellules de Sertoli sécrètent l'inhibine β dans le sang (Anderson et Sharpe, 2000), qui exerce un rétrocontrôle inhibiteur de la sécrétion de FSH par l'hypophyse (Ying, 1988 ; Dohel *et al.*, 2003).

5. Influence des facteurs de l'environnement sur la reproduction des lapins

Chez les mammifères supérieurs dont l'homme, l'environnement n'a quasi pas d'effet sur la reproduction contrairement aux autres mammifères où la reproduction est très influencée par les paramètres de l'environnement, tels que la lumière (intensité et photopériode), la température, l'hygrométrie et la saison. Ce sont essentiellement la durée de jour et la disponibilité alimentaire qui déterminent la période de reproduction (Thibault et Levasseur, 2001).

5.1. Effet de la température

Chou *et al.* (1974), ont constaté que les lapins exposés à un stress thermique présentent d'une part une diminution du poids des organes génitaux, et une diminution de sécrétion des hormones sexuelles d'autre part.

Une température élevée affecte la motilité des spermatozoïdes même après des périodes d'exposition courtes de huit heures à 36°C, ou des périodes moyennes de 14 jours à 30 °C. De plus les températures supérieures à 30°C réduisent la libido des mâles (Lebas *et al.*, 1990).

5.2. Effet saison

Le comportement sexuel du lapin mâle est sous l'influence de nombreux facteurs ambiant, ce qui contribue à donner au facteur saison une importance capitale dans la reproduction de cette espèce (Sabbagh, 1983).

En effet le volume des éjaculats et leur concentration en spermatozoïdes sont aux maximum en mars (Frolich, 1948) et aux minimum en juillet (Brambell, 1944). Ces variations s'accompagnent d'une réduction de la taille des testicules de mars à juillet, de l'ordre de 60 % du poids maximum et d'un accroissement testiculaire dès août. Il s'en suit une « stérilité estivale » associée à une augmentation du pH du sperme, une baisse de la motilité et la concentration des spermatozoïdes, une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux et une baisse de la libido (Hiroe et Tomizuka, 1965).

5.3. Effet d'éclairement et Photopériode

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

Selon Walter *et al.* (1968), il est possible de provoquer une diminution de la concentration en spermatozoïdes du sperme et une baisse du poids des testicules grâce à une photopériode de 16h de lumière pour 8h d'obscurité .

5.4. Effet de l'humidité relative ambiante

L'humidité relative ou l'hygrométrie est le rapport entre le poids réel de la vapeur d'eau contenu dans l'air et le poids d'eau maximum qu'il pourrait contenir s'il était saturé à la température considérée.

Dans les normes recommandées, l'humidité relative doit être maintenue entre 55 et 80 % (idéalement entre 60 et 70 %).

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

significative de la motilité linéaire des spermatozoïdes (Virag *et al.*, 1992 ; El masry *et al.*, 1994).

5.5. Effet de l'alimentation

L'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectés lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculat et de la concentration en spermatozoïdes (Joly et Theau-Clément, 2000).

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

5.6. Autres facteurs

Les variations de la fertilité mâle ne peuvent se limiter aux facteurs précédemment cités. Cependant des chercheurs ont mis en évidence que les huiles essentielles peuvent avoir selon la plante utilisée pour leur confection une toxicité plus au moins importante chez les lapins et rongeurs de compagnie (Kammerer *et al.*, 2012).

Une étude a été réalisée pour étudier l'effet de l'huile essentielle de sarriette (*Satureja khuzestanica*) sur la fertilité des rats mâles, cette huile a été administrée par voie orale à différentes doses (75, 150 et 225 mg /Kg /jour) pendant 45 jours, et elle a induit une augmentation significative de la concentration en FSH et en testostérone, de même l'augmentation de poids de vésicule séminale et de la prostate (Haeri *et al.*, 2006).

Chapitre III

Matériels et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique (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 de la menthe poivrée sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles à différents âges, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume testiculaire et épидидymaire.

1. Matériel biologique

1.1. Modèle animal

La présente étude est portée sur 18 lapins mâles à deux âges différents de la souche synthétique (améliorée) (Figure 11), provenant d'un élevage cunicole privé de la région de Tizirt, wilaya de Tizi ousou, qui s'est effectuée au sein d'une coopérative située dans l'Institut de Technologie Moyen Agricole spécialisé de Boukhalfa-Tizi ousou (ITMA).

Le type amélioré, a été initié dans l'institut technique des élevages Baba-Ali, Alger (ITELV) à partir de 2003 en collaboration avec l'INRA de Toulouse (Gacem *et al.*, 2010).

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

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

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

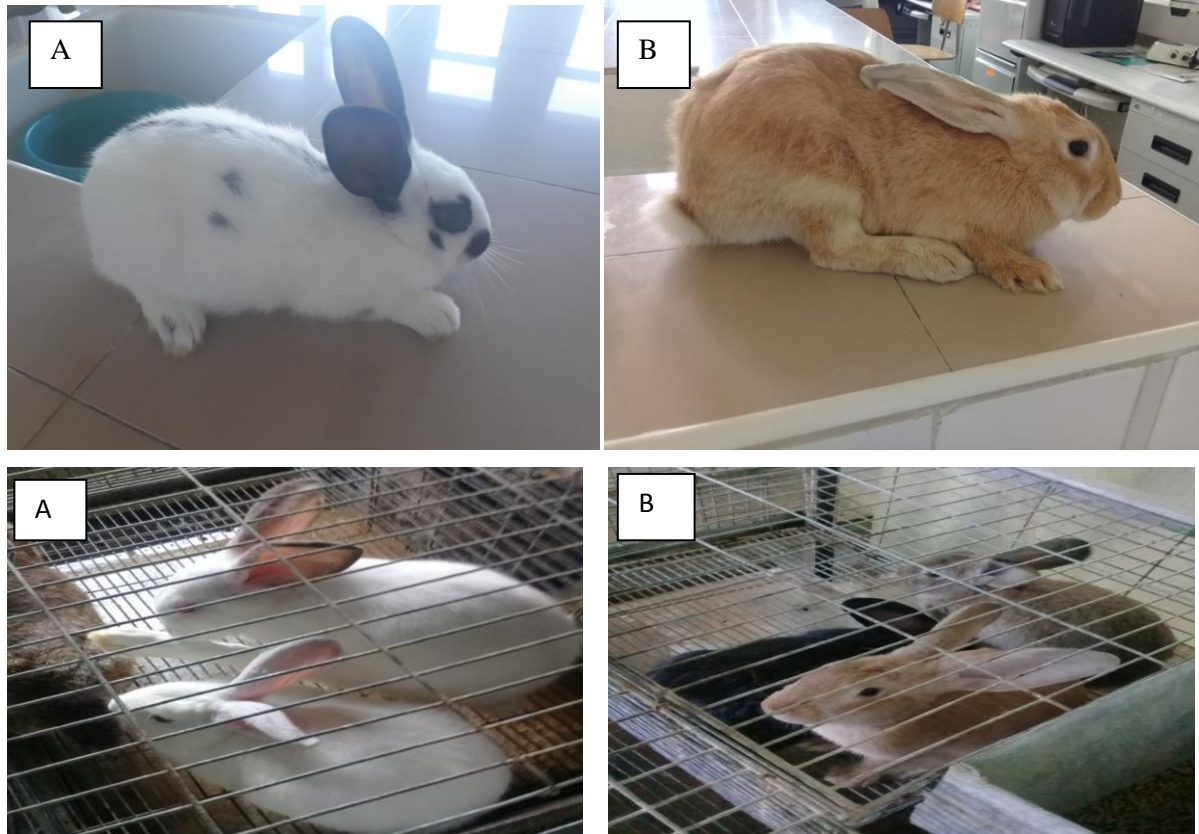


Figure 11: Lapins issus d'un élevage cunicole de Tizirt
(Originale, 2018)

A: Lapin âgé d'1 mois ; **B :** Lapin âgé de 3 mois

1.2. Huile essentielle utilisée (Menthe poivrée)

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

La menthe poivrée est l'huile essentielle la plus polyvalente (Figure12), obtenue par distillation complète des feuilles de menthe (la méthode la plus utilisée est l'hydrodistillation). Elle possède une couleur jaune clair rafraîchissante dont la très forte odeur est due au menthol. Elle est utilisée en médecine traditionnelle, dans les préparations et l'industrie

alimentaire, en cosmétique et récemment des études scientifiques montrent un intérêt promoteur quant à son utilisation en pharmacologie et médecine moderne.

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

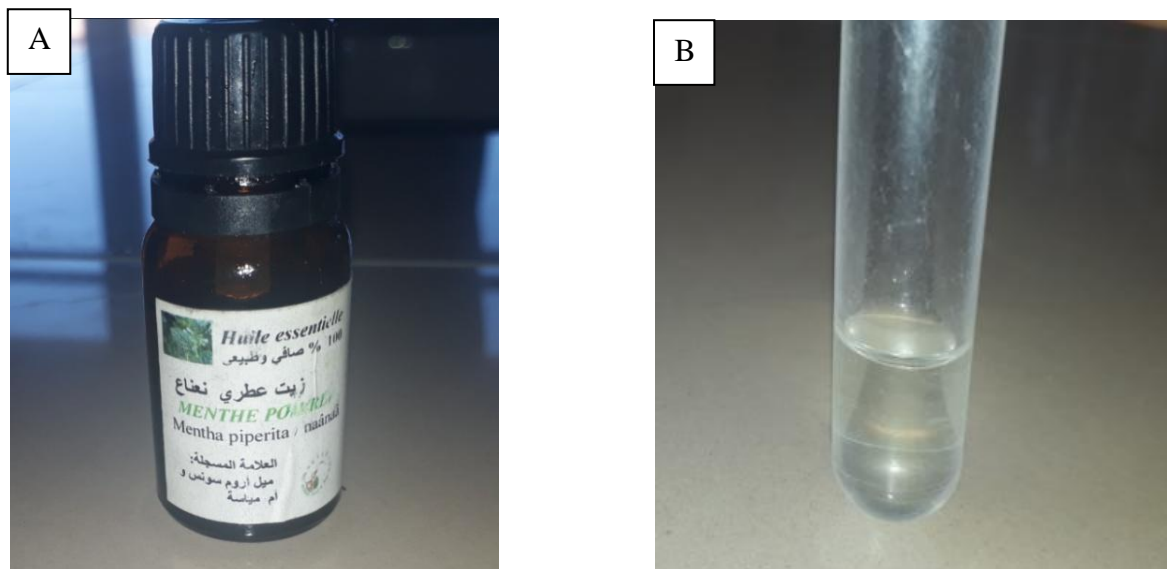


Figure 12: photographie de l'huile essentielle « Menthe Poivrée »
(Originale, 2018)

A : Flacon De La Menthe Poivrée ; **B :** tube à essai rempli de l'huile menthe poivrée

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

1.3. Autres Matériels

Notre expérimentation a nécessité d'autres matériels tel que, papier filtres, portoirs, micropipettes (10-100 μ l ; 100-1000 μ l), balance à précision, ciseaux, bavettes, gants, pince, spatule, poire, pissettes, eppendorfs, cassette d'inclusion, cryotubes, et moules à paraffine.

2. Expérimentation

L'expérimentation s'est effectuée entre le mois de Mai et Juillet 2018, au niveau d'Institut de Technologie Moyen Agricole spécialisé de Boukhalfa-Tizi ousou (ITMA), puis au niveau du laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre au sein de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-ousou.

2.1. Protocole expérimentale

Des lapins mâles âgés de 1 et 3 mois (9 lapins par âge) sont pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole et répartis en 3 lots et dans chaque lot 3 lapins; le premier lot est destiné au groupe témoin, le deuxième lot est destiné au groupe qui recevront la première dose (D1=100 μ l/kg) et le troisième lot est destiné à ceux qui recevront la deuxième dose (dose 2=200 μ l/kg).

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

2.2. Pesée et administration de la menthe poivrée

L'expérimentation est portée sur 18 lapins de sexe mâle transférés de l'élevage cunicole de Tizirt jusqu'à l'ITMA, qui ont été laissés une semaine pour qu'ils s'adaptent aux conditions du milieu afin d'éviter toute influence externe tels que le stress. Après la semaine d'adaptation les lapins ont été pesés puis, traités une seule fois par l'huile essentielle « menthe poivrée » mélangée dans 0.5 ml de l'eau potable, puis administrée par voie orale à deux doses différentes (100 μ l/Kg pour les lapins de premières doses et 200 μ l/kg pour les lapins de deuxième doses) (Figure 13). En effet la pesée et l'administration de l'huile essentielle pour les lapins de 1 et 3 mois ont été faites durant deux journées différentes.



Figure13: Administration de l'huile essentielle « menthe poivrée » par voie orale
(Originale, 2018)

2.3. Sacrifices et prélèvement

Après une semaine de l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9 H : 00 et 12H : 00 au niveau de laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre à l'université Mouloud Mammeri-Tizi ouzou. Après sacrifice par saignement, le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs pour des dosages hormonaux ultérieurs et congelé à 4°C.

Ensuite les animaux sont disséqués (Figure 14), leurs appareils génitaux (épididyme et testicule) sont prélevés puis dégraissés et pesés grâce à une balance de précision de 0,01g, et leurs volumes ont été déterminés dans des tubes gradués pour ceux de 3 mois, par la mesure du volume d'eau déplacé. Le tube gradué étant remplis d'eau à un niveau initial connu, la différence avec le volume obtenu à l'immersion de l'organe correspond au volume de l'organe (Figure 15). Les testicules et épидидymes gauches sont fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés et étiquetés pour une étude histologique, alors que les testicules et épидидymes droit sont placés dans des cryotubes et congelés à -20°C, jusqu'à leur utilisation ultérieure.

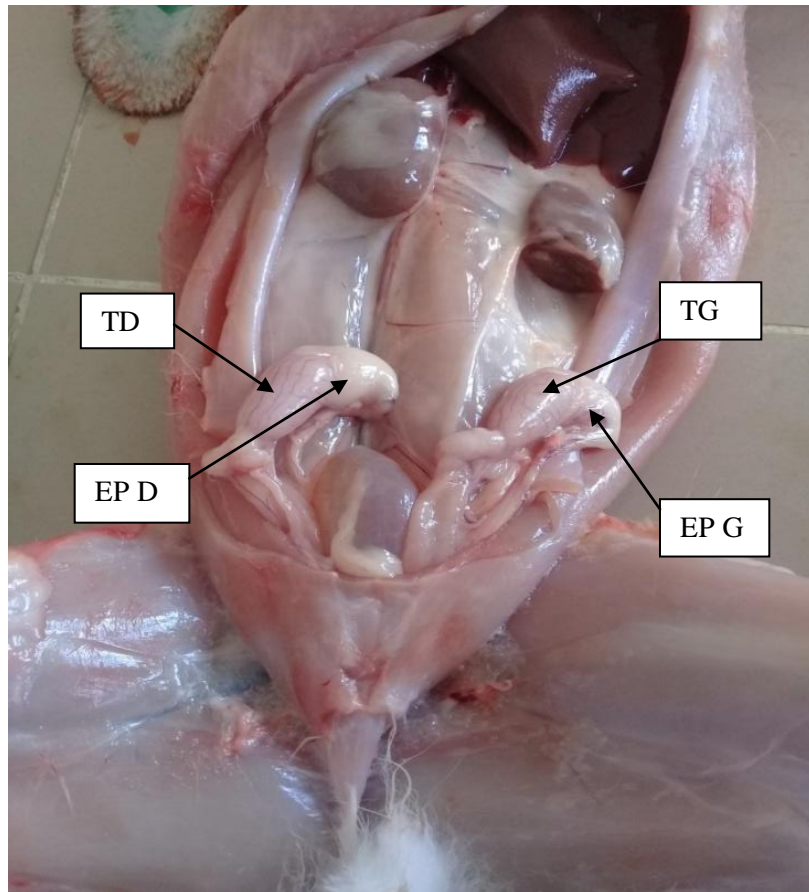


Figure 14: Présentation de l'appareil génital du lapin lors du sacrifice (Originale, 2018)

TD : Testicule Droit ; **EPD :** Epididyme Droit ; **TG :** Testicule Gauche ; **EP G :** Epididyme Gauche

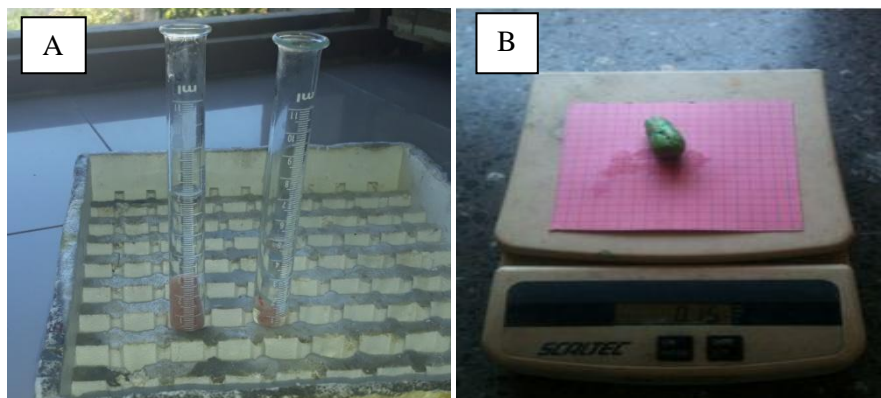


Figure 15: Détermination du poids et du volume des organes (Originale, 2018)

A : Eprouvette utilisée pour mesurer le volume ; **B :** Pesée des épидидymes avec une balance à 0,01g

3. Etude histologique

L'étude histologique se déroule en une série d'étapes successives obligatoires qui vont aboutir à l'obtention de coupes fines prêtes à recevoir la coloration histologique d'intérêt. La procédure utilisée est inspirée de celle mise au point par Martoja et Martoja (1967). Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes ; fixation des échantillons, déshydratation et éclaircissement, imprégnation, inclusion, confection des coupes et collage, déparaffinage et réhydratation, coloration topographique, observation des lames.

3.1. Fixation des échantillons

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

Nous avons utilisé le fixateur Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) qui appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Les organes placés dans des cassettes d'inclusion puis déposés dans des piluliers contenant un volume de « Bouin Hollande » trois fois supérieur à celui de l'organe, afin de l'immerger totalement (Figure 16). Les organes sont maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur, à température ambiante.

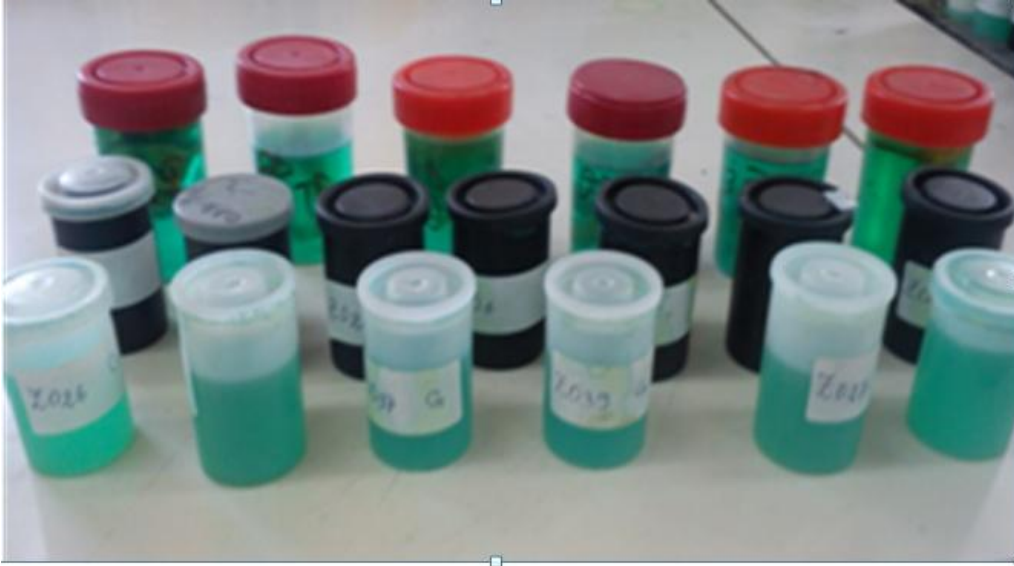


Figure 16: Piluliers de fixateur contenant les organes (Originale, 2018)

3.2. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation est la suppression de toute l'eau contenue dans l'organe, ce qui va permettre l'inclusion de l'échantillon dans la paraffine.

Pour réaliser la déshydratation de l'organe, nous avons utilisé une série de bains d'alcool éthylique à des degrés croissant (50°, 70°, 80°, 90°, 100°), pendant 40 minutes pour chaque bain afin d'éviter la désorganisation des structures. Le dernier bain est un bain de xylène pour compléter la déshydratation et préparer l'imprégnation de l'organe à la paraffine, car l'éthanol n'est pas miscible à la paraffine (Figure 17).

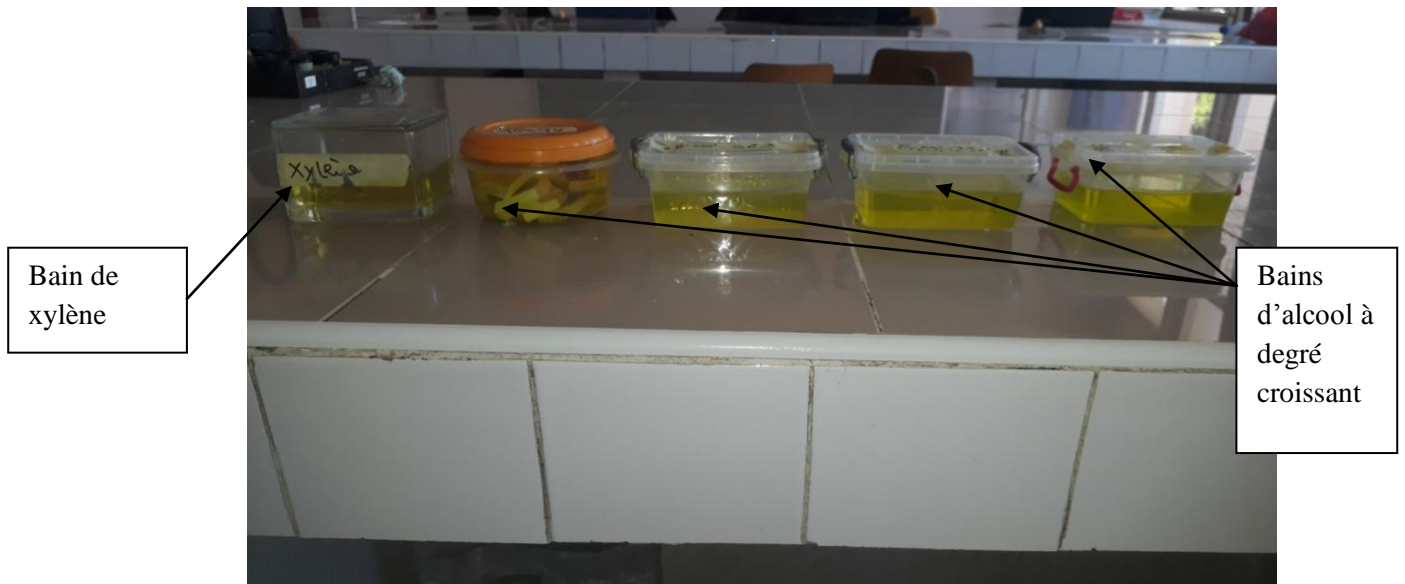


Figure 17: Photographie d'une série de baignoires d'alcool éthylique (Originale, 2018)

3.3. Imprégnation

L'imprégnation consiste à plonger les organes dans 3 baignoires successives de paraffine, de 40 minutes pour chaque bain à 60°C, immédiatement après les baignoires de xylène. Le deuxième et le troisième bain renferment de la paraffine pure, tandis que le premier est constitué d'une moitié de paraffine et moitié toluène. Un séjour prolongé des pièces dans le deuxième bain ne présente aucun inconvénient, à condition que la température ne dépasse pas 60°C.

Les deux opérations, déshydratation et imprégnation sont réalisées au niveau de laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre. De l'université Mouloud Mammeri.

3.4. Inclusion

L'inclusion est l'opération qui consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C. Les organes sont placés dans des moules qui recevront la paraffine. Les cassettes respectives, identifiant chaque échantillon sont placées à la surface des moules avant de faire couler la paraffine jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante (-10 à -15°C) (Figure 18).



Figure 18 : des organes placé dans des moules qui recevront la Paraffine (Originale, 2018).

3.5. Confection des coupes et collage

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



Figure 19: Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite (Originale, 2018)

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. Il est suivi d'une réhydratation. Le schéma est une séquence inverse de celle de la déshydratation (Figure18). Il consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à de degrés décroissants (100°, 90°, 80°, 70°).



Figure 20 : photographie des bains d'alcool et de xylène de la circulation (Originale, 2018)

3.7. Coloration topographique

Pour la coloration de nos échantillons nous avons choisi la coloration topographique de Trichrome de Masson (Figure19). Cette coloration permet de mettre en évidence (grâce aux colorants utilisés) le noyau en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres de collagènes sont vertes.



Figure 21 : Photographie d'une série d'une coloration topographique (Originale, 2018)
A : Hématoxyline ; **B** : Fuschine Ponceau ; **C**: Eau Acétifiée ; **D** : Acide Phosphomolybdique ; **E** : Eau Acétifiée ; **F** : Vert Lumière ; **G** : Eau Acétifiée

3.8. Observation des lames

Pour l'observation des lames nous avons utilisé un microscope photonique de type OPTICA, équipé d'une caméra de type 1,3M pixels, CMOS, USB 2.0 ce qui nous a permis de réaliser des photographies à partir de nos échantillons qui s'est effectuée au sein de laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou.

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

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 ; **V_{obj}** : Grossissement de l'objectif ; **V_z** : Facteur de zoom d'optovar = 2.5

4. Etudes statistique

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

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

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

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

Chapitre IV

Résultats

Les résultats rapportés dans ce travail concernent l'évolution du poids corporel avant et après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée et leur relation avec le poids des testicules et épидидymes gauches et droits ainsi que leurs poids relatifs, des lapins âgés de 1 mois et 3 mois (durant l'expérimentation qui a duré 15 jours), ainsi une étude histologique des structures gonadiques (testiculaire et épидидymaire).

1. Evolution du poids corporel

Le poids corporel exprimé en kilogramme (kg) par la valeur moyenne \pm l'erreur standard 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. Evolution du poids corporel des lapins âgés de 1 mois

La figure 22 représente l'évolution du poids corporel des lapins âgés de 1 mois avant et après l'administration de l'HE de la menthe poivrée à deux doses différentes (100 μ l/kg et 200 μ l/kg).

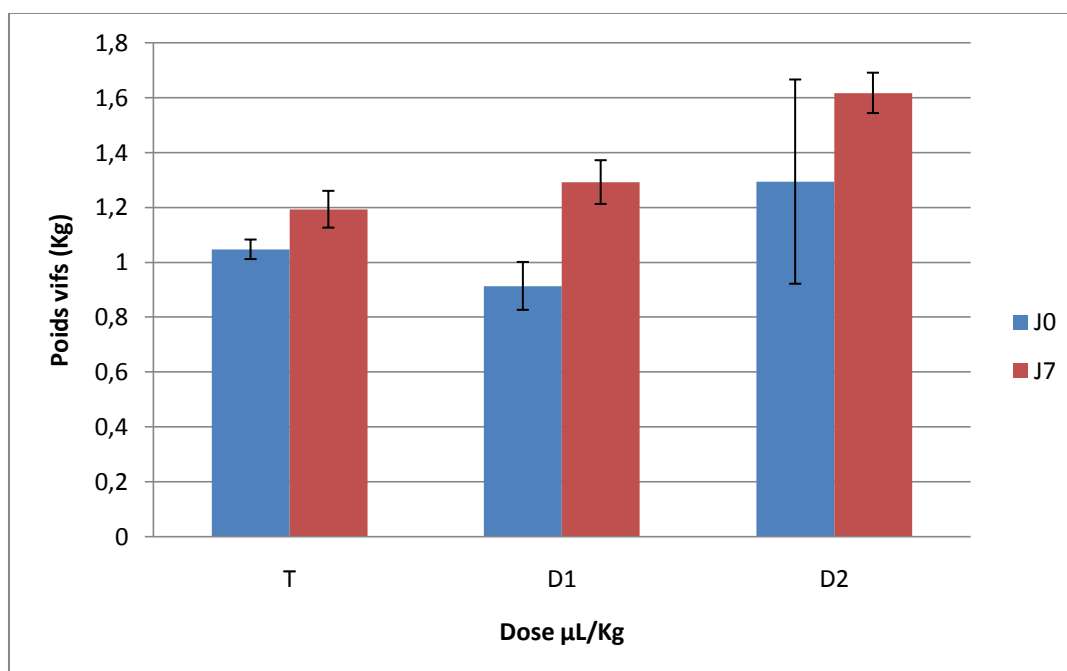


Figure 22: Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 1 mois

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

Les lapins âgés de 1 mois montrent un poids corporel plus élevé après l'administration de l'huile essentielle (J7). En effet la valeur moyenne du poids corporel des lapins témoins (T) est de 1.193 ± 0.067 kg alors qu'elle est de 1.292 ± 0.0797 kg chez les lapins de lot dose1(D1) et chez ceux de lot dose 2 (D2) la valeurs moyenne est de 1.617 ± 0.074 kg, avec une différence très significative ($P < 0.01$) entre la valeur moyenne du poids corporel des lapins de lot témoin et dose 2, et entre les lapins de lot dose1 et dose 2 ($P < 0.01$). Tandis que avant le traitement (J0) la valeur moyenne du poids corporel de lot de la première dose est faible de 0.88 ± 0.913 kg par rapport au lot témoin qui est de 1 ± 1.046 kg.

La valeur moyenne du poids vif des lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée (J7), est élevée en fonction de la dose administrée que celle avant le traitement (J0).

1.2. Evolution du poids corporel des lapins âgés de 3 mois

La figure 23 représente l'évolution du poids corporel des lapins de 3 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée à deux doses différentes ($100 \mu\text{l/kg}$ et $200 \mu\text{l/kg}$).

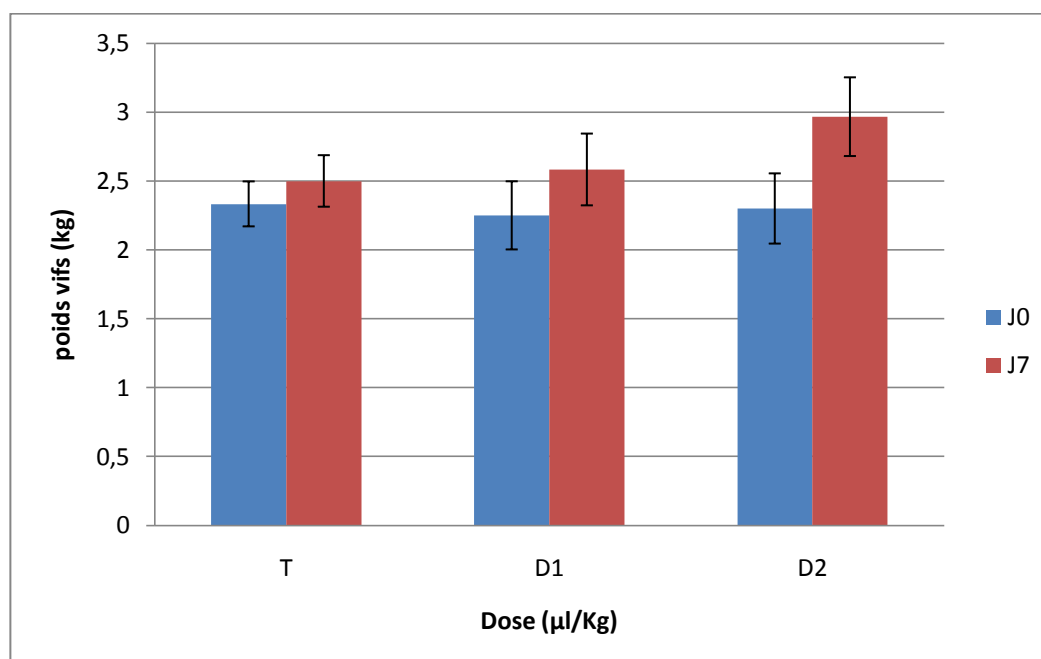


Figure23 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3 mois

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

La valeur moyenne du poids corporel des lapins mâles âgés de 3 mois enregistré durant notre expérimentation après l'administration de l'huile essentielle (J7) est plus élevée respectivement chez les lapins traités à la dose 2 (D2) qui est de $2,96 \pm 0,285$ kg, puis chez ceux traités à la dose 1 (D1) à la valeur de $2,60 \pm 0,260$ kg par rapport au lot témoin (T) qui est de $2,5 \pm 0,187$ kg. Tandis qu'avant le traitement (J0), la valeur moyenne du poids corporel est faible par rapport en J7 (après le traitement) chez les lapins de lot témoin elle est de $2,33 \pm 0,163$ kg et chez les lapins de lot dose 1 la valeur moyenne du poids corporel est de $2,25 \pm 0,247$ kg et chez ceux de lot dose 2 elle est de $2,3 \pm 0,254$ kg.

La valeur moyenne de poids vif des lapins âgés de 3 mois après l'administration de l'huile essentielle de la menthe poivrée est plus élevée que celle avant le traitement (J0).

2. Evolution du poids testiculaire

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

2.1. Poids des testicules droits et gauches pour les lapins âgés de 1 et 3 mois

Le premier graphe (Figure 24) représente l'évolution des poids des testicules gauches et droits des lapins âgés de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée ($100 \mu\text{l}/\text{kg}$ et $200 \mu\text{l}/\text{kg}$).

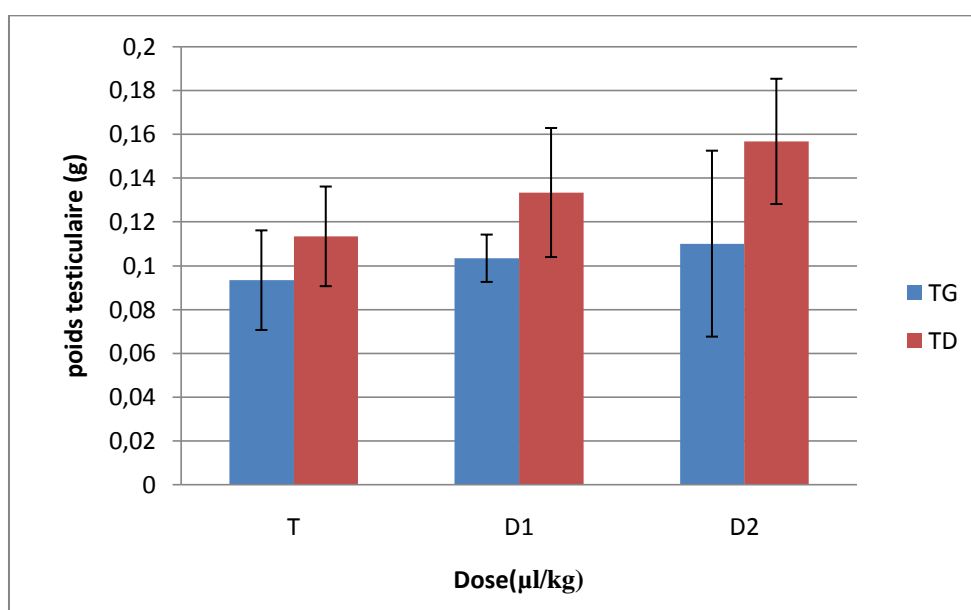


Figure 24 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins âgés de 1 mois

Les valeurs moyennes des poids des testicules gauches et droits montrent une élévation en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée « menthe poivrée », en effet les testicules des lapins témoins (T) présentent un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux (D1) et (D2) qui est de $0,09 \pm 0,023\text{g}$ vs $0,11 \pm 0,023\text{g}$ pour le lot témoin (T) alors que chez les lapins de lot dose 1 (D1) est de $0,10 \pm 0,010\text{g}$ vs $0,13 \pm 0,02\text{g}$ et chez ceux traités à la dose 2 (D2) est de $0,11 \pm 0,042\text{g}$ vs $0,157 \pm 0,029\text{g}$. Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules droits sont plus élevées que celle des testicules gauches.

Le deuxième graphe (Figure 25) représente l'évolution du poids des testicules gauches et droits des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée ($100\mu\text{l/kg}$ et $200\mu\text{l/kg}$).

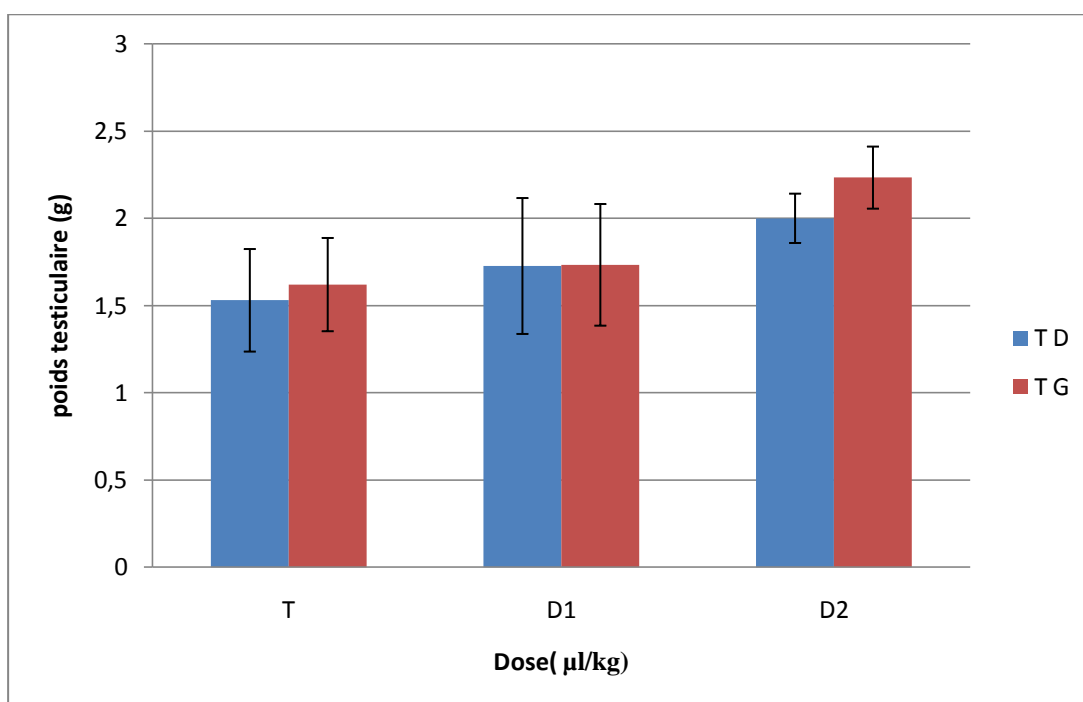


Figure 25 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins âgés de 3 mois

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

La valeur moyenne du poids des testicules gauches et droits montre une élévation en fonction de la dose de l'HE administrée, en effet les testicules des lapins témoins (T) présente un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux (dose 1 et dose 2). Où la valeur chez les lapins de lot témoin (T) est de $1,53 \pm 0,294\text{g}$ vs $1,61 \pm 0,267\text{g}$ alors que chez les

lapins de lot dose 1(D1) elle est de $1.72 \pm 0.389\text{g}$ vs $1.73 \pm 0.348\text{g}$ et chez ceux de lot dose 2(D2) est de $2 \pm 0.141\text{g}$ vs $2.23 \pm 0.177\text{g}$. Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauches sont plus élevées que celles des testicules droits pour le lot témoin et dose2.

2.2. Poids total des testicules des lapins âgés de 1 et 3 mois

La figure 26 représente l'évolution du poids total des testicules pour les lapins âgés de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée.

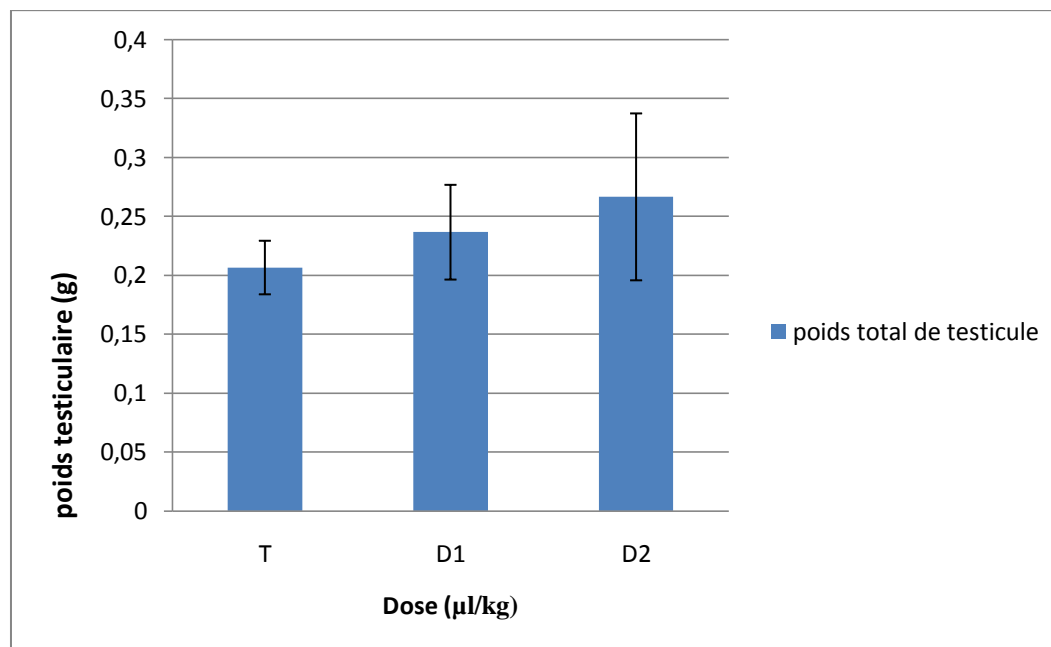


Figure 26: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins âgés de 1 mois

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

La valeur moyenne du poids total des testicules présente une élévation où la valeur chez les lapins de lot témoin est de $0.207 \pm 0.023\text{g}$ alors que chez les lapins traités à la dose 1 la valeur est de $0.237 \pm 0.040\text{g}$ et s'élève à $0.267 \pm 0.070\text{g}$ chez les lapins de lot de deuxième dose (D2).

La figure 27 représente l'évolution du poids total des testicules pour les lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée.

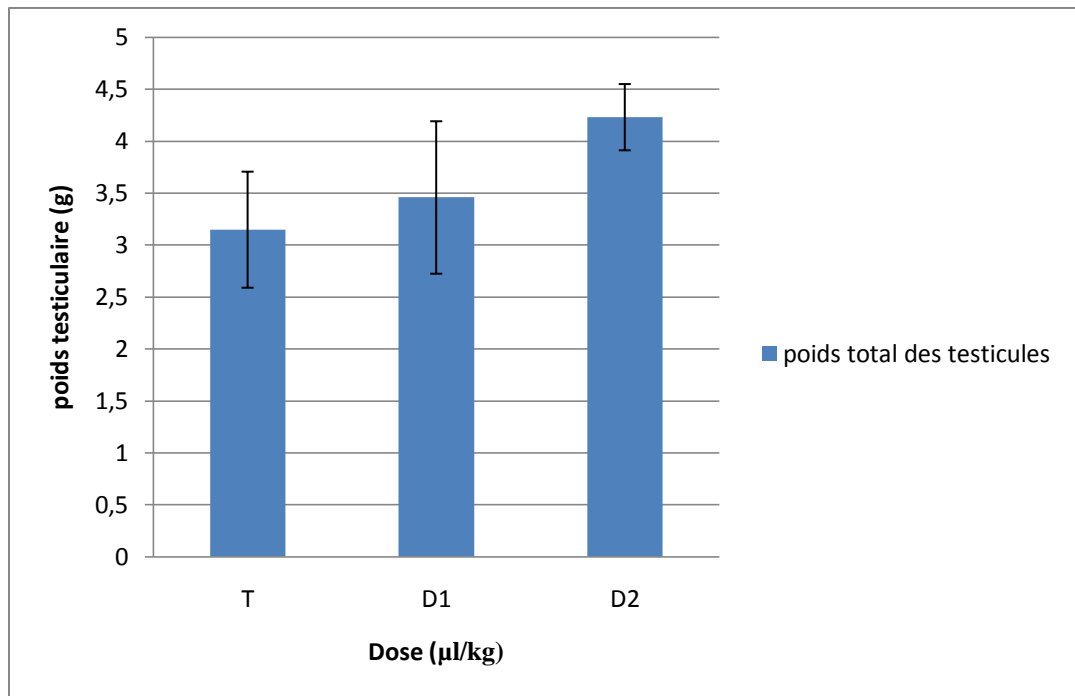


Figure 27: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois

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

La valeur moyenne du poids total des testicules des lapins âgés de 3 mois enregistré durant notre expérimentation après l'administration de l'huile essentielle (J7) est élevée chez les groupes traités à la dose 1 et la dose 2 de l'huile essentielle, où la valeur est de $3,15 \pm 0,558$ g chez les lapins de lot témoin alors que chez les lapins de lot dose 1 (D1) elle est de $3,46 \pm 0,733$ g et s'élève à $4,23 \pm 0,318$ g chez ceux traités à la dose 2 (D2).

2.3. Poids relatifs des testicules des lapins âgés de 1 et 3 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 28.

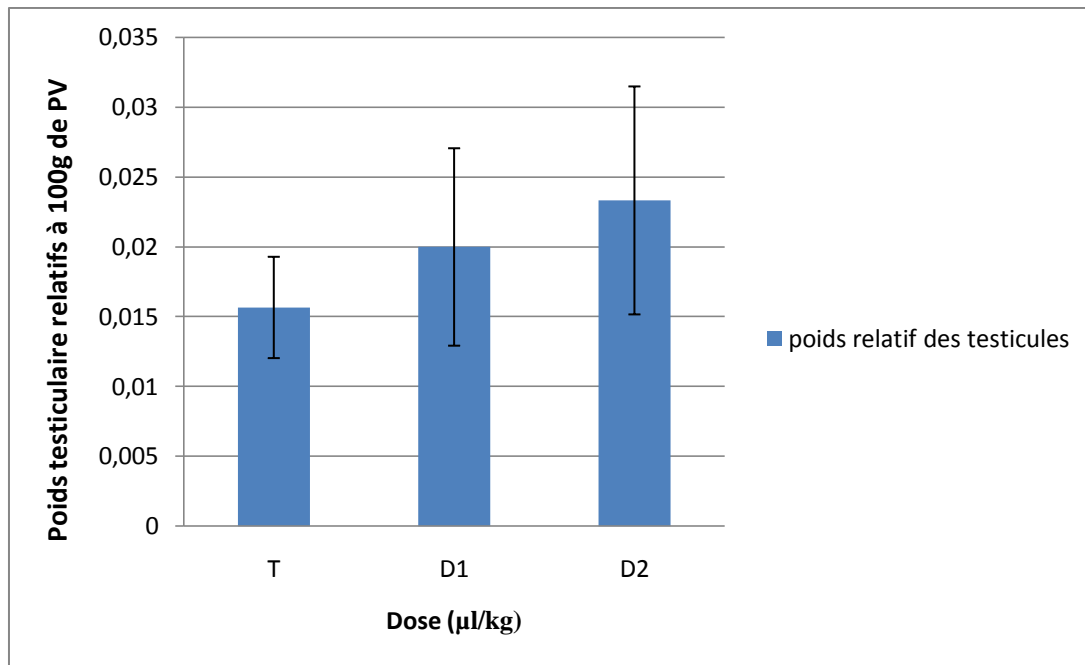


Figure 28: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins âgés de 1 mois

T : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2 ; **PV** : Poids vif

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules présente une élévation en fonction de la dose administrée de l'huile essentielle « menthe poivrée ». En effet la valeur moyenne est de 0.016 ± 0.004 g chez les lapins de lot témoin (T) alors que elle est de 0.02 ± 0.007 g chez les lapins traités à la première dose (D1) et chez ceux traités à la deuxième dose (D2) la valeur est de 0.023 ± 0.008 g.

La figure 29 représente l'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules des lapins âgés de 3 mois.

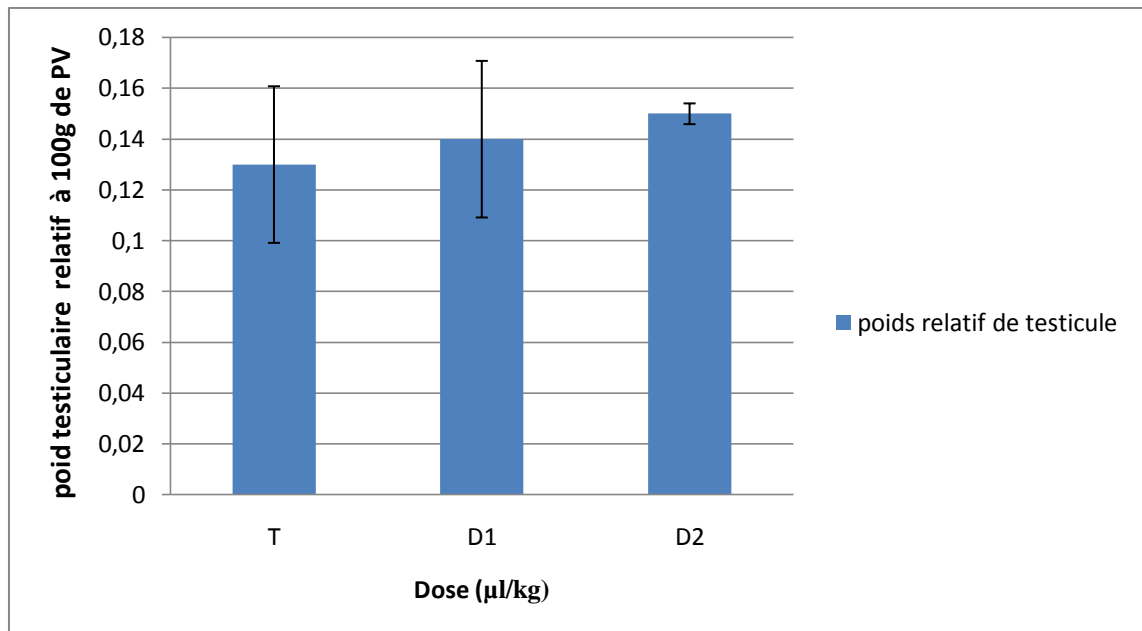


Figure 29: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins âgés de 3 mois

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose2 ; PV : Poids Vifs

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules des lapins âgés de 3 mois présente une élévation chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) de l'huile essentielle « menthe poivrée » par rapport au témoin. En effet la valeur est de $0,13 \pm 0,0308$ g chez les lapins de lot témoin alors que chez ceux traités à la première dose (D1) est de $0,14 \pm 0,030$ g et la valeur s'élève de $0,15 \pm 0,004$ g chez ceux traités à deuxième dose (D2).

2.4. Evolution du volume testiculaire des lapins âgés de 3 mois

Le graphe suivant représente le volume total des testicules pour les lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée.

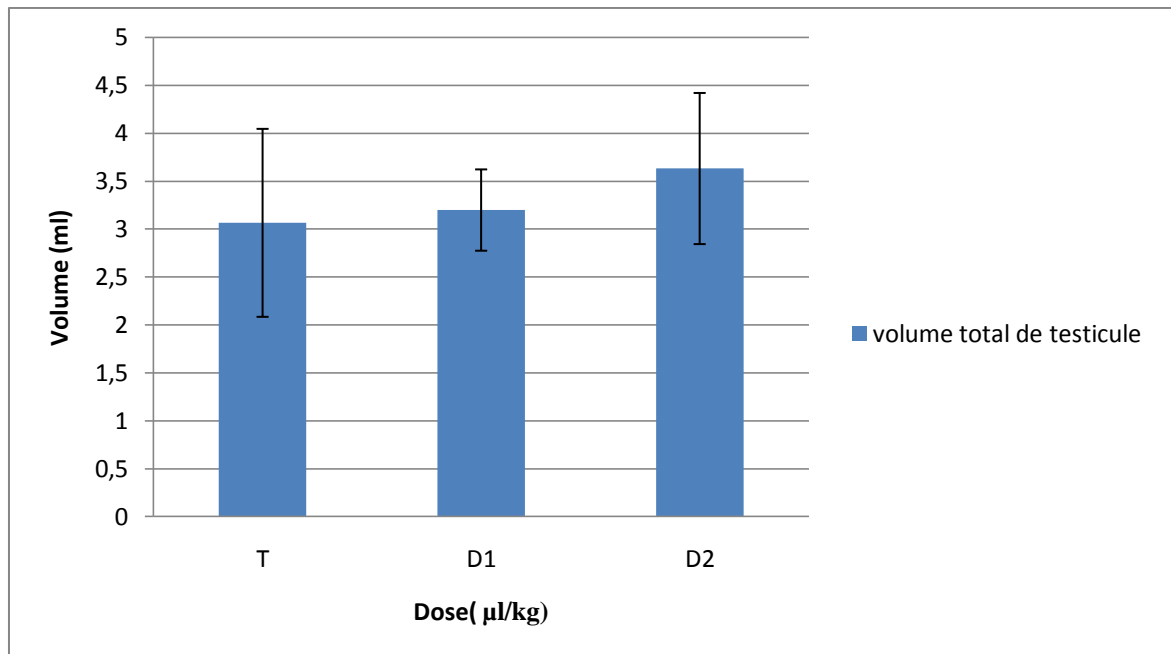


Figure 30: Représentation graphique du volume des testicules des lapins âgés de 3 mois

VTT : Volume Total Testiculaire ; **T** : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2

Le volume des testicules (Figure 30) chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée est plus élevé par rapport aux témoins. En effet la valeur de volume total du testicule est de 3.06 ± 0.980 ml des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 3.2 ± 0.424 ml chez les lapins traité à la première dose (D1) et elle est de 3.63 ± 0.788 ml pour ceux traité à la dose (D2)

3. Evolution du poids épидидymaire

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

3.1. Poids des épидидymes gauches et droits des lapins âgés de 1 et 3 mois

Le graphe suivant représente l'évolution du poids moyen de l'épididyme gauches et droits, en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée pour les lapins âgés de 1 mois.

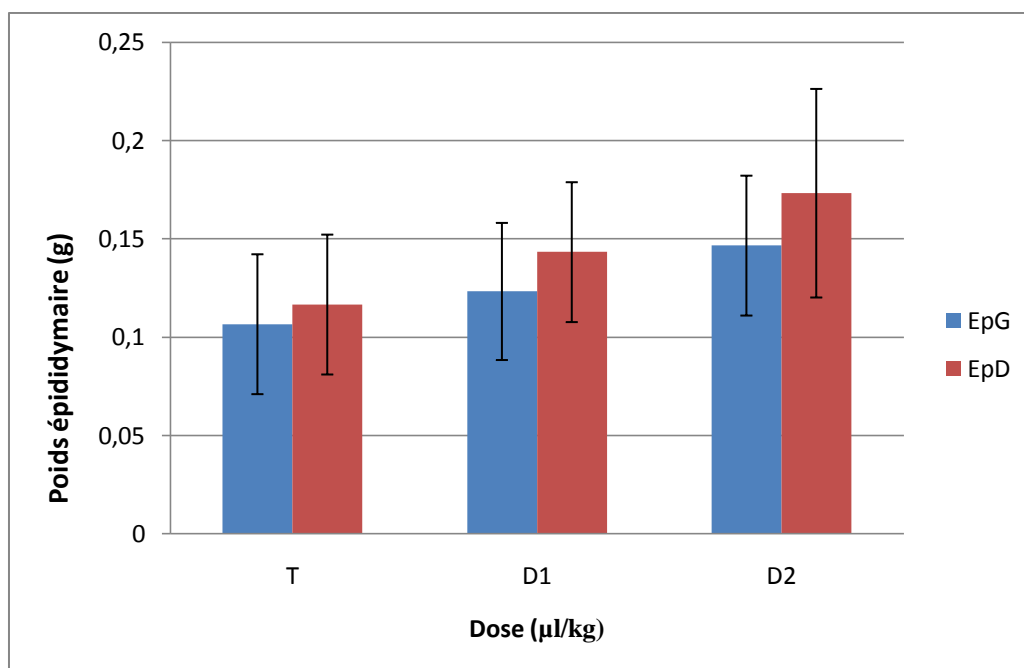


Figure 31 : Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins de âgés de 1 mois.

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

Le poids de l'épididyme gauche et droit (Figure 31) des lapins âgés de 1 mois traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée à la dose 1 et dose 2 est plus élevé par rapport aux témoins. En effet les valeurs moyennes du poids épидидymaires gauches et droits est 0.107 ± 0.035 g vs 0.123 ± 0.035 g des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 0.123 ± 0.035 g vs 0.143 ± 0.036 g chez les lapins traités à la première dose (D1) et elle est de 0.147 ± 0.035 g vs 0.173 ± 0.053 g chez ceux traités à la deuxième dose (D2). Néanmoins la valeur moyenne du poids de l'épididyme droit est plus élevée par rapport au poids de l'épididyme gauche.

La Figure 32 représente le poids moyen de l'épididyme gauche et droit des lapins âgés de 3 mois en fonction de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée.

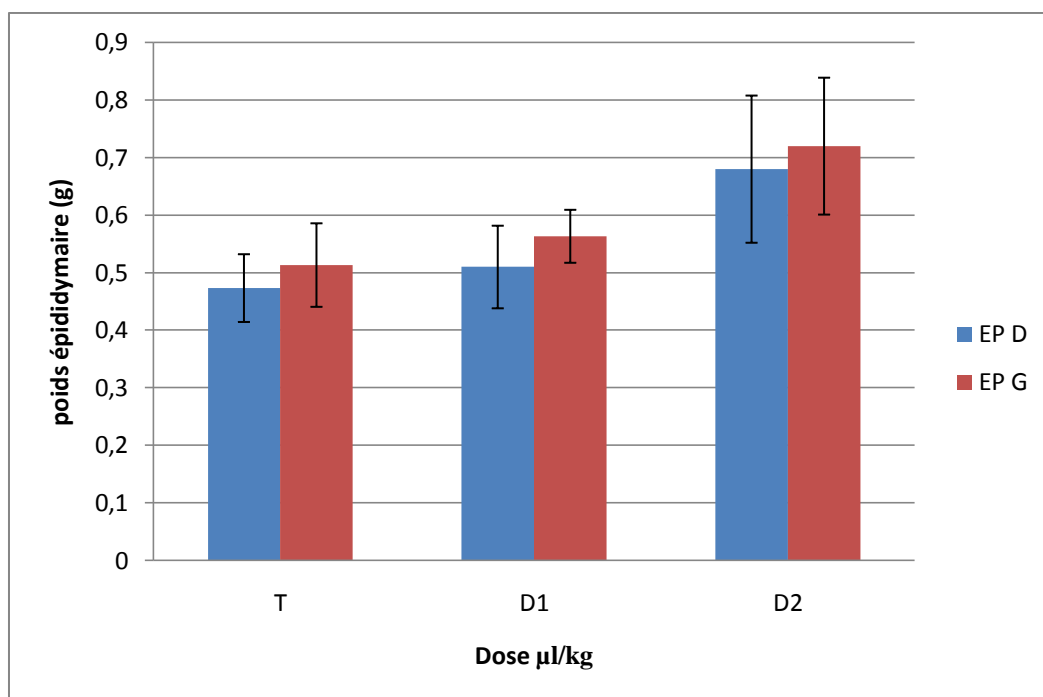


Figure 32 : Représentation graphique de l'évolution du poids des épидидymes gauches et droits des lapins âgés de 3 mois

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

Le poids de l'épididyme gauche et droit des lapins âgés de 3 mois traités par l'HE de la menthe poivrée à la dose 1 et dose 2 est plus élevé par rapport aux témoins. En effet les valeurs moyennes du poids épидидymaires gauches et droits est de 0.47 ± 0.0588 g vs 0.51 ± 0.072 g des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 0.51 ± 0.071 vs 0.563 ± 0.046 chez les lapins traités à la première dose (D1) et elle est de 0.68 ± 0.127 vs 0.72 ± 0.118 chez ceux traités à la deuxième dose (D2). Néanmoins les valeurs moyennes du poids de l'épididyme droit sont plus élevées que celles de l'épididyme gauche.

3.2. Evolution du poids total de l'épididyme des lapins âgés de 1 et 3 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 33.

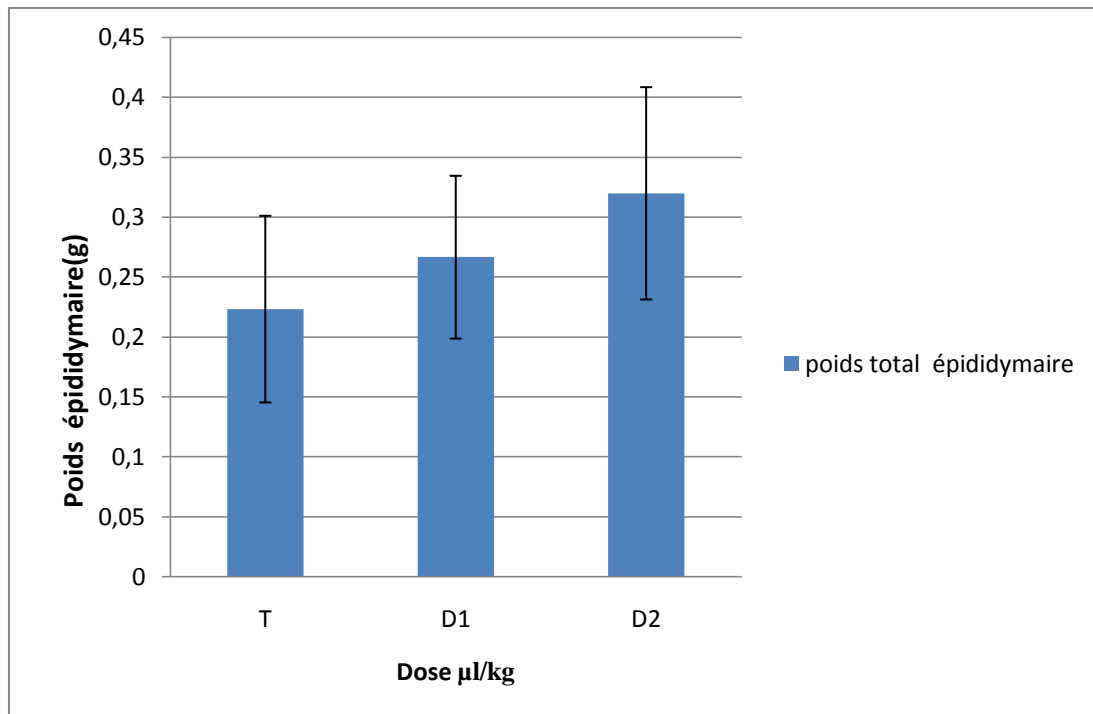


Figure 33 : Représentation graphique sur le poids total de l'épididyme des lapins âgés de 1 mois

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

La valeur moyenne du poids total de l'épididyme est élevée chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) par rapport aux témoins, où la valeur est de $0,223 \pm 0,077$ g des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de $0,267 \pm 0,067$ g chez les lapins traités à la dose1(D1) et elle est de $0,23 \pm 0,088$ g chez ceux traités à la deuxième dose(D2).

La figure 34 représente le poids total de l'épididyme pour les lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée.

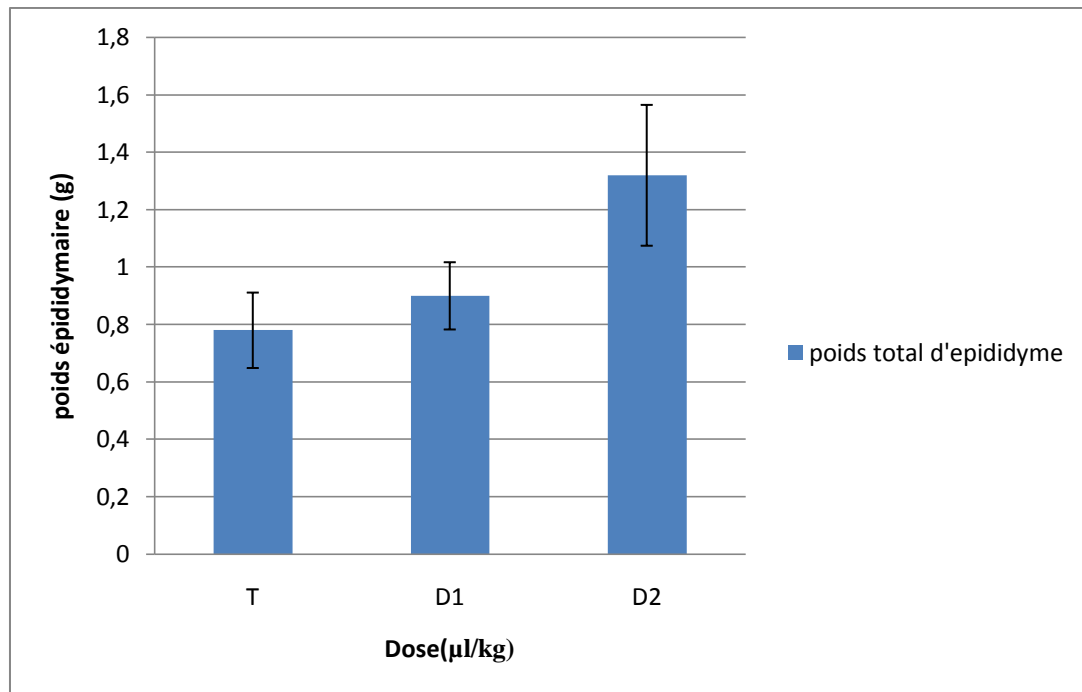


Figure 34 : Représentation graphique sur le poids total de l'épididyme

des lapins âgés de 3 mois

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

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

3.3. Evolution des poids relatifs épididymaires âgés de 1 et 3 mois

La figure 35 représente les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épididymes des lapins âgés de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle de la menthe poivrée administrée.

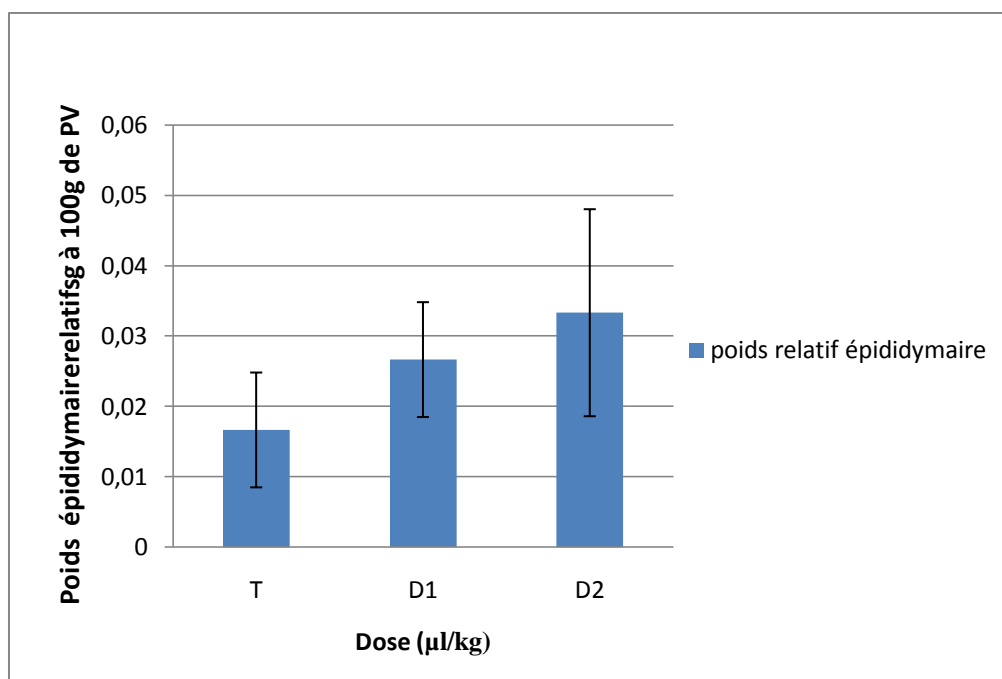


Figure 35 : Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins âgés de 1 mois

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes présente une élévation chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) de l'huile essentielle de la menthe poivrée par rapport au témoin. En effet la valeur est de 0.017 ± 0.008 g des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 0.027 ± 0.008 g chez les lapins traités à la première dose (D1) et elle est de 0.033 ± 0.014 g chez ceux traités à la deuxième dose (D2).

La figure 36 représente les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins âgés de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle de la menthe poivrée administrée.

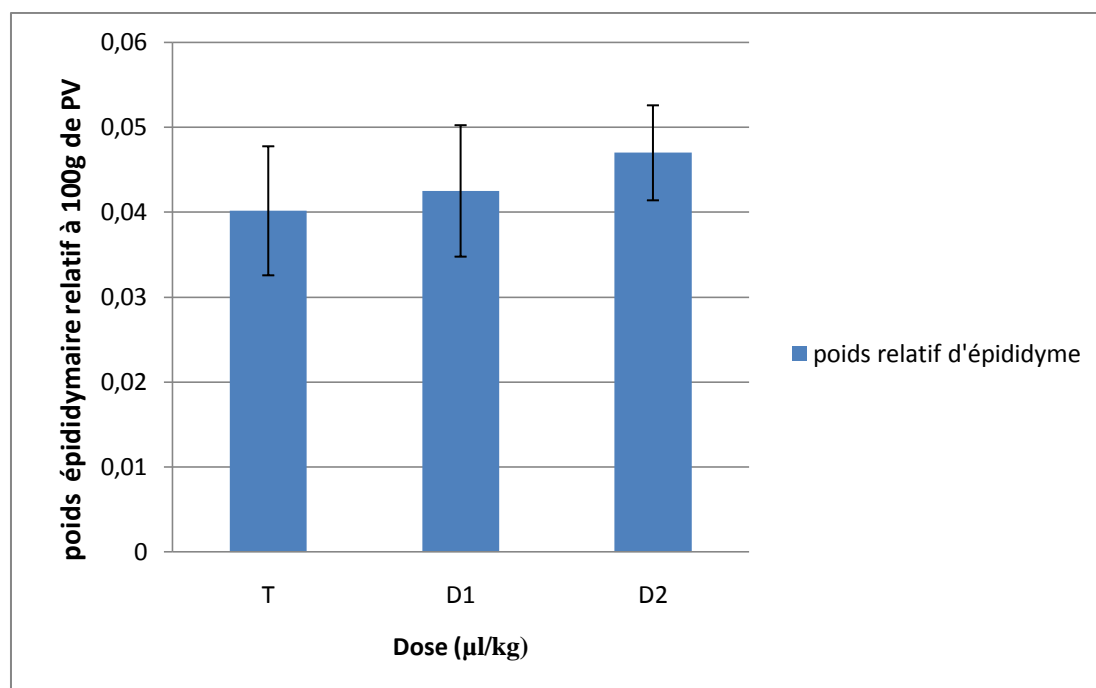


Figure 36 : Représentation graphique du poids relatif de l'épididyme des lapins âgés de 3 mois

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

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes présente une élévation chez les lapins traités à la première et la deuxième dose (D1 et D2) de l'huile essentielle de la menthe poivrée par rapport au témoin. En effet la valeur moyenne chez les lapins de lot témoin (T) est de 0.04 ± 0.007 g alors qu'elle est de 0.04 ± 0.007 g chez les lapins de la première dose (D1) et elle est de 0.04 ± 0.005 g chez ceux traités à la deuxième dose (D2).

3.4. Evolution du volume épидидymaire des lapins âgés de 3 mois

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

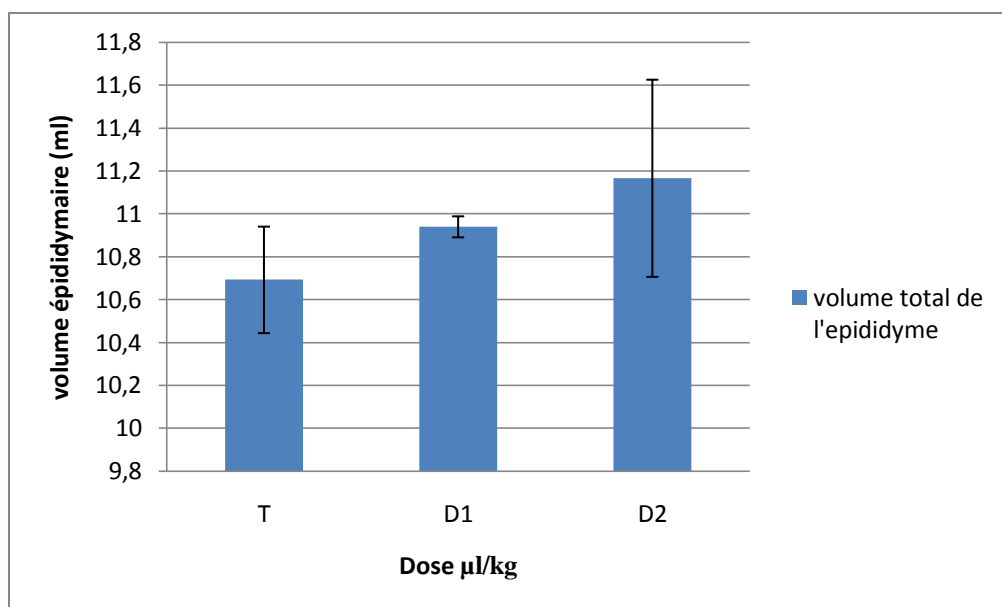


Figure 37: Représentation graphique du volume de l'épididyme des lapins âgés de 3 mois

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

Le volume des épididymes (Figure 37) chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée est plus élevé par rapport aux témoins. En effet la valeur de volume total des épididymes est de 10.69 ± 0.248 ml des lapins de lot témoin (T) alors qu'elle est de 10.94 ± 0.048 ml chez les lapins traités à la première dose (D1) et elle est de 11.16 ± 0.460 ml pour ceux traités à la dose (D2)

4. Etude histologique des testicules des lapins âgés de 1 et 3 mois

À la naissance, l'animal dispose d'un stock de cellules souches peu élaborées appelées spermatogonies. Le cycle spermatogénique représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires aboutissant à la formation des spermatozoïdes (Boussit, 1989).

La structure histologique des testicules révèle une grande variabilité entre les lapins de lot témoin et les lapins des lots traités par l'HE de la menthe poivrée à la dose 1 ($100 \mu\text{l/kg}$) et à la dose 2 ($200 \mu\text{l/kg}$).

4.1. Histologie du testicule des lapins âgés de 1 mois

Des structures histologiques des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observées au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 1 mois sont représentées dans la planche 1.

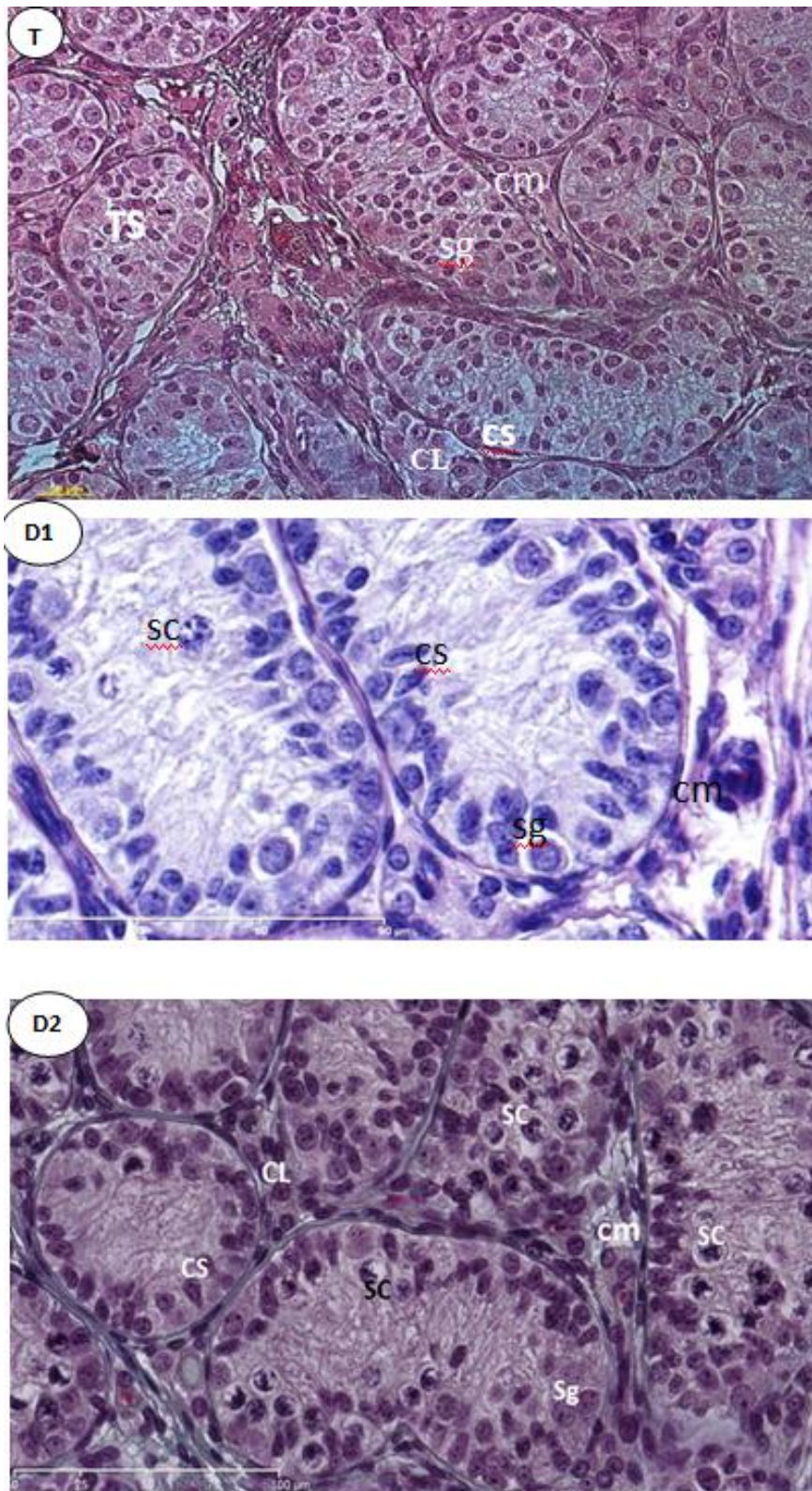


Planche 1: Coupes histologiques des testicules des lapins de âgés de 1mois pour lot T, D1 et D2

Sg : spermatogonie ; **cs** : cellule de Sertoli ; **sc** : spermatocytes ; **cm** : cellule myoïde ; **C**: cellule de Leydig ; **T** :
Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2

Les structures testiculaires des lapins âgés de 1 mois révèlent, au fort grossissement, des tubes séminifères dépourvus d'une lumière et formés d'un épithélium séminifère constitué de deux types cellulaires: les cellules germinales (spermatogonies) et cellules de Sertoli. Les spermatogonies de petite taille, à noyaux arrondis et une chromatine condensée sont distribuées sur toute la section du tube, au centre et/ou à la périphérie.

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

La structure histologique des testicules des lapins traités à la dose 1 (100µl/kg), révèle, l'apparition en plus des spermatogonies, des premiers spermatoctes dans certains tubes séminifères entourés des cellules de Sertoli, et un tissu interstitiel formé des cellules de Leydig et myoïdes (Planche 1 D1).

Alors que la structure histologique des lapins traités par la dose 2 (200ul/kg) montre la présence dans tous les tubes séminifères des spermatoctes I dans l'épithélium séminifères et la présence des cellules de Leydig et myoïdes dans le tissu interstitiel (Planche1 D2).

4.2.Étude histologique des testicules des lapins âgés de 3 mois

Les structures histologiques des testicules des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observé au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 3 mois sont représentées dans la planche 2.

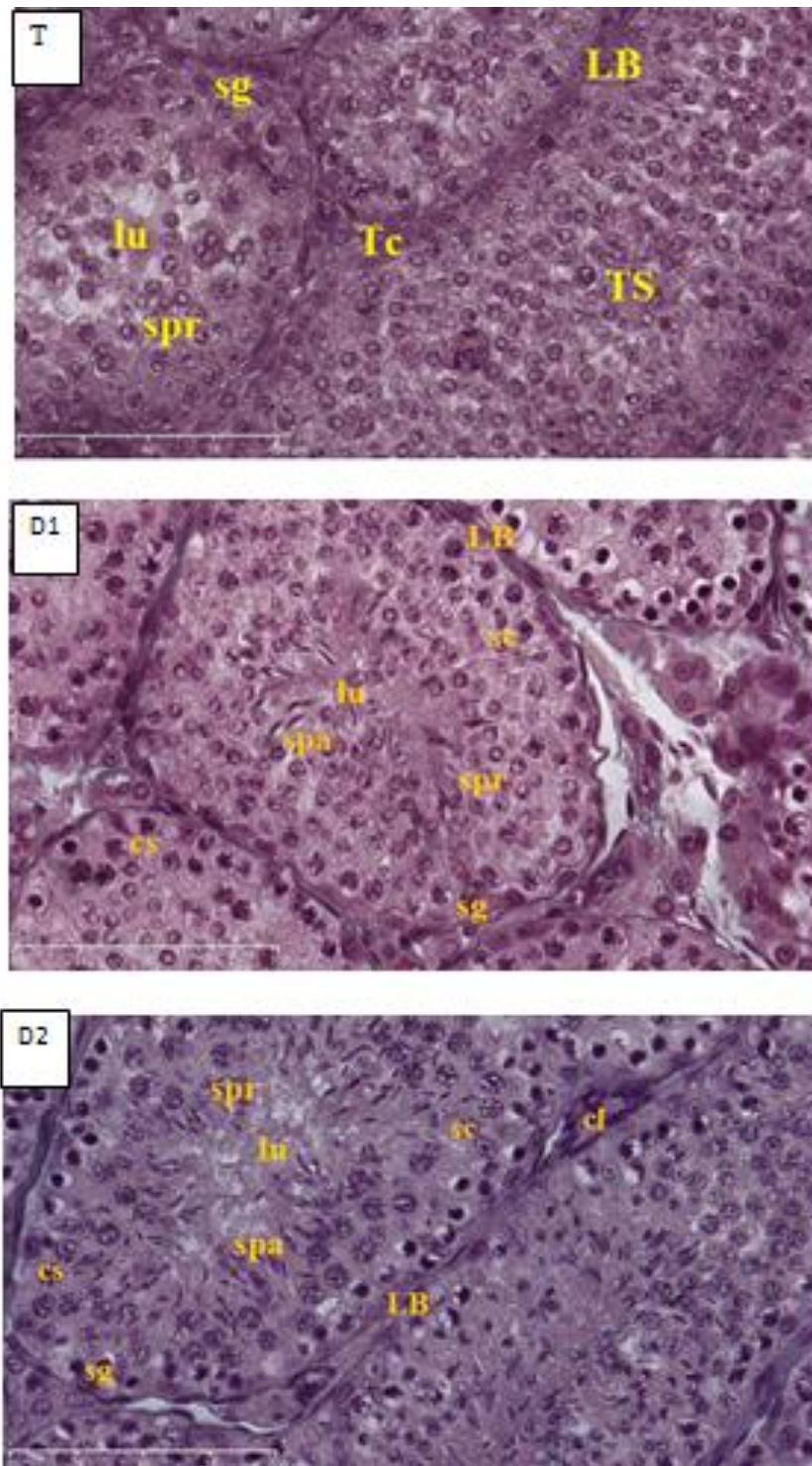


Planche 2: Coupes histologiques des testicules des lapins âgés de 3 mois pour lot T, D1 et D2 (coloration : Trichrome de Masson)

Sg : spermatogonie ; **cs** : cellule de Sertoli ; **sc** : spermatocytes ; **C**: cellule de Leydig ; **lu** : lumière séminale ; **spr** :spermatide rond ; **spa** : spermatide allongé ; lame basale ; **T** :Témoin ; **D1** :Dose 1 ; **D2** :Dose 2

Les structures testiculaires des lapins témoin âgés de 3 mois, au fort grossissement, montrent des tubes séminifères de diamètre variable, avec une paroi formée d'un épithélium comprenant des cellules de la lignée germinale: spermatogonies à noyaux ronds et condensés, spermatocytes I à noyaux volumineux et à chromatine décondensée très colorée sous forme d'amas grossiers et des cellules de Sertoli à noyau triangulaire déposée sur une lame basale avec apparition des premiers spermatides ronds . Ces tubes sont entourés par un tissu conjonctif vascularisé, riche en cellules péri-tubulaires à noyaux aplatis et de cellules de Leydig à noyaux arrondis (Planche 2 T).

Les tubes séminifères des lapins traités à la dose 1(100µl/kg) apparaissent plus développés que ceux de témoins avec beaucoup de spermatides ronds et l'apparition de premières spermatides allongées, entourés par un tissu interstitiel où se baignent les cellules de Leydig ainsi que des cellules péri-tubulaires (Planche 2 D1).

Tandis que les structures testiculaires des lapins traités à la dose 2(200µl/kg) révèlent des tubes de même structure que les tubes séminifères des lapins traités à la dose 1 avec une abondance en quantité des spermatides allongés avec apparition de quelques spermatozoïdes (Planche 2 D2).

5. Etudes histologique de l'épididyme des lapins âgés de 1mois et 3 mois

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

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

5.1. Histologie de l'épididyme des lapins âgés de 1mois

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

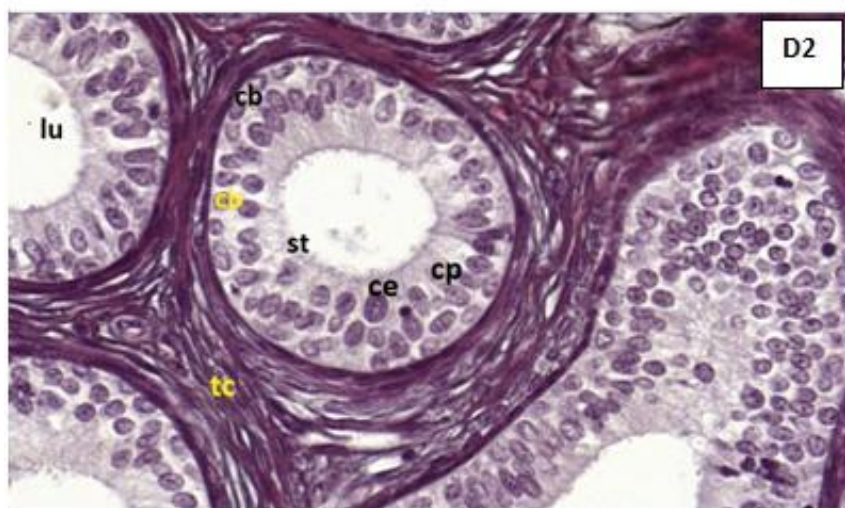
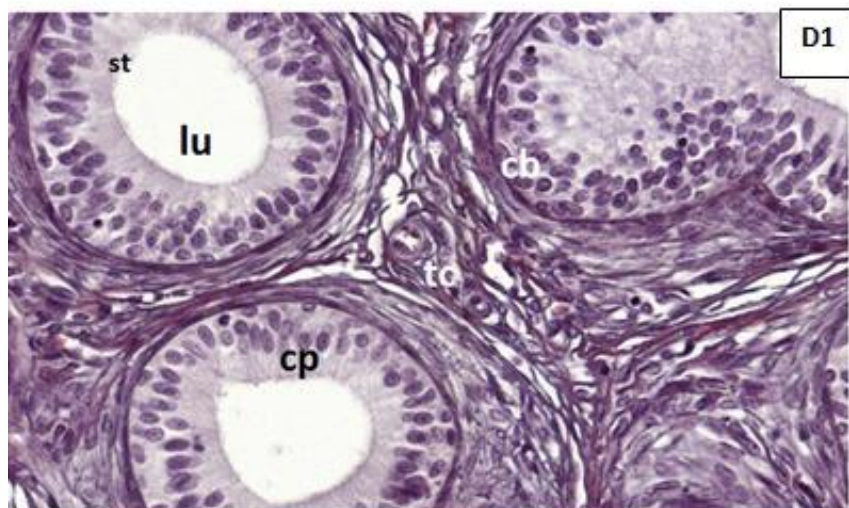
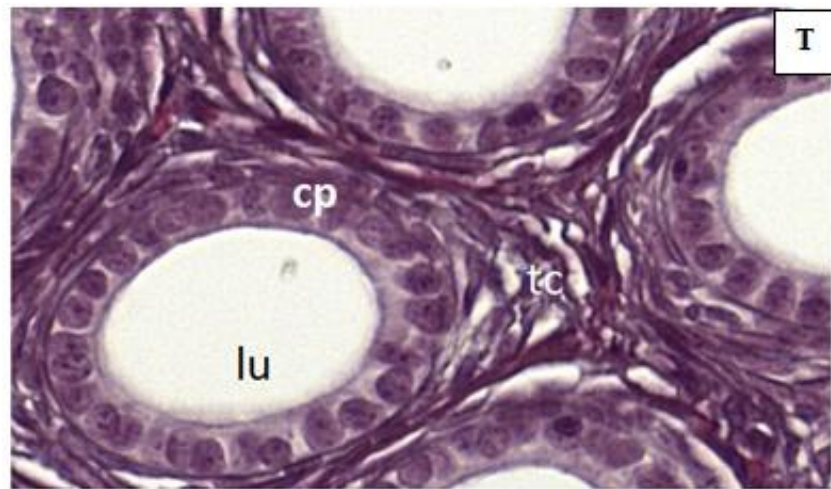


Planche 3: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 1 mois des lots T, D1 et D2

lu : lumière ; **tc** : tissu conjonctif ; **Cb** : cellule basale ; **cp** : Cellules principales ; **ce** : cellule étroite **st**:
stéréocils **T** : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2

Pour les lapins du lot témoin, la structure de l'épididyme présente des tubes maintenus entre elles par du tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives éparpillées, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins. Au niveau de l'épithélium, dans la plupart des tubes nous avons un épithélium cubique simple constitué exclusivement de cellules principales (Planche 3 T).

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 1 (100 µl/kg) montre, au fort grossissement, un tissu conjonctif intertubulaire qui contient des fibres conjonctives qui apparaissent mieux organisés, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins.

Tandis que l'épithélium, est prismatique, alors qu'il été cubique pour les lapins de témoins. Il est constitué de cellules principales occupant presque la totalité de l'épithélium. À la base de ces cellules, se trouvent des cellules basales réparties de façon discontinue le long de la lame basale pour certains tubes. La lumière du tube apparaît vide et dépourvu des spermatozoïdes dans la quel des stéréocils courtes localisé au niveau apical des cellules principales, sont observé (Planche 3 D1).

Pour les lapins traités par la dose 2 (200µl/kg) la structure histologique de l'épididyme présente des variations par rapport aux lapins de lot témoin et lot dose1 (Planche 3 D2). Cependant au niveau de la structure épithéliale, L'épithélium est prismatique alors qu'il été cubique pour les lapins du lot témoins. Il est constitué de cellules principales occupant presque la totalité de l'épithélium et des cellules basales qui apparaissent en abondance par rapport à ceux du lot D1 ainsi la présence des cellules étroites et beaucoup des stéréocils et l'épithélium présente une hauteur plus grande, ce qui fait que la lumière des tubes est plus réduit par rapport à ceux du lot témoin.

5.2. Etude histologique de l'épididyme des lapins âgés de 3 mois

Les structures histologiques de l'épididyme des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observées au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 3 mois sont représentées dans la planche 4.

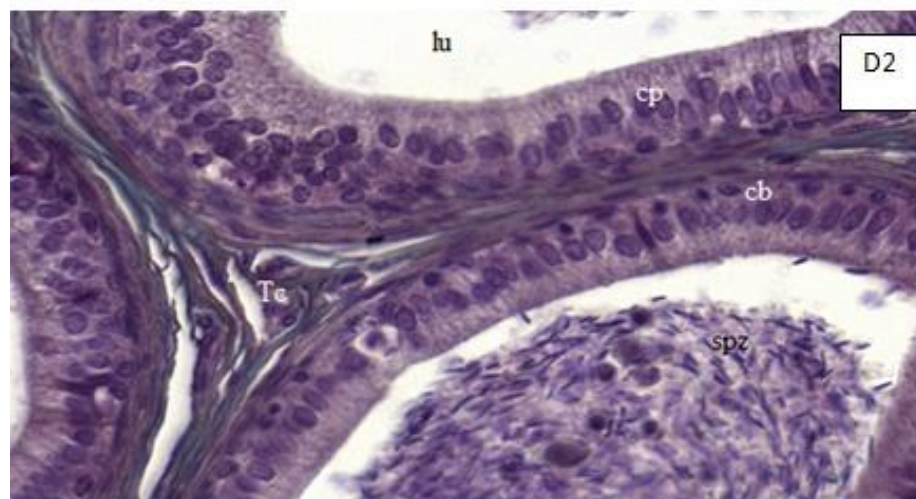
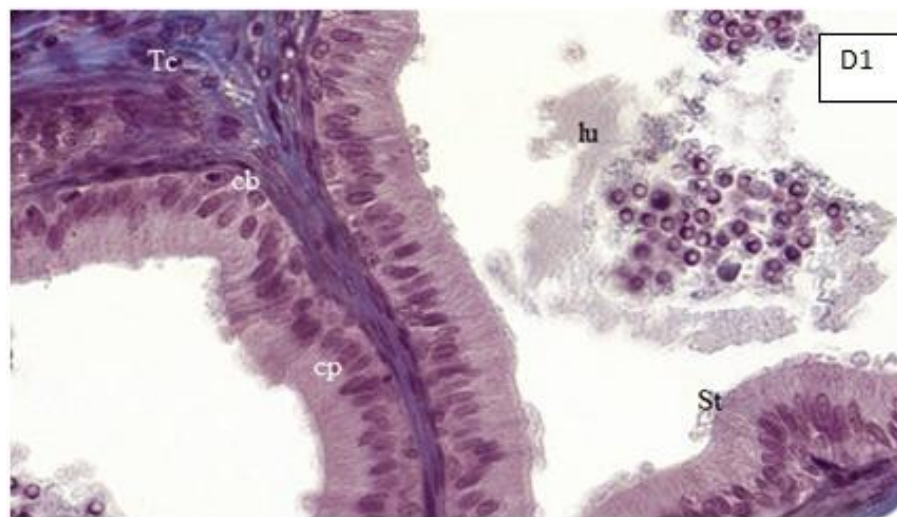
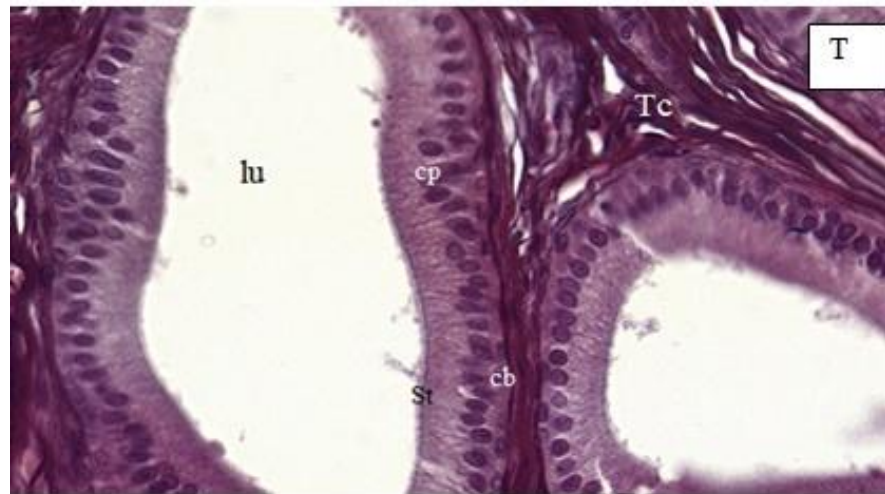


Planche 4: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 3 mois de lot T, D1 et D2

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

Chez les lapins du lot témoin âgés de 3 mois, au fort grossissement, le tube épидидymaire apparaît bordé par une fine paroi musculaire à laquelle adhère une couche d'épithélium prismatique constitué de deux catégories cellulaires (cellules principales et cellules basales) où ces différentes cellules ont une hauteur plus grandes et riches en stéréocils qui reposent sur une lame basale fine. Le tube épидидymaire présente également une lumière large et vide dépourvue de spermatozoïdes avec un début des sécrétions épидидymaire, un tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives, des faisceaux de collagène, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins (Planche 4 T).

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 1 (100 µl/kg) montre, un épithélium Prismatique pseudostratifié alors qu'il est cubique chez les lapins du lot témoin, et l'épithélium contient des cellules principales et basales, des stéréocils visible avec des sécrétions qui se concentre à la lumière des tubes sans aucune présence des spermatozoïdes. Le tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives mieux organisées, de cellules musculaires, de fibroblastes, faisceaux de collagène et de vaisseaux sanguins (Planche 4 D1).

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 2 (200 µl/kg) montre, au fort grossissement, la même structure que celle des lapins du lot dose 1, néanmoins avec apparition de quelques spermatozoïdes qui se concentre au niveau de la lumière épидидymaire (Planche 4 D2).

Chapitre V

Discussion

2.1. Poids corporel

Le poids corporel des lapins au sevrage (âgés de 1 mois) et au prépubère (âgés de 3 mois) est plus élevés respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée par la dose 1 (100µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 2 (200µl/kg) par rapport au lot témoin.

Nos résultats sur le poids corporel moyen des lapins âgés de 1 mois et de 3 mois qui s'augmentent selon la dose administrée (100µl/kg et 200µl/kg) de l'huile essentielle de la menthe poivrée sont contradictoire avec l'étude réalisée par Eitimad (2017), sur l'effet de l'extrait aqueux de la menthe (*crispa et piperita*) sur le poids corporel des rats sauvages (*Rattus Norvegicus*) qui diminue à la dose de 50mg/kg.

Selon Piles *et al.* (2003), la croissance pondérale d'un animal est un caractère extrêmement variable en fonction des facteurs génétiques, alimentaire et/ou environnementaux.

Après la naissance la régulation de la croissance pondérale chez le lapin n'atteint la pleine efficacité qu'au bout de 100 jours (Vézinhet, 1968).

La croissance pondérale d'un animal résulte d'un développement en poids de chacun des éléments constitutifs de son corps (Micol *et al.*, 1993).

2.2. Evolution des poids et volume testiculaires et épидидymaire des lapins

Le poids et le volume testiculaire et épидидymaire des lapins au sevrage (âgés de 1 mois) et au prépubère (âgés de 3 mois) est plus élevés respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée par la dose 2 (200µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 1 (100µl/kg) par rapport au lot témoin.

Les variables macroscopiques des testicules et épидидymes comme le poids, le volume ou la circonférence scrotale ont été considérées comme des marqueurs de la maturité sexuelle chez divers mammifères (Schinckel *et al.*, 1983; Salhab *et al.*, 2001; Mandal *et al.*, 2004).

Nos résultats sur le développement du poids des testicules et épидидymes des lapins âgés de 1 mois et 3 mois sous l'effet de l'huile essentielle de la menthe poivrée à deux doses différentes (100 µl/kg et 200 µl/kg), corroborent avec ceux obtenus par Haeri *et al.* (2006)

sur l'effet de différentes huiles essentielles sur la fertilité des rats mâles comme l'huile essentielle de la sarriette (*Satureja khuzestanica*), cette huile essentielle a été administrée par voie orale à des doses de 75, 150 et 225 mg / kg / jour pendant 45 jours. Les rats traités et contrôlés ont été accouplés au 45^{ème} jour du traitement. Ces auteurs ont constaté une amélioration considérable de tous les paramètres évalués tels que la puissance, la fécondité, l'indice de fertilité et la taille de la litière.

En outre, les concentrations élevées de FSH qui ont été enregistrées dans le groupe traité par l'huile essentielle de la sarriette induit l'activation des cellules de Sertoli qui produisent des facteurs exerçant des effets activateurs sur la prolifération des spermatogonies (IL-1, EGF, IGF-1) et active la stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig (IGF-1). L'activation de la cellule de Leydig induit la synthèse et la sécrétion de la testostérone qui contribue à la persistance d'une activité spermatogénétique. De même, le poids des testicules, des vésicules séminales et de la prostate a été augmenté (225 mg / kg).

L'augmentation du poids testiculaire serait due probablement à une prolifération cellulaire au niveau des tubes séminifères suite à une augmentation importante de la testostérone plasmatique (Garcia-Tomas *et al.*, 2007).

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

D'autres études ont été faites sur les effets modulateurs de la consommation journalière d'huile de *Nigella Sativa* à une dose de 0,4 ml sur la fertilité des rats mâles adultes à travers les mesures du poids des organes reproducteurs (testicules et épидидymes), les critères du sperme, la concentration plasmatique de testostérone, la FSH, la LH et inhibine β . Ces différents paramètres ne présentent aucune différence significative en comparaison avec le groupe témoin (Sherif *et al.*, 2013).

En outre l'administration d'un extrait aqueux de *Nigella sativa*, pendant 60 jours à une dose de 300 mg/kg chez des rats induit des effets chez ces derniers : augmentation du poids des organes reproducteurs et stimulation de différents paramètres (densité du sperme, activité sécrétrice des vésicules séminales et de la prostate, temps d'excitation) et ceci

s'expliquerait par une augmentation des hormones responsables de la spermatogénèse, la LH, la FSH et la testostérone (Mukhallad *et al.*, 2009).

Néanmoins notre étude qui a porté sur l'effet positif de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la fertilité des lapins est contradictoire avec d'autres études qui ont été menés sur l'évaluation des effets toxique de l'huile essentielle de la Menthe verte sur la fertilité des rats mâles.

Cependant une étude a été réalisée par Fatemeh *et al.* (2004) sur l'évaluation des effets toxique possible de l'extrait de la menthe verte (*Mentha Spicata*). Sur la fertilité des rats mâles adulte à des doses de 10 ,20 et 40 mg /Kg pendant 45 jours, ont conclu que le traitement des rats mâles avec les doses mentionnées n'a montré aucun effet toxique significatif sur le poids corporelles, le poids des organes reproducteurs (testicule, épидидyme, prostate et vésicule séminale), le nombre et la motilité de spermatozoïdes et la concentration sérique de testostérone par rapport au groupe témoin, et constatent que des niveaux plus élevés de cet extrait peuvent avoir des effets néfaste sur la fertilité masculine.

En effet une étude similaire a montré que les rats qui ont été traités par l'extrait de la menthe verte «*mentha spicata*». A la dose de 20 g/l pendant 35 jours à provoquer une diminution significative du poids des testicules, épидидymes, vésicule séminale et de la prostate tandis que à la dose de 40g/l de la menthe verte pendant 25jours, a causé une diminution significative de la LH sérique, FSH, la testostérone et la concentration des spermatozoïdes au niveaux de l'épididyme (Kumar *et al.*, 2008).

3. Histologie testiculaire et épидидymaire

La structure histologique des testicules et des épидидymes des lapins au sevrage (âgés de 1 mois) et au prépubère (âgés de 3 mois) présente des variabilités microscopiques chez les lapins traités par la menthe poivrée, tel que l'apparition des spermatocytes I chez les lapins âgés de 1 mois, des spermatozoïdes chez les lapins âgés de 3 mois. Ainsi que la présence d'un épithélium prismatique pseudo stratifié, pour les lapins âgés de 1 mois, des sécrétions dans la lumière de l'épididyme ainsi des spermatozoïdes pour les lapins âgés de 3 mois au niveau épидидymaires

Les variables microscopiques comme l'apparition de spermatides allongées et de spermatozoïdes dans les tubes séminifères, le diamètre, le nombre et la taille des cellules

interstitielles et germinales ont été utilisées comme indicateurs de maturité sexuelle (Schinckel *et al.*, 1983 ; Tegegne *et al.*, 1991).

Les résultats de la présente étude a montré que la structure histologique des testicules des lapins traités par l'huile essentielle « menthe poivrée ». Révèlent à la dose de 100 µl /kg (D1), l'apparition des premiers spermatocytes (cellules arrondies volumineuses au noyau souvent en méiose) dans certains tubes séminifères pour les lapins âgés de 1 mois , et l'apparition des premiers spermatides allongées pour les lapins de 3mois d'âges par rapport au groupe témoins, tandis que la dose de 200 µl /kg a entraîné l'apparition des spermatocytes et la mise en place de la lumière dans tous les tubes séminifères pour les lapins âgés de 1mois . A l'âge pré pubère (3mois) la structure histologique a révélé la richesse des tubes séminifères en spermatides allongées (cellule de petite taille à noyau rond et clair) avec la présence de quelques spermatozoïdes par rapport au groupe témoin.

Selon Haeri *et al.* (2006), qui ont travaillé sur l'effet de l'huile essentielle de la sarriette (SKEO) sur la fertilité des rats mâles à des doses de 150, 225 mg /kg ont constaté que il y a une augmentation du nombre des spermatogonies, des spermatides, des cellules de Leydig et les spermatozoïdes ainsi une hypertrophie des cellules de Sertoli, accompagné de l'augmentation des hormones la FSH et la testostérone.

Ainsi une autre étude sur l'effet de l'extrait aqueux de nigella sativa sur la fertilité des rats mâles albinos a une dose de 300mg /kg qui a entraîné des effets similaire à celle de SKOE et une augmentation du nombre des spermatocytes I et II et l'augmentation du nombre des cellules de Leydig ce qui reflète l'augmentation des taux d'androgènes (Mukhallad *et al.*, 2009).

En effet l'action combinée de la FSH et de la testostérone induite par la LH assure le bon déroulement de la spermatogenèse (Kerr, 1991). La LH stimule les cellules de Leydig afin de sécréter les androgènes en particulier la testostérone tandis que la FSH stimule les cellules de Sertoli pour sécréter l'ABP. La testostérone et l'ABP s'unissent dans les tubes séminifères pour stimuler le développement et la différenciation des cellules germinales (El-Gaafary, 1994; Yaseer *et al.*, 2012).

L'activation des cellules de Sertoli par la FSH, qui sont des cellules reconnaissables grâce à leurs noyaux de formes irrégulières (forme conique, pyramidale, ou triangulaire),

émettent des expansions qui se prolongent jusqu'au centre du tube séminifère et induit à la synthèse de nombreux facteurs tels que; le facteur mitogène (SGF), stimulant la mitose des spermatogonies et l'IGF-1 qui simule la maturation des spermatocytes (Rey *et al.*, 1993).

Alors que nos résultats sont contradictoire à d'autres études qui ont été menées sur l'effet de la menthe verte à une dose de 30 et 40g/l à des rats albinos mâles sur le stress oxydative hypothalamique et testiculaire, le traitement a entraîné une diminution de la synthèse de LH et de FSH qui à son tour régulait négativement la production de la testostérone testiculaire par la perturbation d'un certain nombre de cascades intermédiaires. En effet le traitement a diminué le taux des enzymes impliquées dans la biosynthèse des stéroïdes la 3b-HSD et 17b-HSD. Suggérant que la menthe verte a induit un stress oxydatif au niveau hypothalamique ce qui a entraîné la diminution de la production des gonatrophines (LH et FSH) en raison de la réduction de la production et de libération des gonadoliberine (GnRH) de l'hypothalamus, ce qui a entraîné une réduction de la cascade d'événements suivants : synthèse du cholestérol, transport des esters de cholestérol dans les tissus stéroïdogènes et leur conversion en cholestérol (Kumar *et al.*, 2008).

D'après Bunsawat *et al.* (2004), les principaux composant actifs de l'huile essentielle de la menthe est le menthol, la menthone et l'acétate de menthyle et selon Da saliva-santos *et al.*, (2005), parmi les huiles essentielles potentiellement toxique, l'huile essentielle de la menthe dont le composé toxique est le menthol.

Les variables microscopiques comme l'apparition des spermatozoïdes dans les tubes épидидymaires, le diamètre du tube épидидymaire, la nature de son épithélium ou encore la taille de ses cellules sont utilisées comme indicateurs de la maturité sexuelle. Ces paramètres concordent modérément avec les variables macroscopiques en donnant une information supplémentaire quant à la maturité fonctionnelle des épидидymes (Schinckel *et al.*, 1983; Chemes, 2001).

Selon Leeson et Leeson (1976), l'effet de l'huile essentiel accélère la spermatogenèse et ce qui provoque l'apparition précoce des spermatozoïdes dans la lumière épидидymaire et une différenciation des extrémités de l'épididyme, et observent des spermatozoïdes dans la tête et le corps de l'épididyme à 16 semaines d'âge chez le lapin.

Nos résultats corroborent avec ceux de Mukhallad *et al.* (2009), sur l'effet des grains de nigelle sur la spermatogenèse et la fertilité des rats mâles albinos qui selon, l'extrait aqueux de *nigella sativa* à 300mg/kg administrée par voie orale a entraîné l'augmentation significative de la hauteur des cellules épithéliales et de la fonction sécrétoires au niveau de la tête et la queue de l'épididyme chez les groupes traités par rapport aux groupes témoins. Ils constatent que le processus de la spermatogenèse et la fonction des organes reproducteurs accessoires dépendent de l'élévation de la concentration des androgènes.

Cependant l'augmentation des androgènes est confirmé par l'augmentation du nombre de spermatozoïdes (I et II) et des spermatozoïdes observés chez les groupes traités, car ces stades sont complètement dépendants des androgènes (Dym *et al.*, 1979). Une augmentation significative de la motilité des spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme a été observée dans le groupe traité. Cela peut être dû aux effets de l'activité de *Nigella sativa* sur les enzymes de la phosphorylation oxydative (Azzarito *et al.*, 1996).

En effet selon Viger et Robaire (1996), la régulation des fonctions de l'épithélium et de la lumière de l'épididyme est sous le contrôle des androgènes les plus particulièrement 5 α -dihydrotestostérone (DHT) et 5 α -androstane-3 α , 17 β -ol (3 α -diol), issus de la conversion de la testostérone, sont considérés comme les modulateurs principaux de différentes fonctions de l'épididyme. Et selon Fan et Robaire (1998), la testostérone a une action directe dans le maintien de la morphologie des cellules principales épидидymaires et dans l'inhibition de l'apoptose.



CONCLUSION

Au terme de notre étude sur les effets de l'huile essentielle de la menthe poivrée à deux doses différentes (100µl/kg et 200 µl/kg), il en ressort que le poids corporel, le poids et le volume testiculaire ainsi que celui de l'épididyme chez les lapins âgés de 1 et 3mois (sevrage et pré pubère) sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par la dose 2 (200 µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 1 (100 µl/kg) par rapport au lot témoin.

Sur le plan histologique, l'huile essentielle de la menthe poivrée a induit aux niveaux testiculaires l'apparition des spermatocytes 1 dans les tubes séminifères pour les lapins âgés de 1mois, ainsi l'apparition de premières spermatides allongées et des spermatozoïdes chez les lapins âgés de 3mois par rapport aux structures testiculaires des lapins du lot témoin.

Alors que pour les structures épидидymaires des lapins âgés de 1 mois traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée montrent la présence d'un épithélium prismatic pseudo stratifié, et pour les lapins âgés de 3 mois la structure révèle la présence des sécrétions dans la lumière de l'épididyme ainsi quelques spermatozoïdes.

De ce fait il semblerait que l'huile essentielle de la menthe poivrée aux doses utilisées aurait un effet positif sur le développement des gonades, la spermatogenèse et la fertilité des lapins mâles au sevrages et pré pubère.

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

- Etudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus ;
- Réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus élevées sur un effectif plus grand ;
- Renforcer cette étude par une étude histomorphométrique afin d'étudier les effets de la menthe poivrée sur des paramètres microscopiques (le diamètre des tubes séminifères, la hauteur des cellules épithéliales);
- Suivre cette expérimentation sur l'évaluation des cellules germinales, sur la qualité nucléaire et les mouvements des spermatozoïdes ;
- Etudier l'impact de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la fertilité féminine.



Références

Bibliographiques

A

- **Abadlia M. et Chebbour A. H. (2014).** Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire Master : Métabolisme secondaire. Département de biologie et écologie végétale : Université Constantine 1, 90p

- **Abou-Haila A., et Fain-Maurel M.A. (1984).** Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: *morphological and histochemical characterization*. *Anat. Rec.* 209: pp: 197-208.

- **Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Gravel R.A., Trasler J.M., et Hermo L. (1999).** Characterization and development of the regional- and cellular-specific abnormalities in the epididymis of mice with beta-hexosaminidase a deficiency. *J. Androl.* 20: pp: 803-824.

- **Aitken R.J., Nixon B., Lin M., Koppers A.J., Lee YH. et Baker MA. (2007)** Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation. *Asian J Androl* 9 pp: 554-564.

- **Aitken R.J., Ryan AL., Baker MA. et McLaughlin EA. (2004).** Redox activity associated with the maturation and capacitation of mammalian spermatozoa. *Free Radic Biol Med* 36, pp: 994-1010.

- **Allrich R. D., Christenson R. K., Ford J.J. et Zimmerman D. R. (1983).** Pubertal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and in vitro production of testosterone and estradiol-17 beta. *Biology of Reproduction*. Vol. 28. (4), 902-909.

- **Alvariño J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In: *Proc. 7th World Rabbit Congresses*. Valencia Jul., 2000, vol. 8. (1), 13-35.

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

Références Bibliographiques

- **Amann R.P. et Lambiase J.T. (1967).** The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm out up between puberty and one year of age. *J. Herod. Fert.*14: pp: 329-332.
- **Amann R.P. (1993).** Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, VOSS JL (eds), *Equine Reproduction*, 1ed., Lea et Febiger eds, Philadelphia, pp. 1137-1154 5
- **Amann RP. (2011).** Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (eds), *Equine Reproduction*, 2ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell, pp. 881-908
- **Anderson RA. et Sharpe RM.(2000).** Regulation of inhibin production in the human male and its clinical application. *International Journal of Andrology* .23: 136 -144.
- **Azzarito C., Boiardi L., Vergoni W., Zini M., Portioli I. (1996).** Testicular function in hypercholesteromic male patients during prolonged simvastatine treatment. *Horm. Metab. Res.*, 28 pp: 193-198.

B

- **Badran. H. H. et Hermo L. (2002).** Expresion and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *Journal of andrology*, vol.23, pp: 358-373.
- **Bailleul J.P. et Mauroy B. (1991).** Anatomie des testicules et voies spermatiques et des bourses, éditions techniques EMC (Paris-France), Néphrologie-Urologie, 18600 A10, 14p.
- **Baker MA., Hetherington L., Ecroyd H., Roman SD. et Aitken RJ .(2004).** Analysis of the mechanism by which calcium negatively regulates the tyrosine phosphorylation cascade associated with sperm capacitation. *J Cell Sci* **117** 211-222.
- **Barone R. (1978).** Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie 2: Appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale.Paris : Vigot.-896p.

Références Bibliographiques

- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241-516.
- **Bedford JM. (1979).** Evolution of the sperme maturation and sperm storage functions of the epididymis. In:fawcett dw, Bedford JM(éd). The spermatozoa. Baltimore: Urban ET schawarzenberg, pp: 7-21.
- **Boue F., Blais J., Sullivan R. (1996).** Surface localization of P34H an epididymal protein,during maturation, capacitation, and acrosome reaction of human spermatozoa. Biology of reproduction, vol.54,p.1009-1017.
- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion *Lavoisier* TEC et DOC : 240p.
- **Brambell F.W.R. (1944).** The reproduction of the wild rabbit, oryctolagus cuniculus. proc. zool. Soc. lond. 114, 1-114.
- **Bridges NA., Hindmorsh PC., Pringle PJ., Matthews DR. et Brouk CG. (1993).** The relationship between endogenous testosterone and gonadotrophin secretion. (edition oxford) Clin Endocrinol, 38:373-378.
- **Bunsawat J., Elliott NE., Hertweck KL., Sproles E., Alice LA. (2004).** Phylogenetics of Mentha (Lamiaceae): Evidence from Chloroplast DNA Sequences. Systematic Botany. 29(4):959-64.

C

- **Chemes H.E. (2001).** Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int. J. Andrology*. 24: 2-7.
- **Cheverel MI. et Cormier M. (1948).** effets de la carence en vitamine A sur le système génitale male du lapin. CR acad.sci ,226-1854.

Références Bibliographiques

- **Chou I.P., Chuanl Y I., Chen-Chao. (1974).** Effect of heating on rabbit spermatogenesis Chinese medical journal-vol. 6, pp: 365-375.
- **Christiansen P., Andersson Am., Skakkebaek NE., Juul A. (2002).** Serum inhibin B, FSH,LH and testosterone levels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism.European Journal Endoc 147,95-101.
- **Cooper T.G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. Journal Reproduction and Fertiityl Suppl, vol 53, p. 119-136.
- **Curtis S.K. et Amann R.P. (1981).** Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* **53**: 1645-1657.

D

- **Da Silva-Santos A., Antunes A., D'avila L., Bizzo H., Souza-Santos L. (2005).** The use of essential oils and terpenics/terpenoids in cosméticos. *Perfumer et Flavorist*. PP: 30.
- **Dacheux J.L., Gatti J.L. et Dacheux F. (2003).** Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microsc Res Tech* 61, 7–17.
- **Dacheux J.L., Belleannée C., Jones R., Labas V., Belghazi M., Guyonnet B., Druart X., Gatti J.L. et Dacheux F. (2009).** Mammalian epididymal proteome. *Mol Cell Endocrinol* 306, 45- 50.
- **Dadoune J.P. et Demoulin A. (2001).** Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). *La reproduction chez les mammifères et chez l'homme*. Edition INRA, Paris : 256-289.
- **Dohle GR., Smit M., et Weber RF. (2003).** Androgens and male fertility. *World J Urol* , 21 (5):341-345.

Références Bibliographiques

- **Dym M.R., Raj H.G.M., Lin Y.C., Chemes H.E., Kotitie N.J., Nayfeh S.N., French F.S., (1979).** Is FSH required for maintenance of spermatogenesis in adult rats? *J. Reprod. Fertil.*, vol. 1. (26), 175-181.

E

- **Eitmad H. (2017).** The effects of *Mentha crispera* on the spermatogenesis of wild rats (*Rattus norvegicus*) from Sudan, Vol 2. (1), 16-19.
- **EL kalamouni. (2010).** Caractérisations chimiques d'extraits de plantes, 22-38.
- **El-Gaafary M.N. et Marai F.M. (1994).** Artificial insemination in rabbits. *Options Méditerranéennes. Série A.* pp: 95-107.
- **El-Masry K.A., Nasr A.S. et Kamal T.H. (1994).** Influence of season and dietary supplementation with selenium and vitamin E or zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand white rabbit males. *World Rabbit Sci.* 3: 79-86.
- **El-Sherbiny A.M. (1994).** Some reproductive aspects of male rabbits. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain-Shams University, Cairo, Egypt. Vol 25.(1).pp:103-117.
- **Eurell J.N. et Frappier B.L. (2006).** Dellmann's textbook of veterinary histology. Blackwell Pub, Ames, Iowa.

F

- **Fan X. et Robaire B. (1998).** Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinol.* 139, 2128-2136.
- **Fatemeh N., Samaz H., Khodabakhsh B. et Najem A.Ch. (2014).** Evaluation of possible toxic effects of spearmint (*Mentha spicata*) on the reproductive system, fertility and number of offspring in adult male rats. *Avicenna J Phytomed.* vol. 4. (6), 420-429.
- **Finzi A., Morera P. et Macchioni P. (1994).** Modification of some rabbit spermatogenic parameters in relationship to high ambient temperature. *Reprod. Fertil. Suppl.* 8, 333-336.

Références Bibliographiques

- **Frolich A. (1948).** Some factors affecting semen production in rabbits. primo. congo intern. fisiopat. h.iprod. animal fecond. artif. , milano.

G

- **Gacem M., Zerrouki N., LebasF. (2010).** Comparaison des performances de production d'une souche synthétique de lapin avec deux populations locales disponible en Algérie. 13ème journées de la recherché Cunicole, novembre.France. 17-18
- **García-Tomás M., Sánchez J., Rafel O., Ramon J. et Piles M. (2007).** Développement sexuel post-natal chez le lapin : profils de croissance et de développement du testicule et l'épididyme dans deux lignées. 12èmes Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, France: 49-52.
- **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.
- **Grasse P.P. (1955).** Traité de Zoologie, anatomie, systématique, biologie: mammifères. Les ordres: anatomie, éthologie,systématique Tome 17 fascicule2. Paris : Masson et Cie.- 1170 p.
- **Grasse P. P. (1949).** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.-Paris : Ed. Masson et Cie : 979 p.

H

- **Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M. (2006).** Effect of Satureja khuzestanica essential oil on male rat fertility.Elsevier, Fitoterapia, 77, 495-499.
- **Haider S.G. (2007).** Leydig cell steroidogenesis: unmasking the functional importance of mitochondria. Endocrinology. 148(6): p. 2581-2.

Références Bibliographiques

- **Hammoud GL., Koivisto M. et Vihkor. (1997).** Serum steroids and pituitary hormones in infants with particular reference to testicular activity .Journal Clin Endocrinol Metab 49; 1997: 40-45.
- **Hermo L., Wright J., Oko R. et Morales C.R. (1991).** Rôle of epithelial cells of the male excurrent duct system of the rat in the endocytosis or secretion of sulfated glycoprotein-2(clusterin). Biology of reproduction, vol.44, pp: 1113-1131.
- **Hermo L., Oko R. et Robaire B. (1992).** Epithelial cells of the epididymis show regional variations with respect to the secretion or endocytosis of immobilin as revealed by light and electron microscope immune cytochemistry. The Anatomical record, vol.232, pp: 202-220.
- **Hermo L., Adamali H. I. et Andonian S. (2000).** Immunolocalization of CA II and H⁺ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. J Androl 21,pp: 376-391.
- **Hermo L. et Robaire B. (2002).** Epididymal cell types and their functions; Dans: The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice. Kluwer Academic/Plenum, pp: 81–102.
- **Hinton B.T. et Palladino M.A., (1995).** Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc. Res. Tech.* 30, pp: 67–81.
- **Hiroe K. et Tomizuka T. (1965).** Effets d'un environnement à température élevée sur la production de sperme chez les animaux domestiques. (jap.) - bulletin of the national Institute of animal industry, japan no 9, 27-3s.
- **Ho H. C. et Suarez S. S. (2001).** Hyperactivation of mammalian spermatozoa: function and régulation. *Reproduction* 722, pp: 519-526.
- **Holstein A.F., Schulze W. et Davidoff M. (2003).** Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod Biol Endocrinol*, 1: p. 107.

Références Bibliographiques

I

- **Imbeaud S. (1994).** Molecular genetics of the persistent mullerian duct syndrome: a study of 19 families. *Hum Mol Genet.* 3(1): p. 125-31.
- **Inaba K. (2003).** Molecular architecture of the sperm flagella: molécules for motility and signaling. *Zoolog Sci* 20, 1043-1056.

J

- **Jardin A. et De Fourmestraux N. (1984).** In Mauvais-Jarvis P. médecine de la reproduction masculine. Ed. Flammarion Med. Sci. : 15-23.
- **Johnson M.H. et Everitt B.J. (2002).** Reproduction. Edition De Boeck: 56-150.
- **Joly T. et Theau-clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction. 7ème Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C. 5 Décembre 2000 - Valencia "Ombres et Lumières" pp: 19-24.
- **Jones R., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1979).** Morphology of the epithelium of the extra testicular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. *Am J Anat.* 156, 373-400.
- **Jones R. C. (1999).** To store or mature spermatozoa. The primary rôle of the epididymis. *Int J Androl* 22, 57-67.

K

- **Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012).** 100 intoxications chez les animaux de compagnie. Maloine, Paris, 185-186.
- **Kerr J.B. (1991).** Ultrastructure of the seminiferous epithelium and intertubular tissue of the human testis. *J. Electron. Microsc. Tech.* 19: 215-240.
- **Kirchhoff C. (1999).** Gene expression in the epididymis. *Int Rev Cytol* 188, 133-202.
- **Kumar V., Kural MR., Pereira BMJ. et Roy P. (2008).** Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered

Références Bibliographiques

levels of gene expression, enzymes and hormones. Food Chem Toxicol.; 46:3563–3570.

L

- **Le Moigne A. et Foucrier J. (2009).** Biologie du développement. 7ème Edition. DUNOD Inc.200 p.

- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie édition FAO Rome : 1984-298p.

- **Lebas F., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990).** le lapin: élevage et pathologie. Collection F.A.O : producton et santé animale pp 1-210.

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

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

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

- **Leesson TS et Leeson RC. (1976).** Histologie. Masson. Barcelone Milan pages : 388-403.luminal content. Biol Reprod 61, 705-714.

- **Légaré C., Thabet M., Picard S. et Sullivan R. (2001).** Effect of vasectomy on P34H messenger ribonucleic acid expression alongthe human excurrent duct: A reflexion on the function of the human epididymis “biology of reproduction, vol 64,p. 720-727.

- **Little T.V. et Holyoak Gr. (1992).** Reproductive anatomy and physiology of the stallion. Vet Clin North Am Equine Pract, 8 (1), pp. 1-29.

Références Bibliographiques

- **Liu H.W., Lin Y.C., Chao C.F., Change S.Y. et Sun Gh. (2000).** GP-83 and GP-39, two glycoproteins secreted by human epididymis are conjugated to spermatozoa during maturation. *Molculaire human reproduction*, vol. 6, p. 422-428.

M

- **Macari M. et Machado C.R. (1978).** Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of semen. *Labo. Anim.* **12**: 37-39.
- **Mandal D.K., Singh K. et Tyagi S. (2004).** Age related changes in body size and gonadal development of growing Frieswal bulls. *Indian J. Anim. Sci.* **74** (1): 31-34.
- **Mann T. et Parsons U. (1950).** Studies on the metabolism of semen. 6. Role of hormones. Effect of castration, hypophysectomy and diabetes. Relation between blood glucose and seminal fructose. *Biochem. J.* **46**:440.
- **Marieb N.E. (2006).** Anatomie et physiologie humaines. 6ème éd. renouveau pédagogique : 1096.
- **Martinet L. (1973).** Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. Conférence, Session ITAVI Toulouse, sept. 1973.
- **Martinez-Garcia F., Regadera J.Cobo P. Palacios J. Paniagua R, et Nistal M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia.* **27**:195-206.
- **Martoja R. et Martoja M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Eds Masson et cie, Paris: 343.
- **Micol D., Robelin J. et Geay Y. (1993).** Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscles chez les bovins en croissance et à l'engrais. *INRA Production Animale.* Vol 6 (1):6169.
- **Mitchell B. et Sharma R. (2005).** Embryologie. Editions Elsevier. pp85.

Références Bibliographiques

- **Mruk D.D. et Cheng C.Y. (2004).** Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocr Rev*, 25(5): p. 747-806.
- **Mukai C. et Okuno M. (2004).** Glycolysis plays a major rôle for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biol Reprod* 71, 540-547.
- **Mukhallad A., Mohamad A. et Hatham D. (2009).** Effects of Black Seeds (*Nigella Saitva*) on Spermatogenesis and fertility of Male Albino Rats. *Res J Med Med Sci*, 4 (2), 386-390.
- **Shérif M., Sibghatullah S., Sree H., Mueen A. (2013).** Sensibility of male rats fertility against olive oil, *Nigella sativa* oil and pomegranate extract. *Asian Pac J Trop Biomed*, 3(7): p. 563-8.

N

- **Nath D. et Majumber GC. (1999).** Maturation-dependent modification of the protein phosphorylation profile of isolated goat sperm plasma membrane. *Journal of reproduction and fertilization*, vol,115,p.29-3

O

- **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.

P

- **Pharmacopée Européenne. (2010).** 7e édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe
- **Piles M., Gianola D., Varona L. et Blasco A. (2003).** Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. *J. Anim. Sci.* 81, 2714–24.
- **Pollanen P. et Cooper T.G. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *J Reprod Immunol.* 26, 167-216.

R

Références Bibliographiques

- **Rey RA., Campo SM., Bedecarras P., Nagle CA. et Chemes HE. (1993).** Is infancy a quiescent period of testicular development Histology Cal, morphometric, and functional study of the somniferous tubules of the cebus monkey from birth to the end of f:uberty. J Clin Endocrinol Metab; 76, 325-31.
- **Robaire B. et Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure functions, and thier regulation. In: knobil E.,Neill J.(éd.). The physiology of reproduction.New York:Raven press,pp: 999-1080.
- **Robaire B. et Viger R.S. (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. Biol Reprod. 52:226-236.
- **Robaire B., Hinto B.T. et Orgebin-Cris M.C. (2006).** The epididymis.In:Neill J.D.(ed physiol.of Reprod.third. Edidition .New York: Elsevier: 1071-1148.
- **Roger T. (2009).** L'appareil génital mâle des Mammifères domestiques. Documents de cours de l'unité d'anatomie, Vetagro-sup, Campus vétérinaire de Lyon, 54p.
- **Roser J.F. (2008).** Regulation of testicular function in the stallion: an intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. Anim Reprod Sci, 2008. 107(3-4): p. 179-96.

S

- **Sabbagh M. (1983).** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec l régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires : 113p.
- **Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011).** Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. Asian J Androl 13, 11-17.
- **Salhab S.A., Zarkawi M., Wardeh M.F., Al-Masri M.R. et Kassem R. (2001).** Development of testicular dimensions and size, and their relationship to age, body weight and parental size in growing ram lambs. Small Ruminant Res. 40: 187-191.

Références Bibliographiques

- **Schinckel A., Johnson R.K., Pumfrey R.A. et Zimmerman D.R. (1983).** Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive-performance. *J. Anim. Sci.* 56 (5):1065–76.
- **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.
- **Sickangueng M. (2011).** Contribution à l'étude anatomique de l'appareil uro-génitale mâle du grand aulacodes (*Thryonomys swinderianus*, TEMMINCK, 1827). thèse de doctorat vétérinaire, université de Da kar, école inter-états des sciences et médecine vétérinaire : p118.
- **Siffroi JP. (2001).** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno. p 1-45.
- **Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.* 14: 151-154.
- **Soranzo L., Dadoune J.P. et Fain-Maurel M.A. (1982).** Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study. *Reprod. Nutr. Dev.* 22: 999-1012.

T

- **Tegegne A., Entwistle K.W. et Mukasamugerwa E. (1991).** A quantitative histological study of testicular and epididymal development in boran and boran-x Friesian bulls in Ethiopia. *Theriogenology*; 35 (5): 991-1000.
- **Thibault C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ellipses. 936 p.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle Edition, éd. Ellipses (Paris) p: 928.

Références Bibliographiques

- **Tran N., Servos G. et Haider S.G. (2006).** Ultrastructure of cell contacts of fetal and adult Leydig cells in the rat: a systematic study from birth to senium. *Anat Embryol (Berl)*, 2006. 211(4).p. 273-82.
- **Tulsiani DR., Skudlarek MD., Holland MK. et Orgebin-Crist MC. (1993).** Glycosilation of rat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biologi of reproduction*,vol. 48, p. 417- 428.

V

- **Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard - Lyon 1 France. Octobre 1999. p1-4.
- **Veri J.P., Hermo L. 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.
- **Vernet P., Rigaudiere N., Ghyselinck N., Dufaure J.P., et Drevet J.R. (1996).** In vitro expression of a mouse tissue specific glutathione-peroxidase-like protein lacking the selenocysteine can protect stably transfected mammalian cells against oxidative damage. *Biochem Cell Biol.* 74:125-131.
- **Vernet P., Rock E., Mazur A., Rayssiguier Y., Dufaure J.P., et Drevet J.R. (1999).** Selenium in dependent epididymis-restricted glutathione peroxidase 5 protein (GPX5) can back up failing Se-dependent GPXs in mice subjected to selenium deficiency. *Mol Reprod Dev.* 54:362370.
- **Vézinhet A. (1968).** Effets de l'hypophysectomie sur la croissance pondérale du lapin. *Acad Sci Ser.* Vol 266 : 2348-2351.
- **Viger RS. et Robaire B. (1996).** The mRNAs for the steroid 5alpha-reductase isozymes, types 1 and 2, are differntially regulated in the rat epididymis. *Journal of Andrology*, vol. 17, p.27-34.

Références Bibliographiques

- **Vigueras-Villasenor R.M., Montelongo-Solís P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013).** Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. *Acta Histochemica* : 9.
- **Virag G.Y., Mezes M. et Bersenyi A. (1992).** Effect of independent factors on semen characteristics in rabbits. *J. Appl. Rabbits res.* (15), 499-504.

W

- **Walter M.R, Martinet L., Moret B. et Thibault C. (1968).** Régulation Photopériodique de l'activité sexuelle chez le lapin mâle et femelle. *Archives d'anatomie, d'Histologie et d'Embryologie normales et expérimentales*, Tome SI, Fasc.1/8, 77S-780.
- **Widmaier H., Raff K. et Strang T. (2009),**physiologie humaine,maloine. p : 703.
- **Wosnitzer M.S. et Paduch D.A. (2013).** Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 163. (1) pp:16-26.
- **Wrobel K.H. (1990).** Male reproduction system. In: *Textbook of Veterinary Histology*, 2éme Ed: 226-243.

X

- **Xu L., Yang G., Chen Z., Hung S., Chen J., Jin S. et Ye Y. (1992).** Studies on integrative measures of raising the reproductive ability of the domestic rabbit during hot seasons. *J. Appl. Rabbit Res.* (15) 569-574.

Y

- **Yasser A.A., Mahmoud M.A.E. et Gamal K.M.A. (2012).** Histologica and histomorphometric changes of rabbit testis during postnatal development. *Res. J. Vet. Sci.* 5(2): 42-50.
- **Ying SY. (1988).** Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle stimulating-hormone. *Endocrinology Rev* 9:267-293.



ANNEXES

Annexe 1 : 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 fuchsineponceau 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Orange G 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Vert lumière 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

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

Résultats :

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

Hématoxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

Préparation à froid :

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

Deuxième solution :

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

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

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

Préparation à froid :

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

Après dissolution ajouter :

Acide acétique.....0,6 ml

Conservation illimitée

Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

Vert lumière (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur le poids corporel et le poids des organes reproducteurs (testicules et épидидymes) du lapin (*Oryctolagus cuniculus* n=18), ainsi une étude histologique des structures gonadiques (testiculaires et épидидymaires).

Notre étude est portée sur 18 lapins mâles de la souche synthétique, à deux âges différents (1 et 3 mois), répartis en 3 lots et dans chaque lot 3 lapins; le premier lot est destiné aux lapins témoins, le deuxième lot est destiné aux lapins qui recevront la première dose (D1=100 µl/kg) et le troisième lot est destiné à ceux qui recevront la deuxième dose (D2=200µl/kg). Les animaux ont été pesés puis traités une seule fois par la menthe poivrée, après une semaine de traitement, les testicules et épидидymes ont été prélevés, dégraissés puis pesés, et leur volumes ont été déterminés, puis les organes ont été fixés pour effectuer une étude histologique.

La présente étude sur les effets de la menthe poivrée sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids total et volume) sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle de la dose 2 puis à la dose 1 par rapport aux témoins.

Sur le plan histologique la menthe poivrée induit une variabilité microscopique importante chez les lapins traités par la dose 2 et la dose 1, tels que l'apparition dans les tubes séminifères des spermatozoïdes, de premières spermatozoïdes allongées et des spermatozoïdes respectivement chez les lapins âgés de 1 et 3 mois par rapport aux témoins. Ainsi au niveau épидидymaire, la structure révèle l'apparition d'un épithélium prismatique pseudo stratifié et la présence des sécrétions dans la lumière de tube ainsi quelques spermatozoïdes, respectivement chez les lapins âgés de 1 et 3 mois par rapport aux témoins.

Mot clés : Lapin, gonades, Reproduction, Huile essentielle.

Abstract

The objective of this study is to determine the effects of peppermint essential oil on the body weight and weight of the reproductive organs (testes and epididymides) of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus* n = 18), thus a histological study of gonadal structures (testicular and epididymal).

Our study is carried out on 18 male rabbits of the synthetic strain, at two different ages (1 and 3 months), divided into 3 lots and in each batch 3 rabbits; the first batch is intended for control rabbits, the second batch is intended for rabbits who will receive the first dose (D1 = 100 µl / kg) and the third batch is intended for those who will receive the second dose (D2 = 200µl / kg). The animals were weighed and then treated once with peppermint, after one week of treatment, the testes and epididymides were removed, defatted and weighed, and their volumes were determined, then the organs were fixed for a study. histologically.

The present study on the effects of peppermint on macroscopic parameters (body weight, total weight and volume) is higher in rabbits treated with the essential oil in dose 2 and then in dose 1, respectively, compared with controls.

Histologically, peppermint induces significant microscopic variability in dose-2 and dose-1 treated rabbits, such as the appearance of spermatozoïdes, elongated spermatozoïdes, and spermatozoa in seminiferous tubes in elderly rabbits, respectively. 1 and 3 months compared to the witnesses. Thus at the epididymal level, the structure reveals the appearance of a pseudo-stratified prismatic epithelium and the presence of secretions in the tube lumen as well as some spermatozoa, respectively in rabbits aged 1 and 3 months compared to controls.

Key words: Rabbit, gonads, Reproduction, Essential oil.