

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

Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques
Et des Sciences Agronomiques
Département des Sciences Biologiques



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

En sciences biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie de la reproduction

Sujet

Étude préliminaire sur les effets des huiles essentielles de la Menthe Poivrée et du Romarin à Verbénone à deux doses différentes (200 μ L/Kg et 300 μ L/Kg) sur la structure des testicules et des épидидymes des lapins mâle infantiles de la population blanche.

M^{elle} Badaoui Lynda

M^{elle} Djera katia

Devant le jury :

Président : M ^{ME} Medjdoub-Bensaad. F.	Prof	UMMTO
Promotrice : M ^{ME} Ahmanache. Lakabi. L.	MCB	UMMTO
Co-promotrice : M ^{ME} Abdelli. O.	MCB	UMMTO
Examinatrice: M ^{elle} Chougar. S.	MAA	UMMTO
Examinatrice : M ^{ME} Mehalli. Ouldkadi. N.	Doctorante	UMMTO

Promotion 2018-2019



Remerciements

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

*C'est avec notre enthousiasme le plus vif et le plus sincère que nous voudrions rendre mérite à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans l'élaboration de ce mémoire. Nous voudrions exprimer notre gratitude à **Madame LAKABI L** maître de conférence classe B à l'Université Mouloud Mammeri qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacré, nous la remercions pour sa patience et ses encouragements.*

*On remercie **Madame Abdelli. O** maître de conférence classe B à l'Université Mouloud Mammeri notre co-promotrice, pour avoir accepté de corriger notre travail.*

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

*On exprime nos reconnaissances à **Mademoiselle Chougar. S.** maître assistance classe A à l'Université Mouloud Mammeri et **Madame Mehalli. OuldKadi N.** Doctorante à l'Université Mouloud Mammeri qui ont bien voulu nous accorder une partie de leur temps pour examiner et juger ce travail.*

On tient à remercier vivement le centre d'élevage privé de Ouaguenoun (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.

*Sincèrement
Katia et Lynda*





Dédicace

*À mes parents adorés ; mes frères ; mes sœurs ; mes belles
sœurs ; mes beaux frères, mes nièces, mes neveux,*

À tous mes ami(e)s ;

*lisa, assia, thiziri, feriel, hanane, sadia, tinhinane, sabrina,
melissa, cesia 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^{lle} djera katia.*

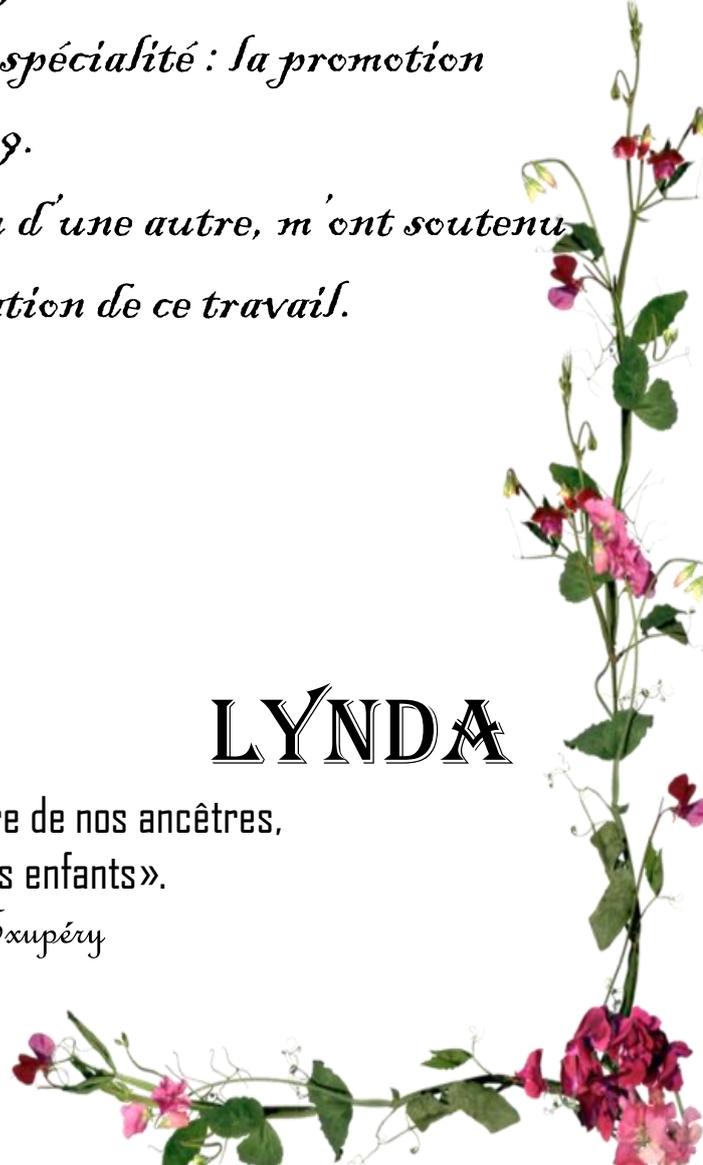
*Tous mes collègues de la même spécialité : la promotion
2018/2019.*

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

LYNDA

«Nous n'héritons pas de la terre de nos ancêtres,
nous l'empruntons à nos enfants».

Antoine de Saint-Exupéry





Dédicace

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

Je dédie ce modeste travail à mes parents pour leur aide et leur soutien tout au long de mes études.

A mon frère YASSINE et ma sœur FERIEL

*A mon binôme et amie avec laquelle j'ai partagé ce travail
BADAOUI LYNDIA*

*A tous mes amis (es) avec lesquelles
j'ai partagé mes meilleurs moments de joie Lisa Assia
Ferial Thisiri Celia Melissa Sadia Sabrina Tina Hannane
et les autres durant notre étude.*

*Tous mes collègues de la même spécialité : promotion
2018/2019.*

A Tout mes ami(e)s Kamelia, Souad.

KATIA





Liste des abréviations

Liste des abréviations

A : Sécrétion d'androgènes

AB : Aposomes

ABP: Androgen Binding Protein.

Ad : Spermatogonie à chromatine fine et sombre

Ap : Spermatogonie à chromatine claire

Cb : cellule basale

CDS : Développement complet de la spermatogénèse

Ce : cellule étroite

CL: cellule de Leydig

cm : cellule myoïde

Cp : Cellules principales

CS : Premier comportement sexuel

cs : cellule de Sertoli

Cytochrome P450_{scc} : Enzyme de clivage du cholestérol.

D1 : dose 1 (200µl/kg)

D1: Dose 1

D2 : dose 2 (300µl/kg)

D2: Dose 2

DHT : dihydrotestostérone

DS : Début de la spermatogénèse

EGF: Epidermal growth factor.

EM: Eminence médiane.

EP : Epididymosomes

EPD : Epididyme Droit

EPG: Epididyme Gauche

ESM : l'erreur standard à la moyenne

FSH : Follicle Stimulating Hormone.

G : Grossissement

GnRH: Gonadotropin releasing hormone.

H⁺ : Protons

HCG: Androgen Binding Protein.

HCO₃⁻ : Bicarbonates

I : Implantation;

IGF: Insuline growth factor.

ILC : Compartiment intra-Liminal

J0 : jour 0 (avant traitement)

J7 : jour 7 (après traitement)

L : Maturation des cellules de Leydig

LH: Luteinizing Hormone.

LHRH: Luteinizing Hormone Releasing Hormone.

LT : Lymphocyte T

Lu : lumière

M : Dégénérescence des canaux de Müller

Mo : Monocyte

MV : Microvillosité

N : Naissance

N : Noyau

NADPH: Nicotinamide adénine dinucleotide phosphate.

ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail

P : Croissance de la prostate

P : Probabilités

PET : Poids épидидymaire total

PR : poids relatifs

Protéine StAR: Steriodogenic acute regulatory protein.

PTT : Poids testiculaire totale

RS : Premiers rapports sexuels

S : Apparition du premier spermatozoïde

sc : spermatocytes

SE : Apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme

Sg : spermatogonie

Sp : Spermatogonie

SP II : Spermatocytes II

SP I: Spermatocytes I

SP: Spermatogonies

SpA : Spermatogonie A

SpB: Spermatogonie B

St: stéréocils

T : Différenciation des testicules

T : Témoin

Tc : tissu conjonctif

TD : testicule droit.

TG : testicule gauche

TGF: Transforming growth factor.

TNF: Tumor necrosis factor.

Vobj : Grossissement de l'objectif

Vz : Facteur de zoom d'optovar = 2.5



Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas <i>et al.</i> , 1996).....	3
Figure 2 : Structure interne du testicule et de l'épididyme des Lapins (Coupe longitudinale) (Bonnes <i>et al.</i> , 1988).....	4
Figure 3 : Organisation interne du testicule (Senger, 2012)	5
Figure 4 : Détail d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007).	6
Figure 5 : Ultra-structure d'une portion du tube séminifère (Banks, 1993).....	6
Figure 6 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993).....	7
Figure7 : Schéma de spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Fourcier ,2009).....	10
Figure 8 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).	11
Figure 9 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009), N : noyau ; LT : lymphocyte T ; Mo : monocyte.....	12
Figure 10 : Pénis et testicule du lapin (zone inguinale) (Shinkichi et Akira, 2004).	15
Figure11 : Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000).....	16
Figure12 : Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).....	19
Figure 13 : La spermatogénèse (Vacheret ; 2001).....	21
Figure 14 : Etapes de la spermiogénèse (Soboha, 2004).....	22
Figure 15 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).....	23
Figure 16 : Axe hypothalamo-hypophysio-testiculaire et régulation de la fonction Testiculaire (Christiansen <i>et al.</i> , 2002)	26
Figure17 : Lapins issus d'un élevage cunicole privé de Djebba (Originale, 2019) A : Lapin âgé d'1 mois; B : Lapin âgé de 3 mois	30
Figure 18 : Photographie de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » (Originale, 2019).	31
Figure 19 : Photographie de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » (Originale, 2019)..	31

Figure 20: Administration de l'huile essentielle « menthe poivrée /Romarin à verbénone » par voie orale (Originale, 2019).	33
Figure 21: Lapin sacrifié et prise du sang après la prise du poids (Originale, 2019).....	34
Figure 22: A: Dissection d'un lapin mâle ; B: prélèvement de l'appareil génital mâle du lapin (testicule et épидидyme); C: Détermination du poids grâce à une balance de précision de 0,01g ; D: Piluliers de fixateur contenant les organes génitaux (originale 2019)	35
Figure 23: fixation des organes par le fixateur Bouin hollandaise sublimé (originale, 2019).....	36
Figure 24: Appareil de circulation de laboratoire (Iakabi, 2015)	37
Figure 25 : Organes placés dans des moules qui recevront la Paraffine (Originale, 2019). ...	38
Figure 26 : Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite (Originale, 2019).....	38
Figure 27 : Photographie des bains d'alcool et de xylène de la circulation (Originale, 2019).	39
Figure 28: Photographie d'une série d'une coloration topographique (Originale, 2019)	39
Figure 29: Photographie de la maquette de déshydratation (Originale, 2019).....	40
Figure 30: Photographie de l'observation des lames (Originale 2019).....	40
Figure 31 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 1 mois traités par la Menthe poivrée	42
Figure 32 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 1 mois traité par le Romarin à verbénone.....	43
Figure 33 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauche et droits des lapins de 1 mois traités par la Menthe poivrée	44
Figure 34 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 1 mois traités par le Romarin à verbénone	45
Figure 35: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 1 mois après l'administration de huile essentielle (Menthe poivrée).....	46
Figure 36: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 1 mois après l'administration d'huile essentielle « Romarin à verbénone »	47
Figure 37: Représentation graphique de l'évolution du poids des épидидymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle (Menthe poivrée) administré.	48

Figure 38: Représentation graphique de l'évolution du poids des épидидymes gauche et droit en fonction de la dose de l'huile essentielle (Romarin à verbène) administrée	49
Figure 39 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (Menthe poivrée) administrée.	50
Figure 40 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (Romarin à Verbène) administrée.	51
Figure 41: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 1 mois d'âge administrés d'huile essentielle (Menthe poivrée).....	52
Figure 42: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 1 mois d'âges administrés d'huile essentielle (Romarin à verbène).....	53
Figure 43: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 1 mois d'âge administré d'huile essentielle (Menthe poivrée).	54
Figure 44: Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins de 1 mois d'âges administrés d'huile essentielle (Romarin à verbène).....	55
Planche 1: Coupes histologiques des testicules des lapins âgés de 1mois pour le lot T, D1 et D2	57
Planche 2: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 1mois des lots T, D1 et D2	58
Planche 3: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 1mois des lots T, D1 et D2	59
Planche 4: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 1mois des lots D1 et D2	61



Sommaire

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre I: Rappels anatomo-histologiques de l'appareil reproducteur du lapin mâle.

1. Anatomie et histologie de l'appareil reproducteur mâle	3
1.1 Testicule	4
1.1.1. Anatomie	4
1.1.2. Histologie	4
1.1.2.1. Tubes séminifères.....	5
1.1.2.2. Tissu interstitiel.....	6
1.1.2.3. Liquide des compartiments intra testiculaire	7
1.1.2.4. Cellules de Sertoli	7
1.1.2.5. Cellules de la lignée germinale	8
1.1.2.5.1 Spermatogonie.....	8
1.1.2.5.2 Spermatocytes	9
1.1.2.5.3 Spermatides	9
1.1.2.5.4. Spermatozoïdes	9
1.1.2.6. Cellules de Leydig.....	10
1.2. Epididyme	11
1.2.1 Anatomie de l'épididyme	11
1.2.2. Histologie de l'épididyme	11
1.2.3. Lumière du canal épидидymaire.....	13
1.3. Canal déférent.....	14
1.4 Urètre	14
1.5. Glandes annexes.....	14
1.5.1. Vésicules séminales.....	14
1.5.2.Prostate	14
1.5.3. Glandes bulbo- urétrales (glandes de Cowper).....	15
1.6 Pénis	15

SOMMAIRE

Chapitre II: Physiologie de la reproduction

1. Développement des gonades et la puberté	16
1.1 Différentiation et développement des gonades	16
1.2 Développement pondérale	17
1.3 Maturation sexuelle	17
1.3.1 Phase infantile	17
1.3.2 Phase pré pubertaire	17
1.3.3 Puberté.....	17
1.3.4 Maturité sexuelle	18
2. Fonction physiologique du testicule.....	18
2.1 Fonction endocrine du testicule : stériodogenèse.....	18
2.2 Fonction exocrine du testicule : Spermatogénèse et spermiogénèse.....	19
2.2.1 Spermatogénèse.....	20
2.2.1.1 Spermatocytogenèse	20
2.2.1.2 Méiose	20
2.2.2 Spermiogénèse	21
3. fonction physiologique de l'épididyme	22
3.1 Mode de sécrétion de l'épididyme	22
3.1.1 Sécrétion mérocrine.....	22
3.1.2 Sécrétion apocrine	22
3.2 Fonctions de l'épithélium épидидymaire.....	23
3.2.1. Acquisition de la mobilité	23
3.2.2. Maturation des spermatozoïdes	23
3.2.3 Modifications membranaires	24
3.2.4 Stockage des spermatozoïdes	24
3.2.5 Autre fonction de l'épididyme	25
4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction	25
4.1 Axe hypothalamo-hypophysio-gonadique	25
4.2 Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule.....	26
5. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction.....	27
5.1 .Effet de la saison	27
5.2 Effet de la température	27
5.3 Effet de l'alimentation.....	27
5.4 Effet d'éclairement et Photopériode.....	28

SOMMAIRE

5.5 Effet des l'huiles essentielles	28
---	----

Chapitre III: Matériels et méthodes.

1. Matériel biologique	29
1.1. Modèle animal.....	29
1.2. Huiles essentielles utilisées	30
1.2.1. Menthe poivrée (<i>Menthapiperita</i>)	30
1.2.2. Romarin à verbénone (<i>Romarinusofficinalis</i>)	31
1.2.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	31
1.3. Autres Matériels	32
2. Expérimentation	32
2.1. Protocole expérimental	33
2.2. Pesée et administration des huiles essentielles.....	33
2.3. Sacrifices et prélèvement	33
3. Etude histologique.....	35
3.1. Fixation des échantillons	36
3.2. Déshydratation et éclaircissement.....	36
3.3. Imprégnation	36
3.4. Inclusion.....	37
3.5. Confection des coupes et collage	38
3.6. Déparaffinage et réhydratation.....	38
3.7. Coloration topographique et Déshydratation	39
3.8. Observation des lames.....	38
4. Etude statistique	40

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Résultat de l'étude macroscopique	42
1.1 Evolution du poids vif des animaux	42

SOMMAIRE

1.1.1 Evolution du poids vif des animaux traités par la Menthe poivrée	42
1.1.2 Evolution du poids vif des animaux traités par le Romarin à verbénone.....	43
1.2 Evolution du poids testiculaire	44
1.2.1 Poids des testicules droits et gauches des lapins traités par la Menthe poivrée	45
1.2.2 Poids des testicules droits et gauches des lapins traités par le Romarin à verbénone	46
1.2.3.Evolution du Poids total testiculaire.....	44
1.2.3.1 Evolution du Poids total des testicules pour les lapins traités par la Menthe poivrée..	46
1.2.3.2 Evolution du Poids total des testicules pour les lapins traités par le Romarin à verbénone	47
1.3 Evolution du poids épидидymaire	47
1.3.1 Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins traités par la Menthe poivrée.....	48
1.3.2 Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins traités par le Romarin à verbénone.....	49
1.3.3 Evolution du poids total de l'épididyme total	49
1.3.3.1 Evolution du poids total de l'épididyme total pour les lapins traités par la Menthe poivrée.....	50
1.3.3.2 Evolution du poids total de l'épididyme total pour les lapins traités par le Romarin à Verbénone	51
1.4 Poids relatif des testicules et des épидидymes.....	51
1.4.1 Évolution du poids relatif des testicules pour les lapins traités par la Menthe poivrée	51
1.4.2 Évolution du poids relatif des testicules pour les lapins traités par le Romarin à verbénone	52
1.4.3 Evolution du poids relatif des épидидymes pour les lapins traités par la Menthe poivrée... ..	53
1.4.4 Evolution du poids relatif des épидидymes pour les lapins traités par le Romarin à verbénone	54
2. Résultats de l'étude microscopique (Histologique)	55

SOMMAIRE

2.1 Étude histologique testiculaire et épидидymaire des lapins âgés de 1 mois.....	55
2.1.1. Histologie du testicule des lapins	56
2.1.1.1 Testicules des lapins témoins	56
2.1.1.2 Testicules des lapins traités par la Menthe poivrée.....	56
2.1.1.3 Testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone.....	57
2.1.2 Histologie de l'épididyme des lapins	59
2.1.2.1 Epididymes des lapins témoins	60
2.1.2.2 Epididymes des lapins traités par la Menthe poivrée.....	60
2.1.2.3 Epididymes des lapins traités par le Romarin à verbénone.....	61
3. comparaison	62
4. Discussion	62
4.1 Paramètres macroscopique.....	62
4.1.1 Poids corporel.....	62
4.1.2 Evolution des poids testiculaires et épидидymaire des lapins	63
4.2 Histologie testiculaire et épидидymaire.....	64
Conclusion	66
Références bibliographiques	67
Annexe	



Introduction

Introduction

Le lapin est une 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 des huiles essentielles de la Menthe poivrée et du Romarin à verbénone sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles infantiles âgés d'un mois, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids testiculaire et épидидymaire.

Introduction

Notre travail se présente sous la forme de quatre chapitres qui traiteront dans 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 chapitre le matériel et les méthodes utilisées, et nous terminerons par le quatrième chapitre qui sera consacré aux résultats obtenus et discussion des résultats lors de notre expérimentation, et enfin on termine par une conclusion globale ainsi qu'un ensemble de perspectives.

Chapitre I:

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

1. Anatomie et histologie de l'appareil reproducteur mâle

L'appareil génital mâle est formé d'organes assurant ensemble la fonction de reproduction, ainsi que la perpétuité de l'espèce. Il est formé de testicules qui se comportent à la fois comme une glande exocrine produisant les spermatozoïdes et une glande endocrine sécrétant la testostérone, hormone mâle par excellence. L'organisation de l'appareil reproducteur est la même chez tous les mammifères et en particulier chez les ovins, caprins, porcins et lapins, néanmoins avec des différences qui concernent la taille, le poids et la forme des organes (Hamon *et al.*, 1999).

Selon Boussit (1989), Marieb *et al.*, (1999) et Young *et al.*, (2008), l'appareil génital mâle se divise en quatre parties fonctionnelles (Figure 1) :

- Les testicules: qui sont les glandes génitales mâles.
- Un réseau de conduits incluant l'épididyme, le conduit déférent et enfin l'urètre qui débouche à l'extérieur par l'extrémité du pénis.
- Les glandes annexes ; ce sont les vésicules séminales, la prostate et les glandes bulbo-urétrales, qui débouchent dans ces canaux où elles déversent leurs sécrétions.
- Enfin, le pénis qui est un organe de copulation.

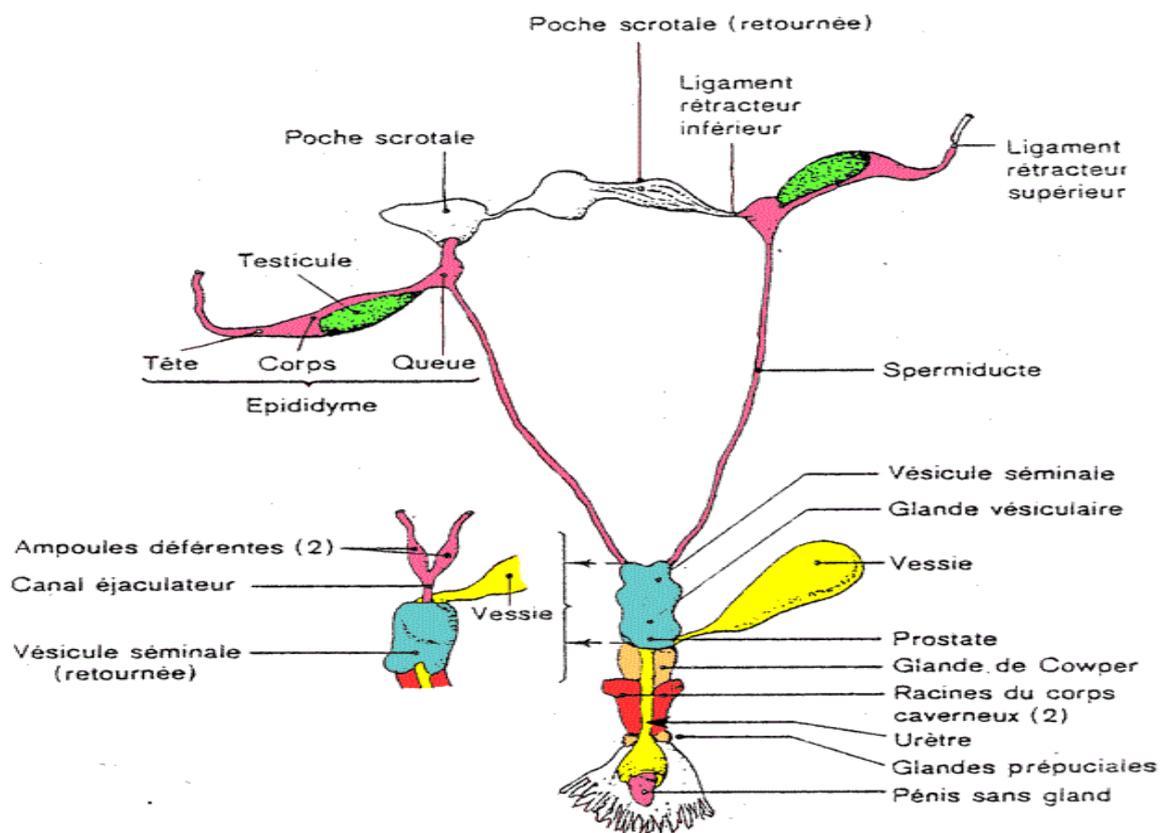


Figure 1 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas *et al.*, 1996).

1.1 Testicule

1.1.1. Anatomie

Les testicules sont des organes pairs, logés dans une enveloppe fibreuse et résistante, située dans la région inguinale, le scrotum ou sac scrotal qui est une paroi externe et duveteuse des bourses (Boussit, 1989), Chez le lapin, la communication du scrotum avec la cavité abdominale persiste, ce qui permet aux testicules de monter et descendre dans la cavité abdominale comme c'est le cas au cours d'une frayeur ou d'un combat avec un autre mâle (Lebas, 2009). Leur taille varie selon l'espèce, 3.5 cm de longueur, 1.5 cm de largeur et 1.3cm d'épaisseur (Baronne, 2001 ; Dadoune et Demoulin, 2001).

Les testicules sont partiellement recouverts d'une membrane séreuse, appelé tunique vaginale. Sous cette tunique, se retrouve la capsule fibreuse du testicule, l'albuginée, qui s'étend vers l'intérieur et forme des cloisons qui divisent chaque testicule en une série de compartiments internes, les lobules. Chaque lobule contient de 1 à 3 tubes étroitement enroulés, les tubes séminifères, qui produisent les spermatozoïdes (Figure 2) (Tortora et Grabowski, 1995).

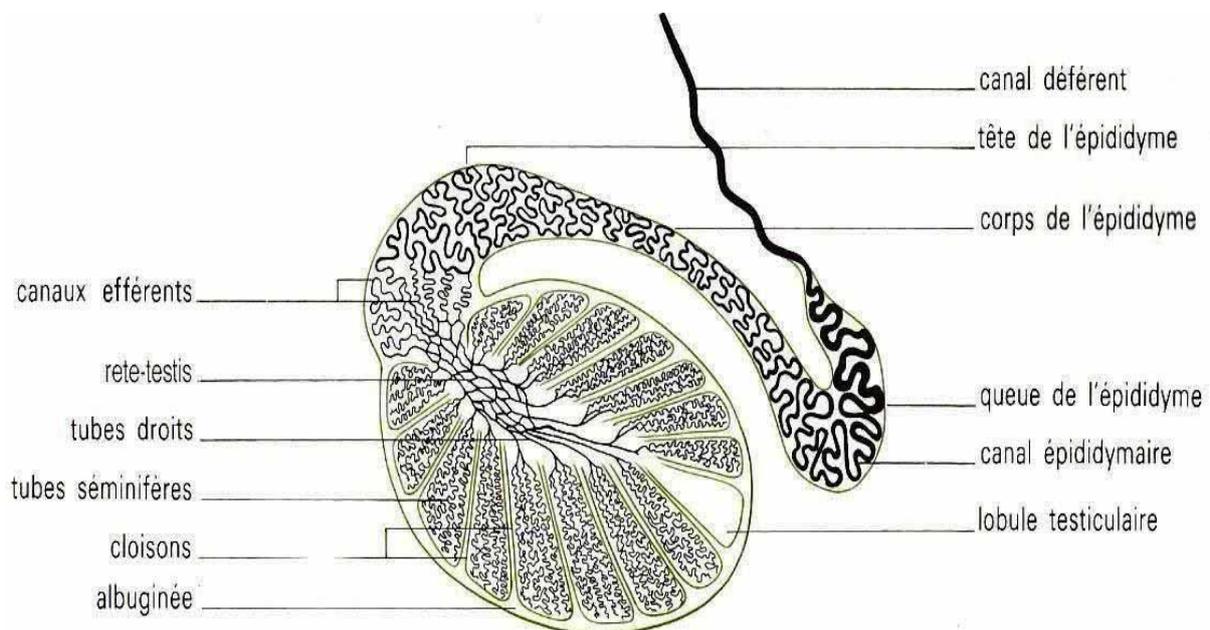


Figure 2 : Structure interne du testicule et de l'épididyme des Lapins (Coupe longitudinale)

(Bonnes *et al.*, 1988).

1.1.2. Histologie

Le testicule est logé dans une capsule fibreuse appelée l'albuginée, constituée de faisceaux de collagène et renferment des cellules musculaires lisses, et tapissée à l'extérieur par la tunique vaginale et à l'intérieur par une tunique vasculaire riche en vaisseaux sanguins,

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

Cette albuginée s'épaissit au niveau de la coiffe épидидymaire et présente des prolongements qui s'enfoncent dans la glande testiculaire pour former un cône fibreux, le Corps d'Heimere traversé par des vaisseaux sanguins, le rete testis (Muller et Clos, 1997).

Le testicule comprend deux compartiments cellulaires distincts issus de la partie interne de l'ébauche gonadique :

-Un compartiment germinale composé de cellules germinales et de cellules somatiques appelées cellules de Sertoli.

- Un compartiment interstitiel composé uniquement de cellules endocrines dites les cellules de Leydig (Thibault et levasseur, 2001). (Figure 3)

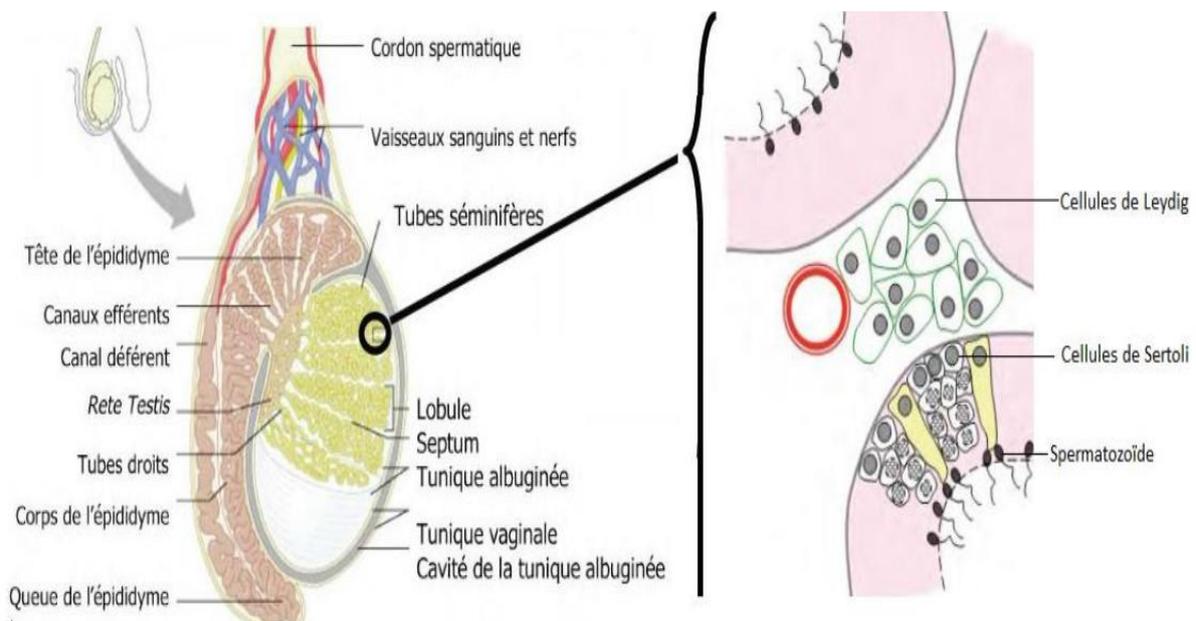


Figure 3: Organisation interne du testicule (Senger, 2012).

1.1.2.1. Tubes séminifères

Les tubes séminifères, 2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin. Ils se jettent dans les tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le « *Rete-Testis* », d'où partent une dizaine de canaux efférents qui traversent l'albuginée pour former la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993). L'épithélium séminifère est constitué de cellules de Sertoli et des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse

La paroi des tubes séminifères est constituée d'une membrane basale revêtue de plusieurs assises myoïdes surmontées d'une couche de fibres de collagènes (figure 4) (Hochereau de Reviers et Royere, 1996).

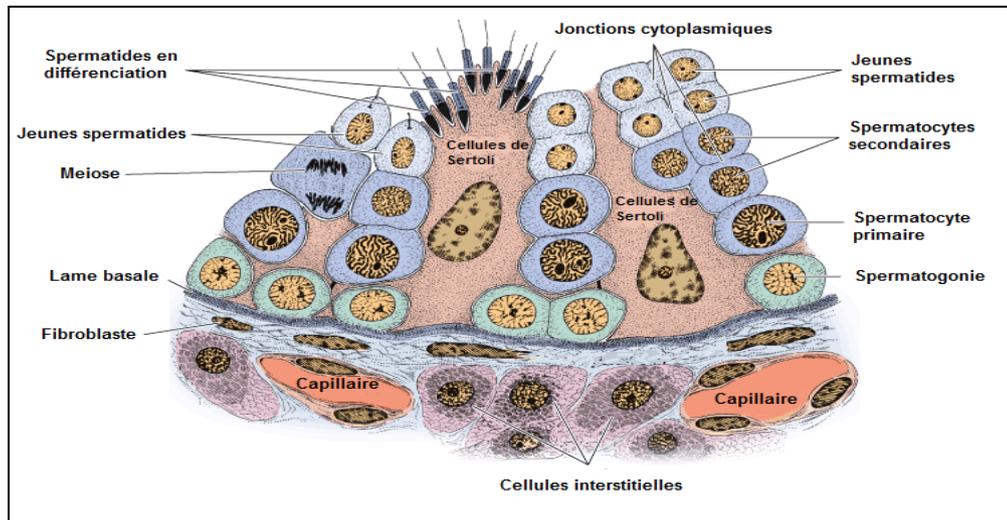


Figure 4: Détail d'une portion de tubule séminifère (Junqueira et Carneiro, 2007).

1.1.2.2. Tissu interstitiel

Le tissu interstitiel est un tissu conjonctif lâche qui se situe entre les tubes séminifères, Il comporte des vaisseaux sanguins, lymphatiques et nerfs, on y trouve aussi des îlots de cellules endocrines, les cellules de Leydig produisant la testostérone ainsi que d'autres cellules libres (macrophages, lymphocytes et fibroblastes). La quantité du tissu interstitiel varie suivant l'espèce, elle est de 10% du tissu testiculaire chez le chien et le cobaye, d'environ 25 à 30% chez l'homme et 40% chez le verrot (figure 5) (Dadoune et Demoulin, 2001).

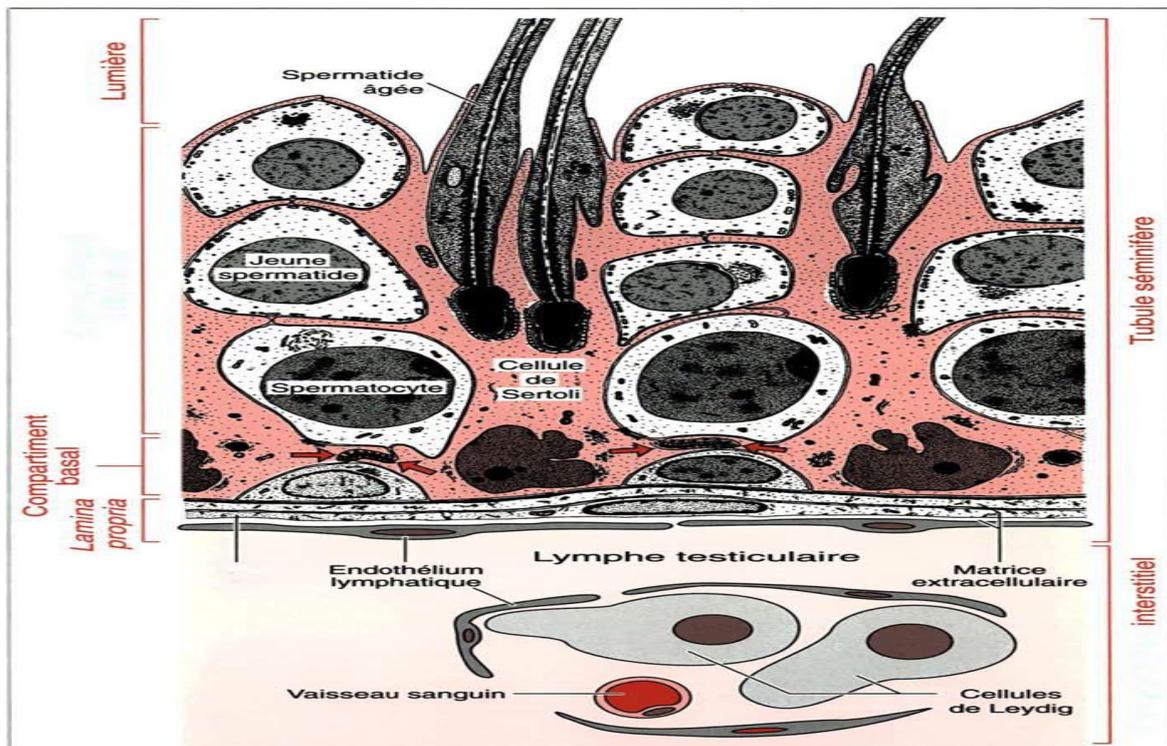


Figure 5: Ultra-structure d'une portion du tube séminifère (Banks, 1993).

1.1.2.3. Liquide des compartiments intra testiculaire

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

1.1.2.4. Cellules de Sertoli

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale qui s'étend sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère, sa forme et son volume varient au cours du cycle de l'épithélium séminal. Le corps cellulaire repose sur la lame basale de la gaine péri-tubulaire, ses faces latérales sont en contact étroit avec les cellules de Sertoli adjacentes et les cellules germinales aux divers stades de la spermatogenèse (figure 6) (Thibault et Levasseur, 2001).

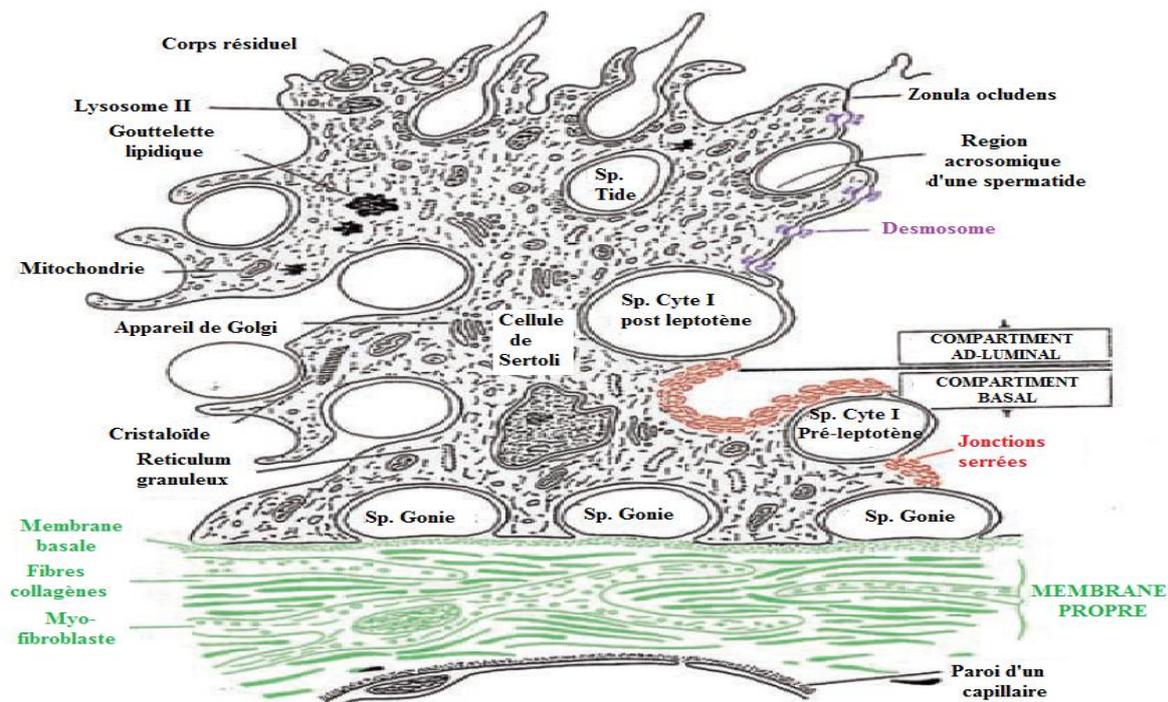


Figure 6 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993).

Chaque cellule de Sertoli est reliée aux cellules adjacentes via des jonctions intercellulaires particulières (des jonctions serrées), ce qui délimite deux compartiments au sein du tubule séminifère : le compartiment basale, siège de la spermatogenèse, et le

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

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 contre étrangères par ce système. En effet lorsque cette barrière ne remplit pas son rôle, des anticorps anti-spermatiques peuvent se développer et être responsable d'une orchite auto-immune et donc d'une stérilité (Little et Holyoak, 1992., Amann, 1993).

Selon Thibault et Levasseur (2001), les potentialités de la cellule de Sertoli sont multiples:

- Jouent un rôle protecteur contre les réactions immunitaires.
- Contrôlent la maturation et la migration des cellules germinales.
- Assurent la phagocytose des cellules germinales dégénérantes.
- Participent à des sécrétions bidirectionnelles tubulaires et interstitielles.

1.1.2.5. Cellules de la lignée germinale

Tout 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).

1.1.2.5.1 Spermatogonie

Les spermatogonies se trouvent en contact direct avec la lame basale, et sont reconnaissable grâce à l'état de condensation de leur chromatine. On y reconnaît deux types de spermatogonies, les spermatogonies de type A (Sp A) et les spermatogonies de type B (Sp B).

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

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

(pâle). Les spermatogonies Ad subissent une division asymétrique, pour donner en se divisant une cellule Ap et une cellule Ad, assurant ainsi l'autorenouveau de la population souche du tube séminifère. La spermatogonie Ap donne en se divisant des spermatogonies de type B.

La spermatogonie de type B se présente avec un noyau à chromatine condensée en périphérie, donne suite à une division mitotique des spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

1.1.2.5.2 Spermatocytes

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

1.1.2.5.3 Spermatides

Les spermatides, produites de la réduction méiotique, sont de petites cellules avec des noyaux condensés qui vont subir une différenciation durant laquelle elles vont devenir plus petites et effilée, aboutissant à la formation des spermatides allongé puis des spermatozoïdes via la spermiogénèse (Ramé *et al.*, 2007).

1.1.2.5.4 Spermatozoïdes

Le spermatozoïde est une cellule profondément transformée apte à féconder un ovule maternel d'une même espèce (Vaissaire, 1977). La structure morphologique du spermatozoïde du lapin est semblable à celle des autres mammifères, voir, deux parties principales, la tête (formes et dimensions variables) et le flagelle (figure 7).

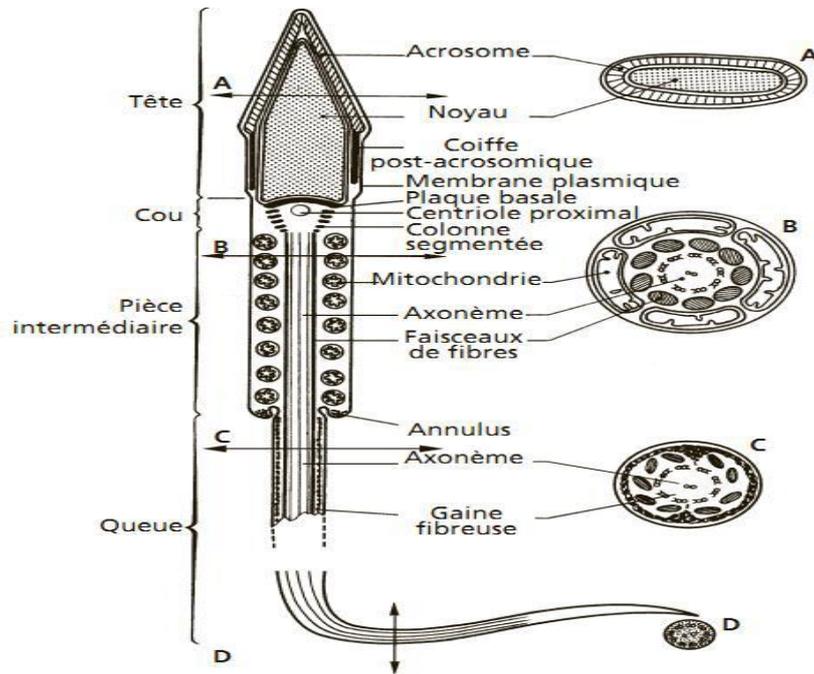


Figure7 : schéma de spermatozoïde de mammifère

(Le Moigne et Fourcier ,2009).

Le spermatozoïde du lapin mesure entre 55 et 57 μm ; la forme de la tête est ovoïde, piriforme et rétrécie caudalement ($7 \times 4 \times 0.5 \mu\text{m}$), dont il abrite une chromatine nucléaire très dense, entourée par l'acrosome sur le trois quart de sa surface. En arrière, on observe une région post-acrosomiale, délimitée par un segment équatorial. Le col est une pièce d'union entre la tête et la queue, il s'attache à l'extrémité postérieure du noyau par une pièce basale d'où naît le centriole proximal. La queue du spermatozoïde du lapin mesure 45 μm , composé d'un complexe axonème typiquement mammalien ; deux microtubules centraux et neuf diplo-microtubules périphériques (Baronne, 2001; Boiti, 2005).

1.1.2.6. 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 aux crêtes lamellaires ou tubulaires, d'un appareil de Golgi développé et d'inclusions lipidiques (Baronne, 2001 ; Tran *et al.*, 2006 ; Haider, 2007).

1.2. Epididyme

1.2.1 Anatomie de l'épididyme

L'épididyme est un long canal extrêmement convoluté qui s'étend le long de la face postérieure du testicule, jusqu'à son pôle inférieur où il devient le canal déférent il comprend une tête volumineuse (partie proximale) qui coiffe le pôle antérieur du testicule, un corps long (partie médiane) accolé au testicule jusqu'à sa partie postérieure et une queue aplatie (partie distale), qui est le lieu de stockage des spermatozoïdes (Boussit, 1989 ; Young *et al.*, 2008).

L'épididyme peut être divisé en cinq segments, I, II, III, IV-VI, en fonction de leurs sécrétions et leurs activités enzymatiques (Hinton et Turner, 1988) (Figure 8).

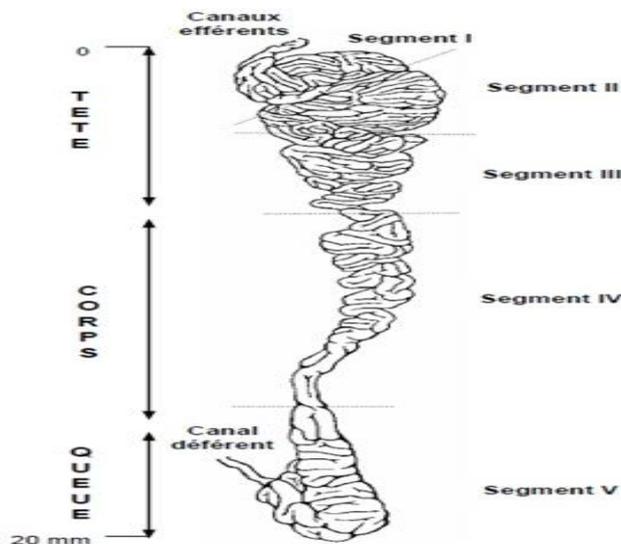


Figure 8 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).

1.2.2. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments, un épithélium pseudostratifié, constitué de six types cellulaires, les cellules principales, basales, en halos, claire, apicale et étroites (figure 9), entourées de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses qui présentent des contractions péristaltiques régulières contrôlées par les fibres nerveuses noradrénergiques et cholinergiques (Setchell *et al.*, 1994) et d'un tissu conjonctif contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins d'une part; et d'une lumière bordée par cet épithélium d'autre part (Robaire et Hermo, 1988).

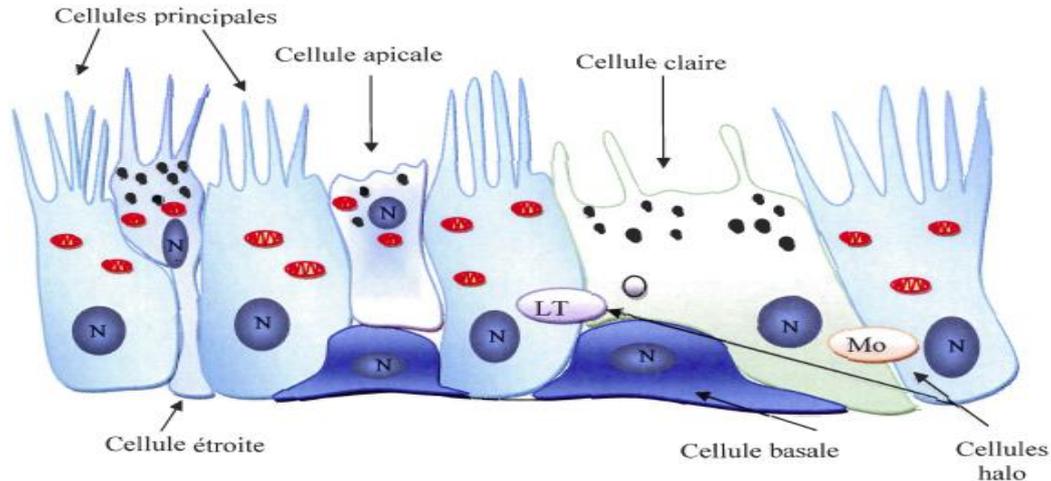


Figure 9: Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009),

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

1.2.2.1. Cellules principales

Les cellules principales constituent 65-80% de la population de cellules épithéliales épидидymaires totales. Ces larges cellules prismatiques présentent des caractéristiques structurales variables d'un segment à l'autre (Hermo et Robaire, 2002). Leur hauteur est plus élevée dans la tête que dans la queue de l'épидидyme, tout comme la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôle apical. Ces cellules, reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes, sont très actives à différents niveaux : transport et sécrétion de petites molécules organiques ; synthèse et sécrétion de protéines et enfin, réabsorption du fluide épидидymaire. Ces cellules appartiennent, en fait, à une classe de cellules « sécrétrices de constitution » (Robaire et Hermo, 1988).

1.2.2.2 Cellules basales

Les cellules basales représentent 10-20 % de la population cellulaire épидидymaire totale. Ces petites cellules allongées, localisées tout le long du canal épидидymaire, reposent sur la membrane basale formant ainsi un réseau en dessous des cellules principales. Ces cellules à noyau irrégulier et cytoplasme pauvre en organites (Soranzo *et al.*, 1982) sont jointes aux cellules principales avoisinantes par des desmosomes.

Selon Veri *et al.* (1993)., Cooper (1998), il semblerait qu'elles jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libres ainsi dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à ce qu'on appelle, la barrière hémato-épидидymaire (Seiler *et al.*, 2000).

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

1. 2.2.3. Cellules en halo

Identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes, ces cellules sont disséminées tout le long du canal épидидymaire (Hoffer *et al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

1.2.2.4 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, ont un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire (Robaire et Hermo, 1988).

1.2.2.5. Cellules apicales

Les cellules apicales présentent un cytoplasme dense, très riche en mitochondries, contenant des lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H⁺ et la réabsorption des bicarbonates (HCO₃⁻), responsables de l'acidification du fluide épидидymaire (Martinez-Garcia *et al.*, 1995).

1.2.2.6 Cellules étroites

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

1.2.3. Lumière du canal épидидymaire

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

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

1.3. Canal déférent

Selon Baronne (2001), le canal déférent mesure 12 à 15cm de longueur chez le lapin et 45 cm chez l'homme (Dadoune *et al.*, 1990 ; Marieb, 2005) et fait suite à la queue de l'épididyme, permettant ainsi d'acheminer les spermatozoïdes vers l'urètre. Ce canal s'étend vers le haut pour gagner la cavité péritonéale, après passage par le canal inguinal. Il passe ensuite au dessus de l'urètre pour descendre le long de la face postérieure de la vessie. Son extrémité terminale augmente de calibre pour former l'ampoule du canal déférent et s'unit à la fin aux conduits éjaculateurs de la prostate (Dadoune *et al.*, 1990 ; Marieb, 2005).

1.4 Urètre

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

Il fait partie à la fois du système urinaire et du système génital, assurant l'évacuation de l'urine lors de la miction et du sperme lors de l'éjaculation et il se divise en trois parties : urètre prostatique, partie membranacée qui se trouve dans le diaphragme urogénital et une partie spongieuse qui passe dans le pénis et s'ouvre vers l'extérieur par le méat urétral (Marieb, 2005).

1.5. Glandes annexes

Selon Boussit, (1989), les glandes annexes : vésicules séminale, prostate et glandes bulbo- urétrales sont responsables de la sécrétion des différents milieux qui constituent le liquide séminal lors de l'éjaculation.

1.5.1. Vésicules séminales

Chez le lapin, la vésicule séminale est impaire mais bilobée à son extrémité. Sa partie caudale fusionne avec les canaux déférents pour former un canal éjaculateur impair qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre au niveau du *colliculus séminal*. Elle est longue d'environ 2,5 cm et aplatie dorso-centralement. Elle est couverte dans ses 2/3 caudaux, par la glande vésiculaire et la prostate (Baronne, 1984).

1.3.2. Prostate

Selon Thomas *et al.*, (2008), chez le lapin, la prostate est remplacée par un complexe de plusieurs glandes dont la sécrétion formant jusqu'à un tiers du volume du sperme, jouant un rôle dans l'activation des spermatozoïdes, elles présentent une partie diffuse disséminée dans la paroi de l'urètre et une partie conglomérée. On y reconnaît à la prostate deux parties :

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

- Prostate craniale qui est au contact avec la vésicule séminale et le conduit déférent sur sa face dorsale.
- Une prostate caudale ou prostate proprement dite un peu plus petite, elle se divise en lobe ventraux et latero-dorsaux.

1.5.3. Glandes bulbo- urétrales (glandes de Cowper)

La glande de Cowper, volumineuse chez les lapins, sont des formations sphériques paires, bilobées placées postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elle s'ouvre par au moins 4 canaux (Sabbagh, 1983). Chacune est entourée par un corpuscule conjonctif (Roger, 2002). Elle produit un épais mucus translucide sécrété avant l'éjaculation afin de neutraliser l'acidité des traces d'urine encore présentes dans l'urètre.

1.6 Pénis

Le pénis est rétrofléchi chez le lapin et se loge dans le prépuce et ne sort que lors de l'accouplement. C'est un organe court, en forme de tube légèrement en pointe qui mesure environ 8 cm de longueur, dirigé caudalement au repos et cranialement à l'érection (Roger, 2002). (Figure 10).



Figure 10: pénis et testicule du lapin (zone inguinale) (Shinkichi et Akira, 2004).



**Chapitre II:
Physiologie de la reproduction**

Les mécanismes régulant la fonction de la Reproduction chez les lapins sont complexes et sous-entendent une 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. (Joly et Theau-Clément, 2000).

1. Développement des gonades et la puberté

1.1 Différentiation et développement des gonades

D'après Alvarino (2000), la différenciation des organes reproducteurs mâles du lapin a lieu pendant la vie fœtale (Figure11). Cependant la formation de l'albuginée se produit entre le 14^{ème} et 15^{ème} jour 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).

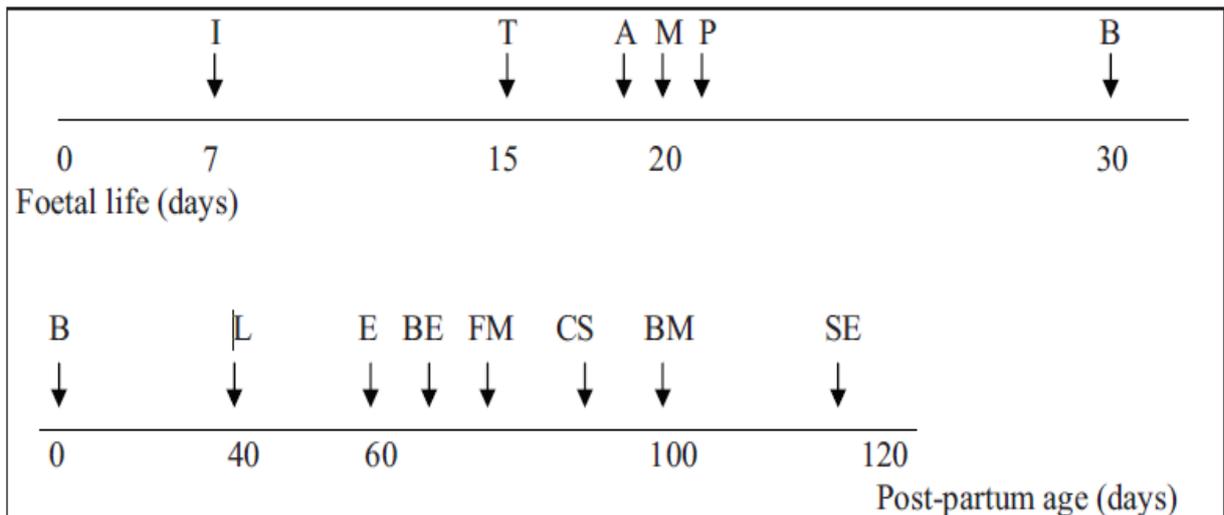


Figure11 : Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000).

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.

2. Développement pondérale

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 2,86kg après la 5^{ème} semaine d'âge. La spermatogenèse est établie vers l'âge de 70 jours, et au 84^{ème} jour tous les tubes séminifères sont actifs.

1.3 Maturation sexuelle

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

1.3.1 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).

1.3.2 Phase pré pubertaire

La phase pré pubère commence vers l'âge de 40 jours et se caractérise par une augmentation importante des niveaux de testostérone (+921%) et de FSH (+384%) de 40 et 60 jours. Durant cette phase, la croissance des testicules s'accélère et les cellules de leydig responsable de la spermatogenèse commence à fonctionner (Boussit, 1989), entraînant les premières divisions goniale vers 45 jours. La croissance des vésicules séminales et les premières différenciations des spermatogonies s'accélèrent 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).

1.3.3 Puberté

La puberté chez le mâle est le stade à partir duquel l'éjaculat possède les mêmes caractéristiques physiques et chimiques que chez l'adulte (Skinner, 1967). Un tel stade est atteint à partir de l'âge de 24 semaines chez le lapin Néo-Zélandais blanc et coïncide alors, en

termes de reproduction, à la maturité sexuelle ou période d'apparition de spermatozoïdes tout à fait viables dans le sperme (Macari et Machado, 1978).

Dans ce cas, puberté et maturité sexuelle sont deux phases tout à fait distinctes. 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).

1.3.4 Maturité sexuelle

La maturité sexuelle est définie comme le moment où la production quotidienne de spermatozoïdes n'augmente plus. En effet, les premières manifestations de comportement sexuel apparaissent vers 60-70 jours : le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement. Les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours mais, dans ces premiers éjaculats, la viabilité des spermatozoïdes est faible à nulle. Il faut donc attendre 135 à 140 jours pour les premiers accouplements féconds. Il existe en effet des différences génétiques dans l'âge de la puberté, mais les conditions d'élevage jouent aussi un rôle essentiel, en particulier l'alimentation et le climat (Lebas, 2002).

2. fonction 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 consiste à la production des hormones stéroïdes qui est assurée par les cellules de Leydig (Dadoune et Démoulin, 2001).

2.1 Fonction endocrine du testicule : stériodogénèse

La synthèse des stéroïdes dans la cellule de Leydig commence par une phase commune qui est la conversion du cholestérol en prégnénolone. Cette conversion s'effectue au niveau de la membrane interne des mitochondries et requiert du NADPH, de l'oxygène et du cytochrome P450_{scc} ainsi que d'autres enzymes : les 20 hydroxylases, les lyases et les desmolases (figure12) (Dupouy *et al.*, 1993).

Le transport du cholestérol du cytoplasme vers la membrane mitochondriale, où a lieu la première réaction enzymatique de la stéroïdogenèse, est une étape clef et limitante de ce processus. Plusieurs protéines interviennent dans ce transport du cholestérol ; la plus importante et étudiée, étant la protéine StAR (Clark *et al.*, 1996).

La LH et hCG stimule la production de testostérone par la cellule de Leydig qui ne possède pas de récepteurs pour la LH tandis que la FSH potentialise les effets de la LH par

action indirecte. Il est donc probable que la FSH stimule au niveau des cellules de Sertoli, la sécrétion d'un facteur qui via le liquide interstitiel, module les fonctions leydigiennes (Thibault et Levasseur, 2001).

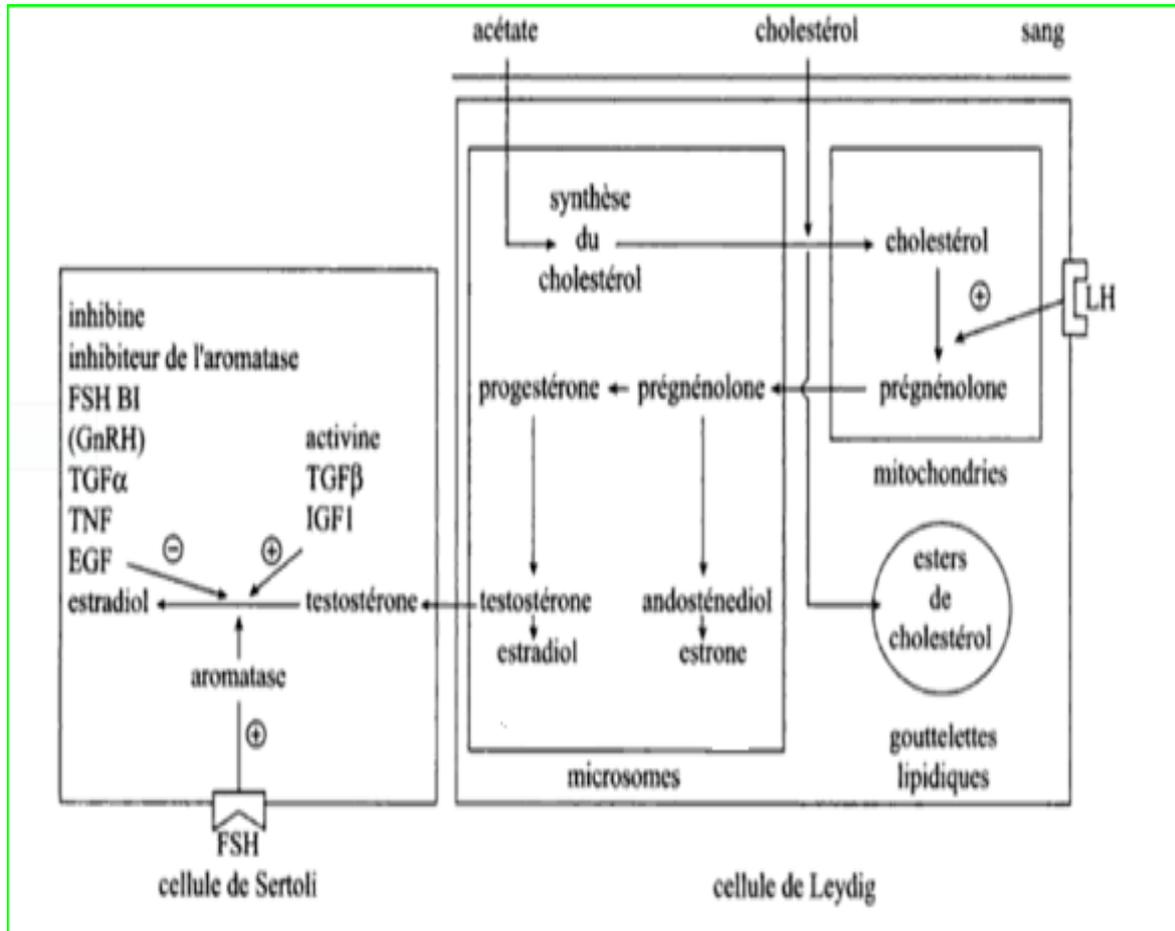


Figure12: Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).

2.2 Fonction exocrine du testicule : Spermatogénèse et spermiogénèse

La formation du spermatozoïde se fait en deux étapes : la spermatogénèse et la spermiogénèse, qui débutent au niveau des tubes séminifères puis se déroulent dans l'épididyme, pour finir dans les voies génitales femelles. La durée de la formation du spermatozoïde est de 49 jours chez les mammifères. La connaissance de cette durée est importante pour la préparation de l'animal en vue d'une saison de monte (Heymon et Vignon, 2005).

2.2.1 Spermatogénèse

La spermatogénèse est le processus de production des gamètes mâles matures, à partir des cellules souches au niveau du testicule (Lebas, 2009), Elle commence plus précocement vers l'âge de 40 à 50 jours, mais les premières divisions zoniales ne donneront des spermatocytes que vers 60 jours (Martinet, 1973), Les premiers spermatozoïdes n'apparaissent dans la tête de l'épididyme qu'à 112 jours (Leeson et Leeson, 1976). L'éjaculat contiendra des spermatozoïdes dès 120 jours au moins.

La durée de la spermatogénèse ou temps nécessaire pour une spermatogonie d'évoluer vers le stade final de spermatozoïde est de 38 à 41 jours (Swistra, 1965 cité par Martinet, 1973).

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 (Amman, 1993).

2.2.1.1 Spermatocytogénèse

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, possédant encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristiques de l'espèce (lapin : 44 chromosomes) observés vers 60 jours d'âge chez le lapin (Martinet, 1973). La phase de multiplication cellulaire assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (Little et Holyoke, 1992 ; Barone, 2001). (Figure 13)

2.2.1.2 Méiose

La méiose est caractérisée par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires, induisant la production des spermatocytes secondaire ensuite, les deux divisions successives de la méiose produisent les spermatides haploïdes (Amman, 1993).

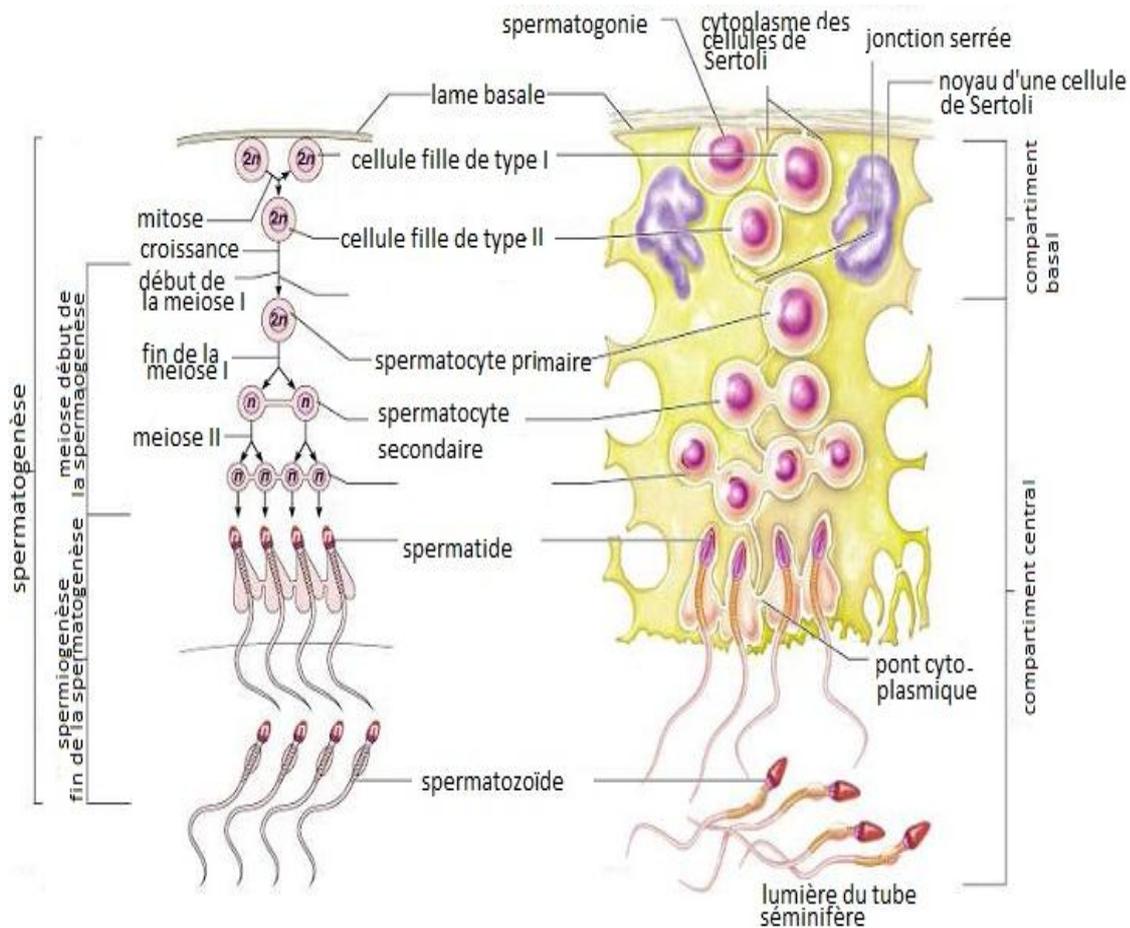


Figure 13: Différentes étapes de la spermatogénèse. (Marieb, 2006).

2.2.2 Spermiogénèse

La spermiogénèse permet le passage de la spermatide (cellule arrondie ayant une Organisation cytoplasmique banale) au spermatozoïde (petite cellule très effilée, mobile, pauvre en cytoplasme et en réserves). C’est au cours du transit épидидymaire que le spermatozoïde subit divers changements de maturation le rendant apte à la fécondation : acquisition de sa motilité, condensation nucléaire, modification de la forme de l’acrosome et modification de la surface de la membrane plasmique (figure14) (Tortora et Derrickson, 2009).

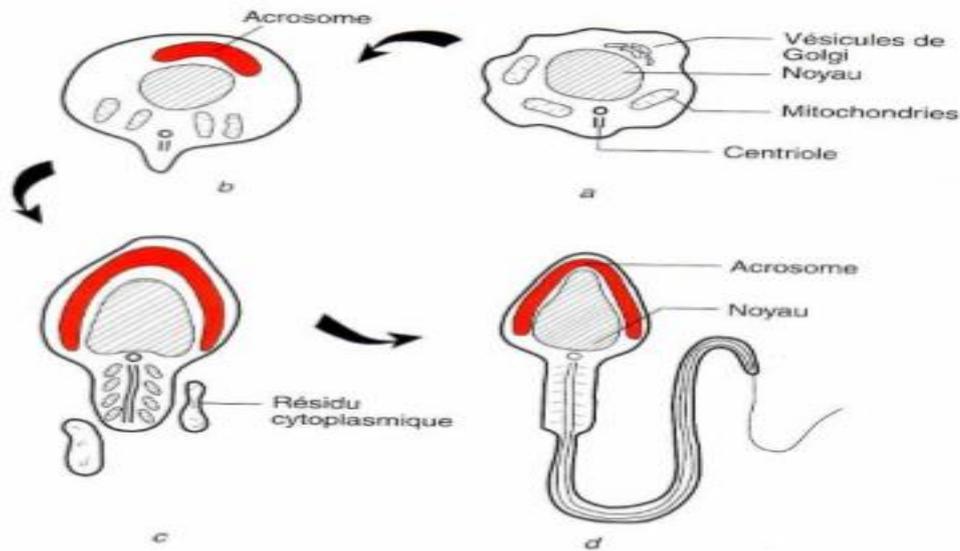


Figure 14: Etapes de la spermiogenèse (Soboha, 2004).

a. spermatide; b, c, d. condensation du noyau, mise en place de l'acrosome, de la pièce intermédiaire et du flagelle.

3. Fonction physiologique de l'épididyme

3.1 Mode de sécrétion de l'épididyme

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

3.1.1 Sécrétion mérocrine

La sécrétion mérocrine est le mode de sécrétion protéique classique. Effectivement il se produit dans la plupart des différents types cellulaires y compris les cellules principales de l'épithélium épididymaire. La séquence primaire des protéines sécrétées de cette façon est caractérisée par la présence d'un peptide signal, ce qui permet à la protéine de s'associer au réticulum endoplasmique rugueux (Girouard, 2009).

3.1.2 Sécrétion apocrine

Contrairement au mode mérocrine, dans le mode apocrine la synthèse des protéines se fait au niveau des cellules principales, s'accomplissent dans le cytoplasme des cellules et exclusivement sur des ribosomes libres, puisque la séquence primaire de ces protéines est dépourvue de peptide signal, de ce fait elles ne peuvent s'associer au réticulum endoplasmique (Thibault et Levasseur, 2001). (Figure 15)

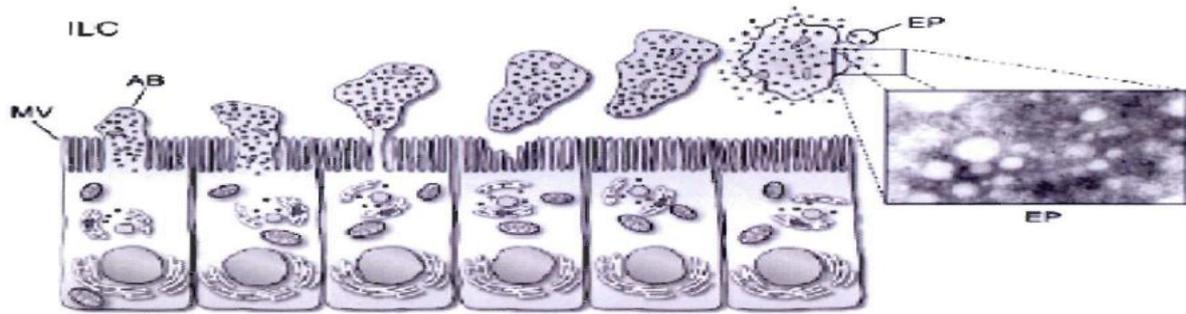


Figure 15 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouard, 2009).

AB : Aposomes; EP : Epididymosomes; ILC : compartiment intra-Liminaire ; MV : microvillosité

3.2 Fonctions de l'épithélium épидидymaire

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

3.2.1. Acquisition de la motilité

Chez la plupart des mammifères, les spermatozoïdes commencent à osciller dans la tête de l'épididyme mais la motilité progressive est acquise dans la région caudale, dans le corps apparaissent des mouvements inefficaces. Après avoir traversé les canaux efférents, les spermatozoïdes sont pris en charge par l'épididyme qui assure leurs transits par les contractions des fibres musculaires lisses qui l'entourent afin de les acheminer vers la queue de l'épididyme (Robaire et Hermo, 1988).

A la sortie du testicule et au niveau de la tête antérieure, les spermatozoïdes sont immobiles. Au niveau des différentes parties de l'épididyme, le déplacement des spermatozoïdes est pris en charge par des mouvements transitoires spécifiques de chacune des parties de l'organe épидидymaire. Le contrôle de cette motilité dépend des facteurs exogènes et endogènes (Thibault et Levasseur, 2001).

3.2.2 Maturation des spermatozoïdes

La progression des spermatozoïdes, immobiles et immature, dans l'épididyme est due à la fois à la pression du fluide entrant produit en permanence par le testicule, et aux mouvements péristaltiques des fibres musculaires lisses qui entourent l'épithélium épидидymaire. C'est en traversant les différents segments de l'épididyme et en s'exposant aux

changements de la composition du fluide variable 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 (Saez *et al.*, 2011).

D'après Boussit (1989), le revêtement glycoprotéique des spermatozoïdes est modifié au cours de leur transfert dans l'épididyme par la perte de la gouttelette cytoplasmique, mais également par l'adhésion de protéines provenant des sécrétions de l'épithélium séminifère.

3.2.3 Modifications membranaires

Les modifications membranaires des spermatozoïdes induits des changements de propriétés de la membrane par modifications des protéines de surface, avec apparition des protéines de maturation et l'évolution des domaines protéiniques (Thibault et Levasseur, 2001).

Certaines protéines sécrétées par l'épithélium épидидymaire ont, quant à elles, une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatifs des spermatozoïdes, qui pourraient avoir lieu lors d'une libération prématurée des enzymes acrosomiales durant le transit épидидymaire (Cornwall et Hsia, 2003).

Parmi les nombreuses enzymes épидидymaire on trouve des phosphatases (acides et alcalines), des enzymes intervenant dans le métabolisme des protéines (protéases et inhibiteurs de protéases) et des sucres (glucosidase et glycosyltransférases). Ces enzymes pourront modifier non seulement le milieu environnant les spermatozoïdes, mais également leur revêtement membranaire (Thibault et Levasseur, 2001).

3.2.4 Stockage des spermatozoïdes

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

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).

3.2.5 Autres fonctions de l'épididyme

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

4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction

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. 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). (Figure 16).

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 sécrétés continuellement à partir de la puberté) qui favorise la spermatogenèse (Widmaier *et al.*, 2009).

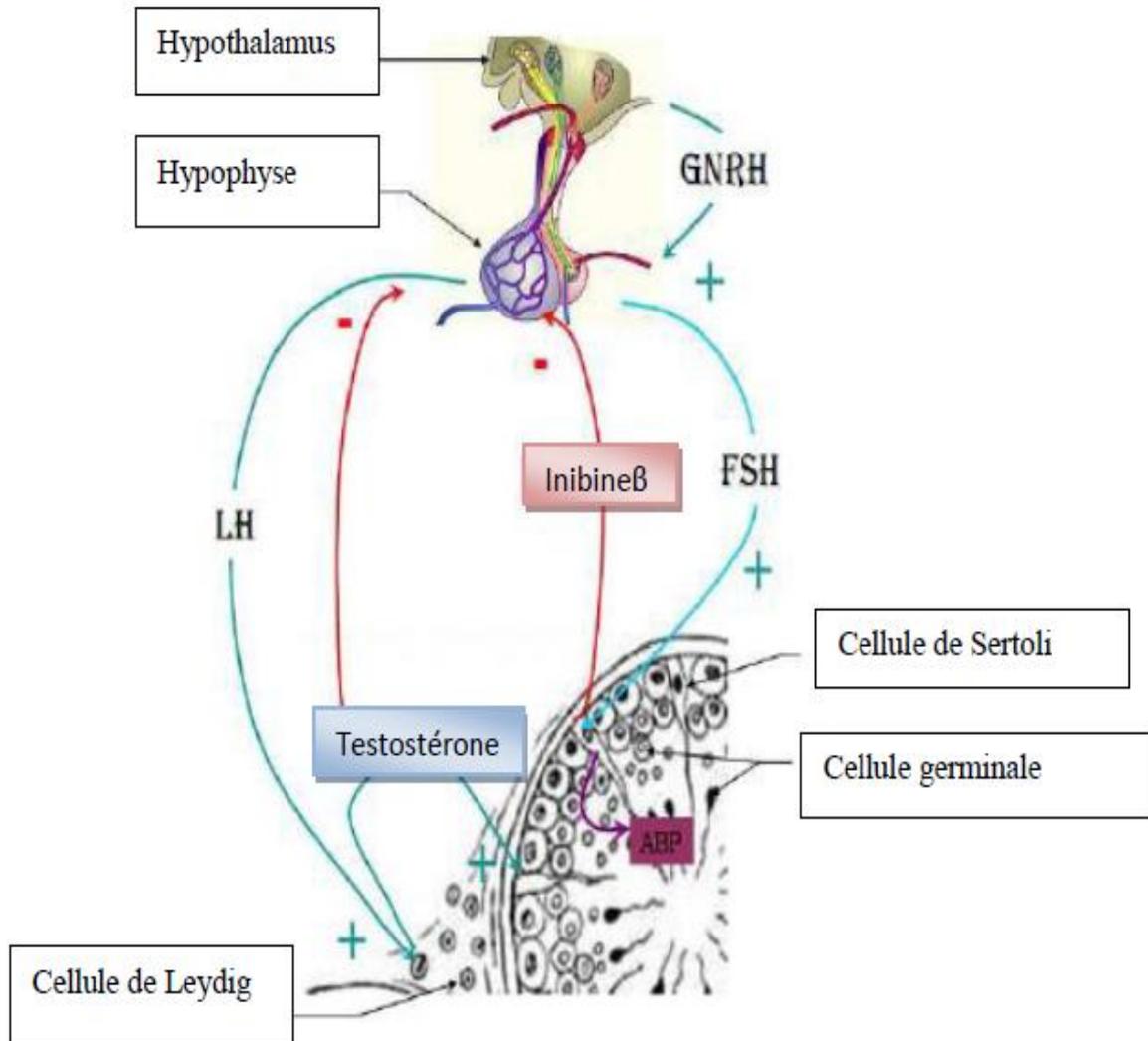


Figure 16 : Axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire
(Christiansen *et al.*, 2002)

4.2 Rétrocontrôle de la sécrétion des gonadotrophines par le testicule

Le contrôle exercé par l'axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire est modulé par un rétrocontrôle assuré par les hormones testiculaires de nature stéroïdienne (testostérone) et protéique (inhibine) (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 GnRH par l'hypothalamus (Bridges *et al.*, 1993 ; Dohle *et al.*, 2003).

Selon l'intensité de la spermatogenèse, les cellules de Sertoli sécrètent l'inhibine β dans le sang (Anderson et Sharpe, 2000).

5. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction

5.1. Effet de la saison

Le comportement sexuel du lapin mâle est sous l'influence de nombreux facteurs ambiants, 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 au 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).

5.2 Effet de la température

Il est connu que le lapin mâle supporte une température de 43° avec une hygrométrie de 30 à 43 % , En effet, les températures élevées ont un effet néfaste sur :

- la fertilité du mâle, en détériorant la production quantitative et qualitative des spermatozoïdes.
- d'une altération de la reproduction chez le mâle (libido, semence) et chez la femelle (œstrus et viabilité embryonnaire) et d'une augmentation des problèmes pathologiques dus aux fortes températures (Oloufa *et al.*, 1951 ; Elsheikh et Casida, 1955 ; Ratjore, 1970).

5.3 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).

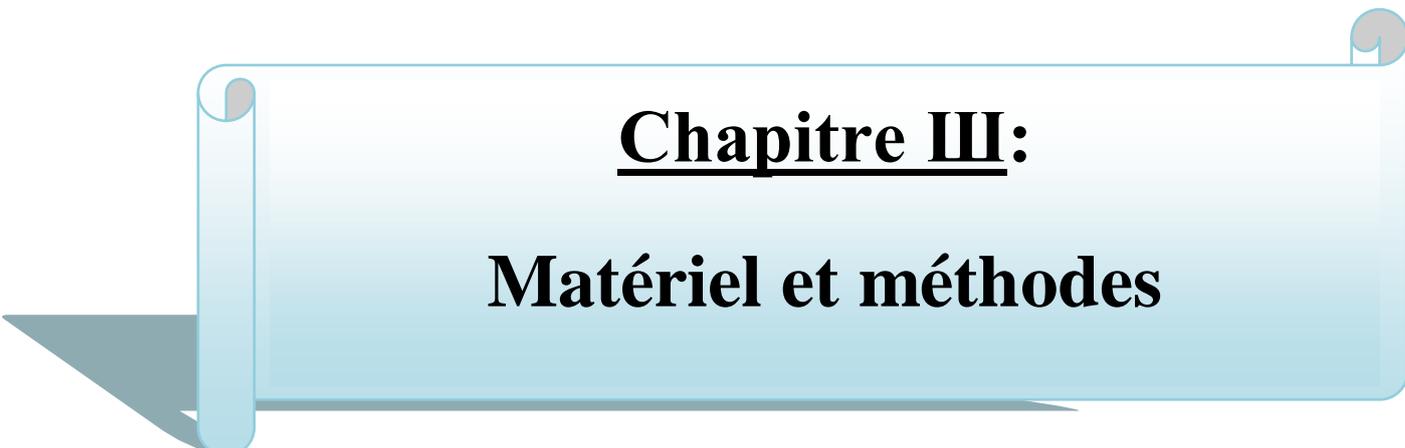
5.4 .Effet d'éclairement et Photopériode

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.

5.5 Effet des l'huiles essentielles

Certaines huiles essentielles ne sont pas sans danger pendant la grossesse et d'autres peuvent porter atteinte à la fertilité de leur utilisateur. La fonction de reproduction peut être touchée à plusieurs niveaux : Bloquer le fonctionnement sexuel dû à une action hormon-like, perturber le développement du fœtus par les effets tératogènes, plusieurs molécules aromatiques s'apparentent à des analogues de molécules oestrogéniques dont l'action est confirmée en pathologie endocrine. Des chercheurs en 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).



Chapitre III:
Matériel et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique (testicule et épидидyme) et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche. L'objectif de ce présent travail est l'étude de l'effet de certains huiles essentielles tels que: la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids gonadique.

1. Matériel biologique

1.1. Modèle animal

La présente étude est portée sur 35 lapins mâles de la population blanche (*Oryctolagus cuniculus*) âgés de 1 mois, provenant d'un élevage cunicole privé situé dans la région de Djebba, wilaya de Tiziouzou.

Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantage dans le domaine de la reproduction et permet la mise en évidence de quelques processus reproducteurs comme les changements morphologiques de cycle épithéliale séminifère (figure 17) (Ewuola et Equinike, 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*

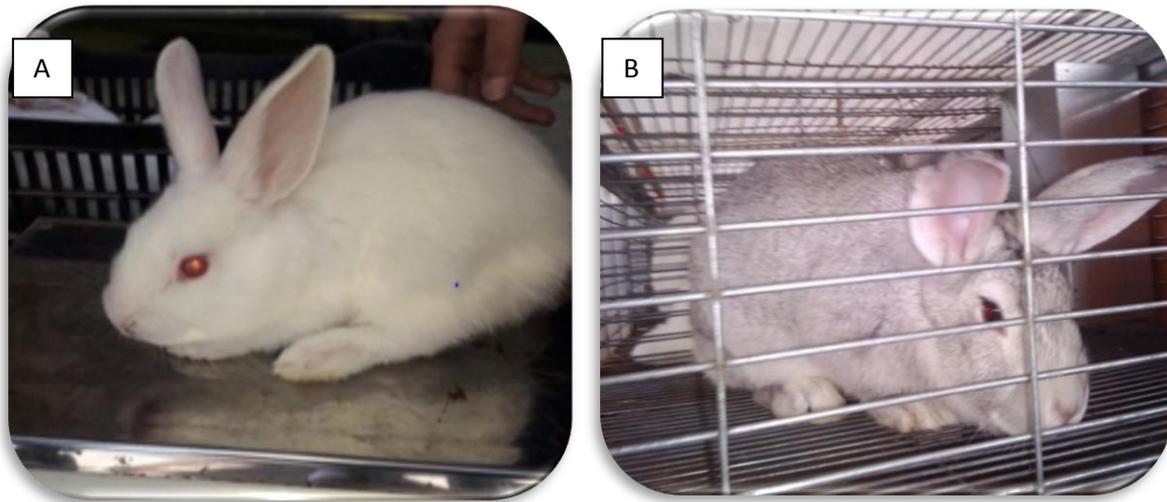


Figure17: Photographie représentant des lapins de la population blanche issus d'un élevage cunicole privé de Djebba (Originale, 2019)

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

1.2. Huile essentielle utilisée

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.

1.2.1. Menthe poivrée (*Mentha piperita*)

La menthe poivrée est l'huile essentielle la plus polyvalente (Figure 18), 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. Cette huile est constituée principalement de menthol (monoterpénol), entre(35 à 70 %), et la menthone (Cétone), entre(20 à 30 %), ainsi que de composés minoritaires tels que la menthofuranne, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les esters (Acétate de menthyle), les oxydes (cinéole),... (Abadlia et Chebbour, 2014).



Figure 18: L'huile essentielle « Menthe Poivrée » (Originale, 2019).

1.2.2. Romarin à verbénone (*Rosmarinus officinalis*)

D'après Aubineau *et al.*, (2002), le nom romarin viendrait du latin «*ros mararinus* » ou «*rosée de mer*» est une herbe aromatique appartenant à la famille des lamiacées. C'est un sous-arbrisseau originaire du bassin méditerranéen, mesurant 1, 50 m de hauteur qui apprécie les sols bien drainés et ensoleillés. C'est l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on la trouve dans tous les jardins.



Figure 19: L'huile essentielle « Romarin à verbénone » (Originale, 2019).

1.2.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

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

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

- Dans une même plante selon l'organe distillé (feuille, fleur, fruit, bois).
- Pour une même plante dans la même année selon la saison,
- Pour une même espèce selon les conditions de culture (ensoleillement, humidité).
- Longueur du jour, fertilité du sol.
- Pour une même espèce selon les races chimiques ou chémotypes (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques).
- Elles sont inflammables et ne contiennent aucun corps gras.
- Elles ont un fort pouvoir de pénétration : en les appliquant sur la peau, il suffit de quelques heures pour en retrouver des traces dans les urines.
- Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation ; par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité ; de ce fait l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée.

1.3. Autres Matériels

Notre expérimentation à nécessiter l'utilisation d'autre matériels tel que, papier filtres, portoirs, micropipettes (10-100µl; 100-1000µl), ciseaux, bavettes, gants, pince, spatule, poire, pissettes, eppendorfs, cassette d'inclusion, cryotubes, moules à paraffine, lames et lamelles, Balance à précision, Centrifugeuse, l'étuve, microtome, microscope optique,...

2. Expérimentation

L'expérimentation s'est effectuée entre le mois de Mai et Juillet 2019, l'administration de l'huile et les sacrifices sont effectués au niveau de l'élevage cynic. Tandis que l'étude

histologique est effectuée au niveau du laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestres au sein de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

2.1. Protocole expérimental

Des lapins mâles âgés d'un mois sont pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées à l'élevage cunicol et répartis en 2 groupes: le 1^{er} groupe est traité par la Menthe Poivrée (14 lapins) alors que le second est traité par le Romarin à verbénone (14 lapins). Chaque groupe est constitué de deux lots, un lot traité par la dose 1 (D1=200 µl/kg) et un autre traité par la dose 2 (D2=300µl/kg). Un lot témoin est constitué par 7 lapins.

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

2.2. Pesée et administration des huiles essentielles

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle à administrer pour chaque animal et chaque dose. Le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin. Cette opération a duré 3 matinées de suite.



Figure 20: Administration de l'huile essentielle « menthe poivrée / Romarin à verbénone» par voie orale (Originale, 2019).

- Pour déterminer les doses nécessaires pour chaque lapin :

- la 1^{er} dose : ➡ 1kg 100 µl
- la 2^{ème} dose : ➡ 1kg 200µl

2.3. Sacrifices et prélèvement

Une semaine après l'administration des l'huiles essentielles, Menthe poivrée et Romarin à verbénone, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9 h : 00 et 12h : 00 au niveau de l'élevage cunicol et le laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestres à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs pour des dosages hormonaux ultérieurs et congelé à 4°C. (Figure 21).

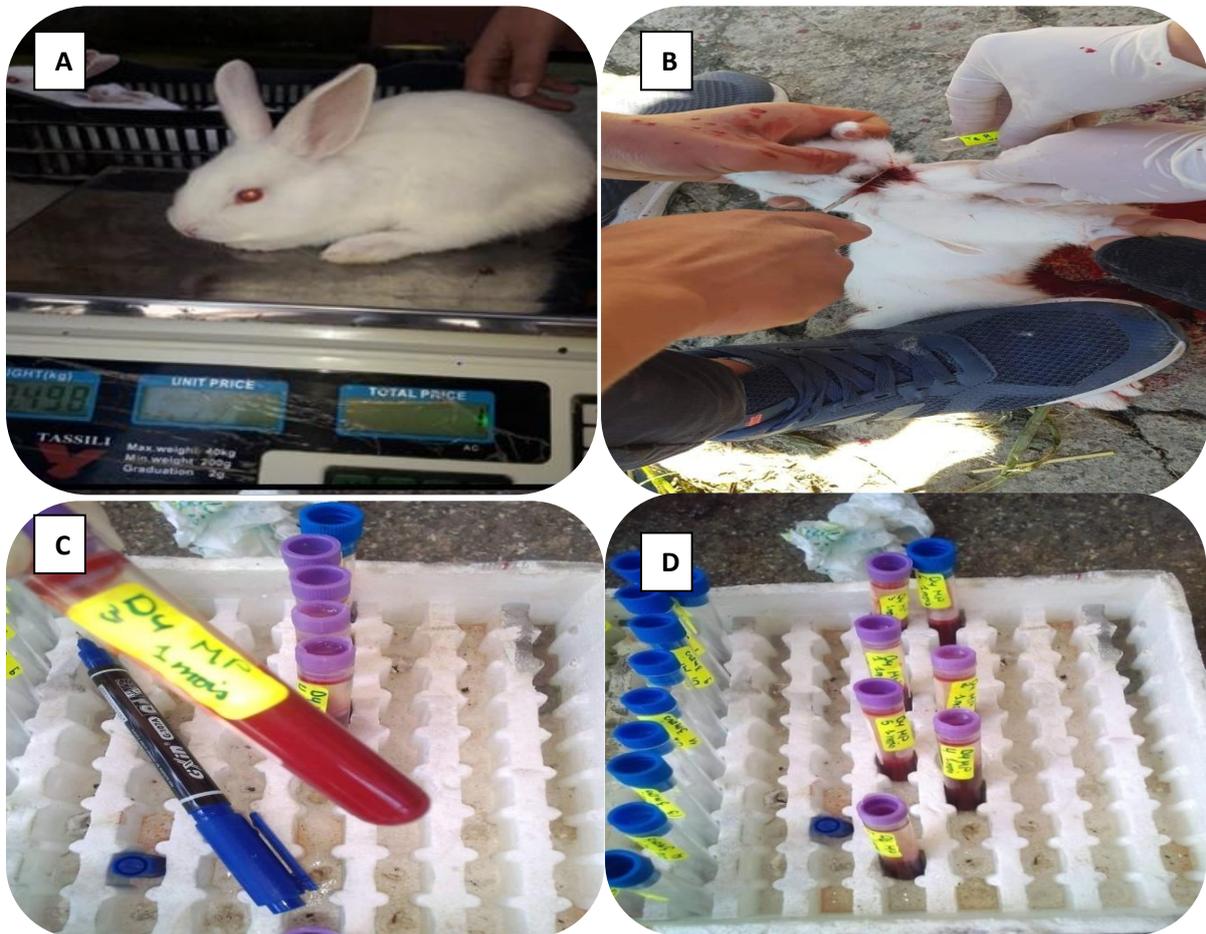


Figure 21: Lapin sacrifié et prise du sang après la prise du poids (Originale, 2019).

A: prise du poids des lapins; **B:** sacrifice des lapins et prise du sang; **C** et **D:** le sang recueilli dans les tubes secs.

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

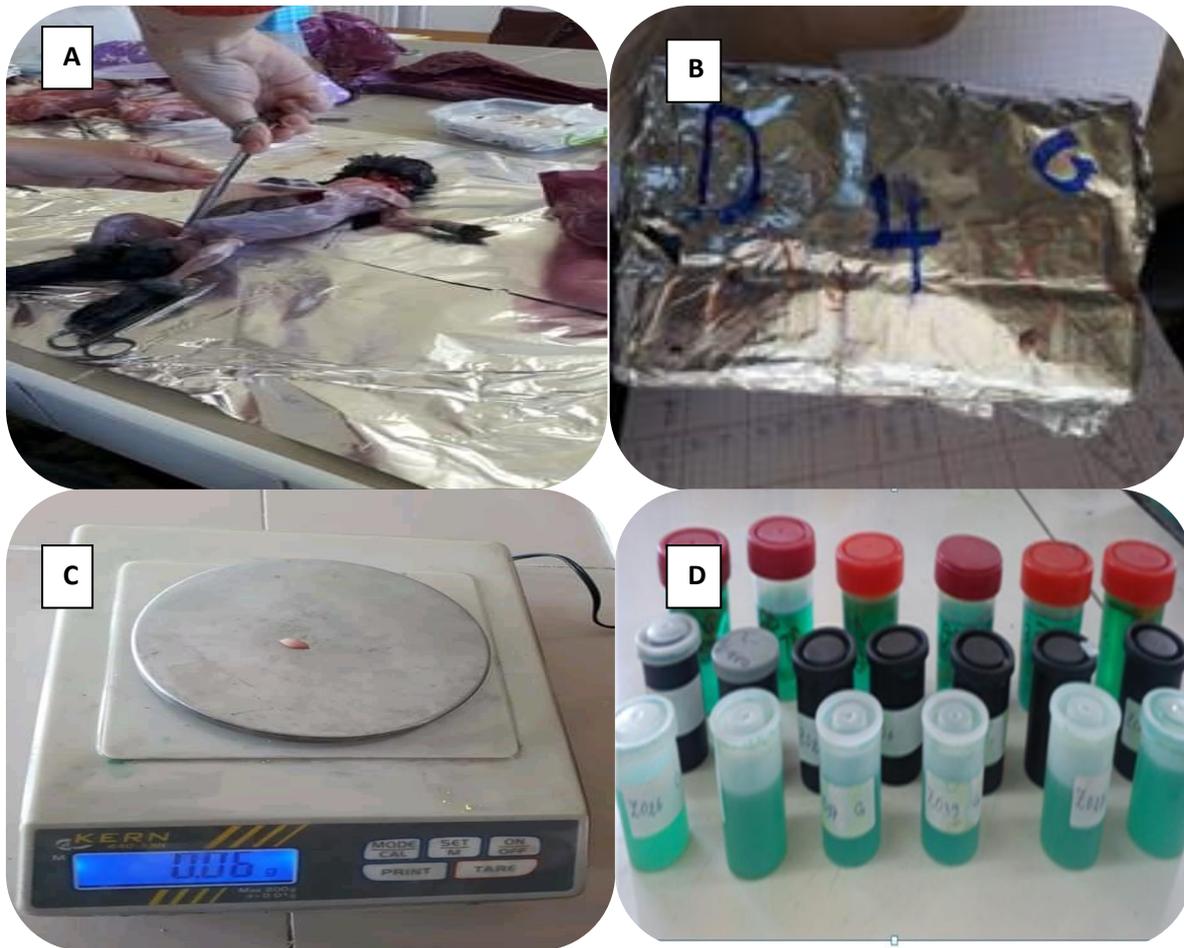


Figure 22: **A:** photographie d'une dissection d'un lapin mâle ; **B:** prélèvement de l'appareil génital mâle du lapin (testicule et épididyme); **C:** Détermination du poids grâce à une balance de précision de 0,01g ; **D:** Piluliers de fixateur contenant les organes génitaux (originale, 2019).

3. Etude histologique

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

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

➤ Observation des lames

3.1. Fixation des échantillons

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

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, Les organes sont maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur, à température ambiante (Figure 23).



Figure 23: fixation des organes par le fixateur Bouin Hollande sublimé (Originale, 2019).

3.2. Déshydratation et éclaircissement

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

3.3. Imprégnation

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

La déshydratation et l'imprégnation sont réalisées grâce à un automate de circulation de type Leica au niveau du laboratoire d'anotomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Ces deux étapes se font après la programmation de l'appareil et l'insertion des cassettes marquées contenant les pièces. (Figure 24).



Figure 24: Appareil de circulation de laboratoire (Lakabi, 2015)

3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Les organes sont placés dans des moules spécifiques dont les formes sont adaptées aux dimensions de l'organe, et dont on a versé de la paraffine au préalable. Lorsque les bordures de la paraffine commencent à durcir, nous plaçons la partie marquée de sa cassette dans le moule, nous coulons de la paraffine fondue jusqu'à ce que celle-ci soit totalement immergée. Les moules sont ensuite posés sur une plaque refroidissante pour durcir. Les blocs obtenus sont démoulés facilement et peuvent être conservés sans dommage (Figure 25).

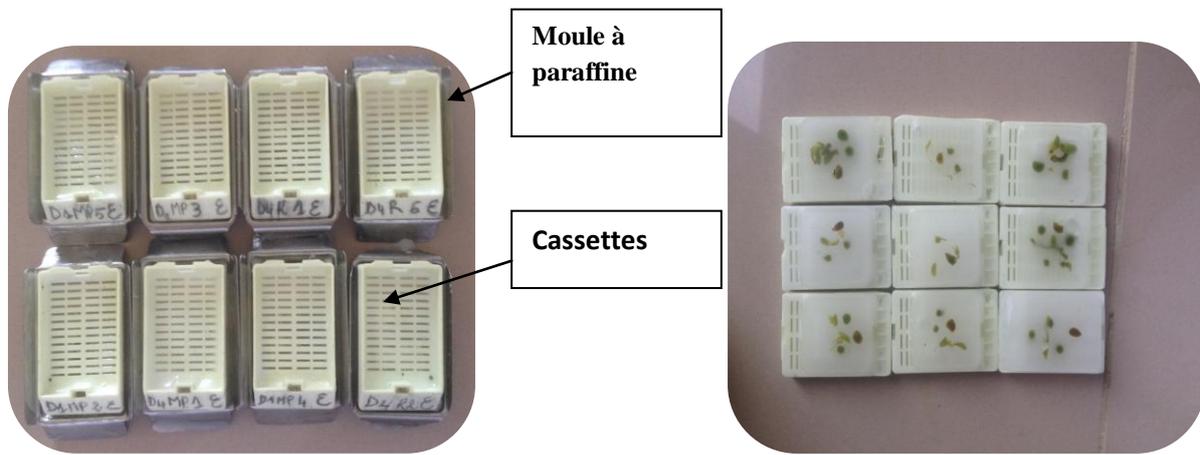


Figure 25 : Organes placé dans des moules qui recevront la Paraffine (Originale, 2019).

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 tout une nuit à 38°C dans une étuve (Figure 26).



Figure 26 : Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite (Originale, 2019).

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, qui est une séquence inverse de celle de la déshydratation (Figure 27). Il consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à de degrés décroissants (100°, 90°, 70°, 50°).

Bains
d'alcool à
degrés
décroissants



Bains de
xylène

Figure 27: Bains d'alcool et de xylène de la circulation (Originale, 2019).

3.7. Coloration topographique et Déshydratation

Pour la coloration de nos échantillons nous avons choisi la coloration topographique de Trichrome de Masson (Figure 28). 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 28: Série d'une coloration topographique (Originale, 2019).

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

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

Cette coloration est suivi d'une déshydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°, 90°, 100°) (figure 29).

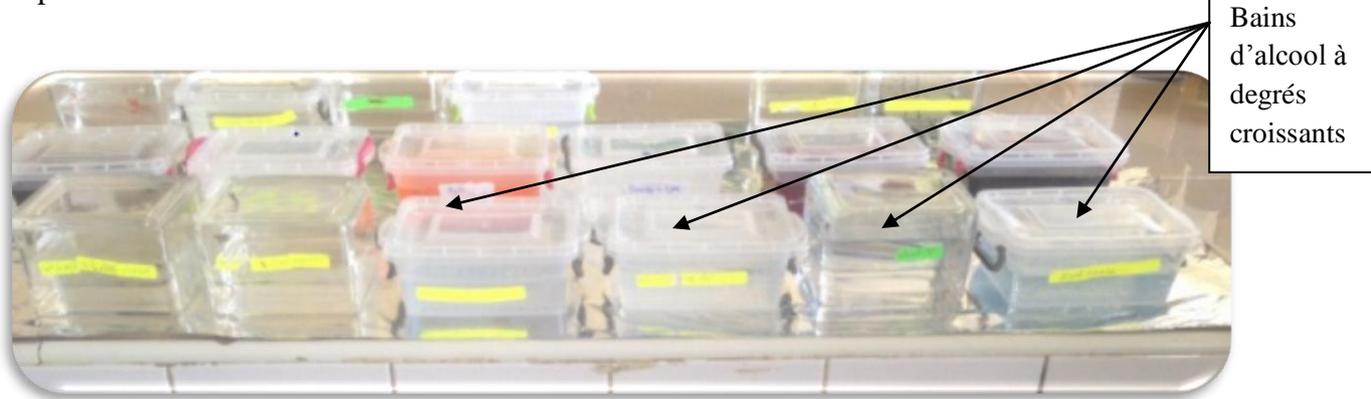


Figure 29: Maquette de déshydratation (Originale,2019)

3.8. Observation des lames

L'observation de lame se fait à l'aide d'un microscope photonique de type optica qui permet d'observer toute variation ou modification des structures histologiques des gonades et épидидymes (figure 30). 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



Figure 30: photographie de l'observation des lames (originale 2019).

4. Etude statistique

Les variables (poids vifs, poids des testicules et épидидymes) 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 liée à la moyenne «ESM ».

La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test d'ANOVA réalisés à l'aide d'un logiciel informatique « OriginLab » 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 VI :
Résultats et discussion

Notre travail porte sur l'évolution du poids corporel avant et après l'administration des huiles essentielles (Menthe poivrée, Romarin à verbènone) ainsi le poids des testicules et épидидymes gauches et droits et le poids relatifs, des lapins infantiles âgés de 1 mois, puis nous avons réalisé une étude histologique sur les structures gonadiques testiculaire et épидидymaire.

1. Résultat de l'étude macroscopique

Les pesées ont été prises deux fois durant l'expérimentation (avant et après l'administration des huiles essentielles) et ont permis de suivre l'évolution pondérale corporelle des lapins infantiles de 1 mois à des doses différentes (dose 1 : 200 μ l et dose 2 :300 μ l).

1.1 Evolution du poids corporel

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

1.1.1 Evolution du poids vif des animaux traités par la Menthe poivrée

Le graphe (Figure 31) présente l'évolution du poids corporel des lapins de 1 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle «Menthe poivrée » à deux doses différentes.

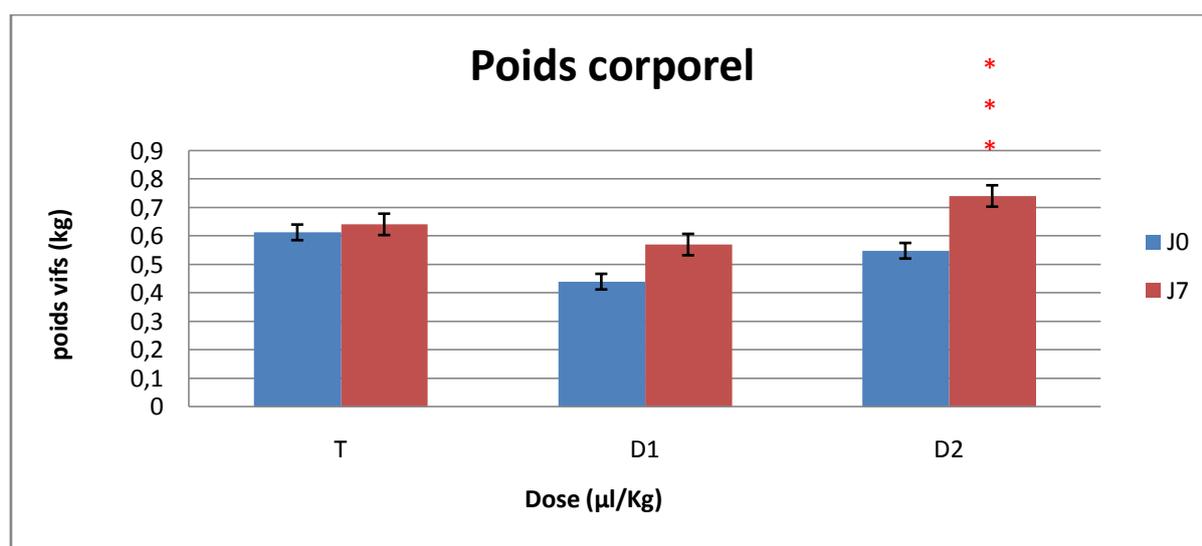


Figure 31 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 1 mois traités par la Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 :200 μ l/kg ; D2 : 300 μ l/kg ; J0 : avant traitement ; J7 : après traitement,

*** : différence très significative entre T et D2 (J7).

L'évolution du poids vif des lapins âgés de 1 mois montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle (J7). Les valeurs moyennes de poids corporel passe de $0,64 \pm 0,043$ Kg de lots témoin à $0,569 \pm 0,023$ Kg de lot dose 1 jusqu'à $0,74 \pm 0,038$ Kg de lots dose 2. Avec une différence très significative ($P=0.001$) entre la valeur moyenne du poids corporel des lapins de lot témoin et dose 2. Tandis qu'avant le traitement (J0) la valeur moyenne du poids corporel de lots de D2 est faible de $0,547 \pm 0,027$ Kg par rapport au lot témoins de $0,612 \pm 0,046$ Kg.

Les valeurs moyennes de poids vif des lapins traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » (J7) sont élevées en fonction de la dose administrée que celles avant le traitement (J0).

1.1.2 Evolution du poids vif des animaux traités par le Romarin à verbénone

Le graphe (Figure 32) présente l'évolution du poids corporel des lapins infantiles de 1 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » à deux doses différentes.

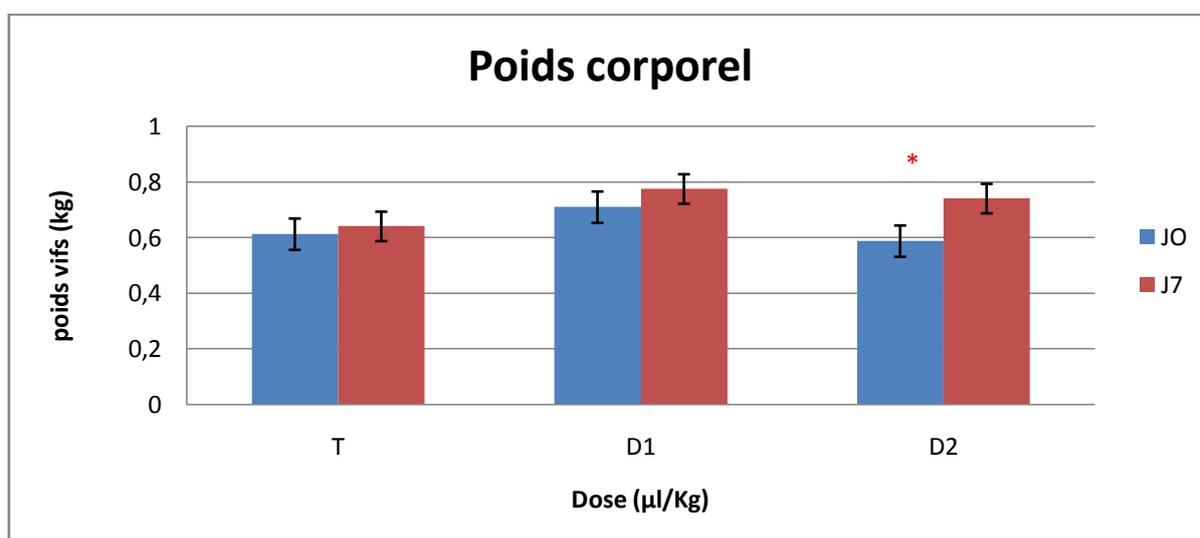


Figure 32 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 1 mois traités par le Romarin à verbénone.

T : Témoin ; D1 : $200 \mu\text{l/kg}$; D2 : $300 \mu\text{l/kg}$; J0 : avant traitement ; J7 : après traitement,

* : différence peu significative entre T et D2 (J0).

L'évolution du poids vif des lapins âgés de 1 mois montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle (J7). Les valeurs moyennes de poids corporel passe de $0,640 \pm 0,043$ Kg de lot témoin à $0,775 \pm 0,061$ Kg de lot dose 1

jusqu'à $0,74 \pm 0,052\text{Kg}$ de lot dose2. Tandis que avant le traitement (J0) la valeur moyenne du poids corporel de lot de D2 est faible de $0,587 \pm 0,056\text{Kg}$ par rapport au lot témoins de $0,612 \pm 0,045\text{Kg}$ avec une différence peu significative ($p=0.05$) entre T et D2.

Les valeurs moyennes de poids vif des lapins traité par l'huile essentielle « Romarin à Verbénone » (J7) sont élevés en fonction de la dose administrée que celles avant le traitement (J0).

1.2. Evolution du poids testiculaire

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

1.2.1 Poids des testicules droits et gauches des lapins traités par la Menthe poivrée

Le graphe (Figure 33) présente l'évolution des poids des testicules gauches et droits des lapins de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle «Menthe poivrée » administrée.

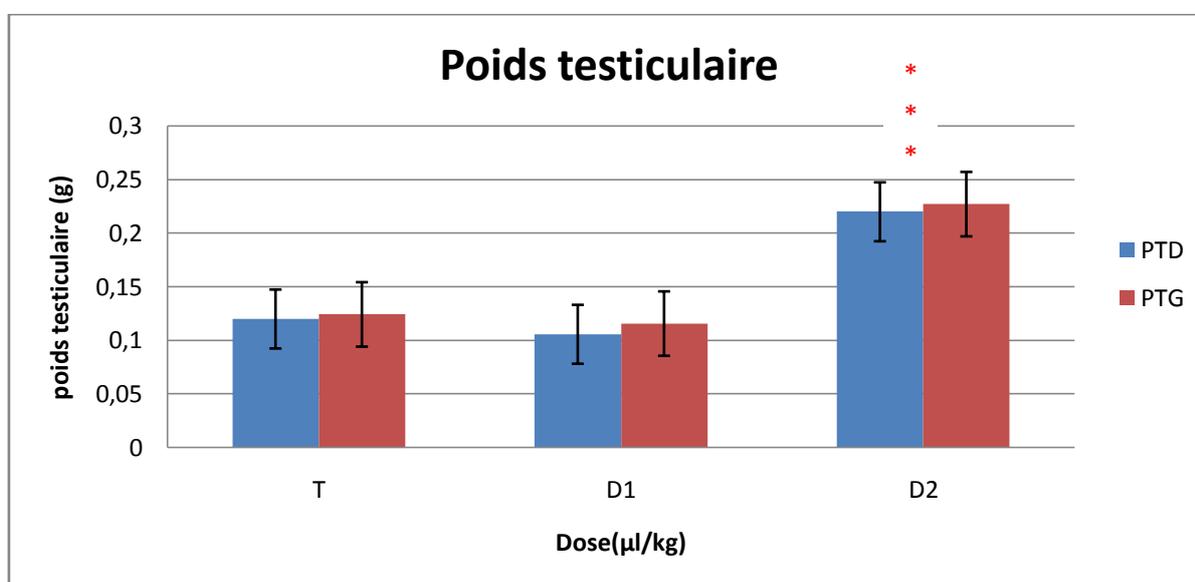


Figure 33 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauche et droits des lapins de 1 mois traités par la Menthe poivrée.

T : Témoin ; D1 : 200µl/ kg; D2 :300/kg ; TG : testicule gauche ; TD : testicule droit,

*** : différence très significative entre T et D2.

Les valeurs moyenne des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée, qui passe de $0,12 \pm 0,010$ (TD) et $0,124 \pm 0,008$ (TG) pour le lot témoin (T) jusqu'à $0,105 \pm 0,012$ (TD) et $0,115 \pm 0,012$ (TG) au lot de première dose (D1) et $0,22 \pm 0,028$ (TD) $0,227 \pm 0,030$ (TG) au lot de

deuxième dose (D2), avec une différence très significative ($p=0.004$) entre T et D2 de poids de TG et de TD. Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauche sont plus élevées que celle de testicule droit.

1.2.2 Poids des testicules droits et gauches des lapins traités par le Romarin à verbénone

Le graphe (Figure 34) présente l'évolution des poids de testicules gauches et droits des lapins de 1 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » administrée.

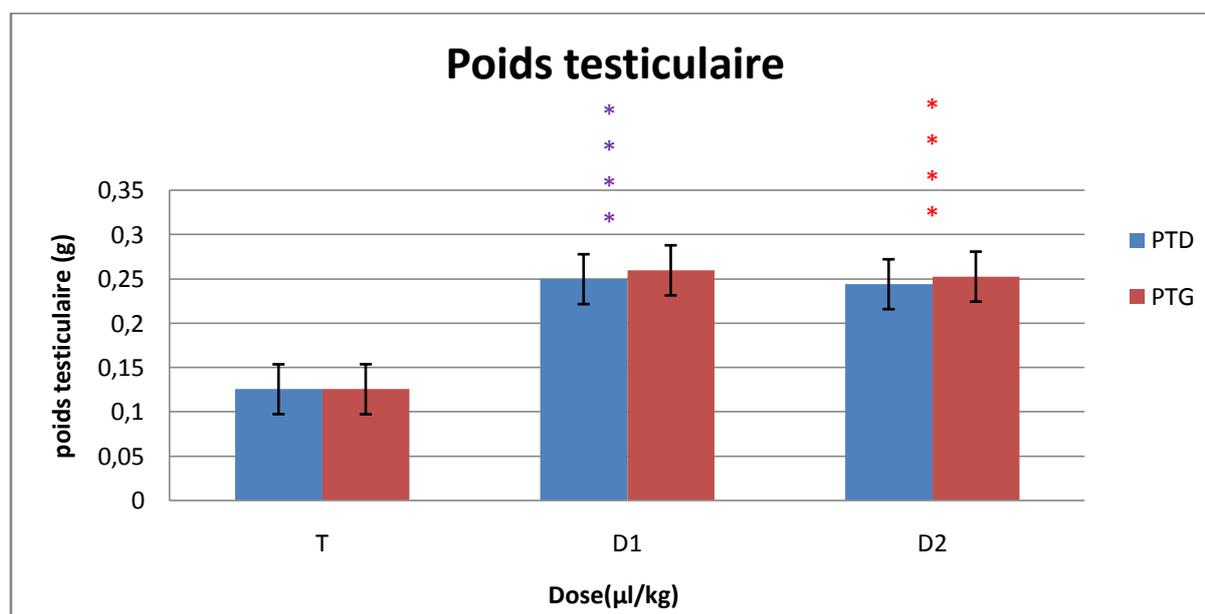


Figure 34 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 1 mois traités par le Romarin à verbénone.

T : Témoin ; D1 : 200µl/kg ; D2 : 300µl/kg ; TG : testicule gauche ; TD : testicule droit,

****:différence hautement significative entre T et D2, ****: différence hautement significative entre T et D1.

Les valeurs moyenne des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée, en effet les testicules des lapins témoins(T) présente un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux(D1) et (D2) et qui passe de 0,125±0,011 (TD) et 0,125±0,008(TG) pour le lot témoin(T) jusqu'à 0,25± 0,029 (TD) et 0,26 ±0,029 (TG) au lot de première dose (D1) et 0,244± 0,028 (TD) et 0,252 ± 0,028 (TG) au lot de deuxième dose (D2), avec une différence hautement significative ($p=0.0003$) entre T et D1 de poids de TG et de TD ($p=0.008$),ainsi

entre T et D2 de poids de TG ($p=0.0003$) et TD ($p=0.0006$). Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauches sont plus élevées que celle des testicules droits.

1.2.3. Evolution du Poids total des testicules

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

1.2.3.1 Evolution du Poids total des testicules pour les lapins traités par la Menthe poivrée

La figure 35 présente l'évolution du poids total de testicule pour les lapins de 1 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée.

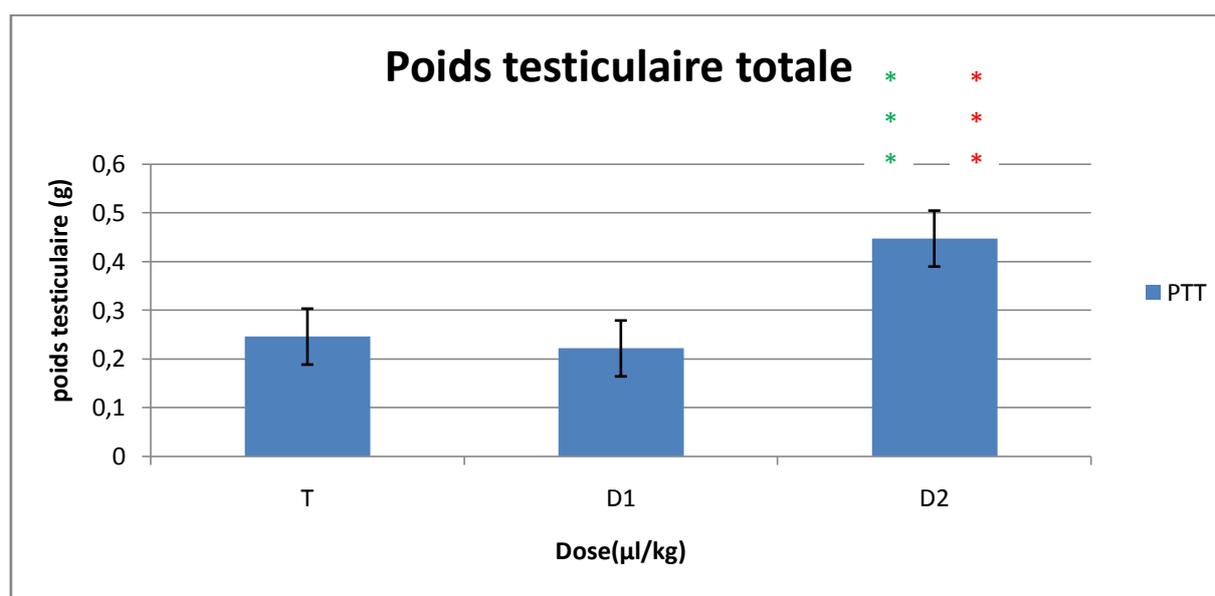


Figure 35: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 1 mois après l'administration d'huile essentielle (Menthe poivrée).

T : Témoin ; D1 : 200µl/kg; D2 : 300µl/k, *** : différence très significative entre T et D2, ***: différence très significative entre D1 et D2.

Les valeurs moyennes du poids total des testicules présentant une augmentation progressive où les valeurs passent de 0,245±0.018 g au lot témoin(T) alors que chez les lapins de lot dose 1(D1) est de 0,221±0,025g jusqu'à 0,447± 0,057g du lot de deuxième dose(D2). Avec une différence très significative ($p=0.0004$) entre T et D2 et entre D1 et D2 ($P=0.002$).

1.2.3.2 Evolution du Poids total des testicules pour les lapins traités par le Romarin à verbénone.

La figure 36 présente l'évolution du poids total de testicule pour les lapins de 1 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «Romarin à verbénone» administrée.

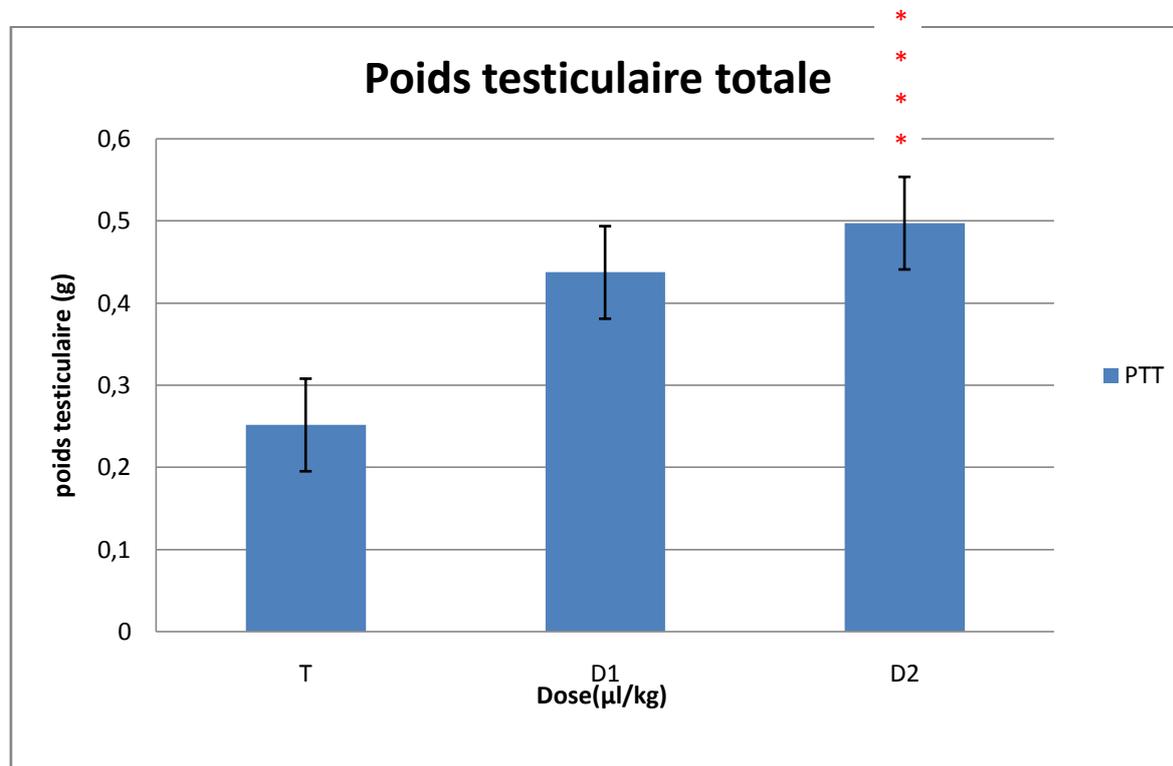


Figure 36: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 1 mois après l'administration d'huile essentielle « romarin à verbénone »

T : Témoin ; D1 : 200µl/kg; D2 : 300µl/kg, **** : différence hautement significative entre T et D2.

Les valeurs moyennes du poids total des testicules présentent une augmentation progressive où les valeurs passent de 0,251± 0,019g au lot témoin(T) à 0,437 ±0,101g au lot dose 1(D1) jusqu'à 0,497± 0,056g du lot de deuxième dose(D2), Avec une différence hautement significative (p=0.0004) entre T et D2.

1.3 Evolution du poids épидidymaire

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

1.3.1 Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins traités par la Menthe poivrée

La figure 37 présente l'évolution du poids des épididymes gauches et droits pour les lapins de 1 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «Menthe poivrée» administrée.

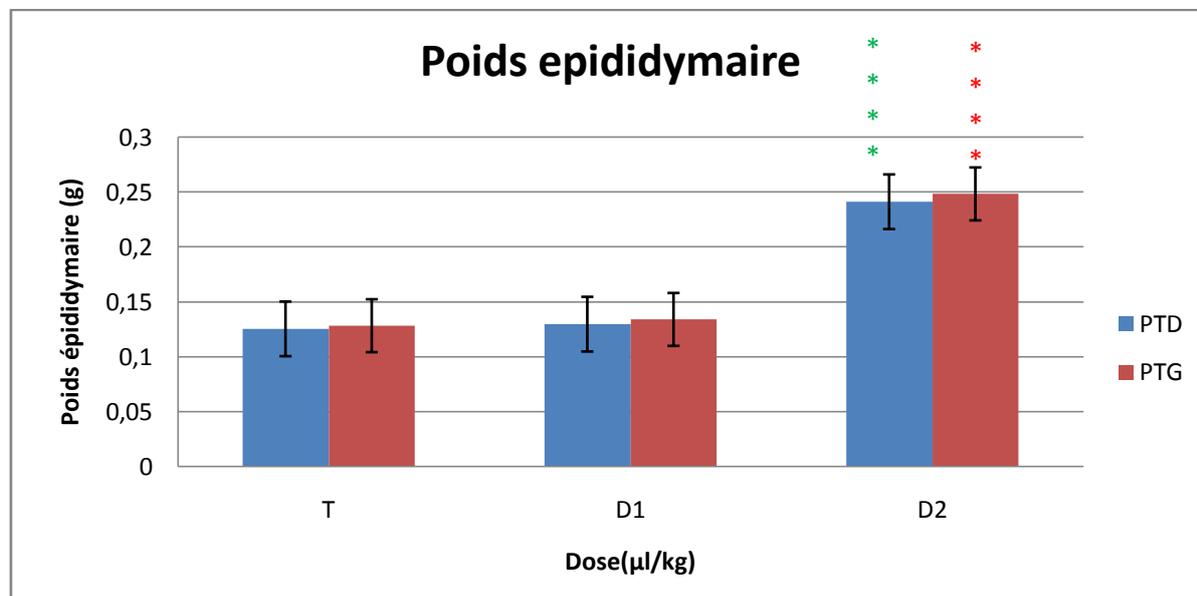


Figure 37: Représentation graphique de l'évolution du poids des épididymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle (Menthe poivrée) administrée.

EG : Epididyme Gauche ; ED : Epididyme Droit ; T : Témoin ; D1 : 200µl/kg ; D2:300µ/kg;
 **** : différence hautement significative entre T et D2 ;***** :différence hautement significative entre D1 et D2.

Le poids de l'épididyme gauche et droit (Figure 37) des lapins de 1 mois d'âge montre une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle (Romarin à verbenone) administrée , en effets les valeurs moyenne du poids epididymaire gauche et droit passe de 0,125±0,011 (ED) et 0,128±0,009 (EG) pour le lot témoin (T) jusqu'un 0,13±0,01 (ED) et 0,134±0,01 (EG) de première dose (D1) puis les valeurs atteint 0,241±0,024(ED) et 0,248±0,024 (EG) au lot de deuxième dose (D2).Avec une différence hautement significative (p=0.0003) entre T et D2 de poids de TG et TD (p=0.0007) et entre D1 et D2 de poids de TG (p=0.0005) et TD (p= 0,0007).

Les valeurs moyennes du poids de l'épididyme droit sont plus élevées par rapport aux poids de l'épididyme gauche.

1.3.2 Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit pour les lapins traités par le Romarin à verbénone

La figure 38 présente l'évolution du poids des épидидymes gauches et droits pour les lapins de 1 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «Romarin à verbénone» administrée

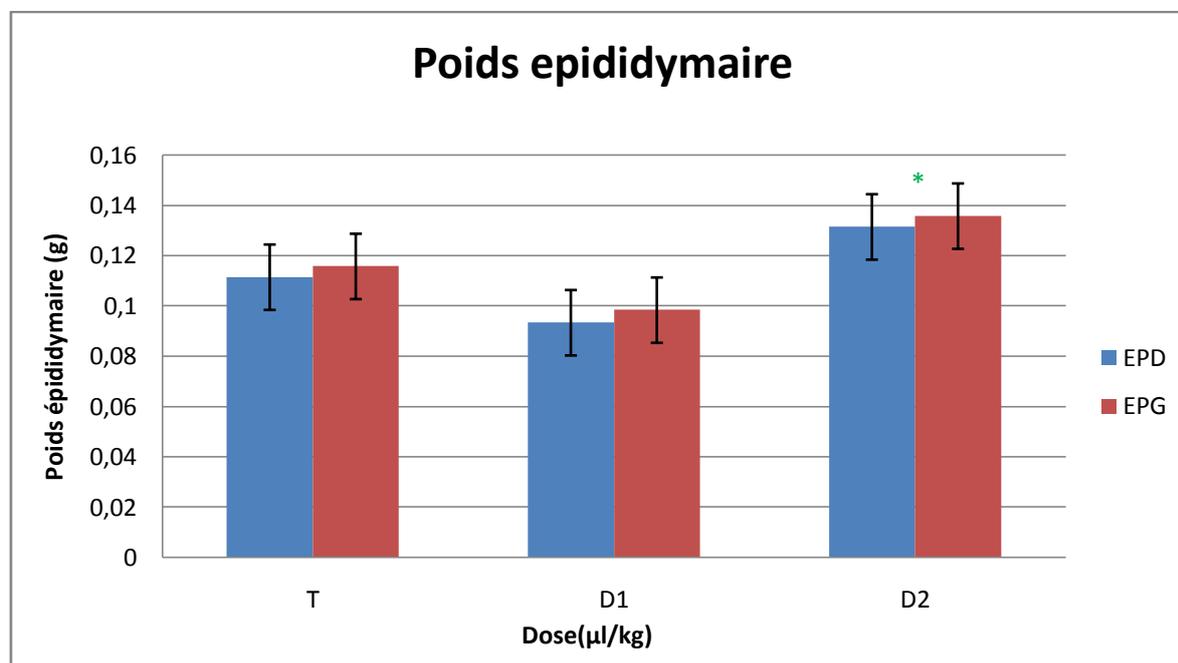


Figure 38: Représentation graphique de l'évolution du poids des épидидymes gauche et droit en fonction de la dose de l'huile essentielle (romarin à verbénone) administrée.

EPG : Epididyme Gauche ; EPD : Epididyme Droit ; T : Témoin ; D1 : 200µl/kg ; D2 : 300µl/kg; *: différence peu significative entre D1 et D2.

Le poids de l'épididyme gauche et droite (Figure 38) des lapins de 1 mois d'âge montre une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle (Menthe poivrée) administrée , en effets les valeurs moyenne du poids épидидymaires gauche et droit passe de 0,111± 0,006 (ED) et 0,115 ±0,008 (EG) pour le lot témoin (T) jusqu'un 0,093±0,008 (ED) et 0,135±0,013 (EG) de première dose(D1) puis les valeurs atteint 0,131 ±0,013 (ED) et 0,135±0,013 (EG) au lots de deuxième dose(D2).Avec une différence peu significative (p=0.03) entre D1 et D2.

1.3.3 Evolution du poids total de l'épididyme total

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

1.3.3.1 Evolution du poids total de l'épididyme total pour les lapins traités par la Menthe poivrée

L'évolution du poids total de l'épididyme pour les lapins de 1 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «Menthe poivrée» administrée est présentée dans la Figure 39.

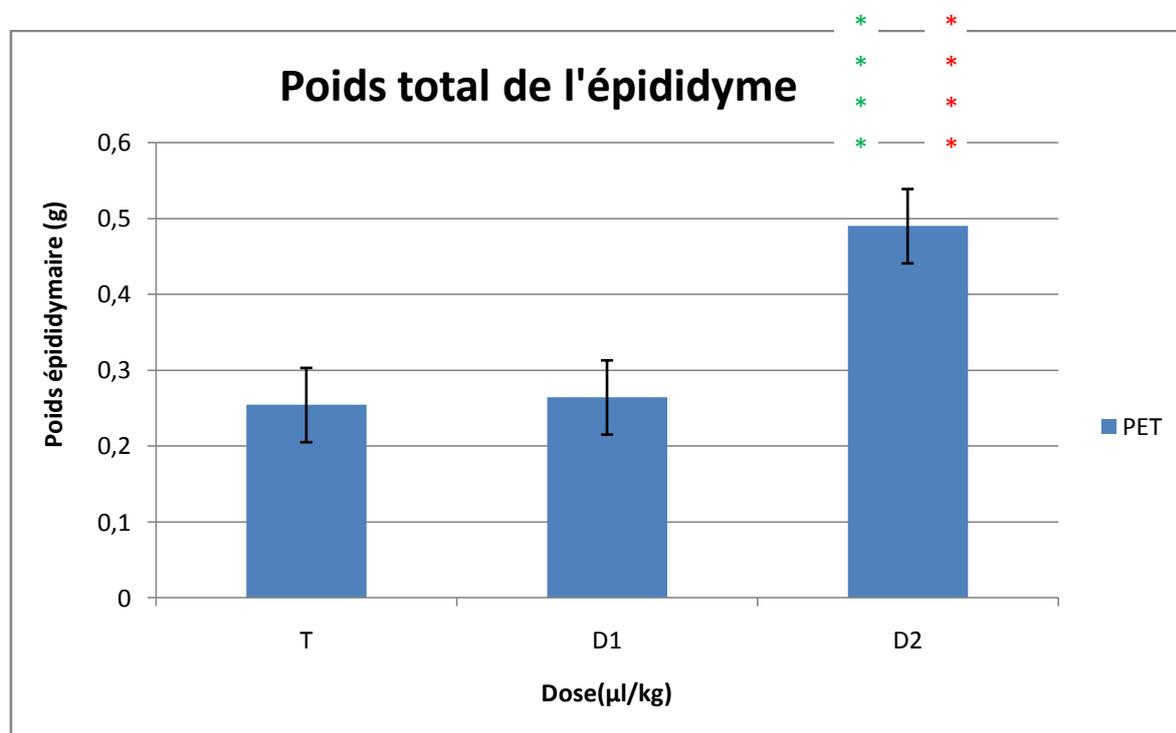


Figure 39 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (Menthe poivrée) administrée.

PET : Poids épididymaire total ; T : Témoin ; D1 : 200 µl/kg ; D2 : 300 µl/kg, **** : différence hautement significative entre T et D2 ; **** : différence hautement significative entre D1 et D2.

Les valeurs moyennes du poids total de l'épididyme présentent une augmentation progressive où les valeurs passent de 0,254±0,0203 g au lot témoin(T) à 0,264±0,020g au lot dose 1(D1) jusqu'à 0,49± 0,048g du lot de deuxième dose(D2). Avec une différence hautement significative (p=0.0004) entre T et D2 et entre D1 et D2 (p=0,0006).

1.3.3.2 Evolution du poids total de l'épididyme total pour les lapins traités par le Romarin à Vèrbénone

L'évolution du poids total de l'épididyme pour les lapins de 1 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «Romarin à Vèrbénone» administrée est présentée dans la Figure 40.

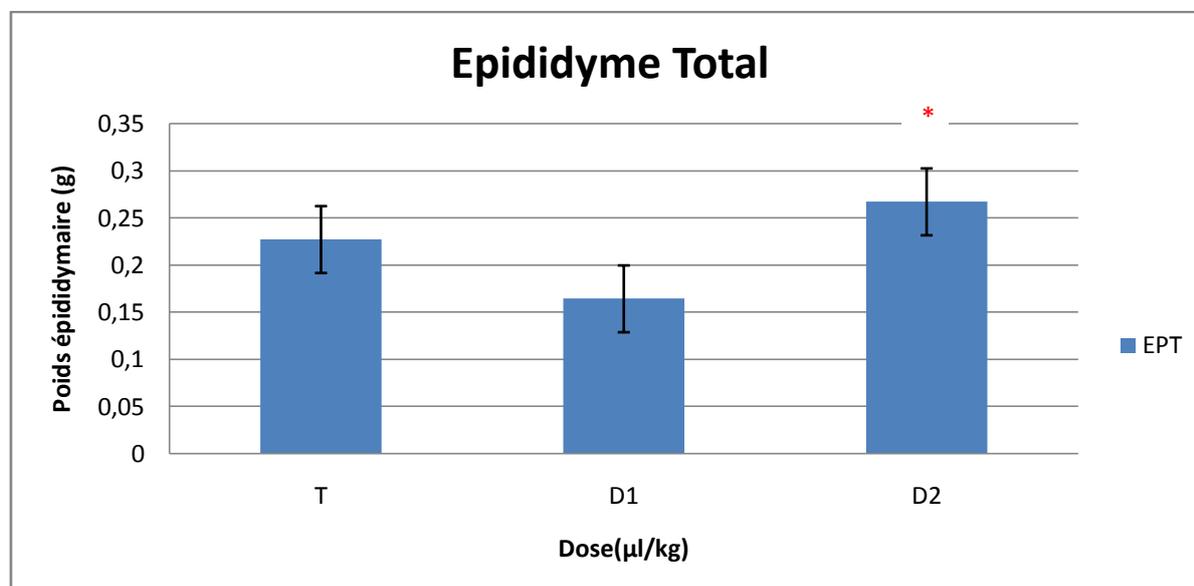


Figure 40 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (Romarin à Vèrbénone) administrée.

T : Témoin ; D1 : 100µl/kg ; D2 : 200µ/kg, * : différence peu significatif entre le T et D2.

Les valeurs moyennes du poids total de l'épididyme présentent une augmentation progressive où les valeurs passent de $0,22 \pm 0,012$ g au lot témoin (T) à $0,34 \pm 0,035$ g au lot dose 1(D1) jusqu'à $0,261 \pm 0,035$ g du lot de deuxième dose(D2) avec une différence peu significatif ($p=0.03$) entre le T et D2.

1.4 Poids relatif des testicules et des épididymes

1.4.1 Évolution du poids relatif des testicules pour les lapins traités par la Menthe poivrée

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapin de 1 mois d'âges administrés de huile essentielle « Menthe poivrée» est présentée dans la figure 41.

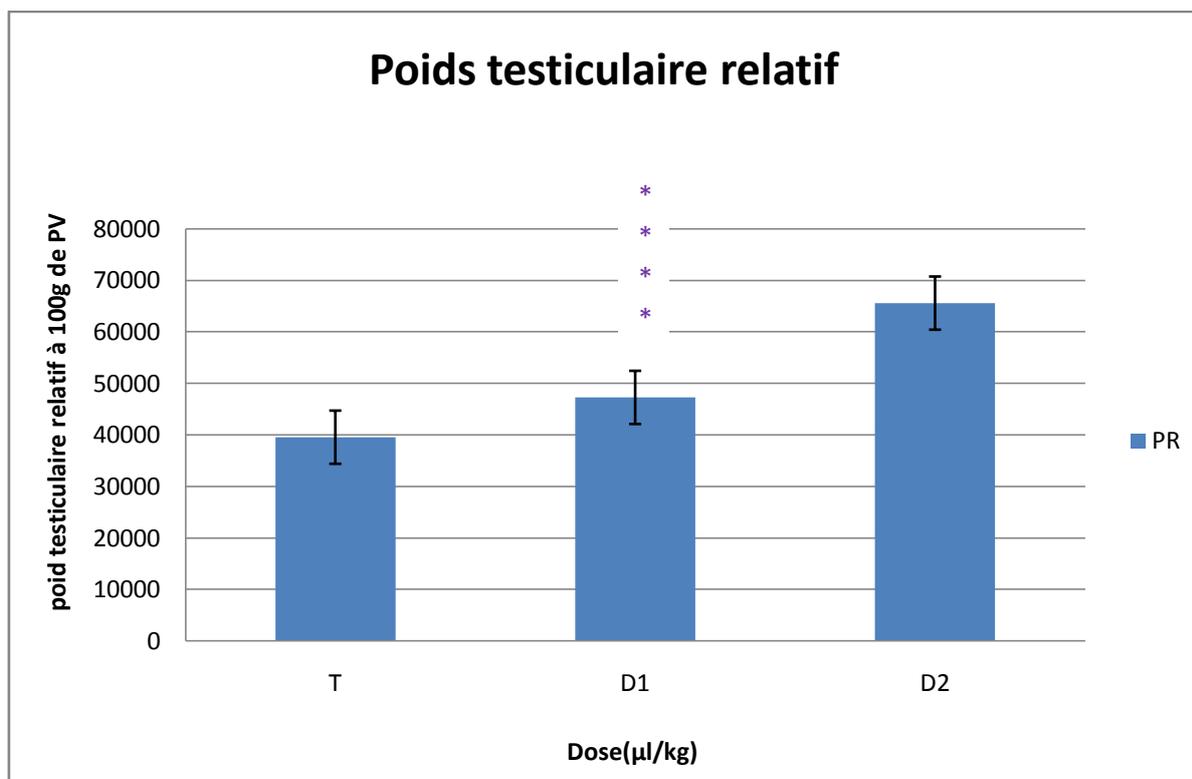


Figure 41: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 1 mois d'âge administrés d'huile essentielle (Menthe poivrée).

PR : poids relatifs ; T : Témoin ; D1 : 200µl/kg ; D2 :300µ/kg. **** : différence hautement significatif entre le T et D.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle «Menthe poivrée» administrée. En effet les valeurs passent de 39417,245 ± 4161,249g au lot témoin (T) à 40624,363 ± 6955,990g au lot de la première dose (D1) puis atteint 59279,107 ± 5943,164g au lot de deuxième dose (D2). Avec une différence hautement significatif ($p=0.00002$) entre le T et D1.

1.4.2 Évolution du poids relatif des testicules pour les lapins traités par le Romarin à verbénone

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapin de 1 mois d'âges administrés de huile essentielle « Romarin à verbénone» est présentée dans la figure 42.

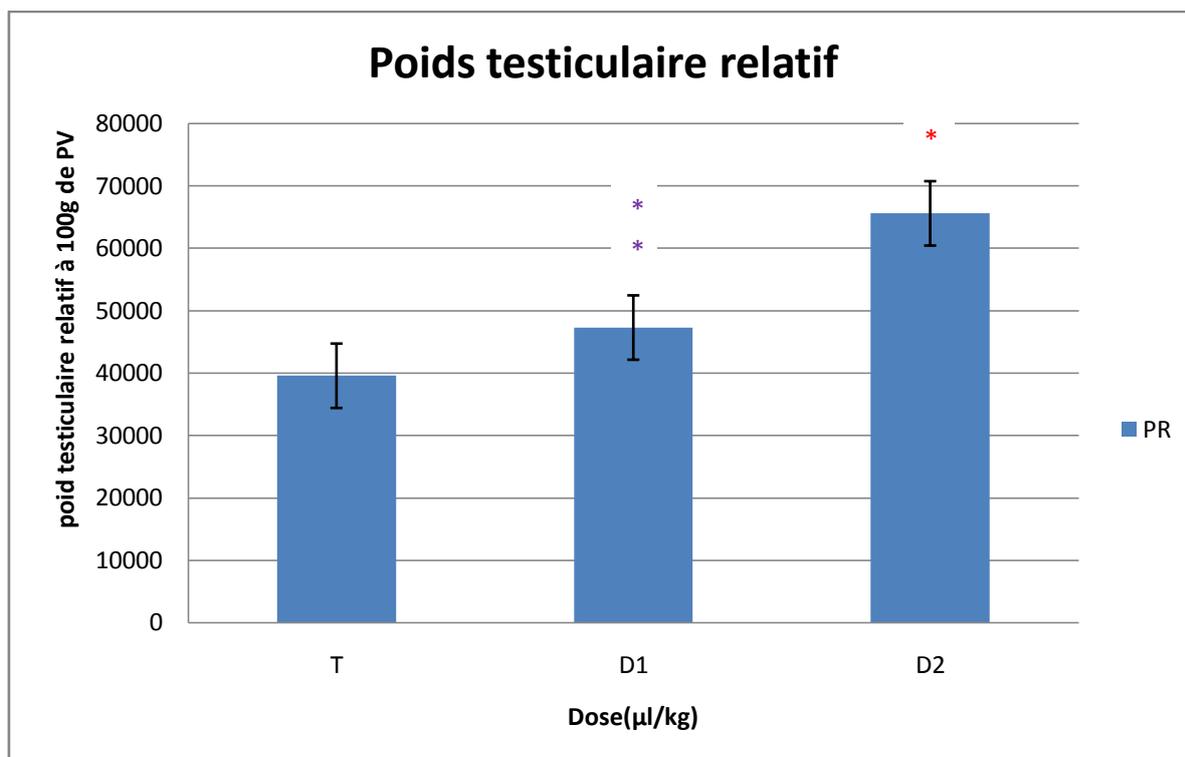


Figure 42: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 1 mois d'âges administrés d'huile essentielle (Romarin à verbénone).

T : Témoin ; D1 : 200µl/kg ; D2 : 300µ/kg, ** : différence significatif (entre le T et D1, *: différence peu significatif entre T et D2.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée. «Romarin à verbénone ». En effet les valeurs passent de $40463,377 \pm 4679,254$ g au lot témoin (T) à $67185,728 \pm 9093,687$ g au lot de la première dose (D1) puis atteint $66738,665 \pm 5522,059$ g au lot de deuxième dose(D2). Avec une différence significatif ($p=0.01$) entre le T et D1 et peu significatif ($p=0,02$) entre T et D2.

1.4.3 Evolution du poids relative des épидидymes pour les lapins traités par la Menthe poivrée

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins de 1 mois d'âge administrés de huile essentielle « Menthe poivrée » est présentée dans la figure 43.

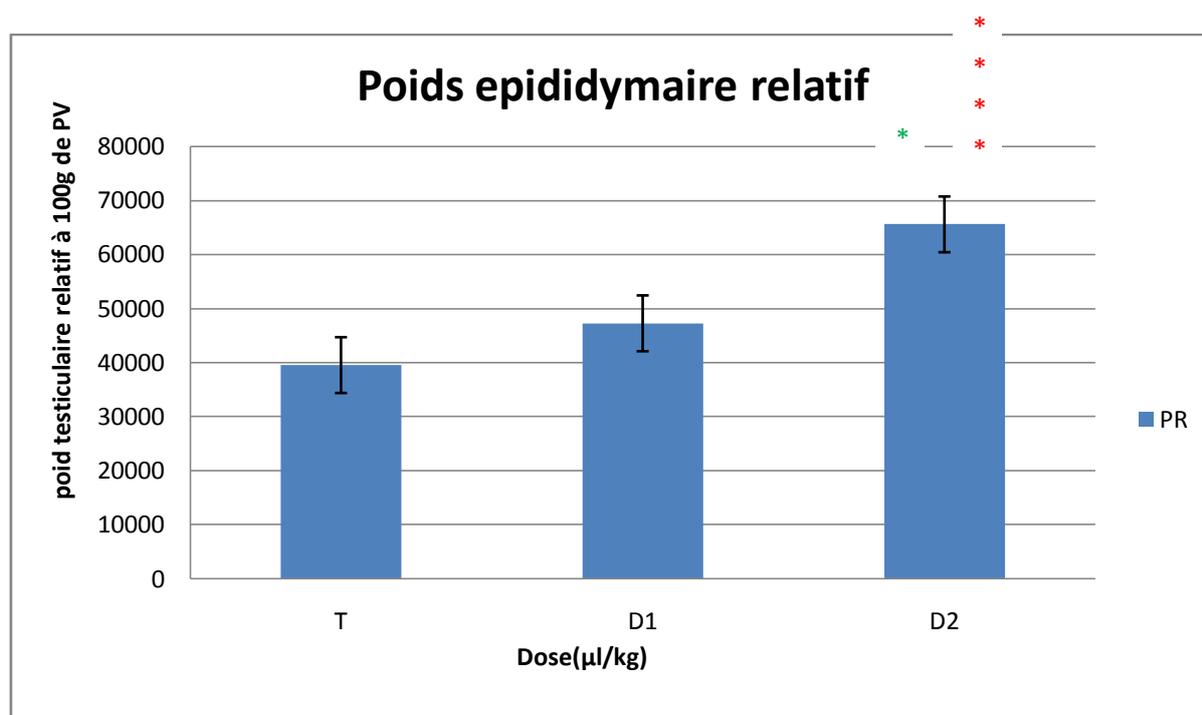


Figure 43: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 1 mois d'âge administrés d'huile essentielle (Menthe poivrée).

PR : poids relatifs ; T : Témoin ; D1 : 100µl/kg ; D2 : 200µl/kg. **** : différence hautement significatif entre le T et D2 ;* : différence peu significatif entre D1 et D2.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle «Menthe poivrée » administrée. En effets les valeurs passent de 39549,969 ± 915,305g au lot témoin (T) à 47280,072 ± 5407,717g au lot de la première dose (D1) puis atteint 65585,323±5160,005g au lot de deuxième dose (D2). Avec une différence hautement significatif ($p=0.0002$) entre le T et D2 et peu significatif ($p=0,02$) entre D1 et D2.

1.4.4 Evolution du poids relatif des épидидymes pour les lapins traités par le Romarin à verbénone

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins de 1 mois d'âges administrés d'huile essentielle «Romarin à verbénone» est présentée dans la figure 44.

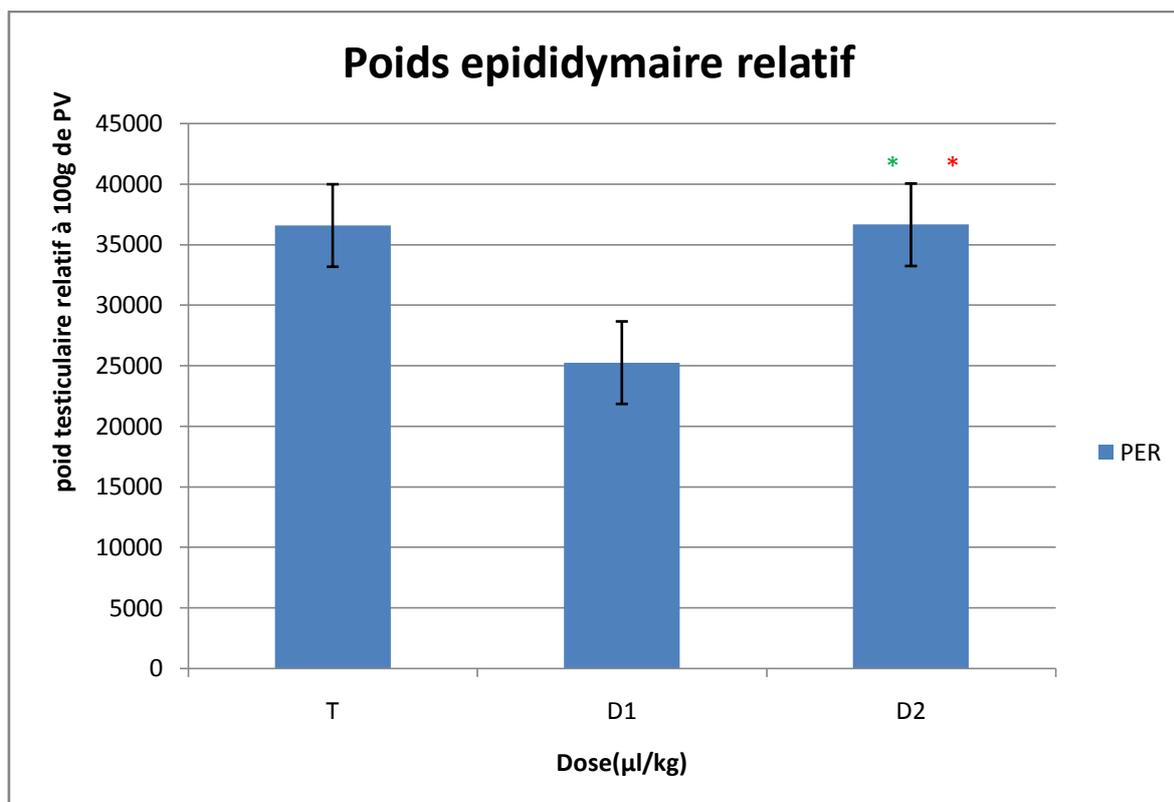


Figure 44: Représentation graphique du poids relatif des épididymes des lapins de 1 mois d'âges administrés d'huile essentielle (Romarin à verbénone).

T : Témoin ; D1 : 100µl/kg ; D2 : 200µ/kg, * : différence peu significatif entre le T et D2, * : différence peu significatif entre le D1 et D2.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épididymes augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle «Romarin à verbénone» administrée. En effet les valeurs passent de 36570,605 ± 4109,923g au lot témoin (T) à 25242,072 ± 3082,958g au lot de la première dose(D1) puis atteint 36633,337 ± 3407,827g au lot de deuxième dose (D2). Avec une différence peu significative ($p=0.04$) entre le T et D2 et entre D1 et D2 ($p=0,02$).

2. Résultats de l'étude microscopique (Histologique)

2.1 Étude histologique testiculaire et épидидymaire des lapins âgés de 1 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 les huiles essentielles la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone à la dose 1 (200 µl/kg) et à la dose 2 (300µl /kg).

2.2.1. Histologie du testicule des lapins

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 1mois est représentées dans la planche 1.

2.1.1.1 Testicules des lapins témoins

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

2.1.1.2 Testicules des lapins traités par la Menthe poivrée

La structure histologique des testicules des lapins traités à la dose 1 (200µl/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 (300ul/kg) montre la présence dans tous les tubes séminifères des spermatoctes I dans l'épithélium séminifère et la présence des cellules de Leydig et myoïdes dans le tissu interstitiel (Planche1 D2).

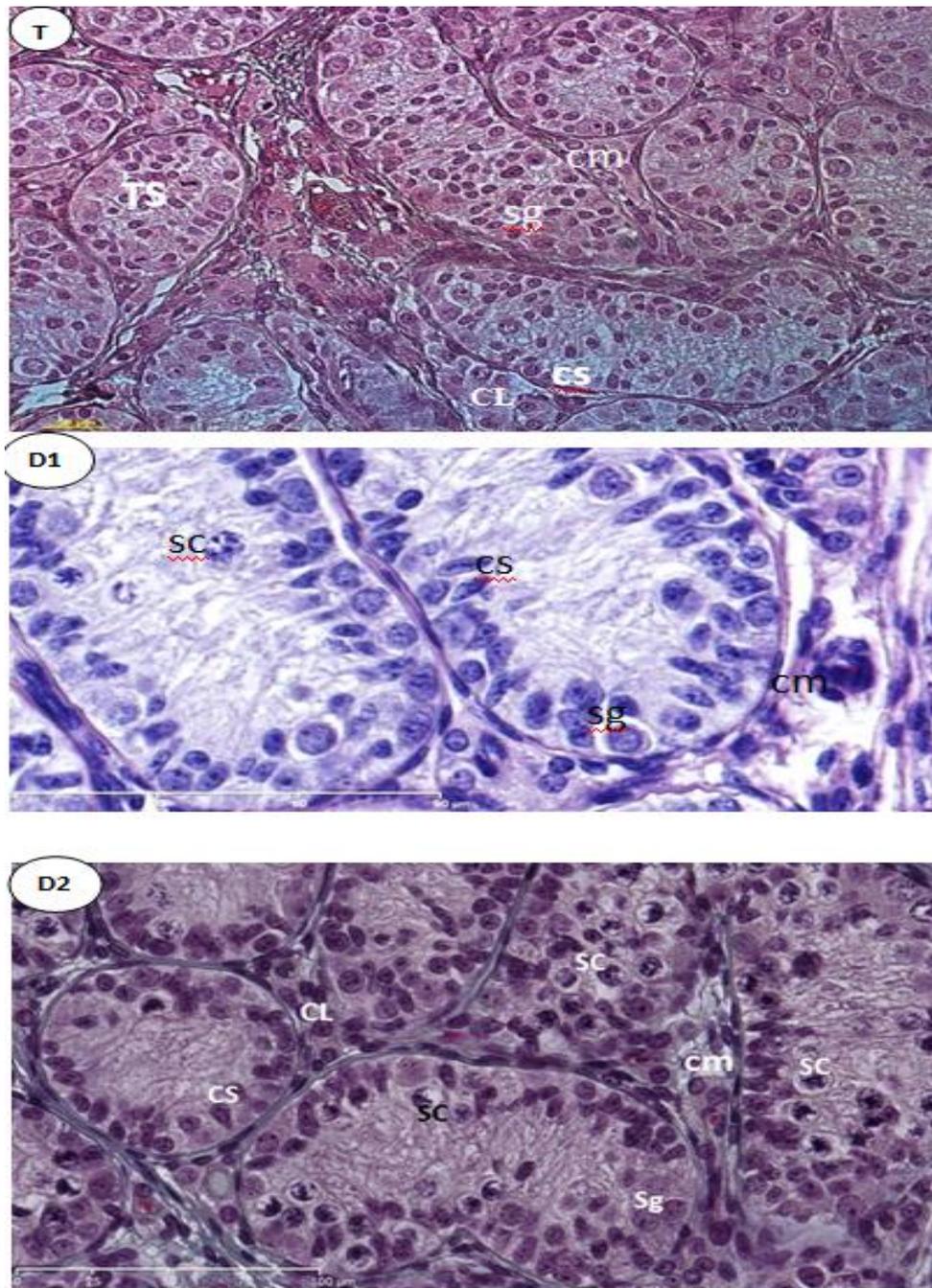


Planche 1: Coupes histologiques des testicules des lapins âgés de 1mois pour lot T, D1 et D2.
(Origine 2019)

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

2.1.1.3 Testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone

La structure des testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone aux doses de 200 µl/Kg (D1) et 300 µl/Kg (D2), révèle la mise en place de la lumière presque sur la totalité

des tubes séminifères avec un épithélium constitué de cellules de Sertoli à noyaux triangulaires, de spermatogonies et spermatocyte I peu volumineuses et moins nombreuses.

L'espace interstitiel moins resserré par rapport aux lapins traités par l'huile essentielle (Menthe poivrée) et prend progressivement la forme triangulaire. Il est constitué des cellules de Leydig qui sont organisées en amas ou bien dispersées dans cet espace et des cellules péri-tubulaires qui entourent les tubes séminifères.

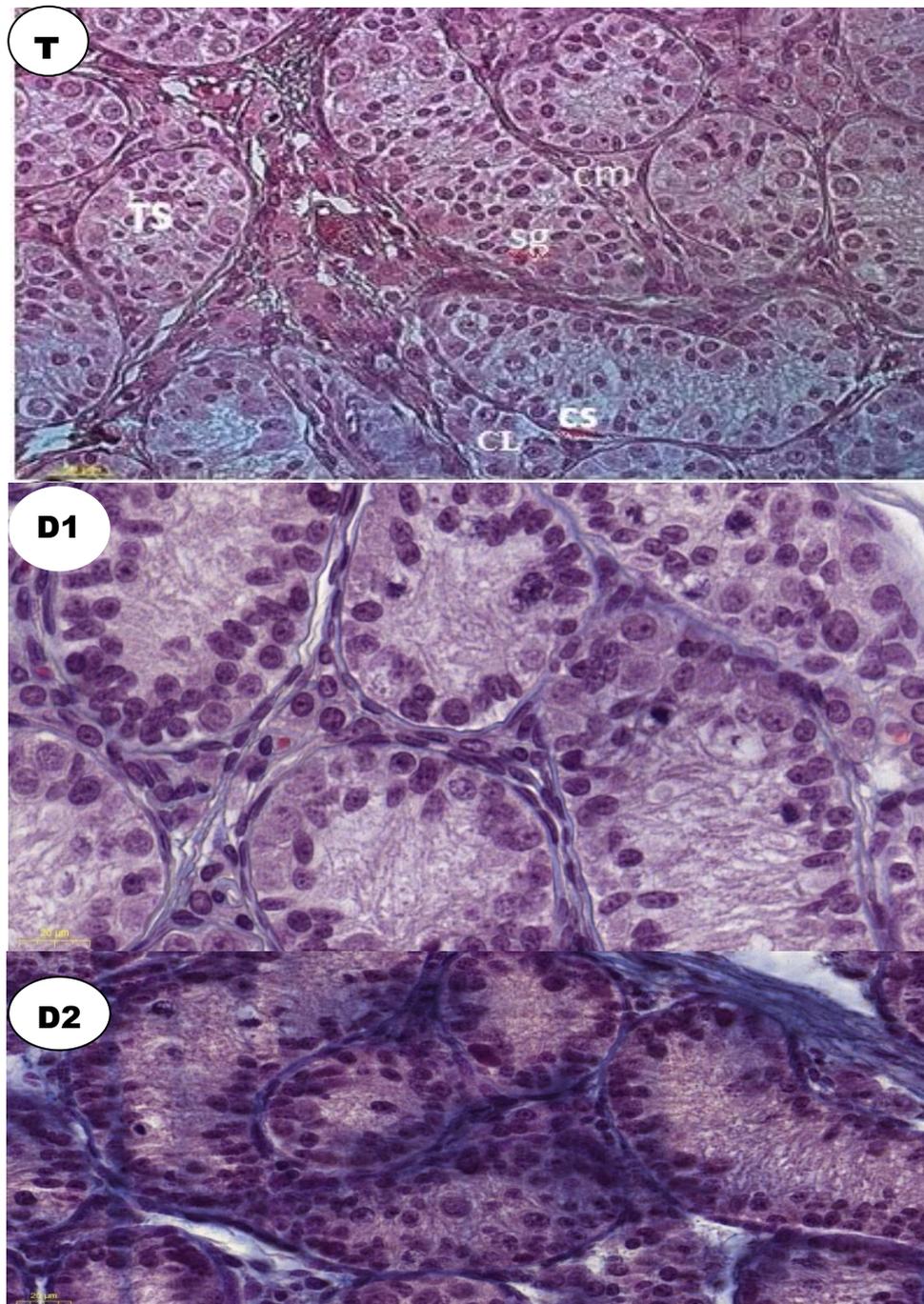


Planche 2 : Coupes histologiques des testicules des lapins âgés de 1 mois pour lot T, D1 et D2.

(Originale 2019)

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

2.1.2 Histologie de l'épididyme des lapins

L'épididyme du lapin infantile est un canal fortement pelotonné. Anatomiquement, il est subdivisé en trois grandes parties : une tête qui coiffe le testicule et constitue l'épididyme proximal, un corps effilé et une queue épaisse qui représente l'épididyme distal. L'observation au microscope photonique nous a permis de distinguer des différences de l'organisation de la structure histologique des épididymes.

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.

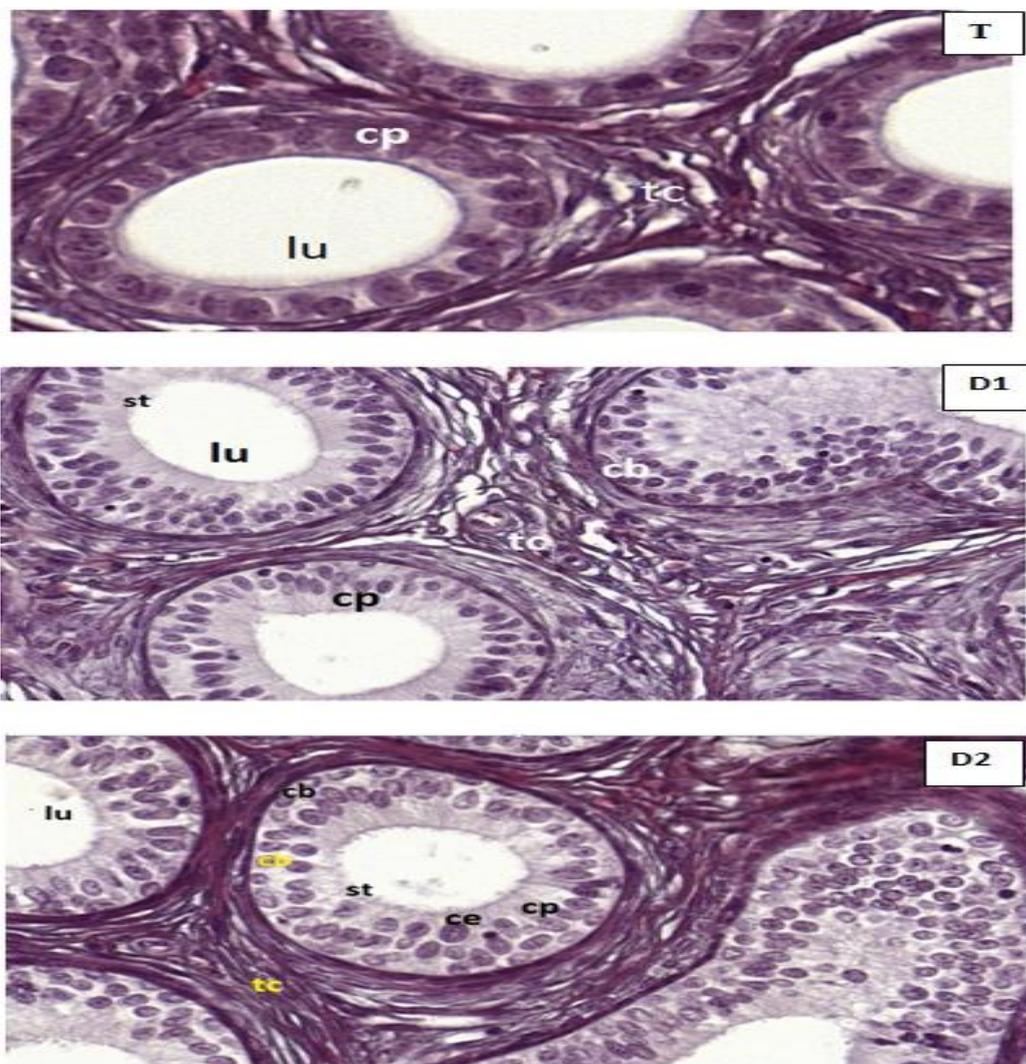


Planche 3: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 1 mois des lots T, D1 et D2. (Originale, 2019)

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

2.1.2.1 Epididymes des lapins témoins

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 2 T).

2.1.2.2 Epididymes des lapins traités par la Menthe poivrée

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 1 (200 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 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 localisées au niveau apical des cellules principales, sont observées (Planche 2 D1).

Pour les lapins traités par la dose 2 (300µl/kg) la structure histologique de l'épididyme présente des variations par rapport aux lapins de lot témoin et lot dose1 (Planche 1 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 réduite par rapport à ceux du lot témoin.

2.1.2.3 Epididymes des lapins traités par le Romarin à verbénone

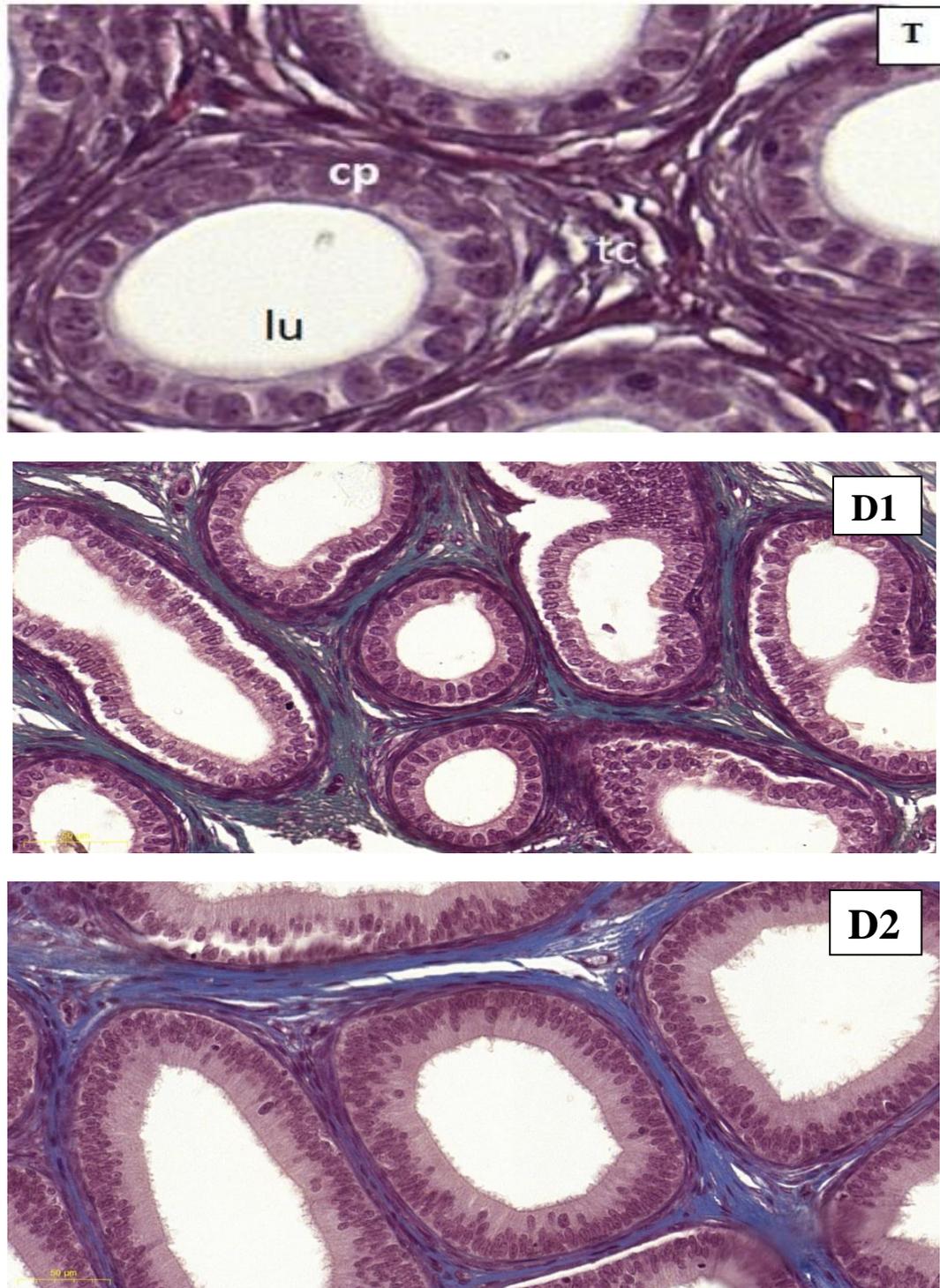


Planche 4: coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins âgés de 1mois des lots D1 et D2. (Originale 2019).

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

L'épithélium des animaux traités par la dose 1 (200µl/kg), de hauteur réduite, est constitué de cellules principales avec des stéréociles courtes et moins nombreuses, de cellules étroites et de cellules basales qui sont moins abondante par rapport à ceux traités par la Menthe poivrée.

Tandis que l'épithélium des animaux traités par la dose 2 (300µl/kg), de hauteur importante par rapport à ceux de la dose 1, est constitué de cellules principales avec des stéréociles développées et plus abondantes, de cellules étroites et de cellules basales.

3. comparaison

L'huile essentielle « Menthe poivrée » présente un meilleur effet que l'huile essentielle « Romarin à verbénone » à la même dose, cela révèle que la Menthe poivrée induit l'apparition d'un nombre plus important de spermatogonies au niveau des tubes séminifères, et permet l'apparition de cellules épithéliales épидидymaire bien développées et en abondance (cellules principales, cellules basales, cellules étroites) au niveau de l'épididyme par rapport à l'huile essentielle « Romarin à verbénone ».

En comparant les lapins traités par les deux doses (D1 = 200µl et D2 =300µl) avec les lapins témoins on constate une augmentation de tout les paramètres chez les groupes traités par rapport aux témoins.

4. Discussion

Dans la présente étude, nous montrons un développement et une évolution progressive des structures gonadiques (testicules, épидидymes) des lapins infantiles traités par les deux huiles essentielles « Menthe poivrée » et « Romarin à verbénone ».

4.1 Paramètres macroscopique

4.1.1 Poids corporel

Cependant, les paramètres macroscopiques (poids corporel, testiculaire et épидидymaire) montrent des valeurs plus importantes chez les lapins traités par l'huile essentielle « Menthe poivrée » par rapport à ceux traités par le « Romarin à verbénone » de ce fait on constate que la Menthe poivrée présente un meilleur effet.

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

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

4.1.2 Evolution des poids testiculaire et épидидymaire des lapins

Le poids testiculaire et épидидymaire des lapins infantiles (âgés de 1 mois) est plus élevé respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle de la menthe poivrée et Romarin à verbénone par la dose 1 (200µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 2 (300µl/kg) par rapport au lot témoin.

Les résultats obtenus sur le développement du poids des testicules et épидидymes des lapins infantiles sous l'effet des deux huiles essentielles la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone à deux doses différentes (200 µl/kg et 300 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*), 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 45ème 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.

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.

Selon Iczkowski *et al.*, (1991) l'augmentation du poids épидидymaire est probablement liée à la prolifération cellulaire due à une importante augmentation des niveaux de testostérone plasmatique entre 4 et 8 semaines d'âge qui a une action directe dans le maintien de la morphologie des cellules principales et dans l'inhibition de l'apoptose (Fan et Robaire, 1998).

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

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).

4.2 Histologie testiculaire et épидидymaire

La structure histologique des testicules et des épидидymes des lapins infantiles (âgés de 1 mois) présente des variabilités microscopiques chez les lapins traités par la menthe poivrée, tel que l'apparition des spermatogonies et des spermatocytes I. Ainsi que la présence d'un épithélium prismatique, et différents types cellulaires prismatiques et basales.

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 200 µl /kg (D1), l'apparition de spermatogonies et de spermatocytes I (cellules arrondies volumineuses aux noyaux ronds) dans tous les tubes séminifères et un tissu interstitiel resserré, tandis que la dose de 300 µl /kg a entraîné l'apparition des spermatocytes I plus nombreuses par rapport à la dose 1 et un vide entre les tubes seminiferes qui prend une forme triangulaire constituée de cellules de leydig pour les lapins infantiles.

Par contre les lapins traités par le «Romarin à Vèrbénone » ont montré des résultats presque identiques que ceux traités par « la menthe poivrée » qui présente un meilleure effet.

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).

D'après Bunsawat *et al.*, (2004), le principal composants actif 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 toxiques, l'huile essentielle de la menthe dont le composé toxique est le menthol.

Les résultats obtenus 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 administré 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 confirmée par l'augmentation du nombre de spermatozoïdes (I et II) et des spermatides 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

Conclusion

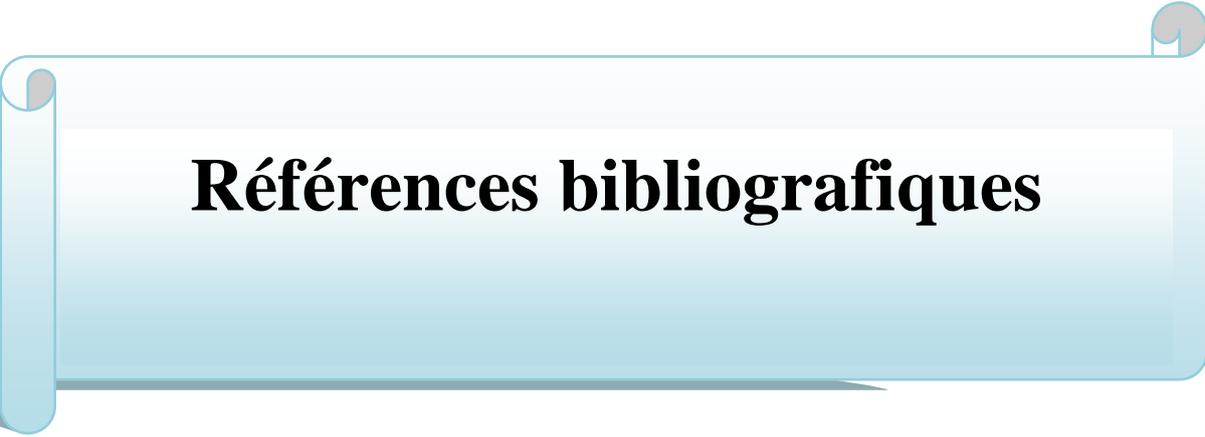
Cette étude préliminaire sur l'influence des huiles essentielles Menthe poivrée et Romarin à Verbénone sur les structures des testicules et épидидyme des lapins infantiles de population blanche a permis d'évaluer de façon expérimentale l'effet de ces huiles.

La présente étude sur les effets de deux huiles essentielles sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids des testicules et l'épididyme) sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle dose 2 puis dose 1 par rapport aux témoins. Cependant l'huile essentielle Menthe poivrée présente des valeurs plus élevées que l'huile Romarin à verbénone.

Sur le plan histologique la Menthe poivrée et le Romarin à Verbénone induit l'apparition des spermatoocytes I dans certains tubes séminifères et de l'épididyme chez les lapins traités par la dose 1 (200µl/kg) et par la dose 2 (300 µl/kg) par rapport aux témoins, qui sont plus fréquent chez ceux traités par la dose 2, et nous avons constaté une richesse en spermatoocytes I chez ceux traités par la Menthe poivrée que chez ceux traitée par le Romarin à Verbénone. Ces deux huiles essentielles ont stimulé le développement de l'épithélium épидидymaire.

De ce fait il semblerait que les deux huiles essentielles aux doses utilisées auront un effet positif sur le développement des testicules et l'épididyme, la spermatogenèse et la fertilité des lapins infantiles âgés de 1 mois.

Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt d'analyser la semence pour identifier les caractéristiques de la fertilité des lapins traités avec les deux huiles essentielles, étudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus, d'effectuer cette expérimentation sur la fertilité féminine lapine, de réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus importantes sur un effectif plus grand.



Références bibliographiques

- **Adamali H. I., Somani I. H., Huang J. Q., Mahuran D., Gravel R.A., Trasler J. M. et Hermo L. (1999).** I. Abnormalities in cells of the testis, efferent ducts, and epididymis in juvenile and adult mice with beta-hexosaminidase A and B deficiency. *J. Androl.*20: 779-802.
- **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, 90 p.
- **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.
- **Alvarino M.R., (1993).** Control de la reproduction en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundi-prensa, 137p.
- **Alvariño J. M. R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. In: Proc. 7th World Rabbit Congresses. Valencia Jul., 2000, vol. 8. (1), 13-35.
- **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.
- **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.
- **Aubineau M., Bermond A., Bongler J., et Roger J-Estardj.; 2002.** Larousse agricole, Larousse VUEF. Canada ,379p.
- **Azzarito C., Boiardi L., Vergoni W., Zini M.,et Portioli I. (1996).** Testicular function in hypercholesteromic male patients during prolonged simvastatine treatment. *Horm. Metab. Res.*, 28 pp: 193-198.
- **Badran. H. H. et Hermo L. (2002).** Expression and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *Journal of andrology*, vol. 23, pp: 358-373.
- **Barone, 1984:** Anatomie comparée des mammifères domestique, tome 3. Splanchnologie 1, appareil digestif, appareil respiratoire, Vigot Eds, Paris, France.
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241-516.

- **Boiti C. (2005).** Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *Worl. Rabbit Sci.* **13**: 71-91.
- **Bonnafous C. (2013).** *Traité scientifique Aromathérapie-Aromatologie & aromachologie édition* Dangles.
- **Bonnes G., Desclaude J., Drogoul C., Gadoud R., Jussiau R., Leloc'h A., Montmeas L. et Robin G., 1988.** Reproduction des mammifères d'élevage.-Paris: Ed. Foucher. 237p (collection INRAP).
- **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.
- **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., et Alice LA. (2004).** Phylogenetics of *Mentha* (Lamiaceae): Evidence from Chloroplast DNA Sequences. *Systematic Botany*. **29** (4): 959-64.
- **Chemes H. E. (2001).** Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int. J. Andrology*. **24**: 2-7.
- **Cheverel Ml. et Cormier M. (1948).** Effets de la carence en vitamine A sur le système génitale male du lapin. *CR acad. sci* ,226-1854.
- **Christiansen P., Andersson Am., Skakkebaek NE., et Juul A. (2002).** Serum inhibin B, FSH,LH and testosterone elevels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism. *European Journal Endoc* **147**, 95-101.
- **Clark BJ, Wells J, King SR, et Stocco DM. (1996).** The purification, cloning and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (STAR). *The journal of biological chemistry* **269** (45): page 224-283.
- **Cooper T. G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J. Reprod. Fert. Suppl.* **53**: 119-136.
- **Cornwall G.A., et Hsia N. (2003).** A new subgroup of the family 2 cystatins. *Mol Cell Endocrinol* **200**, 1-8.
- **Couic-Marinier F. & Lobstein A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*.

- **Christiansen P., Andersson Am., Skakkebaek NE., et Juul A. (2002).** Seruminhibin B, FSH, LH and testosterone levels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism. *European Journal Endoc* 147, 95-101.
- **Curtis S. K. et Amann R. P. (1981).** Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* 53: 1645-1657.
- **Da Silva-Santos A., Antunes A., D'avila L., Bizzo H., et Souza-Santos L. (2005).** The use of essential oils and terpenics/terpenoids in cosméticos. *Perfumer et Flavorist*. PP: 30.
- **Dadoune J P, Hadjhsy P, Vendrly J P. S. (1990).** Histologie. Edition Médecine Science Flammarion, pages 352-353.
- **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.
- **Dupouy J -P, Bourbon J., Fremminet A., Garel J-M., Husson A., Lahlou B., Legrand C, Magre S., MaltierJ-P., Picon L. O., Rose C., et Verdetti J., 1993.** Hormones et grandes fonctions. Edition Marketing. Tome 2. P512.
- **Dym M. R., Raj H. G. M., Lin Y. C., Chemes H. E., Kotitie N. J., Nayfeh S. N., et French F. S., (1979).** Is FSH required for maintenance of spermatogenesis in adult rats? *J. Reprod. Fertil.*, vol. 1. (26), 175-181.
- **EL kalamouni. (2010).** Caractérisations chimiques d'extraits de plantes, 22-38.
- **Eurell J. N. et Frappier B. L. (2006).** Dellmann's textbook of veterinary histology. Blackwell Pub, Ames, Iowa. **F**
- **Ewuola E. O. et Equnike G. N. (2010).** Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reprod.* 139: 439-45.
- **Fan X. et Robaire B. (1998).** Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinol.* 139, 2128-2136.
- **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.**, (1949). *Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie*. -Paris: Ed. Masson et Cie : 979 p.
- **Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M. (2006)**. Effect of Saturejakhuzestanica 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.
- **Hamon R., Thepot N. et Salaun G. (1999)**. *Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. Editions educagri: 132 p.*
- **Hermo L., Adamali H. I. et Andonian S. (2000)**. Immuno localization of CA II and H⁺ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl* 21, 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.
- **Heymon Y. et Vignon X. (2005)**. *Reproduction des animaux d'élevage*. Educagri 2005.
- **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.
- **Hochereau De Reviere M. T. H. et Royere D. (1996)**. Anatomie fonctionnelle du testicule in Dros down sky M. A., Belaisch J. et Vermeulen A. (1996). *Endocrinologie masculine*. Edition Doin, Paris: 35-46.
- **Hoffer A. P., Hamilton D. W. et Fawcett D. W. (1973)**. The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat. Rec.* 175: 169-201.
- **Iczkowski K.A., Sun E.L. et Gondos B. (1991)**. Morphometric study of the prepubertal rabbit testis: germ cell numbers and seminiferous tubule demensions. *Am. J. Anat.* 190: 266-72.

- **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.
- **Junqueira L. C. et Carneiro J. (2007).** Basic histology. 11th ed. *Copyright © The McGraw hill companies.*
- **Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012).** 100 intoxications chez les animaux de compagnie. Maloine, Paris, 185-186.
- **Kirchhoff C. (1999).** Gene expression in the epididymis. *Int RevCytol* 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 82 levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food ChemToxicol.*; 46:3563– 3570.
- **Lakabi L. (2015).** Etude développement postnatal des structures gonadiques et qualité de la semence du lapin mâle de la population blanche. *Thèse de doctorat*, Université d'ummt, Algérie: 148p.
- **Lambard S., D. Silandre, C Delalande, L. Denis-Galeraud, S. Bourguiba et S. Carreau (2005).** "Aromatase in testis: expresion and role in male reproduction." *J Steroid Biochem Mol* 95 (1-5): 63-9.
- **Le Moigne A. et Foucier J. (2009).** Biologie du développement. *7ème Edition.* DUNOD Inc.: 416p.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et De Rochambeau H. (1984).** Le lapin: élevage et pathologie. F. A. 0.éd. Rome: 298 p.
- **Lebas F., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990).** Le lapin: élevage et pathologie. Collection F. A. O: production 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. (2002) Biologie du lapin.** <http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm>.
- **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. Sous chapitre 7. 2. reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (Accès 03/2009).
- **Leesson TS et Leeson RC. (1976).** Histologie. Masson. Barcelone Milan pages: 388403. luminal content. *Biol Reprod* 61, 705-714.
- **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.
- **Macari M. et Machado C. R. (1978).** Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of semen. *Labo. Anim.* 12: 37-39.

- **Marieb N.E. (2006).** Anatomie et physiologie humaines. 6ème éd. nouveau 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. *Andr.* 27: 195-206.
- **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.
- **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.
- **Muller Y. et Clos J. (1997).** La production (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris: 9-31.
- **Nassem MZ., Patil SR. et Patil SB., 1998.** Anti spermatogenic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albino rats. *Journal of ethno pharmacology.* Vol 61: 9-16.
- **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.
- **Robaire B. et Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure functions, and their regulation. In: Knobil E., Neill J. (éd.). *The physiology of reproduction.* New York: Raven press, pp: 999-1080.
- **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.
- **Sabbagh M. (1983).** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. *Thèse de Doctorat Vétérinaire,* Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires: 113p.

- **Saez F., Ouvrier A. et Drevet J. R. (2011).** Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J Androl* 13, 11-17.
- **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.
- **Serre V. et Robaire B. (1999).** Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol. Reprod.* 61: 705-714.
- **Shinkichi T., et Akira Y., 2004.** VEIN (Vétérinaire Exotic Information Network System), appareil uro-génital du lapin. Accès internet: [http//Vein.ne.JP](http://Vein.ne.JP).
- **Siffroi J.P. (2001).** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno: 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.
- **Thibault C. et Levasseur M. C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle Edition, éd. Ellipses (Paris) p: 928.
- **Thomas O, McCracken, Robert A, kainer, 2008.** Color atlas of small animal anatomy. library of congress cataloging-in publication Data. 2^{ème} édition.
- **Tortora G J., Grabowski S R et Parent J C. (1995).** Biologie humaine: Cytogénétique régulation-reproduction. Edition CEC, collégial et universitaire, pages 311-322.
- **Tortora G J. et Derrickson (2009).** Manuel d'anatomie et de physiologie humaine (paris): pages 311-322.
- **Tran N., Servos G. et Haider S. G. (2006).** Ultra structure 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.
- **Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec.-Université Claude Bernard - Lyon 1 France: 1-4.

- **Vaissaire J. P. (1977).** Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Edition Maloine S.A.
- **Veri J. P., Hermo L. et Robaire B. (1993).** Immunocyto chemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J. Androl.* **14**: 23-44.
- **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 differentially regulated in the rat epididymis. *Journal of Andrology*, vol. 17, p. 27-34.
- **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.
- **Young B, Heath J.W, Lowe J, et Stevens A, 2008.** Histologie fonctionnelle de Whaeter. De Boeck université. 467p.



Annexe

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, 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, 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, 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, 1967):

Préparation à froid :

Fuchsine acide 0,1g

Ponceau 0,2g Eau

distillée 300 ml

Après dissolution ajouter:

Acide acétique 0,6 m

Conservation illimitée

Orange G (MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

Vert lumière (MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

Résumé

Le but de notre travail est d'évaluer l'influence de la consommation des huiles essentielles sur la fertilité masculine des lapins appartenant à la population blanche utilisés comme modèle expérimental. Les huiles essentielles sont des produits aromatiques, riche en phyto-œstrogène dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée. Ces composés sont susceptible de modifier le processus physiologique normal de reproduction et de perturber cette fonction. Nous avons utilisé 35 lapins mâles âgés de 4 semaines (1 mois). Ont leurs a introduit deux doses différentes (200µ/kg et 300µl/kg) des huiles essentielles Romarin à verbénone et Menthe poivrée. Après une semaine les animaux sont sacrifiés par décapitation. Les organes du système génital ont été prélevés à savoir les testicules et les épидидymes.

La présente étude sur les effets des deux huiles essentielles sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids totale, poids relatifs) sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par les huiles essentielles dose 2 puis dose 1 par rapport aux témoins. Cependant l'huile essentielle Menthe poivrée présente des valeurs plus élevé que l'huile Romarin à verbénone. 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 spermatogonies, de premières spermatocytes dont certains tubes sont entourés de cellules de Sertoli et au niveau du tissu interstitiel, des cellules de Leydig et myoïdes sont présentes chez les lapins âgés de 1 mois par rapport aux témoins. Ainsi au niveau épидидymaire, la structure révèle l'apparition d'un épithélium prismatique pseudostratifié constitué de cellules principales dont quelque unes présente des stéréocils, des cellules basales à la base, respectivement chez les lapins âgés de 1 par rapport aux témoins.

Mots clés

Lapins mâles –Huiles essentielles (Menthe poivrée et Romarin à Verbénone) –Testicule – Epididyme.

Summary

The aim of our work is to evaluate the influence of the consumption of essential oils on the male fertility of white-stock rabbits used as an experimental model. Essential oils are aromatic products, rich in phyto-estrogen whose safety is not fully proven. These compounds are likely to modify the normal physiological process of reproduction and to disrupt this function. We used 35 male rabbits 4 weeks old. Out introduced those two different dose (200µ / kg and 300µl / kg) essential oils Rosemary to verbinone and peppermint. After a week the animals are sacrificed by decapitation. The organs of the genital system are removed, namely the testes and epididymides. The present study on the effects of two essential oils on macroscopic parameters (live weight, total weight and Relative weight) are higher respectively in rabbits treated with essential oils dose 2 and dose1 compared to controls. However, the essential oil peppermint has higher values than verbinone rosemary oil.

Histologically, peppermint induces significant microscopic variability in dose-2 and dose-1 treated rabbits, such as the appearance such as the appearance in the seminal tubes of spermatogonies, early spermocytes with some tubes surrounded by sertoli cells and at the level of interstitial tissue, leydig and myoid cells are present in rabbits aged 1 month compared to the witnesses. Thus at the epididymal level, the structure reveals the appearance of a pseudostratified prismatic epithelium consisting of main cells, some of which have streocils, basal cells at the base, respectively in rabbits aged 1 compared to the controls. As a result, it appears that the two essential oils at the doses used will have a positive effect on testicular development and epididymis, spermatogenesis and fertility of infant 1 month-old rabbits.

Keywords Male

Rabbits - Essential Oils (peppermint and Rosemary to Verbinone) - Testis – Epididymis.