



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

*En vue d'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques.
Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction (BPR)*

Thème

**Effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée
(*Mentha piperita*) à cinq doses différentes sur la
structure épидидymaire des lapins mâles infantiles de
la population blanche.**

Présenté par :

BENSALEM Kamelia

RABIA Hakim

Présenté et soutenu devant le jury :

Mme GOUCEM-KHELFANE K.	MCA	à UMMTO	Présidente.
Mme. LAKABI L.	MCB	à UMMTO	Promotrice.
Mme. AMROUN T.T.	MCB	à UMMTO	Co-promotrice.
Mme. CHOUGAR S.	MCB	à UMMTO	Examinatrice.

2019-2020

Remerciements

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

Nous voudrions exprimer notre reconnaissance à Madame LAKABI L., Ep. AHMANACHE Maître de conférences B, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacré, nous la remercions pour sa patience et ses encouragements, surtout durant les conditions exceptionnelles de cette année universitaire.

Nous tenons également à remercier Madame AMROUN T.T. Maître de conférences B, d'avoir accepté d'être notre co-promotrice, nous sommes reconnaissants pour le temps que vous nous aviez accordé pour qu'on puisse mener le travail à terme.

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

On exprime nos reconnaissances à Madame CHOUGAR S. Maître de conférences B, qui a bien voulu nous accorder une partie de son temps pour examiner et juger ce travail.

Dédicaces



*À ma Mère et à mon Père qui n'ont jamais cessé de me soutenir.
Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération
pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*



*À mes frères et Sœurs Ghenima, Lakri, Fatma, Faiza, Moh, Yasmina et Said.
Votre précieuse aide m'a permis d'achever ce chapitre, et je vous en suis amplement
reconnaisant.*

*À mes beaux-frères Rabah et Lyes. À ma belle-sœur Hanane
qui m'ont toujours souhaité le meilleur.*



*À mes neveux et à ma petite nièce Raouf, Wahab, Oussama et Khaoula.
Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux
les plus chers et devenir la fierté de vos Papa et Maman.*



*À ma chère Yemma Saâdia qui a toujours prié pour moi
Que Dieu lui prête longue vie et bcp de santé et de bonheur.*



À mon ami Zack qui m'a toujours aidé et encouragé.



*À ma binôme Kamy avec qui j'ai partagé ce travail dans la joie et la bonne humeur.
Que dieu puisse réaliser tes rêves les plus fous.*



*À mes amis Hassina, Céline, Sabrina, Katia, Amine, Amar, Fafi, Radia, Nounou, Kahina.
Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et réussite dans vos futurs projets.*



*Au corps professoral de mon département qui m'a permis de franchir une étape vers le savoir,
à travers des enseignements qui me permettront de réaliser des objectifs plus ambitieux.*



À toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail.



*À tous ceux que j'ai omis de citer
À tous ceux qui me tiennent à cœur.*



Hakim Rabia

Dédicaces

“

*Je tiens d'abord à remercier dieu de m'avoir aidé à réaliser ce mémoire.
J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail de fin d'étude à ceux que j'aime le plus au
monde,
mes très chers Parents qui m'ont apporté leur soutien dans les moments les plus difficiles
avec tant d'amour et d'affection, que dieu vous protège et vous garde pour moi.*

✿

*A ma sœur Karima et mes frères Karim et Ouanes qui ont toujours cru en moi, merci de
m'avoir encouragé et soutenu dans tous ce que je voulais faire.*

✿

*A ma belle-sœur Kamilia et mon beau-frère Hakim, merci pour votre soutien et vos
encouragements.*

✿

*A mes très chers neveux Aris et Idir, puisse dieu vous garder et vous aider à réaliser vos
vœux.*

✿

A mon binôme Hakim avec qui j'ai l'immense plaisir de partagé ce travail.

✿

*A mes amis Amar, Amine, Katia, Hassina et Sabrina merci pour tous les moments partagés
ensemble.*

”

Kamelia Bensalem

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas <i>et al.</i> , 1996).	3
Figure 2 : Schéma des structures intra-testiculaires (Mandon, 2015).	5
Figure 3 : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007)...	6
Figure 4 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993).	7
Figure 5 : Schéma du spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009).	9
Figure 6 : Vascularisation du testicule (Sobotta, 2010).	11
Figure 7 : Schéma d'un épидидyme (Glover et Nicander, 1971 ; Hamilton, 1990).....	12
Figure 8 : Schéma représentatif de l'épididyme de la souris (Breton et Da Silva, 2012).....	13
Figure 9 : Schéma des cellules épидидymaires (Mandon, 2015).....	14
Figure 10 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).	17
Figure 11 : Cycle spermato-génétique du lapin (Boussit, 1989).....	20
Figure 12 : Schéma de la différenciation germinale (Marieb, 2005).	21
Figure 13 : Axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire (Christiansen <i>et al.</i> , 2002)	25
Figure 14 : Photographie représentant un lapin âgé d'1 mois de la population blanche issu d'un élevage cunicole privé de la région de Djebba.	29
Figure 15 : Administration de l'huile essentielle de la Menthe poivrée par voie orale.	32
Figure 16 : Lapin pesé puis sacrifié.....	33
Figure 17 : Photographie de la dissection, prélèvement des épидидymes ainsi que leurs pesées et fixation.....	34
Figure 18 : Fixation des organes par le fixateur Bouin Hollande sublimé.....	35
Figure 19 : Appareil de circulation de laboratoire (Lakabi, 2015).....	36
Figure 20 : Organes placés dans des moules qui recevront la Paraffine.	37
Figure 21 : Photographie d'un microtome à gauche et du bain Marie à droite.	37
Figure 22 : Bains d'alcool et de xylène de la circulation.	38
Figure 23 : Série d'une coloration topographique.....	38
Figure 24 : Maquette de déshydratation.	39
Figure 25 : Photographie de l'observation des lames.....	39
Figure 26 : Représentation graphique des poids corporels des lapins infantiles de la population blanche avant et après traitement par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.	41

Figure 27 : Représentation graphique du poids moyen des épидидymes des lapins âgés de 1 mois de la population blanche traités par l’huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.	43
Figure 28 : Représentation graphique du poids moyen des épидидymes droits et gauches des lapins âgés de 1 mois de la population blanche traités par l’huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.	43
Figure 29 : Représentation graphique des poids épидидymaires relatifs des lapins infantiles traités par l’huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.	44
Figure 30 : Coupe histologique de l’épидидyme des lapins infantiles témoins de la population blanche (Originale, 2020).....	46
Figure 31 : Coupe histologique de l’épидидymes des lapins infantiles de la population blanche traités par l’huile essentielle de la Menthe poivrée à la dose D3 de 400µl/kg (Originale, 2020).	49

Liste des planches

Planche 1 : Coupes histologiques des épидидymes des lapins infantiles de la population blanche traités par l’huile essentielle de la Menthe poivrée aux doses D1 de 200µl/kg et D2 de 300µl/kg (Originale, 2020).....	48
Planche 2 : Coupes histologiques des épидидymes des lapins infantiles de la population blanche traités par l’huile essentielle de la Menthe poivrée aux doses D4 de 500µl/kg et D5 de 700µl/kg (Originale, 2020).....	50

Sommaire

Liste des figures et des planches

Introduction..... 1

Chapitre I : Anatomie et histologie de l'appareil reproducteur du lapin mâle

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle 3

1.1. Testicule 4

1.1.1. Anatomie 4

1.1.2. Histologie 4

1.2. Épididyme..... 12

1.2.1. Anatomie 12

1.2.2. Histologie 13

Chapitre II : Physiologie de la reproduction

1. Développement des gonades et puberté 17

1.1. Différenciation et développement des gonades 17

1.2. Développement pondéral 18

1.3. Développement de l'appareil génital externe 18

1.4. Maturation sexuelle 18

1.4.1. Phase infantile 18

1.4.2. Phase pré pubère 18

1.4.3. Puberté 19

1.5. Maturité sexuelle 19

2. Fonctions physiologiques du testicule 19

2.1. Fonction exocrine du testicule : Spermatogenèse 20

2.2. Fonction endocrine du testicule : Stéroïdogénèse 22

3. Fonctions physiologiques de l'épididyme 22

3.1. Fonctions de l'épithélium épидидymaire 22

3.1.1. Sécrétion et élimination 22

3.1.2. Protection 23

3.1.3. Transfert 23

3.2. Fonctions de la lumière 23

3.2.1. Maturation	24
3.2.2. Stockage	24
4. Régulation de la fonction de reproduction	24
4.1. Régulation interne	24
4.1.1. Axe hypophysalamo-hypophyso-gonadique.....	24
4.1.2. Régulation intragonadique des fonctions testiculaires	26
4.2. Régulation externe.....	26
4.2.1. Température.....	26
4.2.2. Effet saison	26
4.2.3. Effet de l'alimentation.....	27
4.2.4. Autres facteurs.....	27

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique	28
1.1. Modèle animal	28
1.2. Huile essentielle de la Menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>).....	29
1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	30
1.4. Autres Matériels	30
2. Expérimentation	31
2.1. Protocole expérimental.....	31
2.2. Pesée et administration de l'huile essentielle	31
2.3. Sacrifices et prélèvements	32
3. Étude histologique	34
3.1. Fixation des échantillons	35
3.2. Déshydratation et éclaircissement	35
3.3. Imprégnation.....	36
3.4. Inclusion	36
3.5. Confection des coupes et collage	37
3.6. Déparaffinage et réhydratation	37
3.7. Coloration topographique et Déshydratation.....	38
3.8. Observation des lames	39
4. Étude statistique.....	40

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Résultats de l'étude macroscopique	41
1.1. Poids corporel.....	41
1.2. Poids épидидymaires.....	42
1.3. Poids épидидymaire relatif.....	44
2. Résultats de l'étude microscopique	45
2.1. Épидидymes des lapins témoins	45
2.2. Épидидymes des lapins traités par l'huile essentielle de la Menthe Poivrée à différentes doses	46
Discussion.....	51
1. Paramètres macroscopiques.....	51
2. Paramètres microscopiques	52
Conclusion	54
Références Bibliographiques	55
Annexes	66

En Algérie les productions animales sont de plus en plus diversifiées mais leurs performances restent toujours insuffisantes pour combler le déficit en protéines animales. Le développement de la cuniculture constitue une alternative intéressante pour diminuer ce déficit.

Or, le lapin présente plusieurs caractéristiques biologiques intéressantes concernant sa productivité et reproduction. Il est caractérisé par un cycle biologique très court (30 jours de gestation), une prolificité très élevée (40 à 45 lapereaux/lapine/an) (Lebas *et al.*, 1996) et la transformation des protéines végétales en protéines animales (20%), ainsi une grande production de viande (60 à 65Kg/lapine/an). À tout cela s'ajoute sa valeur nutritionnelle et ces qualités diététiques. Cette situation lui confère un statut particulier, notamment dans le domaine de la reproduction où il offre beaucoup d'avantage (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).

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 lapins sont des animaux très sensibles aux conditions de l'environnement tel que la durée d'éclairement, la température combinée à une humidité relative qui peuvent impacter ces performances de reproduction. Récemment, plusieurs études menées sur les huiles essentielles ont montré leurs effets sur le processus de reproduction.

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-oestrogènes 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).

Certaines études ont été menées sur les effets de quelques huiles essentielles et extraits de plantes sur la reproduction chez le rat mâle. De ce fait, le but de cette étude est de mettre en évidence les effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses sur la structure des épидидymes des lapins mâles infantiles, à travers l'évaluation des paramètres macroscopiques et microscopiques à savoir le poids corporel et épидидymaire, ainsi que la structure histologique des épидидymes.

Ce travail s'organise en quatre chapitres. Le premier chapitre portera sur des rappels anatomo-histologiques de l'appareil reproducteur mâle et le deuxième chapitre abordera la physiologie de la reproduction. Dans le troisième chapitre nous exposerons matériels et méthodes. Le quatrième chapitre présentera les résultats et discussion et enfin une conclusion clôturera cette présente étude.

CHAPITRE I
ANATOMIE ET HISTOLOGIE DE
L'APPAREIL REPRODUCTEUR
DU LAPIN MÂLE

Le système reproducteur du lapin est très similaire à celui des autres mammifères, sauf pour la capacité supplémentaire de pouvoir rétracter le testicule dans l'abdomen (Sabbagh, 1983).

Ce système présente deux fonctions primordiales, la production des spermatozoïdes et leur dépôt dans les voies génitales femelle d'une part, et la sécrétion des hormones sexuelles d'autre part (Alvarino, 1993).

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

L'appareil génital mâle est formé par l'ensemble des organes chargés de l'élaboration du sperme et du dépôt de celui-ci dans les voies génitales de la femelle et il comporte 3 grandes portions qui sont : la portion glandulaire constituée par les testicules, la portion tubulaire constituée par l'épididyme, le canal déférent, l'urètre et la portion copulatrice constituée par le pénis et les glandes annexes (Figure 1) (Barone, 1976 ; Barone, 2001).

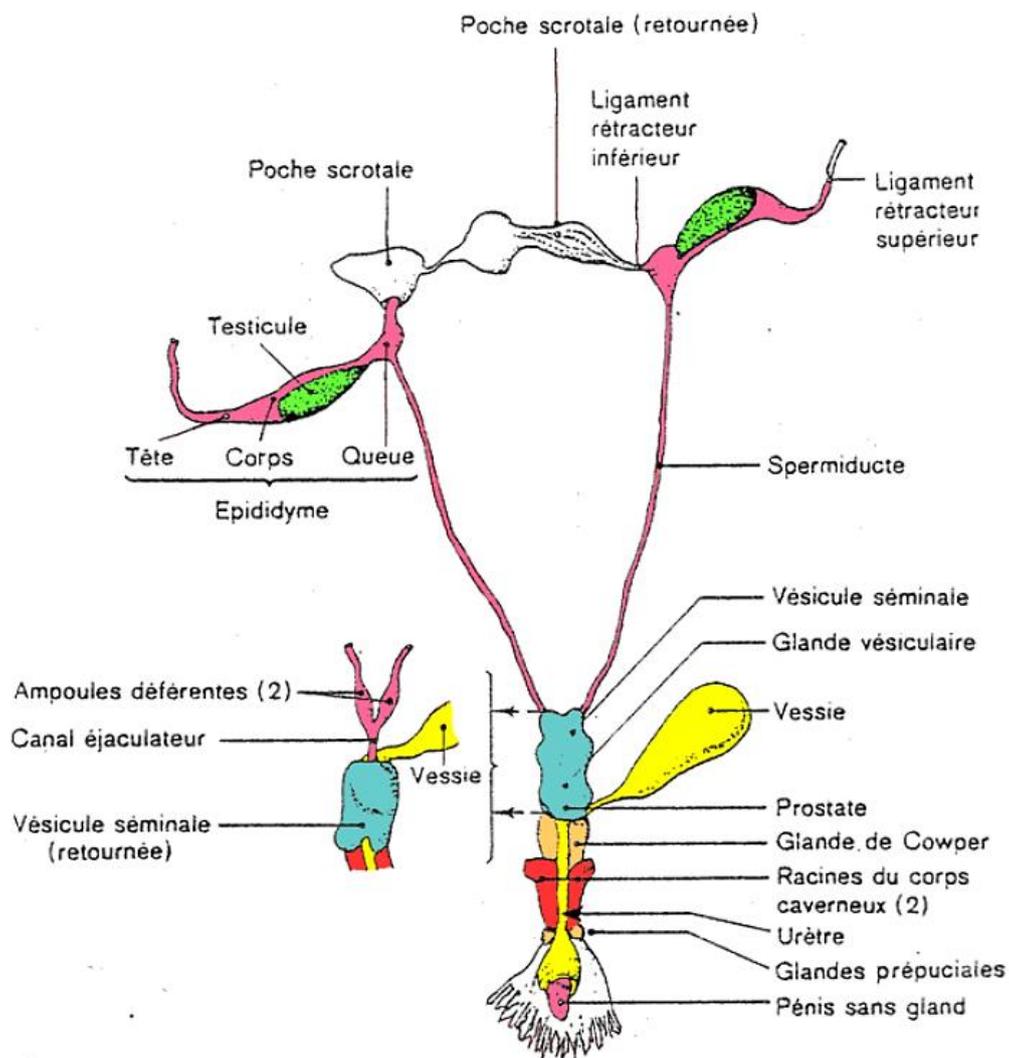


Figure 1 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas *et al.*, 1996).

1.1. Testicule

Le testicule est composé de lobules, boucles tubulaires, et d'un plexus tubulaire centrale et chaque lobule contient des tubes séminifères sièges de la spermatogénèse (Van praag, 2003). Sa différenciation se fait près des reins, mais chez les mammifères il subit une migration qui l'amène à la périphérie du corps, afin que sa température soit de quelques degrés inférieure à celle du corps, condition indispensable à la production des spermatozoïdes féconds (Thibault et Levasseur, 1991).

1.1.1. Anatomie

Situés de part et d'autre de la ligne médiane inguinale, les testicules chez le lapin adulte sont de forme ovoïde, aminci aux extrémités avec un pôle caudal plus pointu, mesurant 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur, 1 à 1,3 cm d'épaisseur et pesant 1,5 à 2 g (Barone, 2001).

Le lapin est alternativement exorchide lorsque les testicules montent dans la cavité abdominale sous l'effet de la frayeur, ou énorchide lorsqu'ils redescendent dans les bourses grâce à un tissu musculaire appelé crémaster (Boussit, 1989 ; Barone, 2001).

1.1.2. Histologie

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

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

Selon Thibault et Levasseur (2001), le testicule comprend deux compartiments cellulaires distincts issus de la partie interne de l'ébauche gonadique :

- Un compartiment germinal composé de cellules germinales et de cellules somatiques appelées cellules de Sertoli.
- Un compartiment interstitiel composé uniquement de cellules endocrines dites les cellules de Leydig.

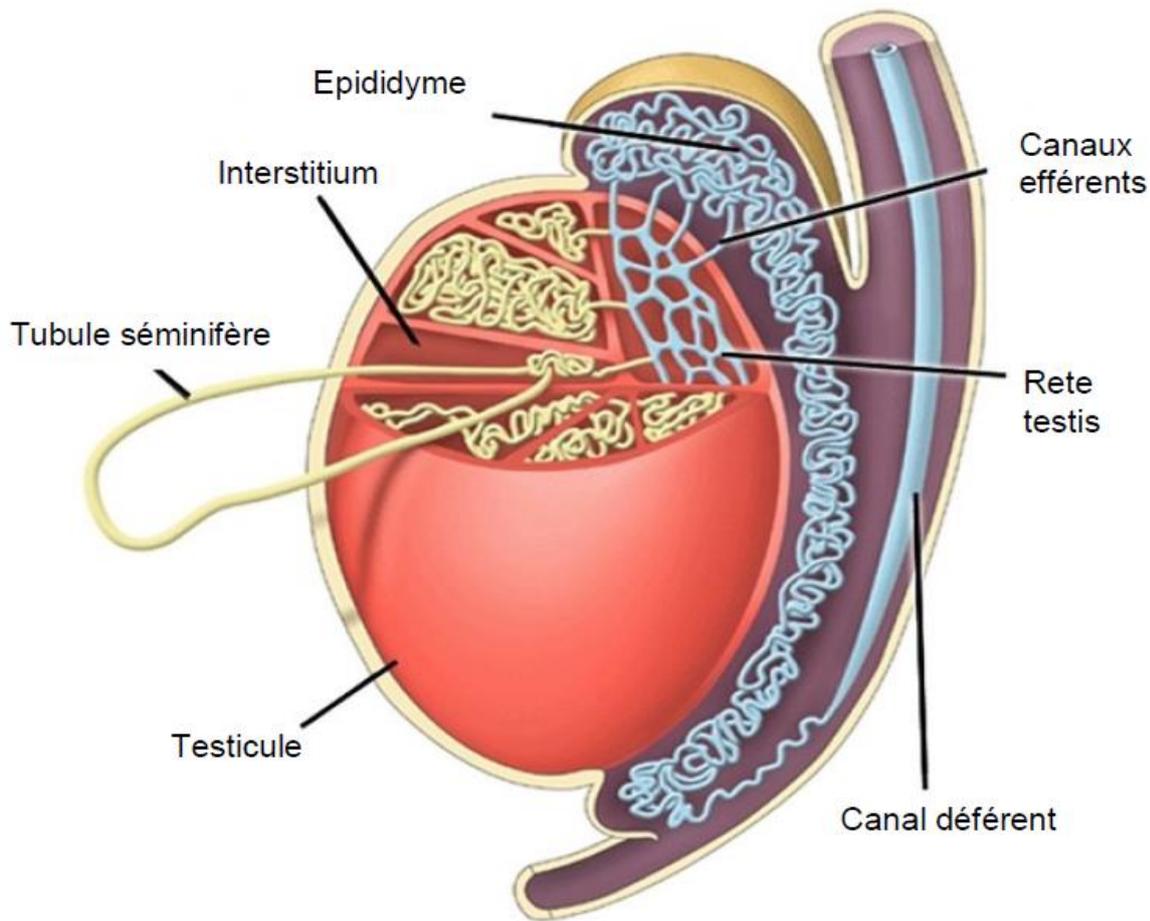


Figure 2 : Schéma des structures intra-testiculaires (Mandon, 2015).

1.1.2.1. Tubes séminifères

Le tube séminifère est l'unité fonctionnelle du testicule, est très long, flexueux et pelotonné et peut atteindre 70 mètres chez le lapin. 2 à 3 de ces tubes forme un lobule et 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).

La paroi de chaque tube est constituée par un épithélium séminifère de revêtement pluristratifié, qui comprend essentiellement de cellules germinales à des stades de développement variés (spermatogonies, spermatocytes, spermatides) et des cellules de Sertoli qui reposent sur une membrane basale. Ce tube renferme un liquide qui assure le transport des spermatozoïdes relargués dans la lumière (Figure 3) (Frend *et al.*, 1973 ; Barone, 2001 ; Thibault et Levasseur, 2001).

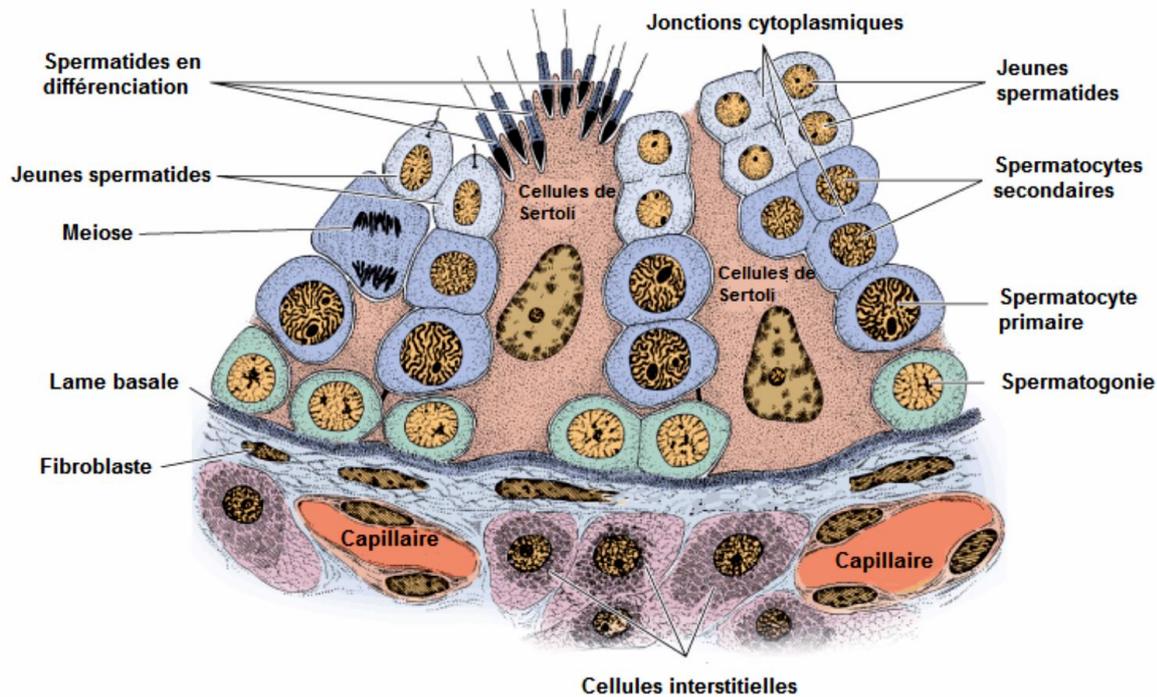


Figure 3 : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).

1.1.2.1.1. Cellule de Sertoli

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale qui s'étend sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère dont la forme et le volume varient au cours du cycle de l'épithélium séminal. Le cytoplasme de ces cellules renferme de nombreux organites : mitochondrie, gouttelettes lipidique, grains de sécrétion, ribosome, microfilaments et microtubules (Figure 4) (Barone, 2001).

Le corps cellulaire repose sur la lame basale de la gaine périvitubulaire et chaque cellule est reliée aux cellules adjacentes via des jonctions intercellulaires particulières (des jonctions serrées), ce qui délimitent deux compartiments au sein du tubule séminifère : le compartiment basal, siège de la spermatocytogenèse, et le compartiment adluminal qui contient les spermatocytes secondaires, les spermatides et les spermatozoïdes formant ainsi une barrière hémato-testiculaire qui empêche les cellules de système immunitaire de la traverser depuis la circulation générale sanguine et lymphatique, car les spermatides et spermatozoïdes présentent des caractéristiques antigéniques reconnues comme étrangères par ce système. En effet, lorsque cette barrière ne remplit pas son rôle, des anticorps anti spermatiques peuvent se développer et être responsables d'une orchite auto-immune et donc d'une stérilité (Little et Holyoak, 1992 ; Amann, 1993).

Outre son rôle protecteur contre les réactions immunitaires, la cellule de Sertoli exerce une fonction mécanique et trophique, permettant la migration et la maturation des cellules germinales. Elle est responsable de la production du plasma séminal primitif et assure une activité sécrétoire importante pour le soutien et la maturation des cellules germinales (Holstein *et al.*, 2003 ; Mruk et Cheng, 2004). Elle secrète également l'inhibine, l'activine et l'hormone anti-mullerienne, qui sont des glycoprotéines nécessaires au contrôle de la prolifération, la différenciation et au métabolisme des cellules germinales (Imbeaud, 1994).

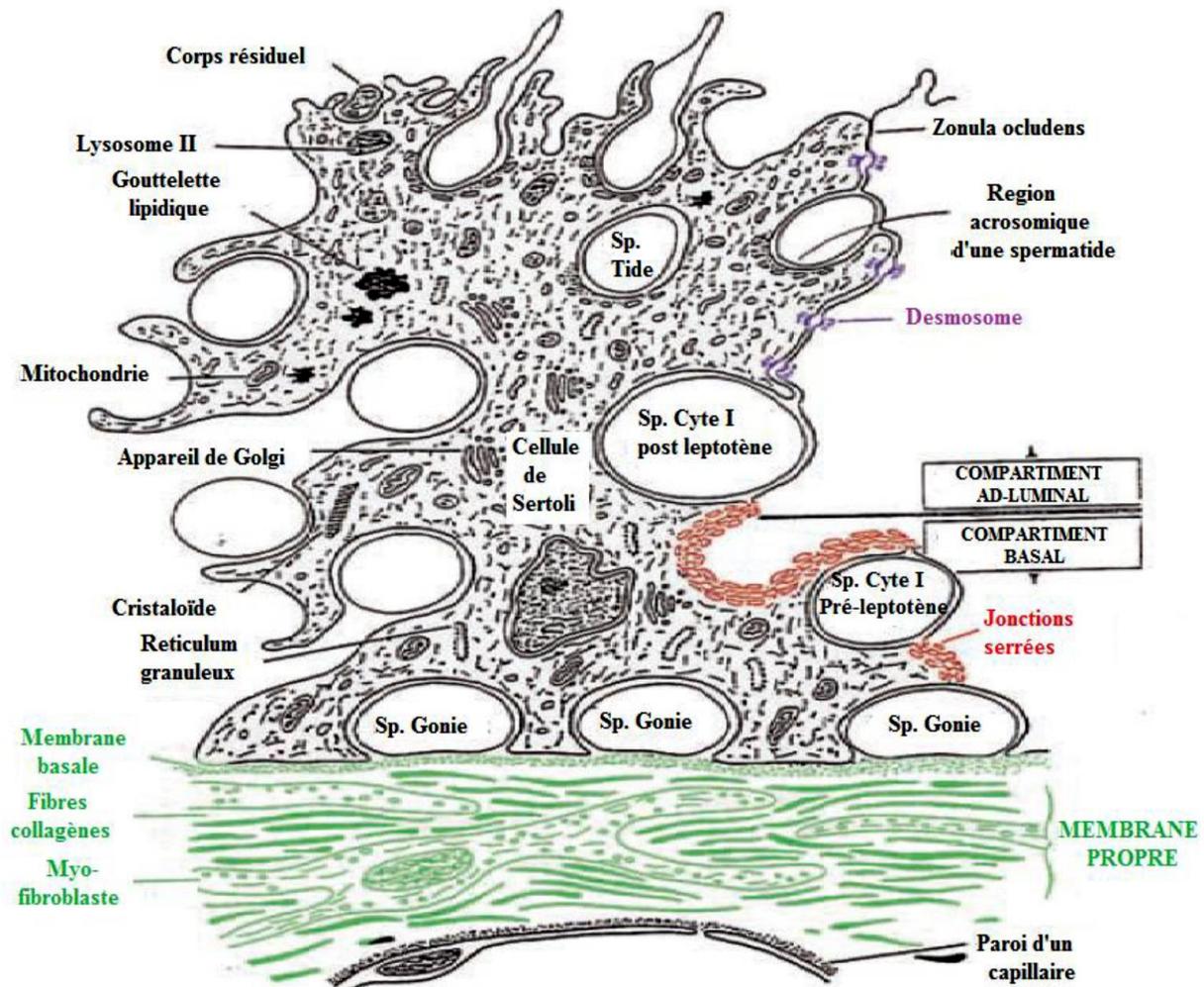


Figure 4 : Structure de la cellule de Sertoli (Russell et Griswold, 1993).

1.1.2.1.2. Cellules germinales

Tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère, à savoir ; Les spermatogonies (Sp.Gonie), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (Sp.Cyte I), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (Sp.Cyte II), les spermatozoïdes (Figure 4) (Vacheret ,1999 ; Siffroi, 2001).

1.1.2.1.3. Spermatogonies et spermatocytes

Selon Vacheret (1999) et Siffroi (2001), les spermatogonies sont des petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 μm de diamètre, adhérentes à une membrane basale. On distingue trois sortes de spermatogonies selon l'aspect de leurs noyaux :

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

Les spermatocytes I issues de la division mitotique des spermatogonies B, sont des cellules arrondies volumineuses à noyau souvent en méiose, particulièrement au stade très long de la prophase méiotique, qui se transforment en spermatocytes II. Ces dernières sont aussi des cellules rondes, plus petites et moins nombreuses sur les coupes car elles ont une existence fugace.

1.1.2.1.4. Spermatides et spermatozoïdes

Les spermatides sont des cellules de petite taille, de 6 à 7 μm de diamètre, très nombreux et situés en position interne, ovoïde à noyau rond et clair, avec un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne par spermiogénèse un spermatozoïde (55 à 57 μm de diamètre chez le lapin) comportant une tête et une queue unies par un col très bref (Figure 5) (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

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

Le col ou pièce d'union est une partie cytoplasmique rétrécie et très courte de 2 à 3 μm , elle représente le segment initial qui unit la tête à la queue (Figure 5).

La queue ou flagelle forme la quasi-totalité de la cellule, elle présente trois parties successives : une pièce intermédiaire de 7 à 8 μm de diamètre qui se caractérise par la présence d'une gaine mitochondriale et fait directement suite au col ; une pièce principale de 45 μm de diamètre constituée de neuf faisceaux de fibres denses, ainsi que d'une gaine

protéique fibreuse périphérique ; une pièce terminale de 1 à 2 μm de diamètre qui comporte le filament axial (Figure 5) (Barone, 2001).

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

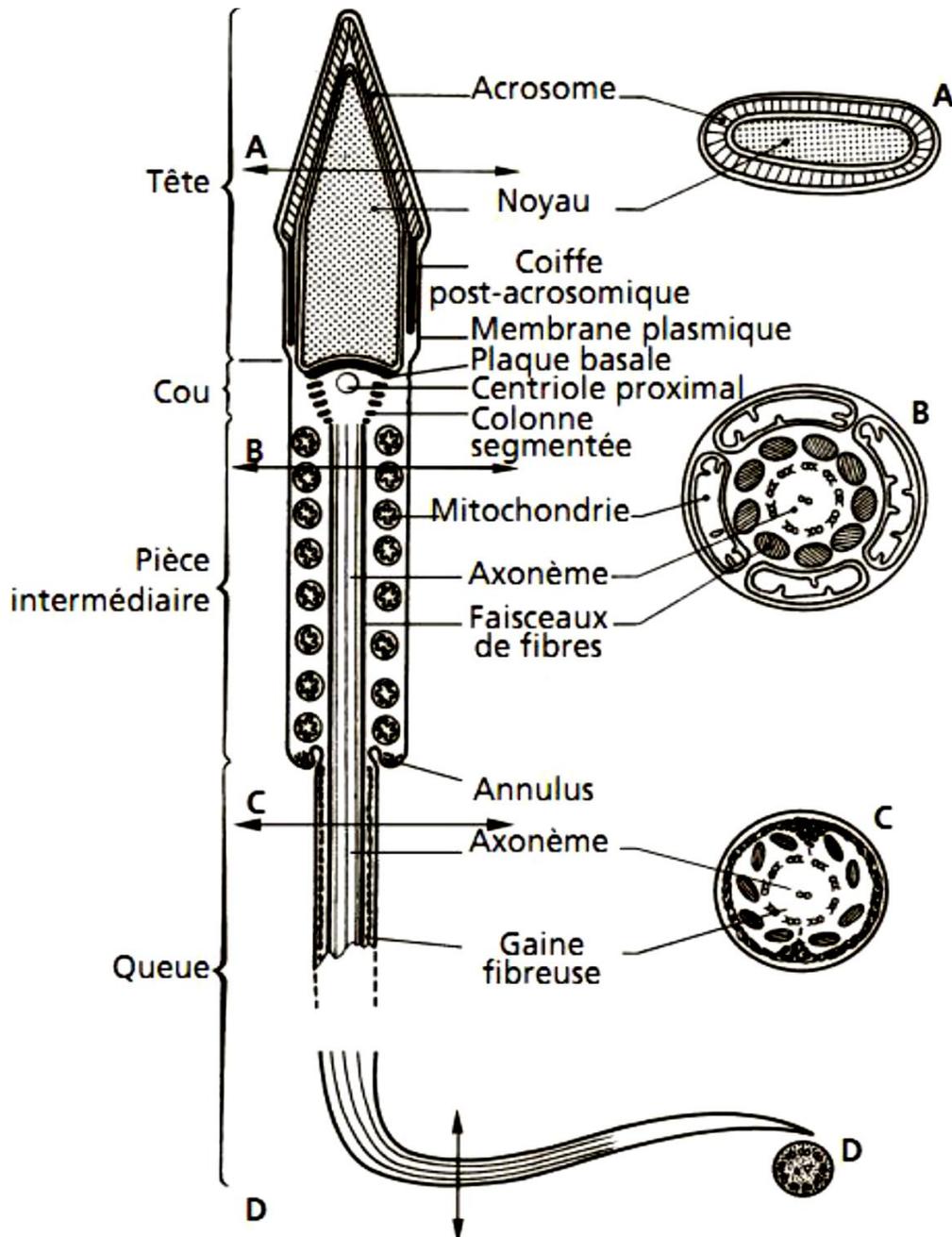


Figure 5 : Schéma du spermatozoïde de mammifère (Le Moigne et Foucrier, 2009).

1.1.2.2. Tissu interstitiel

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

La quantité du tissu interstitiel varie suivant l'espèce, elle représente 10% du tissu testiculaire chez le chien et le cobaye, environ 25 à 30 % chez l'homme et 40% chez le verrat (Dadoune et Demoulin, 2001).

1.1.2.2.1. Cellule de Leydig

Ce sont des cellules polygonales, elles sont soit isolés, soit groupés en amas autour des capillaires sanguins, présentant un noyau rond avec un nucléole volumineux, un cytoplasme riche en citernes de REL et quelques mitochondries qui sont de taille variables (Dadoune et Demoulin, 2001).

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

La testostérone, la dihydrotestostérone et le 17- β -œstradiol sont des stéroïdes testiculaires synthétisés par la cellule de Leydig issues d'un précurseur commun qui est le cholestérol lors de la régulation de la fonction de reproduction (Amann, 2011).

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

1.1.2.3. Liquide des compartiments intra-testiculaires

Les cellules interstitielles et les tubes séminifères logés dans les espaces péricubulaires baignent dans un liquide interstitiel qui participe aux fonctions endocrines et paracrines du testicule en contribuant au transport des spermatozoïdes ainsi qu'à leur nutrition. C'est un liquide riche en minéraux (principalement en potassium, magnésium, phosphore, calcium et chlore) et en Androgen Binding Protein (ABP) et pauvre en autres protéines (Hochereau De Reviers et Royere, 1996).

Cependant le liquide du *rete testis* est remanié, du fait d'échanges avec les veines testiculaires superficielles et il contient des protéines et des peptides spécifiques : ABP, inhibine et hormone antimüllérienne (Thibault et Levasseur, 2001).

1.1.2.4. Vascularisation et innervation du testicule

Les testicules sont irrigués par les artères testiculaires qui naissent de l'aorte abdominale et sont drainés par les veines testiculaires qui constituent une ramification du plexus pampiniforme autour de l'artère testiculaire située sous la vaginale du testicule.

L'innervation dépend de deux plexus nerveux ; le plexus spermatique qui est parasympathique et le plexus déférentiel qui est sympathique (Figure 6) (Jardin et De Fourmestaux, 1984).

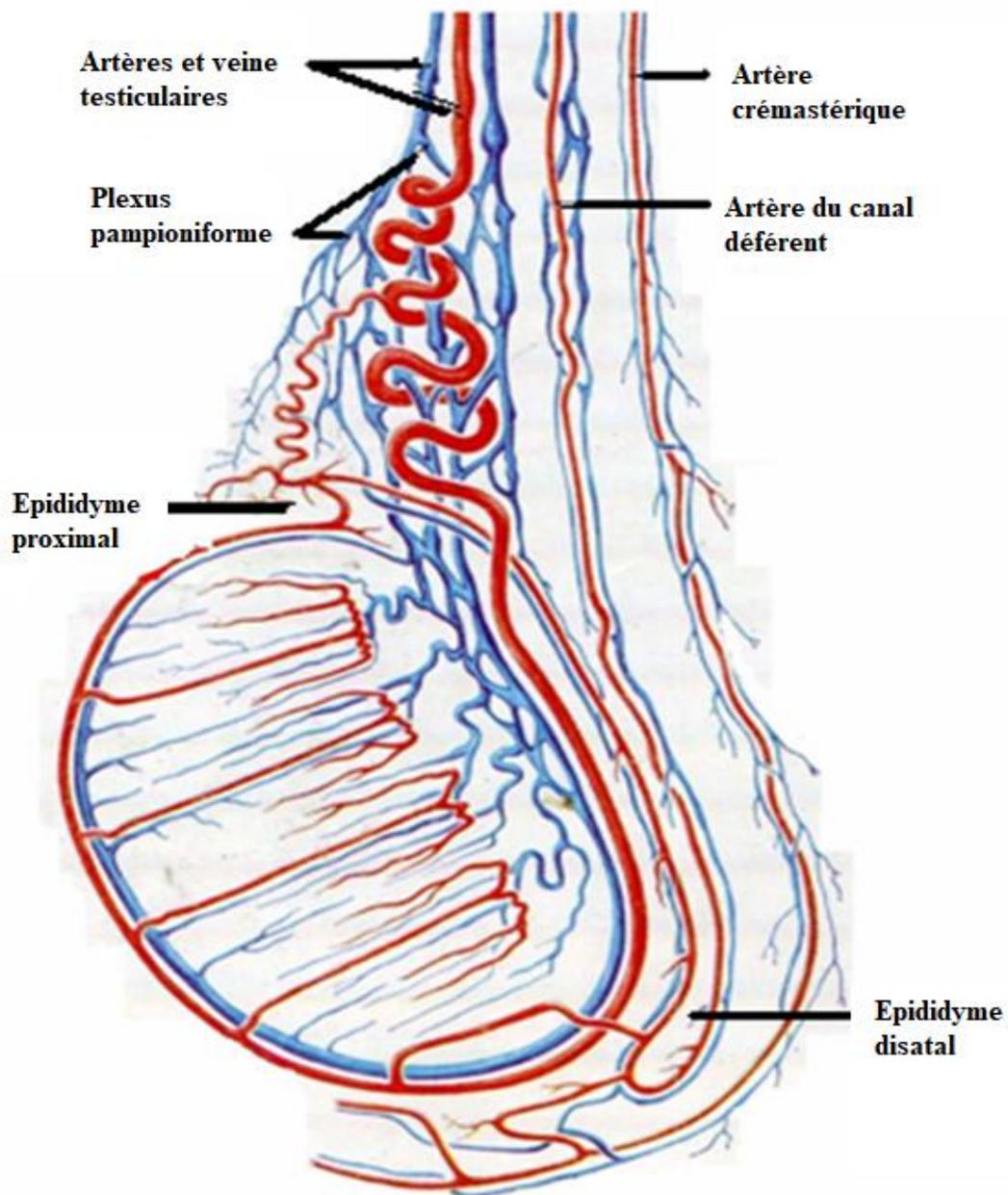


Figure 6 : Vascularisation du testicule (Sobotta, 2010).

1.2. Épididyme

1.2.1. Anatomie

L'épididyme dérivé du mésonéphros, est formé d'un long tube épithélial, de longueur variable selon les espèces (1 à 6 m, respectivement chez la souris et le ver rat), fortement contourné et communiquant avec le testicule en amont et le canal déférent en aval (Hinton et Turner, 1988).

Sur la base de sa morphologie et de son histologie, cet organe hautement différencié peut être divisé chez les mammifères en trois régions anatomiquement distinctes : la tête (région proximale), reliée au hile du testicule par les canaux efférents ; le corps (partie médiane) et la queue (région distale) qui est en continuité avec le canal déférent (Figure 7). Ces régions sont également subdivisées en plusieurs segments (Figure 7) (Abe *et al.*, 1983 ; Abou Haila et Fain-Maurel, 1984 ; Johnston *et al.*, 2005), chacun d'entre eux étant délimité par des cloisons conjonctives ou septa (Glover et Nicander, 1971 ; Takano, 1980 ; Hamilton, 1990).

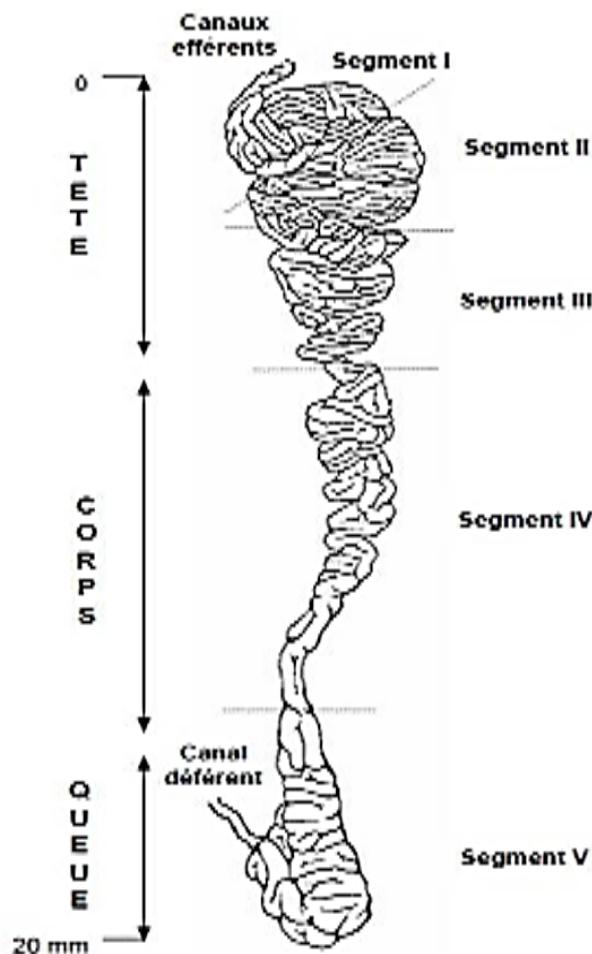


Figure 7: Schéma d'un épидидyme (Glover et Nicander, 1971 ; Hamilton, 1990).

1.2.2. Histologie

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : un épithélium pseudostratifié et une lumière bordée par cet épithélium. Ce dernier est entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses et d'un tissu conjonctif contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins et il présente des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées selon la région (Figure 8) et on compte 7 types cellulaires qui entrent dans sa composition : les cellules principales, les cellules basales, les cellules en halo, les cellules claires, les cellules apicales, les cellules étroites et les cellules dendritiques (Robaire et Hermo, 1988 ; Da Silva, 2011).

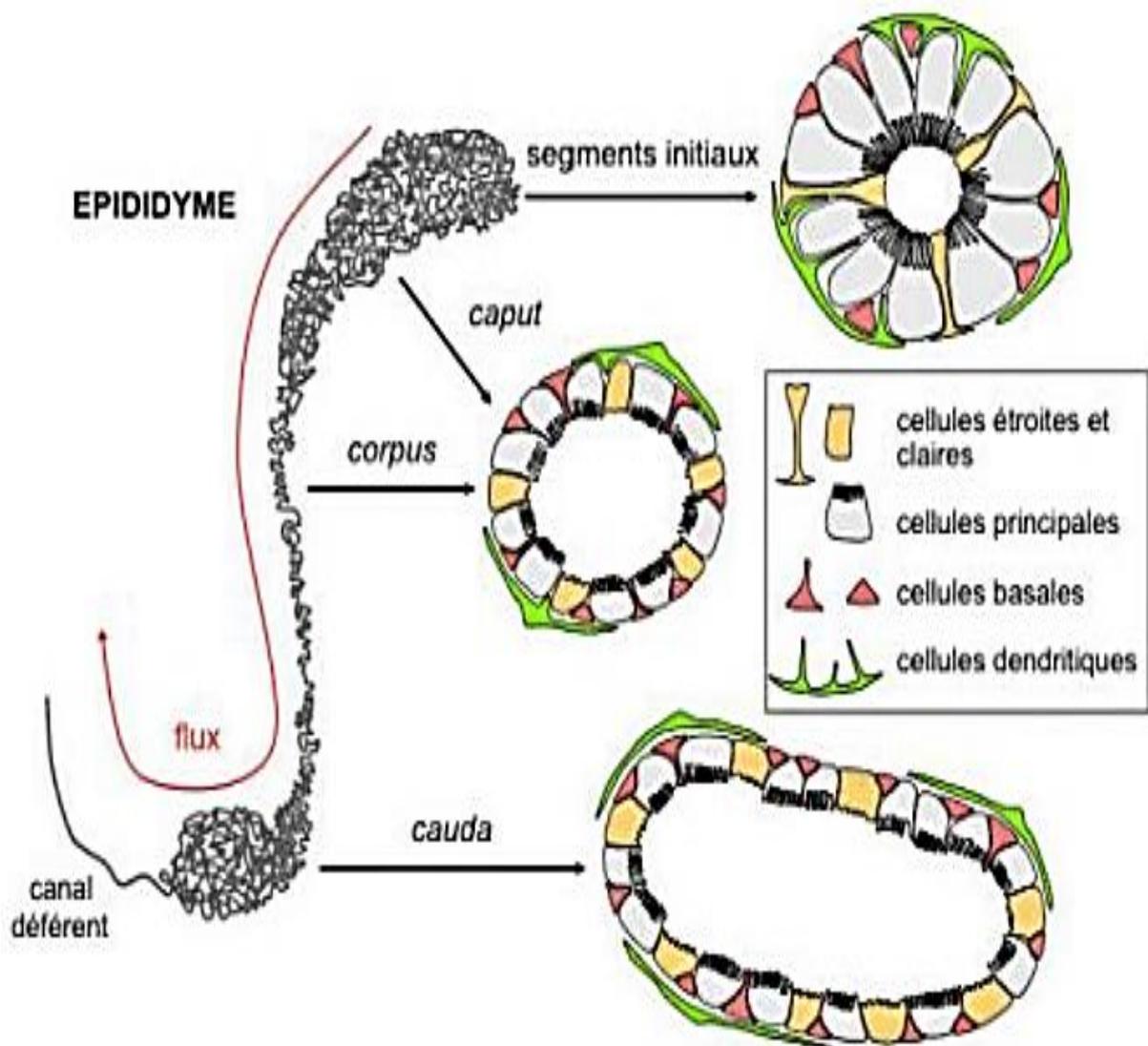


Figure 8 : Schéma représentatif de l'épididyme de la souris (Breton et Da Silva, 2012).

1.2.2.1. Cellules principales

Les cellules principales représentent 65 à 80% des cellules épithéliales épидидymaires et elles ne se divisent pas chez l'adulte, ce sont des cellules prismatiques à noyau basal avec des stéréocils (Figure 9) et leur fonction ainsi que leur structure varient selon la région (Hermo et Robaire, 2002). Elles jouent un rôle dans le transport et la sécrétion de petites molécules organiques, à la synthèse et à la sécrétion de protéines, et à l'absorption du fluide et des particules (Robaire et Viger, 1995).

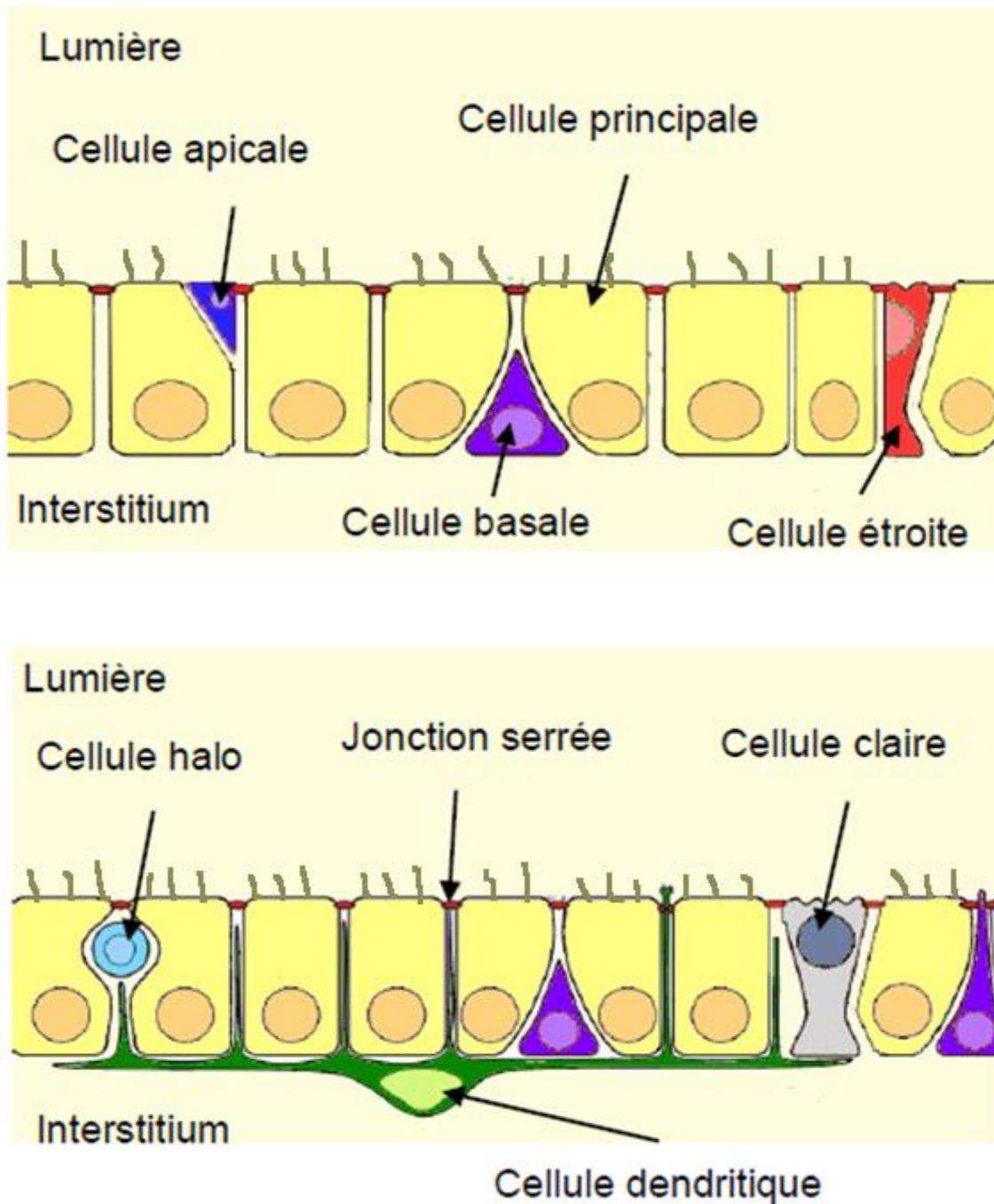


Figure 9 : Schéma des cellules épидидymaires (Mandon, 2015).

1.2.2.2. Cellules basales

Les cellules basales sont de petites cellules à la fois rondes et allongées d'apparence dite hémisphérique avec noyau est irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites comportant de longues et minces projections qui enveloppent une grande proportion de la base de l'épithélium. Ces cellules sont distribuées tout le long de l'épididyme et sont situées du côté basal de l'épithélium (Figure 9) (Girouard, 2009 ; Soranzo *et al.*, 1982)

Bien que la fonction exacte de ces cellules ne soit pas encore bien établie, il est proposé que ces cellules, jouent un rôle de détoxification et de protection de l'épithélium en éliminant les radicaux libres par un des membres de la famille des glutathion-S-transférases. Ces cellules sont aussi impliquées dans la sécrétion de facteurs servant comme régulateurs paracrines de certaines fonctions des cellules principales et des autres cellules environnantes. Entre autres, les cellules basales sont importantes dans la formation du fluide épидидymaire en régulant le transport des électrolytes et de l'eau par les cellules principales (Girouard, 2009).

1.2.2.3. Cellules en halo

Les cellules en halo sont des petites cellules disséminées tout le long du canal épидидymaire avec un bord étroit et un cytoplasme clair et un noyau dense (Figure 9). Elles sont identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natal pour former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Robaire *et al.*, 2006 ; Hoffer *et al.*, 1973).

1.2.2.4. Cellules claires

Les cellules claires sont de grandes cellules prismatiques présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Figure 9) et elles jouent un rôle dans l'absorption de certains composants du fluide épидидymaire (Olson et Hinton, 1985 ; Soranzo *et al.*, 1982).

1.2.2.5. Cellules apicales

Les cellules apicales sont qualifiées ainsi en raison de la localisation de leur noyau dans les tiers apical des cellules (Figure 9), elles présentent un cytoplasme dense très riche en mitochondries, en lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H^+ et la réabsorption des bicarbonates (HCO_3^-). Elles seraient ainsi responsables de l'acidification du fluide épидидymaire et l'endocyter des substances contenues dans la lumière (Hermo et Robaire, 2002 ; Martinez-Garcia *et al.*, 1995).

1.2.2.6. Cellules étroites

Les cellules étroites se caractérisent par un renflement cytoplasmique, un noyau allongé situé dans la portion supérieure (Figure 9), un grand nombre de petites vésicules dispersées dans la région apicale et par une base très étroite les reliant à la membrane basale. Elles sont localisées dans des segments spécifiques, elles sont peu nombreuses et elles sont impliquées dans l'acidification de la lumière de l'épididyme (Hermo *et al.*, 2000).

1.2.2.7. Cellules dendritiques

Des cellules dendritiques ont été découvertes au sein de l'épididyme murin (en 2011), qui formeraient un réseau dense situé à la base de l'épithélium avec des projections dendritiques qui passent entre les cellules épithéliales et seraient orientés en direction de la lumière du tubule (Figure 9) (Da Silva *et al.*, 2011).

Ces cellules possèderaient des marqueurs de cellules immunitaires, dont le rôle serait de maintenir l'homéostasie immunitaire afin de protéger les spermatozoïdes (Wang et Duan, 2016).

1.2.2.8. Lumière du canal épididymaire

La lumière du conduit épididymaire est assez régulièrement circulaire sur les coupes histologiques (Figure 8) (Barone, 2001). Les spermatozoïdes transitent à travers l'épididyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épididymaire. Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules.

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

CHAPITRE II
PHYSIOLOGIE DE LA
REPRODUCTION

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

1. Développement des gonades et puberté

1.1. Différenciation et développement des gonades

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

La différenciation des gonades commence au 16^{ème} jour après la fécondation, et la production des hormones androgènes débute le 19^{ème} jour de gestation. Les canaux de Müller régressent le 20^{ème} jour et la formation de la prostate commence le 21^{ème} jour. Au 24^{ème} jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis (Figure 10) (Alvarino, 2000).

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

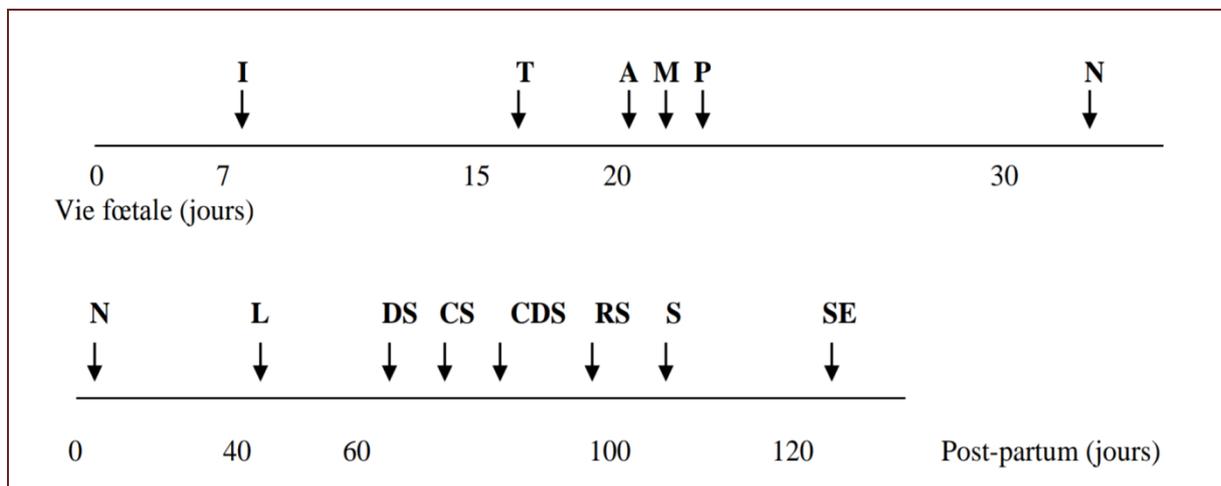


Figure 10 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).

I= implantation ; N= naissance ; L= maturation des cellules de Leydig ; A= sécrétion d'androgènes ; T= différenciation des testicules ; CDS= développement complet de la spermatogénèse ; P= croissance de la prostate ; RS= premiers rapports sexuels. CS= premier comportement sexuels ; S= apparition du premier spermatozoïde ; M= dégénérescence des canaux de Müller ; DS= début de la spermatogénèse ; SE= apparition des premiers spermatozoïdes dans l'épididyme.

1.2. Développement pondéral

Le développement du poids corporel jusqu'à l'âge de 5 mois ne présente pas de dimorphisme sexuel, de ce fait 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 et selon Alvarino (2000), la taille des testicules augmente jusqu'à l'âge de 8 mois et durant cette période les vésicules séminales croissent rapidement.

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

1.3. Développement de l'appareil génital externe

Chez le lapin, comme la plupart des mammifères, les testicules qui sont d'abord en position intra-abdominale vont migrer de l'avant vers l'arrière pour se retrouver dans un petit diverticule de la cavité abdominale appelé le scrotum (Barone, 1976). Cette position extra-abdominale permet de maintenir au niveau de ces gonades, une température inférieure de 3 à 5°C à celle du corps (Dadoune et Demoulin, 2001).

La formation du scrotum débute vers le 2^{ème} mois d'âge, et à 3 mois les testicules y descendent, quant au pénis, il se développe et acquiert la taille et la forme caractéristique de l'adulte à la fin du 3^{ème} mois d'âge (Berger *et al.*, 1982).

1.4. Maturation sexuelle

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

1.4.1. Phase infantile

La phase infantile s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours et se caractérise par une croissance lente des testicules et de la vésicule séminale ainsi qu'une faible concentration plasmatique en FSH et testostérone (Boussit, 1989).

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

1.4.2. Phase pré pubère

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%).

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 séminale et les premières différenciations des spermatogonies s'accélère vers 70 jours, quand les niveaux d'androgène circulants sont les plus élevés et les premiers spermatozoïdes apparaissent vers l'âge de 110 jours (Skinner, 1967).

1.4.3. Puberté

Mann et Parsons (1950), définissent la puberté comme le stade à partir duquel, la fonction endocrine devient évidente et les glandes annexes commencent la sécrétion du fructose et d'acide citrique qui correspondrait à 42 jours d'âge chez le lapin, et cela bien avant l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat du mâle.

Cependant Boussit (1989), définit la puberté par le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes aptes à féconder un ovule, qui est atteinte vers 4 à 5 mois peu après la descente des testicules dans le scrotum.

1.5. Maturité sexuelle

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

Le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement durant lesquelles les 1^{ers} éjaculats contiennent un sperme avec des spermatozoïdes peu viables, il faut donc attendre 135 à 140 jours pour aboutir aux premiers accouplements féconds. Toutefois l'âge de puberté varie à cause des différences génétiques entre les races, les conditions d'élevage, l'alimentation et le climat (Lebas *et al.*, 1996).

2. Fonctions physiologiques du testicule

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

2.1. Fonction exocrine du testicule : Spermatogénèse

Le rôle exocrine des testicules consiste en la production des spermatozoïdes au niveau des tubes séminifères qui s'amorce pendant la puberté et se poursuit tout au long de la vie.

Elle début par la mitose des spermatogonies en cellules filles (Figure 11), dont certaines demeurent près de la membrane basale du tubule séminifères et servent de réservoir de cellule souches pour de futures mitoses. Les autres spermatogonies se différencient en spermatocytes de premier ordre ou spermatocyte I et entre en spermatogénèse qui comporte 3 phases : méiose I, méiose II, spermiogénèse (Figure 12). Ces spermatocytes I subissent la méiose I et produisent des spermatocytes de deuxième ordre, ou spermatocytes qui contiennent chacune 23 chromosomes formés de deux chromatides. Ces derniers vont subir à leur tour la méiose II et donner des spermatides et contiennent 23 chromosomes constitués d'un seul chromatide (Tortora et Derrickson, 2009).

La spermiogénèse est la dernière phase conduisant à la formation des spermatozoïdes, durant laquelle les spermatides se transforment en spermatozoïdes. A partir de ce stade il n'y a plus de divisions cellulaires, mais on observe surtout des métamorphoses extrêmement complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire pour aboutir à la formation des spermatozoïdes à partir des spermatides (Schulz *et al.*, 2005).

La durée de la spermatogénèse est d'environ 35 jours chez la souris, 53 jours chez le rat, 74 jours chez l'homme et 38 à 40 jours chez le lapin chez lequel elle débute entre 40 et 50 jours d'âge (Clermont, 1972).

La différenciation des gamètes mâles s'effectue dans le testicule d'où sortent les spermatozoïdes immatures qui ne sont ni mobiles ni féconds et ces derniers poursuivent leurs maturations au niveau d'épithélium épидидymaire en subissant plusieurs modifications qui les rendront aptes à reconnaître et à féconder un ovocyte d'une même espèce (Thibault et Levasseur, 2001).

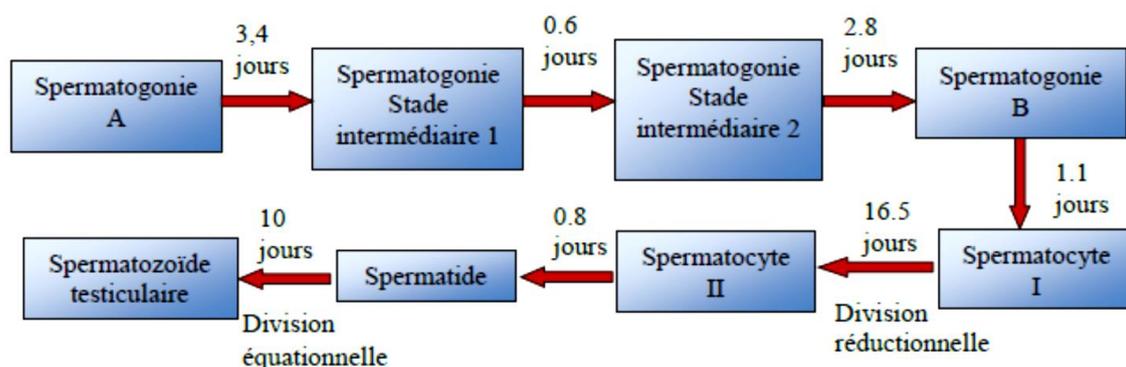


Figure 11 : Cycle spermatogénétique du lapin (Boussit, 1989).

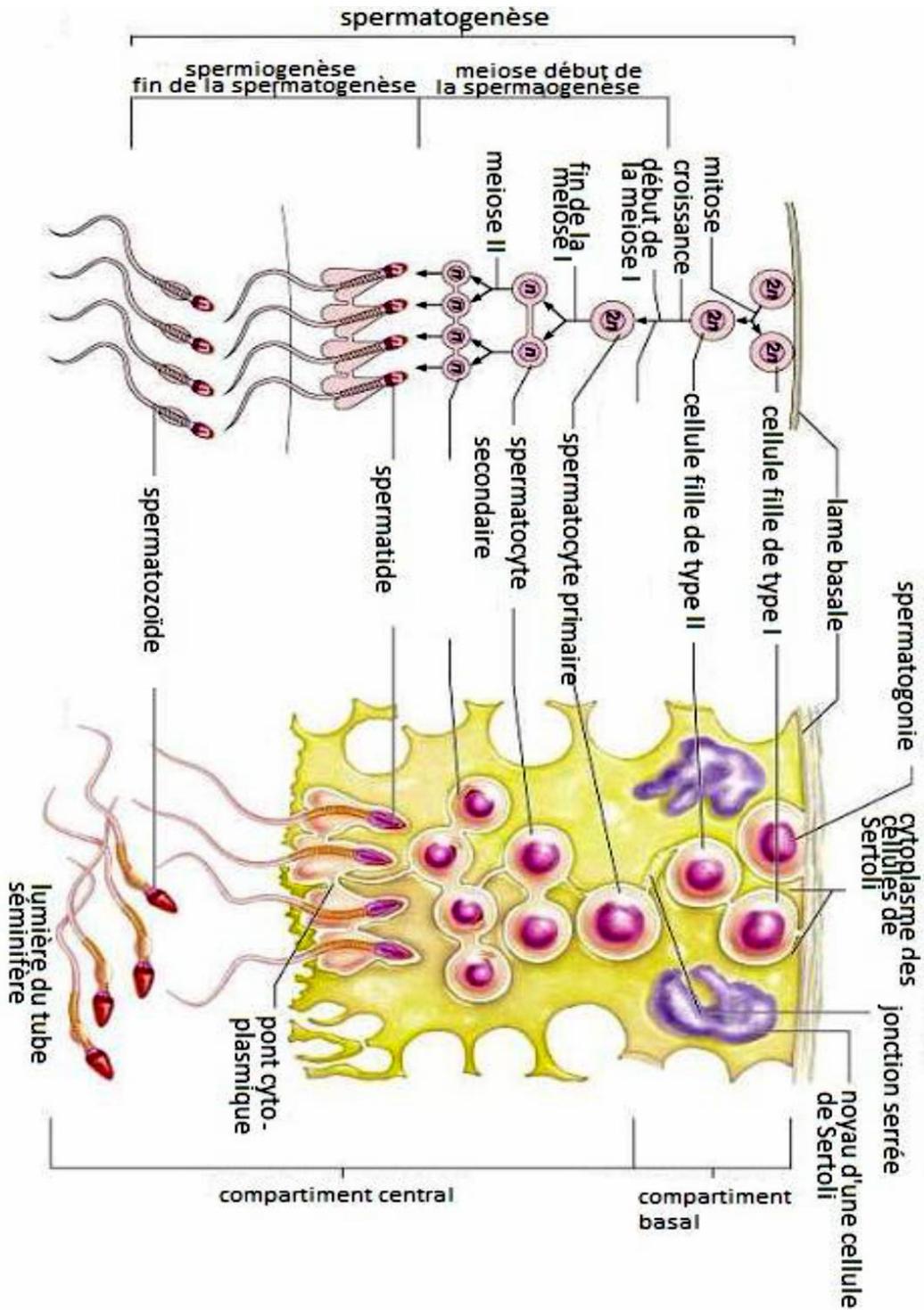


Figure 12 : Schéma de la différenciation germinale (Marieb, 2005).

2.2. Fonction endocrine du testicule : Stéroïdogénèse

La fonction endocrine du testicule est assurée par des petits amas d'endocrinocytes interstitiel (cellules de Leydig) qui sécrètent les hormones androgènes, en particulier la testostérone nécessaire à la spermatogénèse et au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génitale mâle (Barone, 2001).

En effet, la testostérone agit directement sur la différenciation des canaux de Wolf, le développement et le maintien des caractères sexuels secondaires, après son métabolisme en dihydrotestostérone par l'enzyme 5- α réductase dans les tissus périphériques (prostate, épидидyme, vésicule séminale), elle a une action anabolisante au niveau de tous les tissus, en particulier musculaire et osseux et intervient dans le dimorphisme sexuel cérébral et la physiologie du comportement sexuel.

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

3. Fonctions physiologiques de l'épididyme

L'épididyme est impliqué dans le transport et la maturation des spermatozoïdes ainsi qu'au stockage des spermatozoïdes dans sa partie terminale (queue ou cauda) entre deux éjaculations (Bedford, 1975 ; Orgebin-Crist *et al.*, 1975 ; Hinton *et al.*, 1995).

3.1. Fonctions de l'épithélium épидидymaire

L'épithélium pseudostratifié du tubule épидидymaire assure ces rôles essentiellement grâce à ses multiples activités de sécrétion et de réabsorption qui changent localement et séquentiellement la composition du fluide épидидymaire dans lequel baignent les gamètes (Noblanc *et al.*, 2012) mais également la protection du sperme et le transfert de certaines molécules.

3.1.1. Sécrétion et élimination

La cellule principale est responsable de la synthèse et sécrétion de la majeure partie des protéines présentes dans la lumière. Cependant, les cellules étroites, apicales et claires sécrètent des protons dans la lumière et participent son acidification grâce à la H⁺ATPase vacuolaire (Pietrement *et al.*, 2006 ; Kujala *et al.*, 2007).

Les cellules basales régulent le transport d'électrolyte cellulaire principal en libérant des facteurs paracrines, en particulier des prostaglandine PGE2 (Cheung *et al.*, 2005).

Les cellules claires sont également des cellules endocytaires responsables de l'élimination des protéines de la lumière épидидymaire (Veri *et al.*, 1993 ; Seiler *et al.*, 1999).

3.1.2. Protection

La cellule en halo semble être la principale cellule immunitaire de l'épididyme, tandis que les cellules apicales peuvent également endocyter les composants lumineux (Cheung *et al.*, 2005).

Ainsi, les interactions cellule-cellule au sein de l'épithélium peuvent affecter directement l'environnement luminal et finalement la maturation du sperme. Les cellules principales forment également des jonctions serrées les unes avec les autres et forment ainsi la barrière hémato-épididyme. Cette barrière crée un site immunoprotecteur dans la lumière épидидymaire qui est nécessaire à la maturation du sperme. Plusieurs protéines transmembranaires androgéno-dépendantes, dont l'occludine et les claudines, contribuent à la formation de ces jonctions serrées (Cyr *et al.*, 2007).

3.1.3. Transfert

Les jonctions espacées formées par une famille de protéines intégrales appelées connexes sont présentes entre les cellules principales adjacentes à la fois au niveau de leurs surfaces apicale et latérale. Ces structures qui sont constituées de pores intercellulaires alignés permettent le transport de molécules <1 kDa (Cornwall, 2009).

3.2. Fonctions de la lumière

Au fur et à mesure que les spermatozoïdes migrent des régions proximales vers les régions distales de l'épididyme, ils subissent une série de changements morphologiques, biochimiques et physiologiques, le résultat final étant des spermatozoïdes qui ont acquis la fonction de motilité progressive et la capacité de féconder un ovule. Des études microscopiques ont montré que pendant le transport épидидymaire, les spermatozoïdes subissent un remodelage qui comprend des changements dans la dimension et formation de l'acrosome et du noyau, chez certaines espèces, la migration de la gouttelette cytoplasmique le long de la queue, ainsi que des changements structurels dans les organites intracellulaires (Olson *et al.*, 2002).

3.2.1. Maturation

La membrane plasmique du spermatozoïde est une structure très compartimentée et elle est modifiée pendant le transit avec des changements structuraux impliquant des lipides des protéines et le cholestérol membranaire (Jones *et al.*, 2007). En effet durant la maturation, une réorganisation de la membrane permet de former des complexes de signalisation important pour la capacitation et la fécondation (Travis *et al.*, 2001 ; Cross, 2004 ; Shadan *et al.*, 2004).

3.2.2. Stockage

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

4. Régulation de la fonction de reproduction

La fonction de reproduction subit deux régulations, une régulation interne grâce l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique et localement au niveau des gonades par les différentes hormones testiculaires, et une régulation externe par les différents facteurs environnants.

4.1. Régulation interne

La spermatogenèse chez les mammifères nécessite l'action d'un assortiment complexe d'hormones peptidiques et stéroïdiennes, dont chacune joue un rôle important dans le fonctionnement normal de l'épithélium séminifère. Ces messagers hormonaux sont essentiels non seulement pour la régulation du développement des cellules germinales mâles, mais aussi pour la prolifération et la fonction des autres cellules testiculaires (Sharpe, 1994 ; McLachlan *et al.*, 2002).

4.1.1. Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique

Le développement et le fonctionnement du testicule sont sous le contrôle d'hormones hypophysaires, elles-mêmes contrôlées par une hormone hypothalamique (Nguyen et Bourouina, 2008).

La sécrétion pulsatile de la gonadolibérine (GnRH) par l'hypothalamus stimule la production et la sécrétion des gonadotrophines, l'hormone lutéinisante (LH) et de la folliculostimuline (FSH) par l'adénohypophyse (Figure 13) (Hammond *et al.*, 1997).

La GnRH se fixe sur des récepteurs situés à la surface des cellules gonadotropes de l'antéhypophyse, après l'activation d'un nombre de ces récepteurs leurs nombres diminuent (phénomène de désensibilisation ou down-régulation, liée à l'internalisation des récepteurs

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

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

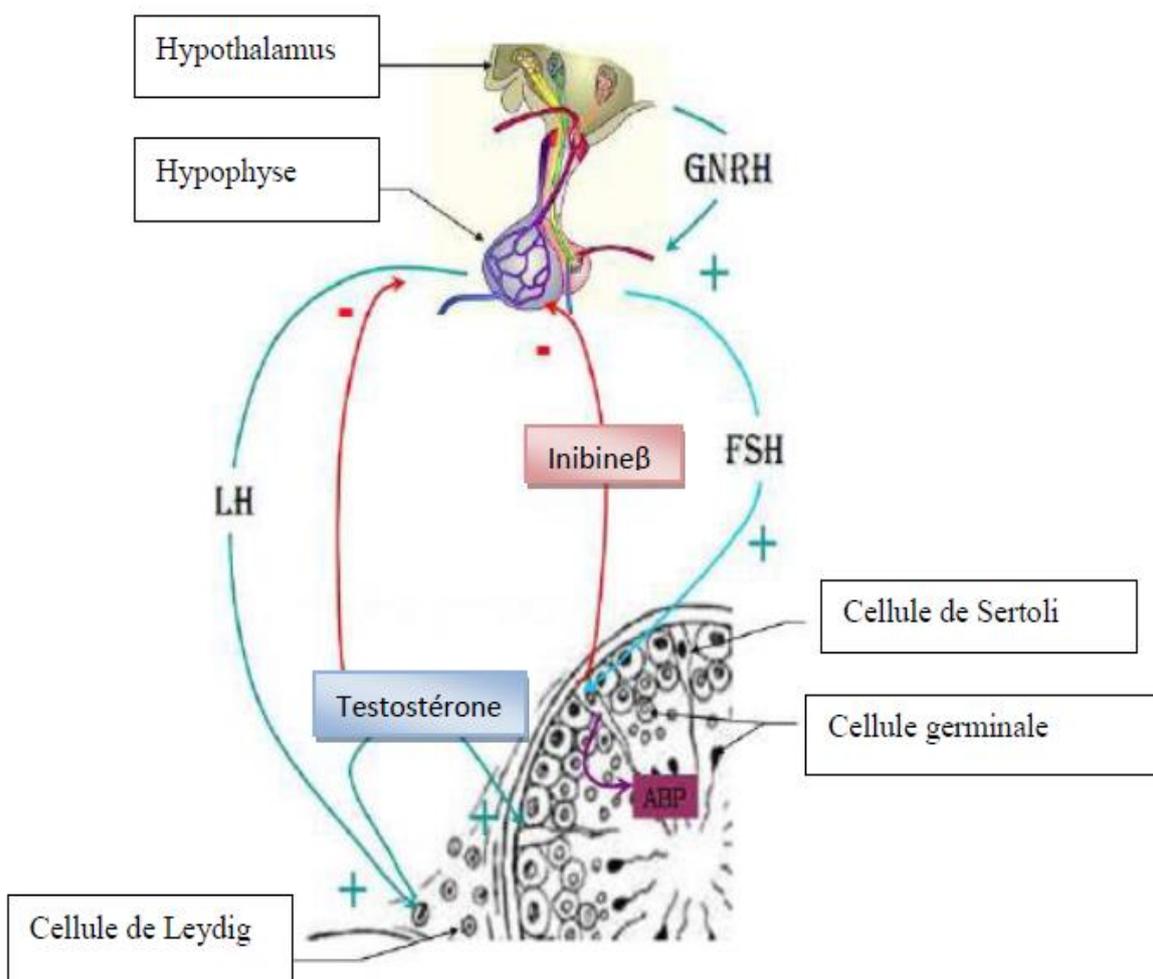


Figure 13 : Axe hypothalamo-hypophysaire-testiculaire et régulation de la fonction testiculaire (Christiansen *et al.*, 2002)

4.1.2. Régulation intragonadique des fonctions testiculaires

Le contrôle exercé par l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire est modulé par un rétrocontrôle assuré par les hormones testiculaires de nature stéroïdienne (testostérone) et protéique (inhibine) (Figure 13) (Roser, 2008).

La testostérone circulante qui induit la puberté et la virilisation, exerce un rétrocontrôle inhibiteur de la sécrétion de la 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), qui exerce un rétrocontrôle inhibiteur de la sécrétion de FSH par l'hypophyse (Ying, 1988 ; Dohel *et al.*, 2003).

4.2. Régulation externe

Plusieurs facteurs externes participent à la régulation de la fonction de reproduction, notamment la température, la saison et l'alimentation. Ajoutés à ceux-là, les huiles essentielles semblent avoir des effets qui peuvent participer à cette régulation.

4.2.1. Température

Chou *et al.* (1974) ont constaté que les lapins exposés à un stress thermique présentent d'une part une diminution du poids des organes génitaux et d'autre part une diminution de sécrétion des hormones sexuelles. La température favorable pour la reproduction se situe entre 15 et 18 °C, avec une humidité relative maintenue entre 55 et 80 % (Lebas, 2009). Dans les contrées chaudes tropicales ou subtropicales la température et l'humidité ambiante élevées sont des facteurs bien connues comme altérant la capacité reproductrice des lapins pendant les mois chauds (Xu *et al.*, 1992 ; Finzi *et al.*, 1994). En effet l'exposition des mâles à des températures élevées (34 °C pendant 8 h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogénèse, en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa et Thwaites, 1992).

4.2.2. Effet saison

D'après Boulbina (2011), la saison de naissance influence sur l'âge d'entrée en puberté car les lapins qui sont nés en hiver entrent plus précocement en puberté que ceux nés en été. Ces perturbations pourraient être expliquées par l'effet de la saison sur la sécrétion de la testostérone (Brambell, 1944 ; Frolich, 1948).

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 chez ceux exposés à la lumière pendant 8 heures.

4.2.3. Effet de l'alimentation

L'alimentation des lapins 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, tandis que l'absence de vitamine E dans la ration entraîne l'atrophie des testicules et la formation d'œdème interstitiel (Cheverel et Cormier, 1948).

4.2.4. Autres facteurs

Selon Mbaye *et al.* (2019), en évaluant les effets de certaines huiles essentielles sur le sperme humain, les résultats ont permis d'observer une augmentation de la qualité du sperme (mobilité et vitalité). L'huile essentielle d'origan et l'huile essentielle à base d'eucalyptus ont considérablement amélioré la motilité et la vitalité des spermatozoïdes humains après 5 à 10 minutes de contact avec les spermatozoïdes.

Certaines huiles essentielles ne sont pas sans danger pendant la grossesse et d'autres peuvent porter atteinte à la fertilité de leur utilisateur. Ce fait la fonction de reproduction peut être touchée à plusieurs niveaux : Bloquer le fonctionnement sexuel dû à une action hormone-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 endocrinienne. Des chercheurs ont mis en évidence que les huiles essentielles peuvent avoir, selon la plante utilisée pour leur confection, une toxicité plus au moins importante notamment chez les lapins et rongeurs de compagnie (Kammerer *et al.*, 2012).

CHAPITRE III
MATERIEL ET METHODES

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle de l'appareil reproducteur des lapins mâles. L'objectif de ce présent travail est l'étude de l'effet de l'huile essentielle de la Menthe poivrée sur l'épididyme des lapins mâles infantiles à différentes doses, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids épидидymaire. De ce fait, ce travail s'articule autour de deux parties ; l'étude de l'effet de l'huile essentielle de la Menthe poivrée sur la structure épидидymaire d'une part et l'effet dose d'autre part.

1. Matériel biologique

1.1. Modèle animal

La présente étude est portée sur 42 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 Tizi-Ouzou. Le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantages dans le domaine de la reproduction, et permet la mise en évidence de quelques processus reproducteurs comme les changements morphologiques de cycle épithéliale séminifère (Figure 14) (Ewuola et Egbunike, 2010).

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

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



Figure 14 : Photographie représentant un lapin âgé d'1 mois de la population blanche issus d'un élevage cunicole privé de la région de Djebba.

1.2. Huile essentielle de la Menthe poivrée (*Mentha piperita*)

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

La Menthe poivrée est l'huile essentielle la plus polyvalente, obtenue par distillation complète des feuilles de menthe (la méthode la plus utilisée est l'hydrodistillation). Elle possède une couleur jaune clair rafraichissante 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 des composés minoritaires tels que la menthofuranne, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les esters (Acétate de menthyle) et les oxydes (cinéole), (Abadlia et Chebbour, 2014).

1.3. 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.

1.4. Autres Matériels

L'expérimentation à nécessiter l'utilisation d'autres matériels tel que ; les papiers filtres, les portoirs, les micropipettes (10-100 μ l ; 100-1000 μ l), les ciseaux, les bavettes, les gants, les pinces, les spatules, les poires, les pissettes, Eppendorf, cassette d'inclusion, les cryotubes, les moules à paraffine, les lames et lamelles, la Balance à précision, la Centrifugeuse, l'étuve, le microtome, le microscope optique, ...etc.

2. Expérimentation

L'expérimentation s'est effectuée entre le mois de Mai et Juillet, l'administration de l'huile et les sacrifices sont effectués au niveau de l'élevage cunicole, 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'1 mois sont pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées à l'élevage cunicole et répartis en 6 lots.

- 5 lots (35 lapins) ont été traités à différentes doses :

D1=200µl/kg pour le Lot1 D2=300µl/kg pour le Lot2 D3=400µl/kg pour le Lot3

D4=500µl/kg pour le Lot4 D5=700µl/kg pour le Lot5

- 1 Lot (7 lapins) témoin (non traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée).

Tous les animaux sont exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement et nourris *ad libitum*, avec un aliment sec granulé fabriqué et commercialisé par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de Bétail).

L'eau est distribuée en accès libre permanent par des pipettes individuelles.

2.2. Pesée et administration de l'huile essentielle

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle à administrer pour chaque animal et chaque dose. Le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin (Figure 15). Cette opération a duré 3 matinées de suite.

Pour déterminer les doses nécessaires pour chaque lapin :

- La 1^{ère} dose : 200µl pour chaque 1kg de PV.
- La 2^{ème} dose : 300µl pour chaque 1kg de PV.
- La 3^{ème} dose : 400µl pour chaque 1kg de PV.
- La 4^{ème} dose : 500µl pour chaque 1kg de PV.
- La 5^{ème} dose : 700µl pour chaque 1kg de PV.



Figure 15 : Administration de l'huile essentielle de la Menthe poivrée par voie orale.

2.3. Sacrifices et prélèvements

Une semaine après l'administration de l'huile essentielle, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9h : 00 et 12h : 00 au niveau de l'élevage cunicole et le laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestres à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou (Figure 16).



Figure 16 : Lapin pesé puis sacrifié.

A : Pesée du lapin ; **B** : Sacrifice du lapin

Les animaux sont disséqués, leurs épидидymes sont prélevés puis dégraissés et pesés grâce à une balance de précision de 0,01g. Les épидидymes droits sont fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés étiquetés pour une étude histologique, alors que les épидидymes gauches sont placés dans des Eppendorfs et congelés à -20°C, jusqu'à leur utilisation ultérieure (Figure 17).

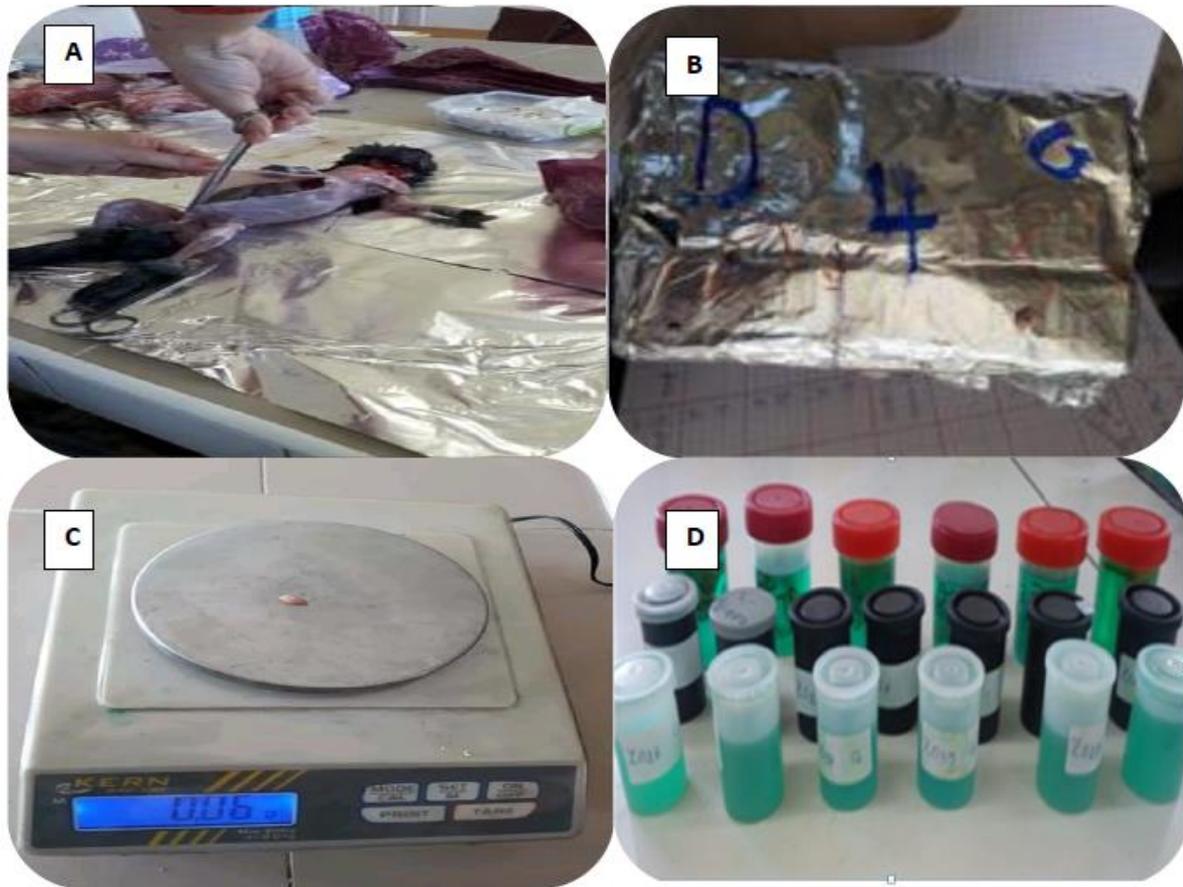


Figure 17 : Photographie de la dissection, prélèvement des épидидymes ainsi que leurs pesées et fixation.

A : Dissection d'un lapin mâle ; **B** : Prélèvement des épидидymes droits et gauches ; **C** : Détermination du poids grâce à une balance de précision de 0,01g ; **D** : Piluliers de fixation contenant les organes.

3. Étude histologique

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

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

3.1. Fixation des échantillons

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

Le fixateur utilisé est le Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) appartenant à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Les organes sont 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 18).



Figure 18 : Fixation des organes par le fixateur Bouin Hollande sublimé.

3.2. Déshydratation et éclaircissement

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

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'anatomo-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 19).



Figure 19: 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, on place la partie marquée de sa cassette dans le moule, on coule 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 20).

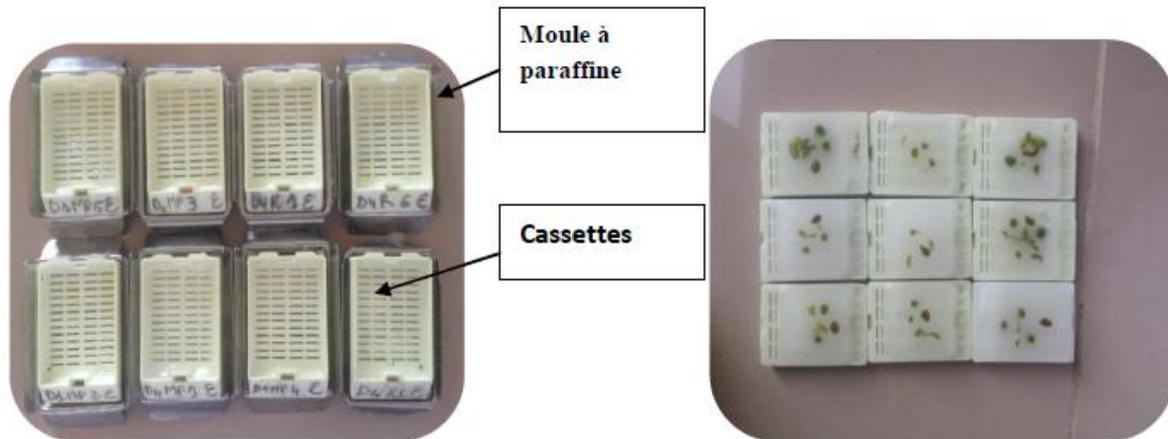


Figure 20 : Organes placés dans des moules qui recevront la Paraffine.

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 pour fixer l'échantillon à la lame (Figure 21).



Figure 21 : Photographie d'un microtome à gauche et du bain Marie à droite.

3.6. Déparaffinage et réhydratation

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

Le déparaffinage est une opération qui permet de retirer la paraffine qui imprègne la coupe. Il est suivi d'une réhydratation, qui est une séquence inverse de celle de la déshydratation (Figure 22). Il consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à des degrés décroissants (100°, 90°, 70°, 50°).



Figure 22 : Bains d'alcool et de xylène de la circulation.

3.7. Coloration topographique et Déshydratation

La coloration topographique de Trichrome de Masson a été choisie pour la coloration des échantillons (Figure 23). 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. Cette coloration est suivie d'une déshydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°, 90°, 100°) (Figure 24).



Figure 23 : Série d'une coloration topographique.

A : Hématoxyline ; **B** : Fuchsine Ponceau ; **C** : Eau Acétifiée ; **D** : Acide Phosphomolybdique ; **E** : Eau Acétifiée ; **F** : Vert Lumière ; **G** : Eau Acétifiée.



Figure 24 : Maquette de déshydratation.

3.8. Observation des lames

L'observation des lames se fait à l'aide d'un microscope photonique de type optica qui permet d'observer toute variation ou modification des structures histologiques des épидидymes (Figure 25). Des photographies sont prises grâce à un appareil photo numérique, de ce fait le grossissement de l'observation change et est calculé de la manière suivante :

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

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



Figure 25 : Photographie de l'observation des lames.

4. Étude statistique

Les variables (poids vifs, poids des épiphytes) 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 IV
RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus portent sur des paramètres macroscopiques avant et après administration de l'huile essentielle de la Menthe poivrée, à savoir le poids corporel, le poids épидидymaire et le poids épидидymaire relatif, ainsi que sur des paramètres microscopiques révélant la structure histologique des épидидymes.

1. Résultats de l'étude macroscopique

L'étude macroscopique porte sur le poids corporel avant et après administration de l'huile essentielle de la Menthe poivrée, ainsi que les poids épидидymaires et le poids épидидymaire relatif des lapins infantiles traités à des doses différentes (dose 1 : 200 μ l/kg, dose 2 : 300 μ l/kg, dose 3 : 400 μ l/kg, dose 4 : 500 μ l/kg et dose 5 : 700 μ l/kg).

1.1. Poids corporel

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

La Figure 26 représente la valeur moyenne du poids corporel des lapins infantiles avant et après l'administration de 5 doses de l'huile essentielle de la Menthe poivrée.

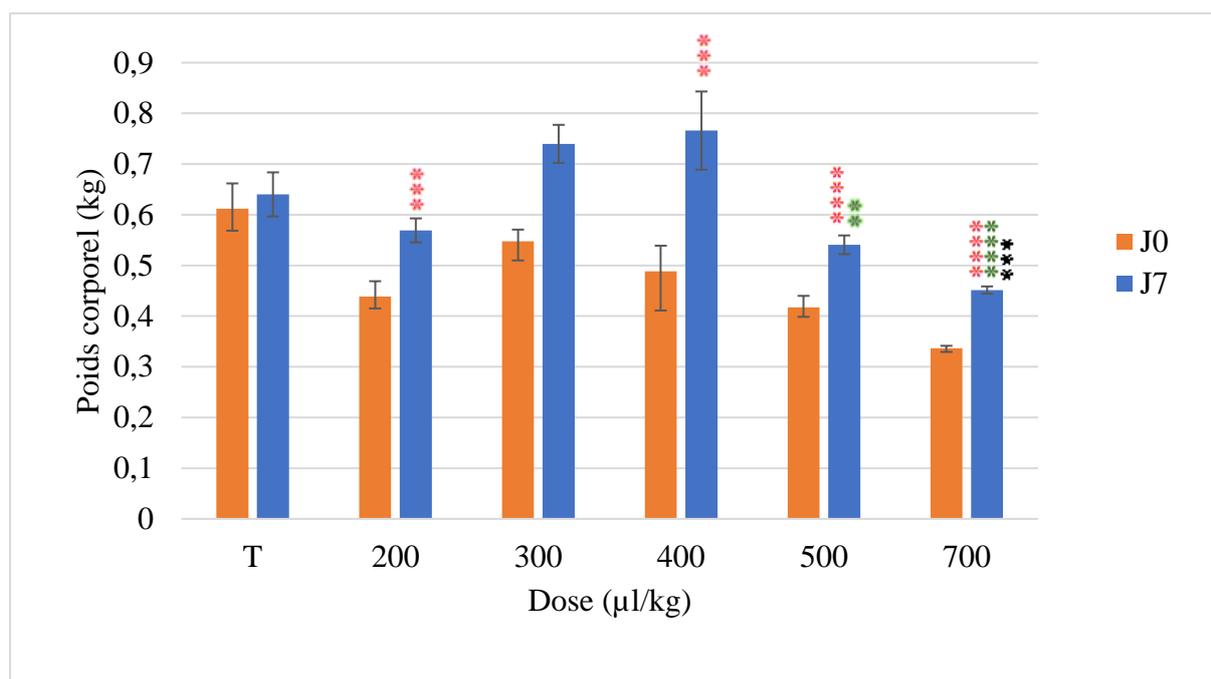


Figure 26 : Représentation graphique des poids corporels des lapins infantiles de la population blanche avant et après traitement par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.

T : Témoin ; **J0** : Poids corporel avant traitement ; **J7** : Poids corporel après traitement.

(*) : Comparaison entre J0 et J7 de la même dose.

(*) : Comparaison entre doses successives.

(*) : Comparaison entre dose et témoin.

La valeur moyenne du poids vif des lapins traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à (J7) est plus élevée que celle avant le traitement (J0). Un gain maximal de 0.27 kg est observé après l'administration de la dose 3 de 400 µl/kg, alors qu'un gain minimal de 0.09 kg est observé après l'administration de la dose 5 de 700 µl/kg.

La comparaison des poids corporels entre J0 et J7 a montré une différence très significative ($P < 0.01$) à la dose 1 de 200 µl/kg et la dose 3 de 400 µl/kg et une différence hautement significative ($P < 0.001$) à la dose 4 de 500 µl/kg et la dose 5 de 700 µl/kg.

Le poids corporel des témoins à J7 est de 0.64 kg, alors que celui des traités est de 0.56 kg à la dose 1 de 200 µl/kg qui augmente jusqu'à 0.76 kg à la dose 3 de 400 µl/kg pour ensuite diminuer jusqu'à 0.45 kg à la dose 5 de 700 µl/kg.

Nous avons constaté que le poids corporel des témoins est inférieur à celui des animaux traités à J7. D'ailleurs, la comparaison entre leurs poids a montré une différence très significative ($P < 0.01$) à la dose 5 de 700 µl/kg.

L'effet dose sur le poids corporel a révélé une corrélation positive des poids vifs à partir de la dose 1 de 200 µl/kg jusqu'à la dose 3 de 400 µl/kg puis une évolution inversement proportionnelle est observée à partir de la dose 4 de 500 µl/kg. Ces variations révèlent une différence significative ($P < 0.02$) à la dose 4 de 500 µl/kg et une différence hautement significative ($P < 0.001$) à la dose 5 de 700 µl/kg.

1.2. Poids épидидymaires

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

Le poids des épидидymes totaux ainsi que celui des épидидymes droits et gauches des lapins infantiles en fonction de la dose de l'huile essentielle de la Menthe poivrée administrée sont représentés dans les figures 27 et 28.

Le poids moyen des épидидymes des témoins à J7 est de $0,22 \pm 0,01$ g, alors que chez les lapins traités il est de $0,26 \pm 0,02$ g à la dose 1 de 200 µl/kg, cette valeur augmente jusqu'à $0,54 \pm 0,04$ g à la dose 3 de 400 µl/kg pour ensuite diminuer jusqu'à $0,24 \pm 0,01$ g à la dose 5 de 700 µl/kg.

Nous avons constaté que le poids moyen des épидидymes des témoins est inférieur à celui des traités à J7. D'ailleurs, la comparaison entre leurs poids a montré une différence hautement significative ($P < 0.001$) à la dose 2 de 300 µl/kg et la dose 3 de 400 µl/kg et une différence très significative à la dose 4 de 500 µl/kg.

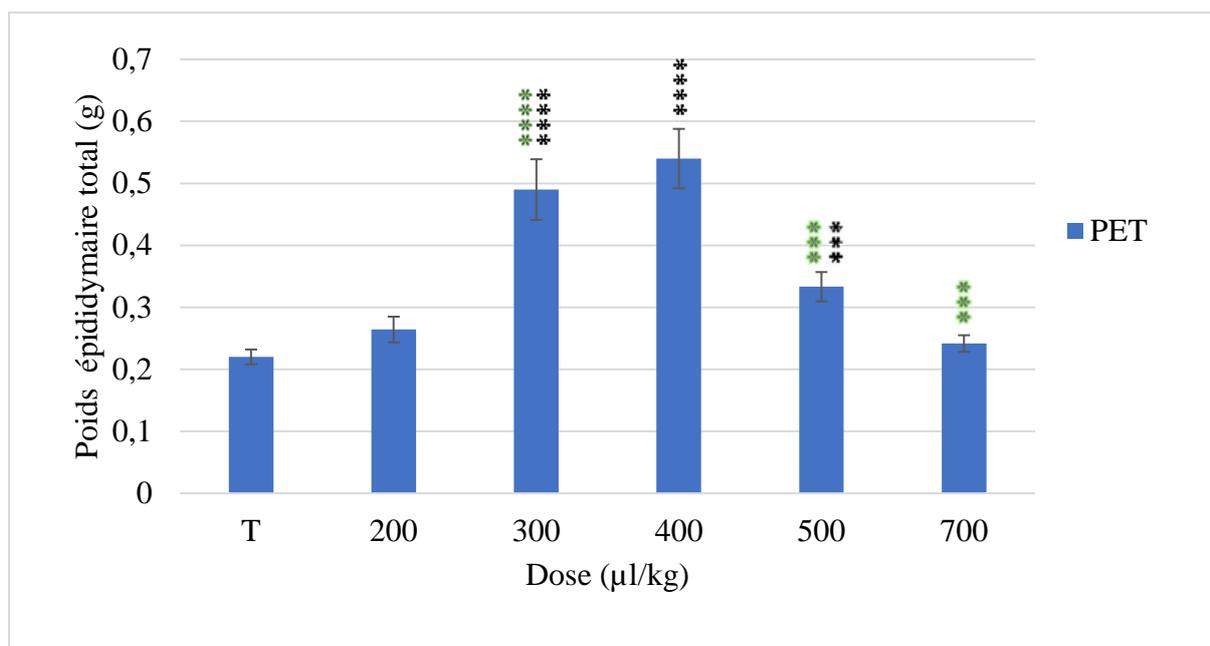


Figure 27 : Représentation graphique du poids moyen des épидидymes des lapins âgés de 1 mois de la population blanche traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.

T : Témoin ; **PET** : Poids épидидymaire total.

(*) : Comparaison entre doses successives.

(*) : Comparaison entre dose et témoin.

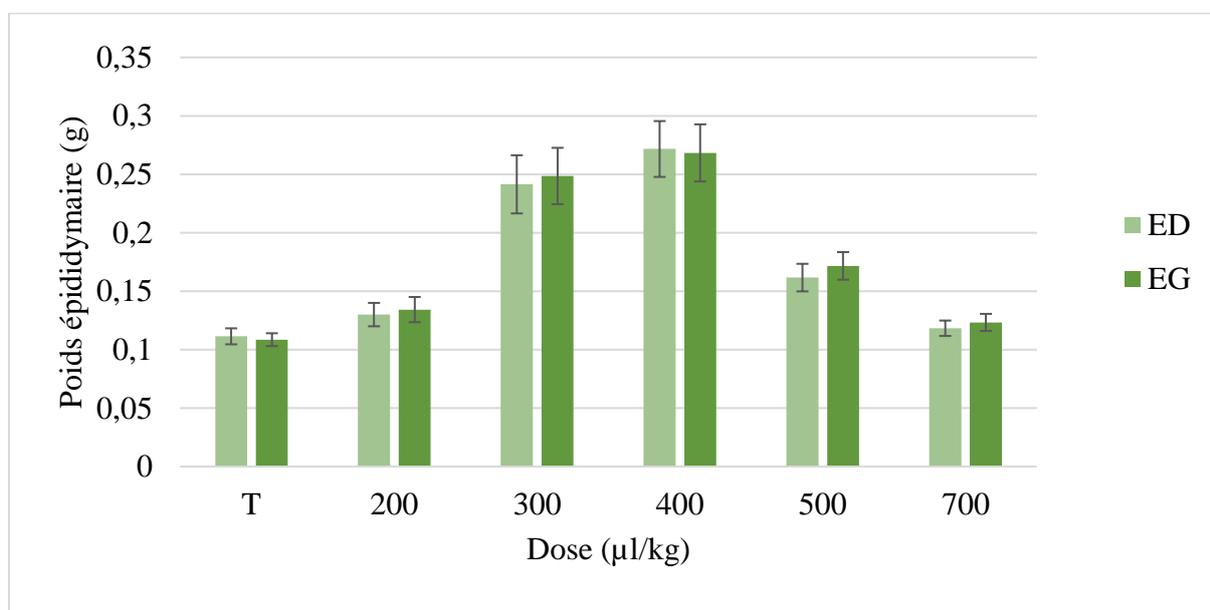


Figure 28 : Représentation graphique du poids moyen des épидидymes droits et gauches des lapins âgés de 1 mois de la population blanche traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.

T : Témoin ; **ED** : Épидидyme droit ; **EG** : Épидидyme gauche.

L'effet dose sur le poids moyen des épидидymes a montré que plus la dose de l'huile essentielle de la Menthe poivrée administrée augmente plus le poids des épидидymes augmente et cela en allant de la dose 1 de 200 $\mu\text{l/kg}$ jusqu'à la dose 3 de 400 $\mu\text{l/kg}$, alors que à partir de la dose 4 de 500 $\mu\text{l/kg}$ plus la dose de l'huile essentielle administrée augmente plus le poids épидидymaire diminue. Ces variations sont hautement significatives ($P < 0.001$) à la dose 2 de 300 $\mu\text{l/kg}$ et très significative ($P < 0.01$) à la dose 4 de 500 $\mu\text{l/kg}$ et la dose 5 de 700 $\mu\text{l/kg}$.

Cependant, la comparaison entre le poids moyen des épидидymes droits et gauches chez les lapins témoins et les traités a révélé que le poids moyen des épидидymes gauches est légèrement plus élevé que celui des épидидymes droits. Néanmoins l'étude statistique n'a révélé aucune différence significative.

1.3. Poids épидидymaire relatif

Les valeurs moyennes des poids relatifs des épидидymes des lapins infantiles traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses sont représentées dans la figure 29.

Le poids épидидymaire relatif est exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard liée à la moyenne.

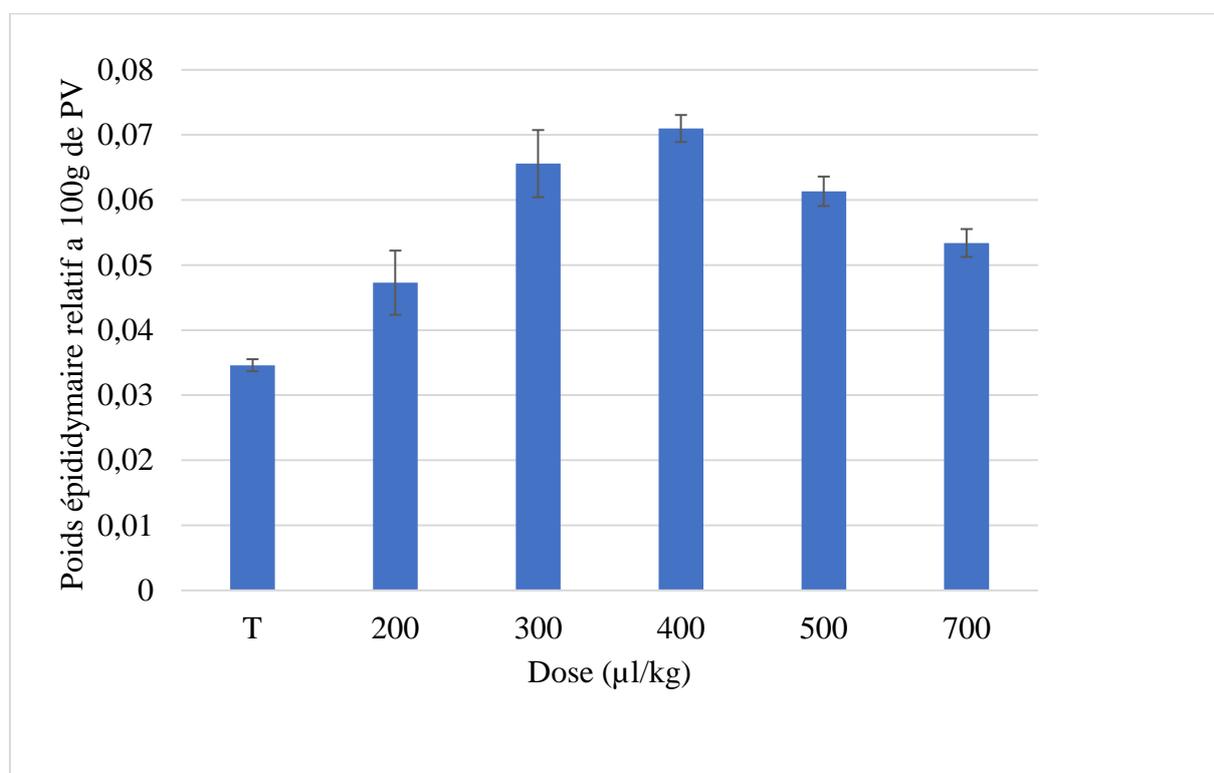


Figure 29 : Représentation graphique des poids épидидymaires relatifs des lapins infantiles traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses.

T : Témoin ; **PV** : Poids vif.

Nous avons constaté que le poids relatif épидидymaire des témoins est inférieur à celui des traités à J7. Il est de $0,03 \pm 0,0009$ chez les témoins, alors qu'il augmente chez les traités de la dose 1 de 200 $\mu\text{l/kg}$ à la dose 3 de 400 $\mu\text{l/kg}$ allant de la valeur de $0,04 \pm 0,004$ à la valeur de $0,07 \pm 0,002$ pour ensuite diminuer jusqu'à $0,05 \pm 0,002$ à la dose 5 de 700 $\mu\text{l/kg}$.

L'effet dose sur le poids épидидymaire relatif a révélé une corrélation positive à partir de la dose 1 de 200 $\mu\text{l/kg}$ jusqu'à la dose 3 de 400 $\mu\text{l/kg}$, puis une évolution inversement proportionnelle est observée à partir de la dose 4 de 500 $\mu\text{l/kg}$.

2. Résultats de l'étude microscopique

L'observation au microscope photonique a permis de distinguer des différences de l'organisation de la structure histologique des épидидymes.

2.1. Épидидymes des lapins témoins

L'observation au microscope photonique de la coupe histologique de l'épididyme des lapins témoins représentée dans la figure 30, montre des tubes maintenus entre eux par un tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives éparpillées, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins.

La lumière des tubes épидидymaires apparait vide et dépourvue de spermatozoïdes. Elle est entourée d'un épithélium cubique simple constitué exclusivement de cellules principales dépourvues de stéréocils émanant de leurs parties apicales.

Chaque section épидидymaire apparait entourée par une ou deux couches de cellules musculaires lisses très aplaties formant une ceinture autour du tube épидидymaire.



Figure 30 : Coupe histologique de l'épididyme des lapins infantiles témoins de la population blanche (Originale, 2020)

lu : lumière ; tc : tissu conjonctif ; cp : Cellule principale

2.2. Épididymes des lapins traités par l'huile essentielle de la Menthe Poivrée à différentes doses

La structure histologique de l'épididyme des lapins traités aux différentes doses (200µl/kg, 300µl/kg, 400µl/kg, 500µl/kg et 700µl/kg) montre au fort grossissement un tissu conjonctif intertubulaire qui contient des fibres conjonctives mieux organisés, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins.

L'observation microscopique des différentes coupes histologiques réalisées sur les épидидymes des lapins infantiles traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée a montré des variations structurales selon la dose administrée.

L'épithélium des lots traités par la dose 1 et la dose 2 est prismatique alors qu'il était cubique chez les témoins, d'une hauteur plus importante chez les traités par rapport aux témoins, encore plus chez les animaux traités par la dose 2 (Planche 1 A) que chez ceux traités par la dose 1 (Planche 1 B). Il est constitué de cellules principales occupant presque la totalité de l'épithélium possédant des stéréocils courts et peu nombreux chez le lot traité par la dose 1, alors qu'ils sont nombreux chez le lot traité par la dose 2. On y trouve également des cellules basales réparties de façon discontinue le long de la lame basale pour le lot traité par la dose 1 contrairement aux lapins traités par la dose 2 avec les cellules étroites qui apparaissent (Planche 1 B).

L'épithélium des épидидymes des lapins traités par la dose 3 est prismatique stratifié avec la présence de cellules principales très hautes munies de stéréocils plus grands et plus nombreux que celles des animaux traités par les doses précédentes au niveau de leur pôle apicale, ainsi que la présence de cellules étroites (Figure 31).

En revanche, l'épithélium épидидymaire des lapins traités par la dose 4 est pseudostratifié, présentant des cellules principales moins hautes que celles des épithéliums épидидymaires des lapins traités par la dose 3, avec des stéréocils peu développés ainsi que des cellules basales et des cellules étroites moins nombreuses (Planche 2 A).

L'épithélium des lapins traités par la dose 5 est prismatique ressemblant à celui des lapins traités par la dose 1 et 2, constitué de cellules principales moins hautes que celles des épithéliums des lapins traités par la dose 3 et 4, avec des stéréocils très courts et moins nombreux et quelques cellules basales (Planche 2 B).

La lumière des tubes épидидymaires traités à différentes doses est dépourvue de spermatozoïdes, et son diamètre varie en fonction de la dose administrée. Plus la dose administrée augmente en allant de la dose 1 à la dose 3, plus la lumière des tubes se rétrécit, et reste toujours inférieur à celle du témoin avec début d'apparition des premières sécrétions à la dose 2 et qui sont en abondance à la dose 3. Tandis que leur diamètre augmente aux doses 4 et 5, et les sécrétions diminuent et sont presque absentes à la dose 5.

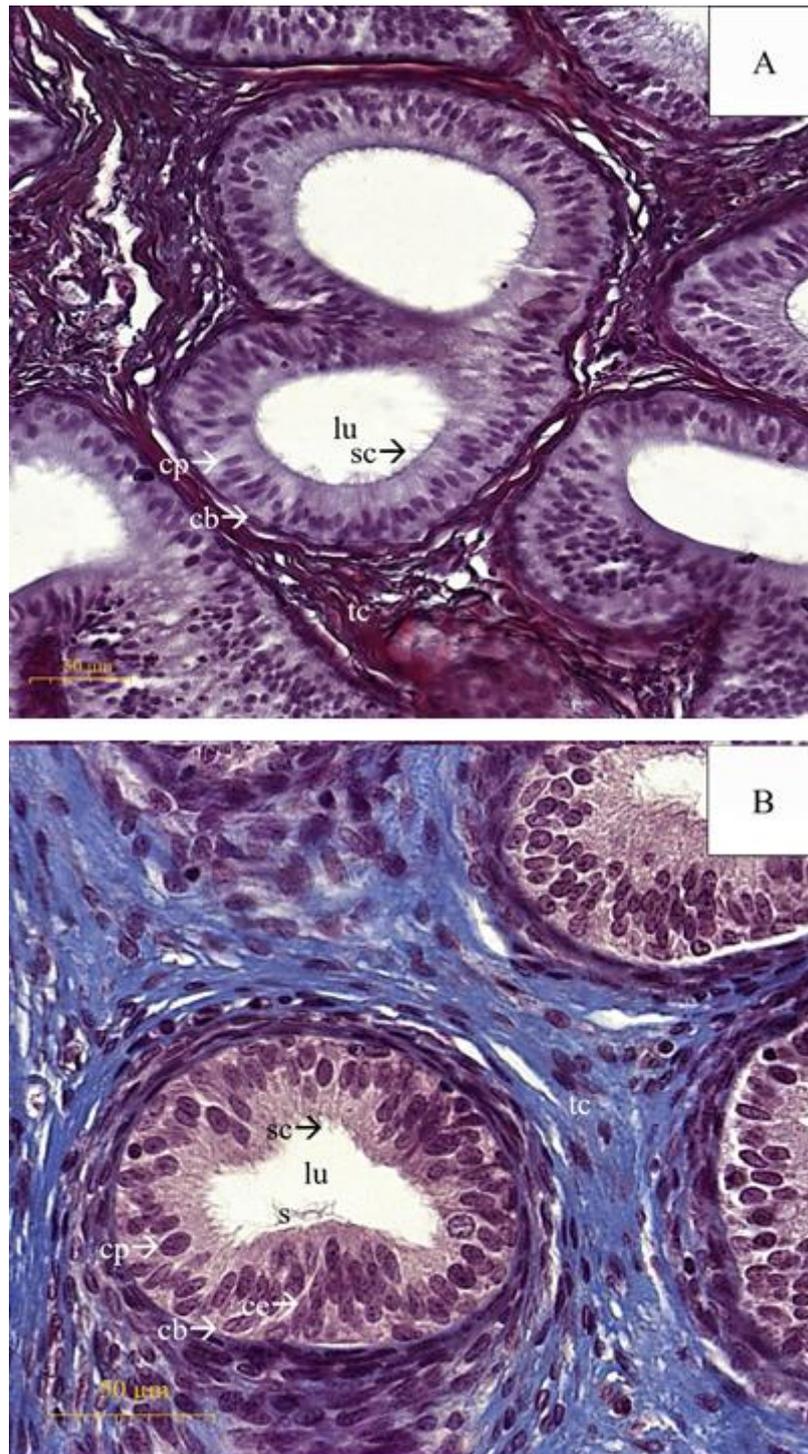


Planche 1 : Coupes histologiques des épидидymes des lapins infantiles de la population blanche traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée aux doses D1 de 200µl/kg et D2 de 300µl/kg (Originale, 2020).

A : Dose 1 (200µl/kg) ; **B** : Dose 2 (300µl/kg) ; **lu** : Lumière ; **s** : sécrétion ; **sc** : stéréocils ; **cp** : Cellule principale ; **cb** : Cellule basale ; **ce** : Cellule étroite ; **tc** : Tissu conjonctif.

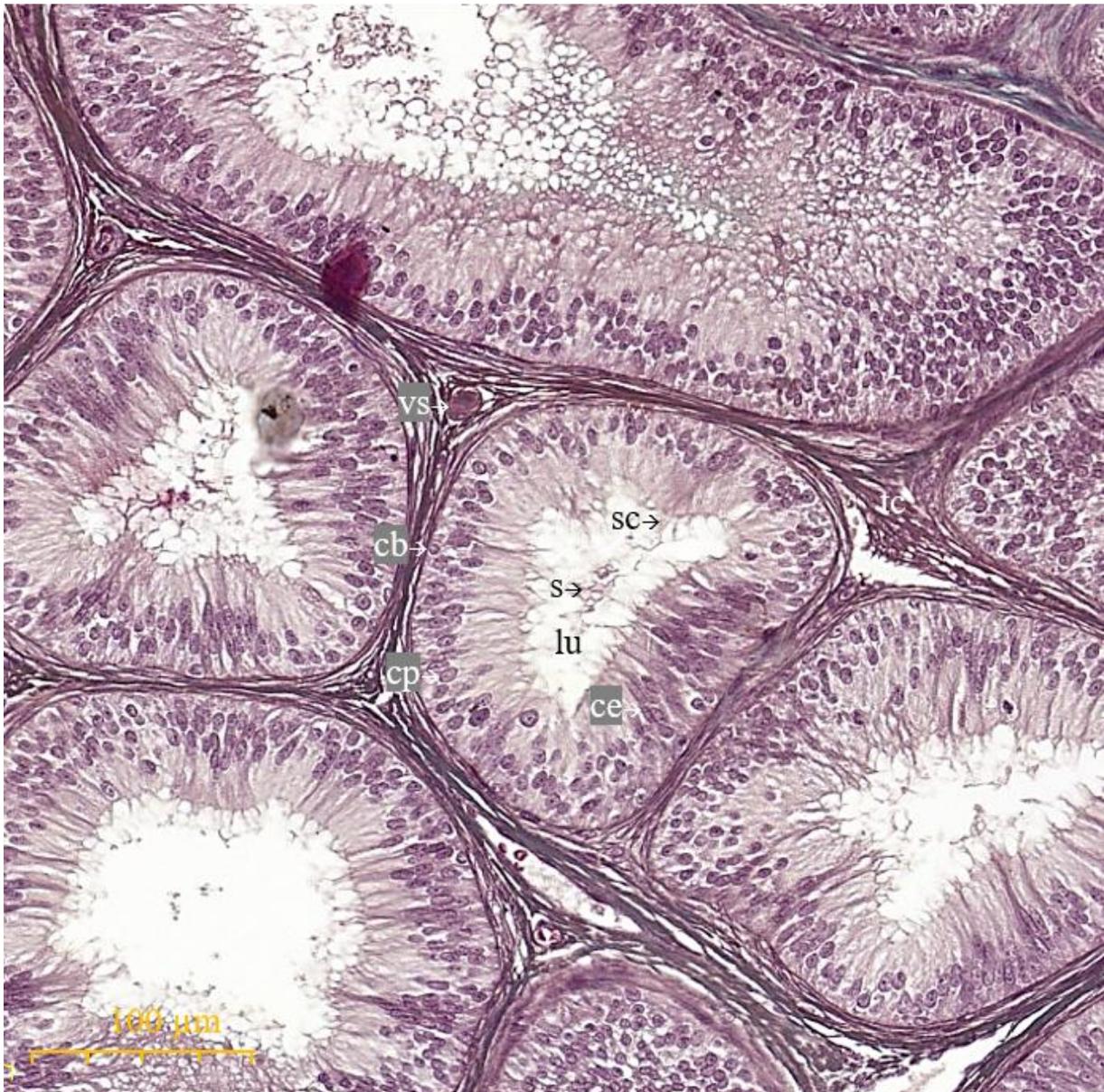


Figure 31 : Coupe histologique de l'épididymes des lapins infantiles de la population blanche traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à la dose D3 de 400µl/kg (Originale, 2020).
lu : lumière ; **tc** : tissu conjonctif ; **cb** : cellule basale ; **cp** : Cellule principale ; **s** : sécrétion ; **ce** : cellule étroite ; **sc**: stéréocils ; **vs** : vaisseau sanguin.

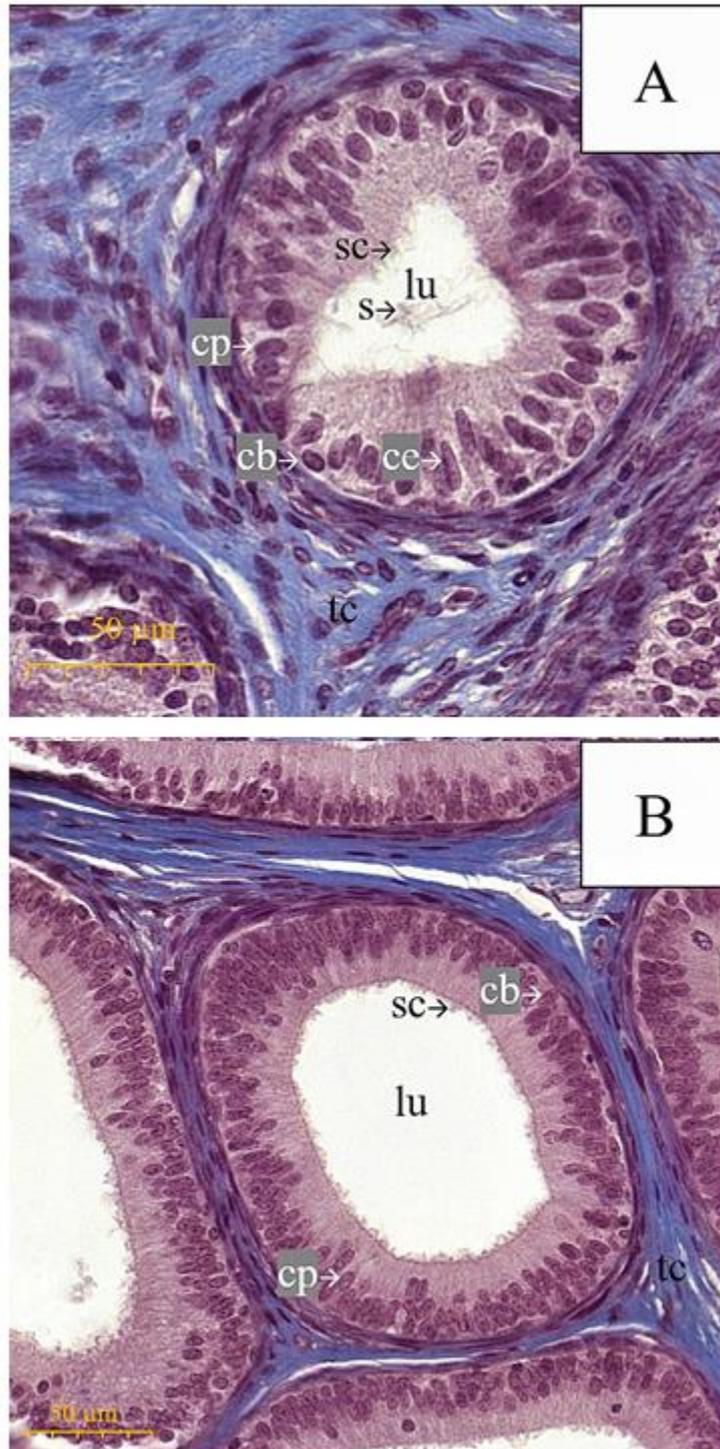


Planche 2 : Coupes histologiques des épидидymes des lapins infantiles de la population blanche traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée aux doses D4 de 500µl/kg et D5 de 700µl/kg (Originale, 2020).

A : Dose 4 (500µl/kg) ; **B :** Dose 5 (700µl/kg) ; **lu :** Lumière ; **tc :** Tissu conjonctif ; **cb :** Cellule basale ; **cp :** Cellule principale ; **ce :** Cellule étroite ; **st :** Stéréocils ; **s :** sécrétion.

Discussion

Les résultats obtenus dans cette étude montrent des modifications des paramètres macroscopiques (poids corporel et poids épидидymaire), ainsi que des variations structurales des épидидymes des lapins infantiles traités par 5 doses différentes de l'huile essentielle de la Menthe poivrée.

1. Paramètres macroscopiques

L'étude des paramètres macroscopiques (poids corporel et poids épидидymaire) montrent des valeurs plus importantes chez les lapins traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses par rapport à celles des témoins, de ce fait on constate que l'huile essentielle de la Menthe poivrée a un effet sur le poids corporel et le poids épидидymaire.

L'augmentation de la dose est en corrélation avec l'augmentation du poids corporel et du poids épидидymaire total en allant de la dose 1 de 200 μ l/kg à la dose 3 de 400 μ l/kg où on a la valeur maximale. En revanche, on a une régression du poids corporel et du poids épидидymaire total à partir de la dose 4 de 500 μ l/kg.

Le poids épидидymaire relatif à 100g de poids vif montre que le poids épидидymaire total suit de façon synchrone les valeurs du poids corporel.

Les résultats obtenus corroborent avec ceux obtenus par Badaoui et Djera (2019), ceux obtenus par Abdi et Meziani (2019) ainsi que ceux obtenus par Amisaada et Amellal (2019) sur les huiles essentielles de la Menthe poivrée et du Romarin à verbénone « *Salvia rosmarinus* » qui ont engendré une hausse des paramètres macroscopiques (Poids corporel, poids et volume testiculaire et épидидymaire) qui est un indicateur de fertilité chez le lapin mâle de la population blanche.

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

Haeri *et al.* (2006) ont noté une amélioration considérable de tous les paramètres évalués tels que la puissance, la fécondité, l'indice de fertilité et la taille de la litière après le traitement des rats par l'huile essentielle de la sarriette (*Satureja khuzestanica*), aux doses de 75, 150 et 225 mg / kg / jour pendant 45 jours.

Les recherches de Nantia *et al* (2007) ; Soy *et al* (2018), ont montré que le poids corporel des rats accroît avec le temps suite à un traitement par les extraits éthanolique des feuilles de *Mentha piperita* pendant 60 jours et méthanolique de la baselle appelée également épinard de Malabar « *Basella alba L* » à la dose de 80µl pendant 30 jours qui ont utilisés respectivement.

Selon Nassem *et al.* (1998), des extraits de graines de la margose appelée aussi melon amer « *Momordica charantia* » testés chez des rats pendant 35 jours ont montré une augmentation du poids épидидymaire, ce qui suggère que cet extrait possède des propriétés androgéniques.

Par ailleurs, l'extrait aqueux de la graine de l'illipe nommée aussi arbre à beurre «*Madhuca latifolia* » a été administré à des rats albinos mâles à la dose de 2 g/kg pendant 21 jours. Le résultat a montré une réduction significative du poids des testicules, épидидyme, vésicule séminale et nombre de spermatozoïdes et le taux de testostérone. L'étude a révélé que cette graine est un puissant agent antispermatozène (Gopalkrishnan *et Shimpi.*, 2011).

L'extrait de Menthe verte « *Mentha spicata* » (à la dose de 20 g /l pendant 35 jours) provoque une diminution significative du poids des testicules, épидидymes, vésicule séminale et prostate. Tandis qu'à la dose de 40g/l pendant 25jours, elle a causé une diminution significative de LH sérique, FSH, testostérone et taux des spermatozoïdes au niveaux de l'épididyme (Kumar *et al.*, 2008).

2. Paramètres microscopiques

L'étude des paramètres microscopiques des épидидymes des lapins infantiles traités par l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses a montré des variations structurelles de l'épithélium épидидymaires tels que des changements de la hauteur des cellules principales et l'apparition des cellules basales, étroites et développement des stéréocils, ainsi que des modifications du diamètre de la lumière des tubes épидидymaires et l'apparition des sécrétions.

Ces changements s'accroissent en allant de la dose 1 de 200µl/kg à la dose 3 de 400µl/kg, puis à partir de la dose 4 de 500µl/kg ces modifications sont à moindre degré par rapport aux doses précédentes. Néanmoins, la structure épидидymaire reste toujours modifiée par rapport aux témoins.

Les résultats obtenus corroborent avec ceux obtenus par Yayaoui (2018) qui a constaté que l'huile essentielle de la Menthe poivrée a engendré le déclenchement de la spermatogenèse chez le lapin mâle de la souche synthétique.

Les variables microscopiques comme 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 et concordent modérément avec les variables macroscopiques en donnant une information supplémentaire quant à la maturité fonctionnelle des épидидymes (Schinckel *et al.*, 1983 ; Chemes, 2001).

Les résultats obtenus par Mohammad *et al.* (2009), sur l'effet des grains de nigelle sur la spermatogenèse et la fertilité des rats mâles albinos auxquels l'extrait aqueux de *nigella sativa* à 300mg/kg a été administré par voie orale, a entraîné l'augmentation significative de la hauteur des cellules épithéliales et de la fonction sécrétoire au niveau de la tête et la queue de l'épididyme chez les groupes traités par rapport aux groupes témoins.

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

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

D'autre part, l'extrait aqueux du goyavier « *Psidium guajava* » a une activité contraceptive. En effet, traiter des rats albinos mâles par cet extrait aux doses de 250 et 500 mg/kg de poids corporel induit une réduction significative du poids des organes reproducteurs, des taux de testostérone, de cholestérol total, de triglycérides dans le sérum (Choudhury et Sinha., 2014).

L'administration de l'extrait aqueux de gousses sèches d'*Acacia nilotica* a été donné à des rats Wistar mâles à la dose de 200 mg/kg de poids corporel provoque une réduction significative de la motilité et de la concentration de spermatozoïdes et les taux de testostérone. L'étude histopathologique des organes reproducteurs a montré qu'une dose d'*Acacia nilotica* perturbait l'architecture des tubules et du processus de spermatogenèse, possédant ainsi une activité antifécondante (Lampiao., 2013).

CONCLUSION

L'étude sur les effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée à 5 doses différentes (200 µl/kg, 300 µl/kg, 400 µl/kg, 500 µl/kg et 700 µl/kg) sur des lapins mâles infantile de la population blanche, nous a permis d'évaluer de façon expérimentale les changements qu'elle apporte au niveau macroscopique et microscopique, à savoir le poids corporel, le poids épидидymaire ainsi que la structure histologique des épидидymes.

Les résultats obtenus ont permis de constater que les effets de cette huile sont dose-dépendant. En effet le poids corporel et le poids épидидymaire augmentent de façon proportionnelle avec l'augmentation de la dose avec un effet maximal à la dose 3 (400 µl/kg). Cependant, au-delà de cette dose les valeurs du poids corporel et du poids épидидymaire deviennent inversement proportionnelles aux doses précédentes.

Par ailleurs, les changements structuraux au niveaux épидидymaire commence dès l'administration de la dose 1 (200 µl/kg), les cellules principales deviennent prismatiques avec développement des stéréocils. A la dose 2 de 300µl/kg, l'activité sécrétoire débute et un nouveau type cellulaire apparait (cellules basales). Ces changements s'accroissent à la dose 3 de 400µl/kg, les cellules principales deviennent plus abondantes avec une plus forte activité sécrétoire laissant une lumière d'un diamètre étroite, les stéréocils deviennent plus nombreux, les cellules basales sont plus nombreuses et un autre type cellulaire s'ajoute au précédents qui sont les cellules étroites. Néanmoins, à partir de la dose 4 de 500µl/kg ces changements s'amointrissent, la hauteur des cellules principale n'atteint pas celle des précédentes, les sécrétions sont plus faibles, et à la dose 5 de 700 µl/kg la lumière est plus large sans sécrétion.

Sachant que l'activité cellulaire au niveau de l'épithélium épидидymaire ainsi que les différents facteurs de croissance responsables des variations pondérales, sont en étroite relation avec la régulation régit par l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, ces différentes modifications au niveau macroscopique et microscopique sont probablement induites par un signal hormonal du fait que l'huile essentielle est un produit aromatique riche en phyto-œstrogène.

Afin de compléter cette recherche, il serait de grand intérêt de réaliser cette étude dans un temps plus large et des doses plus importantes sur un effectif plus grand et renforcer cette étude par une étude histomorphométrique pour étudier les effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée sur le volume des tubes épидидymaires, les variations hormonales (testostérone, FSH et LH) ainsi que le dosage des paramètres biochimiques pour appuyer les résultats obtenus afin d'identifier les effets de cette huile sur la fertilité.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. **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 de Master en Métabolisme Secondaire, Université des frères Mentouri, Algérie. 90p.
2. **Abdi T. et Meziani F. (2019).** Effet de deux huiles essentielles ; Menthe Poivrée et Romarin à Verbénone à de doses différentes (300µl/kg ; 400µl/kg) sur les structures gonadiques (testicules et épидидymes) chez les lapins mâles infantiles. Mémoire de Master en Biologie et physiologie de la reproduction, Département de Biologie, UMMTO : 94p.
3. **Abe K., Takano H. et Ito T. (1983).** Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. *Archiv. Histo.Jap.*, vol. 46 (1) : 51-68.
4. **Abou-Haïla A., et Fain-Maurel, M. A. (1984).** Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: morphological and histochemical characterization. *The Anat.Rec.*, vol. 209 (2) : 197-208.
5. **Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Gravel R.A., Trasler J.M., et Hermo L. (1999).** Characterization and development of the regional- and cellular-specific abnormalities in the epididymis of mice with beta-hexosaminidase a deficiency. *J.Androl.*, vol. 20 : 803-824.
6. **Al-Saaidi J.A.A., Al-Khuzai A.L.D. et Al-Zobaydi N.F.H. (2009).** Effect of alcoholic extract of *Nigella sativa* on fertility in male rats. *Iraqi J.Vet.Sci.*, Suppl II : 123-128.
7. **Alvarino J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. *In: Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia*, vol. A : 13-35.
8. **Alvarino J.M.R. (1993).** Control de la reproduction en el conejo. *Mundi-Prensa* (1) :137p.
9. **Amann RP. (2011).** Physiology and Endocrinology. *In: Mc Kinnon AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (eds), Equine Reproduction (2ed)*. United Kingdom : 881-908.
10. **Amann R.P. (1993).** Physiology and Endocrinology. *In: McKinnon AO, VOSS JL (eds), Equine Reproduction (1ed.)*, Lea & Febiger eds, Philadelphia : 1137-1154.
11. **Badaoui L. et Djera K. (2019).** Étude préliminaire sur les effets des huiles essentielles de la Menthe poivrée et du Romarin à Verbénone à deux doses différentes (200µl/kg et 300µl/kg) sur la structure des testicules et des épидидymes des lapins

- mâles infantiles de la population blanche. Mémoire de Master en Biologie et physiologie de la reproduction, Département de Biologie, UMMTO : 104p.
12. **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : Splanchnologie II, *Edition Vigot Frères.* : 241-516.
 13. **Barone R. (1976).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : Splanchnologie, Laboratoire d'anatomie, ENV, Lyon : 879p.
 14. **Bedford J.M. (1975).** Maturation, transport, and fate of spermatozoa in the epididymis. *In: Handbook of Physiology*, vol. 5 : 303-317.
 15. **Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckheim M., Veyssiere G., Blanc M.R., Poirier J.C. et Jean C. (1982).** Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol*, vol. 99 : 459-465.
 16. **Bonafous C. (2013).** Traité scientifique aromathérapie - Aromatologie et aromachologie. *Edition Dangles*, France : 522p.
 17. **Boulbina I. (2011).** Caractéristique de la semence du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*). Thèse de magistère, ENSV, Algérie : 98p.
 18. **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. *Edition Association Française de Cuniculture*, France : 240p.
 19. **Brambell F.W.R. (1944).** The reproduction of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* L. Edition Blackwell Publishing Ltd, In : Proceedings of the Zoological Society of London., Oxford : 1-45.
 20. **Breton S. et Da Silva N. (2012).** Rôle de l'épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med.Sci. Amer.*, vol. 1 : 1-20.
 21. **Bridges N.A., Hindmorsh P.C., Pringle P.J., Matthews D.R. et Brouk C.G. (1993).** The relationship between endogenous testosterone and gonadotrophin secretion. (*Edition oxford*) *Clin Endocrinol*, vol. 38 : 373-378.
 22. **Chemes H. E. (2001).** Infancy is not a quiescent period of testicular development. *Int. J. Andrology*, vol. 24 : 2-7.
 23. **Cheung K.H., Leung G.P., Leung M.C., Shum W.W., Zhou W.L., Wong P.Y. (2005)** Cell-cell interaction underlies formation of fluid in the male reproductive tract of the rat. *J. Gen. Physiol*, vol. 125 : 443-454.
 24. **Cheverel M.L. et Cormier M. (1948).** Effets de la carence en vitamine E sur le système génital mâle du lapin. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences*, vol. 226 (24) : 2013.

25. **Chou I.P., Chuanl Y.I. et Chen-Chao. (1974).** Effect of heating on rabbit spermatogenesis. *Chinese medical journal*, vol. 6 : 365-375.
26. **Choudhury S., et Sinha M.P. (2014).** Effects of *Psidium guajava* aqueous extract on testosterone and serum lipid profile of albino rats. *Middle-East Journal of Scientific Research*, vol. 21 (10) : 1893-1897.
27. **Christiansen P., Andersson A.M., Skakkebaek N.E. et Juul A. (2002).** Serum inhibin B, FSH, LH and testosterone levels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepubertal boys with cryptorchidism. *European Journal Endoc.*, vol. 147 : 95 101.
28. **Clermont Y. (1972).** Knetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol.Rev*, vol. 52 : 198-235.
29. **Cornwall, G. A. (2009).** New insights into epididymal biology and function. *Human reproduction update*, vol. 15 (2) : 213-227.
30. **Couic-Marinier F. et Lobstein A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, vol. 52 (525) : 18-21.
31. **Cross N.L. (2004).** Reorganization of lipid rafts during capacitation of human sperm. *Biol Reprod.*, vol. 71 : 1367-1373.
32. **Cyr D.G., Gregory M., Dube E., Dufresne J., Chan P.T., Hermo L. (2007).** Orchestration of occludins, claudins, catenins and cadherins as players involved in maintenance of the blood-epididymal barrier in animals and humans. *Asian J.Androl.*, vol. 9 : 463-475.
33. **Da Silva N., Cortez-Retamozo V., Reinecker H.C., Wildgruber M., Hill E., Brown D. et Breton S. (2011).** A dense network of dendritic cells populates the murine epididymis. *Reproduction (Cambridge, England)*, vol. 141 (5) : 653.
34. **Dadoune J.P et Demoulin A. (2001).** Structure et fonction du testicule. *La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. Edition INRA*, France : 256-289.
35. **Dohle G.R., Smit M. et Weber R.F. (2003).** Androgens and male fertility. *World J Urol*, vol. 21 (5) : 341-345.
36. **EL kalamouni. C. (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. 2010. Thèse de Doctorat à Université de Toulouse, INPT, France : 263p.
37. **Ewuola E.O. et Egbunike G.N. (2010).** Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reproduction*, vol. 139 (2) : 439-445.

38. **Finzi A., Morera P. et Macchioni P. (1994).** Modification of some rabbit spermatic parameters in relationship to high ambient rabbit spermatic parameters in relationship to high ambient temperatures. *Cath. Option Méditeur.* vol. 8 : 333-336.
39. **Frend R., Bogerd J., França L. et Vilela D.A.R. (1973).** La fonction reproductive masculine. *Organisation de la Santé*, Genève, vol. 520 : 6-11.
40. **Frolich A. (1948).** Some factors affecting semen production in rabbits. *In: J. Camps (Editor), Proc. World Rabbit Congress II*, Barcelona : 1-62.
41. **Girod C. et Czyba J.C. (1977).** Biologie de la reproduction : Appareils génitaux. *SIMEP. UNIV. CLAUDE BERNARD, LYON* : 1-356.
42. **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 : 218p.
43. **Glover T. D. et Nicander L. (1971).** Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis. *Journal of reproduction and fertility. J Reprod Fertil Suppl*, vol. 13 : 39-50.
44. **Gopalkrishnan B. et Shimpi N.S. (2011).** Effet anti-fécondité de l'extrait de graine de machridure de *Madhuca latifolla* (Roxb.). *Revue internationale de biologie appliquée et de technologie pharmaceutique*, vol. 2 (4) : 49-53.
45. **Grassé P.P. (1949).** Ordre des Isoptères ou termites. *Traité de zoologie*, vol. 9 : 408-544.
46. **Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M. (2006).** Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on male rat fertility. *Fitoterapia*, vol. 77 (7-8) : 495-499.
47. **HAMILTON D.W. (1990).** Anatomy of mammalian male accessory reproductive organs. *Marshall's physiology of reproduction*, vol. 2 : 691-746.
48. **Hammond G.L., Koivisto M. et Vihkor. R. (1997).** Serum steroids and pituitary hormones in infants with particular reference to testicular activity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 49 (1) : 40-45.
49. **Hermo L. et Robaire B. (2002).** Epididymal cell types and their functions. *In: Robaire B., Hinton B.T. The epididymis: From Molecules to Clinical Practice. Kluwer Academic/Plenum Publishers*, New York: 81-102.

50. **Hermo L., Adamali H.I. et Andonian S. (2000).** Immunolocalization of CA II and H⁺ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J.Androl*, vol. 21 : 376- 391.
51. **Hinton B. et Turner T. (1988).** Is the epididymis a kidney analogue?. *News physiol.Sci.*, vol. 3 : 28-31
52. **Hinton B.T. et Palladino M.A. (1995).** Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc. Res. Tech.* vol. 30 : 67–81.
53. **Hinton B.T., Palladino M.A., Rudolph D. et Labus J.C. (1995).** The epididymis as protector of maturing spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*, vol. 7 (4) : 731-745.
54. **Hochereau De Reviers M.H.T et Royere D. (1996).** Anatomie fonctionnelle du testicule adulte. In : *Drosdowsky M.A, Belaich J. et Vermeulen A. : Endocrinologie masculine. Editions Doin, Paris : 35-46*
55. **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.*, vol 175 : 69-201.
56. **Holstein A.F., Schulze W. et Davidoff M. (2003).** Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, vol. 1 : 107.
57. **Imbeaud S. (1994).** Molecular genetics of the persistent mullerian duct syndrome: a study of 19 families. *Hum. Mol. Genet.*, vol 3(1) : 125-31.
58. **Jardin A., De Fourmestraux N. (1984).** Anatomie de l'appareil genital masculin. In : *Mauvais-Jarvis P., Schaison G., Bouchard P., Mahoudeau J. et Larbie F., Edition Médecine de la reproduction masculine, Flammarion Medecine/science, Montreal : 15-17.*
59. **Johnson M.H. et Everitt B.J. (2002).** Reproduction. *Edition De Boeck* : 56-150.
60. **Johnston D.S., Jelinsky S.A., Bang H., Di Candeloro P., Wilson E., Kopf G.S. et Turner T.T. (2005).** The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. *Biol.Reprod.*, vol. 73 : 404-413.
61. **Joly T. et Theau-clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction. *7ème Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C. Valencia "Ombres et Lumières"* : 19-24.
62. **Jones R., James P.S., Howes L., Bruckbauer A., Klenerman D. (2007)** Supramolecular organization of the sperm plasma membrane during maturation and capacitation. *Asian J.Androl.*, vol. 9 : 438–444.

63. **Junqueira L.C. et Carneiro J. (2007).** Basic histology. *11th ed. Copyright © The McGraw Hill Companies* : 260-265.
64. **Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012).** 100 intoxications chez les animaux de compagnie. *Maloine, Paris* : 185-186.
65. **Kasa I.W. et Thwaites C.J. (1992).** Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8h on either 1 or 5 days. *J.App. Rabbit Res.*, vol 15 : 500-568.
66. **Kirchhoff C. (1999).** Gene expression in the epididymis. *Int.Rev.Cytol.*, vol. 188 : 133-202.
67. **Kujala M., Hihnala S., Tienari J., Kaunisto K., Hastbacka J., Holmberg C., Kere J. et Hoglund P. (2007)** Expression of ion transport-associated proteins in human efferent and epididymal ducts. *Reproduction*, vol 133 : 775-784.
68. **Kumar V., Kural M.R., Pereira B.M.J. 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 Chem.Toxicol.*, vol. 46 : 3563-3570.
69. **Kumar. D., Agrawal. CP, Mishra. DD et Singh. V., (2014).** Effet anti-fertilité de l'extrait de benzène de fleurs d'*Hibiscus rosa sinensis* L. sur le système reproducteur chez des rats mâles albinos. *Indian Journal Applied & Pure Biology*, vol 29 (2) : 215-217.
70. **Lakabi L. (2015).** Etude développement postnatal des structures gonadiques et qualité de la semence du lapin mâle de la population blanche. *Thèse de doctorat, UMMTO, Algérie* : 148p.
71. **Lampiao F. (2013).** Les effets anti-fertilité d'*Acacia nilotica* chez les rats mâles Wistar. *Journal de Reproduction Infertilité*, vol 14 (1) : 39-42.
72. **Le Moigne A. et Foucrier J. (2009).** Biologie du développement. *7ème Edition. DUNOD Inc* : 200 p.
73. **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle. <<http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>> (Accès 03/2009).
74. **Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). *FAO éditeur, Rome* : 227p.
75. **Lebas F., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990).** Le lapin: élevage et pathologie. *Collection F.A.O : production et santé animale* : 1-210.
76. **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie. *édition FAO, Rome* : 298p

77. **Little T.V. et Holyoak Gr. (1992).** Reproductive anatomy and physiology of the stallion. *Vet.Clin.North.Am.Equine.Pract.*, vol 8 (1) : 1-29.
78. **Mandon M. (2015).** Isolement des cellules basales épидидymaires et caractérisation de nouvelles fonctions. Thèse de doctorat à Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique : 232p.
79. **Mann T. et Parsons U. (1950).** Studies on the metabolism of semen. 6. Role of hormones. Effect of castration, hypophysectomy and diabetes. Relation between blood glucose and seminal fructose. *Biochemical Journal*, vol. 46 (4) : 440-450.
80. **Marieb N.E. (2005).** Anatomie et physiologie humaines. *6ème ed. Renouveau pédagogique* : 1096p.
81. **Martinet L. (1973).** Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. *Conférence, Session ITAVI*, Toulouse.
82. **Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P., Palacios J., Paniagua R. et Nistal M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia*, vol. 27 (4) : 195-206.
83. **Mbaye M.M., El Khalfi B., Addoum B., Mar P. D., Saadani B., Louanjli N. et Soukri A. (2019).** The effect of supplementation with some essential oils on the mobility and the vitality of human sperm. *The Scientific World Journal*, Article ID 4878912, vol. 2019 : 6p.
84. **McLachlan R.I., O'Donnell L., Meachem S.J., Stanton P.G., de Kretser D.M., Pratis K. et Robertson D.M. (2002)** Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. *Recent Progress in Hormone Research*, vol. 57 : 149–179.
85. **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.
86. **Mitchell B. et Sharma R. (2005).** Embryologie. *Editions elsevier* : 85p.
87. **Mohammad M.A., Mohamad M.M., et Dradka, H. (2009).** Effects of black seeds (*Nigella sativa*) on spermatogenesis and fertility of male albino rats. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, vol 4 (2) : 386-390.
88. **Mruk D.D. et Cheng C.Y. (2004).** Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocr.Rev.*, vol. 25 (5) : 747-806.

89. **Nantia E.A., Moundipa P.F., Beboy N.S.E., Monsees T. K. et Carreau S. (2007).** Etude de l'effet androgénique de l'extrait au méthanol de *Basella alba* L. (*Basellaceae*) sur la fonction de reproduction du rat mâle. *Andrologie*, vol. 17 (2) : 129.
90. **Nassem M.Z., Patil S.R. et Patil S.B. (1998).** Anti-spermatogenic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albinorats. *Journal of ethno pharmacology*, vol 61 : 9-16.
91. **Nguyen S.Y., Bourouina. R. (2008).** Manuel d'anatomie et de physiologie : Les Fondamentaux. *Editions Lamarre*, Paris : 421p.
92. **Noblanc A., Peltier M., Damon-Soubeyrand C., Kerchkove N., Chabory E., Vernet P. et Conrad M. (2012).** Epididymis response partly compensates for spermatozoa oxidative defects in snGPx4 and GPx5 double mutant mice. *PloS one*, vol 7 (6) : e38565.
93. **Olson G.E. et Hinton B.T. (1985).** Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J.Androl*, vol 6 : 20-34.
94. **Olson G.E., NagDas S.K. et Winfrey V.P. (2002).** Structural differentiation of spermatozoa during post-testicular maturation. *In The epididymis: from molecules to clinical practice*, Springer, Boston : 371-387.
95. **Orgebin-Crist M.C., Danzo B.J. et Davies J. (1975).** Endocrine control of the development and maintenance of sperm fertilizing ability in the epididymis. *In : Greep R., Hamilton D.W., eds. Handbook of physiology-endocrinology V. Baltimore : Williams and Wilkins : 319-38.*
96. **Pietrement C., Sun-Wada G.H., Silva N.D., McKee M., Marshansky V., Brown D., Futai M. et Breton S. (2006).** Distinct expression patterns of different subunit isoforms of the V-ATPase in the rat epididymis. *Biol. Reprod*, vol. 74 : 85-194.
97. **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.* vol. 81 (11) : 2714-2724.
98. **Robaire B., Hinton B.T. et Orgebin-Crist M.C. (2006).** The epididymis. *In: Neill J.D. (ed.) Physiol. of Reprod*, New York : 1071-1148.
99. **Robaire B., Jervis K.M. et Ezer N. (2003).** Cell dynamics and cell death in the epididymal epithelium. *In: Hinton BT, Turner T.T., editors. The Third International Conference on the Epididymis.* Charlottesville : 35-49.

100. **Robaire B. et Viger RS. (1995).** Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol.Reprod.*, vol. 52 : 226-236.
101. **Robaire B. et Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. *In : The Physiology of Reproduction* Eds Knobil E. et Neill J. *Rav. Pres*, New-York : 999-1080.
102. **Roser J.F. (2008).** Regulation of testicular function in the stallion: an intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. *Anim.Reprod.Sci.*, vol. 107 (3-4) : 179-196.
103. **Russell L.D. et Griswold M.D. (1993).** Sertoli cell. *In: The Sertoli cell (LD Russel, MD Griswold, eds)*, Cache River Press, Florida : 1-747.
104. **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-Etats des Sciences et Vétérinaires : 113p.
105. **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.*, vol. 56 (5) : 1065-1076.
106. **Schulz R. W., Menting S. Bogerd J., França L.R. et Vilela D.A.R. (2005).** Sertoli cell proliferation in the adult testis—evidence from two fish species belonging to different orders. *Biology of reproduction*, vol. 73 (5) : 891-898.
107. **Seiler P., Cooper T.G., Yeung C.H. et Nieschlag E. (1999).** Regional variation in macrophage antigen expression by murine epididymal basal cells and their regulation by testicular factors. *J.Androl.*, vol. 20 : 738-746.
108. **Setchell B.P., Maddocks S. et Brooks D.E. (1994).** Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. *The physiology of reproduction* : 1063-1175.
109. **Shadan S., James P.S., Howes E.A. et Jones R. (2004).** Cholesterol efflux alters lipid raft stability and distribution during capacitation of boar spermatozoa. *Biol.Reprod.*, vol. 71 : 253-265.
110. **Sharpe R.M. (1994).** Regulation of spermatogenesis. *The physiology of reproduction*, vol. 1 : 1363-1434.
111. **Siffroi JP. (2001).** L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno : 1-45.

112. **Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J.Reprod.Fert.*, vol. 14 : 151-154.
113. **Sobotta J. (2010).** Atlas der Anatomie des Menschen. *Elsevier Health Sciences*, vol. 1 : 416p.
114. **Soranzo L., Dadoune J.P. et Fain-Maurel M.A. (1982).** Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study. *Reprod. Nutr. Dev.*, vol. 22 : 999-1012.
115. **Soy A., Sahu R. K. et Rath S. (2018).** A histomorphological study of the effect of mint on the testes of albino rats. *Journal of the Anatomical Society of India*, vol. 67 : 35.
116. **Takano H. (1980).** Qualitative and quantitative histology and histogenesis of the mouse epididymis, with special reference on the regional difference. *Acta Anat Nippon*, vol. 55 : 573-587.
117. **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. *Nouvelle Edition, éd. Ellipses*, Paris : 936.
118. **Thibault C., Levasseur MC. (1991).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. *Edition Marketing, Ellipses*, Paris : 768.
119. **Tortora G J., Derrickson (2009).** Manuel d'anatomie et de physiologie humaine. *Hoboken, N.J. Wiley* : 1174p.
120. **Travis A.J., Merdiushev T., Vargas L.A., Jones B.H., Purdon M.A, Nipper R.W., Galatioto J., Moss S.B., Hunnicutt G.R. et Kopf G.S. (2001).** Expression and localization of caveolin-1, and the presence of membrane rafts, in mouse and Guinea pig spermatozoa. *Dev. Biol.*, vol. 240 : 599-610.
121. **Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine, Laennec, Université Claude Bernard, France : 1-4.
122. **Van Praag, E. (2003).** Anesthesia of the rabbit Part II: Intra-anesthetic period, and its monitoring. *MediRabbit* :
http://www.medirabbit.com/EN/Surgery/Anesthesia_rabbits_main.PDF
123. **Veri J.P., Hermo L. et Robaire B. (1993).** Immunocytochemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J.Androl.*, vol. 14 : 23-44.
124. **Vezeinhet A. (1968).** Effet de l'hypophysectomie sur la croissance pondérale de l'agneau. *CR Acad. Sci. Paris, Ser. D*, vol. 266 : 388-390.

125. **Vigueras-Villasenor R.M., Montelongo-Solís P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013).** Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. *Acta. Histochemica.* : 9.
126. **Wang P. et Duan Y.G. (2016).** The role of dendritic cells in male reproductive tract. *Am J. Reprod. Immunol.*, vol. 76 (3) :186-192.
127. **Widmaier H., Raff K. et Strang T. (2009).** Physiologie humaine. *Maloine* : 703p.
128. **Wosnitzer M.S. et Paduch D.A. (2013).** Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *In American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, vol. 163 (1) : 16-26.
129. **Xu L., Yang G., Chen Z., Hung S., Chen J., Jin S. et Ye Y. (1992).** Studies on integrative measures of raising the reproductive ability of the domestic rabbit during hot seasons. *J. Appl. Rabbit Res.*, vol. 15 : 569-574.
130. **Yayaoui M. (2018).** Etude préliminaire sur l'effet de l'huile essentielle « *Mentha piperita* » sur la structure histologique des épидидymes des lapins mâle « *Oryctolagus cuniculus* » de la souche synthétique pubères et prépubères (3 et 5 mois). Mémoire de Master en Biologie et physiologie de la reproduction, Département de Biologie, UMMTO : 73p.
131. **Ying S.Y. (1988).** Inhibins, activins, and follistatins: gonadal proteins modulating the secretion of follicle stimulating-hormone. *Endocrinology Rev* vol. 9 : 267-293.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiches techniques 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 1 ml.

Fiche technique N° 2 :

Eau gélatinée de Masson (Martoja, 1967) :

Gélatine en poudre 0,1 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 fuchsine ponceau 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Orange G 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

Vert lumière 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% Rinçage.

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

Résultats :

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

Hématoxyline de Groat (Martoja, 1967) :

Préparation à froid :

Première solution : Acide sulfurique

concentré 0,8 ml

Alun de fer 1 g

Eau distillée 50 ml

Deuxième solution :

Hématoxyline 0,5 g

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 0,1 g

Ponceau 0,2 g

Eau distillée 300 ml

Après dissolution ajouter :

Acide acétique 0,6 m

Conservation illimitée

Orange G (Martoja, 1967) :

Acide phosphomolybdique ou

phosphotungstique 3 à 5 g

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

L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée à différentes doses sur les paramètres macroscopiques et microscopiques incluant les structures épидидymaires des lapins mâles infantiles de la population blanche (*Oryctolagus cuniculus*). Cette étude est portée sur 42 lapins traités par cette huile essentielle à 5 doses différentes (D1 de 200µl/kg, D2 de 300 µl/kg, D3 de 400 µl/kg, D4 de 500µl/kg et D5 de 700µl/kg). Les animaux sont répartis en 6 lots dont 1 lot destiné aux témoins et 5 autres lots destinés aux lapins traités. Après avoir été pesés, ces animaux ont été traités avec une dose unique de l'huile essentielle par voie orale. Une semaine après, les lapins sont sacrifiés et les épидидymes sont prélevés, pesés puis fixés pour effectuer une étude histologique. La présente étude révèle des changements des paramètres macroscopiques et microscopiques chez les lapins traités, en l'occurrence l'augmentation du poids corporel et épидидymaire ainsi que des modifications du type et de l'activités cellulaire au niveau de l'épithélium en allant de la dose D1 à la dose D3 et au-delà de cette dose l'effet inverse est observé jusqu'à la dose D5. De ce fait, ces modifications mettent en évidence l'effet dose sur l'amélioration de la fertilité chez le lapin mâle.

Mot clés : Lapin, Epididyme, fertilité, Reproduction, Huile essentielle, Menthe poivrée.

Abstract

The objective of this study is to determine the effects of Peppermint essential oil at different doses on the macroscopic and microscopic parameters including the epididymal structures of infantile male rabbits of the white population (*Oryctolagus cuniculus*). This study is carried out on 42 rabbits treated with this essential oil at 5 different doses (D1 of 200 µl / kg, D2 of 300 µl / kg, D3 of 400 µl / kg, D4 of 500 µl / kg and D5 of 700 µl / kg). The animals are divided into 6 batches, including 1 batch intended for controls and 5 other batches intended for treated rabbits. After being weighed, these animals were treated with a single dose of the essential oil by mouth. One week later, the rabbits are sacrificed and the epididymis are removed, weighed and then fixed for a histological study. The present study reveals changes in the macroscopic and microscopic parameters in the treated rabbits, namely the increase in body and epididymal weight as well as changes in cell type and cell activity at the level of the epithelium, ranging from dose D1 to dose D3 and beyond this dose the opposite effect is observed up to dose D5. Therefore, these changes demonstrate the dose effect on improving fertility in male rabbits.

Keywords: Rabbit, Epididymis, fertility, Reproduction, Essential oil, Peppermint.