

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue d'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie

Option : Biologie et physiologie de la reproduction

Thème

**ETUDE HISTOMORPHOMETRIQUE DE LA
GLANDE MAMMAIRE CHEZ LA LAPINE VIDE ET
GESTANTE**

Promotrice : M^{me} ZERROUKI N.

Professeure

Réalisé par :

Co-promotrice : M^{elle} AROUN R.

Doctorante

M^{elle} TALEB Katia

Membres du jury :

M^{me} BENABDESSALAM R.

Professeure

Présidente

M^{me} GUENDOZI S.

MACA

Examinatrice

M^{me} Khaldoun H.

MCCA(USDB)

Examinatrice

Promotion 2018/2019

Remerciements

Mes remerciements vont tout d'abord à dieu le tout puissant qui m'a donné la force et la patience pour l'accomplissement de ce modeste travail.

J'exprime mes respectueuses gratitudee à ma promotrice madame **ZERROUKI-DAOUDIN**, professeure à l'université m Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour m'avoir dirigé tout au long de mon travail, pour son aide et ses conseils ainsi que pour tous les moyens nécessaires qu'elle a mis à ma disposition. Je vous remercie très sincèrement pour votre patience.

Je tiens à remercier ma Co-promotrice **Melle AROUN R.** pour son soutien, ses encouragements et pour tout ce qu'elle m'a apporté par son implication afin de réaliser ce mémoire.

Je remercie vivement :

Mme **BENABDESSELAM.R**, Professeur à UMMTO, qui m'a fait honneur de présider le jury de soutenance.

Mme **GUENDOULS**, maitre assistante A à UMMTO, pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Mme **KHALDOUN.H**, maitre de conférences de classe A à l'USD Blida, pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Je remercie également **M^r M. BOUHADOUN** propriétaire de l'élevage cunicole à tizgirt qui a mis a notre disposition les animaux afin de réaliser notre expérimentation.

Enfin, je remercie également M^{me} **F. BENSERAI** chef de service du laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU Nedir Mohammed Tizi Ouzou qui nous a permis de réaliser la partie histologique de notre étude.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents « Maman je t'aime »

Pour leur soutien, leur patience et leurs encouragements

Durant toutes mes années d'études.

A mon cher mari « Amine » et mes enfants : Maelysse, Adam et Maslen.

A mes frères et sœurs

Particulièrement Lynda pour sa précieuse aide.

A ma belle famille OUACHEM (mes beaux parents)

A mes beaux frères et belles sœurs

A mes amis (es)

et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à l'aboutissement de ce modeste travail.

Katia

Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie I : Synthèse bibliographique

1- Particularités de la physiologie de la reproduction chez la lapine.....	02
1-1- Différenciation et maturité sexuelle.....	02
1-2- Gestation	03
1-3- Mise bas	04
1-4- Lactation.....	05
1-5- La pseudogestation	05
2- Etude de la glande mammaire	06
2-1- Anatomie de la glande mammaire	06
2-2- Structure de la glande mammaire en lactation.....	08
2-3- Développement au cours de la vie	10
2-3-1- La mammogénèse	12
2-3-2- La lactogénèse	14
2-3-4- Galactopoïèse	15
2-3-5- Phase d'involution.....	15
2-4- Régulation hormonale de la glande mammaire	15
2-4-1- Les œstrogènes	16
2-4-2- La progestérone	16
2-4-3- L'hormone de croissance (GH)	17
2-4-4- L'hormone lactogène placentaire (PL)	17
2-4-5- La prolactine	17
2-4-6- Les glucocorticoïdes	17
2-4-7- L'ocytocine	18
2-5- Mécanisme de la lactation	18
2-5-1- Induction de la sécrétion du lait.....	18
2-5-2- Mécanisme d'entretien de la lactation.....	18
2-5-3- Mécanismes de sécrétion du lait.....	19
2-6- Composition du lait de lapine	20
3- Facteurs de variation de la production laitière	21
3-1 Facteurs liés à l'animal.....	21
3-1-1-Facteurs génétiques.....	21
3-1-2 -Parité.....	21
3-1-3 -Taille de la portée	21
3-1-4 -Etat physiologique de la femelle.....	22
3-2- Facteurs liées à l'environnement.....	22
3-2-1-Alimentation.....	22
3-2-2- Effet saison.....	23

Partie II : Matériels et méthodes

1. Objectif de l'expérimentation.....	24
2. Matériel biologique.....	24
2.1. Le modèle animal.....	24
2.2. Taxonomie du lapin.....	25
3. Protocole expérimental.....	25
4. Méthode de prélèvement des organes.....	25
4.1. Pesée des animaux.....	26
4.2. Dissection.....	26
5. Etude histologique.....	27
5.1. Fixation.....	27
5.2. Déshydratation et éclaircissement.....	27
5.3. Imprégnation.....	27
5.4. Inclusion.....	28
5.5. Confection des coupes et étalement (microtomie).....	29
5.6. Déparaffinage et réhydratation.....	29
5.7. Coloration.....	29
5.8. Montage des lames histologiques.....	30
6. Etude morphométrique.....	31
7. Analyses statistiques.....	31

Partie III : Résultats et discussions

1. Résultats.....	32
1.1. Données pondérales.....	32
1.2. Etude histomorphométriques.....	34
1.2.1. Etude histologique.....	34
1.2.2. Etude morphométrique.....	36
2- Discussion.....	39
Conclusion et perspectives.....	41

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1: Développement corporel durant la période de reproduction chez des lapines lourdes

Figure 2: Glandes cutanées et mamelles de lapine

Figure 3 : Structure de la glande mammaire de primates, de rongeurs, de lagomorphes (A) et de ruminants (B)

Figure 4 : Structure de l'acinus mammaire

Figure 5 : Structure et fonctionnement de la cellule épithéliale mammaire

Figure 6 : Développement mammaire, illustré par des montages in toto de glandes mammaires de lapine

Figure 7: Régulation neuroendocrinienne de la mammogénèse

Figure 8: Régulation hormonal de la lactogénèse

Figure 9: Schéma du développement de la glande mammaire au cours d'un cycle de lactation et son contrôle hormonal

Figure 10 : Reflexe neuroendocrinienne d'entretien de la lactation

Figure 11 : Reflexe neuroendocrinienne de l'éjection de lait

Figure 12 : Photos des lapines de souche synthétiques

Figure 13 : pesée corporelle des lapines

Figure 14: Prélèvement de l'organe

Figure 15: Organe posé sur plaque

Figure 16: Appareil de circulation LEICA (Déshydratation- imprégnation)

Figure 17: Appareil à enrobage de type LEICA

Figure 18: Microtome.

Figure 19: Batteries de coloration

Figure 20: Montage des lames

Figure 21: Coupes histologiques d'une glande mammaire de lapine colorées à l'HE et observées à différents grossissements

Figure 22 : Coupes histologiques d'une glande mammaire de lapine vide colorées à l'HE et observées à différents grossissements

Figure 23 : Diamètre des acini mammaires en fonction de l'état physiologique

Figure 24 : Histogramme représentant les surfaces; des acini, de la lumière des acini et de leur l'épithélium en fonction de l'état physiologique

Figure 25: Surface des noyaux des cellules l'épithélium des acini mammaires en fonction de l'état physiologique

Figure 26 : hauteur des cellules épithéliales mammaires fonction de l'état physiologique

Liste des tableaux

Tableau 1: Nombre et situation des mamelles chez les mammifères

Tableau 2: Composition comparée du lait de vache, de chèvre, de brebis et de lapine

Tableau 3 : Poids corporel et poids de la glande mammaire des lapines vides

Tableau 3 : Données pondérales et nombre de fœtus

Tableau 4 : Moyennes et ESM des paramètres morphométriques

Tableau 5 : analyses statistiques (normalité et p-value du test student)

Liste des abréviations

GH = growth hormon
PGF2 α = prostaglandine F2 α
CEM= cellules épithéliales mammaires
EGF= l'Epidermal Growth Factor
TGF α = Transforming Growth Factor alpha
IGF1 = insulin-like growth factor-1
Ig= immunoglobulines
ER α = estrogen receptor alpha
ER β = estrogen receptor beta
PR-A= progesteron receptor A
PR-b= progesteron receptor
PRL= Prolactine
PRLR= Prolactin Receptor
WAP = Whey Acidic Protein
ARN= Acide ribonucléique
ADN =Acide désoxyribonucléase
STAT5 = Signal Transducer and Activator of Transcription
PTHrP= Parathyroid hormone-related peptide
T3= triiodothyronine
ACTH= adrénocorticotrophine
TSH= Thyroid stimulating hormon
RH= hormon receptor
SNC=systeme nerveux central
NSO=noyau supra-optique
NPV=noyau paraventriculaire
NA= Noreadrenaline
Ach= Acétylcholine
GABA= Acide Gamma-Aminobutyrique
DA= Dopamine
g=grammes
kg=kilogrammes
NS= non significative

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

ITELV: Institut Technique des Elevages

TA : Tissu Adipeux

TC : Tissu Conjonctif

Introduction générale

Le lapin *Oryctolagus cuniculus* est un mammifère herbivore utilisé comme animal de laboratoire et apprécié comme animal de compagnie, il est exploité pour sa chair, mais aussi pour son poil et sa fourrure (**Bolet, 1998**).

En Algérie, il existe différents types génétiques de lapins à savoir: population locale, blanche et la souche synthétique qui a été créée en 2003 par l'institut technique d'élevage ITELV (institut technique des élevages) pour améliorer le potentiel génétique des lapins destinés à la production de viande (**Gacem et al., 2008; Gacem et al., 2009 et Zerrouki et al, 2014**).

La lapine présente des caractéristiques reproductives intéressantes qui ont suscité l'intérêt à étudier sa physiologie, son cycle biologique court (30 jours de gestation) et sa taille de portée qui peut aller de 1 à 14 lapereaux (**Lebas et al., 1996**).

La reproduction et la lactation sont intimement liées: la lactation est considérée comme un sous produit de la gestation où il y'a un fond commun d'hormones qui préside la gestation et qui régule la lactation (**Martinet et houdebine, 2006**).

Chez la lapine 67% de la croissance mammaire a lieu pendant la gestation et 33% pendant la lactation (**Denamur, 1963**).

Parmi les hormones qui favorisent le développement de la glande mammaire, les hormones stéroïdiennes, la prolactine, l'ocytocine et les hormones du métabolisme (GH, insuline...) (**Delouis et al., 2001**).

Le passage d'un état physiologique à un autre entraîne des modifications structurales au niveau de la glande mammaire, laquelle présentera des structures variables en fonction de son état; en ce sens, notre travail a pour but d'étudier les modifications histologiques touchant la glande mammaire d'une lapine gestante, ce qui permettra d'assurer la mise en place de la fonction lactée de nos femelles.

Notre étude est scindée en trois parties, la première c'est une synthèse bibliographique concernant la physiologie de la reproduction de la lapine et rappels anatomo-histologiques de la glande mammaire et son contrôle hormonal. La seconde partie c'est une partie expérimentale qui comprendra la méthodologie établie et la dernière partie qui sera consacrée aux résultats et discussion. On terminera par une conclusion.

Partie I

Synthèse bibliographique

1- Particularités physiologiques de la reproduction chez la lapine

La lapine est une femelle polytoque ayant une durée de gestation de 31 jours et dont l'ovulation est induite par l'accouplement. Contrairement à de nombreux mammifères, elle ne présente pas d'anoestrus post-partum (**Theau-Clément, 2008**), mais elle est, à l'inverse, très réceptive dans les heures qui suivent la parturition. Les femelles peuvent accepter l'accouplement, pour la première fois, vers l'âge de 10 à 12 semaines, mais cet accouplement n'entraîne pas encore l'ovulation (**Lebas, 2002**).

Vu l'absence de cycle oestrien, il est difficile de définir l'âge à la puberté qui dépend particulièrement de la race. En effet, la précocité sexuelle est meilleure chez les races de petit ou moyen format (4 à 6 mois) que celle de grand format. Elle dépend, également, du développement corporel; la précocité est d'autant plus grande que la croissance a été rapide(**Amroun-Laga, 2018**).

1-1- Différenciation et maturité sexuelle

L'appareil génital se met en place grâce à de nombreuses évolutions dès l'embryogenèse: la première étape, commune aux mâles et aux femelles, est la différenciation sexuelle, dès le 16ème jour post-fécondation (**Delforge, 2003**).

Chez les femelles, les divisions ovogoniales commencent au 21ème jour de la vie fœtale et se poursuivent jusqu'à constituer le stock définitif d'ovogonies.

À la naissance, ces divisions cessent et laissent place à l'ovogenèse: les premiers follicules primordiaux sont formés dès le 13ème jour après la naissance et les premiers follicules à antrum vers 65-70 jours. En parallèle de ces évolutions cellulaires, la croissance des organes sexuels se poursuit, mais nettement moins vite que celle du reste du corps: les ovaires notamment ne commencent significativement à se développer qu'à partir de 50 à 60 jours (**Lebas, Coudert, De Rochambeau et Thibault, 1996**).

C'est en général vers 10-12 semaines que les femelles peuvent accepter l'accouplement pour la première fois. Cependant cela ne correspond pas réellement à la maturité sexuelle ou puberté car en général il n'y pas ovulation. En effet, on définit par maturité sexuelle chez la lapine, le moment où elle aura la capacité d'ovuler en réponse à l'accouplement. Ce moment est difficile à définir car il varie selon de nombreux facteurs:

- La race: les petits formats étant en général les plus précoces,
- Le développement corporel: il a été observé qu'en moyenne, les lapines sont pubères lorsqu'elles atteignent 75 % de leur poids adulte même s'il est conseillé d'attendre qu'elles soient à 80 % pour les mettre à la reproduction,
 - la photopériode et le moment de la naissance par rapport au printemps: effectivement, le temps d'éclairement par jour ou photopériode influe nettement sur la reproduction, avec une durée optimale au printemps. Ainsi les lapines sont souvent pubères à ce moment-là qu'elles soient nées en été ou en automne (Celles nées en été ont une maturité sexuelle plus tardive que celles nées en automne).
- l'alimentation: elle influe directement sur le développement corporel, une lapine sous-alimentée aura une puberté plus tardive (**Lebas, 2002**).

1-2- Gestation

La durée de gestation chez la lapine est généralement de 30-33 jours. Cette durée varie selon l'effectif de la portée (**Lebas, 2000**). Elle est parfois prolongée à (33-34 jours) quand il n'y a que 1 à 3 lapereaux, et souvent des morts nés (**Lebas, 1994, 2002**). Selon **Marai et al. (2004)** et **Tuma et al. (2010)**, la durée de gestation pourrait être affectée par la parité de la lapine dans la mesure où entre la quatrième et la cinquième mise bas, la durée de gestation est en moyenne de 31 jours.

Xiccato et al. (2004) quant à eux, ils ont observé qu'à la troisième parité la durée de gestation est, tout de même, plus longue en comparaison avec la première ou la deuxième parturition mais que l'effet est non significatif. Ainsi la relation déjà existante entre la période de gestation et l'ordre de parité pourrait être étendue à la taille de portée. Plus la lapine avance dans l'âge, plus la taille de la portée augmente. (**Tuma et al, 2010**).

La gestation peut être diagnostiquée par une palpation abdominale du 9^{ème} au 14^{ème} jour de gestation (**Lebas et al, 1991; Lebas, 2002**). En revanche, en utilisant l'échographie, ce diagnostic peut être avancé dès le 7^{ème} jour (**Gutierrez et Zamora, 2004; Chavatte-Palmer et al, 2005**) et le dénombrement des fœtus au 9^{ème} jour dans le cas où le nombre de fœtus est faible (≤ 6) (**Chavatte-Palmer et al, 2005**).

Au cours de la gestation, les femelles reproductrices subissent de grandes variations dans la composition corporelle, les dépôts de tissus de réserve et l'énergie. En effet, **Rommers et al. (2002)** ont montré une grande fluctuation du poids corporel des lapines durant la période de reproduction allant de la première insémination jusqu'à la deuxième mise bas.

Toutefois, l'évolution du poids corporel est similaire quelque soit le poids à la première insémination des lapines (**Figure1**). Selon **Parigi-Bini et al. (1990)**, ces variations de poids sont de plus en plus accentuées chez les lapines primipares.

Ces auteurs ont observé qu'en début de gestation (0 à 21 jours), le poids vif est similaire entre les lapines gestantes et non gestantes, mais à la fin de la gestation (21 à 30 jours), le poids corporel des lapines gestantes diminue suite à la perte des réserves énergétiques et protéiques ainsi que le transfert de l'énergie vers le fœtus. Cependant, le poids des lapines non gestantes continue à augmenter; l'énergie est conservée dans leur organisme, principalement, sous forme de graisses.

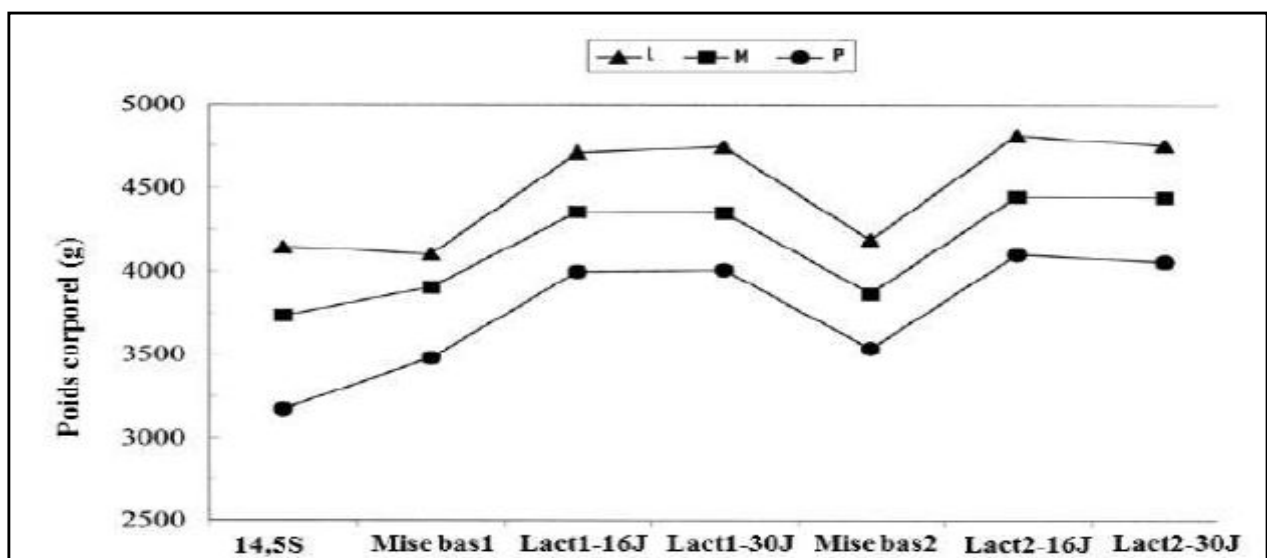


Figure 1: Développement corporel durant la période de reproduction chez des lapines lourdes (L, n = 20), moyennes (M, n = 34), et petites (P, n = 16) inséminées à 14,5 semaines d'âge (**Rommers et al, 2002**).

1-3- Mise bas

Un comportement maternel spécifique à l'espèce est observé à la fin de la gestation. La lapine construit un nid avec ses poils arrachés de son ventre, du fanon et de ses cuisses ainsi qu'avec la litière (paille, copeaux). Ce comportement est lié à une augmentation du rapport œstrogènes / progestérone et à la sécrétion de prolactine (**Lebas, 2002**).

Par ailleurs, il semble que les corticostéroïdes sécrétés par les surrénales des fœtus constituent un signal de déclenchement de la parturition (**Lebas, 2002 et Theau-Clément, 2008**). Parfois, et essentiellement lors de la première portée, la lapine ne construit pas de nid.

La mise bas dure 10 à 20 minutes, sans relation très nette avec l'effectif de la portée. Quelquefois, la lapine peut mettre bas en deux fois espacées de plusieurs heures (**Lebas, 2002**). Après la mise bas, l'utérus régresse rapidement en moins de 48 heures et la lapine est fécondable aussitôt après mise bas et le sera durant toute la période d'allaitement (**Chibah; 2016**).

1-4- Lactation

Dès la naissance, les petits sont des vrais parasites de leur mère. Le lait maternel constitue leur seul et unique aliment jusqu'à l'âge où ils s'alimentent avec d'autres sources (**Delouis et al., 2001**). A la parturition, il y'a diminution rapide de la teneur en progestérone et, sous l'effet de la libération d'ocytocine, l'action de la prolactine est stimulée, ce qui permet la montée laiteuse dans une glande prédéveloppée (**Thibault et Levasseur; 2001**). L'allaitement de la portée se fait tôt le matin et ne dure que quelques minutes indépendamment de la taille de la portée (**Morimoto, 2009**).

1-5- La pseudogestation

La pseudogestation est le résultat d'une ovulation non suivie de fécondation. L'absence de fécondation peut être liée à des chevauchements entre femelles ou autre stimulation sans dépôt de semence, à un défaut de fécondation lié à un mâle stérile, trop jeune ou de qualité de semence insuffisante, ou à une mortalité embryonnaire totale et précoce. Les follicules de DeGraaf se transforment en quelques heures en corps jaunes progestatifs qui se maintiennent de 15 à 18 jours. La sécrétion de progestérone augmente durant les 10-12 jours après l'accouplement et provoque des modifications de l'utérus identiques à celles d'une lapine gestante. Un comportement maternel avec construction d'un nid est observé en fin de pseudogestation. Sous l'influence d'un facteur lutéolytique sécrété par l'utérus, la prostaglandine $PGF2\alpha$, les corps jaunes régressent, entraînant une baisse de la sécrétion de Progestérone à partir du 10-12^{ème} jours pour atteindre le niveau basal vers 17-18 jours. Si une lapine pseudogestante est mise à la reproduction, cet état n'empêche pas une nouvelle ponte ovulaire. Par contre, la pseudogestation déprime l'expression de la réceptivité sexuelle et la fertilité est souvent compromise (**Fortun-Lamothe et al., 2015**).

2- Etude de la glande mammaire

La glande mammaire est une glande exocrine, productrice de lait, dépendante de l'appareil génital et caractérise les mammifères. Chez la femelle, elle acquiert un développement considérable représentant un caractère sexuel secondaire typique (Vaissaire, 1977).

La sécrétion du lait est le résultat d'un long processus qui comprend la croissance et la différenciation de la glande mammaire pendant la gestation, l'induction de la synthèse du lait à la parturition, la modification du métabolisme maternel qui se met au service de la glande mammaire et enfin l'involution de cette dernière après le sevrage. Tous ces événements sont contrôlés par une myriade d'hormones et de facteurs pour certains produits par la glande mammaire (Houdebine, 2007).

2-1- Anatomie de la glande mammaire

La glande mammaire, caractérisant les mammifères, possède une structure anatomique unique permettant la synthèse du lait. Le lait maternel renferme tous les éléments nécessaires à la croissance du jeune et comporte des éléments immunologiques et hormonaux qui protègent et favorisent sa croissance. Le nombre de glandes mammaires est variable selon les espèces: Une paire pectorale chez l'humain, 5 paires thoraco-inguinales chez la souris ou encore 4 à 6 paires ventrales chez la lapine. La quantité de lait synthétisé est extrêmement variable en fonction des espèces et des individus (Amroun- Laga, 2018).

Tableau 1: Nombre et situation des mamelles chez les mammifères (Raynaud, 1969 et Arvy, 1974).

Espèce	Mamelles	
	Nombre (paires)	Situation
Lapine	4 - 5	1 pectorale, 2-3 abdominale, 1 inguinale
Vache	2	inguinale
Brebis	1	inguinale
Souris	5	2 axillaires, 1 pectorale, 2 inguinales
Ratte	6	3 pectorales, 1 abdominale, 2 inguinales

Chez la lapine (**Figure 2**), deux rangées de 4 à 5 et exceptionnellement 6 mamelles sont situées sur la face ventrale du corps. Le nombre de mamelles fonctionnelles peut ne pas être réparti de façon symétrique et présenter un nombre pair (8 ou 10 tétines) ou impair (9 ou beaucoup plus rarement 11 tétines). A chaque tétine, reliée à 5-6 canaux évacuateurs, correspond une glande mammaire séparée. Le tissu mammaire est disposé entre la peau et les muscles pectoraux auxquels il est attaché par du tissu conjonctif (**Fortun-lamothe L, 2015**

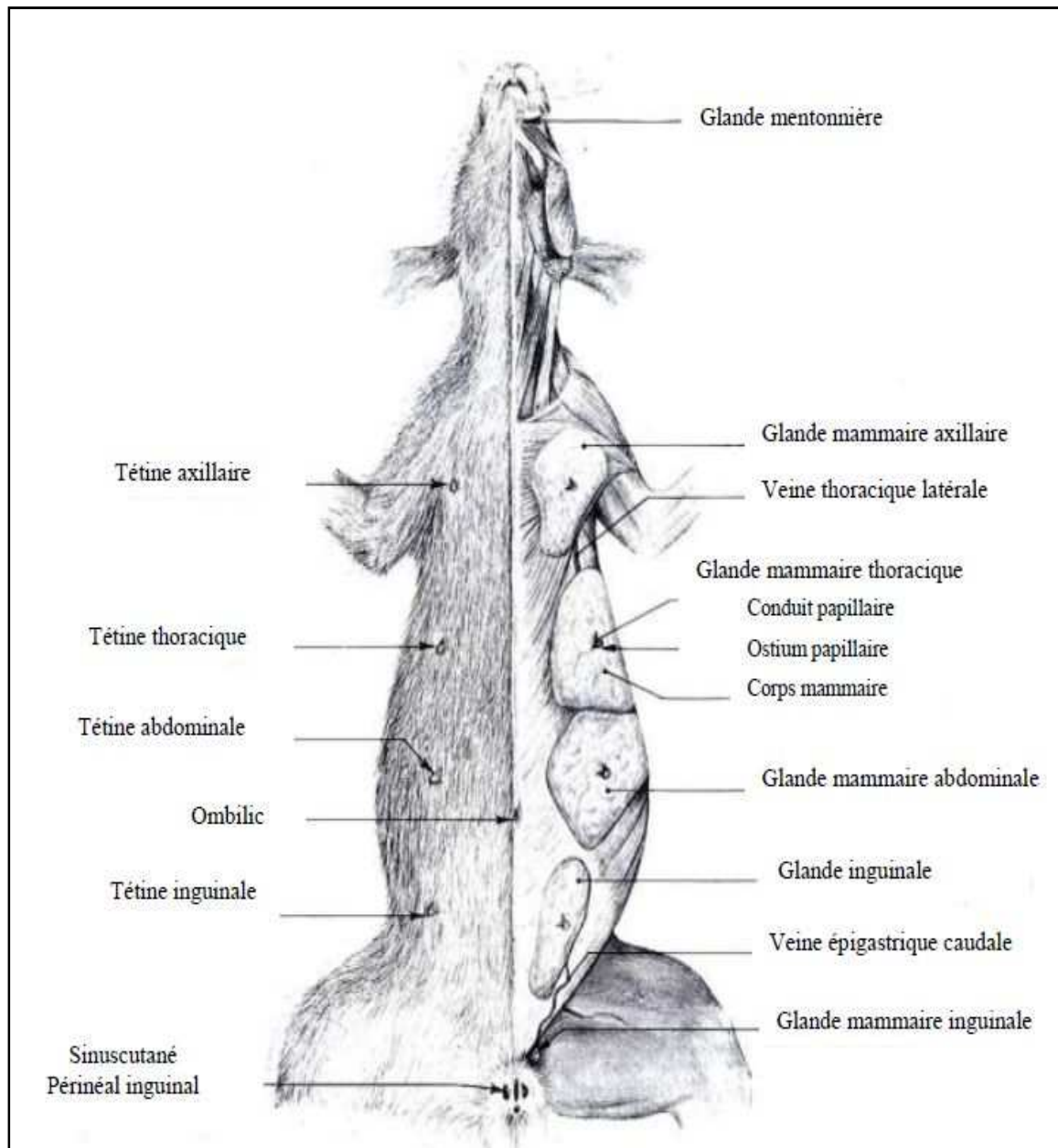


Figure 2: Glandes cutanées et mamelles de lapine (**Barone et al. 1973**).

2-2- structure de la glande mammaire en lactation

La glande mammaire est une glande exocrine constituée d'un tissu épithélial tubulo-alvéolaire et d'un vaste ensemble de tissus annexes. Le tissu sécréteur mammaire présente une structure en lobes, qui se subdivisent en lobules, eux-mêmes constitués d'un ensemble d'alvéoles.

Ces structures alvéolaires sont connectées à un vaste réseau de canaux mammaires débouchant vers l'extérieur au niveau d'un mamelon (primates, rongeurs), ou d'un trayon (ruminants) **(Figure3).**

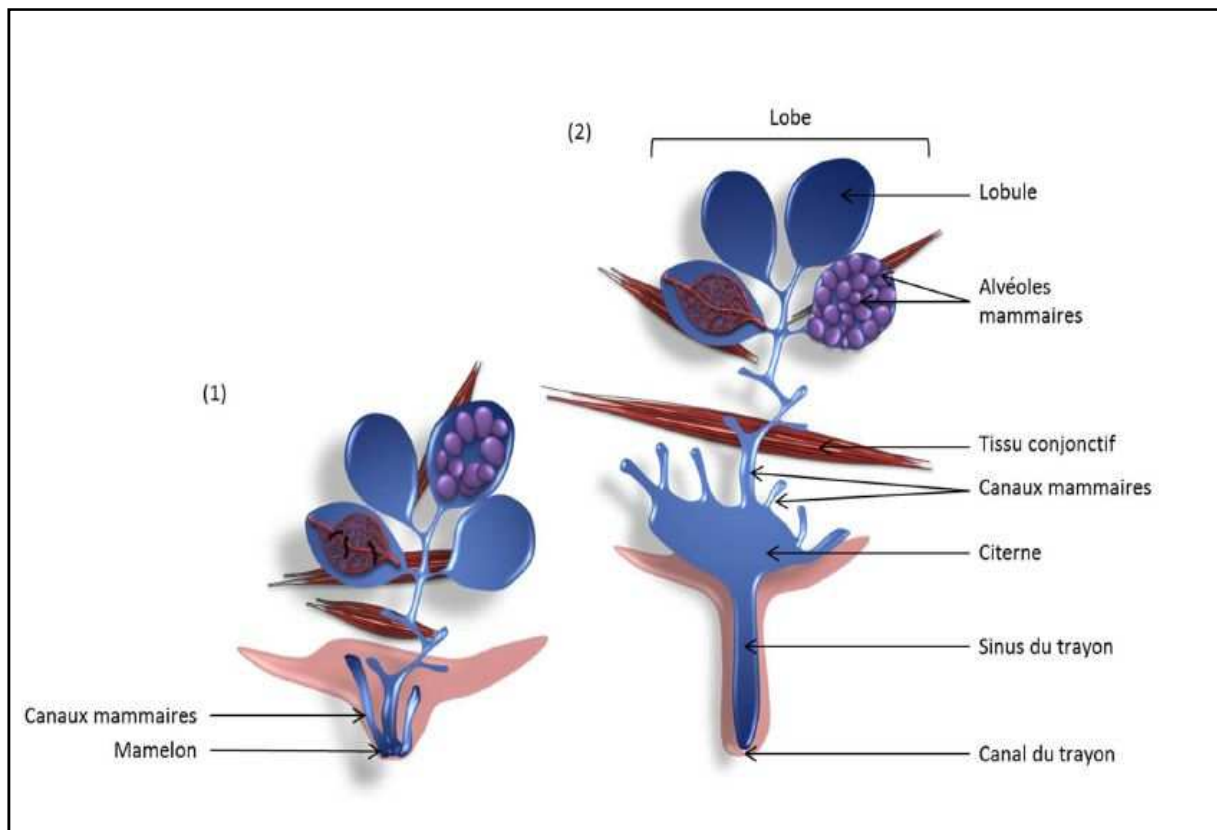


Figure 3 : Structure de la glande mammaire de primates, de rongeurs, de lagomorphes (A) et de ruminants (B) (D'après De louis et *al.*, 2001).

La glande mammaire apparait donc comme un tissu complexe composé de différents types cellulaires, entre autres, de cellules épithéliales, de cellules myoépithéliales, de cellules progénitrices et entourées d'adipocytes. L'ensemble étant organisé en acini **(Figure 4)** (De louis et *al.*, 2001).

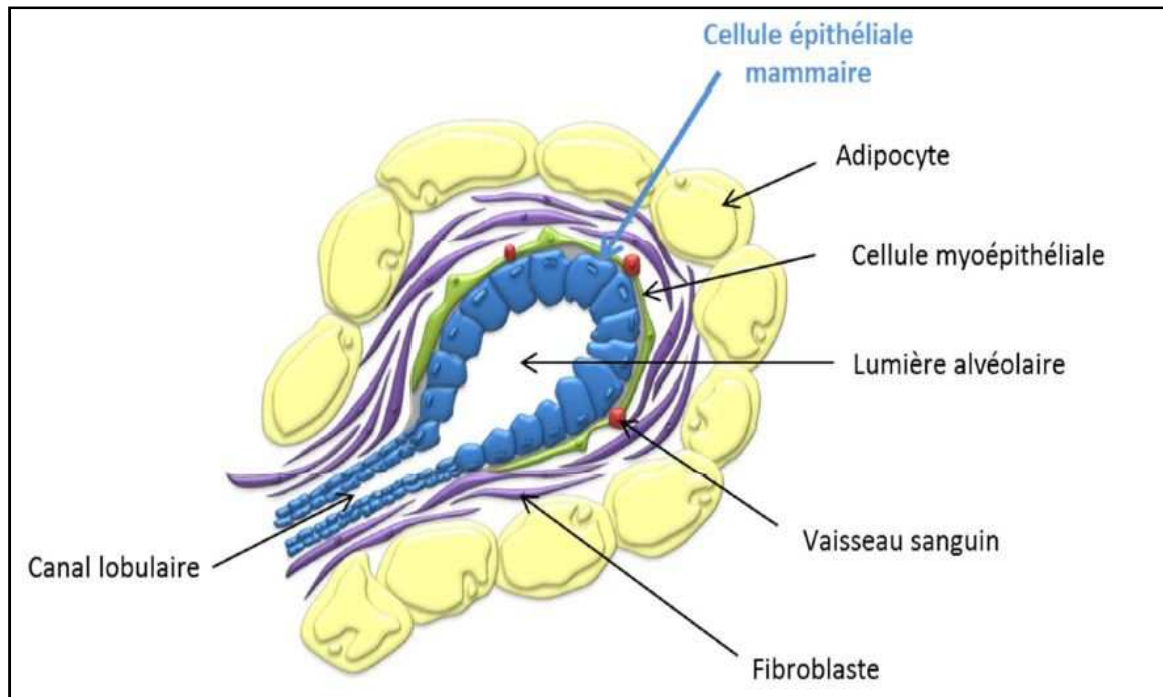


Figure 4 : Structure de l'acinus mammaire (D'après De louis *et al.*, 2001).

L'acinus est une structure de forme presque sphérique, dont la face interne est tapissée d'une monocouche de cellules épithéliales mammaires (CEM) (**figure 5**) et dont le centre représente la lumière alvéolaire dans laquelle se déversent les constituants du lait. Des vaisseaux sanguins sont également en contact étroit avec les acini mammaires permettant ainsi à la fois l'approvisionnement des CEM en oxygène, nutriments et leur régulation par les hormones. Un groupe d'acini entouré de tissu conjonctif forme un lobule; les lobules eux-mêmes sont regroupés en lobes et sont séparés du tissu adipeux environnant par du tissu conjonctif (**Chibah, 2016**).

Outre le tissu adipeux, la glande mammaire est formée d'une part, d'un ensemble de lobes connectés entre eux par des canaux galactophores qui débouchent au niveau du mamelon, constituant ainsi le parenchyme épithélial et, d'autre part, de tissu conjonctif fibreux et élastique constituant le stroma (**Amroun-Laga, 2018**).

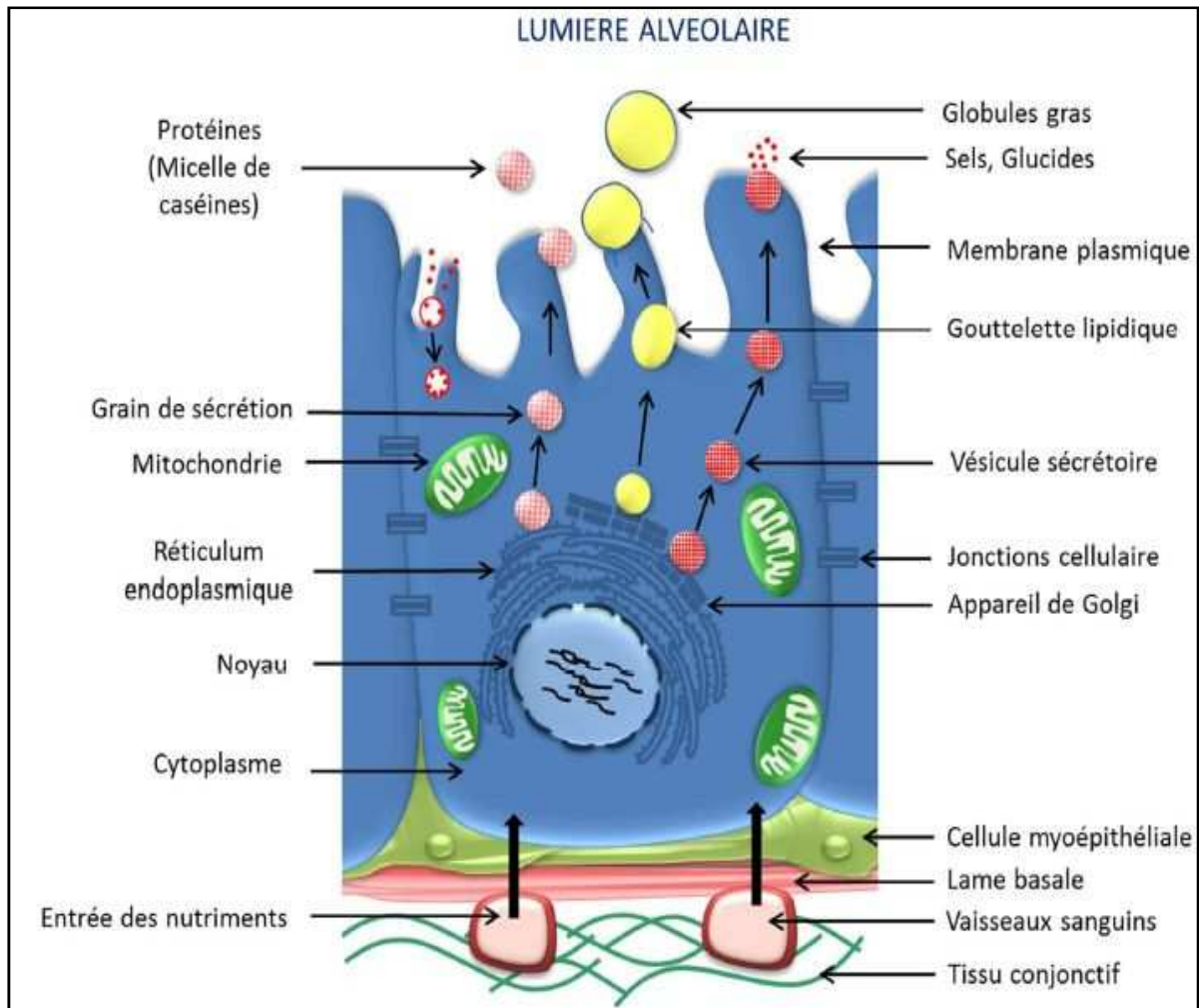


Figure 5: Structure et fonctionnement de la cellule épithéliale mammaire (d'après Williams et Daniel, 1983; Delouis et al., 2001; Radisky et al., 2003).

2-3- Développement au cours de la vie

Le développement de la glande mammaire peut être séparé en deux phases. Une première phase considérée comme hormono-indépendante qui a lieu avant la Puberté et une seconde phase hormono-dépendante qui débute à partir de la puberté (Briskenet O'Malley 2010). Cette seconde phase est en partie cyclique puisqu'après chaque lactation la glande mammaire va subir une involution après le sevrage, avant un nouveau cycle de développement à la gestation suivante (Figure 6).

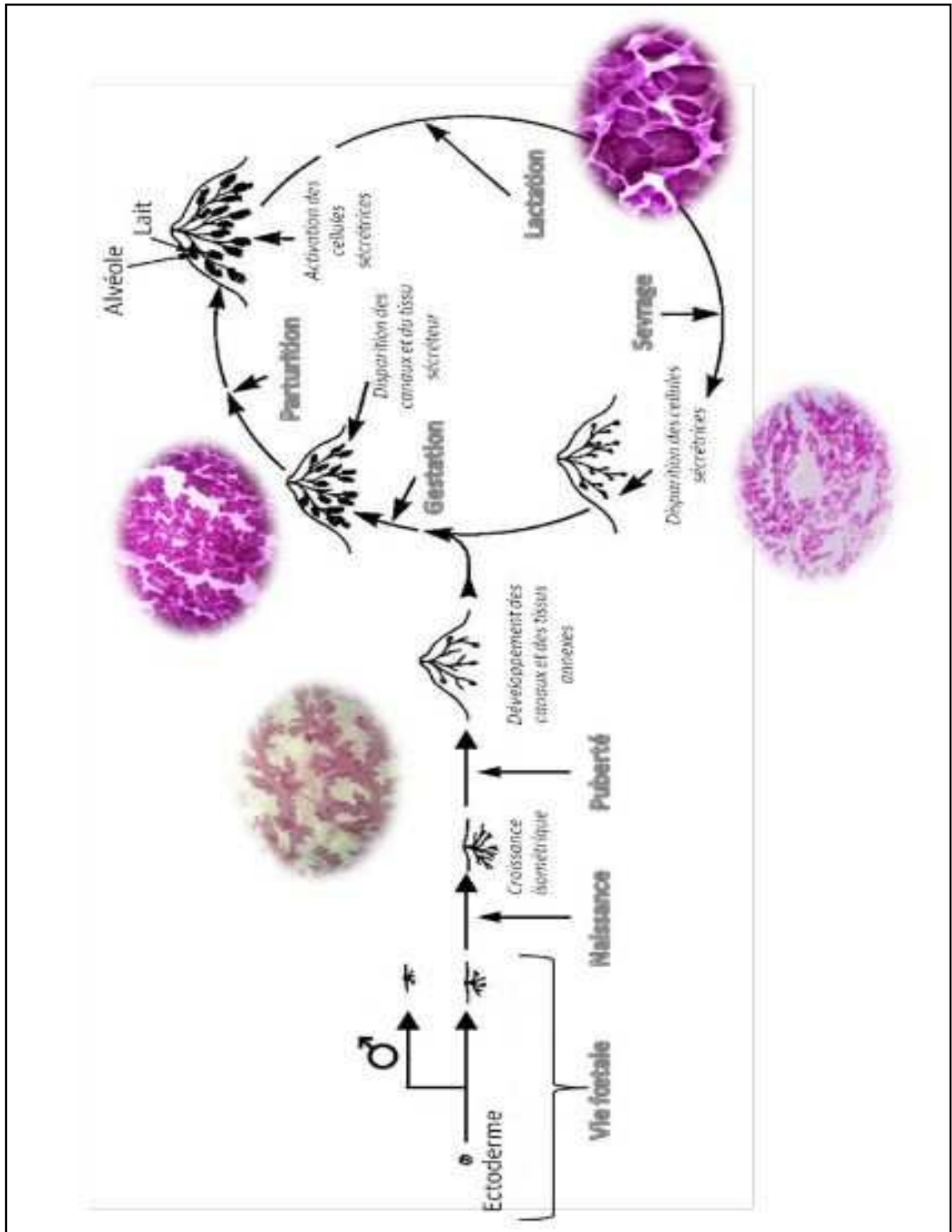


Figure 6:Développement mammaire, illustré par des montages in toto de glandes mammaires de lapine(**Modifié d’après Martinet et Houdebine, Biologie de la**

Le développement de la glande mammaire débute pendant la vie fœtale, se poursuit lors de la puberté et se termine à la première lactation. Il peut être divisé en quatre périodes: mammogénèse, lactogénèse, galactopoïèse et involution (**Chibah, 2016**).

2-3-1- La mammogénèse

La mammogénèse correspond à une phase de croissance intense qui démarre lentement au cours de l'embryogénèse et s'achève à la première gestation. En effet, le développement de la glande mammaire débute dès le stade fœtal où l'on distingue deux compartiments: le tissu épithélial et le tissu stromal environnant, qui dérivent respectivement de l'ectoderme et du mésoderme embryonnaires. Très tôt se forme la crête mammaire ou ligne lactéale. Le long de cette crête apparaissent par paires symétriques des épaissements ou bourgeons mammaires primitifs dont le nombre et la situation sont en fonction de chaque espèce. Ce nombre est en général double de celui des petits que la mère peut porter. Puis, l'épithélium se développe en un nombre limité de canaux et à la naissance seule une arborescence canalaire rudimentaire est présente dans le stroma mammaire (**Hovey et al., 1999 ; 2002**).

La période allant de la naissance à la pré-puberté n'est pas une période de quiescence totale. La glande subit une évolution lente et régulière avec une croissance et une ramification des canaux galactophores en canaux de deuxième et troisième ordres, terminés par des structures spécifiques appelés bourgeons terminaux. La croissance est dite « **isométrique** » car l'organe grandit à la même vitesse que le reste de l'organisme.

A la puberté (10 et 12 semaines après la naissance, chez la lapine) les modifications observées concernent principalement la croissance de l'épithélium mammaire et la ramification des canaux. Dans le cas du développement post-pubertaire de la glande mammaire, la croissance est « **allométrique** », l'organe se développant plus rapidement que le reste de l'organisme.

Pendant la gestation, le compartiment épithélial s'étend et les acini bourgeonnent à partir des canaux. Le tissu conjonctif et la vascularisation du tissu adipeux se développent également (**Brisken et O'Malley, 2010**). Pendant cette étape, on observe une augmentation du volume de la glande.

Durant la seconde moitié de la gestation, les cellules épithéliales mammaires vont se multiplier et s'organiser en acini. Un réseau lobulo-alvéolaire dense se met alors en place, en lieu et place du tissu adipeux qui régresse (**Neville et al., 1998**).

Régulation hormonale de la mammogénèse

Les hormones mises en évidence lors de la mammogénèse (**figure 7**):

L'œstradiol et la progestérone, sécrétés au début de gestation par le corps jaune, agissent directement au niveau des cellules souches situées aux extrémités des canaux mammaires.

La prolactine, même à faible concentration comme c'est le cas en début de gestation ainsi que certains facteurs de croissance (EGF, TGF α , IGF1) stimulent la multiplication de ces cellules.

La progestérone est un frein puissant de la sécrétion lactée au cours de la gestation, favorisant ainsi la concentration de l'effort énergétique vers les phénomènes de croissance tissulaire du fœtus et de la mamelle (**Martinet et Houdebine, 2006**).

L'œstradiol agit par ses récepteurs pour diminuer les récepteurs de la progestérone, cette dernière inhibe le nombre de récepteurs de la prolactine et elle peut aussi occuper, avec une très mauvaise affinité, les récepteurs des glucocorticoïdes. Ainsi la progestérone limite l'effet lactogène de la prolactine et des corticoïdes pendant la mammogénèse.

L'œstradiol seul n'est pas capable d'assurer la croissance mammaire, il intervient uniquement pour potentialiser l'effet de la prolactine en augmentant le nombre de ses récepteurs (**De louis et al., 2001**). Les hormones du métabolisme général, (insuline et thyroxine) jouent également un rôle dans le développement de la glande mammaire. Ces hormones possèdent des récepteurs dans le tissu mammaire (**De louis et al, 2001**).

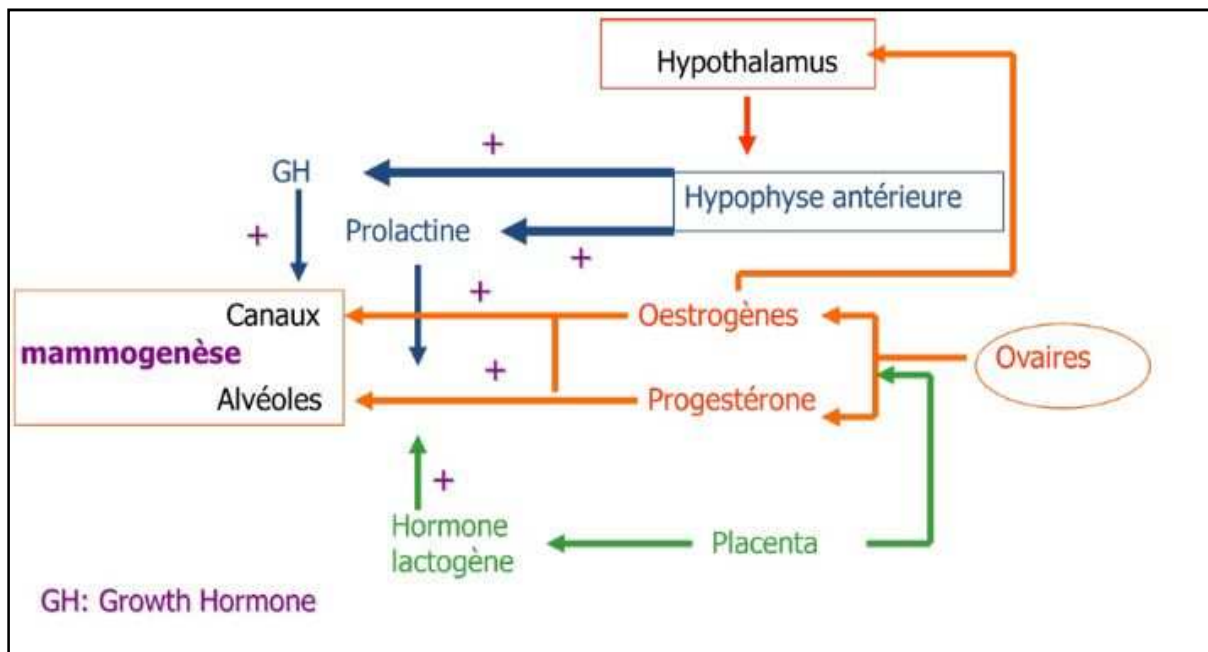


Figure 7: Régulation neuroendocrinienne de la mammogénèse (**Delouis et al., 2001**).

2-3-2- La lactogénèse

Cette étape du développement mammaire correspond à la différenciation des cellules épithéliales alvéolaires, c'est-à-dire l'acquisition de la capacité de synthèse et de sécrétion du lait. Ainsi, à la fin de la gestation, quelques jours avant la parturition, les cellules épithéliales s'hypertrophient et se polarisent afin de pouvoir capter les précurseurs du lait par leur pôle basal (**Delouis et al., 2001**). Elles acquièrent des caractéristiques structurales de cellules différenciées capables d'une importante synthèse protéique et d'une intense sécrétion. En effet, le noyau de ces cellules se place en position basale, leur cytoplasme s'enrichit en ribosomes et en mitochondries, pendant que prolifèrent leur appareil de Golgi et leur réticulum endoplasmique rugueux. Tous ces organites sont indispensables à la forte activité métabolique que ces cellules épithéliales vont fournir en produisant le lait.

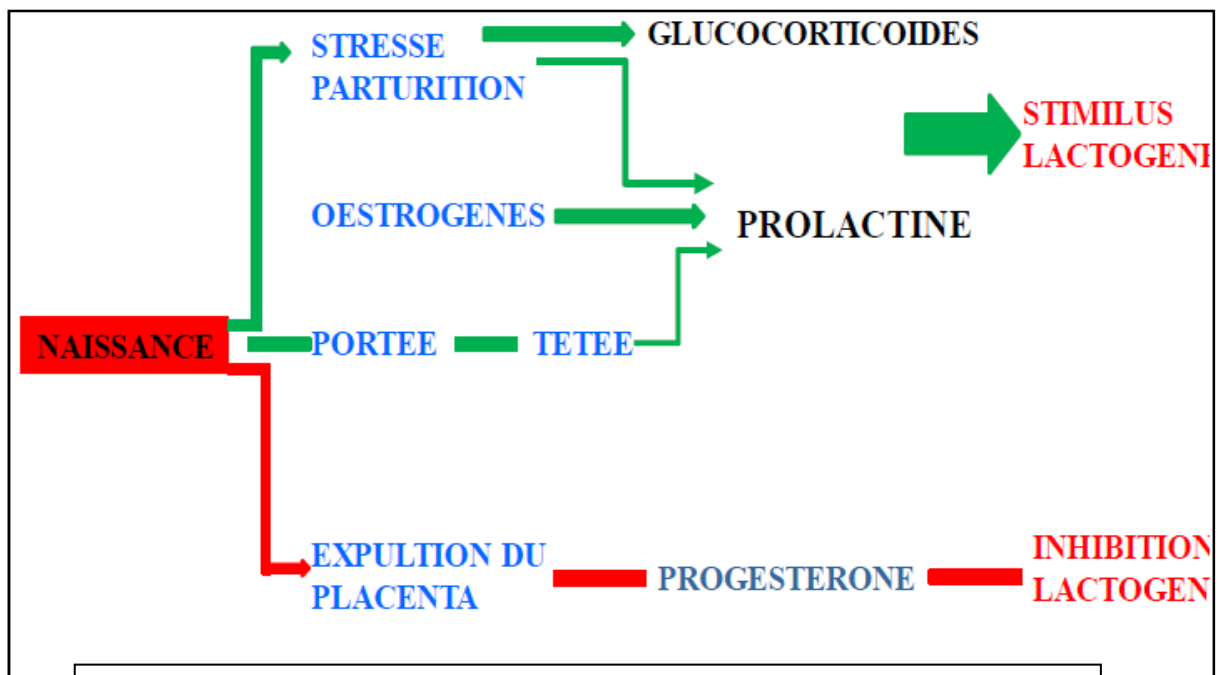


Figure 8: Régulation hormonale de la lactogénèse (**Delouis et al., 2001**).

Régulation neuroendocrinienne de la lactogénèse

Pendant la gestation la lactogénèse est sous la dépendance de la prolactine (**Lebas, 2002**), mais elle est inhibée par les œstrogènes et la progestérone (**Johnson et Everitt, 2002**).

A la parturition, il y a diminution rapide de la teneur en progestérone et sous l'effet de la libération de l'ocytocine, l'action de la prolactine est stimulée, ce qui permet la montée laiteuse dans une glande prédéveloppée (**figure 8**) (**Thibault et Levasseur, 1991; Johnson et Everitt, 2002 et Lebas, 2002**).

2.3.4. Galactopoïèse

La galactopoïèse correspond à la période de synthèse et de sécrétion des composants du lait par la glande mammaire pendant la lactation.

Au début de la lactation, la mamelle produit du colostrum, dont l'aspect et la composition (ig, protéines sériques,...) sont très différents de celui du lait. Après quelques jours, les jonctions intercellulaires se modifient, des jonctions serrées apparaissent, limitant le passage des protéines sériques dans le lait. La quantité de lait augmente durant les premières semaines, puis la lactation atteint son maximum pour décroître ensuite jusqu'au tarissement. L'intense activité sécrétoire des cellules épithéliales mammaires est assurée par une irrigation considérable (**Macias et Hinck, 2012**).

2.3.5. Phase d'involution

Etape de remodelage de la glande mammaire qui va conduire à la régression du tissu alvéolaire par apoptose (**Macias et Hinck, 2012**). Les adipocytes du stroma se développent et colonisent l'espace ainsi laissé par le tissu épithélial. A la fin de l'involution, la glande mammaire retrouve une morphologie, proche de celle observée après la puberté et retourne dans un état de quiescence jusqu'à la gestation suivante (**Watson, 2006**).

2.4. Régulation hormonale de la glande mammaire

La régulation du développement de la glande mammaire est majoritairement liée à l'action des hormones ovariennes telles que les œstrogènes et la progestérone, mais également à celle d'autres hormones comme la prolactine (PRL), les glucocorticoïdes, mais aussi l'hormone de croissance, l'hormone lactogène placentaire ou l'ocytocine. Ces hormones vont intervenir de manière séquentielle ou simultanée comme illustré dans (**la figure 9**).(**Hue-Beauvais .C, 2014**)

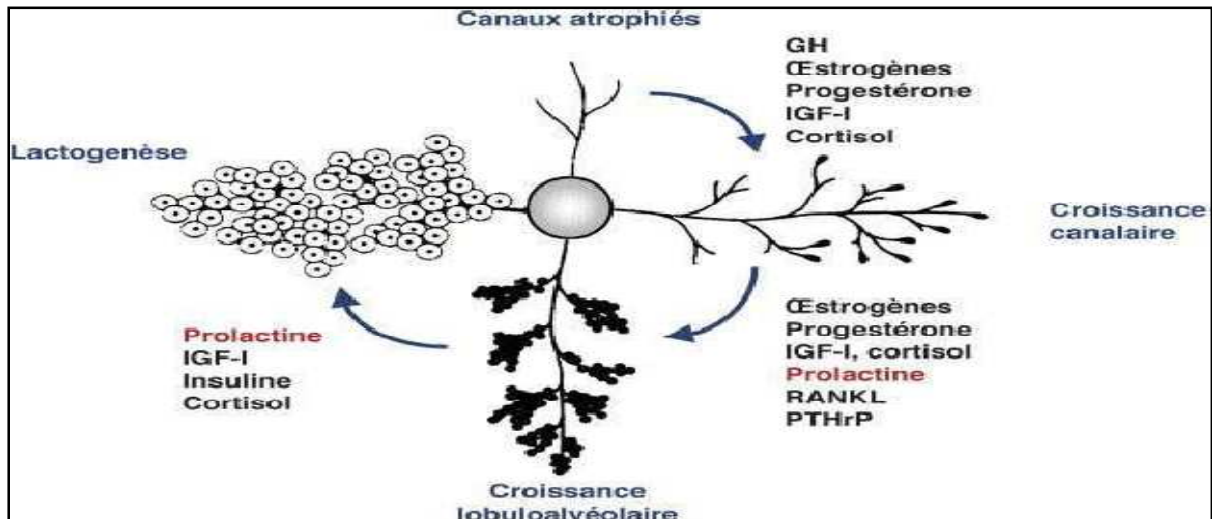


Figure 09: Schéma du développement de la glande mammaire au cours d'un cycle de lactation et son contrôle hormonal. **IGF1:** Insulin growth factor I, **GH:** Growth hormone, **PTHrP:** Parathyroid hormone-related peptide, **T3:** 3,3',5-triiodothyronine (d'après Cherifi, 2014).

2.4.1. Les œstrogènes

Sécrétés essentiellement par les ovaires sous l'effet de la FSH, ils agissent sur leurs tissus cibles par l'intermédiaire de deux types de récepteurs nucléaires, ER α et ER β . Les effets des œstrogènes sur le développement mammaire sont essentiellement médiés par l'ER α . Lors des premiers cycles menstruels, sous l'influence de la sécrétion des œstrogènes ovariens, la glande mammaire se développe: la prolifération des canaux s'accompagne d'un important développement du tissu conjonctif interlobaire et interlobulaire ainsi que d'une multiplication des cellules adipeuses (Briskin & O'Malley, 2010).

2.4.2. La progestérone

Sécrétée principalement par le corps jaune des ovaires et par le placenta chez certaines espèces durant la gestation, elle participe à la formation de l'arborescence mammaire durant la puberté, puis de manière intensive lors de la gestation, au développement des acini (Briskin et al, 1998). En effet, l'inactivation des récepteurs de la progestérone (PR-A et PR-B), chez la souris, perturbe le développement alvéolaire.

Cependant seul PR-B est nécessaire à l'action proliférative de la progestérone sur les CEM (Mulac-Jericevic et al. 2003). Il existe un dialogue fort entre les hormones stéroïdes comme en témoigne la capacité des œstrogènes à induire l'expression des récepteurs de la progestérone (Haslam, 1988). Par ailleurs, l'association œstrogènes-progestérone est inhibitrice de la lactogénèse provoquée par la prolactine (PRL) chez la lapine ovariectomisée

(Delouis *et al.*, 2001), suggérant ainsi une intervention directe des hormones ovariennes sur les mécanismes mis en jeu par la PRL pour orienter l'activité de la cellule épithéliale mammaire vers la sécrétion.

2.4.3. L'hormone de croissance (GH)

Secrétée par la partie antérieure de l'hypophyse, cette hormone stimule la croissance et la multiplication cellulaire. Lors de la puberté, la GH active son récepteur localisé dans le stroma mammaire, entraînant une production d'Insulin-like growth factor-1 (IGF-1), qui stimule localement la prolifération des CEM (Kelly PA *et al.*, 2002).

2.4.4. L'hormone lactogène placentaire (PL)

Cette hormone de la gestation, synthétisée par la partie fœtale du placenta, possède des activités mimétiques de la GH et de PRL. Au niveau de la CEM, elle se fixe sur des récepteurs membranaires composés d'hétérodimères de récepteurs GH et PRL (Helman *et al.*, 2001). Les fonctions de cette hormone sont dépendantes de la quantité synthétisée par le placenta, qui diffère selon les espèces. En particulier, elle est produite par le placenta des ruminants, des rongeurs et des humains, ce qui n'est pas le cas chez les lapins (Servely *et al.*, 1983).

2.4.5. La prolactine

Secrétée par l'hypophyse, elle joue deux rôles essentiels au cours de la reproduction: le maintien du corps jaune dans l'ovaire en début de gestation assurant ainsi la production d'œstrogènes et de progestérone et une action sur les CEM durant la gestation tardive. Les souris chez lesquelles les gènes codant la PRL ou son récepteur ont été invalidés présentent des phénotypes similaires avec une absence d'acini mammaires fonctionnels (Ormandy, 1997). La prolactine participe également à l'induction de l'expression de protéines du lait telles que la WAP ou les caséines (Ibarra *et al.*, 2007 et Eirew *et al.*, 2008).

2.4.6. Les glucocorticoïdes

Dans la majorité des espèces étudiées, les glucocorticoïdes, synthétisés par les glandes surrénales, exercent un effet amplificateur des actions de la PRL sur la glande mammaire (Devinoy et Houdebine, 1977). Ils agissent d'une part, au niveau de la stabilité des ARN messagers et, d'autre part, au niveau de la transcription des gènes des protéines du lait (β -caséine) en se fixant à des séquences spécifiques de l'ADN (apparentées à des

glucocorticoïdes responsive element et/ou en interagissant avec d'autres facteurs de transcription tels que STAT5 (Sheffield, 1998 et Brennan et al., 2008). In vivo, des injections de glucocorticoïdes associées à un traitement œstro-progestatif d'induction de lactation permettent d'augmenter la production laitière chez la brebis (Head et al., 1980).

2.4.7. L'ocytocine

Synthétisée et sécrétée au niveau du système hypothalamo-hypophysaire, cette hormone agit au niveau mammaire en réponse au stimulus de succion du jeune, et permet d'induire la contraction des cellules myoépithéliales et d'expulser le lait produit par les acini vers les canaux galactophores puis le mamelon (Lollivier et al., 2006).

Au-delà de l'action directe ou indirecte de ces hormones sur le développement mammaire, d'autres molécules jouent également un rôle primordial sur ce processus. En effet, la CEM est capable de synthétiser des facteurs aussi bien stimulateurs qu'inhibiteurs de sa propre croissance et/ou différenciation. Parmi ces facteurs on peut citer le Transforming Growth Factor alpha (TGF- α) ou l'Insulin Growth Factor-1 (IGF-1) qui favorisent le développement mammaire (Dehnhard et al., 2000), le TGF- α qui inhibe le développement des canaux galactophores ou encore l'Epiderme Growth Factor (EGF) dont les effets stimulants ont lieu pendant la lactation (Dehnhard et al., 2000).

2.5. Mécanisme de la lactation

2.5.1. Induction de la sécrétion du lait

La glande mammaire synthétise de petites quantités de lait bien avant la parturition. La véritable sécrétion lactée n'est toutefois induite qu'à la parturition. C'est incontestablement la chute de progestérone qui est responsable de ce phénomène. Tout arrêt prématuré d'une gestation avancée s'accompagne d'une montée laiteuse qui peut être inhibée par un traitement progestéronique. Chez la lapine, une chute partielle de la progestérone se produit spontanément après la mi-gestation. Ce phénomène s'accompagne d'une sécrétion lactée précoce qui est retardée par des injections de progestérone (Assari et al., 1974).

2.5.2. Mécanisme d'entretien de la lactation

Les hormones hypothalamiques libérées par voie réflexe au moment de la tétée provoquent une augmentation des concentrations plasmatiques en hormones hypophysaires: PRL, ACTH, TSH, GH. Ces hormones interviennent au niveau de différents tissus qui participent à l'entretien du métabolisme général de la femelle allaitante. La GH participe en

particulier à la répartition de l'énergie venant de la ration de la glande mammaire et les tissus de réserve (**figure 10**) (**Delouis et al., 001**).

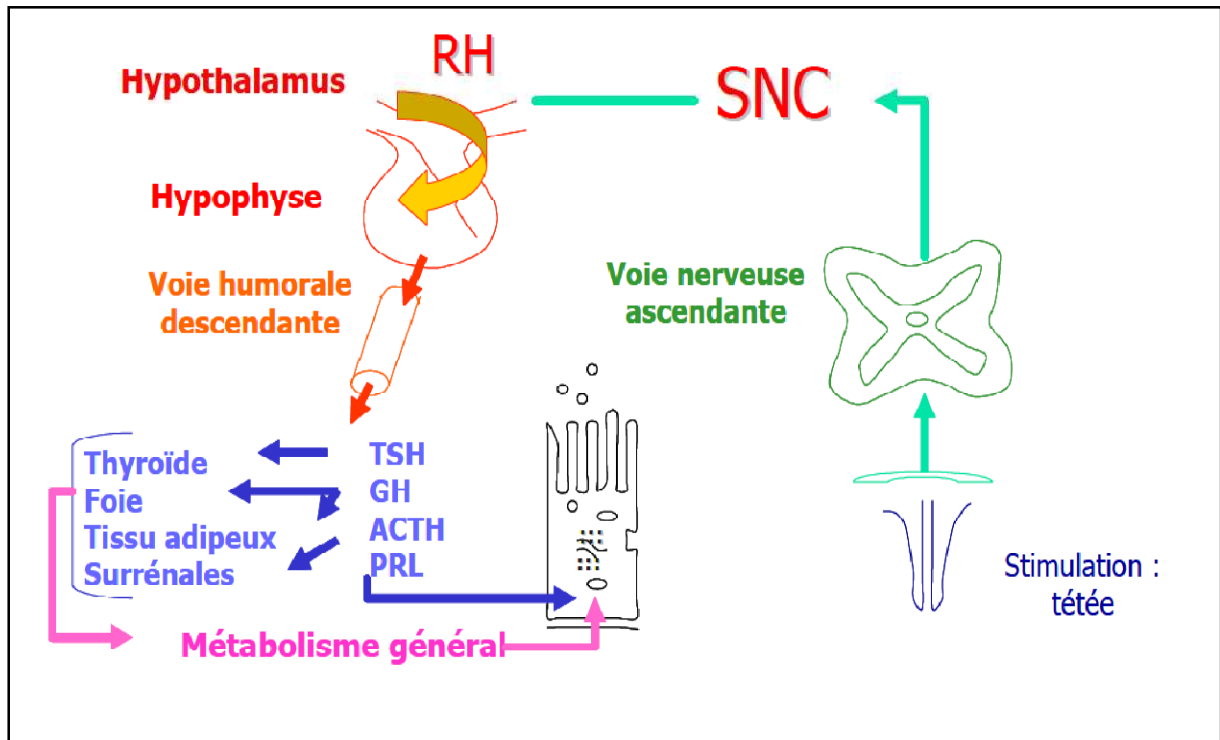


Figure 10 : Reflexe neuroendocrinien d'entretien de la lactation (**De louis et al., 2001**).

2.5.3 Mécanismes de sécrétion du lait

Les stimuli créés par la tétée provoquent la sécrétion immédiate d'ocytocine, la pression intra mammaire augmente induisant l'éjection du lait qui sera consommé par les lapereaux (**Lebas, 2002**) (**Figure 11**).

La synthèse du lait et son accumulation dans les glandes mammaires se fait à une vitesse constante pendant les 23 heures et demi à 24 heures suivant un allaitement. Ensuite la synthèse du lait s'arrête très rapidement si les lapereaux ne têtent pas. Ainsi il a été montré que plusieurs allaitements au cours du cycle de 24 heures n'augmentent pas la quantité de lait disponible pour les lapereaux (**Lebas, 2002**). Cinq minutes après la fin de la tétée, on constate une décharge de prolactine (70-75 mg/ml) dont le taux plasmatique reste élevé pendant 2 à 3 heures (**Lebas, 2002**).

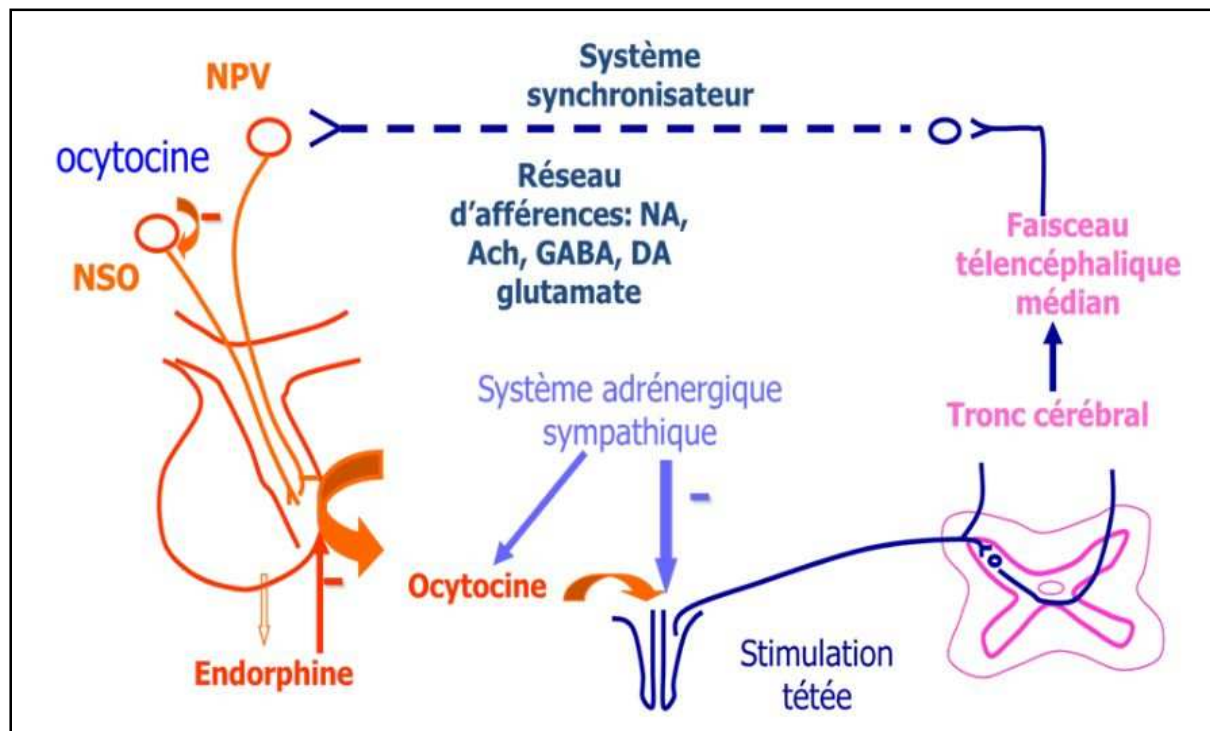


Figure 11 : Reflexe neuroendocrinien de l'éjection de lait (De louis et al., 2001).

2.6. Composition du lait de lapine :

La composition du lait de lapine a fait l'objet de nombreuses études et de très nombreux composés ont pu être identifiés et caractérisés. Une analyse comparative du lait de quelques mammifères a démontré que le lait de la lapine est plus riche en protéines, en matières grasses et en minéraux (surtout le calcium et le phosphore), cependant, il est plus pauvre en lactose (Tableau 2).

Tableau 2: Composition comparée du lait de vache, de chèvre, de brebis et de lapine (Lebas, 2002).

Composants en g/Kg de lait	Vache	Chèvre	Brebis	Lapine
Matière sèche	129	114	184	284
Lactose	48	43	44	6
Matières grasses	40	33	73	133
Protéine	33,5	29	58	153
Minéraux totaux (cendres)	7,5	8	9	24
Calcium	1,25	1,30	1,90	5,60
Phosphore	0,95	0,90	1,50	3,38
Magnésium	0,12	0,12	0,16	0,37
Potassium	1,50	2,00	1,25	2,00
Sodium	0,50	0,40	0,45	1,02

3- Facteurs de variation de la production laitière

Plusieurs facteurs influencent la production laitière de la lapine, on peut les scinder en facteurs liées à l'animal (génétiques) et facteurs liées à l'environnement (non génétiques).

3-1 Facteurs liés à l'animal

3-1-1-Facteurs génétiques

La production laitière des lapines varie en fonction du type génétique. En effet, une production de 2180g a été enregistrée par **Zerrouki et al (2005)** pour la population locale algérienne, et une valeur de 2264g /lapine pour la population blanche (**Zerrouki et al., 2012**). L'estimation de l'héritabilité de la production laitière diffère d'un auteur à l'autre. La production laitière est faiblement héritable. Elle est de 0,09 à 0,22 chez la race Néo-Zélandaise durant les trois premières semaines (**Ayyat et al, 1995**) et de 0.064 à 0,121 vs 0,014 à 0,261 sur la même période, respectivement chez les lapines Néo-Zélandaises et Californiennes, (**Ahmed, 1997**). La production laitière est due alors en grande partie à l'effet maternel et les effets non génétiques (**Hassan, 2005**).

3-1-2 -Parité

La parité a un effet significatif sur la production laitière des lapines (**Khalil, 1994 ; Ayyat et al, 1995**), elle augmente jusqu'à la 3^{ème} portée et se stabilise ensuite (**Cascado et al., 2006**). Chez la population locale algérienne, **Zerrouki et Lebas (2004)** ont observé que la production laitière augmente avec l'évolution de la parité et ils ont constaté également que la production des multipares dépasse celle des primipares avec 30%.

3-1-3 -Taille de la portée

La production laitière des lapines s'accroît avec la taille de la portée allaitée, mais chaque lapereau consomme alors individuellement un peu moins de lait (**Mohamed et Szendro, 1992; Lebas, 2002 ; Zerrouki et Lebas, 2004**).

La réduction de la taille de la portée est une pratique courante dans les élevages cunicoles. Ainsi, une réduction de la taille d'une portée de 60% (de 10 à 4 lapereaux allaités) ne réduit la production laitière que de 13% (**Fortun-Lamothe et Lebas, 1994**).

3-1-4 -Etat physiologique de la femelle

L'état physiologique de la femelle est un facteur essentiel dans la production laitière; suite à la superposition de la lactation et de la gestation chez la lapine, la production laitière décroît progressivement pour s'annuler les jours précédant la mise-bas (**Lebas, 2002 ; Fortun-Lamothe, 2003**). La production laitière diminue à partir du 21^{ème} jour après la parturition (**Hassan, 2005**).

A l'exception des autres mammifères la lapine peut mener simultanément une gestation et une lactation (**Theau-Clément, 2005**). En conséquence, les besoins nutritionnels associés à la production laitière et à la croissance fœtale s'additionnent (**Parigi-Bini *et al.*, 1992**) ce qui entraîne une mobilisation importante des réserves corporels.

Pour faire face à cette situation, **Fortun-Lamothe (2003)**, a proposé la distribution d'un aliment riche en fibre aux lapines futures reproductrices entre le sevrage et la mise en reproduction pour augmenter leur capacité d'ingestion ultérieure et limiter leur mobilisation corporelle. De plus, une réduction de la taille de la portée (8 à 9 lapereaux laissés pour les primipares contre 10 à 11 ou plus pour les multipares) permet de limiter la sollicitation nutritionnelle de jeunes lapines (**Fortun-Lamothe et Lebas, 1994**).

La diminution de la lactation réduit la mobilisation des réserves corporelles chez les primipares (**Feugier *et al.*, 2005**) et les lapines peuvent bénéficier alors d'une période de tarissement, où elles peuvent restaurer leurs réserves corporelles.

3-2- Facteurs liées à l'environnement

3-2-1-Alimentation

La production laitière est conditionnée par le niveau alimentaire pendant l'allaitement (**Fortun, 1994**). Notant que les besoins en énergies et en nutriments pour la synthèse de lait sont beaucoup plus importants que ceux liés au développement de l'utérus.

Une augmentation de la teneur en protéines de l'aliment en dessus de 21% permet une augmentation de la production laitière (**INRA ,1989**). Elle augmente aussi lorsque l'aliment est riche en matières grasses (**Fortun-Lamothe, 1998, 2003**), le lait alors s'enrichit autant en lipides qu'en protéines. A l'inverse, lorsque l'énergie supplémentaire provient de l'amidon, la production laitière des femelles est faible (**Fortun et Lebas, 1994 ; Fortun –Lamothe, 2003**).

3-2-2- Effet saison

Ayyat *et al.* (1995) ont noté un effet significatif de la saison de mis bas sur la production au-delà du 7^{ème} jour et sur la production totale en 21^{ème} jours. Selon **Ahmed (1997)**, un effet significatif de la saison sur la production de la 3^{ème} semaine et celle en 21 jours. En Egypte, d'après **Hassan (2005)**, aucun enregistrement d'un effet significatif de la saison sur la production laitière chez les femelles locales, cependant l'auteur a signalé que la meilleure production est enregistrée en hiver pour les femelles Néo-Zelandaises et au printemps pour les Baladi Black, et pour l'automne la production diminue chez les deux races, cette diminution peut être liée à la température ambiante ou à l'humidité relative d'automne.

Partie II

Matériels et méthodes

1. Objectif de l'expérimentation :

Notre travail a pour but d'étudier les modifications structurales de la glande mammaire de lapines en fonction de deux états physiologiques à savoir; lapine vide et lapine gestante.

Les glandes mammaires sont prélevées sur le même type génétique qui est la souche synthétique.

2. Matériel biologique

2.1. Le modèle animal

Dans notre présent travail, l'expérimentation a été réalisée sur des lapines de souche synthétique (**figure 12**), qui est issue de l'insémination artificielle des femelles de population locale par de la semence de mâles de la souche INRA 2666 France en collaboration avec l'ITELV(Institut technique de l'élevage) et l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou (UMMTO) (**Gacem et Bolet, 2005 et Gacem et al., 2008**).

L'effectif est composé de six lapines nullipares (dont trois gestantes au 24^{ème} jour) et âgées toutes de quatre mois. Les lapines gestantes ont été conduites en insémination artificielle et suivies sur un cycle de reproduction.



Figure 12 : Photos des lapines de souche synthétiques.

2.2. Taxonomie du lapin

Selon Lebas et *al.*, (1985), la position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante:

Classe: mammifères

Super ordre: glires

Ordre: lagomorphes

Famille: léporidés (lièvres et lapins)

Sous famille: leporinae

Genre: *oryctolagus*

Espèce: *oryctolagus cuniculus*

3. Protocol expérimental

Notre expérimentation comprend deux parties:

La première est de voir l'évolution et le développement du tissu épithélial mammaire en fonction du stade physiologique (lapine non gestante et lapine gestante) de la souche synthétique. La deuxième est de comparer plusieurs paramètres histologiques du tissu mammaire dans ces deux états physiologiques par la méthode de la morphométrie.

4. Méthode de prélèvement des organes

Les lapines de souche synthétique provenant d'un clapier situé au niveau de Tizirt (Tizi Ouzou), ont été acheminées vers le laboratoire scientifique de physiologie animale de l'UMMTO; celles-ci vont se reposer un moment pour déstresser, un stress causé par le transport. **Les étapes de :** Sacrifice, prélèvement d'organe, fixation et mise en bain d'alcool à une concentration de 70% ont été effectuées au sein du même laboratoire. La suite des étapes histologiques a été réalisée au niveau du laboratoire anatomo-pathologique du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Tizi-Ouzou.

4.1. Pesée des animaux

Les lapines vides et pleines seront pesées avant d'être sacrifiées.



Figure 13 : pesée corporelle des lapines.

4.2. Dissection

Une fois sacrifiées, les lapines sont accrochées par les deux pattes postérieures pour faciliter le prélèvement de la glande mammaire.

On a effectué une incision sur la peau au niveau de la naissance de la cuisse et on a bien mis en évidence le tissu mammaire qui est prélevé délicatement avec des incisions bien précises pour pouvoir le détacher de la peau de lapine d'une part et d'une autre part de l'abdomen(**Figure 14**).Après le prélèvement du tissu mammaire, celui-ci est pesé et puis posé sur une plaque en verre qui est elle-même posée sur de la glace afin de maintenir le tissu frais(**Figure 15**).



Figure 14: Prélèvement de l'organe.



Figure 15: Organe posé sur plaque.

5. Etude histologique

L'étude histologique implique la mise en œuvre de plusieurs étapes obligatoires afin de réaliser des coupes histologiques des échantillons à étudier. Ces étapes sont: la fixation, la déshydratation et l'éclaircissement, l'imprégnation, l'inclusion en paraffine, la confection des coupes fines et étalement, le déparaffinage et l'hydratation, la coloration, le montage des lames et l'observation microscopique à l'aide d'un microscope optique(MO).

5.1. Fixation

Après le sacrifice, les pièces anatomiques sont prélevées puis pesées et immédiatement fixées dans le fixateur. Pour ce dernier, le plus commun en microscopie optique et le plus utilisé dans le monde est le formol à 4% (formaldéhyde à 10%). Son principe repose sur le fait qu'il réagisse avec les groupements amines des protéines. La durée de fixation est variable et la quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer: quelques heures suffisent donc pour fixer les petits fragments. Cette étape est d'une grande importance car une mauvaise fixation aura pour conséquence la perte de l'organe. En effet, la fixation d'un organe permet:

- De le conserver dans un état aussi proche de l'état vivant,
- Permet la technique histologique et les colorations ultérieures,
- De protéger les cellules de l'attaque bactérienne,
- D'empêcher la destruction des constituants cellulaires sous l'action d'enzymes en les rendant insolubles.

5.2. Déshydratation et éclaircissement

Les pièces ont été déshydratées dans une série de bains d'alcool à concentrations croissantes (70, 90, 100) pendant 2 heures chacun, ceci permet d'éviter la désorganisation des structures et d'éliminer le fixateur, puis elles sont transférées dans des bains de xylène pour l'éclaircissement.

5.3. Imprégnation

Elle se fait à chaud immédiatement après les bains de xylène, dans trois bains successifs de 2 heures chacun. Le deuxième et le troisième bain renferme de la paraffine pure. Les pièces sont incluses dans la paraffine.

La déshydratation et l'imprégnation sont réalisées grâce à un appareil de circulation de type leica (**Figure 16**).



Figure 16: Appareil de circulation LEICA (Déshydratation- imprégnation).

5.4. Inclusion

Cette étape a pour but d'enrober l'échantillon qui est placé dans un moule spécial qu'on remplit de paraffine. Puis une cassette identifiant chaque échantillon est ensuite placée au dessus. On fait couler de la paraffine une seconde fois jusqu'à immersion totale de l'échantillon (**Figure 17**). Le moule est ensuite déposé sur une plaque refroidissante jusqu'à durcissement formant ainsi un bloc de paraffine contenant l'échantillon.



Figure 17: Appareil à enrobage de type LEICA.

5.5. Confection des coupes et étalement (microtomie)

Un microtome de type LEICA est utilisé (**Figure 18**). Il comporte un porte rasoir spécial permettant d'utiliser les lames minces jetables et un porte cassette permettant de placer les blocs d'organes coulés sur les cassettes. Des coupes de **1 μ m** d'épaisseur sont ainsi réalisées sous forme d'un ruban fin mis dans le bain marie (45°C) et récoltées sur des lames en verre identifiées, séchées à l'air et mises à l'étuve à une température de fusion de la paraffine (60-65°C) pendant 30 min.



Figure 18: Microtome.

5.6. Déparaffinage, réhydratation

Avant d'entamer la coloration des lames, il est nécessaire de les replacer en milieu aqueux. Pour cela, on effectue des bains successifs d'alcools dans le sens inverse à celui de l'imprégnation par la paraffine.

La première étape constitue le déparaffinage par des bains de xylène pour éliminer totalement la paraffine avant de passer à l'hydratation par des bains d'alcool cette fois-ci à concentrations décroissantes (100, 90, 70).

Le déparaffinage, la réhydratation l'étape de coloration qui va suivre ont été effectués à l'aide d'une batterie de coloration de type LEICA (**Figure 19**).

5.7. Coloration

Les tissus de l'organisme ne sont pas spontanément colorés, ce qui rend les observations microscopiques difficiles. Les colorants utilisés en histologie sont plus ou moins sélectifs; la plupart sont des composants acides ou basiques en milieu aqueux qui forment

des sels avec les radicaux ionisés des tissus. Des composants acides sont utilisés pour les zones tissulaires basophiles, et des composants basiques sont utilisés pour les zones tissulaires acidophiles.

La coloration standard la plus utilisée est l'hématoxyline éosine (HE). L'hématéine, qui est une substance basique, colore les noyaux en violet donc colore les acides nucléiques. L'éosine est une substance plutôt acide, qui colore le cytoplasme en rose donc colore les protéines.



Figure 19: Batteries de coloration.

5.8. Montage des lames histologiques

Le montage a été réalisé avec une goutte d'Eukitt (résine synthétique qui a l'avantage de sécher rapidement à l'air) qui est déposée sur la lame que l'on recouvre avec une lamelle. Les lames sont trempées dans du xylène pour l'éclaircissement puis séchées. Les lames une fois montées, peuvent être conservées et puis, effectuer des observations à microscopie optique à différents grossissements.



Figure 20: Montage des lames.

6. Etude morphométrique

Le microscope numérique avec tablette permet de faire des observations microscopiques à différents grossissements (x40, x100, x400) avec une grande résolution.

7. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée sur les données de poids vifs et le poids des glandes mammaires des lapines de souche synthétique ainsi que sur les paramètres morphométriques cités ci-dessous :

- Diamètre des acini mammaires (DAM)
- Surface des acini mammaires (SAM)
- Surface de la lumière des acini (SLAM)
- Surface de l'épithélium des acini (S Ep A)
- Hauteur des cellules de l'épithélium des acini (HC)
- Surface des noyaux (S NYX)

Ces paramètres sont mesurés sur chaque section de chaque coupe histologique, ainsi que les proportions relatives au tissu épithélial mesurées dans les deux groupes de lapines, les valeurs sont présentées sous forme de valeurs moyennes suivies de l'erreur standard moyenne (ESM). La signification statistique des différences entre les moyennes comparées est appréciée par le test « t » de student Fisher utilisant le logiciel « STATISTICA ».

- Si $P > 0.05$: la différence n'est pas significative (NS)
- Si $P \leq 0.05$: la différence est significative (*)
- Si $P < 0.01$: la différence est très significative (**)
- Si $P < 0.001$: la différence est hautement significative (***)
- Si $P < 0.0001$: la différence est très hautement significative (****)

La présentation graphique des résultats obtenus a été réalisée en utilisant Microsoft Excel 2007.

Partie III

Résultats et discussions

1. Résultats

1-1- Données pondérales

Les résultats des pesées sont résumés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Données pondérales et nombre de fœtus

	Femelles					
	Vides			Gestantes		
Effectif	1	1	1	1	1	1
Phénotype	grise	albinos	tachetée	grise	albinos	tachetée
Poids vif(g)	2700	2650	2900	3400	3200	2808
Poids moyen(g)	2750			3136		
Poids de la glande mammaire(g)	11.9	10.4	14	42	23.4	17
Poids moyen de la glande mammaire (g)	12.1			27.4		
Nombre de fœtus	-			11	4	1

D'après le tableau n°3 on remarque que :

Les données pondérales des femelles gestantes sont plus importantes que celles des femelles vides.

Le poids vif et le poids de la glande mammaire ainsi le nombre de fœtus chez la lapine gestante grise sont plus importants que le reste de l'effectif.

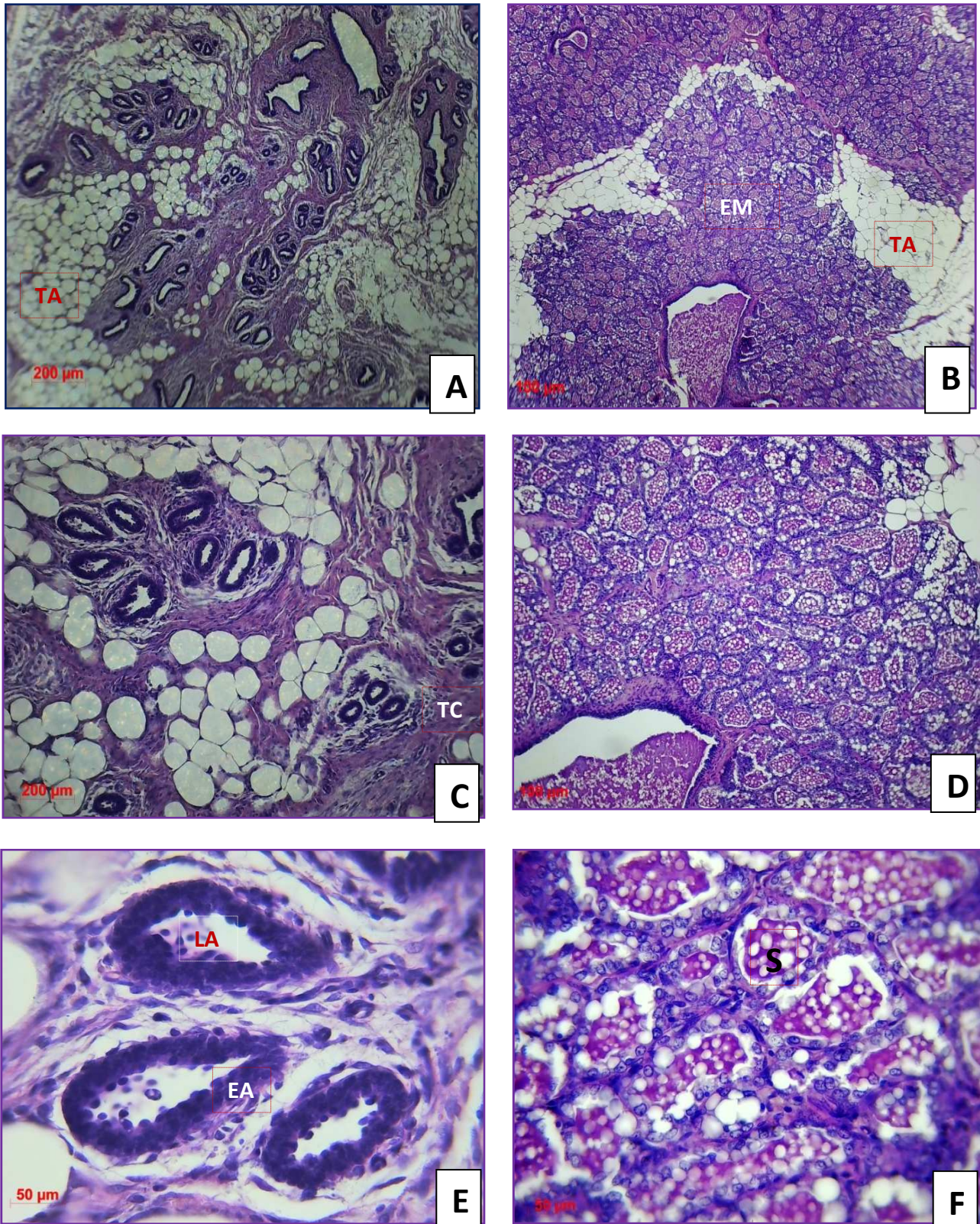


Figure 21: Coupes histologiques d'une glande mammaire de lapine colorées à l'HE et observées à différents grossissements (A et B= x40, C et D= x100, E et F= x400), (A,C,E: lapine non gravide), (B,D,F: lapine gravide). EM: épithélium mammaire, TA: tissu adipeux, TC: tissu conjonctif. LA: lumière de l'acinus, S: sécrétions, EA : épithélium

1-2- Etude histomorphométrique

La glande mammaire est une glande exocrine, productrice de lait, dépendante de l'appareil génital, le lait de la lapine constitue la seule et unique source alimentaire pour les lapereaux (Zerrouki *et al.*, 2008; Lebas et Zerrouki, 2011).

De nombreux facteurs influencent cette production laitière des lapines notamment ceux liés à la femelle, à savoir le type génétique et l'état physiologique qui est défini par un ensemble d'événements physiologique et hormonal permettant la modification des structures mammaires pour un meilleur déroulement des différentes phases.

Afin d'étudier les modifications structurales qui touchent la glande mammaire des lapines en fonction de l'état physiologique, nous allons mener une étude histomorphométrique.

1.2.1 Etude histologique

Cette étude a été entreprise à l'aide d'analyses histologiques à savoir une coloration des coupes du tissu mammaire à l'hématoxyline-éosine décrites précédemment.

Les observations des coupes histologiques de prélèvements de glande mammaire sont réalisées à deux stades physiologiques différents (lapine vide et lapine gestante)(**Figure 21**).

La structure histologique de la glande mammaire des lapines vides est caractérisée par la densité du tissu adipeux et du tissu conjonctif, par contre, le tissu mammaire est peu développé et on remarque que la lumière des acini est dépourvue de sécrétions ce qui peut signifier que la glande mammaire est au repos.

Contrairement chez les lapines gestantes, on remarque que le tissu adipeux ainsi que le tissu conjonctif sont moins développés pour laisser place à la prolifération du tissu mammaire qui est très développé ainsi que les lumières des acini mammaires sont dilatées et remplies de sécrétions qui est une preuve que la glande est en pleine préparation à la lactation car la gestation est au stade avancé (24^{ème} jour).

Au grossissement x400, les cellules épithéliales de revêtement (**F**) sont cubiques ou cylindriques basses et contiennent des vacuoles cytoplasmiques.

Dans la **figure 22**, nous remarquons que le tissu adipeux est développé ainsi que le tissu conjonctif qui nous renseigne qu'il s'agit bien d'une glande mammaire d'une lapine non gravide mais à plus forts grossissements on observe le tissu mammaire qui est aussi développé et que les lumières des acini mammaires sont bien dilatées, les cellules épithéliales de revêtement sont cubiques; les mêmes caractéristiques d'une glande mammaire d'une femelle gestante.

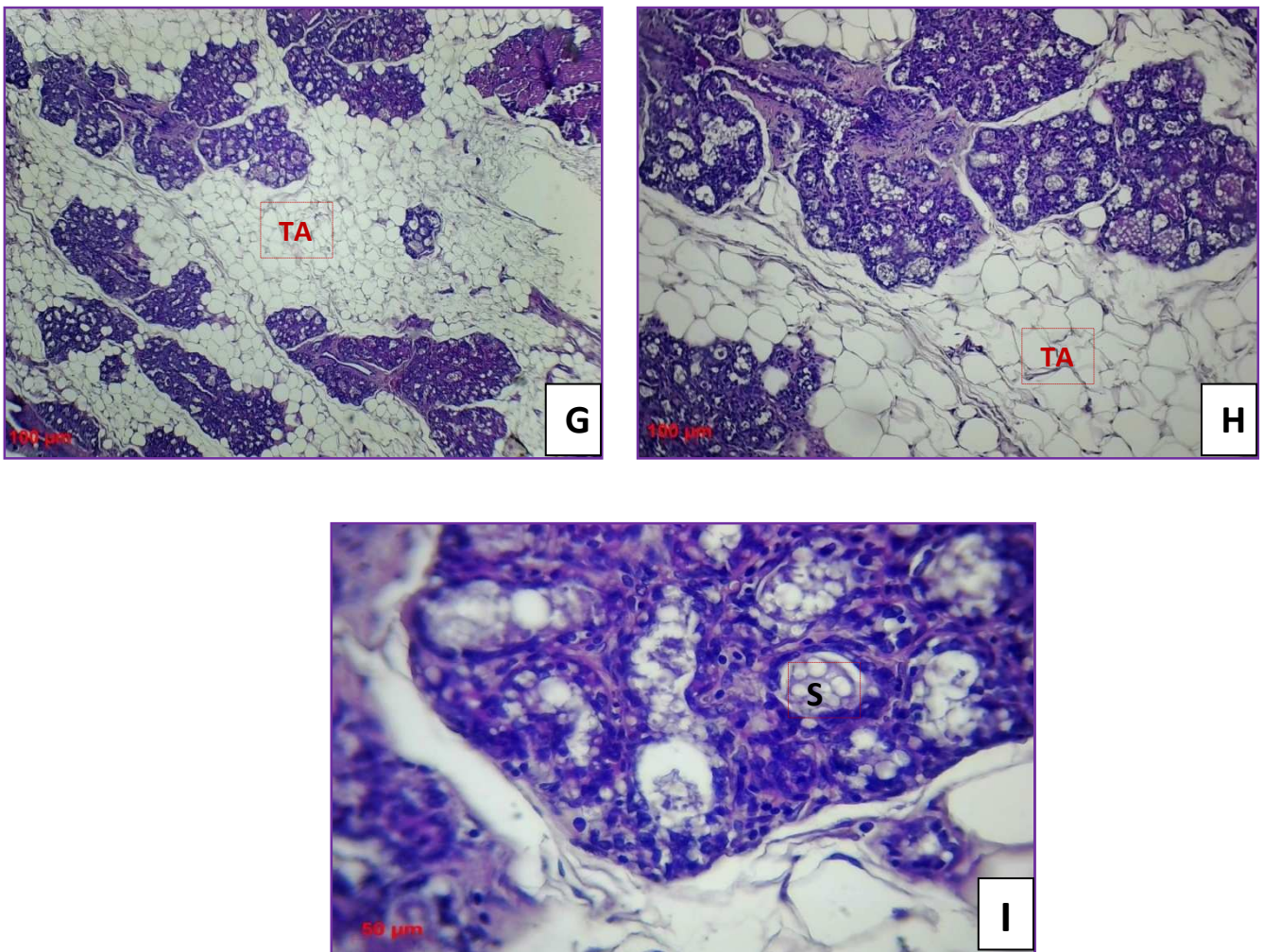


Figure 22: Coupes histologiques d'une glande mammaire de lapine vide colorées à l'HE et observées à différents grossissements (G= x40, H= x100, I= x400). TA: tissu adipeux.

1.2. Etude morphométrique

Cette étude nous a permis de montrer la différence entre plusieurs paramètres en fonction de l'état physiologique des lapines (non gravide et gravide).

A l'aide d'un logiciel qui est l'axiovision , nous avons récolté des données à partir des quelles on a calculé la moyenne et l'ESM (Tableau 4) en utilisant le logiciel microsoft excel 2007 et après analyses statistiques on a récolté les données du tableau n°5.

Tableau 4 : Moyennes et ESM des paramètres morphométriques

Paramètres	MOYENNE		ESM	
	Lapine vide	Lapine gestante	Lapine vide	Lapine gestante
DAM (μm)	64,58	107,47	3,38	5,47
SAM (μm^2)	4196,12	10470,99	381,12	1014,48
SLAM(μm^2)	1247,50	6532,63	153,36	1192,09
S Ep AM(μm^2)	3052,93	4160,83	214 ,02	253,95
HC(μm)	16,30	16,47	2,97	3,01
S NYX(μm^2)	38,92	59,30	2,65	1,68

Tableau 5 : analyses statistiques (normalité et p-value du test student)

Paramètres	Normalité	p-value
DAM	P> 0,20	P=0,01
SAM	P<0,05	P=0,0012
SLAM	P<0,01	P=0,009
S Ep AM	p>0,20	P=0,0009
HC	p>0,20	P=06
S NYX	p>0,20	P=0,0000

Les résultats sont représentés dans les graphes suivants :

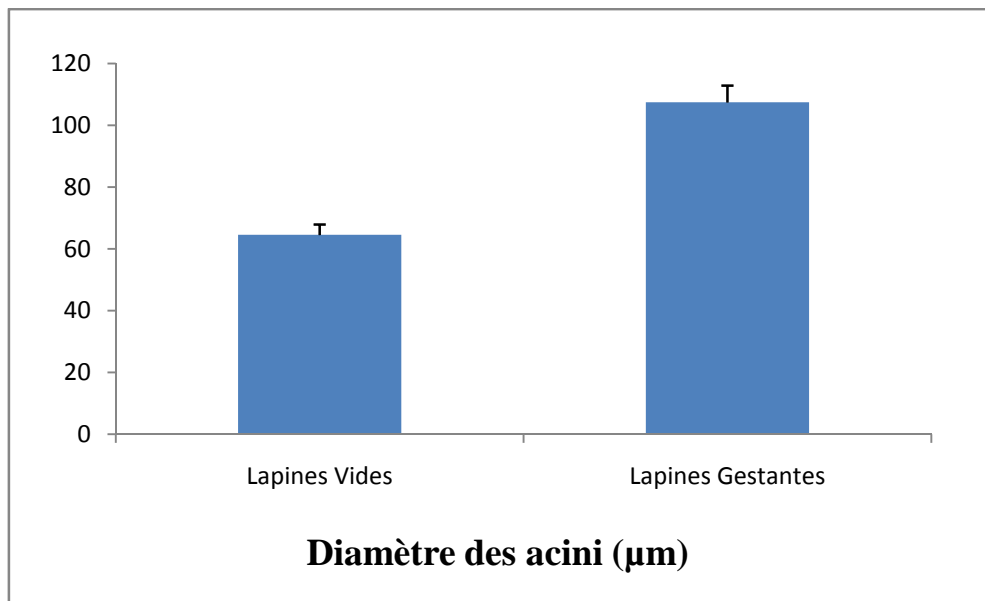


Figure 23 : Diamètre des acini mammaires en fonction de l'état physiologique.

Nos résultats montrent que le diamètre des acini mammaires des lapines gestantes est plus important par rapport au diamètre de la lapine non gravide.

La différence est significative ($p < 0,05$) avec une moyenne de $64,58 \pm 3,38$ pour les lapines vides contre $107,47 \pm 5,47$ pour les lapines gestantes.

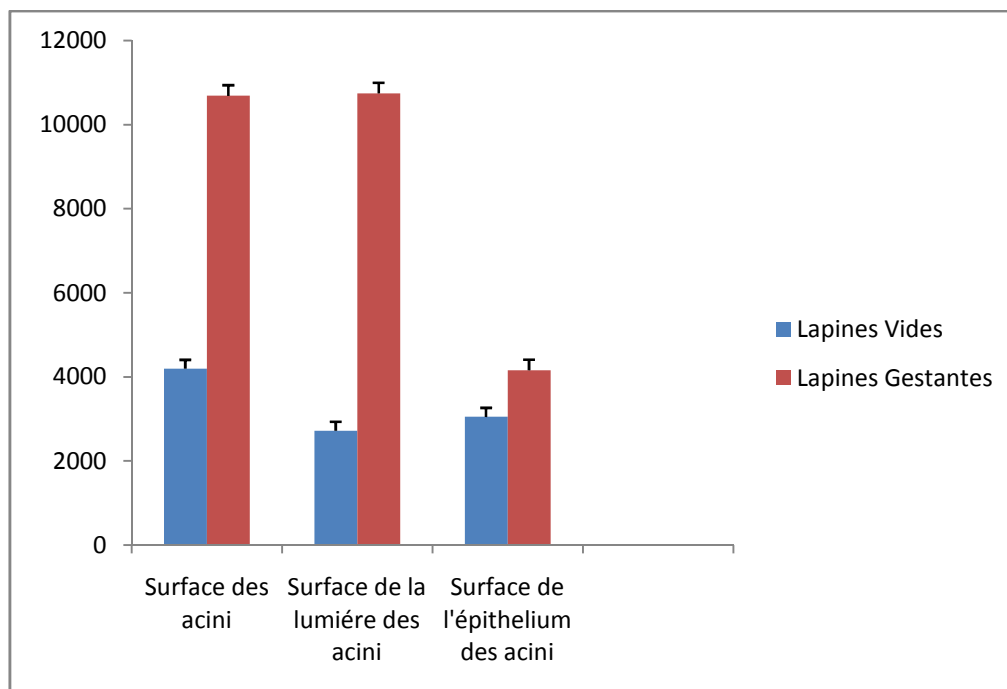


Figure 24 : Histogramme représentant les surfaces ; des acini, de la lumière des acini et de leur l'épithélium en fonction de l'état physiologique.

La surface des acini mammaires, de la lumière des acini ainsi que de l'épithélium des acini sont plus développées chez les lapines gestantes que chez les lapines vides.

- La différence de la surface des acini mammaires est très significative ($p < 0,01$) en fonction de l'état physiologique (lapines vides: $4196,12 \pm 381,12$ vs $10470,99 \pm 1014,48$ pour les lapines gestantes).
- La différence de la surface de la lumière des acini mammaires est très significative ($p < 0,01$) en fonction de l'état physiologique (lapines vides: $1247,50 \pm 153,36$ vs $6532,63 \pm 1192,09$ pour les lapines gestantes).
- La différence de la surface de l'épithélium des acini mammaires est hautement significative en fonction de l'état physiologique (lapines vides: $3052,93 \pm 214,02$ vs $4160,83 \pm 253,95$ pour les lapines gestantes).

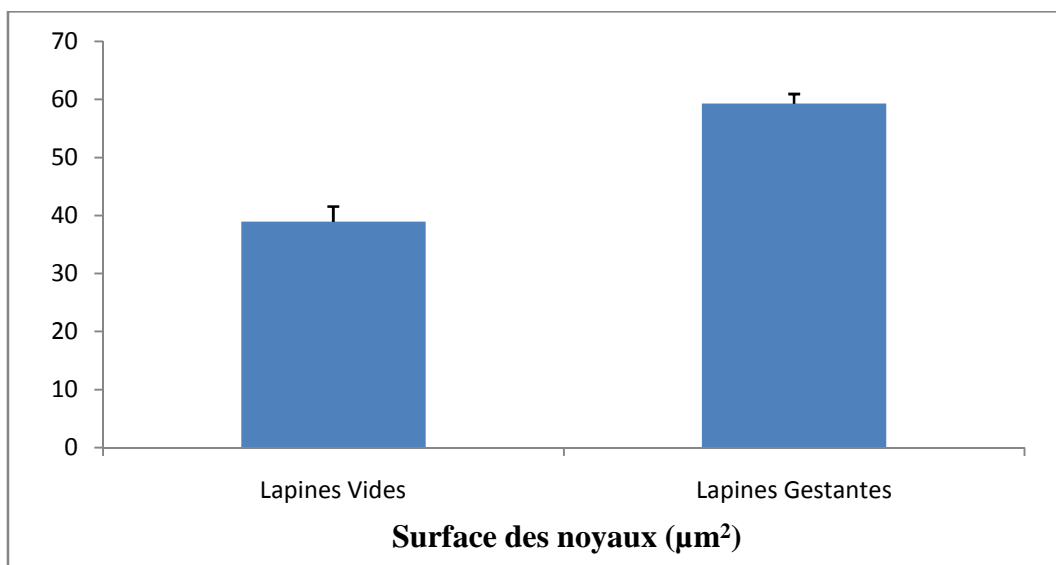


Figure 25: Surface des noyaux des cellules l'épithélium des acini mammaires en fonction de l'état physiologique.

On remarque que la surface des noyaux de l'épithélium des acini mammaires des lapines gestantes est plus importante que celle des lapines vides.

La différence est hautement significative ($p < 0,001$).

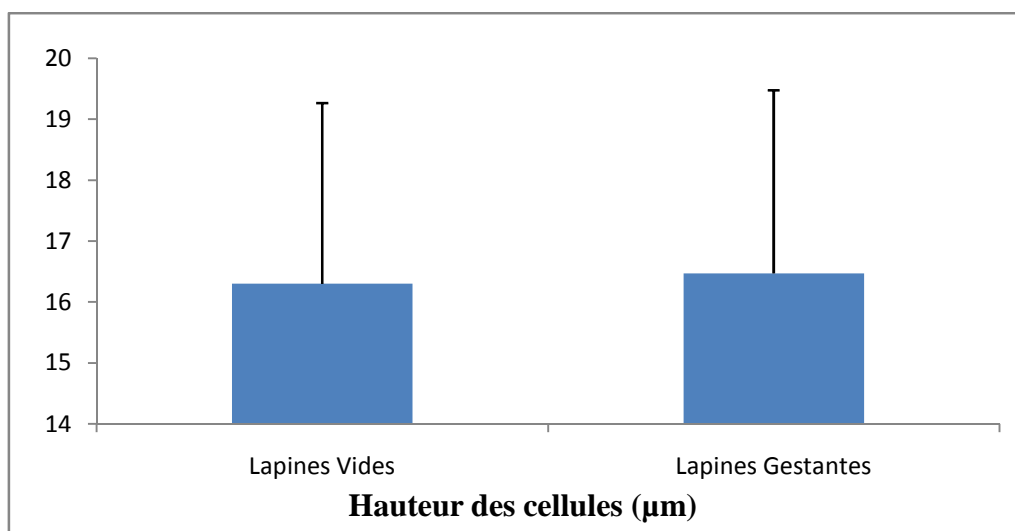


Figure 26 : hauteur des cellules épithéliales mammaires fonction de l'état physiologique.

Concernant la différence de la hauteur des cellules de l'épithélium des acini mammaires, nos résultats montrent que celle-ci n'est pas significative en fonction de l'état physiologique (lapines vides: $16,30 \pm 2,97$ vs $16,47 \pm 3,01$ pour les lapines gestantes).

2- Discussion

Au cours de la gestation, les femelles reproductrices subissent de grandes variations dans la composition corporelle, les dépôts de tissus de réserve et l'énergie. En effet, **Rommers et al. (2002)** ont montré une grande fluctuation du poids corporel des lapines durant la période de reproduction allant de la première insémination jusqu'à la deuxième mise bas ce qui confirme les données pondérales du tableau n°3.

Après analyse des observations portant sur les modifications structurales et histomorphométrique de la glande mammaire des lapines en fonction de leur état physiologique (vide et gestante), on note une variation importante au niveau de la structure des différents constituants de la glande mammaire chez les lapines gestantes qui se traduit par un développement intense du tissu épithélial mammaire et la régression du tissu adipeux et du tissu conjonctif car la croissance de la glande mammaire est importante pendant la première moitié de la gestation (glande en activité), **Houdebine (2007)** rapporte que c'est à partir de la gestation que la glande mammaire se prépare à la lactation.

En ce qui concerne l'étude morphométrique, les mesures des différents paramètres étudiés comme le diamètre des acini mammaires, leur surface, la surface de la lumière des acini mammaires ainsi que leur surface révèlent une différence très significative entre les deux états physiologiques vide et gravide, par contre, pour la hauteur des cellules myoépithéliales la différence est non significative dans les deux états. La surface des noyaux des cellules épithéliales mammaire marque une différence très hautement significative cela peut être expliqué par une forte augmentation du contenu en ADN (Catherine Hue-Beauvais, 2014).

Les modifications qui peuvent se produire au niveau de la glande mammaire sont assurées par une régulation neuro-hormonale qui se traduit principalement par l'intervention de plusieurs hormones. En effet sous l'influence des œstrogènes et de la progestérone, l'épithélium du canal prolifère pour former un grand nombre d'acini (De Boeck et Larcier, 2001).

Mais aussi la progestérone assure l'expansion du compartiment épithélial et le développement des alvéoles. Il a été démontré que la progestérone possède deux récepteurs au niveau des cellules épithéliales mammaires PR-A et PR-B. Cependant seul la PR-b est nécessaire à l'action proliférative de la progestérone sur les cellules épithéliales mammaires, car l'inactivation des gènes codant pour PR-A n'a pas d'effet sur le développement mammaire (Mulac-Jericevic et al, 2003).

La prolactine qui est sécrétée par l'antéhypophyse a un rôle essentiel dans le développement de la glande mammaire (Briskin et O'Malley, 2010) par la mise en évidence du rôle crucial que joue le récepteur à la prolactine (PRL-R) au cours de la mi-gestation en stimulant la différenciation alvéolaire (Ormandy et al., 1997), de façon intéressante, la progestérone induit l'expression de PRL-R alors que la prolactine induit celle de PR, suggérant que ces hormones interagissent de manière synergique afin de contrôler le développement mammaire.

Conclusion générale

Conclusion et perspectives

Au terme de notre travail portant sur l'étude histomorphométrique de la glande mammaire de lapines de souche synthétique en fonction de leurs états physiologiques (vide et gravide), on peut conclure :

L'existence d'une variation structurale de la glande mammaire d'une lapine gestante qui se traduit par le développement du tissu épithélial, régression du tissu adipeux ainsi que du tissu conjonctif contrairement à une lapine vide qui ne présente pas ce développement mammaire.

L'étude morphométrique a prouvé que l'état physiologique affecte le développement des constituants de la glande mammaire après étude de certains paramètres comme le diamètre acini mammaires, la lumière des acini mammaires, la surface des acini mammaires, l'épithélium des acini mammaires et la surface des noyaux de l'épithélium mammaire est ceci de façon significative à hautement significative ; mais par contre n'affecte pas la hauteur des cellules de l'épithélium mammaire ($p > 0,05$).

Le développement mammaire dépend d'une régulation neuro-hormonale dont les hormones hypothalamiques, hormones hypophysaires, hormones ovariennes.

En perspective, le nombre d'individus pris dans cette étude étant faible, il serait intéressant de poursuivre ce travail sur un nombre plus important et à des stades de gestation différents à savoir au 16^{ème} jour de gestation.

Références bibliographiques

- Ahmed E.G.A.1997.** Productive performance of different exotic strains rabbits. Thesis, Fac.Agric. Ismailia, Suez Canal Univ, Egypt.
- AMROUN-LAGA T.T ,2018.** Impact de la composition du lait sur la mortalité des lapereaux sous la mère dans deux types génétiques de lapines en Algérie : La population blanche et la souche synthétique.
- Arvy L, 1974** cités par **Vaissaire 1977.** Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Paris. MALOINE Editeur. P457.
- Assari L, Delouis C, Gaye P, Houdebine LM, Ollivier-Bousquet M,Denamur R (1974) .** Inhibition by progesterone of the lactogenic effect of prolactin in the pseudopregnant rabbit. *Biochem J*;144:245-52.
- Ayyat M.S., Marai I.F.M., El Sayiad, G.H.A. 1995.** Genetic and non genetic factors affecting milk production and preweaning litter traits of New-Zealand White does under Egyptian condition. *World Rabbit Science*, 3,119-124.
- BARONE R, PAVAUX C, BLIN PC, CUQ P (1973)**Glandulae Sine Ductibus. In *Atlas d'Anatomie du Lapin*, Paris : Masson & Cie, p. 185-190.
- Brennan A.J., Sharp J.A., Lefevre C.M. & Nicholas K.R. (2008)** Uncoupling the mechanisms that facilitate cell survival in hormone-deprived bovine mammary explants. *J MolEndocrinol*41, 103-16.
- Briskin c., o'malley b. 2010.** Hormone action in the mammary gland.cold spring harbperspectbiol2 , a003178.
- Briskin C., Park S., Vass T., Lydon J.P., O'Malley B.W. & Weinberg R.A. (1998)**A paracrine role for the epithelial progesterone receptor in mammary gland development. *Proc NatlAcadSci U S A* 95, 5076-81.
- Caractérisation de la croissance foetale in utéro par échographie chez la lapine. *11èmes journées de la Recherche Cunicole, Paris, France, 29-30 Novembre 2005*, 83-86.
- Cascado et al., 2006.** Cité par Martens et al. (2006).
- Chavatte-Palmer P., Laigre P., Simonoff E., Challah M., Chesné P., Renard J.P. 2005.**
- CHIBAH k , 2016 ;** Evaluation de la production laitière de la lapine et de la croissance du lapereau sous la mère de population blanche et de souche synthétique.
- Cherifi I. (2014).** Impact de la signalisation constitutive du récepteur de la prolactine sur la physiologie mammaire 1-157. Physiologie. Université Paris Descartes.
- De boeck et Larciens.a, 2001,** weather'sfunctionalhistology, a text and colour atlas, fourthedition p 370

- Dehnhard M., Claus R., Munz O. & Weiler U. (2000)** Course of epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor I (IGF-I) in mammary secretions of the goat during end-pregnancy and early lactation. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* **47**, 533-40
- DELFORGE F (2003)** *Pathologie de la reproduction et de l'appareil urinaire chez le lapin de compagnie. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3, 138 p.*
- Delouis C., Houdebine L.M., Richard P. 2001.** La lactation. La Reproduction chez les Mammifères et l'Homme. *Thibault C, Levasseur MC, Ellipses-INRA Editions. 580-610.*
- Denamur R. (1963a)** Mammary growth and lactogenesis induced by prolactin in the pregnant rabbit. *C R Hebd Seances Acad Sci* **257**, 1548-51.
- Devinoy E. & Houdebine L.M. (1977)** Effects of glucocorticoids on casein gene expression in the rabbit. *Eur J Biochem* **75**, 411-6.
- Eirew P., Stingl J., Raouf A., Turashvili G., Aparicio S., Emerman J.T. & Eaves C.J. (2008)** A method for quantifying normal human mammary epithelial stem cells with in vivo regenerative ability. *Nat Med* **14**, 1384-9.
- Feugier A., Fortun-Lamothe L., Lamothe E., Juin H. 2005.** Une réduction du rythme de reproduction améliore l'état corporel et la fertilité des lapines. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 29-30 novembre 2005, Paris.
- Fortun L. 1994.** Effets de la lactation sur la mortalité et la croissance foetale chez la lapine primipare. *These doct. Ing. Univ de Rennes 1. Scien Biolob.* 1994.
- Fortun L. 1998a.** Effects of pre-mating energy intake on reproductive performance of rabbit does. *Animal Science*, 66:263-269.
- Fortun L. 1998b.** Effets de la lactation, du bilan énergétique et du rythme de reproduction sur les performances de reproduction chez la lapine primipare. *7èmes Journées de la Recherche Cunicole*, Lyon, 257-260.
- Fortun L., Lebas F. 1994.** Influence of the number of the suckling young and the feed level on foetal survival and growth in rabbit does. *Annales de Zootechnie*, 43, 163-171.
- Fortun L. 2003.** Bilan énergétique et gestion des réserves corporelles de la lapine : mécanisme d'action et stratégie pour améliorer la fertilité et la longévité en élevage Cunicole. *10èmes Journ. Rech. Cunicole*, Paris. 2003.
- Fortun- Lamothe L., Theau-Clément M., Combes S., Allain D., Lebas F., Le Normand B., Gidenne T ,2015.** Chapitre 2 : Physiologie. *In Gidenne T., Le Lapin : de la biologie à l'élevage*, Editions Quae Versailles, 39-83.

- Gacem M., Bolet G. 2005.** Création d'une lignée issue du croisement entre une population locale et une souche européenne. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole*, 29-30 novembre. 2005, Paris 15-18.
- Gacem M., Zerrouki N., Lebas F., Bolet G. 2008.** Strategy for developing rabbit meat production in Algeria: Creation and selection of synthetic strain. <http://world-rabbitscience.Com/WRSA-Proceedings/Congress-2008-Veronaf>
- Gutierrez H. E. & Zamora F. M. M. 2004.** Ultrasonography study of rabbits pregnancy. *8th Wol. Rab. Cong. Puebla - Mexico*. 276-280.
- Gynécol. Obstét.* 5-008-A-30, 2007.
- Haslam S.Z. (1988)** Acquisition of estrogen-dependent progesterone receptors by normal mouse mammary gland. Ontogeny of mammary progesterone receptors. *J Steroid Biochem* 31, 9-13.
- Hassan N.S. 2005.** Animal model evaluation and some genetic parameters of milk production in New Zealand White and Baladi Black rabbits using DF-REML procedure. *4th International Conference on Rabbit Production in Hot Climates*, Sharm El-Sheikh, Egypt 24-27 February 2005, 55-64.
- Head H.H., Delouis C., Terqui M., Kann G. & Djiane J. (1980)** Effects of various hormone treatments on induction of lactation in the ewe. *J Anim Sci* 50, 706-12.
- Helman D., Herman A., Paly J., Livnah O., Elkins P.A., de Vos A.M., Djiane J. & Gertler A. (2001)** Mutations of ovine and bovine placental lactogens change, in different ways, the biological activity mediated through homologous and heterologous lactogenic receptors. *J Endocrinol* 169, 43-54.
- Houdebine L.M. 2007.** Biologie de lactation. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris)*,
- Hovey R.C., McFadden T.B., Akers R.M. 1999.** Regulation of mammary gland growth and morphogenesis by the mammary fat pad: a species comparison. *J. Mamm. Gland Biol. Neopla.* 4, 53-68.
- Hovey R.C., Trott J.F., Vonderhaar B.K. 2002.** Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *J. Mamm. Glan. Biol. Neopla.* 7, 17-38.
- Hue-Beauvais C. 2014.** Périodes critiques pour la croissance et le développement mammaire lors d'une alimentation obésogène, chez la lapine et la souris : Implication de la leptine
- Ibarra I., Erlich Y., Muthuswamy S.K., Sachidanandam R. & Hannon G.J. (2007)** A role for microRNAs in maintenance of mouse mammary epithelial progenitor cells. *Genes Dev* 21, 3238-43.

- INRA .1989.** L'alimentation des animaux monogastriques : porc, lapin, volailles. INRA Edition 2^{ème}. pp 282.
- Johnson M.H., Everitt B.J. 2002.** *Reproduction De Broeck University.* pp 297.
- Kelly PA B.A., Kedzia C, Hennighausen L, Ormandy CJ, Kopchick JJ, Binart N (2002)** The role of prolactin and growth hormone in mammary gland development. *Mol Cell Endocrinol.* **197**, 127-31.
- Khalil M.H.1994.**Lactational performance of Giza White rabbits and its relation with pre-weaning litter traits. *Anim. Prod.*, *59*, 141-145.
- Laud K., Gourdou I., Bélair L., Keisler D.H. & Djiane J. (1999)** Detection and regulation of leptin receptor mRNA in ovine mammary epithelial cells during pregnancy and lactation. *FEBS Lett* **463**, 194-8.
- LEBAS F, COUDERT P, DE ROCHAMBEAU H, THEBAULT RG (1996)** Reproduction. In *Le Lapin: élevage et pathologie*. Rome : FAO, p. 51-67
- Lebas F. 2002.** 2^{ème} Congrès de Cuniculture des Amériques
- Lebas F. 2002.** 2^{ème} Congrès de Cuniculture des Amériques
- Lebas F. 2002.** Biologie du lapin. <http://www.cuniculture.info>
- Lebas F., Marionnet D., Henaff R. 1991.** La production du lapin. (3^{ème} Edition révisée) *AFC et Tec & Doc co-éditeurs*, 206 pp.
- Lebas F., Zerrouki N. 2011.**Méthodes de mesure de la production laitière chez la lapine. *14^{èmes} Journées de Recherche Cunicole, 22-23 novembre 2011, Le Mans, France*
- Lebas F.2002.** Biologie du lapin.<http://www.cuniculture.info>. (Accès le 11/11/2007).
- Lollivier V., Marnet P.G., Delpal S., Rainteau D., Achard C., Rabot A. & Ollivier-Bousquet M. (2006)**Oxytocin stimulates secretory processes in lactating rabbit mammary epithelial cells. *J Physiol***570**, 125-40.
- Lu M.H., Anderson R.R. 1973.** Growth of the mammary gland during pregnancy and lactation in the rabbit. *Biol. Reprod.* *9*, 538-43.
- Macias H., Hinck L. 2012.** Mammary gland development. *Wiley Interdiscip Rev. Dev. Biol.**1*, 533-57.0
- Marai I.F.M., Rashwan A.A. 2004.** Behavioural response of rabbits to climatic and managerial conditions - a Review. *Archiv. Fur. Tierzucht* *47(5)*, 469-482.
- Martinet J., Houdebine L.M. 2006.** Gland mammaire, mammogénèse, facteurs de croissance, lactogénèse. In: Martinet J, Houdebine LM (Eds), *Biologie de la lactation, INRA INSEAN, Paris, 1993, p 3-29.*

- Mohamed M.M.A., SzendroZs. 1992.** Studies on nursing and milk production of does and milk intake behaviour of their kits. *5th World Rabbit Congress, Journal of Applied Rabbit Research*, 15, 708-716.
- Morimoto M. 2009.** General physiology of rabbits. Chapter biotechnology 27-35.
- Mulac-Jericevic B., Lydon J.P., DeMayo F.J. & Conneely O.M. (2003)** Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform. *Proc Natl AcadSci U S A* **100**, 9744-9.
- myoepithelium and basal lamina during branching morphogenesis. *Dev. Biol.* 97:274–290.
- Neville M.C., Medina D., Monks J. & Hovey R.C. 1998.** The mammary fat pad. *J. Mamm. Gland Biol. Neop.* 3, 109-16.
- Ormandy CJ C.A., Barra J, Damotte D, Lucas B, Buteau H, Edery M, Brousse N, Babinet C, Binart N, Kelly PA. (1997)** Null mutation of the prolactin receptor gene produces multiple reproductive defects in the mouse. *Genes Dev.* **11**, 167-78.
- Parigi-Bini R., Xiccato G., Cinetto M., Dale-Zotte A., 1992.** Energy and protein utilization and partition in rabbit does concurrently pregnant and lactating. *Anim. Prod.* 55, 153-162.
- Parigi-Bini, R., Xiccato G., & Cinetto M. 1990.** Energy and protein retention and partition in rabbit does during the first pregnancy. *Cuni-Sci.*, 6:19-29.
- Radisky, D.C., Y. Hirai, et M.J. Bissell. 2003.** Delivering the message: epimorphin and mammary epithelial morphogenesis. *Trends Cell Biol.* 13:426–434. doi:10.1016/S0962-8924(03)00146-6.
- Raynaud A. 1969.** Traite de zoologie, P.P Grassé. t.XVI. Fasc. Vi- Paris : MASSON
- Rommers J.M., Kemp B., Meijerhof R., Noordhuizen J.P.T.M. 2002.** The effect of litter size before weaning on subsequent body development, feed intake, and reproductive performance of young rabbit does. *J. Anim. Sci.*, 79:1973-1982.
- Servely J.L., Emane M.N., Houdebine L.M., Djiane J., Delouis C. & Kelly P.A. (1983)** Comparative measurement of the lactogenic activity of ovine placental lactogen in rabbit and ewe mammary gland. *Gen Comp Endocrinol* **51**, 255-62.
- Sheffield L.G. (1998)** Hormonal regulation of epidermal growth factor receptor content and signaling in bovine mammary tissue. *Endocrinology* **139**, 4568-75.
- Theau-Clément M. 2008.** Facteurs de réussite de l'insémination chez la lapine et méthodes d'induction de l'œstrus. *INRA Prod. Anim.*, 2008, 21 (3), 221-230.
- Theau-Clément, M. 2005.** Préparation de la lapine à l'insémination: analyse bibliographique. *11èmes Journées de la Recherche Cunicole, Paris, France, 9 -30 novembre 2005*, 67-82.

THIBAUT C., Levasseur MC. 1991. La reproduction chez les mammifères et l'homme
Edition marketing.P 757

Thibault C., Levasseur MC. 2001. La production chez les mammifères et l'homme. Edition
INRA ELLIPSE .928p.

Tůma J., Tůmová E., &Valášek V. 2010. The effect of season and parity order on fertility of
rabbit does and kit growth. *Czech J. Anim. Sci.*, 55, 2010 (8): 330–336.

Vaissaire, 1977. Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire.
Edition MALOINE. S.A.P 200.

Watson C.J. 2006. Involution: apoptosis and tissue remodelling that convert the
mammary gland from milk factory to a quiescent organ. *Breast Cancer Res.*, 8, 203.

Williams, J.M., et C.W. Daniel. 1983. Mammary ductal elongation: differentiation of

Xiccato G., Trocino A., Sartori A., Queaque P.I. 2004. Effect of parity order and
litterweaning age on the performance and body energy balance of rabbit does. *Livest. Prod.
Sci.*,85, 239-251.

Zerrouki N., Chibah K., Amroun T., Lebas F., 2012. Effect of the average kits birth weight
and of the number of born alive per litter on the milk production of Algerian white population
rabbit does. *10 th World RabbitCongress – September 3 - 6, 2012 – Sharm El-Sheikh – Egypt,*
351- 355.

Zerrouki N., Lebas F., Davoust C., Corrent E. 2008. Effect of mineral blocks addition
onfattening rabbit performance. *9th World Rabbit Congress, June 10-13, 2008, Verona
Italy*,853-857.

Zerrouki N., Lebas F.2004. Evaluation of milk production of an Algerian local rabbit
population raised in the Tizi-Ouzou area (Kabylia) .*8th Wold Rabbit Congress. Puebla
Mexico*.378-384.

Résumé

L'objectif de notre étude est d'évaluer les modifications structurales de la glande mammaire en fonction de deux états physiologiques (vide et gestante) à l'aide d'une étude histomorphométrique chez la lapine de souche synthétique qui a été créée en 2003 en Algérie, en provenance du clapier de Tizirt (Tizi Ouzou).

Les lapines ont été séparées en fonction de leur état physiologique : lapines non gravide, âgées de 4 mois et lapines gravides au 24^{eme} jour de la gestation.

Les lapines ont été pesées puis sacrifiées. La glande mammaire est prélevée, pesée et fixée au formol (10%). Elle est ensuite colorée à l'hématoxyline éosine pour une étude histologique et à l'aide d'un logiciel axiovision pour une étude morphométrique ciblant la mesure des différentes structures mammaires, à savoir : Le diamètre et la surface des acini mammaires, la surface de la lumière des acini, surface des noyaux et hauteur de cellules épithéliales mammaires.

Ces deux études révèlent des modifications structurales comme le développement de l'épithélium mammaire au dépit du tissu adipeux et du tissu conjonctif chez la lapine gestante, et une augmentation significative pour le diamètre des cellules ($<0,05$), très significative pour la surfaces des acini et la lumière des acini ($p<0,01$), hautement significative pour la surface des noyaux et l'épithélium des acini mammaires ($p<0,0001$) et non significative pour la hauteur des cellules ($p>0,05$). Ces résultats confirment que l'évolution de la glande mammaire dépend de l'état physiologique de la lapine. Cependant le développement mammaire est sous l'effet neuroendocrinien

Mots clés : souche synthétique, glande mammaire, état physiologique, histomorphométrie

Abstract

The objective of our study is to evaluate the structural modifications of the mammary gland according to two physiological states (empty and pregnant) using a histomorphometric study in the rabbit of synthetic strain which was created in 2003 in Algeria, from the hutch of Tizirt (Tizi Ouzou).

The rabbits were separated according to their physiological state: non-pregnant rabbits, 4 months old and pregnant rabbits on the 24th day of pregnancy.

The rabbits were weighed and sacrificed. The mammary gland is removed, weighed and fixed with formalin (10%). It is then stained with haematoxylin eosin for a histological study and using axiovision software for a morphometric study targeting the measurement of the different mammary structures, namely: The diameter and the surface of the mammary acini, the surface of the light of the acini, surface of the nuclei and height of mammary epithelial cells.

These two studies reveal structural changes such as the development of mammary epithelium in spite of adipose tissue and connective tissue in pregnant rabbits, and a significant increase in cell diameter (<0.05), very significant for the surface of acini and acini light ($p <0.01$), highly significant for the surface of the nuclei and mammary acini epithelium ($p <0.0001$) and not significant for cell height ($p > 0.05$). These results confirm that the evolution of the mammary gland depends on the physiological status of the rabbit. However breast development is under the neuroendocrine effect

Key words: synthetic strain, mammary gland, physiological state, histomorphometry