



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



Université Mouloud MAMMERY, Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département biologie animale et végétale

Mémoire de fin d'Etudes

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

Thème

**Effet de l'huile essentielle Romarin à
verbénone (*rosmararinus*) à différentes doses
sur la structure testiculaire chez les lapins
infantiles de la population blanche.**

Présenté par : M^{elle} ABDALLAH Nassima

: M^{elle} KAHIL Thenina

Soutenu devant le jury composé de :

M^{me} MEDJDOUB-BENSAAD F. « Professeur UMMTO »..... Présidente

M^{me} LAKABI L. Ep. AHMANACHE « Maître de conférence B UMMTO ».....Promotrice

M^{me} AMROUN T.T « Maître de conférence B UMMTO ».....Co-promotrice

M^{me} GUERMAH D. « Maître-assistant B UMMTO ».....Examinatrice

2019/2020

Remerciements

Nous remercions DIEU le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force et la patience afin de mener ce travail à terme.

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

Nous voudrions exprimer notre gratitude à Madame LAKABI L. Ep. AHNANACHE maitre de conférence B à UMMTO 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.

Tout notre respect s'adresse aussi à notre co-promotrice Madame AMROUN T. T pour son aide et sa contribution à la réussite de ce modeste mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi aux membres de jury Madame MEDJOUB-BENSAAD F. pour avoir accepté de présider le jury et d'évaluer notre travail. Mademoiselle GUERMAH D. pour avoir accepté d'examiner ce travail, d'avoir bien voulu prendre le temps d'évaluer et de juger notre travail.

Nous ne manquerons pas de remercier l'équipe de laboratoire de recherche du professeur MEDJDOUB-BENSAAD F. qui a contribué à l'accomplissement de ce modeste travail, un grand merci.

En dernier lieu, nous remercions chaleureusement toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



A mes parents d'amour

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour votre soutien constant mon papa Abderrahmane et ma chère maman et meilleure amie Nadia, pour votre affection, vos innombrables sacrifices et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et inculqué. Recevez ici ma profonde gratitude pour votre patience et votre confiance.

A mon cher frère Syphax qui m'a beaucoup soutenu à réaliser ce modeste travail.

A ma chère sœur Tinhinane qui m'a tant encouragé durant mon cursus ainsi que ma nièce Ihssane et mon neveu Iyad que j'adore énormément.

A ma tante Rahima qui était toujours présente à mes côtés.

A mes grands-parents pour leur amour et affection.

A toute ma famille et à tous mes amis.



Thenina



Dédicaces

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

J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail de fin d'étude à tous les êtres chers que j'ai perdus, particulièrement mon cher Papa, et chers frères Mouloud et Mohamed.

A ma très chère Maman qui m'a apporté leur soutien, dans les moments difficiles avec un tant d'amour et d'affection et qui a souffert sans se plaindre pour m'élever et m'éduquer afin que j'atteigne ce niveau, que le bon dieu l'accorde une longue vie.

A mes très chers frères, mes chères sœurs et tous les membres de ma famille.

A tous mes amis (es) qui m'ont toujours encouragé et soutenu dans les moments les plus durs, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que dieu, vous protège et vous garde.

*Ainsi celle avec qui j'ai l'immense plaisir de partager ce travail, ma très chère binôme **Thanina**.*



Nassima



Liste des abréviations

Abréviations

Sg : Spermatogonie

Ap : Spermatogonie à chromatine claire

Ad : Spermatogonie à chromatine fine et sombre

Sp B : Spermatogonie à chromatine en agrégat périphérique

Sp I : Spermatoocyte I

Sp II : Spermatoocyte I

Spz : Spermatozoïde

CHU : Centre hospitalier universitaire

N : Noyau

LT : Lymphocyte T

Mo : Monocyte

FSH : Hormone Folliculo Stimulante

HCO₃⁻ : Anhydrase carbonates

LH : Luteizing Hormone

GnRH : Gonadotropine Releasing Hormone

ABP : Androgen-Binding Protein

LHRH : Luteinizing Hormone Releasing Hormone

D1 : Dose 1

D2 : Dose 2

D3 : Dose 3

D4 : Dose 4

D5 : Dose 5

ONAB : Office National de l'Aliment de Bétail

ESM : Erreur Standard liée à la Moyenne

P : Probabilité

Kg : Kilogramme

Cm : Centimètre

µl/kg : Microlitre par kilogramme

T : Témoin

J : Jour

H : Heure

TG : Testicule Gauche

TD : Testicule Droit

PTD : Poids Testiculaire Droit

PTG : Poids Testiculaire Gauche

DHT : Dihydrotestostérone

SKEO : Satureja Khuzestanica

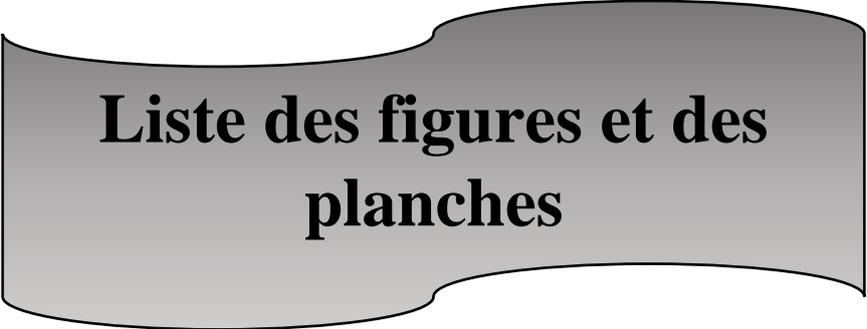
CS : Cellule de Sertoli

Cl : Cellule de Leydig

Vs : Vaisseaux

Lu : Lumière

TS : Tube séminifère



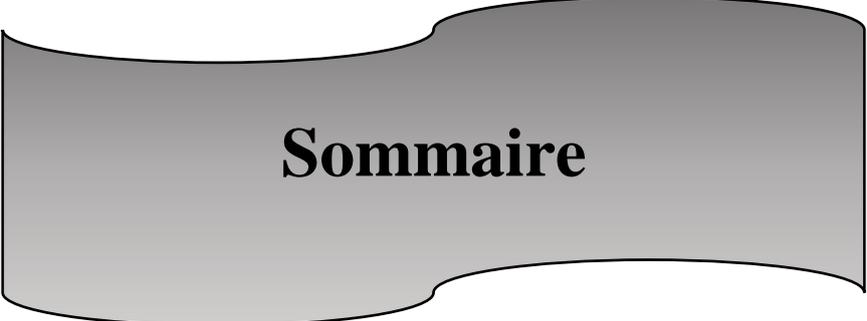
**Liste des figures et des
planches**

Liste des figures et des planches

Figure 01 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas et <i>al.</i> , 1996)	02
Figure 02 : Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins (Bonnes et <i>al.</i> , 1988). 03	03
Figure 03 : Schéma des enveloppes testiculaires (Barone, 2001).....	03
Figure 04 : Vascularisation du testicule (Bailleul et Mauroy., 1991).....	04
Figure 05 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (modifiée d'après Hermo et Robaire, 2002).....	05
Figure 06 : Portion libre de l'urètre : pénis du lapin (Shinkichi et Akira, 2004).....	06
Figure 07 : Organisation interne du testicule d'après (Senger, 20012).....	08
Figure 08 : Cellule de Sertoli (Siffroi, 2003).....	09
Figure09 : Cycle spermato-génétique chez le lapin (Charles PAX, 2017).....	09
Figure 10 : Spermatozoïde des mammifères (Le Moigne et Foucrier, 2009).....	11
Figure 11 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009).....	14
Figure 12 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).....	15
Figure 13 : Steroidogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibalaut et Levasseur, 2001).....	19
Figure 14 : Différenciation germinale schématisée (Marieb, 2006).....	20
Figure 15 : Les étapes de la spermiogénèse (Gayrard, 2007).....	21
Figure 16 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouad, 2009).....	23
Figure 17 : Contrôle endocrinien des fonctions testiculaire (Leveque, 2003).....	26
Figure 18 : Lapins âgés d'un mois issus d'un élevage cunicole privé de Djebbla	30
Figure 19 : Flacon de l'huile essentielle « Romarin à verbénone ».....	30
Figure 20 : Pesée et administration de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » par voie orale.....	32
Figure 21 : La pesée, le sacrifice et la récupération du sang.....	33
Figure 22 : Dissection d'un lapin mâle et traitement de l'appareil génital.....	33
Figure 23 : Fixation des organes par le fixateur Bouin Hollande sublimé	34
Figure 24 : Série des bains de déshydratation des séries de lames.....	35
Figure 25 : Etapes de circulation (original : 2019).....	36
Figure 26 : Blocs de paraffine obtenue après l'inclusion.....	36
Figure 27 : Coupes réalisées par un microtome à paraffine de type Leica	37

Liste des figures et des planches

Figure 28 : Batterie de coloration.....	38
Figure 29 : Observation des coupes (originale 2019).....	38
Figure 30 : Graphique du poids corporel des lapins infantiles traités par l’huile essentielle Romarin à verbénone.	40
Figure 31 : Graphique du poids total des testicules des lapins infantiles traités par le Romarin à verbénone	41
Figure 32 : Graphiques du poids moyen des testicules droits et gauches des lapins infantiles traités par l’huile essentielle le Romarin à verbénone.....	42
Figure 33 : Graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles traités par le Romarin à verbénone	43
Figure 34 : Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule des lapins âgés d’un mois après la coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40)	44
Figure 35 : Coupes histologiques des testicules des lapins infantiles âgés en moyenne d’un mois du lot témoin et des lots traités par l’huile essentielle Romarin à verbénone	46



Sommaire

Introduction.....01

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

1. Anatomie de l'appareil génital mâle du lapin02

1.1. Testicules02

1.1.1. Vascularisation et innervation des testicules.....04

1.2. Epididyme04

1.3. Conduit déférent05

1.4. Urètre06

1.5. Pénis06

1.6. Vésicule séminale06

1.7. Prostate07

1.8. Glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cowper07

1.9. Glandes inguinales07

2. Histologie du testicule et épидидyme07

2.1. Histologie des testicules07

2.1.1. Tubes séminifères08

2.1.1.1. Cellules de Sertoli08

2.1.1.2. Cellules germinales09

2.1.1.2.1. Spermatogonies et spermatocytes09

2.1.1.2.2. Spermatides et spermatozoides10

2.1.2. Tissu interstitiel11

2.1.2.1. Cellules de Leydig11

2.2. Histologie de l'épididyme12

2.2.1. Cellule principales12

2.2.2. Cellules basales12

2.2.3. Cellules en halo.....12

2.2.4. Cellules claires13

2.2.5. Cellules apicales..... 13

2.2.6. Cellules étroites..... 13

2.2.7. Cellules dendritiques13

2.2.8. Lumière du canal épидидymaire	14
3. Composition du sperme du lapin	14

Chapitre II : Physiologie de l'appareil reproducteur mâle du lapin

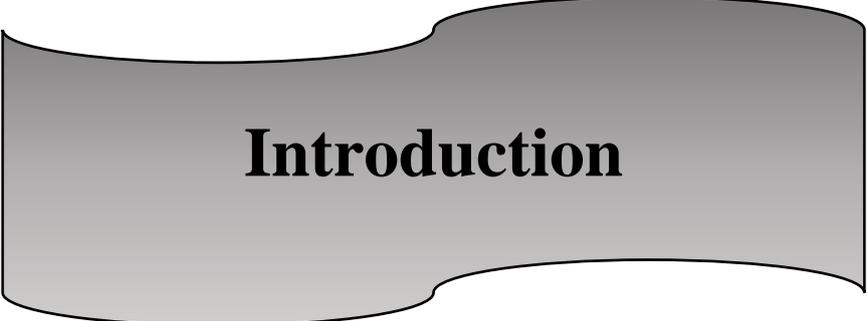
1. Développement des gonades et puberté	15
1.1. Différenciation et développement des gonades.....	15
1.2. Développement pondéral	16
1.3. Maturation sexuelle	16
1.3.1. Phase infantile	16
1.3.2. Phase pré-pubère.....	17
1.3.3. Phase pubère	17
1.3.4. Maturation sexuelle	17
2. Fonction physiologique du testicule	18
2.1. Fonction endocrine du testicule : Stériodogenèse	18
2.1.1. La stériodogenèse testiculaire	18
2.1.2. Stériodogenèse extra-glandulaire.....	19
2.2. Fonction exocrine du testicule : Spermatogenèse et spermiogenèse.....	19
2.2.1. Spermatogenèse	19
2.2.1.1. Spermatocytogenèse	20
2.2.1.2. Méiose	20
2.2.2. Spermiogenèse	21
3. Fonction physiologique de l'épididyme	22
3.1. Mode de sécrétion de l'épididyme	22
3.1.1. Sécrétion mérocrine	22
3.1.2. Sécrétion apocrine	22
3.2. Fonctions de l'épithélium épидидymaire	23
3.2.1. Maturation des spermatozoides	23
3.2.2. Acquisition de la mobilité	23
3.2.3. Modification membranaire	24
3.2.4. Stockage des spermatozoides.....	24
3.3. Autres fonctions de l'épididyme	24

4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction	24
4.1. Régulation hormonale du testicule	25
4.1.1. Au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire	25
4.1.2. Au niveau testiculaire	25
5. Facteurs de l'environnement influencent sur la reproduction.....	26
5.1. Effet de la saison	26
5.2. Effet d'éclairement et photopériode.....	27
5.3. Effet de la température.....	27
5.4. Effet de l'alimentation	27
5.5. Humidité	27
5.6. Effet des huiles essentielles.....	28

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique	29
1.1. Modèle animale.....	29
1.2. Modèle végétal	30
1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	30
1.4. Autres matériels	31
2. Expérimentation	31
2.1. Protocole expérimental.....	31
2.2. Pesée et administration des huiles essentielles	32
2.3. Sacrifices et prélèvement	32
3. Etude histologique	34
3.1. Fixation des échantillons	34
3.2. Déshydratation et éclaircissement	35
3.3. Imprégnation	35
3.4. Inclusion.....	36
3.5. Confection des coupes et collage	36
3.6. Déparaffinage et réhydratation	37
3.7. Coloration topographique et Déshydratation	37
3.8. Montage et observation des coupes	38

4. Etude statistique	39
Chapitre IV : Résultats et discussion	
1. Résultats de l'étude macroscopique	40
1.1 .Poids corporel.....	40
1.2. Poids testiculaire	41
1.2.1. Poids testiculaire total	41
1 .2.2. Poids des testicules droits et gauches des lapins infantiles traités par l'huile essentielle le Romarin à verbénone	42
1.2.3. Poids relatif des testicules des lapins.....	43
2. Résultats de l'étude microscopique.....	43
2.1 Testicules des lapins témoins.....	44
2.2. Testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone.....	45
3. Discussion	47
3.1. Paramètres macroscopiques.....	48
3.2. Paramètres microscopiques.....	51
Conclusion.....	52



Introduction

Le lapin est une espèce considérée à la fois comme animal domestique, animal de compagnie et animal modèle de recherche, présentant plusieurs caractéristiques biologiques intéressantes concernant sa productivité et reproductivité. En effet il est caractérisé par un court intervalle entre les générations et par une prolificité importante, raison pour laquelle il est fortement apprécié par les chercheurs.

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

Le testicule est une glande amphicrine assure deux fonctions : la spermatogenèse et la stéroïdogénèse qui est la synthèse des androgènes, principalement la testostérone qui joue un rôle dans le maintien de la spermatogenèse (Curtis et Amann, 1981 ; Eurell et Frappier, 2006).

Les événements de maturation post-testiculaire sont le résultat d'une constante interaction entre les gamètes mâles et l'environnement spécifique du fluide épидидymaire, composé principalement de protéines synthétisées et sécrétées de manière hautement régionalisée par l'épithélium épидидymaire.

Les performances de reproduction du lapin peuvent varier sous l'effet des facteurs génétiques et environnementaux mais aussi de l'état physiologique de l'animal. La maîtrise de tous ces facteurs caractérisant l'espèce et permettra de mieux rentabiliser un élevage, c'est pour cette raison, les huiles essentielles qui sont des produits aromatiques riches en phyto-œstrogène ont été utilisées. Ces composés sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou la perturbant.

De ce fait le but de notre travail est de comparer et de mettre en évidence l'influence de l'huile essentielle : le Romarin à verbénone à différentes doses sur la structure gonadique (testicule) des lapins infantiles.

Notre travail se présente sous forme de quatre chapitres qui traiteront dans le premier chapitre l'anatomo-histologie de l'appareil reproducteur mâle du lapin et dans le deuxième chapitre nous présentant la physiologie de la reproduction et dans le troisième chapitre nous aborderons le matériel et méthodes et le quatrième chapitre présentera les résultats obtenus à partir de notre étude comparative ainsi que leurs discussions. Ce document sera clos par une conclusion ainsi qu'un ensemble de perspectives.

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

La reproduction joue un rôle important, elle rassemble un grand nombre de caractères qui se combinent de manière spécifique pour former la carrière reproductive (Bolet et Bodin, 1992).

1. Anatomie de l'appareil génital mâle du lapin

Le terme « appareil génital mâle » désigne tous les organes et structures qui participent à la formation, la maturation, l'émission sous pression des différents constituants du sperme (Jardin et De Fourmestaux, 1984).

Il comporte 3 grandes portions : 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 (Fig 01) (Barone, 1976).

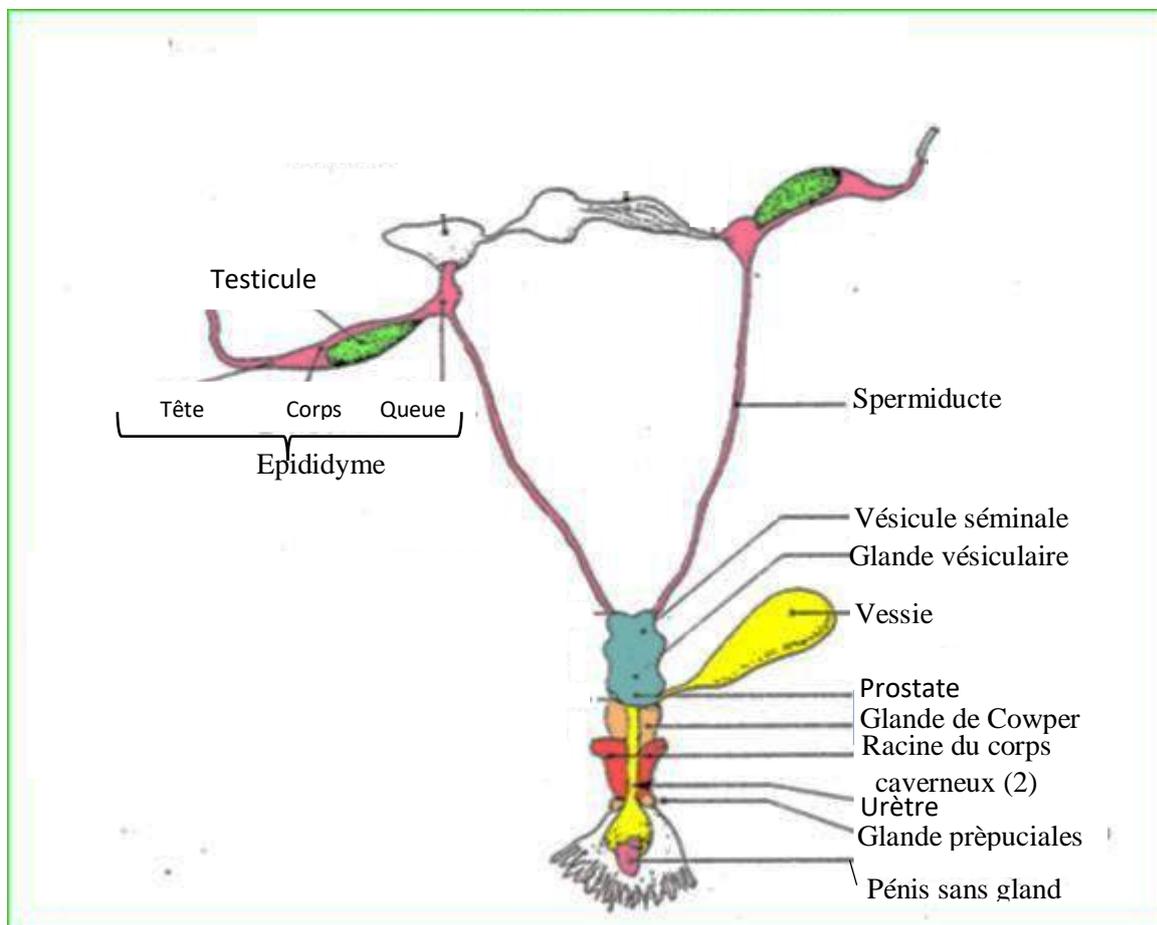


Figure 01 : Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas *et al.*, 1996)

1.1. Testicules

Ce sont des organes pairs, de forme ovale et allongé, amincis aux extrémités et sont légèrement comprimés. Le testicule mesure 3 à 3,5 cm de longueur sur 1,5 cm de largeur et

pèse 1,5 à 2 g pour un lapin de 4,5 kg. Ils sont de couleur rosée et de consistance ferme et élastique et sont logés dans les enveloppes testiculaires (Fig 02) (Barone, 1984).

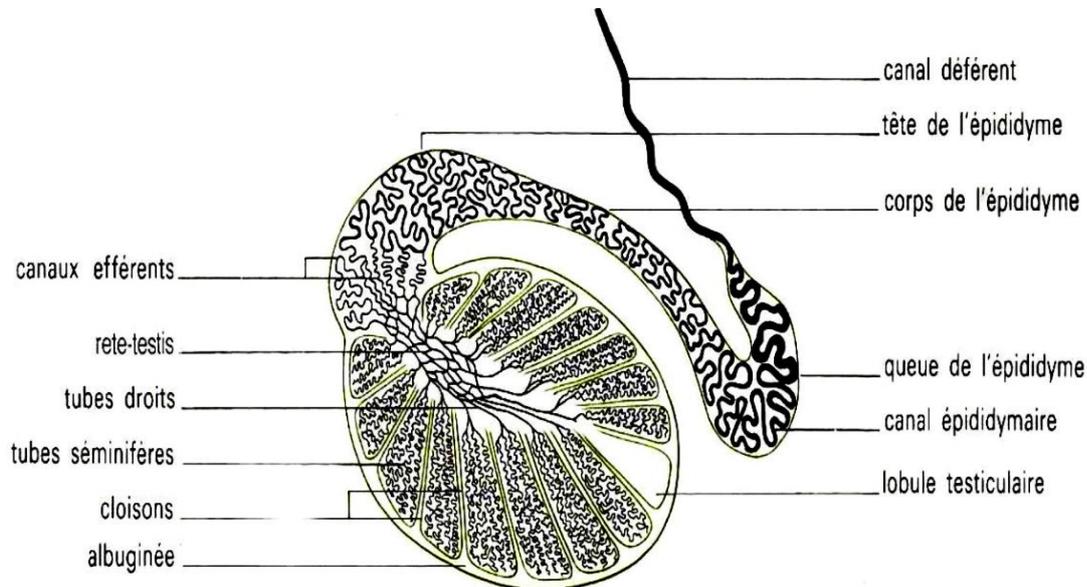


Figure 02 : Structure interne du testicule et de l'épididyme des lapins

(Bonnes *et al.*, 1988)

Ces enveloppes protègent et soutiennent la glande testiculaire ainsi que ses premières voies d'excrétion (épididyme et début du conduit déférent) et ses vaisseaux. On peut distinguer 6 plans membraneux, dont 2 plans superficiels, le scrotum et le dartos, un plan intermédiaire représenté par la tunique celluleuse ou *fascia spermaticque externe* et 3 plans profonds à savoir le crémaster, la tunique fibreuse ou *fascia spermaticque interne* et la tunique séreuse vaginale (Fig 03).

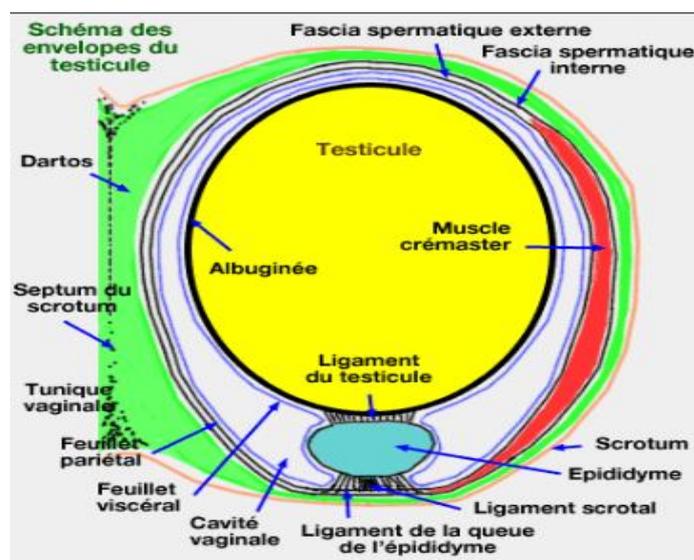


Figure 03 : Schéma des enveloppes testiculaires (Barone, 2001)

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).

1.1.1. Vascularisation et innervation des testicules

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 2 plexus nerveux ; le plexus spermatique qui est parasympathique et le plexus déférentiel qui est sympathique (Fig 04) (Jardin et De Fourmestreaux, 1984).

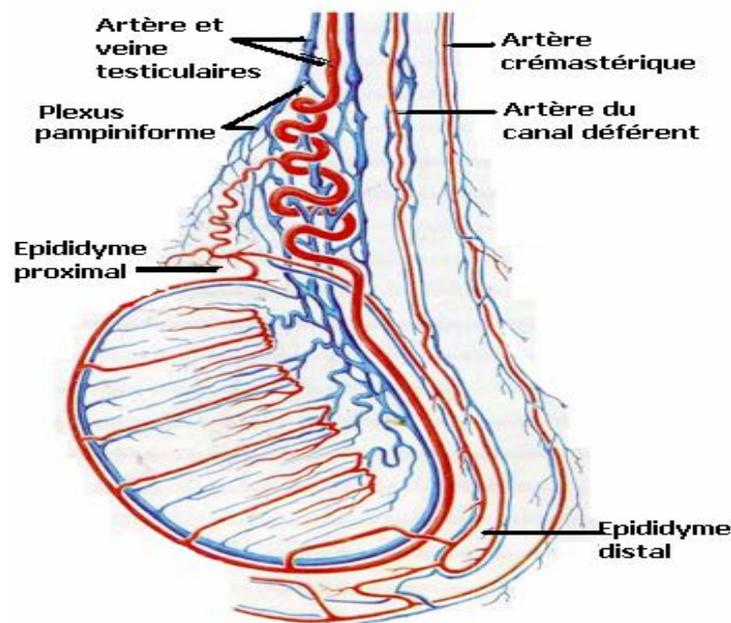


Figure 04 : Vascularisation du testicule (Bailleul et Mauroy, 1991)

1.2. Epididyme

C'est un canal extrêmement replié sur lui-même à l'intérieur d'une tunique conjonctive qui lui confère une forme globale allongée en croissant d'un pôle à l'autre du côté dorsal du testicule avec une longueur allant de 1,5 à 3 cm, il comporte 3 parties : une tête volumineuse qui coiffe largement l'extrémité capitée du testicule, un corps épais représentant la portion moyenne et une queue qui forme un appendice globuleux et mobile (Fig 05) (Grasse, 1971 ; Barone, 1978).

Ces régions sont également subdivisées en plusieurs segments (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 (Fig 05).

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

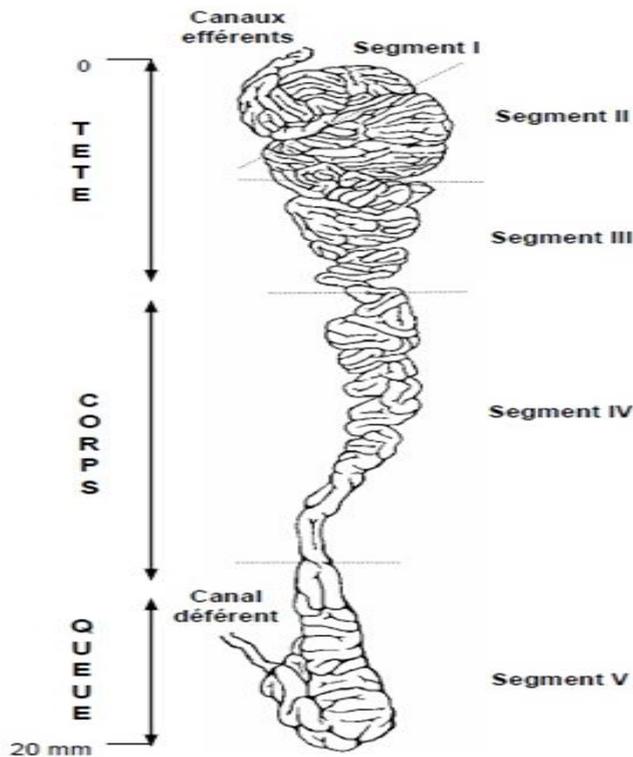


Figure 05 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme

(Hermo et Robaire, 2002)

1.3. Conduit déférent

Le conduit déférent présente une ampoule assez nette de 2cm environ qui s'ouvre dans la partie caudale de la vésicule séminale par un orifice assez large et impair porté par le *colliculus seminalis*. Sa longueur est de 12 à 15 cm et s'étend de la queue de l'épididyme jusqu'à l'urètre

C'est par l'intermédiaire de ce bref conduit que se fait la communication avec l'urètre (Barone, 1978).

1.4. Urètre

D'après (Marieb, 1999) l'urètre est un conduit long de 12 à 13 cm, dont 8 à 9 cm seulement pour la partie pénienne, servant à la fois à l'excrétion de l'urine et du sperme, il part de la vessie et tapisse l'intérieur du pénis jusqu'à son extrémité (Barone, 2001).

1.5. Pénis

Le lapin possède un pénis qui ne sort que lors des accouplements et reste logé dans le prépuce qui s'ouvre juste ventralement à l'anus et il ne s'exteriorise de l'organisme qu'en cas d'érection (Sabbagh, 1983).

Le pénis est un organe court, en forme de tube légèrement en pointe qui mesure environ 8 cm de long (Roger, 2002), ce dernier est suspendu par un ligament suspenseur constitué par une paire de muscles subischio-caverneux qui n'existent chez aucune autre espèce domestique (Fig 06) (Barone, 1978).



Figure 06 : Portion libre de l'urètre : pénis du lapin (Shinkichi et Akira, 2004)

En plus des portions citées ci-dessus, l'appareil génital mâle est également formé de glandes annexes : vésicule séminale, prostate, glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cowper et glandes inguinales.

L'ensemble de leurs sécrétions constitue le liquide spermatique lequel mélangé aux spermatozoides, constitue le sperme.

1.6. Vésicule séminale

Chez le lapin la vésicule séminale est impaire mais bilobée à son extrémité, avec une

longueur est d'environ 2,5 cm et un aspect ajouré (Abraham et Kierszenbaum, 2002 ; Welsch, 2002).

La partie caudale fusionne avec les canaux déférents pour former un canal éjaculateur impair qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre au niveau du *colliculus seminalis* (Barone, 1984).

1.7. Prostate

Chez le lapin, elle est remplacée par un complexe de plusieurs glandes (Lebas, 1996), toutes développées à partir du diverticule de la paroi urétrale au voisinage du colliculus séminal. Elle présente une partie diffuse disséminée dans la paroi de l'urètre et une partie conglomérée (Roger, 2002).

1.8. Glandes bulbo-urétrales ou glandes de Cowper

Ce sont des formations sphériques paires, bilobées, entourée chacune par un corpuscule conjonctif (Roger, 2002) et placée postérieurement à la prostate et dorsalement à l'urètre dans lequel elle s'ouvre par au moins 4 canaux (Sabbagh, 1983).

1.9. Glandes inguinales

Ces glandes retrouvées uniquement chez le lapin, forment un groupe très important de glandes qui s'étalent sous la peau dans la région inguinale et sont bien développées (Roger, 2002).

2. Histologie du testicule et d'épididyme

2.1. Histologie des testicules

Les testicules sont partiellement recouverts d'une membrane séreuse, appelée tunique vaginale. Sous laquelle se retrouve la capsule fibreuse du testicule, l'albuginée, qui s'étend vers l'intérieur et forme des cloisons qui divisent chaque testicule en une série de compartiments internes, les lobules. Chaque lobule contient de 1 à 3 tubes étroitement enroulés produisant les spermatozoïdes, les tubes séminifères (Fig 07) (Tortora et Grabowski, 1995).

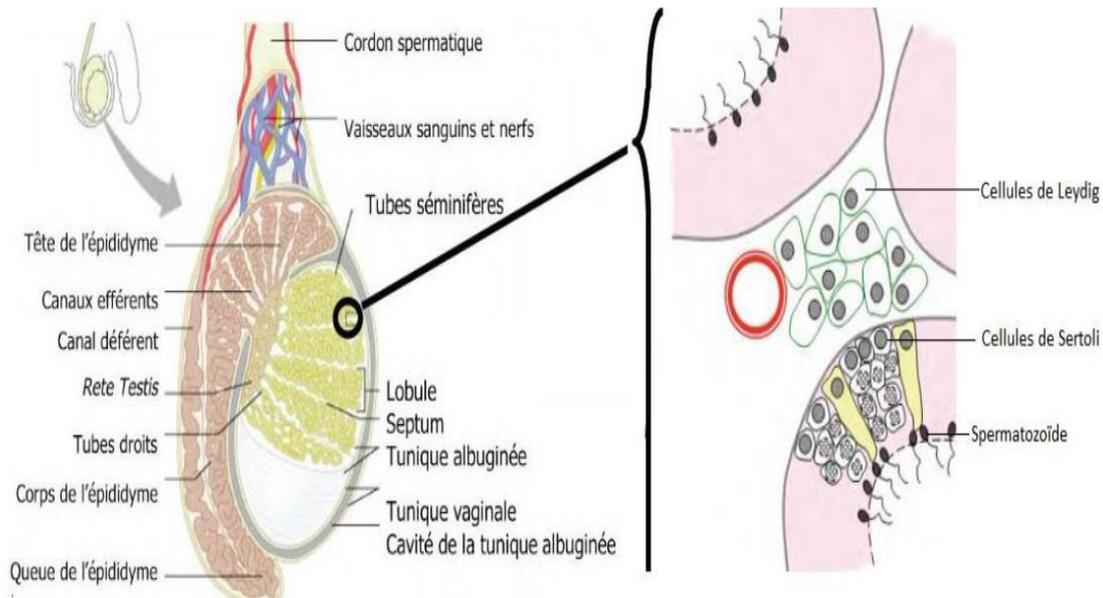


Figure 07 : Organisation interne du testicule d'après (Senger, 2012)

2.1.1. Tubes séminifères

Le tube séminifère est l'unité fonctionnelle du testicule, il est très long et flexueux, il est constitué de cellules germinales à des stades de développement variés (spermatogonies, spermatocytes, spermatides) et de cellules de Sertoli formant l'épithélium séminifère qui se repose sur une lame basale et d'une lumière bordée par cet épithélium (Fig 07) (Frend *et al.*, 1973 ; Wrobei, 1990).

La membrane basale est revêtue de plusieurs assises myoïdes surmontées d'une couche de fibre de collagène (Hochereau de Reviers et Royere, 1996).

2.1.1.1. Cellules de Sertoli

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale caractérisée avec un noyau de forme irrégulière situé près de la lame basale (caractérisé par 1 ou 2 nucléoles fortement colorés), un réticulum endoplasmique granuleux (REG) et un réticulum endoplasmique lisse (REL) développés, un cytosquelette formé de microtubules et un réseau dense de microfilaments d'actine et de filaments intermédiaires (Fig 08) (Ozil *et al.*, 1988).

En plus de leur rôle de soutien, les cellules de Sertoli ont une activité métabolique importante : nutrition des cellules germinales et fonction endocrine (Ozil *et al.*, 1988).

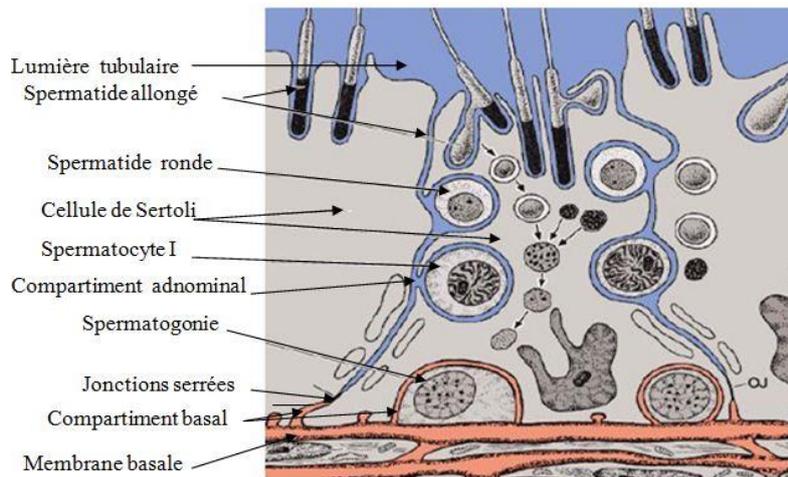


Figure 08 : Cellule de Sertoli (Siffroi, 2003).

2.1.1.2. Cellules germinales

Tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère, à savoir ; les spermatogonies (Sp), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (Sp I), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (Sp II), les spermatoïdes et les spermatozoïdes (Fig 09) (Vacheret ,1999 ; Siffroi, 2001).

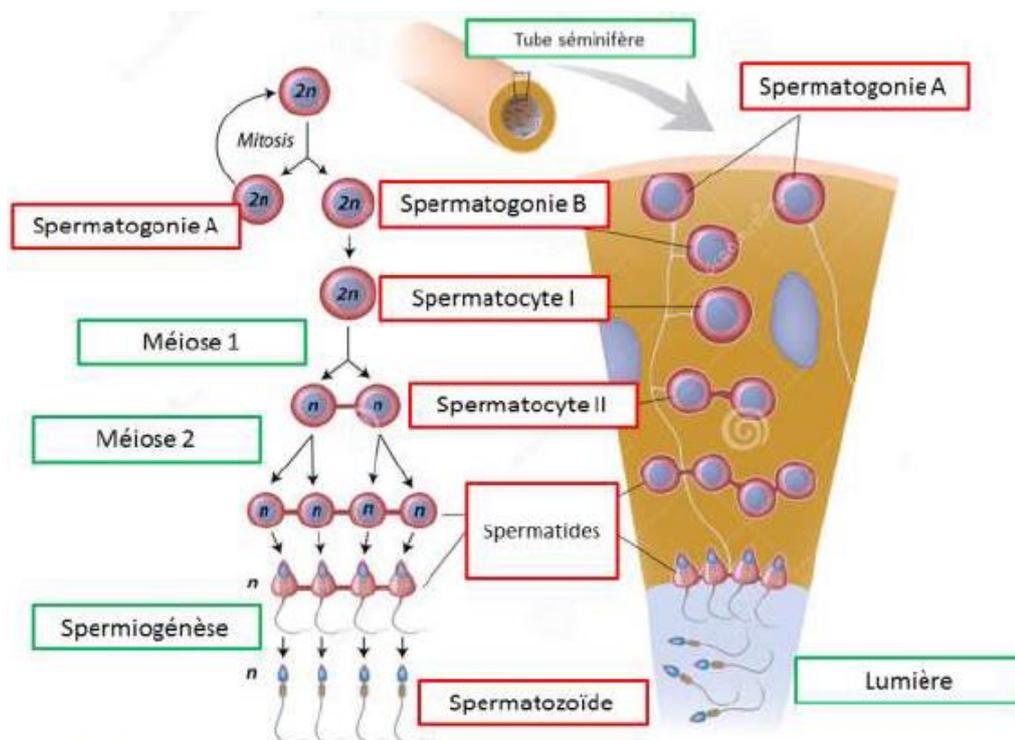


Figure 09 : Cycle spermato-génétique chez le lapin (Charles PAX, 2017).

2.1.1.2.1. Spermatogonies et spermatoocytes

Les spermatogonies sont des petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 μm de

diamètre, adhérees à une membrane basale. On distingue 3 sortes de spermatogonies selon l'aspect de leurs noyaux Ad, Ap, et B (Fig 09) :

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

Les spermatocytes I sont des cellules arrondies volumineuse issues de la division mitotique des spermatogonies B qui se transforment en spermatocytes II, qui sont aussi des cellules rondes, plus petites et moins nombreuses sur les coupes car elles sont d'existence fugace (Fig 09) (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

2.1.1.2.2. Spermatides et spermatozoides

Les spermatides sont des petites cellules ovoïdes, de 6 à 7 μm de diamètre, très nombreux et situés en position interne, avec un noyau rond et clair, et un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde, ce processus est appelé la spermiogénèse (Fig 09) (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

Les spermatozoides sont des cellules allongés, de 55 à 57 μm de diamètre chez le lapin, il comporte une tête et une queue unies par un col très bref (Fig 10).

La tête est ovoïde, piriforme et rétrécie caudalement (7 x 4 x 0,5 μm), dont il abrite une chromatine nucléaire très dense, entourée par l'acrosome sur le trois quart de sa surface. En arrière, on observe une région post-acrosomiale, délimitée par un segment équatorial.

Le corps est une pièce d'union entre la tête et la queue qui s'attache à l'extrémité postérieure du noyau par une pièce basale, d'où naissent le centriole proximal.

La queue du spermatozoïde du lapin mesure 45 μm , composée d'un complexe axonème typiquement mammalien, deux microtubules centraux et neuf diplo-microtubules périphériques (Fig 10) (Barone, 2001 ; Boitiet *et al.*, 2005)

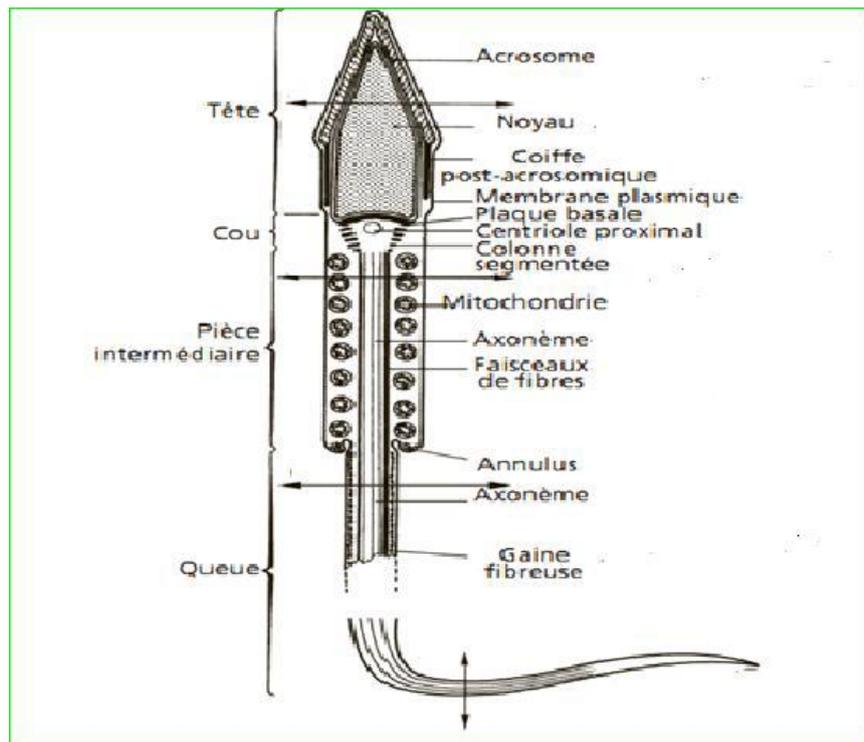


Figure 10 : Spermatozoïde des mammifères (Le Moigne et Foucier, 2009)

2.1.2. Tissu interstitiel

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

2.1.2.1. Cellules de Leydig

Les cellules de Leydig sont des cellules polygonales (10 μm chez l'homme), qui sont soit isolées, soit groupées en amas autour des capillaires sanguins et entourées par une lame basale discontinue.

Ces cellules présentent un noyau rond qui contient de volumineux nucléoles. Leur cytoplasme riche en citernes de réticulum endoplasmique lisse ; des mitochondries sont peu nombreuses, de taille variable et présentant des crêtes tubulaires et des enclaves lipidiques abondantes dans le cytoplasme des cellules matures.

Différents types de jonctions ont été mis en évidence sur la membrane plasmique : de type Gap, desmosome et plus rarement des jonctions septées (Dadoune et Demoulin, 2001).

La testostérone, la dihydrotestostérone et le 17- β -œstradiol sont les 3 principaux stéroïdes testiculaires synthétisés par la cellule de Leydig issues d'un précurseur commun qui est le cholestérol. La testostérone constitue l'hormone principale dans la régulation de la fonction de reproduction (Amman, 2011).

2.2. Histologie de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend 2 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.

Sept types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épидидymaire et présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tube qui sont : cellules principales, basales, en halo, claires, apicales, étroites et dendritiques (Robaire et Hermo, 1988 ; Daselva, 2011).

2.2.1. Cellules principales

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

Elles possèdent plusieurs rôles à différents niveaux, transport et sécrétion de petites molécules organiques, synthèse et sécrétion des protéines et enfin réabsorption de fluide épидидymaire (Fig 11) (Ramos et Dym, 1978).

2.2.2. Cellules basales

Les cellules basales représentent 10 à 20% de la population cellulaire épидидymaire totale. Sont de petites cellules allongées, avec un noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites, localisées tous le long du canal épидидymaire et reposent sur la membrane basale formant ainsi un réseau en dessous des cellules principales (Fig 11) (Soranzo *et al.*, 1982).

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

2.2.3. Cellules en halo

Identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes qui migrent dans

l'épithélium durant le développement post-natal, ces cellules sont disséminées tout le long du canal épидидymaire. Les cellules en halo contribuent à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Fig 11) (Hoffer *et al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

2.2.4. Cellules claires

Ces grandes cellules prismatiques sont présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Soranzo *et al.*, 1982) et se caractérisent par la présence de nombreuses vésicules claires en région apicale, de lysosomes en région médiane et de nombreuses inclusions lipidiques dans leur région basale (Fig 11) (Robaire et Hermo, 1988).

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

2.2.5. Cellules apicales

Sont retrouvées principalement dans la tête épидидymaire, ont un noyau sphérique en position apicale et un cytoplasme dense très riche en mitochondries, contenant des lysosomes et de l'anhydrase carbonates (HCO_3^-) (Fig 11). Elles seraient ainsi responsables de l'acidification du fluide épидидymaire (Martinez-Garcia *et al.*, 1995).

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

2.2.6. Cellules étroites

Les cellules étroites n'ont été retrouvées que dans les segments initial et intermédiaire du tube épидидymaire, elles se caractérisent par un renflement cytoplasmique, un noyau allongé situé dans la portion supérieure, un grand nombre de petites vésicules dispersées dans la région apicale de la cellule et par une base très étroite les reliant à la membrane basale. Ces cellules seraient impliquées dans l'acidification de la lumière de l'épididyme (Fig 11) (Herme *et al.*, 2000).

2.2.7. Cellules dendritiques

Selon Da Selva (2011), des cellules dendritiques ont été découvertes en 2011 au sein de l'épididyme murin, elles forment un réseau dense situé à la base de l'épithélium avec des projections dendritiques qui passent entre les cellules épithéliales et sont orientées en direction de la lumière du tube (Fig 11). Ces cellules possèdent des marqueurs de cellules immunitaires, dont le rôle serait de maintenir l'homéostasie immunitaire afin de protéger les spermatozoïdes (Wang *et al.*, 2016).

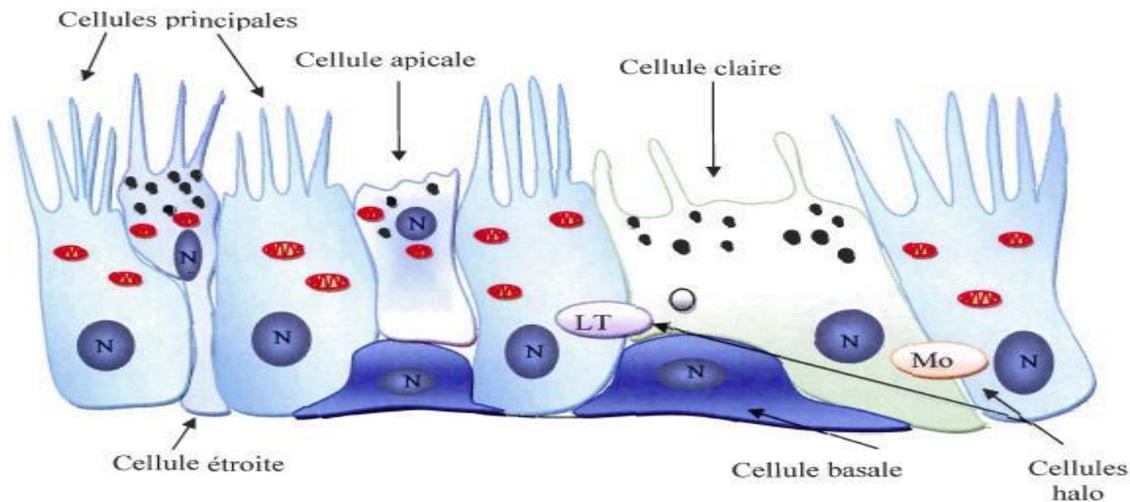


Figure 11 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009)

N : noyau ; LT : lymphocyte ; Mo : monocyte

2.2.8. Lumière du canal épидидymaire

Pour rejoindre le système éjaculateur depuis les gonades mâles, les spermatozoïdes transitent à travers l'épидидyme au niveau de sa lumière, où ils baignent dans un milieu de nature très complexe : le fluide épидидymaire. Ce dernier est composé principalement d'ions, de petites molécules organiques, de protéines et de macromolécules.

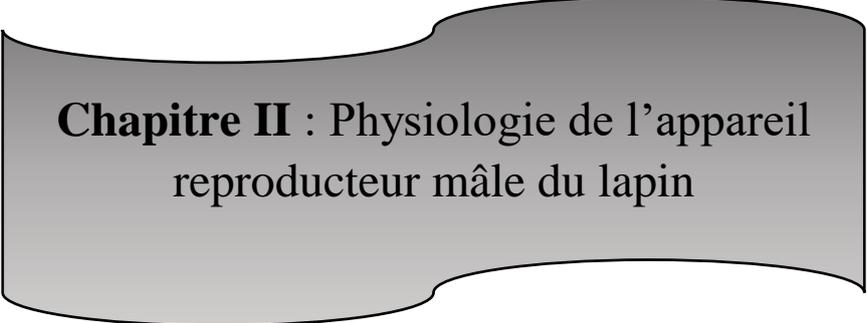
Cependant, en raison d'une forte régionalisation tissulaire et cellulaire des activités de synthèse, de sécrétion et réabsorption des cellules épithéliales, la composition de ce fluide épидидymaire varie tout le long du canal (Adamali *et al.*, 1999 ; Hermo et Robaire, 2002).

3. Composition du sperme du lapin

Le sperme du lapin se compose de 2 parties principales, une partie gélatineuse qui empêche la semence de s'écouler hors du vagin après éjaculation (Mukherjee *et al.*, 1951), et une partie liquide composée d'un plasma séminal accompagné de spermatozoïdes.

Le plasma séminal joue un rôle dans le transport des gamètes lors de l'éjaculation, il est composé de glycoprotéines, fructose, sorbitol, acide citrique, acide gras, des ions (Na⁺, K⁺, Ca⁺, Mg⁺) et de l'inositol, mais il est très pauvre en glucose (Boussit, 1989).

Le sperme du lapin contient aussi des petites granules séminales de 0,5 à 6 µm de diamètre produit par la prostate, qui sont impliquées dans le processus de capacitation et la réaction acrosomique des spermatozoïdes par la libération du cholestérol (Castellini, 2008 et Davis, 1974).



**Chapitre II : Physiologie de l'appareil
reproducteur mâle du lapin**

Les mécanismes régulant la fonction de la reproduction chez les lapins sont complexes et reposent sur une inter-coordination cellulaire, hormonale et chimique des différentes composantes anatomiques, non seulement de l'appareil génital, mais aussi de celui du système neuroendocrinien qui comprend l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Joly et Theau-Clément, 2000).

1. Développement des gonades et puberté

1.1. Différenciation et développement des gonades

La différenciation sexuelle dépend de l'activité endocrinienne du testicule fœtale qui secrètent activement deux hormones essentielles ; les androgènes et l'hormone antimüllérienne (HAM ou MIS : Müllerian inhibitory substance) dont l'absence induit une différenciation sexuelle féminine (Mitchell et Sharma, 2005).

D'après Alvarino (2000), la différenciation des organes reproducteurs mâles du lapin a lieu pendant la vie fœtale (Fig 12). En effet, la formation de l'albuginée se produit entre le 14^{ème} et le 15^{ème} jour de gestation, suivi quelques jours plus tard par l'apparition des tubes séminifères entourés de cellules germinales et la production des androgènes (19^{ème} jour de gestation).

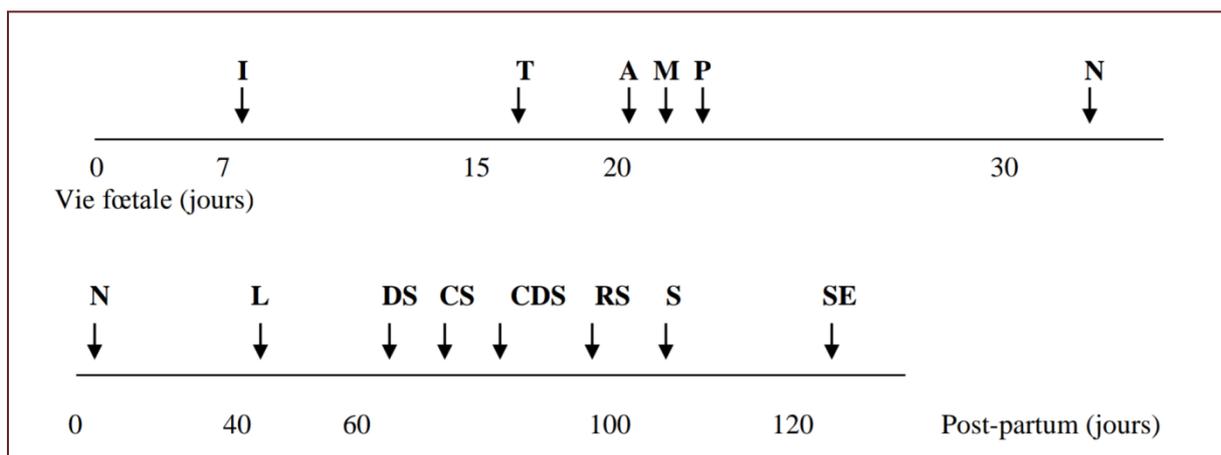


Figure 12 : Développement chronologique de la différenciation de l'appareil reproducteur du lapin mâle (Alvarino, 2000).

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.

Les canaux de Müller régressent à partir de 20^{ème} jour, et la formation de la prostate commence le 21^{ème} jour. Le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis au 24^{ème} (Skinner, 1967).

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

1.2. Développement pondéral

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

Chez le lapin comme la plupart des mammifères, les testicules, 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 appelée 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).

Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de 5 semaines. Pour la race «Néozélandaise», le gain du poids quotidien est de 2,4 mg/jour chez les lapins âgés entre 0 et 40 jours, et de 3,7 mg /jour chez les lapins âgés de 40 à 210 jours, (Berger *et al.*, 1982).

Le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5^{ème} semaine d'âge. L'évolution du poids des testicules en fonction de l'âge montre une accélération de la croissance testiculaire, entre 70 et 110 jours environ (Alvarino, 2000 ; Lebas, 2009).

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

1.3. Maturation sexuelle

Chez le lapin, la maturation sexuelle se déroule en 4 phases : phase infantile, phase pré-pubère, phase puberté et maturité sexuelle.

1.3.1. Phase infantile

Cette phase s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours, elle est caractérisée par une croissance lente des testicules et de la vésicule séminale, ainsi que de faibles concentrations

plasmatiques en FSH et testostérone (Boussit *et al.*, 1989).

1.3.2. Phase pré-pubère

La phase pré-pubère commence vers l'âge de 40 jours, elle se caractérise par une accélération de la croissance testiculaire et une augmentation importante des androgènes et des gonadostimulines dans le plasma, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge.

La croissance des testicules s'accélère, et les cellules de Leydig responsables de la spermatogenèse commencent à fonctionner (Berger *et al.*, 1989), entraînant les premières divisions goniales vers 45 jours. La croissance des vésicules séminales et les premières différenciations des spermatogonies s'accélèrent vers 70 jours, quand les niveaux d'androgènes circulants sont les plus élevés, et les premiers spermatozoïdes apparaissent vers l'âge de 110 jours (Skinner, 1967).

1.3.3. Phase pubère

La puberté se définit comme le stade à partir duquel la fonction endocrine devient évidente et les glandes annexes commencent la sécrétion du fructose et d'acide citrique (Mann et Parsons, 1950) et serait alors atteinte dès l'âge de 42 jours, bien avant l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat du mâle (Skinner, 1967).

Selon Boussit (1989), la puberté serait définie, par le moment où les organes reproducteurs mâles 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.

1.3.4. Maturité sexuelle

La maturité sexuelle, définie comme le moment où la production quotidienne des spermatozoïdes n'augmente plus, elle est atteinte vers 30 à 32 semaines. En effet les premières manifestations du comportement sexuel peuvent apparaître vers 60 à 70 jours, le jeune lapin commence alors à faire des tentatives de chevauchement, cependant un jeune mâle peut être utilisé pour la production dès l'âge de 20 semaines. Les premiers coïts peuvent survenir vers 100 jours avec un éjaculat, dont la viabilité des spermatozoïdes est faible à nulle, de ce fait il faut attendre 135 à 140 jours pour les premiers accouplements féconds.

Toutefois, l'âge de puberté varie à cause des différences géniques entre les races, les conditions d'élevage, l'alimentation et le climat (Lebas *et al.*, 1996).

2. Fonction physiologique du testicule

Le testicule assure une double fonction, l'une gamétogène qui se traduit par la production des spermatozoïdes, l'autre endocrine visant à élaborer les diverses hormones testiculaires et en particulier les androgènes. La fonction gamétogène ou spermatogénèse se déroule à l'intérieur des tubes séminifères qui renferment l'épithélium séminifère constitué par les éléments de la lignée germinale et les cellules de Sertoli. Les espaces intertubulaires contiennent les cellules de Leydig qui forment la glande interstitielle, support de l'activité endocrine. Les échanges entre les tubes séminifères (compartiment tubulaire) et les espaces interstitiels (compartiment interstitiel) sont sous le contrôle d'une barrière structurale interposée entre l'épithélium séminal et le sang : la barrière hémato-testiculaire (Dadoune, 2006).

2.1. Fonction endocrine du testicule : stéroïdogénèse

La stéroïdogénèse est un processus relativement conservé chez les vertébrés qui conduit à la biosynthèse des hormones stéroïdiennes à partir d'un précurseur commun, le cholestérol. Les hormones stéroïdiennes jouent un rôle critique dans la régulation de la reproduction (gamétogénèse, caractères sexuels secondaires, comportement....), la croissance et le développement, ainsi que dans le comportement sexuelle, et participent également à l'homéostasie générale de l'organisme (Fig 13) (Damien Baudiffier, 2012).

2.1.1 Stéroïdogénèse testiculaire

Dans les gonades, au niveau des cellules de Leydig, la biosynthèse des hormones sexuelles (androgènes) nécessite l'intervention d'un certain nombre d'enzymes agissant en cascade à partir d'un précurseur commun à tous les stéroïdes, le cholestérol (Saez, 1994).

Les stéroïdes sont synthétisés à partir du cholestérol par une série de réactions enzymatiques, catalysées principalement par plusieurs cytochromes P450 ainsi que par des hydrox stéroïdes déshydrogénases (HSDs) (Damien Baudiffier, 2012). L'androgène testiculaire principal est la testostérone qui est synthétisée à partir de l'acétate et du cholestérol par les cellules de Leydig du tissu interstitiel.

La stéroïdogénèse est commandée par la LH qui se fixe sur des récepteurs membranaires des cellules de Leydig ; ces dernières sécrètent alors des androgènes, essentiellement de la testostérone (T) qui pénètre dans le compartiment tubulaire où elle se lie à une glycoprotéine de liaison ; l'ABP (Androgen Binding Protein) pour conditionner le développement de l'épithélium séminal et le bon fonctionnement des voies génitales.

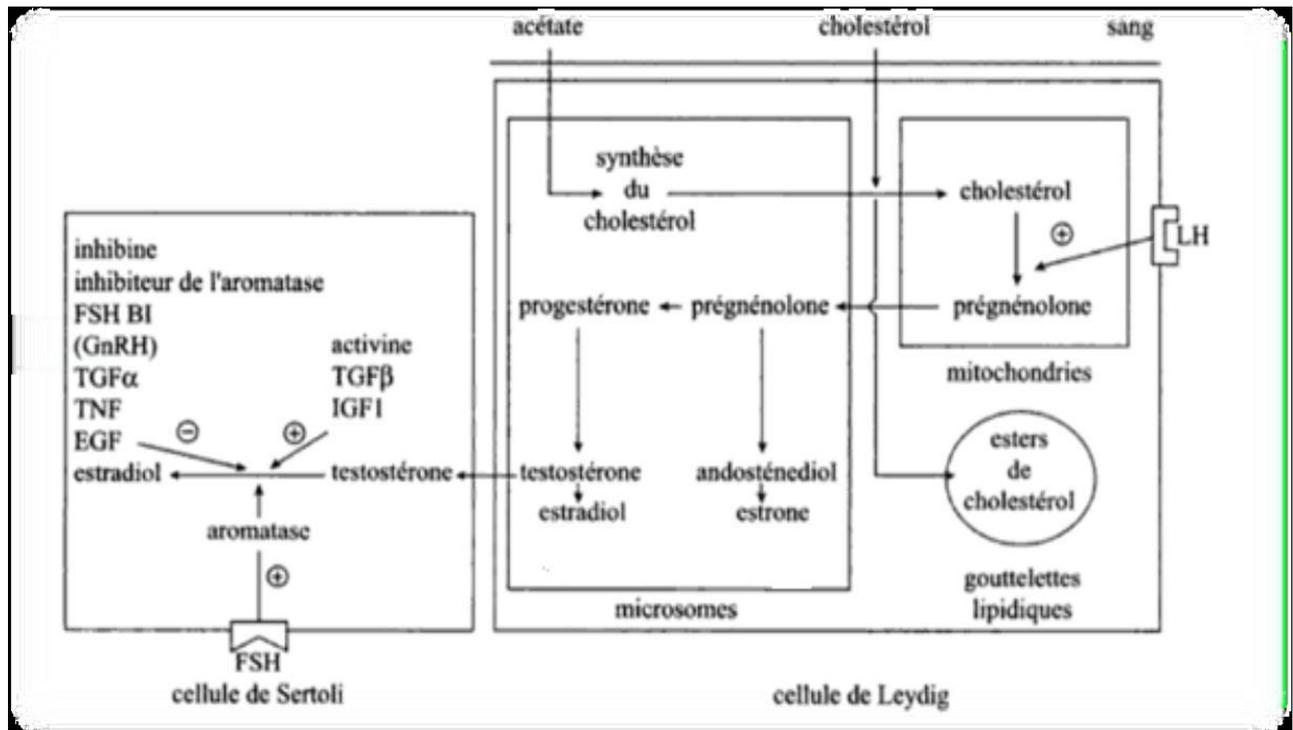


Figure 13 : Stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001)

2.1.2 Stéroïdogénèse extra-glandulaire

La production extra-gonadique d'hormones stéroïdes sexuelles à partir de précurseurs stéroïdes est un fait bien établi.

La DHEA et l'androsténone peuvent être converties en testostérone par divers organes dont le foie mais aussi des organes cibles des androgènes comme la peau et la prostate, ensuite l'aromatase des androgènes en estrogènes se produit dans le tissu adipeux et joue un rôle important dans le système nerveux central. Enfin, la conversion du cholestérol en prégnénolone a pu être démontrée dans des cellules cérébrales, des oligodendrocytes, des astrocytes et des cellules de Schwann et peut même se produire dans certains neurones (Thibault et Levasseur, 2001).

2.2. Fonction exocrine du testicule : Spermatogenèse et spermiogenèse

2.2.1. Spermatogenèse

La spermatogenèse, mise en place à la puberté dans les tubes séminifères, est le processus de différenciation par lequel une cellule hautement spécialisée, le spermatozoïde, est produite à partir d'une spermatogonie souches. Chez le lapin, elle débute entre 40 et 50 jours d'âge, avec apparition des premiers spermatozoïdes peu viables dans l'éjaculat à 110

jours d'âge (Lebas, 2009). La durée de la spermatogenèse ou temps nécessaire pour une spermatogonie d'évoluer vers le stade final des spermatozoïdes est de 38 à 41 jours (Matinet, 1973).

Trois grandes étapes sont nécessaires pour passer d'une spermatogonie à un spermatozoïde : la spermatocytogenèse, la méiose et la spermiogenèse (Amman, 1993).

2.2.1.1. Spermatocytogenèse

La spermatocytogenèse est caractérisée : premièrement par une phase de multiplication cellulaire (par mitose) qui est nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches et qui assure le renouvellement des spermatogonies (Little et Holyoke, 1992 ; Barone, 2001), deuxièmement par une différenciation des spermatogonies, ce qui aboutit à la formation des spermatocytes primaires, possédant encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristiques de l'espèce (lapin : 44 chromosomes) observés vers 60 jours d'âge chez le lapin (Fig 14) (Matinet, 1973).

2.2.1.2. Méiose

La méiose est caractérisée par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires, induisant à la production des spermatocytes secondaires qui subissent deux divisions méiotiques successives pour produire des spermatides haploïdes (Fig 14) (Amman, 1993).

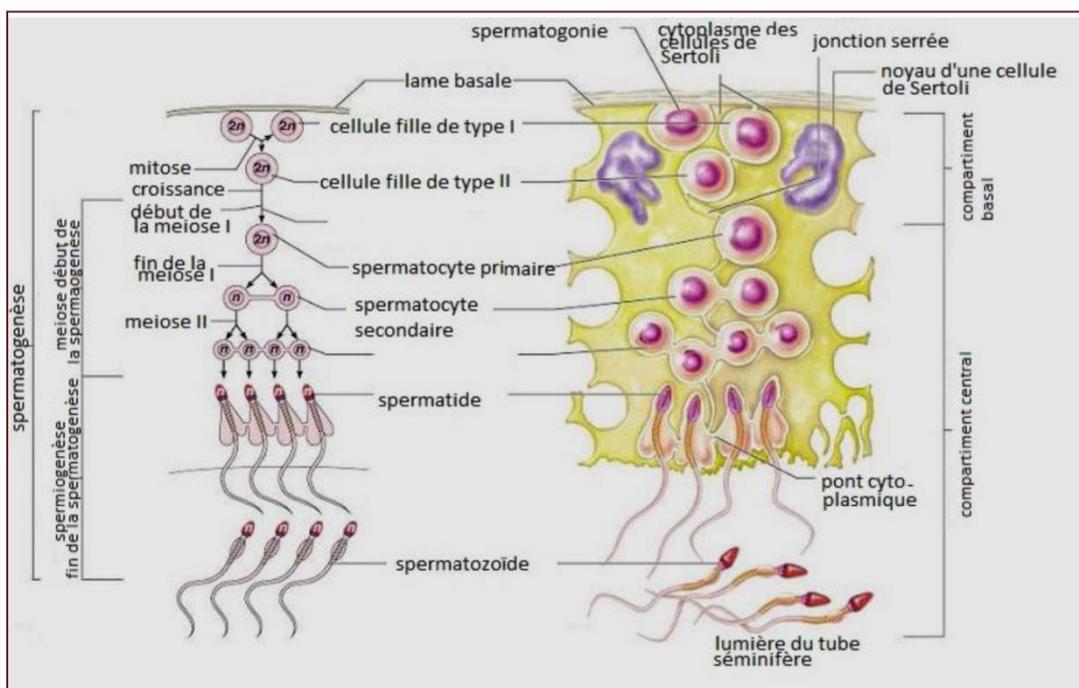


Figure 14 : Différenciation germinale schématisée (Marieb, 2006).

2.2.2. Spermiogenèse

La spermiogenèse est la dernière phase conduisant à la formation des spermatozoïdes qui permet la transformation des spermatides (cellule arrondie ayant une organisation cytoplasmique banale) en spermatozoïdes (petite cellule très effilée, mobile, pauvre en cytoplasme et en réserve). A leur sortie du testicule les spermatozoïdes ne sont pas féconds, ils le deviennent après leur passage dans l'épididyme (Gayrard, 2007).

Selon Gayrard (2007), la spermiogenèse comporte les principales étapes suivantes (Fig 15) :

- La condensation du noyau et la déshydratation de la chromatine.
- La formation de l'acrosome au départ d'une vésicule golgienne.
- Le développement de l'appareil flagellaire à partir du centriole distal.
- Le glissement du cytoplasme le long de l'axe flagellaire et la différenciation de diverses structures fibreuses qui se condensent autour de celui-ci.
- Le repositionnement des mitochondries en une rangée hélicoïdale autour de l'appareil initiale du flagelle.
- L'élimination de la plus grande partie du cytoplasme (corps résiduel).

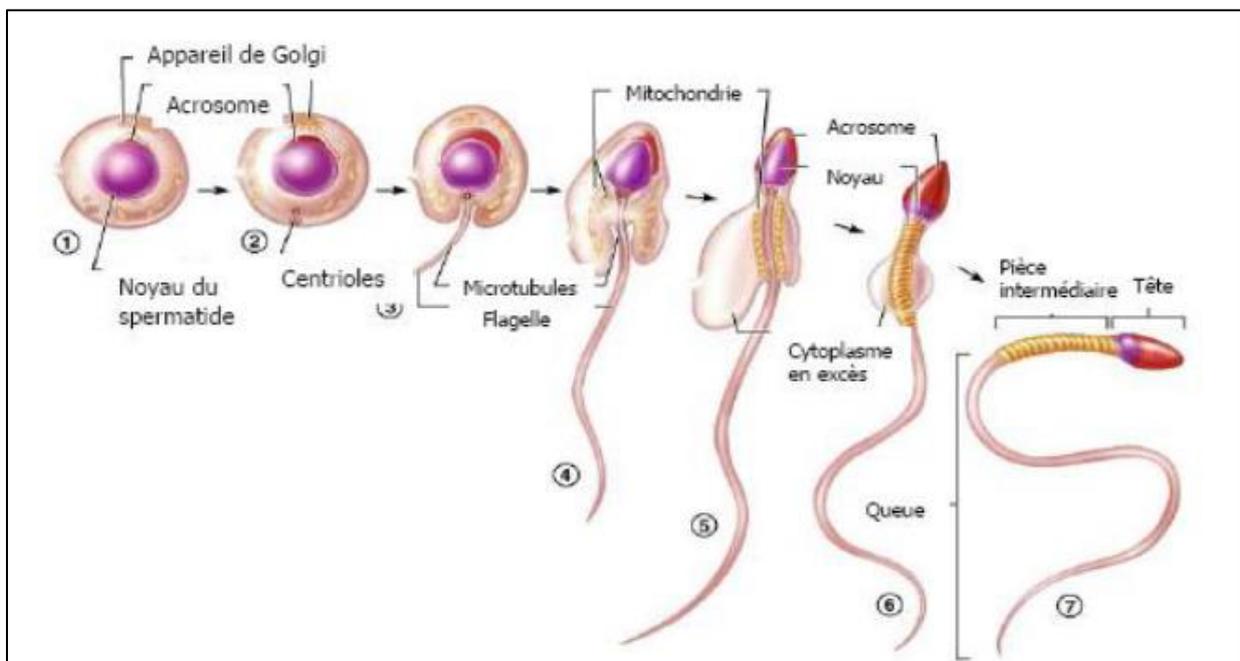


Figure 15 : Les étapes de la spermiogénèse (Gayrard, 2007).

3. Fonction physiologique de l'épididyme

3.1. Mode de sécrétion de l'épididyme

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

3.1.1. Sécrétion mérocrine

La sécrétion mérocrine est le mode de sécrétion protéique classique qui se produit dans la plupart des types cellulaires, y compris les cellules principales de l'épithélium épididymaire.

La séquence primaire en acides aminés des protéines sécrétées de cette façon est caractérisée par la présence d'un peptide signal à l'extrémité N-terminale, ce qui a permis à la protéine de s'associer au réticulum endoplasmique. Ainsi, l'ARNm est traduit en protéine par les ribosomes associés au réticulum endoplasmique rugueux de la cellule.

Les protéines sont ensuite transportées jusqu'à l'appareil de Golgi afin d'y subir différentes modifications post-traductionnelles, telle que la glycosylation ou l'acylation. Puis, elles sont transférées et emmagasinées dans des granules de sécrétion, qui migrent jusqu'à la membrane plasmique de la cellule et libèrent leur contenu à l'extérieur lors de la fusion avec la membrane plasmique. Ces protéines ne présentant pas d'encrage membranaire sont libérées dans la lumière de l'épididyme (Girouard, 2009).

3.1.2. Sécrétion apocrine

La sécrétion apocrine est observée dans les cellules principales de l'épididyme, le canal déférent et les différentes glandes, telle que la glande mammaire, la prostate et les glandes accessoires (Girouard, 2009).

Contrairement au mode mérocrine, la synthèse de même que les modifications post-traductionnelles des protéines sécrétées selon le mode apocrine, s'accomplissent dans le cytoplasme des cellules lieu exclusivement sur des ribosomes libres (Sullivan *et al.*, 2005).

Effectivement, puisque la séquence primaire de ces protéines est dépourvue de peptide signal, les protéines ne peuvent s'associer au réticulum endoplasmique (Fig 16) (Girouard, 2009).

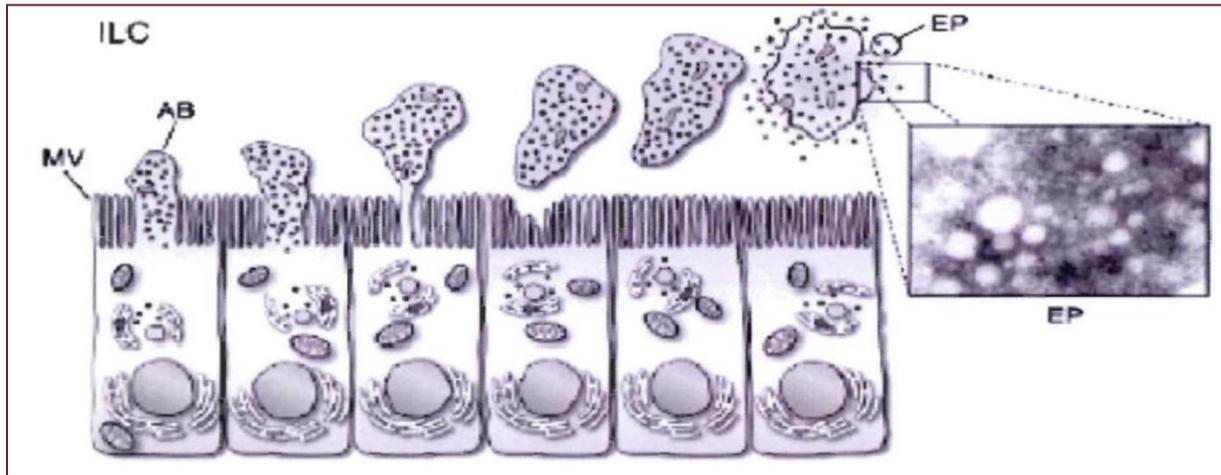


Figure 16 : Représentation schématique de la sécrétion apocrine dans les cellules principales de l'épididyme (Girouad, 2009).

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

3.2. Fonctions de l'épithélium épидидymaire

D'après Badran et Hermo (2002), l'épididyme accomplit plusieurs fonctions aboutissant à la maturation des spermatozoïdes, l'acquisition de la motilité, la modification de la membrane des spermatozoïdes, la protection et le stockage des spermatozoïdes.

3.2.1. Maturation des spermatozoïdes

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

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

3.2.2. Acquisition de la mobilité

Selon Boussit et Hermon (1988), les spermatozoïdes chez la plupart des mammifères, commencent à osciller dans la tête de l'épididyme mais la mobilité progressive n'est

acquise que dans la région caudale, tandis que dans le corps apparaissent des mouvements inefficaces.

3.2.3. Modifications membranaire

Les spermatozoïdes subissent lors de leur transit épидидymaire de nombreuses modifications morphologiques et biochimiques assurant leur maturation par modifications des protéines de surface, avec apparition des protéines de maturation et l'évolution des domaines protéiniques (Thibault et Levasseur, 2001).

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

Parmi les nombreuses enzymes épидидymaires, on trouve des phosphatases (acides et alcalines), des enzymes intervenant dans le métabolisme des protéines (protéases et inhibiteurs de protéases), et des sucres (glucosidases et glycosyltransférases) qui jouent un rôle dans la modification du milieu environnant des spermatozoïdes mais également en modifiant le revêtement membranaire des spermatozoïdes (Thibault et Levasseur, 2001).

3.2.4. Stockage des spermatozoïdes

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

D'après Barone (2001), chez le lapin le taux de fécondation par les spermatozoïdes prélevés dans la tête de l'épидидyme est seulement de 1 à 2%, par contre il est 95 à 98% avec ceux prélevés dans la queue de l'organe.

3.3. Autres fonctions de l'épидидyme

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

4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction

La fonction de reproduction repose sur des interrelations coordonnées entre les

différentes composantes cellulaires, hormonales ou biochimiques du système reproducteur et du système neuroendocrinien.

4.1 Régulation hormonale du testicule

4.1.1. Au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire

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

La GnRH, sécrétée de manière pulsatile par les neurones hypothalamiques, stimule la sécrétion hypophysaire, elle-même pulsatile, de deux autres hormones FSH et LH :

La FSH exerce son action au niveau de l'épithélium séminal et au niveau des cellules de Sertoli qui secrètent l'ABP et l'inhibine, tandis que cette dernière exerce un feed-back négatif sur la sécrétion de FSH, en agissant soit sur les neurones hypothalamiques, soit sur les noyaux hypophysaires.

La LH agit sur les cellules de Leydig et stimule la sécrétion de testostérone qui se lie au niveau du cytoplasme Sertolien à l'ABP, dont le complexe formé stimule le développement de l'épithélium séminal (Vaissaire, 1977).

Selon Nguyen (2005) la testostérone exerce des actions sur la spermatogenèse en agissant localement et directement sur les cellules de Sertoli, et maintenir ainsi la spermatogenèse, sur le développement de l'ensemble des organes génitaux masculins (testicule, épididyme, canal défèrent, vésicule séminale, prostate) et sur les caractères sexuels secondaires.

4.1.2. Au niveau testiculaire

Les gonadotrophines hypophysaires FSH et LH agissent sur des récepteurs membranaires spécifiques, topographiquement séparés.

La LH exerce son action au niveau des cellules de Leydig en se fixant sur des récepteurs couplés à une adénylcyclase, pour stimuler la biosynthèse de la testostérone, essentiellement en favorisant le transport du cholestérol vers la membrane interne de la mitochondrie (Thibault et Levasseur, 2001).

La FSH présente une action proliférative sur les cellules de Sertoli et stimule les fonctions de synthèse et de sécrétion d'un grand nombre de protéines essentielles à la spermatogénèse et au maintien d'une production normale de spermatozoïdes (Fig 17) (Britain 2006).

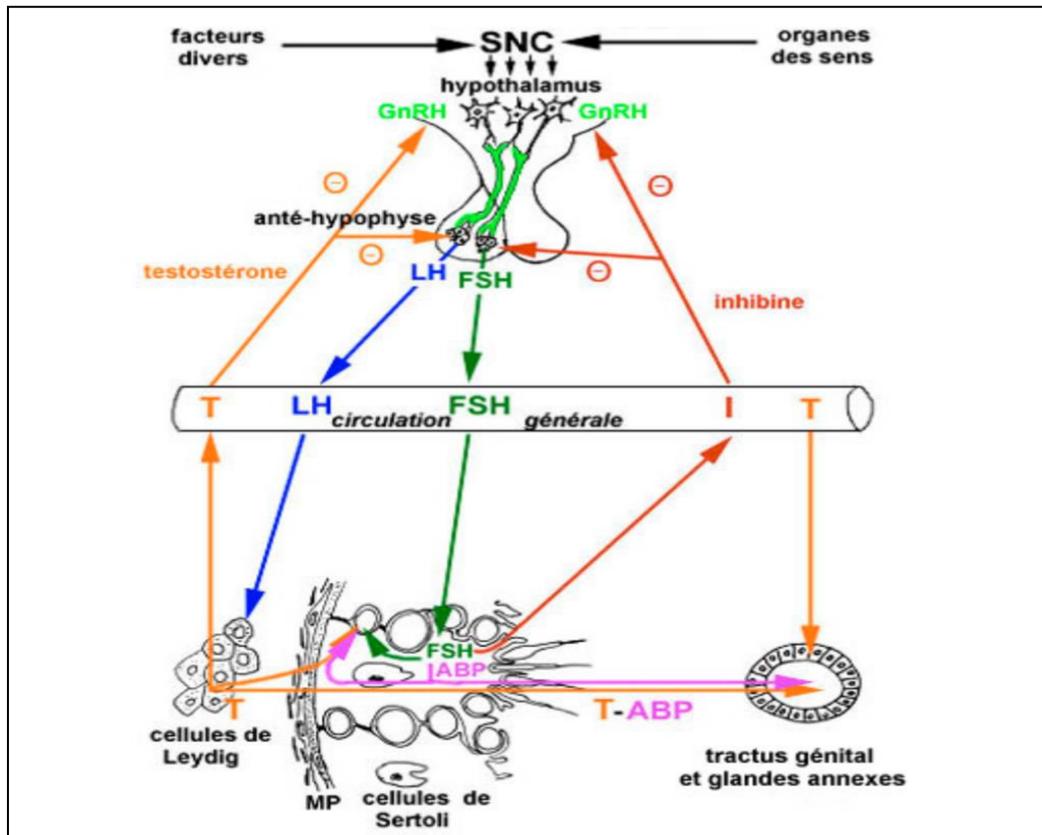


Figure 17 : Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires (Leveque, 2003).

5. Facteurs de l'environnement influencent sur la reproduction

Chez les mammifères supérieurs dont l'homme, l'environnement n'a quasi pas d'effet sur la reproduction contrairement aux autres mammifères où la reproduction est très influencée par les paramètres de l'environnement, tels que la saison, la lumière (intensité et photopériode), la température et l'hygrométrie.

5.1. Effet de la saison

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

En effet le volume des éjaculats et leur concentration en spermatozoïdes atteignent leur maximum en mois de mars (Frolich, 1948), et se réduisent en minimum à partir du mois de

juillet (Brambell, 1944). Ces variations s'accompagnent à la réduction de la taille des testicules de mars à juillet, de l'ordre de 60% du poids maximum et d'un accroissement testiculaire dès août. Il s'en suit une «stérilité estivale» associée à une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux et une baisse de la *libido* (Hiro et Tomizuka, 1965).

5.2. Effet d'éclairement et photopériode

Selon Lebas *et al.* (1990), des mâles exposés à un éclairage artificiel pendant 16 heures sur 24, ont significativement plus de spermatozoïdes dans les gonades que chez ceux exposés à la lumière pendant 8 heures. Pour Walter *et al.* (1968), il est possible de provoquer une diminution de la concentration en spermatozoïdes du sperme et une baisse du poids des testicules grâce à une photopériode de 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité.

5.3. Effet de la température

La spermatogenèse du lapin montre une variation saisonnière liée à la photopériode et à la température externe, l'activité étant maximale au printemps et minimale à l'automne.

Pour des températures comprises entre 13°C et 26°C, peu de variations sont observées sur les caractéristiques de la semence.

L'exposition des mâles à des températures élevées (34 C° pendant 8 heures) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogenèse, en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa et Thwaites, 1992).

Selon Finzi *et al.* (2000), l'effet de l'hyperthermie est plus rapide sur l'apparition des anomalies que sur la chute de la concentration spermatique.

5.4. Effet de l'alimentation

En ce qui concerne la quantité d'aliments qui doit être administrée aux lapins mâles, Luzzi *et al.* (1996) ont montré qu'un protocole alimentaire restreint réduit la *libido* et quelques caractères séminaux. Des niveaux élevés de cholestérol dans le régime alimentaire agissent négativement sur le métabolisme des cellules de Sertoli et le processus normal de la spermatogenèse (Yamamoto *et al.*, 1999).

Cependant, le facteur le plus important n'est pas la quantité de nourriture fournie, mais ses caractéristiques chimiques.

5.5. Humidité

L'humidité relative est le rapport entre le poids réel de vapeur d'eau contenu dans l'air et le poids d'eau maximum qu'il pourrait contenir. Elle est de préférence maintenue entre 55

et 80% (idéalement entre 60-70%). Une humidité excessive augmente la charge microbienne de l'air et provoque ainsi une sensation de froid chez l'animal et plus souvent des maladies respiratoires et digestives.

Une humidité relative trop basse (moins de 50%) est néfaste car elle favorise la formation de poussières qui dessèchent les voies respiratoires. En outre elle se traduit par une réduction des performances de la reproduction (Finzi *et al.*, 2000).

5.6. Effet des huiles essentielles

Certaines huiles essentielles ne sont pas dangereuses pendant la grossesse et d'autres peuvent porter atteinte à la fertilité de leur utilisateur. La fonction de reproduction peut être touchée à plusieurs niveaux : bloquer le fonctionnement sexuel dû à une action 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 endocrine.



Chapitre III : Matériel et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr.Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique et de la maturité sexuelle des lapins mâles.

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » sur la structure des testicules des lapins mâles à différentes doses, à travers une étude histologique de leurs structures en relation avec les poids vifs et gonadiques.

Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

Afin de réaliser cette étude, il a été utilisé deux types de matériel : le premier est animal ; des lapins infantiles de la population blanche âgés en moyen d'un mois, le deuxième est végétal celui de l'huile essentielle « Romarin à verbénone ».

1.1. Modèle animal

La population utilisée est une population locale qualifiée de « population blanche » par Zerouki *et al.*, (2007) à cause de la prédominance totale du phénotype blanc néozélandais et californien, par rapport aux croisés (noir, gris, fauve et croisé) (Fig 18).

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 18 : Lapin âgés d'un mois issus d'un élevage cunicole privé de Djebba.

1.2. Modèle végétal

Romarin à verbénone (*Romarinus officinalis*)

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



Figure 19 : Flacon de l'huile essentielle « Romarin à verbénone »

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 et El Kalamouni, 2013).

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

2. Expérimentation

L'expérimentation s'est effectuée entre le mois de Mai et Juillet 2019, l'administration de l'huile et les sacrifices sont effectués au niveau de l'élevage cunicole. Tandis que l'étude histologique est effectuée au niveau du laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre au sein de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

2.1. Protocole expérimental

Des lapins mâles âgés d'un mois ont été pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole puis répartis en lots : un lot témoin (7 lapins) qui n'a pas été traité avec de l'huile essentielle « Romarin à verbénone » et 5 lots (7 lapins pour chacun) traités par différentes doses 200, 300, 400, 500, 700 μ l /kg de l'huile essentielle « Romarin à verbénone ».

Tous les animaux sont exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement et nourris par « ad libitum », avec un aliment

sec granulés fabriqué et commercialisé par l'ONAB d'Alger (Office National de l'Aliment de Bétail). L'eau est distribuée en accès libre permanent par des pipettes individuelles.

2.2. Pesée et administration des huiles essentielles

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle à administrer pour chaque animal et chaque dose. Le volume de l'huile essentielle pipeté est mélangé avec 0,5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin (Fig 20).



Figure 20 : Pesée et administration de l'huile essentielle « Romarin à verbénone »
Par voie orale

2.3. Sacrifices et prélèvement

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'Ecologie des Invertébrés Terrestre à l'université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs pour des dosages hormonaux ultérieurs et congelé à 4°C (Fig 21).



Figure 21 : La pesée, le sacrifice et la récupération du sang.

Ensuite les animaux sont disséqués, leurs appareils génitaux (testicules) sont prélevés puis dégraissés et pesés grâce à une balance de précision de 0,01g afin de réaliser un test statistique. Les testicules et épидидymes droits sont fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés et étiquetés pour une étude histologique, alors que les testicules et épидидymes gauches sont placés dans des eppendorfs et congelés à -20°C , jusqu'à leur utilisation ultérieure (Fig 22).

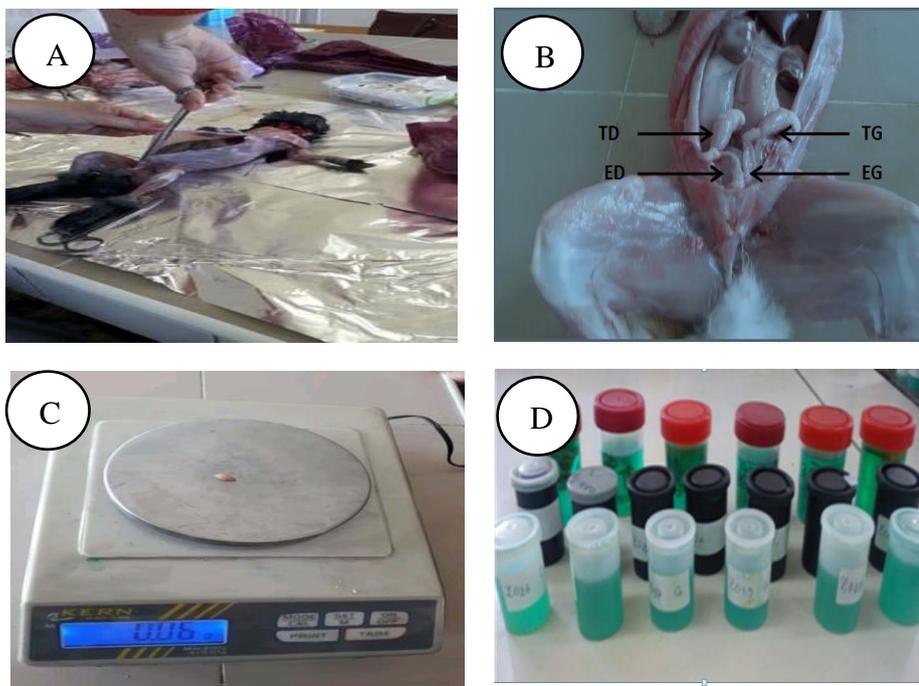


Figure 22 : Dissection d'un lapin mâle et traitement de l'appareil génital.

A et B : prélèvement de l'appareil génital mâle du lapin (testicules) ; **C** : détermination du poids grâce à une balance de précision de 0,01g ; **D** : piluliers de fixateur contenant les organes génitaux.

TD : Testicule droit ; **EPD** : Epididyme droit ; **TG** : Testicule gauche ; **EPG** : Epididyme gauche.

3. Etude histologique

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

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

3.1. Fixation des échantillons

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

Le fixateur utilisé dans l'expérience est Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) qu'appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds.

Les organes placés dans des cassettes d'inclusion puis déposés dans des piluliers contenant un volume de « Bouin Hollande » trois fois supérieur à celui de l'organe, afin de l'immerger totalement, les organes sont maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur, à température ambiante (Fig 23).

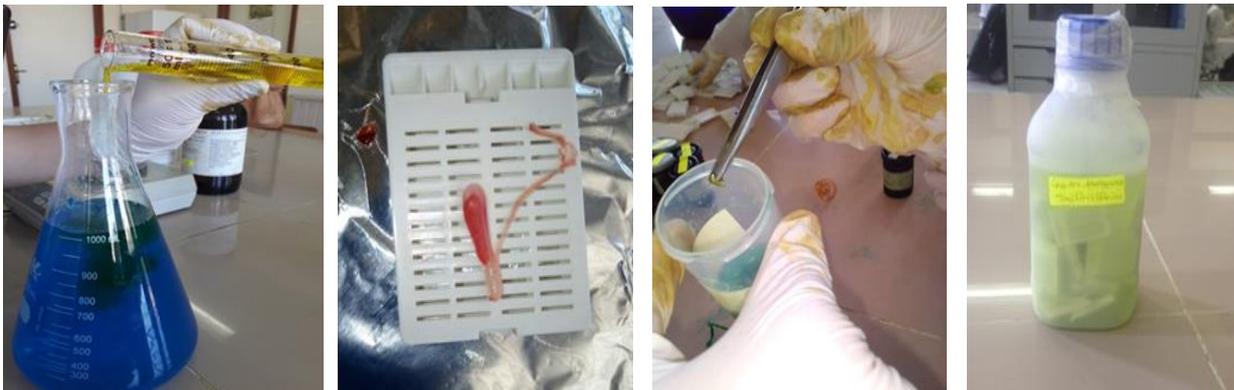


Figure 23 : Fixation des organes par le fixateur Bouin Hollande sublimé.

3.2. Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation est la suppression de toute l'eau contenue dans l'organe, permettant l'inclusion de l'échantillon dans la paraffine. Celle-ci est caractérisée par sa plasticité et sa température de fusion qui peut aller de 56° à 60°C.

Pour réaliser la déshydratation de l'organe, une série de bains d'alcools éthyliques à des degrés croissants (50°, 70°, 80°, 90°, 100°) a été utilisée, pendant 2 heures pour chaque bain afin d'éviter la désorganisation des structures. Le dernier bain est un bain de xylène pour compléter la déshydratation et préparer l'imprégnation de l'organe à la paraffine, car l'éthanol n'est pas miscible à la paraffine (Fig 24).



Figure 24 : Série des bains de déshydratation des séries de lames.

3.3. Imprégnation

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

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 25 : Etapes de circulation (original ; 2019)

3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Cette opération consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C dans un appareil d'enrobage de type Leica (Fig 25). Les organes sont placés dans des moules qui recevront la paraffine. Les cassettes identifiant chaque échantillon, sont placées à la surface des moules (Fig 26). De la paraffine est coulée dans les moules jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Le dispositif est déposé sur une plaque refroidissante de l'appareil (-10 à -15°C) jusqu'à solidification du bloc.



Figure 26 : Blocs de paraffine obtenue après l'inclusion.

3.5. Confection des coupes et collage

Des coupes fines de 2 à 5 μm d'épaisseur ont été réalisées sur les blocs d'organes, par utilisation d'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 propre qui seront incubées tout une nuit à 38°C dans une étuve (Fig 27).



Figure 27 : Coupes réalisées par un microtome à paraffine de type Leica.

3.6. Déparaffinage et réhydratation

Les colorants en histologie sont généralement aqueux. Avant d'entamer la coloration d'une lame, il faut donc la déparaffiner et la réhydrater.

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. Il consiste en deux baignades de xylène, puis en baignades d'alcool éthylique à degrés décroissants (100°, 90°, 70°, 50°).

3.7. Coloration topographique et Déshydratation

Pour la coloration des échantillons, la coloration topographique choisie est la coloration par le Trichrome de Masson (Fig 28), qui est une coloration histologique topographique qui permet de visualiser la morphologie des cellules, noyau, cytoplasme et matrice de collagène notamment afin de déterminer leur répartition tissulaire, architecture et structures.

Elle s'effectue avec trois colorants : l'hématoxyline, fuchsine-ponceau, orange G et vert lumière et un rinçage avec de l'eau courante et à l'eau acétifiée.

Les noyaux sont colorés en noir, les cytoplasmes acidophiles et les nucléoles en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres collagènes vertes.

Cette coloration est suivie d'une déshydratation dans des baignades d'alcools éthyliques à degrés croissants (50°, 70°, 90°, 100°) et deux baignades de xylène.



Figure 28 : Batterie de coloration.

3.8. Montage et observation des coupes

Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une goutte de l'Eukitt une lamelle de verre sur l'échantillon histologique, qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle. Une légère pression sur la lamelle permet de classer les bulles d'air. Après montage, les lames sont séchées, nettoyées au toluène puis observées par un microscope optique.

L'observation de lame se fait à l'aide d'un microscope photonique de type optica qui permet d'observer toute variation ou modification des structures histologiques des gonades (Fig 29).

Des photographies sont prises grâce à un appareil photo numérique, de ce fait le grossissement de l'observation change, il 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.

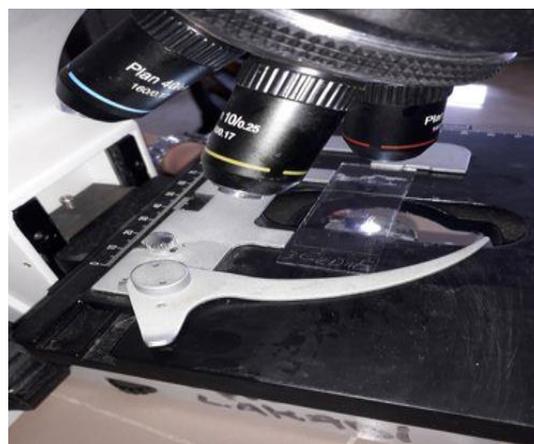


Figure 29 : Observation des coupes (originale 2019).

4. Etude statistique

Les pesées des lapins ont été effectuées deux fois, une première fois avant l'administration de l'huile essentielle (J0) afin de déterminer la quantité de l'huile à administrer, puis la seconde fois avant le sacrifice (J7) pour évaluer l'effet de cette huile sur l'évolution du poids corporel et poids gonadique de nos animaux.

Les variables (poids vif et poids des testicules) 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 ». Le poids corporel exprimé en kilogramme (kg) par la valeur moyenne \pm l'erreur standard à la moyenne (ESM).



Chapitre IV : Résultats et discussion

Les résultats rapportés dans ce travail concernent l'effet de l'huile essentielle Romarin à verbénone sur le poids corporel et le poids testiculaire des lapins infantiles âgés d'un mois, ainsi qu'une étude histologique des structures testiculaires.

1. Résultats de l'étude macroscopique

1.1. Poids corporel

Le poids en Kilogramme (Kg) est exprimé par la valeur moyenne \pm l'erreur standard liée la moyenne (ESM).

Les pesées ont été prises deux fois durant l'expérience, avant et après l'administration de l'huile essentielle Romarin à verbénone et ont permis de suivre l'évolution des lapins (Fig 30).

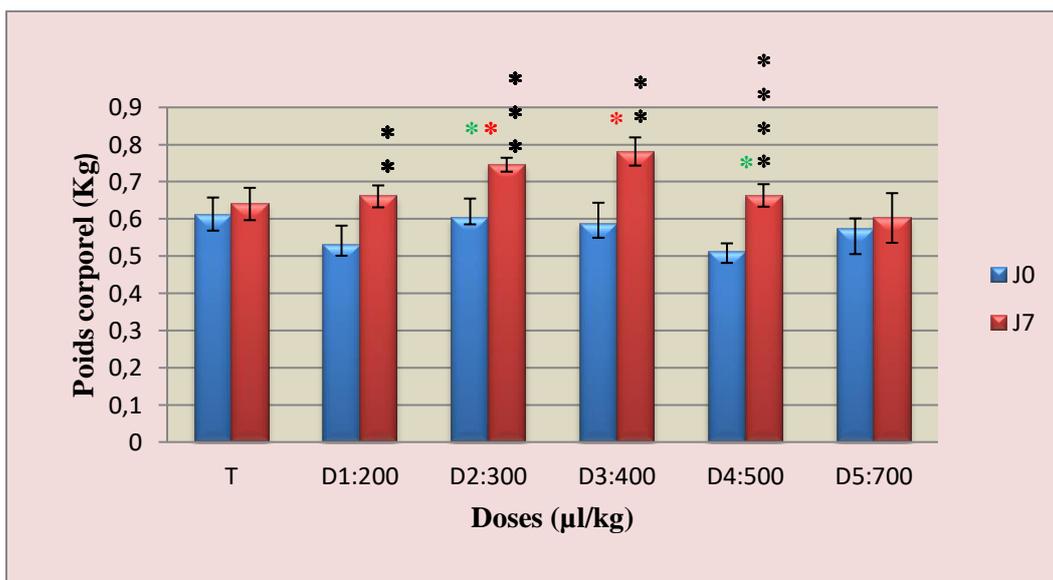


Figure 30 : Graphique du poids corporel des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone.

T : témoin ; **D1** : dose1 ; **D2** :dose2 ; **D3** :dose3 ; **D4** : dose4 ; **D5** :dose5 ; **J0** : avant traitement ; **J7** : après traitement.

* : Comparaison entre J0 et J7.

* : Comparaison entre témoins-traités.

* : Comparaison entre dose-dose.

Les résultats obtenus montrent que le poids corporel entre J0 et J7 augmente chez tous les lots traités. Néanmoins, la valeur moyenne du poids corporel est faible chez les témoins avec un écart de 0,036 kg, tandis que chez les traités cet écart varie d'une valeur minimale 0,036 kg à maximale 0,165 kg observée respectivement chez ceux traités par la D5 et D3.

Cette augmentation est significative ($P < 0,02$) à D1 et D3, très significative ($P < 0,01$) à D2, et hautement significative ($0,001$) à D4.

La valeur moyenne du poids corporel des lapins témoins à J7 est de $0,538 \pm 0,040$ g, alors que chez les traités est supérieur aux témoins chez tous les lots, avec une valeur minimale $0,589 \pm 0,051$ et une valeur maximale $0,766 \pm 0,055$ g chez ceux traités par la D5 et D3 respectivement.

Néanmoins, nous avons constaté une différence peu significative ($P < 0,05$) entre T-D2 et T-D3.

Toutefois, l'effet dose sur le poids corporel a révélé une augmentation à partir de la D1 ($200 \mu\text{l/kg}$) jusqu'à la D3 ($400 \mu\text{l/kg}$), pour avoir ensuite une diminution dès la D4 ($500 \mu\text{l/kg}$) jusqu'à la D5 ($700 \mu\text{l/kg}$).

Ces variations révèlent une différence peu significative ($P < 0,05$) entre D1-D2 et D3-D4.

1.2. Poids testiculaire

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

1.2.1. Poids testiculaire total

Le poids total des testicules pour les lapins infantiles en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée est représenté dans la (Fig 31).

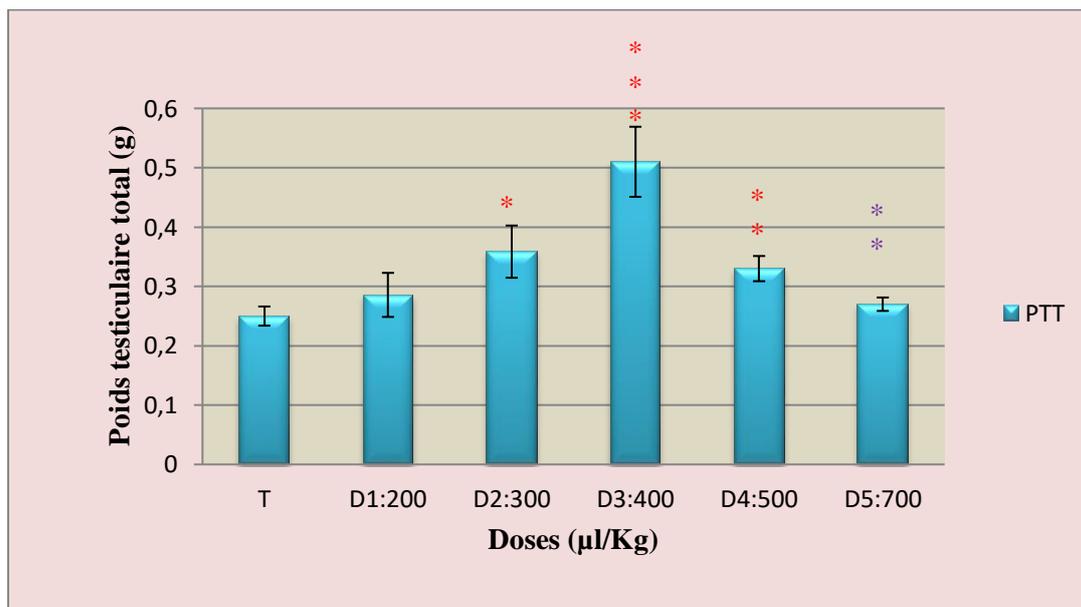


Figure 31 : Graphique du poids total des testicules des lapins infantiles traités par le Romarin à verbénone.

T : témoin ; **D1** : dose1 ; **D2** :dose2 ; **D3** :dose3 ; **D4** : dose4 ; **D5** : dose5 ; **PTT** : poids total des testicules.

* : Comparaison entre témoin-dose.

* : Comparaison entre dose-dose.

Selon le graphique, le Romarin à verbénone a induit une augmentation du poids testiculaire total chez les lots traités par rapport aux témoins dont la valeur est de $0,25 \pm 0,016g$ d'une part.

D'autre part, les lapins traités par cette huile essentielle aux doses inférieures ou égale à $400 \mu l/kg$ présentent des valeurs qui augmentent en fonction de la dose jusqu'à $0,510 \pm 0,059$ à D3 ($400 \mu l/kg$), tandis que chez ceux traités aux doses supérieures à $400 \mu l/kg$ présentent des valeurs qui sont inversement proportionnelles à la dose administrée dont la valeur minimale est de $0,270 \pm 0,011$ à D5 ($700 \mu l/kg$).

Néanmoins, nous avons constaté une différence peu significative ($P < 0,05$) entre T-D2, puis hautement significative entre ($P < 0,001$) entre T-D3, et significative ($P < 0,02$) entre T-D4.

1.2.2. Poids des testicules droits et gauches des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone

Le poids des testicules droits et gauches des lapins infantiles en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée est représenté dans la (Fig 32).

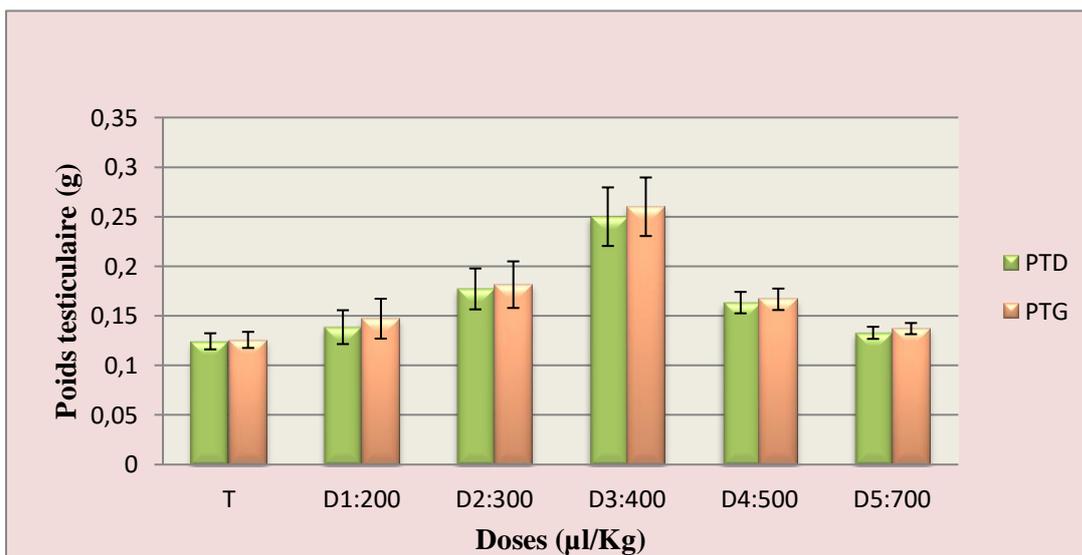


Figure 32 : Graphique du poids moyen des testicules droits et gauches des lapins infantiles traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone.

T : témoin ; **D1** : dose 1 ; **D2** : dose 2 ; **D3** :dose 3 ; **D4** : dose 4 ; **D5** : dose 5 ; **PTD** : poids testiculaire droit ; **PTG** : poids testiculaire gauche.

La comparaison du poids testiculaire droit et gauche montre que leur valeur moyenne est légèrement supérieure chez les testicules gauches par rapport aux testicules droits.

1.2.3. Poids relatif des testicules des lapins

Les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapins âgés d'un mois et traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone sont présentées dans la (Fig 33).

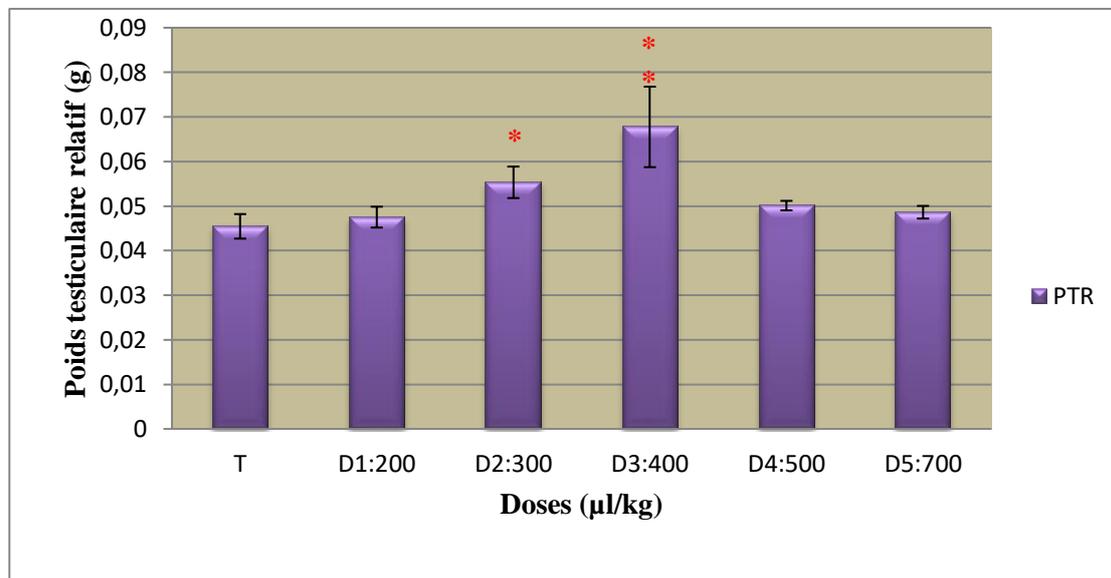


Figure 33 : Graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles traités par le Romarin à verbénone.

T : témoin ; **PTR** : poids testiculaire relatif ; **D1** : dose 1 ; **D2** : dose 2 ; **D3** : dose 3 ; **D4** : dose 4 ; **D5** : dose 5.

* : Comparaison entre témoin-dose.

Selon le graphique, le poids testiculaire relatif des lapins traités par l'huile essentielle le Romarin à verbénone est supérieur par rapport aux témoins, avec une différence peu significative ($P < 0,05$) entre T-D2, et une différence significative entre T-D3.

Néanmoins, les lapins traités aux doses inférieures ou égales à 400 µl/kg montrent une augmentation proportionnelle à la dose jusqu'à D3 (400 µl/kg) dont la valeur moyenne du poids testiculaire relatif est de $0,067 \pm 0,009$ g, et une diminution à partir de doses supérieures 400 µl/kg jusqu'à atteindre $0,048 \pm 0,001$ g à D5.

2. Résultats de l'étude microscopique : (structure testiculaire)

A la naissance, l'animal dispose d'un faible stock de spermatogonies, qui vont subir la spermatogenèse à partir de la puberté et vont assurer ainsi la formation des spermatozoïdes.

Le cycle spermato-génique représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires aboutissant à la formation des spermatozoïdes (Boussit, 1989).

L'observation des structures histologiques des testicules révèle une grande variabilité entre les lapins du lot témoin et les lapins des lots traités par le Romarin à verbénone à différentes doses (200, 300, 400, 500 et 700 $\mu\text{l}/\text{kg}$).

2.1. Testicules des lapins témoins

La structure histologique des testicules des lapins témoins infantiles présentent des tubes séminifères de forme variable

L'épithélium séminifère au fort grossissement constitué de deux types cellulaires, les spermatogonies et les cellules de Sertoli.

Les spermatogonies sont des cellules peu volumineuses, à noyau arrondi, une chromatine condensée et très colorée qui sont distribuées sur toute la section du tube, tandis que les cellules de Sertoli sont des cellules de grande taille qui reposent sur la lame basale du tube séminifère et qui s'étendent jusqu'à sa lumière. Elles émettent des expansions cytoplasmiques qui se prolongent jusqu'au centre du tube séminifère.

Elles sont reconnaissables par leurs noyaux à encoches, de forme irrégulière, conique, pyramidale, ou triangulaire.

Un espace interstitiel important et richement vascularisé est visible entre les tubes séminifères constitué des cellules de Leydig qui sont organisées en amas ou bien dispersées dans cet espace (Fig 34).

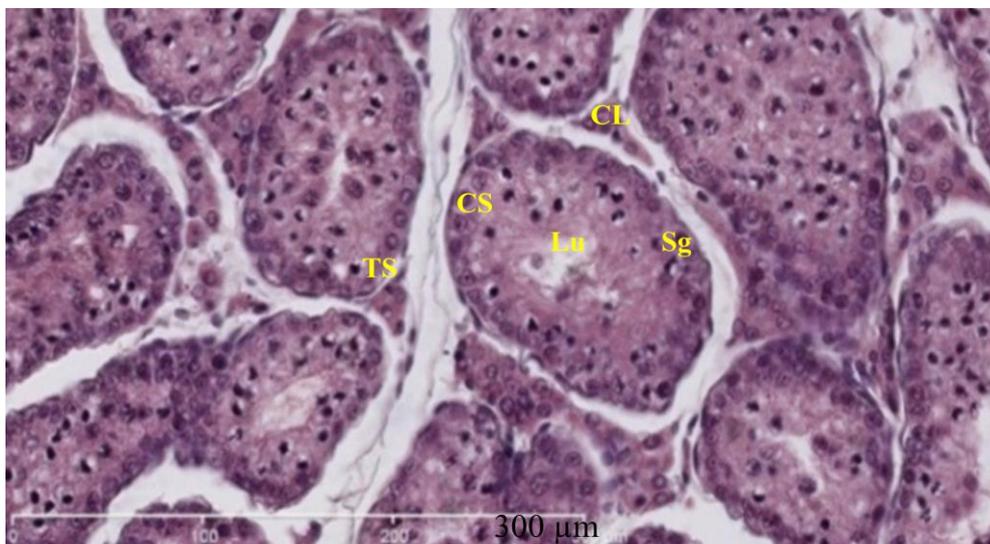


Figure 34 : Microscopie de coupe histologique au niveau du testicule des lapins âgés d'un mois après coloration de trichrome de Masson au grossissement (10*40)

Lu : Lumière, **CS** : Cellule de Sertoli, **CL** : Cellule de Leydig ; **Sg** : Spermatogonie, **TS** : Tube séminifère.

2.2. Testicules des lapins traités par le Romarin à verbénone

Les structures histologiques des testicules des lapins infantiles témoins et les traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone à différentes doses : (200, 300, 400, 500 et 700 μ l/kg) sont représentées dans la (Fig 35).

L'observation des coupes histologiques des testicules des lapins traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone à D1 (200 μ l/kg), D2 (300 μ l/kg), D3 (400 μ l/kg), D4 (500 μ l/kg) et D5 (700 μ l/kg) révèle la mise en place de la lumière presque sur la totalité des tubes séminifères constitué de spermatogonies et de cellules de Sertoli à noyaux triangulaires.

Cependant, les premiers spermatocytes I apparaissent dans quelques tubes séminifères chez ceux traités par D1 (200 μ l/kg), puis dans la plupart des tubes séminifères chez ceux traités par D2 (300 μ l/kg), tandis que les traités par D3 (400 μ l/kg) présentent plusieurs spermatocytes I dans tous les tubes séminifères.

Toutefois, les lapins traités par D4 (500 μ l/kg) et D5 (700 μ l/kg) présentent des structures testiculaires semblables à ceux traités par D2 et D1 respectivement.

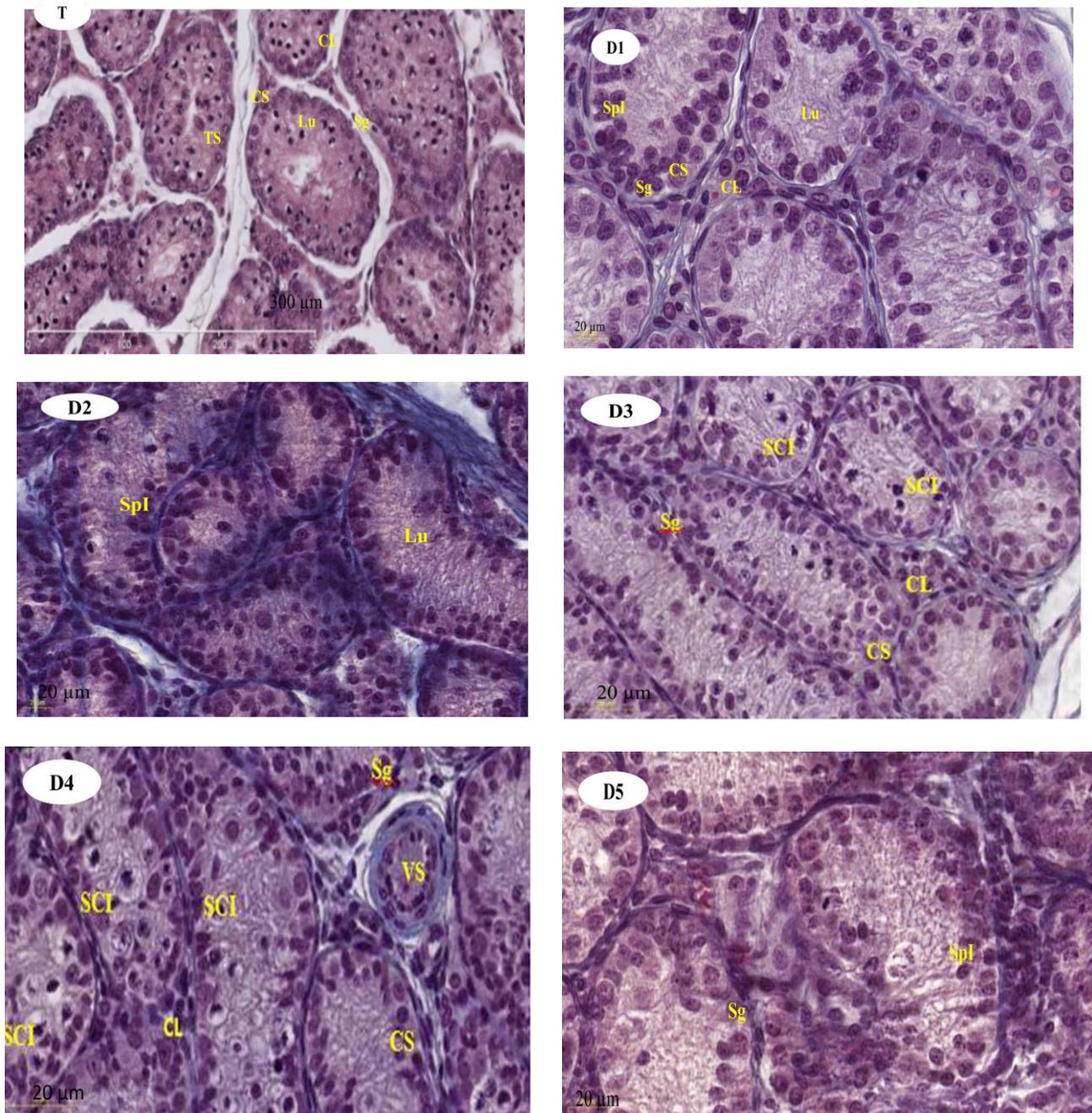


Figure 35 : Coupes histologiques des testicules des lapins infantiles du lot témoin et des lots traités par l'huile essentielle Romarin à verbénone. **Sg:** spermatogonies ; **CS:** cellule de Sertoli ; **SCI:** spermatocytes I ; **CL:** cellule de Leydig ; **VS :**vaisseaux sanguin ; **T:** témoin ; **D1:** dose1 ; **D2:** dose2 ; **D3:** dose3 ; **D4:** dose ; **D5:** dose5.

3. Discussion

3.1. Paramètres macroscopiques

Les résultats de notre étude montrent que l'huile essentielle Romarin à verbénone a induit des modifications des poids corporels et testiculaires des lapins infantiles appartenant à la population blanche.

Cependant, ces modifications dépendent de la dose administrée car de la dose 1 à la dose 3 ces valeurs sont proportionnellement à la dose administrée et qu'à partir de la dose 4, elles sont inversement proportionnelles à la dose administrée.

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Abdi et Meziani (2019) ; Saidj et Tamani (2019), qui ont également constaté une augmentation des poids corporels et testiculaires chez les lapins traités par la Menthe poivrée et le Romarin à verbénone. Les effets des deux huiles essentielles (Romarin à verbénone et Sauge officinale) sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids total et volume) sont plus élevés chez les lapins traités par rapport aux témoins (Nessah et Zaatri, 2018).

Selon Piles *et al.* (2003), la croissance pondérale d'un animal est un caractère extrêmement variable en fonction des facteurs génétiques, alimentaires, et/ou environnementaux. Après la naissance, la régulation de la croissance pondérale chez le lapin n'atteint la pleine efficacité qu'au bout de 100 g (Vésinhet, 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).

Selon Kuçukyılmaz *et al.* (2017), l'huile essentielle de lavande pourrait être considérée comme un facteur de croissance car il induit une augmentation de poids corporel chez les oiseaux nourris par cette l'huile sans consommation d'aliments supplémentaires.

Les recherches de Soy *et al.* (2016) ; Nantia *et al.* (2007) qui ont utilisés respectivement l'extrait éthanlique des feuilles de *Mentha piperita* pendant 60 jours et l'extrait de méthanol de *Bsella alba L* à la dose de 80 µl pendant 30 jours chez le rat mâle, révèlent que le poids corporel des animaux expérimentés croît avec le temps.

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

Des extraits de graines de la margose « *Momordica charantia* » testés chez des rats pendant 35 jours ont montré une augmentation de l'épididyme, ce qui montre sa propriété androgénique (Nassem *et al.*, 1998).

Les rats qui ont été traités par l'extrait de la Menthe verte « *menthas picata* » pendant 35 jours présentent une augmentation significative du poids des testicules, épидидyme, vésicule séminale et de la prostate, tandis que chez ceux traités pendant 25 jours ont montré une diminution significative de LH sérique, FSH, la testostérone et la concentration des spermatozoïdes au niveau de l'épididyme (Kumar *et al.*, 2008).

L'administration de l'extrait de fleurs de benzène « d'*Hibiscus rosa sinensis* » 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. L'étude a révélé que l'extrait de fleurs de benzène « d'*Hibiscus rosasinensis* » a une activité antifécondité (Kumar *et al.*, 2014). Ce qui est contradictoire aux résultats obtenus dans notre étude.

3.2. Paramètres microscopiques

Nous avons constaté que l'huile essentielle utilisée a engendré des changements dose dépendant au niveau des structures des testicules des lapins par rapport aux témoins où la spermatogenèse est au stade spermatogonie.

En effet, les premiers spermatocytes I apparaissent après un traitement par l'huile essentielle à la dose 1 dans quelques tubes séminifères, puis dans la plupart des tubes séminifères à la dose 2.

A dose 3, nous assistons la mise en place de plusieurs spermatocytes I dans tous les tubes séminifères, tandis que à dose 4 et dose 5 nous avons remarquées que leurs structures histologiques est similaire à celle de dose 2 et dose 1 respectivement.

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Smah et Ould mokhtar (2019) ; chez les lapins infantiles de la population blanche, la spermatogenèse est au stade spermatogonie chez les lapins témoins, tandis que chez les lapins traités par l'huile essentielle, on voit l'apparition des spermatocytes I. La Menthe Poivrée a induit l'apparition de spermatocyte I chez les lapins traités âgés de 1mois et l'augmentation du nombre de spermatozoïdes dans la lumière chez les lapins traités de 5mois par rapport aux témoins qui sont plus fréquent chez ceux traités par la D2. (Ould Slimane et Hani ; 2018).

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

Haeri *et al.* (2006), ont montré que l'administration de l'huile essentielle de la sarriette « *Saturejakhuzestanica* » (SKEO) par voie orale à des doses 75, 150 et 225 mg/kg/jour pendant 45 jours a provoqué une augmentation significative du poids du testicule, de l'épididyme et des vésicules séminales qui sont dues à l'augmentation du nombre de spermatogonies, de spermatides, de cellules de Leydig et de spermatozoïdes et un taux plus élevé de spermatogenèse, confirmé par leurs résultats d'histopathologie. Par conséquent, le poids des organes sexuels élargi est le résultat de l'augmentation des taux sériques de FSH et de testostérone sous l'effet de l'huile essentielle de la sarriette « *Saturejakhuzestanica* » (SKEO).

La Menthe poivrée a induit la mise en place du prochain stade de la spermatogenèse par rapport aux témoins et le niveau de maturité sexuelle de ces lapins. En effet les variables microscopiques comme l'apparition de spermatides allongées et de spermatozoïdes dans les tubes séminifères, le diamètre, le nombre et la taille des cellules interstitielles et germinales ont été utilisées comme indicateurs de maturité sexuelle (Schinckel *et al.*, 1983 ; Tegegne *et al.*, 1991).

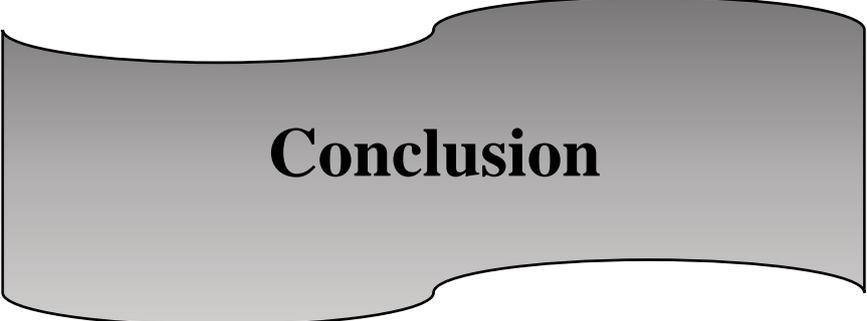
Selon Prins *et al.* (1991) ; Kamtchouing *et al.* (2002), l'augmentation du poids absolu du testicule et de l'épididyme pourrait être due à une biosynthèse accrue des androgènes comme en témoigne une augmentation accrue des taux sérique de testostérone chez des rats expérimentaux traités par du « Zingiber ». Il a été démontré que les androgènes sont nécessaires au développement, croissance et bon fonctionnement du testicule

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

Selon Viger et Robaire (1996), la régulation des fonctions de l'épithélium et de la lumière de l'épididyme est sous le contrôle des androgènes les plus particulièrement issus de la conversion de la testostérone, sont considérés comme les modulateurs principaux de différentes fonctions de l'épididyme. Et selon Fan et Robaire (1998), la testostérone a une action directe dans le maintien de la morphologie des cellules principales épидидymaires et dans l'inhibition de l'apoptose.

A l'inverse, les résultats obtenus par Bashandy (2007), démontrent qu'il y'a une diminution significative du poids du testicule après 2 mois de traitement par l'huile essentielle de *Nigella Sativa* par rapport aux rats témoins.

Selon The Jashwini *et al.* (2012), une réduction significative du nombre de spermatozoïdes, du poids des organes reproducteurs et du niveau de testostérone sérique, ainsi que l'histologie a montré une réduction du diamètre des tubes séminifères et du diamètre des cellules de Leydig a été observées chez des souris *Swiss albinos* traités par l'extrait éthanolique de gousses de *Cyamposispsoralioides* (gomme guar) qui a été administré. L'étude a conclu que cet extrait a un pouvoir agent d'antifertilité.



Conclusion

Au terme de notre travail sur les effets de l'huile essentielle le Romarin à verbénone à différentes doses (200, 300, 400, 500 et 700 $\mu\text{l/kg}$) sur le changement de la structure des testicules chez les lapins infantiles de la population blanche, nous avons constaté que cette l'huile à engendrée des modifications sur les paramètres macroscopiques et microscopiques.

En effet, nos résultats ont montré que le Romarin à verbénone a induit une augmentation du poids corporel et testiculaire des lapins traités par rapport aux témoins.

Sur le plan histologique, le Romarin à verbénone a engendré l'apparition des premiers spermatocytes I dans quelques tubes séminifères chez les lapins traités par la D1 (200 $\mu\text{l/kg}$), puis dans la plupart des tubes séminifères chez ceux traités par D2 (300 $\mu\text{l/kg}$), tandis que la D3 (400 $\mu\text{l/kg}$) induit la présence de plusieurs spermatocytes I dans tous les tubes séminifères. Néanmoins, les lapins traités par D4 (500 $\mu\text{l/kg}$) et D5 (700 $\mu\text{l/kg}$) présentent des résultats semblables à ceux traités par D2 et D1 respectivement.

De ce fait, il semblerait que l'huile essentielle Romarin à verbénone a un effet positif sur le développement des testicules, la spermatogenèse et la fertilité des lapins infantiles âgés en moyenne d'un mois, avec une valeur optimale obtenus à D3 (400 $\mu\text{l/kg}$).

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

- Etudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus.
- Renforcer cette étude par une étude histomorphométrique afin d'étudier les effets des huiles essentielles sur des paramètres microscopiques (le diamètre des tubes séminifères, la hauteur des cellules épithéliales...).
- Etudier l'effet des huiles essentielles sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.
- Suivre cette expérimentation sur l'évolution des cellules germinales, sur la qualité et quantité nucléaire et les mouvements des spermatozoïdes.
- Etudier l'impact des huiles essentielles sur la fertilité de la lapine.
- Etudier l'effet dans un temps plus large et des doses plus élevées sur un effectif de lapins plus élevé et d'âge différent.



Références bibliographiques

- **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. *Arch. Histol. Jpn.*, 46 :51-68.
- **Abou-Haila A. et Fain-Maurel M. A. (1984).** Regional differences of the proximal part of mouse epididymis : morphological and histochemical characterization. *Anat.Rec.*, 209 : 197-208.
- **Abraham L. et Kierszenbaum A.L. (2002).** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. *Ed. médic. Intern.*, Paris : 619-532.
- **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 bêta-hexosaminidaseA deficiency. *J. Androl.*, 20 : 803-824.
- **Allrich R.D., Christenson R.K., Ford J.J. et Zimmerman D.R. (1983).** Pubertal development of the Boar-Age-Related Changes in Testicular Morphology and in Vitro Production of Testosterone and Estradiol-17 β . *Ed. Bio. Reprod.*, 28 (4): 902-909.
- **Al-Saaidi J.A., AL-Khuzai A.L.D. et Al-Zobaydi N.F.H. (2009).** Effect of alcoholic extract of Nigella Sativa of fertility in male rats. . *J. veter. Sci.*, 23 (2), Iraq: 123-128.
- **Alvariño J.M.R. (2000).** Reproductive performance of male rabbits. *In. Proc. 7th Worl. Rabbit. Congr.*, 12 , Valencia : 13-35.
- **Alvarino M.R. (1993).** Control de la reproduccion en el conejo. 1ére éd. Irid, Mund. Pren., Madrid (España) : 137p.
- **Amann R.P. (1993).** Physiology and Endocrinology. Equine Reproduction, 1ére éd. *Lea. Febig.*, Philadelphia: 1137-1154.
- **Amman R.P. (2011).** Physiology and Endocrinology. Equine Reproduction In : *Mckinnon OA, Squires El, Vaala We, Varner Dd (eds), 2 ed.: Wiley-Blackwell*, United Kingdom :881-908.
- **Aubineau M., Bermond A., Bongler J. et Roger-Estard J. (2002).** *larousse agricole, Larousse Vuef*, Canada :379 p.
- **Azzarito C., Boiardi L., Vergoni W., Zini M., Portioli I. (1996).** Testicular function in hypercholesteromic male patients during prolonged simvastatine treatment. *Horm. Metab. Res.*, 28 (4): 193-198.

- **Badran H.H. et Hermo L. (2002).** Expression and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *J. Androl.*, 23: 358-373.
- **Bailleul J.P. et Mauroy B. (1991).** Anatomie des testicules et voies spermatiques et des bourses. *Ed. techs EMC : Néphro. Uro.*, 18600 A, (Paris-France) :10- 14.
- **Barone R. (1976).** Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 4: Splanchnologie. *Laboratoire d'anatomie, ENV, Lyon* : 879p.
- **Barone R. (1978).** Anatomie comparée des mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie 2 : Appareil uro- génital, fœtus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale. *Eds. Frère Vigot, Paris* : 896p.
- **Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 4: splanchnologie II. *Eds. Frères Vigot, Paris* : 241-516.
- **Barone R. (1984).** Anatomie comparée des mammifères domestiques : Tome3 : Splanchnologie 1 : Appareil digestif et respiratoire. *Vigot, Paris* : 896p.
- **Bashandy S. (2007).** Effect of fixed oil of nigella sativa of male fertility in normal and hyperlipidemic rats. *Int.J. Pharmacol.*, (1):27-33.
- **Bedford J.M. (1979).** Evolution of the sperme maturation and sperm storage functions of the epididymis. *In:fawcett dw, Bedford. JM.*, The spermatozoa : Urban ET schawarzenberg, Baltimore: 7-21.
- **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. *Eur. J. Endocrinol.*, 99 (3): 459-465.
- **Bonnafous et EL Kalamouni, (2013).** Traité scientifique Aromathérapie-Aromathologie & aromachologie. *éd Dangles.*
- **Boussit D. (1989).** Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion Lavoisier TEC et DOC : 240p
- **Brambell F.W.R. (1944).** The reproduction of the wild rabbit, oryctolagus cuniculus. *proc. zool. Soc.*, London : 1-114.
- **Britain A. (2006).** Développement, optimisation et utilisation d'un système cellulaire de l'épithélium epididymaire murin : Approche moléculaire. Thèse Doctorat, Ecole Doctorale des Science de la Vie et de la Sant, Université de blaise pascal dauvergne : 83p.

- **Castellini, (2008) et Davis, (1974).** Semen production and management of rabbitbucks. *9th World. Rabbit. Congress.*, Verona (Italy) : 10-13,
- **Cooper T.G. (1998).** Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J. Reprod. Fert. LSuppl.*, 53 : 119-136.
- **Couic-Marinier F. & Lobstein A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques.*
- **Dadoune J.P. et Demoulin A. (2001).** Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). *La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. Ed INRA, Paris : 256-289. .*
- **Damien baudiffier. (2012).** Modes de perturbation de la stéroïdogénèse testiculaire et de la spermatogénèse chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) par des fongicides azolés. Thèse : biologie école doctorale VAS, université de RENNES :192.
- **Dym M.R., Raj H.G.M., Lin Y.C., Chemes H.E., Kotitie N.J., Nayfeh S.N., French F.S. (1979).** Is FSH required for maintenance of spermatogenesis in adult rats?. *J. of Repro. Fertil.*, (26): 175-181.
- **Fan X. et Robaire B. (1998).** Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinol.*, 139: 2128-2136.
- **Finzi A., Morera P. et Macchioni P. (1994).** Modification of some rabbit spermatoc parameters in relationship to high ambient rabbit spermatoc parameters in relationship to high ambient temperatures. *J. of Rab.*,8 :305-312.
- **Frend R., Bogerd J., França L..R. et Vilela D.A.R. (1973).** La fonction reproductive masculine. *Organis. sant.*, 520, Genève: 6-11.
- **Frolich A. (1948).** Some factors affecting semen production in rabbits. *Primo. Congo. intern. Fisiopat. H.iprod. animal Fecond. art if.*, Milano : 625-632.
- **Gayrard V. (2007).** Physiologie de la reproduction des mammifères .Thèse de Doctorat, école vétérénaire, Toulouse :198p.
- **Girouard J. (2009).** Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoides bovins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie, Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine, université laval. QUEBEC.
- **Grasse P.P. (1949).** Traité de zoologie Anatomie, Systématique, Biologie.*Ed. Mass. Cie, Paris : 979p.*

- **Haeri S., Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Adbollahi M. (2006).** Effect of Saturejakhuzestanica essential oil on male rat fertility. *Elsevi. Fitoter.*, 77: 495-499.
- **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.
- **Hermo L., Adamali H.I. et Andonian S. (2000).** Immunolocalization of CA II and H⁺V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl.*, 21: 376-391.
- **Hermo L., Dworkin J. et Oko R. (1988).** Role of epithelial clear cells of the rat epididymis in the disposal of the contents of cytoplasmic droplets detached from spermatozoa. *Am J. of Anat.*, 183(2): 107-124.
- **Hinton B.T. et Palladino M.A. (1995).** Epididymal epithelium : its contribution to theformation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc. Res. Tech.*, 30 : 67–81.
- **Hiroe K. et Tomizuka T. (1965).** Effets d'un environnement à température élevée sur la production de sperme chez les animaux domestiques. *bul . the nat. Inst. anim. ind. japan.*, 9, (Japon) : 27-35.
- **Hochereau De Reviers M.T.H et Royere D. (1996).** Anatomie fonctionnelle du testicule adulte. Endocrinologie masculine. *Ed Doin.*, Paris : 35-46.
- **Hoffer A.P., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1973).** The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat. Rec.*, 175 :169-201.
- **Jardin A. et De Fourmestraux N. (1984).** In Mauvais-Jarvice P. Médecine de la reproduction masculine. *Ed. Flam. Med. Sci.* : 15-23.
- **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 : transcription alprofiling of segmental gene expression in the epididymis. *Biol. Reprod.*, 73 :404-413.
- **Joly T. et Theau-clément M. (2000).** Reproduction et physiologie de la reproduction. 7éme Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C .*Omb. Lumi.*, Valencia : 19-24
- **Kamtchouing P., Fandio G.Y.M., Dimo T. et jasta H.B. (2002).** Evaluation of androgenic activity of Zingiber officinale and pentadiplandra drazeana in male rats. *Asian. J. Androl.*, 4: 299-301.
- **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.*, 15:500-568.

- **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.*, 15 :500-568.
- **Kuçukyılmaz K ., Kigma Z ., Akgag A ., Çetinkaya M ., Atalay H ., ATEŞ A ., Gursel F.E. Bozkurt M. (2017).** effet of lavender (*Lavandula Stoechas*) essential oil on growt animal., 47 (2): 178-186.
- **Kumar D., Agrawal C.P., Mishra D.D. 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. *J. Appli & Pure Bio.*, 29 (2), Indian : 215-217.
- **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 levels of gene expression, enzymes and hormones. *Food. Chem. Tox.*, 46: 3563– 3570.
- **Le Moigne A. et Foucrier J. (2009).** Biologie du developpement. 7^{ème} Edition. *DUNOD Inc.*
- **Lebas F. (2009).** Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle. « <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm> ».
- **Lebas F., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990).** le lapin: élevage et pathologie. Collection F.A.O : *producton et santé animal* : 1-210.
- **Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G. (1996).** Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). *FAO éditeur, Rome* : 227p.
- **Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H. (1984).** Le lapin : élevage et pathologie édition FAO, *Rome* : 1984-298.
- **Lebas L. (1996).** Document Cuniculture : Biologie des lapins. Recherche INRA. [en ligne]. Accès internet : <http://www.cuniculture.info/Docs/.../biologie-01.htm> (page consulté le (1^{er} janvier 2016).
- **Little T.V. et Holyoak Gr. (1992).** Reproductive anatomy and physiology of the stallion. *Clin. North. Am. Equi. Pract .*, 8 (1): 1-29.
- **Luzi F., Meartens L., Mijten P. et Pizzi F. (1996).** Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen characteristics of bucks. 6th world Rabbit Congress, Toulouse (France).
- **Marieb N.E. (1999).** Anatomie et physiologie humaine. 2^{ème} éd. *De Boeck université* : 1194p.
- **Martinet L. (1973).** Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. Conférence, *Session ITAVI*, Toulouse : 7p.

- **Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P., Palacios J., Paniagua R. et Nistal M. (1995).** The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andr.*, 27 : 195-206.
- **Micol D., Robelin J. et Geay Y. (1993).** Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscles chez les bovins en croissance et à l'engrais. *INRA Prod Anim.*, 6 (1) : 6169p.
- **Mitchell B. et Sharma R. (2005).** Embryologie. *Ed Elsevier*: 85p.
- **Nantia E.A., Moundipa P.F., Beboy N.S., Mousees 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. *J. andro.*, 2 :129-133.
- **Nassem MZ., Patil SR. et Patil SB., (1998).** Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albino rats. *J. ethno. pharmaco.*, 61: 9-16.
- **Nessah S. et Zaatri S. (2018).** Etude des effets des deux huiles essentielles (Sauge Officinale et Romarin à verbénone) sur les structures gonadiques (testiculaire et épидидymaires) des lapins mâles pubère et pré pubère. Mémoire de master en biologie et physiologie de la reproduction, université Mouloud Mammeri, Algérie.
- **Nguyen S.H. (2005).** Manuel d'anatomie et de physiologie. 3eme Ed. *Lamarre*, Italie : 350p.
- **Olson G.E. et Hinton B.T. (1985).** Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J Androl.*, 6 : 20-34.
- **Ould Slimane D. et Hani S. (2018).** Etude des effets de l'huile essentielle de menthe poivrée sur les structures gonadiques (testiculaire et épидидymaire) des lapins mâles infantile et pubère. Mémoire de master en biologie et physiologie de la reproduction, Université Mouloud Mammeri, Algérie.
- **Pax C. (2017).** Biopsie testiculaire et fécondation in vitro en ICSI au centre hospitalo-universitaire de Strasbourg. *Thèse de doctorat en Pharmacie*. Université de Lorraine.
- **Piles M., Gianola D., Varona L. ET Blasco A. (2003).** Bayesian inference about parameters of a longitudinal trajectory when selection operates on a correlated trait. *J. Anim. Sci.*, 81:2714-24.
- **Pollanen P. et Cooper T.G. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *J. Reprod. Immunol.*, 26 :167-216.

- **Prins S.G., Birch L. et Greene G.L. (1991).** Androgenreceptorlocalization in differentcell types of the adult rat prostate. *Endoc.*, 129 : 99-3187.
- **Ramos A.S., J.R., et Dym, M. (1977).** Fine structure of the monkeyepididymis. *Am. J.Anat.*, 149 : 501-531.
- **Robaire B. et Hermo L. (1988).** Efferent ducts, epididymis, and vas deferens : structure, functions, and their regulation. In the *Physiologie of Reproduction* Eds. *Knobil E. ET NeillJ. Rav. Pres.*, New-York : 999-1080.
- **Roger T. (2002).** Contribution à l'étude anatomique de L'appareil Uro-Genital mâle du grand aulacode. Université Cheikh Anta Diop De Dakar : 20p.
- **Sabbagh M. (1983).** Etude de la sexualité et de la reproduction du lapin domestique *Oryctolagus cuniculus* à des températures élevées en corrélation avec la régulation thermique, le comportement alimentaire et le fonctionnement thyroïdien et surrénalien en période d'adaptation au stress thermique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université de DAKAR, Ecole inter-états des Sciences et Vétérinaires : 113p.
- **Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011).** Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *J Androl.*, 13, *Asian* : 11-17.
- **Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011).** Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J Androl.* 13: 11-17.
- **Saez, J.M. (1994).** Leydigcells : endocrine, paracrine, andautocrine regulation .*Endocr. Rev.*, 15 (5) :547-626.
- **Schinckel A., Johnson R.K., Pumfrey R.A. et Zimmerman D.R. (1983).** Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive performance. *J. Anim. Sci.*, 56 (5) :76-1065.
- **Seiler P., Cooper T.G., Nieschlag E. (2000).** Spermnumber and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int. J. Androl.*, 23 : 65-76.
- **Serre V. et Robaire B. (1999).** Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol. Reprod.*, 61 :705-714.
- **Siffroi J.P. (2001a).** L'appareil génital masculin [en ligne]. *Serv. Hist. Bio.Repro. Cyto. Hôpit. Teno.*, : 1-45.
- **Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.*, 14: 151-154.

- **Soranzo L., Dadoune J.P. et Fainmaurel M.A. (1982).** Segmentation of the epididymal duct in mouse an ultrastructural study. *Reprod.Nutr. Dev.*, 22 :999-1012.
- **Soy A., Sahu R. et Rath S., (2016).** A histomorphological study of the effect of mint on the testes of albino rats .*J. dent. Medic. Sci.*, : 32-35.
- **Sullivan R., Franette G. et Legare C. (2005).** Sécrétion apocrines et glandes annexes. *Endrol.*, 15 (1) : 35-40.
- **Tegegne A., Entwistle K.W. et Mukasamugerwa E. (1991).** A quantitative histological study of testicular and epididymal development in boran and boran-x Friesian bulls in Ethiopia. *Therio.*, 35 (5): 991-1000.
- **The Jashwini M.S., Krishnaram H. et Shivabasavaiah. (2012).** Effet d'antifertilité réversible du cyamposispsoralioïdes chez des souris Swiss albinos mâles. *Inter. J. Advan. Bio.lRes.*, 2 (3) : 416-424.
- **Thibault C. et Levasseur M.C. (2001).** La reproduction chez les mammifères et l'homme. *éd. Ellip.*, Paris: 928p.
- **Tortora G.J., Grabowski S.R et Parent J.C. (1995).** Biologie humaine : Cytogénétique-régulation-reproduction. *Ed. CEC. collég .univer.* : 311-322.
- **Vacheret N. (1999).** Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculé de Médecine, Laennec.- Université Claude Bernard, Lyon (France) : 1-4.
- **Vaissaire J.P. (1977).** Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. *Ed. Mal. S.A.* :101-200.
- **Veri J.P., Hermo L. et Robaire B. (1993).** Immunocytochemical localization of the Yfsubunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J Androl.*, 14 :23-44.
- **Viger R.S. et Robaire B. (1996).** The mRNAs for the steroid 5alpha-reductase isozymes, types 1 and 2, are differentially regulated in the rat epididymis. *J. Androl.*,17 :27-34.
- **Walter M.R., Martinet L., Moret B. et Thibault C. (1968).** Régulation photopériodique de l'activité sexuelle chez le lapin mâle et femelle. *Arch. d'anat. d'histo. et d'embryo.*, 51 :773-780.
- **Wang P. et Duan Y.G.(2016).** The role of dendritic cells in male reproductive tract. *Am .J. Reprod . Immunol.*, 76(3) :186-192.
- **Welsch U. (2002).** Précis D'histologie : Cytologie, Histologie, Anatomie Microscopique. *éd Médic. Intern.*, Tournai (Belgique) : 260P.

- **Wrobel K.H. (1990).** Male reproduction system. In : Textbook of Veterinary Histology, 2ème Ed : 226-243. Testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *J Androl.*, 23 : 358-373.
- **Yamamoto Y., Shimamamoto K., Sofukitis N. et Miyagawa I. (1999).** Effect of hypercholesterolemia on Leydig and Sertoli cell secretory function and the overall sperm fertilizing capacity in the rabbit. *Human. Reprod.*, 14 : 1516-1521.
- **Zerrouki N. (2007).** Characterisation of a kabylia population of rabbits in algeria : birth to weaning growth performance. *World. Rabbit Sci.*, 15 :111-114.

Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet de l'huile essentielle Romarin à verbénone à différentes doses sur le poids corporel et testiculaire des lapins infantiles ainsi que sur la structure histologique des testicules. Cette étude est portée sur 42 lapins infantiles de la population blanche répartis en 6 lots : un lot témoin et 5 lots traités par le Romarin à verbénone à différentes doses (200, 300, 400, 500 et 700 µl/kg). Les résultats obtenus ont montré une augmentation importante du poids corporel et testiculaire chez tous les lots traités par rapport aux témoins. Néanmoins, les valeurs moyennes des poids testiculaires des lapins traités aux doses inférieures ou égale à 400 µl/kg augmentent proportionnellement à la dose administrée, tandis que chez ceux traités aux doses supérieures à 400 µl/kg, elles sont inversement proportionnellement à la dose administrée. Sur le plan histologique, le Romarin à verbénone a engendré l'apparition des premiers spermatozoïdes I dans quelques tubes séminifères chez les lapins traités par la D1 (200 µl/kg), puis dans la plupart des tubes séminifères chez ceux traités par D2 (300 µl/kg), tandis que la D3 (400 µl/kg) induit la présence de plusieurs spermatozoïdes I dans tous les tubes séminifères. Toutefois, les lapins traités par D4 (500 µl/kg) et D5 (700 µl/kg) présentent des résultats semblables à ceux traités par D2 et D1 respectivement. De ce fait, il semblerait que l'huile essentielle Romarin à verbénone a induit un meilleur effet en stimulant la fonction reproductrice (développement des testicules, bon déroulement de la spermatogenèse et la fertilité des lapins infantiles), avec une valeur optimale obtenue à D3 (400 µl/kg).

Mots clés : Lapins ; Testicule ; Reproduction ; Romarin à verbénone (*rosmarinus*) ; Fertilité.

The objective of this study is to determine the effect of Rosemary Verbenone essential oil at different doses on the body and testicular weight of infant rabbits as well as on the histological structure of the testicles. This study is carried out on 42 infantile rabbits of the white population divided into 6 batches: one control batch and 5 batches treated with Rosemary Verbenone at different doses (200, 300, 400, 500 and 700 µl/kg). The results obtained showed a significant increase in body and testicular weight in all treated lots compared to controls. Nevertheless, mean testicular weights of rabbits treated with doses up to 400 µl/kg increased in proportion to the dose administered, whereas in rabbits treated with doses above 400 µl/kg they were inversely proportional to the dose administered. Histologically, Rosemary verbenone induced the appearance of the first I spermatozoïdes in a few seminal tubes in rabbits treated with D1 (200 µl/kg), then in most seminal tubes in those treated with D2 (300 µl/kg), while D3 (400 µl/kg) induced the presence of several I spermatozoïdes in all seminal tubes. However, rabbits treated with D4 (500 µl/kg) and D5 (700 µl/kg) showed similar results to those treated with D2 and D1 respectively. Therefore, it would seem that Rosemary Verbenone essential oil induced a better effect by stimulating the reproductive function (development of the testicles, good development of spermatogenesis and fertility of infantile rabbits), with an optimal value obtained at D3 (400 µl/kg).

Key words: Rabbits; Testis; Reproduction; Verbenone rosemary (*rosmarinus*); Fertility.