RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et végétale

Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de Master (LMD) en Science Biologique
Spécialité : Biologie et Physiologie de la reproduction (BPR)

Thème

Etude préliminaire sur les effets des huiles essentielles (Romarin à verbénone et Sauge officinale) sur la structure des testicules et épididymes des lapins mâles âgés de 3 mois pré pubère de la souche synthétique.

Présenté par

M_{elle} : Nessah Nacéra

M_{elle} : Zaatri Soraya

Soutenu devant le jury :

Président: Mme Goucem-Khelfane	**Maitre de conférences A**	**UMMTO**
Promotrice : Mme. Ahmanache L.	**Maitre de conférences B**	**UMMTO**
Examinatrice : Melle Chougar S.	**Maitre assistante A**	**UMMTO**

Année universitaire :2017/2018

2017-2018

Remerciements

Avant tout nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Madame, LAKABI LYNDA, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être nos promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps qu'elle nous a consacré. On vous remercie très sincèrement pour votre patience.

A M^{me} GOUCEM qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury, sincères remerciements et notre immense gratitude.

Notre grande reconnaissance et la marque de notre profond respect à M^{elle} CHOUGAR., pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions toute l'équipe du laboratoire Anatomie et pathologie de CHU Nadir Mohammed (TO) qui ont contribué à l'accomplissement de ce modeste travail, un grand merci.

Dédicaces

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

- ✓ *Je dédie ce modeste travail* à ma famille et particulièrement à mes parents pour le soutien et les encouragements qu'ils m'ont témoigné dans les bons moments autant que dans les moments les plus difficiles.

- ✓ *A mes très chers frères, qui ont toujours cru en moi merci de m'avoir toujours soutenue dans ce que je voulais faire. Avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite*

- ✓ *A mes très chères sœurs et belle sœur 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, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

.

- ✓ *A mon oncle et tantes et tous mes proches.*

- ✓ *A toutes mes amis Lydia , Chahra, Meriem ,Smina et Lynda .*

Nacera

Dédicaces

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

- ✓ *Je dédie ce modeste travail* à ma famille et particulièrement à mes parents pour le soutien et les encouragements qu'ils m'ont témoigné dans les bons moments autant que dans les moments les plus difficiles

- ✓ *A mes très chers frères, qui ont toujours cru en moi merci de m'avoir toujours soutenue dans ce que je voulais faire. Avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite*

- ✓ *A mes très chères sœurs et belle sœur 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, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

- ✓ *A nos petits anges Hanane, Ilias, et Mourad.*
- ✓ *A mon oncle et tantes et tous mes proches. .*
- ✓ *A toutes mes amis Lydia, Chahra, Meriem ,Smina et Lynda*

Soraya

Liste des figures

Figure 1: Schéma de l'appareil génital du lapin mâle ……..……...….**2**

Figure 2 : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié)……**4**

Figure 3 : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007)...**5**

Figure 4: Structure de l'épithélium séminifère (Siffroi, 2001)……..……**7**

Figure 5 : Vascularisation du testicule (GOUAZE et *al*.,1977)……..….**8**

Figure 6 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (modifie d'après Hermo et Robaire, 2002)……..…….**9**

Figure 7 : Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009)…….**10**

Figure 8: Stéroidogenése dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001)……**13**

Figure 9 : Différenciation germinale schématisée (Marieb, 2006)……..**14**

Figure 10 : Schémas de spermatozoïde de mammifère (Le Moigne *et* Foucrier, 2009)……..**15**

Figure 11: Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle (Boussit 1989)…….....**18**

Figure 12: Photographie représentant les lapins de la souche synthétique (Originale, 2018)…… **24**

Figure 13 : Photographie représente les flacons des huiles essentielles (Originale, 2018)…….…**25**

Figure 14: Photographie représentant les lapins placés en groupes dans des cages spéciales (Originale,2018)……...…….**27**

Figure15: Photographie représentant l'administration des huiles essentielles aux lapins après les avoir pesés (Orginale,2018)…….....**28**

Figure 16: Photographie représentant un lapin sacrifié (Originale, 2018)……..**28**

Figure 17: Présentation de l'épididyme et de testicule du lapin lors du sacrifice (Originale ; 2018)…….**29**

Figure 18 : Détermination du poids et du volume des organes (Originale, 2018)…….….**29**

Liste des figures

Figure 19 : Photographie de la série des bains de déshydratation des gonades (Originale, 2018)……...……...……..**30**

Figure 20 : photographie des organes placé dans des moules qui recevront la Paraffine (Originale,
2018)……**31**

Figure 21: blocs de paraffine obtenue après l'inclusion (Originale, 2018)……...…..**32**

Figure 22 : Dispositif de la coupe, microtome (Originale, 2018)……**32**

Figure 23 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3mois prépubére……....**36**

Figure 24 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3 moisprépubére……...**37**

Figure 25 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules...**38**

gauches et droits des lapins de 3mois après l'administration de H2…….……**39**

Figure 26 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 3mois après l'administration de H3…….……**40**

Figure 27: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules

des lapins de 3 mois après l'administrations de huile essentielle (sauge officinale)……..….**40**

Figure 28: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules……**41**

Figure 29: Représentation graphique de l'évolution du poids des épididymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle (sauge officinale) administré…….……**42**

Figure 30: Représentation graphique de l'évolution du poids des épididymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle (romarin à verbinone) administré……..……**42**

Figure 31 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (sauge officinale) administré……**43**

Figure 32 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (Romarin à Verbinone) administré……**44**

Liste des figures

Figure 33: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (sauge officinale)…….**45**

Figure 34: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (romarin à verbinone)…….…….**45**

Figure 35: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (sauge officinale)…….**46**

Figure36: Représentation graphique du poids relatif des épididymes des lapins de 3 mois d'âges administré d'huile essentielle (Romarin Officinale……..**47**

Figure 37: Représentation graphique du volume totale des testicules des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (sauge officinal……**47**

Figure 38 : Représentation graphique du volume testiculaire totale des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (Romarin à Verbinone)……**48**

Figure 39: Représentation graphique du volume totale épididymaire des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (sauge officinale)……**48**

Figure 40 : Représentation graphique du volume totale épididymaire des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (Romarin à Verbinone)……..……..**49**

Figure 41 : vascularisation des testicules des lapins âgés de 5 mois (Originale, 2018)…...…**49**

Liste des planches

Planche 1: Microscopie de coupe histologique au nveau de testicule de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome de Massson au grossissement (10*40)……**50**

Planche 2 : Microscopie de coupe histologique au niveau de testicule de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome de Massson au grossissement (10*40)…….**51**

Planche 3 : Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome de Massson au grossissement (10*40)……..…**52**

Planche 4: Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome de Massson au grossissement (10*40)……..…**53**

SOMMAIRE

Introduction 1

Partie bibliographique

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

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle 2

1.1 Anatomie et histologie du testicule 3

1.1.1 Anatomie du testicule 3

1.1.2 Histologie du testicule 3

1.1.2.1 Tissus interstitiel 4

1.1.2.2 Tubes séminifère 4

1.1.2.3 Cellules de Leydig 5

1.1.2.4 Cellules de Sertoli 5

1.1.2.5 Cellules germinales 7

1.1.2.6 Liquides des compartiments intratesticulaires 7

1.1.3 Vascularisation et innervation du testicule 8

1.2 Anatomie et histologie de l'épididyme 9

1.2.1 Anatomie de l'épididyme 9

1.2.2 Histologie de l'épididyme 9

1.2.2.1 Cellules principales 10

1.2.2.3 Cellules basales 11

1.2.2.4 Cellules en halo 11

1.2.2.5 Cellules claires 11

1.2.2.6 Cellules apicales 11

Chapitre II Physiologie de la reproduction

1. Développement des gonades et puberté 12

2. Physiologie et fonction du testicule 12

2.1 Fonction endocrine du testicule : stériodogenése 12

2.2 Fonction exocrine du testicule : spermatogenèse 14

3. Physiologie et fonction du l'épididyme 16

3.1 Mode de sécrétion de l'épididyme 16

3.2 Fonctions de l'épithélium épididymaire 16

3.2.1 Acquisition de la mobilité 16

3.2.2 Apparition du pouvoir fécondant 17

3.2.3 Modification membranaire 17

3.2.4 Autre fonction de l'épididyme 17

4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction 18

4.1 Régulation hormonale du testicule 19

4.1.1 Régulation hypothalamo-hypophysaire 19

4.1.2 Régulation intragonadique des fonctions testiculaires 19

4.2 Régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire 20

5. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction 21

5.1 Effet de l'alimentation 21

5.2 Effet de la durée d'éclairement 22

5.3 Effet de l'hygrométrie 22

5.4 Effet de la température 22

5.5 Effet des l'huiles essentielles 22

Chapitre III Matériels et méthodes

1. Matériel biologique 24

1.1Model expérimental 24

1.2. Huiles essentielles utilisée 25

1.2.1 Sauge officinale (Salvia Officinales) 25

1.2.2 Romarin à vérbénone (Romarinus officicinalis) 26

1.2.3 Propriétés physico-chimiques 26

1.3 Autres Matériels 26

2. Expérimentation 27

3. Etude histologique 29

3.1Fixation 30

3.2 Déshydratation et éclaircissement 30

3.3 Imprégnation 31

3.4 Inclusion 31

3.5 Confection des coupes 32

3.6 Déparaffinage 33

3.7 Hydratation 33

3.8 Coloration topographique 33

3.9 Montage 33

3.10 Observation des lames 33

4.1 Etude statistique 34

Chapitre IV Résultats et Discussion

1. Résultat de l'étude macroscopique 35

1.1Evolution du poids vif des animaux 35

1.2 Evolution du poids testiculaire 37

1.2.1 Poids des testicules droits et gauches 37

1.2.2 Poids total des testicules 39

1.3 Evolution du poids épididymaire 41

1.3.1 Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit…… 41

1.3.2 Evolution du poids total de l'épididyme totale 42

1.4 Poids relatif des testicules 43

1.4.1 Évolution poids relatif des testicules 43

1.4.2 Evolution poids relatif des epididymes 45

1.5 Evolutions des volumes totaux 46

1.5.1 Évolutions des volumes totaux testiculaires 46

1.5.2 Évolutions des volumes totaux épididymaires 48

1.6 Vascularisation des testicules 49

2. Résultats de l'étude microscopique 49

2.1. Etude histologique testiculaire 49

2.1.1 Testicules des lapins traités par la sauge oficinale 49

2.1.2 Testicules des lapins traités par le romarin à verbénone 50

2.2 Etude histologique épididymaire 51

2.2.1 L'épididymes des lapins traités par la sauge officinale 51

2.2.2 L'épididymes des lapins traités par le romarin à verbénone…… 53

3. Discussion des résultats 53

3.1 Paramètre macroscopique…… 54

3.2 Paramètre histologique 54

Conclusion 57

Références bibliographiques 58

Introduction

Introduction

Le lapin présente 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. Il permet la mise en évidence de quelques processus reproducteurs comme les changements morphologiques du cycle épithélial séminifère, c'est pour cette raison qu'il est fortement apprécié. Cependant ces qualités sont altérées par les conditions qui sévissent en Algérie, notamment par l'environnement et la mauvaise gestion de l'élevage.

Le testicule est un organe paire de forme ovoïde contenu dans une poche revêtue de peau appelée le scrotum (Bedossa, 1998). Il se caractérise par une double structure (compartiment tubulaire où se déroulent la spermatogenèse et compartiment interstitiel riche en cellules de Leydig) et une double fonction.

L'épididyme est un organe accolé au testicule, formé d'un long tube épithélial, de longueur variable selon les espèces. L'épididyme présente trois segments anatomiques : la région antérieure ou tête; la région médiane ou corps et la région postérieure ou la queue.

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto –oestrogenes dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée. Ces composés sont succeptible de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorent ou en la perturbant

De ce fait le but de notre travail est de mettre en évidence l'influence des huiles essentielles (Sauge officinale et Romarin à vérbinone) à deux doses différentes sur la structure des testicules et épididymes des lapins mâles prépubère âgés de 3 mois.

Notre travaille se présente sous la forme de quatre chapitres qui traiterons dans le premier chapitre anatomo-histologique de l'appareil reproducteur mâle du lapin et dans le deuxième chapitre nous présentant la physiologie de la reproduction. Dans le troisième chapitre, nous aborderons les matériels et méthodes. Nous terminerons dans le quatrième chapitre par une discussion des résultats et une conclusion globale ainsi qu'un ensemble de perspectives.

Partie bibliographique

Chapitre I

Rappels anatomo-histologique de l'appariel reproducteur mâle du lapin

1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

Chez tous les mammifère et en particulier chez les ovins, caprins, porcins et lapins, l'organisation des appareils reproducteur est la même, avec néanmoins des différences concernant la taille, le poids et la forme des organes (Hamon et *al*., 1999). L'appareil génital mâle est formé par l'ensemble des organes chargés de l'élaboration du sperme et du dépôt de celui-ci dans les voies génitales de la femelle (figure 1) (Barone, 2001).

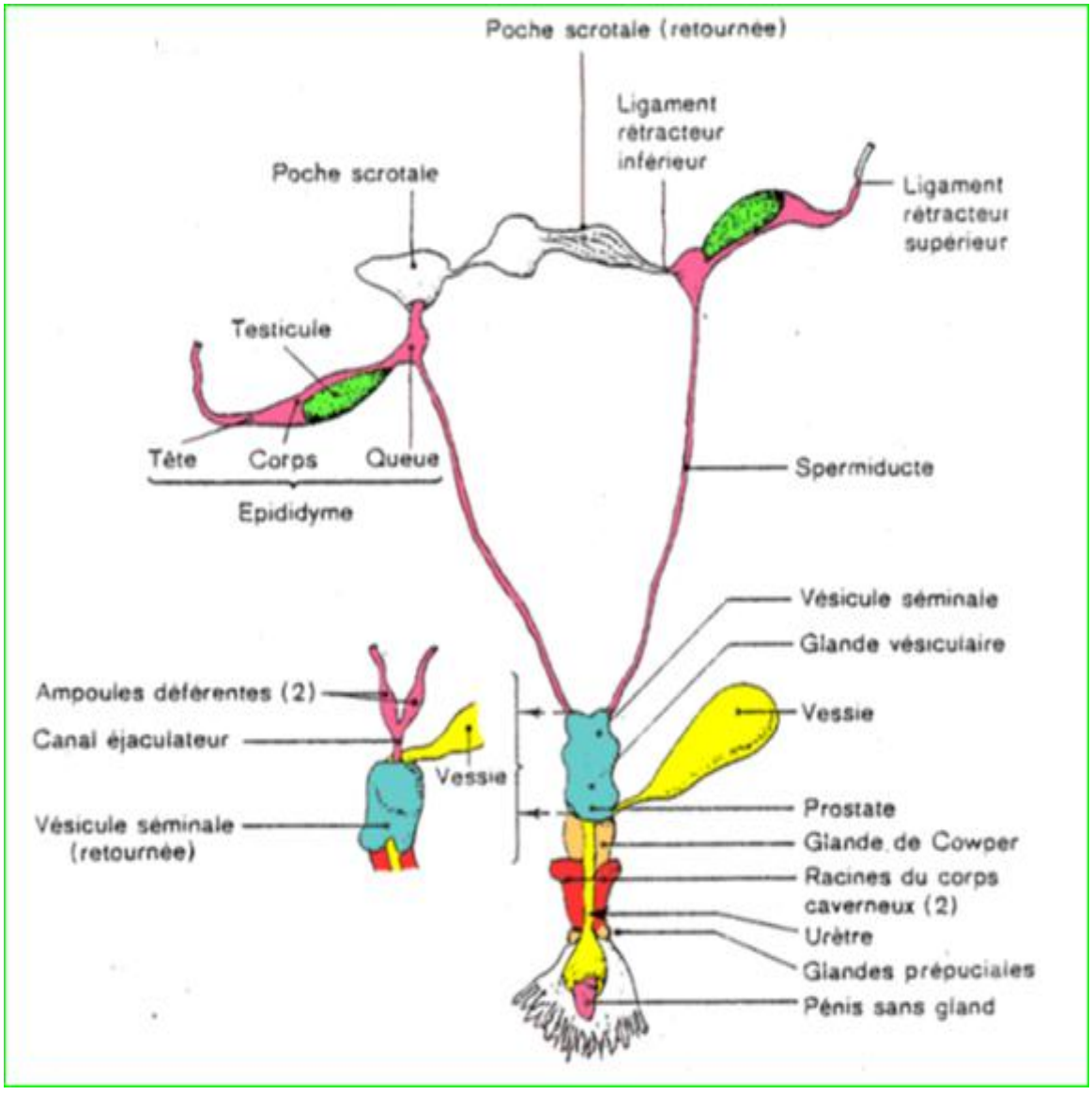

Figure 1: Schéma de l'appareil génital du lapin mâle (Lebas et *al.*,1996)

1.1 Anatomie et histologie du testicule

L'appareil reproducteur mâle a pour rôle la production de sperme et son dépôt dans les voies génitales femelles, où se réalise la fécondation. Il comprend deux gonades ou testicules, glandes génitales à doubles fonction, assurant l'élaboration des gamètes mâles ou spermatozoïdes et la sécrétion d'hormones sexuelles mâles.

Les testicules se différencient près des reins, mais chez les mammifères ils subissent, plus ou moins tôt par rapport à la naissance, une migration qui les amène à la périphérie du corps, afin que leur température soit de quelques degrés inférieure à celle du corps, condition indispensable au production des spermatozoïdes fécondants (Thibault et Levasseur ,1991).

1.1.1 Anatomie du testicule

Les testicules chez le lapin adulte sont de forme ovoïde amincis aux extrémités avec un pôle caudal plus pointu, mesurant 3 à 3.5 cm de longueur, 1 à 1.5 cm de largeur, 1 à 1.3 cm d'épaisseur et pesant 1.5 à 2 g (Boussit, 1989 ; Barone, 2001).

Il peut être divisé en deux compartiments principaux. Le compartiment extratubulaire comprend une partie intravasculaire en communication libre avec la zone interstitielle, où se situent les voies lymphatiques et les cellules de Leydig productrices d'androgènes. Le compartiment intratubulaire consiste en une partie basale qui se trouve en communication restreinte avec le milieu interstitiel Protégé et soutenu par une enveloppe appelée scrotum (Martin et Barry, 2002).

1.1.2 Histologie du testicule

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

L'épithélium du tube séminifère est constitué des cellules de Sertoli et des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse (des spermatogonies A aux spermatides) (figure2) (Barone, 2001).

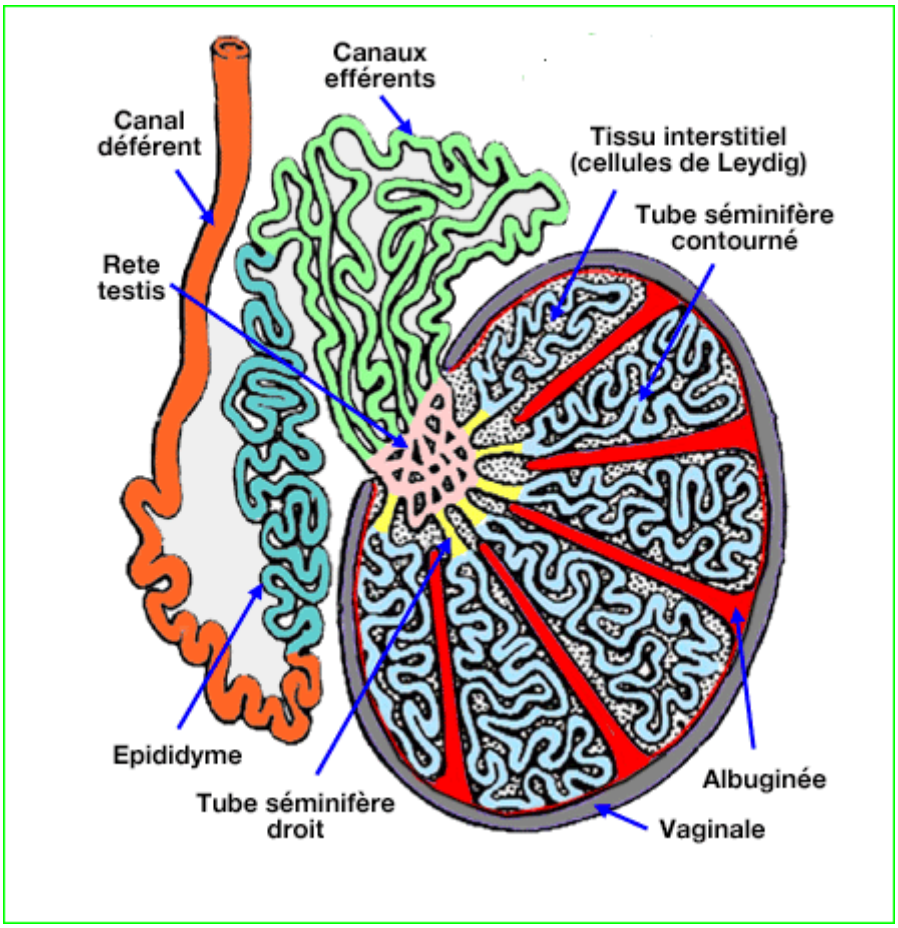

Figure 2 : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié).

1.1.2.1 Tissus interstitiel

La fonction endocrine du testicule est assurée par son tissu interstitiel, qui est un tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en nerfs, dans lequel sont répartie des cellules interstitielles en amas, appelées cellules de Leydig, ainsi que diverses cellules libres (fibroblastes, macrophages, lymphocytes…) (Barone, 2001).

1.1.2.2 Tubes séminifères

Les tubes séminifères, 2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin. Ils se jettent dans les tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le «*rete testis*», d'où partent une dizaine de canaux efférents qui traversent l'albuginée pour former la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993).

L'épithélium séminifère est constitué de cellules de Sertoli et des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse (des spermatogonies A aux spermatides) (Figure 3).

Les cellules de Sertoli ont un rôle de protection et de contrôle de la maturation et la migration des cellules germinales (Wrobel, 1990).

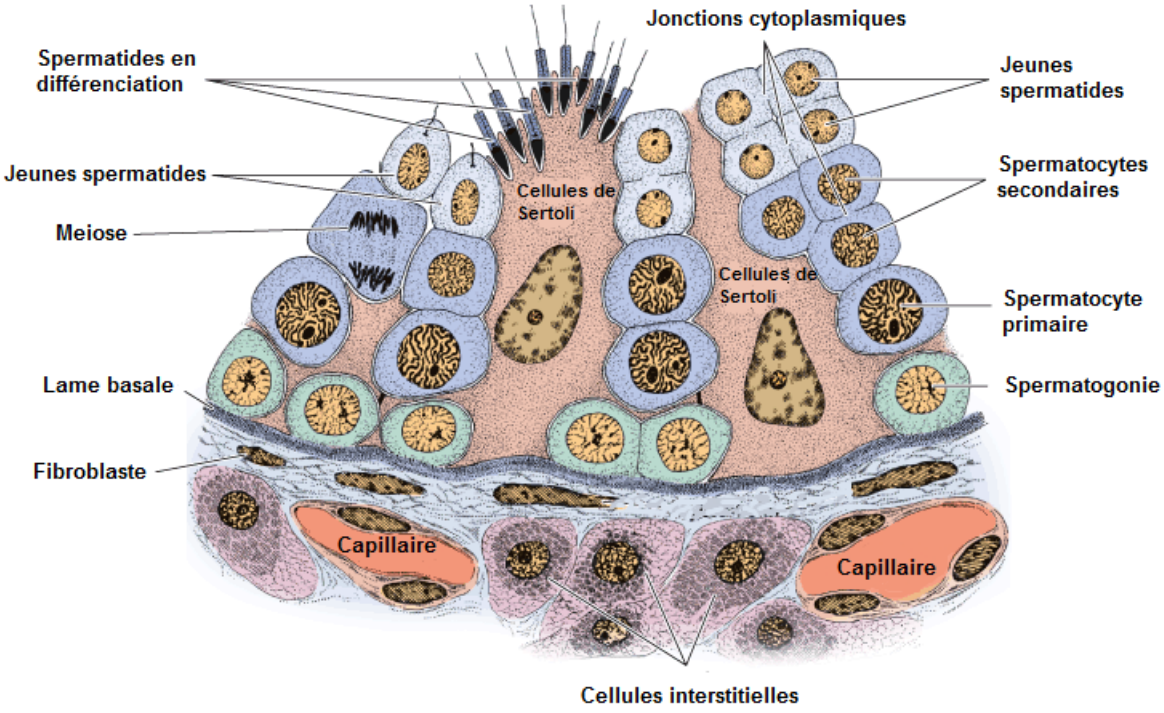

Figure 3 : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).

1.1.2.3 Cellules de Leydig

Les cellule de Leydig sont des cellules polygonales qui sont soit isolées, soit groupées en amas autour des capillaires sanguins et entourées par une lame basale discontinue. Ces cellules possèdent un noyau rond avec un volumineux nucléole. Le cytoplasme riche en citernes de réticulum endoplasmique lisse et de mitochondries de taille variable et peu nombreuses garnies de crêtes généralement lamellaires. Différents types de jonction cellulaires ont été mis en évidence sur la membrane plasmatique : de type gap, desmosomes rudimentaires et plus rarement des jonctions septées (Thibault et Levasseur, 2001).

1.1.2.4 Cellules de Sertoli

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale qui s'étend sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère. Sa forme et son volume varient au cours du cycle de l'épithélium

séminal. Le corps cellulaires repose sur la lame basale de la gaine péritubulaire. Ses faces latérales sont en contact étroit avec les cellules de Sertoli adjacentes et les cellules germinales aux divers stades de la spermatogenèse (Thibault et Levasseur (2001).

Chaque cellule de Sertoli est connectée aux cellules adjacentes par des jonctions serrées disposées au pôle basal limitant deux compartiments : un compartiment basal, périphérique et un compartiment central ou adjacent à la lumière. Les jonction serrées, disposées entre les cellules des Sertoli, constituent la composante structurale essentielle de la barrière hémato-testiculaire.

D'autres types de jonction relient les cellules de Sertoli entre elles et avec les cellules germinales : des jonctions d'ancrage comportant plusieurs variétés de cadhérines, et des jonctions communicants de types gap (figure 4) (Hazard et Perlemuter ,2000).

Selon Thibault et Levasseur (2001), les potentialités des cellules de Sertoli sont multiples :

- Jouent un rôle protecteur contre les réactions immunitaires ;
- Contrôlent la maturation et la migration des cellules germinales ;
- Assurent la phagocytose des cellules germinales dégénérescentes ;
- Sont impliqué dans la synthèse stéroïdienne et protéinique ;
- Participent à des secrétions bidirectionnelles tubulaire et interstitielle.

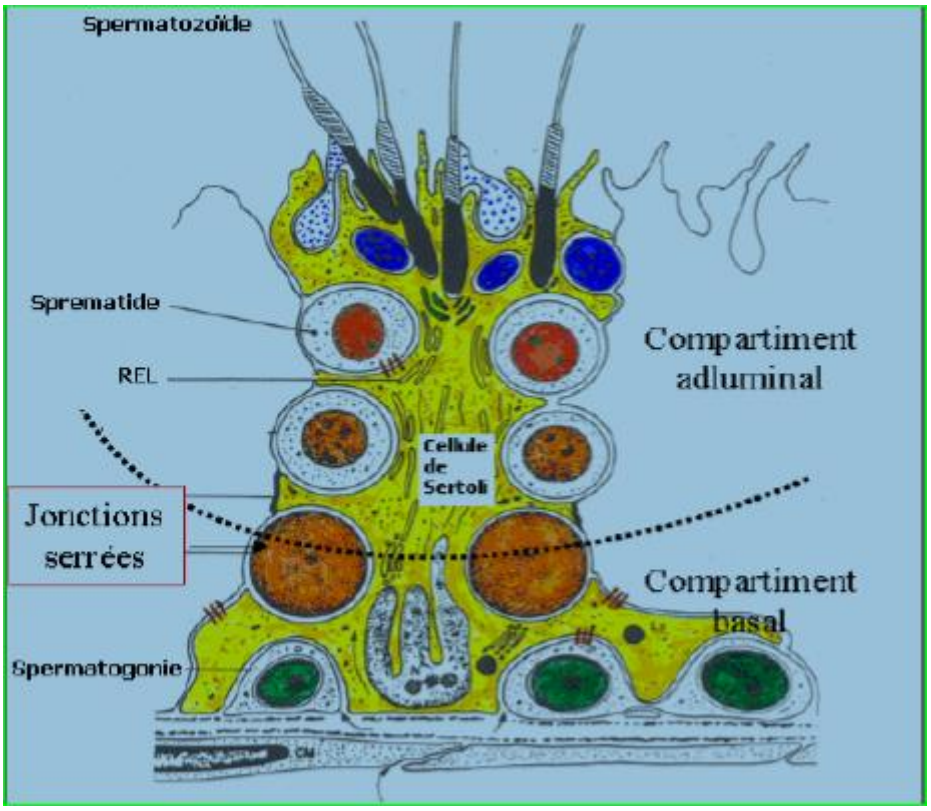

Figure 4: Structure de l'épithélium séminifère (Siffroi, 2001).

REL : Réticulum endoplasmique lisse

CM : Cellule myoïde.

1.1.2.5 Cellules germinales

Les spermatogonies du lapin, comme celles de tous les mammifères, se divisent en deux catégories principales : spermatogonies du type A qui en se proliférant donnent naissance à des spermatogonies du type B (Boussit, 1989).

Les spermatogonies du type B recrutées effectuent une réplication de l'ADN, suivie de la première division de méiose qui les transforme en spermatocytes I tétraploïde. L'achèvement de cette première division conduit à deux spermatocytes II diploïdes. Chacun subit alors la deuxième division de méiose, sans synthèses d'ADN, ce qui conduit à la formation de deux spermatides haploïdes. La dernière phase est la spermiogénèse, qui transforme les spermatides en spermatozoïdes (Clermont, 1972).

1.1.2.6 Liquides des compartiments intra –testiculaires

Les tubes séminifères et les cellules interstitielles baignent dans un liquide interstitiel, joue ainsi un rôle déterminant dans la fonction endocrine et paracrine du testicule.

Le liquide contenu dans les tubes séminifères assure le transport des spermatozoïdes relargués dans la lumière (Thibault et Levasseur, 2001). C'est un liquide riche en minéraux, principalement en potassium, en magnésium, en phosphore, en calcium et en chlore. Il est très riche en Androgen Binding Protein (ABP) et pauvre en autres protéines (Hocherau De Reviers et Royere, 1996).

Le liquide du rets testis ne serait qu'une sécrétion tubulaire remaniée, probablement du fait d'échanges avec les veines testiculaires superficielles.Il contient des protéines et des peptides spécifiques : ABP, inhibine et hormone antimüllérienne (Thibault et Levasseur, 2001).

1.1.3 Vascularisation et innervation du testicule

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

L'innervation dépend de deux plexus nerveux ; le plexus spermatique qui est parasympathique et le plexus déférentiel qui est sympatique (figure 5) (Jardin et De Fourmestraux, 1984).

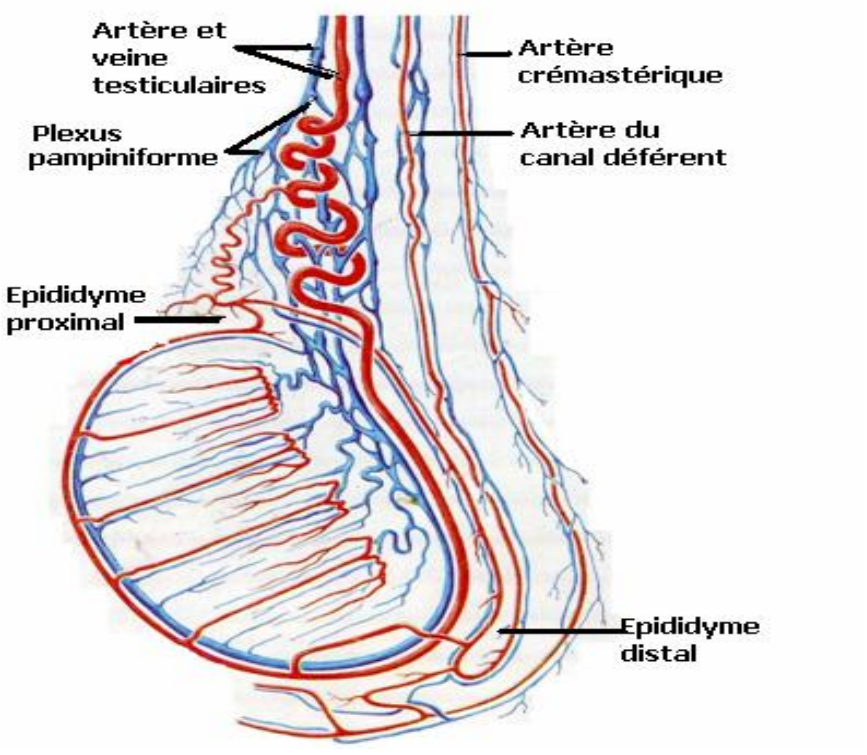

Figure 5 : Vascularisation du testicule (Gouaze et *al*.,1977)

1.2 Anatomie et histologie de l'épididyme

1.2.1 Anatomie de l'épididyme

L'épididyme est un tube de longueur variable selon les espèces (5 m chez l'homme, 6 m chez le lapin) qui relie les canaux efférents au canal déférent. Ce tube très contourné qui forme des lobules séparés par des travées conjonctives présente trois grands parties anatomiques : la tête (partie proximale), le corps (partie médiane) et la queue (partie distale).Ces parties sont également subdivisées en plusieurs segments chacun d'entre eux étant délimité par des cloisons conjonctives (Thibault et Levasseur, 2001) (figure 6).

Autour de ce canal, on note la présence d'une mince couche de fibres musculaires lisses, dont les contractions permettent le transit des spermatozoïdes (Bonnes et *al.*, 2005).

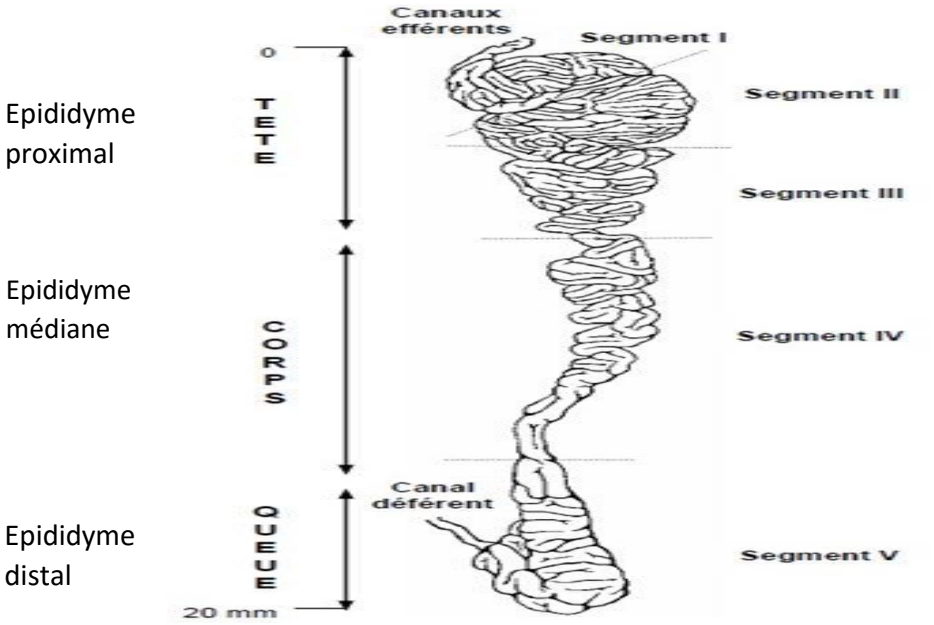

Figure 6 : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (modifie d'après Hermo et Robaire, 2002).

1.2.2 Histologie de l'épididyme

Le canal épididymaire comprend deux compartiments : un épithélium pseudostratifié, entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses et du tissu conjonctif, contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins; et une lumière bordée par cet épithélium.
Cinq types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épididymaire et présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Robaire et Hermo, 1988).

Les cellules ciliées, les cellules glandulaires et les cellules basales sont solidarisées les unes aux autres par des différenciations des membranes cellulaires, réalisé par des desmosomes (Figure 7) (Girod et Czyba, 1977).

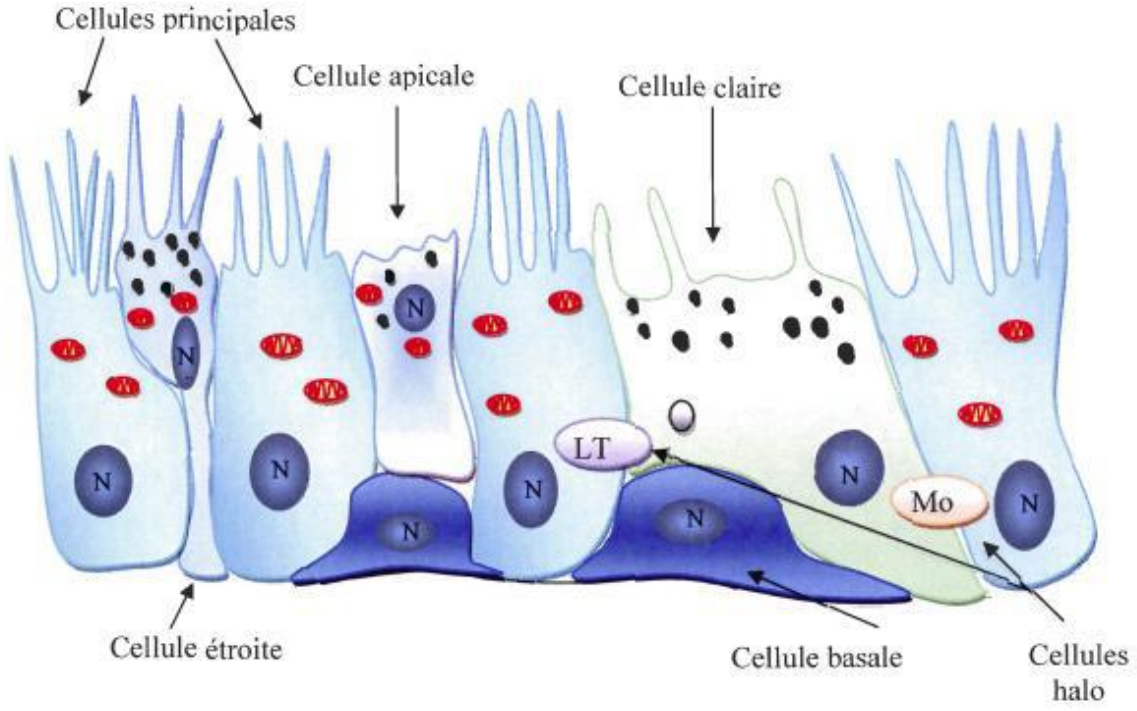

Figure 7 : Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009).

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

1.2.2.1 Cellules principales

Les cellules principales (cellules stéréociliées), les plus nombreuses, constituent 65-80 % de la population de cellules épithéliales épididymaires totale. Ces larges cellules prismatiques présentent des caractéristiques structurales variables d'un segment à l'autre (Hermo et Robaire, 2002). Leur hauteur est plus élevée dans la tête que dans la queue de l'épididyme, tout comme la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôle apical (Ramos et Dym, 1977).

Ces cellules, reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes, sont très actives à différents niveaux : transport et sécrétion de petites molécules organiques ; synthèse et sécrétion de protéines et enfin, réabsorption du fluide épididymaire (Robaire et Hermo, 1988 ; Robaire et Viger, 1995 ; Cooper, 1998).

1.2.2.3 Cellules basales

Les cellules basales sont localisées à la périphérie de l'épithélium, au voisinage immédiat de la membrane basale, elles sont de petite taille et possèdent peu d'organites.

Leur fonction est inconnue mais il semblerait, respectivement d'après Veri et *al*. (1993) et Cooper (1998), qu'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-épididymaire .

1.2.2.4 Cellules en halo

Les cellules en halos sont identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natal, elles sont disséminées tout le long du canal épididymaire. Ces cellules en halo contribuent à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Hoffer *et al.*, 1973).

1.2.2.5 Cellules claires

Les cellules ces grandes cellules prismatiques sont présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme.

Selon Girod et Czyba (1977), deux catégories de ces cellules ont pu être individualisées :

- Des cellules claires chargées de phospholipides : elle représente 20% des cellules de l'épithélium épididymaire, dans la région de la tête de l'épididyme
- Des cellules claires dépourvues d'enclaves lipidiques abondantes dans la queue de l'épididyme et correspondant à des cellules mucigénes.

1.2.2.6 Cellules apicales

Les cellules apicales sont qualifiées ainsi en raison de la localisation de leur noyau dans le tiers apical des cellules, les cellules apicales présentent, quant à elles, un cytoplasme dense, très riche en mitochondries, contenant des lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H+ et la réabsorption des bicarbonates (HCO3-). Elles seraient ainsi, responsables de l'acidification du fluide épididymaire (Martinez-Garcia *et al*., 1995). Il a également été montré qu'elles sont capables d'endocyter des substances contenues dans la lumière (Adamali *et al.*, 1999).

Chapitre II

Physiologie de la reproduction

La physiologie de reproduction du lapin suit la même organisation que celle des autres mammifères. En effet, la production des gamètes ou spermatogenèse, s'effectue dans le testicule tandis que la maturation des spermatozoïdes s'accomplira au niveau de l'épididyme.

1. Développement des gonades et puberté

La différenciation des gonades commence le 16 éme jour suivant la fécondation et la production d'hormones androgènes dès le 19éme jour de la gestation. Après la naissance, les testicules se développent moins vite que le reste du corps, puis connaissent une croissance extrêmement rapide après l'âge de cinq semaines. Les glandes annexes ont une croissance de même type mais légèrement décalée dans le temps et plus tardive. La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours et les tubes testiculaires deviennent actifs vers 84 jours. Les premiers spermatozoïdes sont présents dans l'éjaculat vers 110 jours, ce qui correspond à la fin de la différenciation de la queue de l'épididyme (Berger *et al.*, 1982).

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

2. Physiologie et fonction du testicule

2.1 Fonction endocrine du testicule : stériodogenése

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).

Le transport du cholestérol du cytoplasme vers la membrane mitochondriale, où a lieu la première réaction enzymatique de la stéroïdogenèse, est une étape clef et limitante de ce processus. Plusieurs protéines interviennent dans ce transport du cholestérol ; la plus importante et étudiée, étant la protéine StAR (Clark *et al.*, 1994).

La transformation du cholestérol en testostérone nécessite plusieurs étapes. La première étape est une étape clef, permettant la conversion du cholestérol en prégnénolone par le cytochrome P450scc, situé dans la membrane interne de la mitochondrie, induisant la coupure de la chaîne latérale du cholestérol (O'Shaughnessy et Murphy 1991).

La source des œstrogènes au niveau du système reproducteur est la cellule de Sertoli chez les animaux immatures, sa production par la P450 aromatase par la cellule de Leydig, par la cellule germinale et les spermatozoïdes (Levallet *et al.*, 1998).

95% de la testostérone présente dans le sang provient du testicule. Les 5% restant résultent d'une production surrénalienne et de la conversion périphérique de l'androsténedione.

La LH et hCG stimule la production de testosterone par la cellule de Leydig. La FSH potentialise les effets de la LH par action indirecte car la cellule de Leydig ne possède pas de récepteurs pour cette gonadotropine, il est probable que la FSH stimule au niveau des cellules de Sertoli, la sécrétion d'un facteur qui via le liquide interstitiel, module les fonctions leydigiennes (figure 8) (Thibault et Levasseur, 2001).

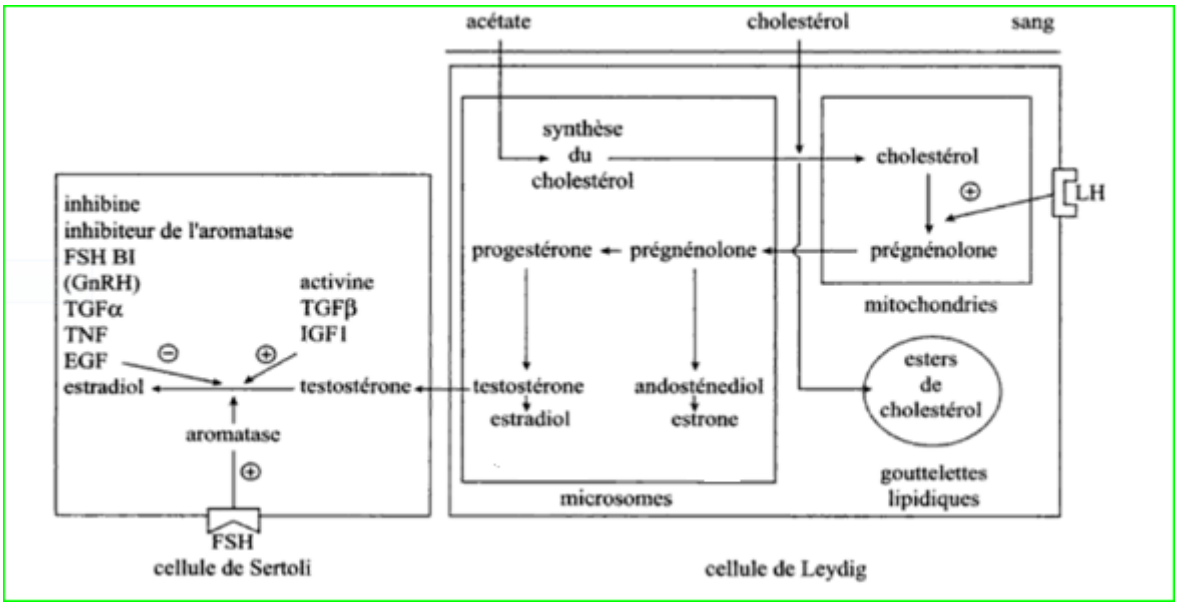

Figure 8: Stéroidogenése dans les cellules de Leydig et aromatisation dans les cellules de Sertoli (Thibault et Levasseur, 2001).

2.2 Fonction exocrine du testicule : spermatogenèse.

Le rôle exocrine des testicules consiste en la production des spermatozoïdes au niveau des tubes séminifères qui s'amorce pendant la puberté et se poursuit tout au long de la vie. Elle début par la mitose des spermatogonies en cellules filles, dont certaine demeurent près de la membrane basale du tubule séminifères et servent de réservoir de cellule souches pour de futures mitoses. les autres spermatogonies se différencient en spermatocytes de premier ordre est rentre en spermatogenèse qui comporte 3 phase : méiose I, méiose II, spermiogénèse (figure 9) (Tortora et Derrickson,2009).

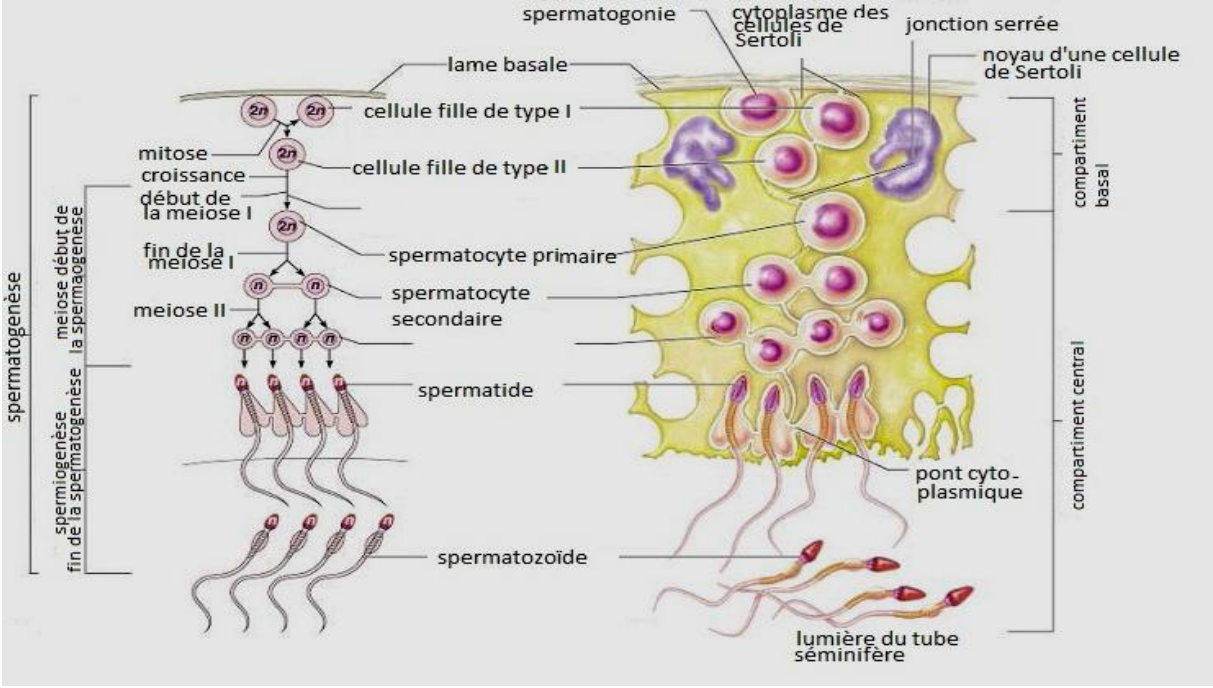

Figure 9 : Différenciation germinale schématisée (Marieb, 2006).

Les spermatocytes I subissent la méiose I et produisent des spermatocytes de deuxième ordre, ou spermatocytes. II contiennent chacune 23 chromosomes formés de deux chromatides. Ces derniers vont subir à leur tours la méiose II et donner des spermatides et contiennent 23 chromosomes constitués d'une seule chromatide (Tortora et Derrickson, 2009).

La spermiogénèse est la dernière phase conduisant à la formation des spermatozoïdes, durant cette phase les spermatides se transforment en spermatozoïdes. A partir de ce stade il n'ya plus de divisions cellulaires, mais on observe surtout des métamorphoses extrêmement

complexes à l'échelle moléculaire et cellulaire des spermatides, pour aboutir à la formation des spermatozoïdes (Schulz et *al*. ,2005).

La différenciation des gamètes mâles s'effectue dans le testicule. Cependant à leur sortie les spermatozoïdes ne sont pas matures : ils ne sont ni mobiles, ni fécondants.la différenciation se poursuit en dehors de la gonade, dans le tube épididymaire et constitue ce qu'on appelle la maturation des spermatozoïdes. Dans l'épididyme, les spermatozoïdes continuent à se transformer en subissant plusieurs modifications, qui les rendront aptes à reconnaitre et à féconder un ovocyte d'une même espèce (Thibault et Levasseur, 2001).

La structure morphologique du spermatozoïde du lapin est semblable aux autres mammifères, voir, deux parties principaux, la tête (formes et dimensions variables) et le flagelle. Le spermatozoïde du lapin mesure entre 55 et 57 µm ; la forme de la tête est ovoïde, piriforme et rétrécie caudalement, dont il abrite une chromatine nucléaire très dense, entourée par l'acrosome sur le trois quart de sa surface. En arrière, on observe une région post-acrosomiale, délimitée par un segment équatorial.

Le col est une pièce d'union entre la tête et la queue, il s'attache à l'extrémité postérieure du noyau par une pièce basale, d'où naisse le centriole proximal. La queue du spermatozoïde du lapin mesure 45 µm (figure 10) (Barone, 2001; Boitiet *al*., 2005).

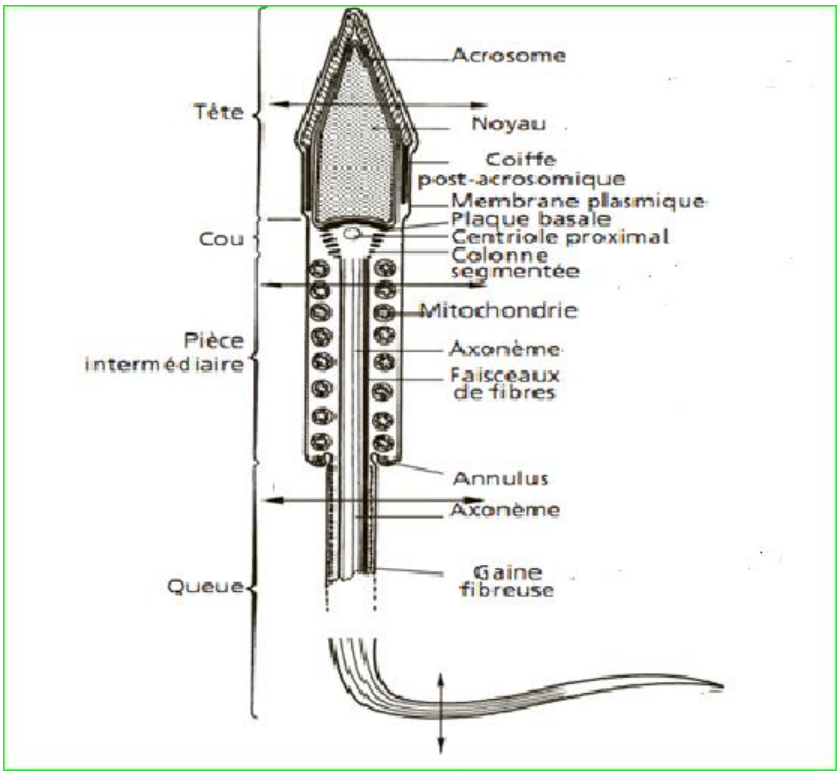

Figure 10 : Schémas de spermatozoïde de mammifère (Le Moigne *et* Foucrier, 2009).

3. Physiologie et fonction du l'épididyme

3.1 Mode de sécrétion de l'épididyme

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

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

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

3.2 Fonctions de l'épithélium épididymaire

La maturation des spermatozoïdes est l'ensemble des modifications qu'il subissent au cours de leur passage dans l'épididyme, qui leur permet d'acquérir la mobilité et le pouvoir fécondant (Thibault et Levasseur, 2001).

3.2.1 Acquisition de la mobilité

Chez la plupart des mammifères, les spermatozoïdes commencent à osciller dans la tête de l'épididyme mais la mobilité progressive est acquise dans la région caudale, dans le corps apparaissent des mouvements inefficaces.

Après avoir traversé les canaux efférents, les spermatozoïdes sont pris en charge par l'épididyme qui assure leurs transits par les contractions des fibres musculaires lisses qui l'entourent afin de les acheminer vers la queue de l'épididyme (Robaire et Hermo, 1988).

A la sortie du testicule et au niveau de la tête antérieure, les spermatozoïdes sont immobiles. Au niveau des différentes parties de l'épididyme, le déplacement des spermatozoïdes est pris en charge par des mouvements transitoires spécifiques de chacune

des parties de l'organe épididymaire. Le contrôle de cette mobilité dépend des facteurs oxygènes et endogènes (Thibault et Levasseur, 2001).

3.2.2 Apparition du pouvoir fécondant

D'après Boussit (1989), le revêtement glyco-protéique des spermatozoïdes est modifié au cours du 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.

Ces modifications interviendraient dans les propriétés d'agglutination du sperme, dans le développement de la capacité fertilisante, notamment pour la reconnaissance de l'ovule. La capacité fertilisante est acquise dans la moitié inférieure du corps de l'épididyme, bien que la proportion des spermatozoïdes fertiles dans cette zone reste encore moindre que dans la queue de l'épididyme ou dans les canaux déférents (Thibault et Levasseur, 2001).

3.2.3 Modification membranaire

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

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

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

3.2.4 Autre fonction de l'épididyme

L'épididyme est le lieu de stockage des spermatozoïdes ; le stock total de 1000 x 106 spermatozoïdes. Néanmoins, le stockage des spermatozoïdes au niveau de la queue épididymaire, varie selon l'activité sexuelle et la durée de la photopériode (Alvarino, 1993).

Le fluide épididymaire, de par sa composition très variée, riche en protéines, ions divers, inositol, L-carnitine et en acide sialique provenant du sang, ou sécrétés par l'épithélium, participe aussi à la survie et au maintien de l'intégrité des spermatozoïdes (Riar et *al.*, 1973).

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

4. Régulation hormonale de la fonction de reproduction

La fonction sexuelle du lapin mâle fait l'objet d'une régulation de type neuroendocrinienne. Les hormones intervenant dans cette régulation ont deux origines : le complexe hypothalamo-hypophysaire et les testicules (figure 11) (Bonnes *et al.*, 2005).

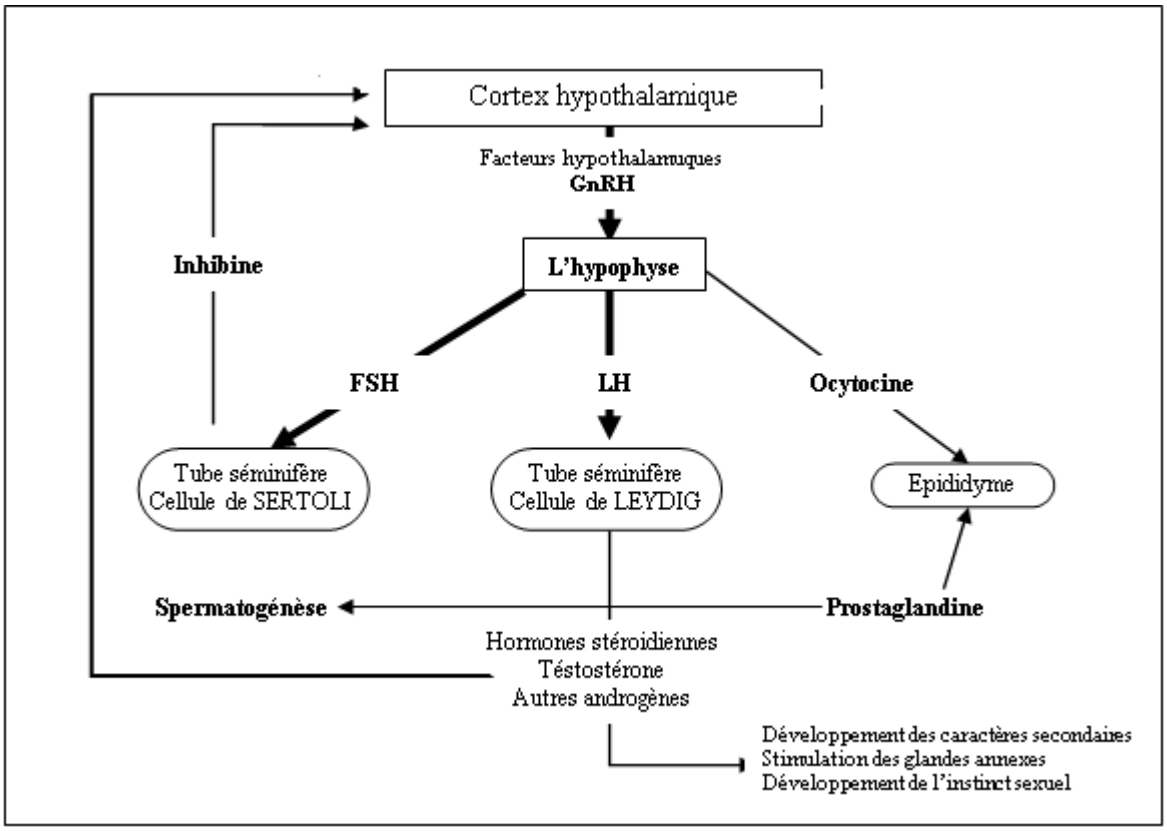

Figure 11: Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle (Boussit ,1989).

4.1 Régulation hormonale du testicule

4.1.1 Régulation hypothalamo-hypophysaire

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

La GnRH, secrétée 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 Sertoli qui secrètent l'ABP et l'inhibine. 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 Leydig et stimule la sécrétion de testostérone. Celle-ci se lie au niveau de cytoplasme Sertolien à l'ABP dont le complexe ainsi formé stimule le développement de l'épithélium séminale (Vaissaire, 1977).

Selon Nguyen et Bourouina (2008) la testostérone exerce les actions suivantes :

- sur la spermatogenèse : la testostérone agit localement et directement sur les cellules de Sertoli, facilitant ainsi la spermatogenèse. Un déficit en testostérone conduit à la stérilité.

- sur le développement de l'ensemble des organes génitaux masculins : testicule, épididyme, canal défèrent, vésicule séminale, prostate.

- sur les caractères sexuels secondaires.

4.1.2 Régulation intragonadique des fonctions testiculaires

La testostérone sécrétée par les cellules de Leydig agit en synergie avec la FSH pour stimuler les sécrétions sertoliennes (Lejeune *et al.*, 1996).

De plus, de nombreuses études suggèrent que le testicule et plus spécifiquement les cellules de Leydig sont la cible des oestrogènes. Il a été montré que le testicule est capable de synthétiser des oestrogènes et que leurs récepteurs (ER) seraient présents dans les cellules de Leydig (Lambard *et al.*, 2005).

Il est supposé que les oestrogènes ont une influence inhibitrice sur la stéroïdogenèse des cellules de Leydig matures, de façon directe en inhibant certaines enzymes impliquées

dans la voie de biosynthèse de la testostérone, ou en limitant le développement et la prolifération des cellules de Leydig. Cependant, les mécanismes d'action des oestrogènes sont à l'heure actuelle encore mal connus (Abney 1999)

L'inhibine et l activine semblent être impliquées dans la régulation de la stéroïdogenèse. Des études ont montré que l'inhibine inhibe la production de testostérone par les cellules de Leydig, alors que l'activine active la production de testostérone par les cellules de Leydig *in vitro* (Lin *et al.* 1989).

La synthèse de testostérone peut également être régulée par de nombreux facteurs locaux comme les cytokines TNF et IL-1, sécrétées par les macrophages, ainsi que par d'autres facteurs de croissance tels que l EGF, TGF , IGF-1 et le FGF (Payne et O'Shaughnessy 1996). Ces facteurs régleraient la synthèse de testostérone à différents niveaux en modulant : la disponibilité en cholestérol, l'expression d'enzymes clefs de la stéroïdogenèse, l'expression du récepteur à la LH.

4.2 Régulation des fonctions de l'épithélium épididymaire

Selon leur proximité par rapport aux cellules-cibles, on distingue premièrement parmi les principaux acteurs, les facteurs endocrines arrivant par la voie systémique ; puis, les facteurs lumicrines apportés par la lumière du canal épididymaire et enfin, les facteurs paracrines et/ou autocrines produits par les cellules avoisinantes, ou les cellules elles-mêmes (Robaire *et al.*, 2003).

Il est clairement bien connu que les œstrogènes interviennent dans l'absorption du fluide luminal, la transition pubertaire (Parlevliet *et al.,* 2006) l'expression des protéines comme la lactoferrine (Yu et Chen, 1993), la cystatine 12 (Li *et al.,* 2005), et probablement celles qui interviennent dans le remodelage membranaire et le stockage des spermatozoides, puisque, suite à traitement par les E-antagonistes les spermatozoïdes ne sont pas mobiles chez le singe (Shayu *et al.*, 2005).

Les androgènes sont importants pour plusieurs fonctions de l'épididyme. Ils sont nécessaires pour le maintien de la morphologie des cellules principales et préviennent leur apoptose (Fan et Robaire,1998), ainsi que l'expression et la sécrétion des protéines, la régulation des protéines qui interviennent dans le remodelage membranaire des

spermatozoïdes, la régulation des ions et des protéines qui interviennent dans la motilité des spermatozoïdes, l'expression des protéines intervenant dans le stockage des spermatozoïdes au niveau de la queue et la glycosylation des protéines (Castellon et Huidobro, 1999).

Chez l'homme, les cellules principales expriment l'activine, la follistatine et la sous unité β de l'inhibine. Il semblerait que ces molécules interviennent dans la maturation du sperme et le pouvoir fécondant durant le transit et le stockage des spermatozoïdes (Bahathiq *et al.,* 2005). Bien que les principaux sites de synthèse d'activine et d'inhibine dans le tractus génital mâle soient le testicule et la prostate, leur expression a également été mise en évidence au niveau de l'épididyme (Matzuk *et al.,* 1995).

L'endothéline-1 agirait au niveau épididymaire selon un mode d'action paracrine pour induire la contraction des cellules musculaires lisses et par conséquent faciliter la progression des spermatozoïdes lors de leur transit épididymaire. Cette activité contractile, dépendante des oestrogènes serait régulée par l'ocytocine (Filippi et *al*., 2002).

L'ocytocine intervient dans les fonctions de reproduction mâle, en participant entre autre à la stéroïdogenèse, à la contraction des tubes séminifères et du tubule épididymaire (Niemi et Kormano, 1965; Suvanto et Kormano, 1970).

5. Facteurs de l'environnement influençant sur la reproduction

Les variations environnementales sont un paramètre très important à identifier dans un élevage. Les lapins sont des animaux très sensible au facteur d'environnement tels que : température, humidité, alimentation, saison...

5.1 Effet de l'alimentation

La maturité et la précocité sexuelle sont des critères importants pour prévoir la fertilité. Le niveau nutritionnel durant la croissance influence significativement cette précocité sexuelle. L'alimentation des mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectées lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculât, de la concentration en spermatozoïdes ainsi qu'un abaissement des performances de reproduction des femelles inséminées. Par contre, un excès dans l'alimentation provoque un engraissement important qui est préjudiciable à la reproduction (Lebas et *al*.,1991).

5.2 Effet de la durée d'éclairement

L'éclairage joue un rôle important sur la reproduction des lapins. Une période d'éclairement de 16 heures par jour permet d'obtenir une bonne activité reproductive des femelles et une production régulière toute l'année. Ceci est dû à une bonne acceptation du mâle et une meilleure fécondité qu'elle que soit la saison (Lebas et *al*.,1991).

5.3 Effet de l'hygrométrie

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 l'humidité excessive augment la charge microbienne de l'air et provoque ainsi une sensation de froid chez l'animal et plus souvant des maladies respiratoires et digestives.

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

5.4 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 (34c° pendant 8 h) déprime l'activité sexuelle et perturbe la spermatogénèse en augmentant sensiblement le pourcentage des spermatozoïdes morts (Boussit, 1989 ; Kasa *et al.,* 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. la quantité et la qualité de la semence produite sont extrêmement sensibles à de fortes chaleurs couplées à une forte hygrométrie.

5.5 Effet des l'huiles essentielles

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

essentielles peuvent avoir selon la plante utilisée pour leur confection une toxcité plus au moins importante chez les lapins et rongeurs de compagnie (kammerer *et al.*,2012).

Chapitre III

Matériels et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de D_r Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude du développement gonadique et de la maturité sexuelle des lapins. Les objectifs de ce présent travail est de voir l'impact des différentes huiles essentielles <<Sauge Officinale et Romarin a verbénone>> sur la structure des testicules et épididymes du lapin mâle de la souche synthétique âgée de 3 mois, à travers une étude histologique de leurs structure en relation avec les poids vifs ainsi que les poids et volumes des gonades.

1. Matériel biologique

1.1Model expérimental

Nos expériences sont menées sur des lapins de sexe mâle (figure 12) de la souche synthétique (améliorée) provenant d'un élevage cunicôle de Tigzirt au niveau de l'unité d'ITMAS (Institut Technologique Moyen Agricole Spécialisé) située dans la région de Boukhalfa à 5 Km du chef-lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou, durant le mois du Mai 2018.

Le type amélioré, ont initié initié à l'institut technique des élevage-Baba-Ali, Alger (ITELV) à partir de 2003 en collaboration avec l'INRA de Toulouse (Gacem et *al,* 2009).Cette souche est caractérisée par une prolificité importante (9 lapereaux née vivant par mi-bas), un poids adulte sensiblement plus élevé et une meilleure aptitude à la croissance que la population locale algérienne (Gacem et al., 2009).

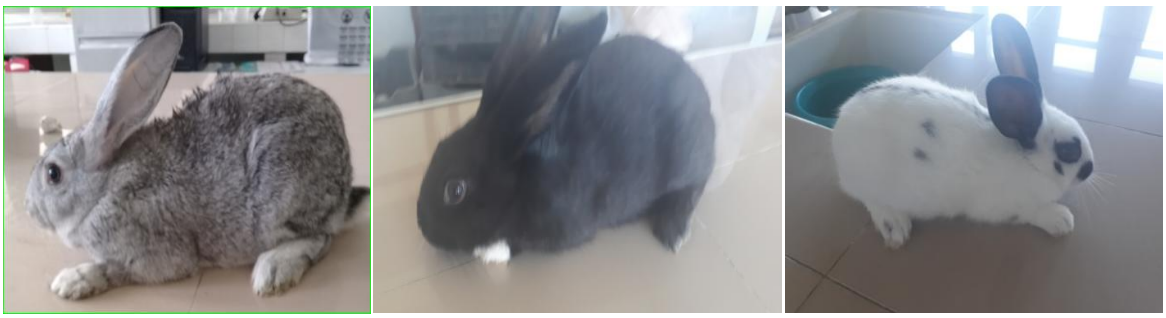

Figure 12: Photographie représentant les lapins de la souche synthétique (Originale, 2018).

Selon Lebas et al , (1984) La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante :

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

1.2. Huiles essentielles utilisées

1.2.1 Sauge officinale (Salvia Officinalis)

Une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arome pour un parfumeur ou encore la quintessence ou l'esprit d'un végétale pour alchimiste. Dans la réalité, une huile essentielle est l'ensemble de tout cela (figure 13) (Dob et *al* .,2005).

Sauge officinale (Salvia Officinalis) de la famille des labiées est un sous arbrisseau annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne, aussi appelée sauge de Grèce, herbe sacrée, grade sauge, thé d'Europe. La sauge est une plante guérisseuse par excellence. Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde contre une trentaine environ en Algérie (Maksinovic et *al*., 2007).

Figure 13 : Photographie représentant les flacons des huiles essentielles (Originale, 2018).

1.2.2 Romarin à vérbénone (Romarinus officicinalis)

D'après Aubineau et *al.* (2002), la sauge 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.

1.2.3 Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont 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 fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques et les huiles végétales, entraînables 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 ; 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.

1.3 Autres Matériels

D'autres matériels sont utilisès dans notre expérimentation tels que : bérchers, tubes sec, eppendorfs, cassettes, éprouvettes, pipettes graduées, des bavettes, papiers filtres, des gants, ciseaux, scotch, étiquettes, spatules, Balance a précision, Centrifugeuse, l'étuve.

2. Expérimentation

L'expérimentation a été réalisée sur 15 lapins âgés de 3 mois qui sont sélectionnés et placés en groupes dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole (figure 14), un lot de 3 lapin est mis dans chacune des cages. Ils sont tous exposés aux mêmes conditions de température, de lumière et d'humidité, qui sont celles de l'environnement ambiant. Les animaux sont nourris par un aliment sec granulé fournit par l'ONAB (Office National de l'Aliment de Bétail) et l'abreuvement est assuré par un système de tétine.

Figure 14: Photographie représentant les lapins placés en groupes dans des cages spéciales (Originale,2018).

L'expérimentation proprement dite n'est entamée qu'une semaine après la mise en cage pour permettre aux lapins de se déstresser. L'injection des différentes doses de l'huile essentielle (Sauge officinale ; Romarin à verbinone) s'est faite par voie orale après les avoir pesés à l'aide d'une balance à précision (figure 15).

Figure15: Photographie représentant l'administration des huiles essentielles aux lapins après les avoir pesés (Orginale,2018).

Pour déterminé les doses nécessaires pour chaque lapin :

- la 1er dose : 1kg → 100 µl
- la 2^{em} dose : 1kg → 200µl

Les animaux sont sacrifiés par décapitation (figure 16) le matin entre 9 H:00 et 12 H:00 au niveau du laboratoire de recherche de UMMTO, Le sang est recueilli immédiatement à la saignée dans les tubes secs et congelé à 4C°pour le dosage des paramètres biochimiques.

Figure 16: Photographie représentant un lapin sacrifié (Originale, 2018).

Juste après le sacrifice les animaux sont disséqués (figure 17). Les organes du système génital sont prélevés à savoir les testicules avec leurs épididymes et aussi les glandes surrénales, fois, thyroïde ; rein sont débarrassés de leurs tissus adipeux, puis pesés à l'aide

d'une balance a précision et le volume déterminé par la méthode de la mesure du volume d'eau déplacé à l'immersion de l'organe dans une éprouvette graduée contenant un volume d'eau initialement connu (figure 18).

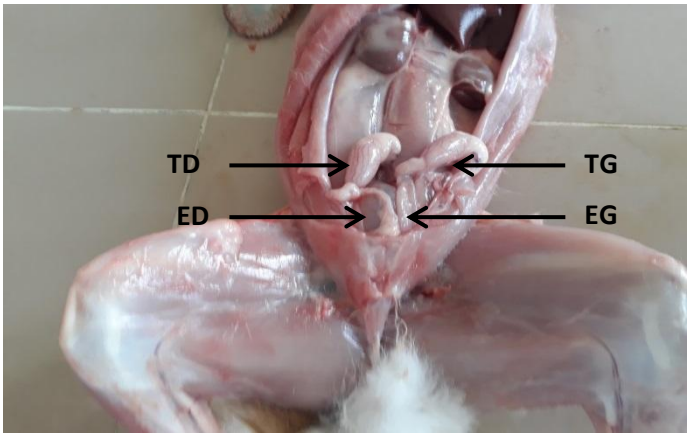

Figure 17: Présentation de l'épididyme et de testicule du lapin lors du sacrifice (Originale ; 2018).

TD : testicule droite, **TG** : testicule gauche, **ED** : épididyme droite, **ED** : épididyme gauche

Figure 18 : Détermination du poids et du volume des organes (Originale, 2018)

Les organes prélevés sont déposés dans des cassettes étiquetés et plongés directement dans une solution de fixation, la solution de Bouin Hollande. Les autres échantillons (testicule et l'épididyme droits) ont été récupérés, congelés pour une étude antérieure.

3. Etude histologique

L'étude histologique implique un processus à plusieurs étapes obligatoires afin de réaliser l'observation des coupes de l'échantillon étudié. Ces étapes sont : la fixation, la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation l'inclusion en paraffine ; la confection des

coupes et l'étalement, le déparaffinage et l'hydratation, la coloration et l'observation microscopique. Ces étapes sont inspirées de celles de (Martoja et Martoja, (1967).

3.1 Fixation

La fixation est un traitement chimique ou physique effectué sur des cellules vivantes et permettant de réaliser des manipulations avec un minimum de dommage pour les structures cellulaires. Elle a pour but la conservation et l'immobilisation des structures cellulaires en place et leur durcissement.

La fixation doit se faire immédiatement après le prélèvement par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Nous avons utilisé la solution du Bouin Hollande comme fixateur. Ce choix est justifié par son utilisation antérieure au laboratoire. C'est une solution préparée au laboratoire sur la base d'un mélange de formol et d'acide picrique. Les organes sont plongés, séparément, dans des casettes étiquetés, pendant 7 jours.

3.2 Déshydratation et éclaircissement

La déshydratation consiste à évacuer toute l'eau contenue dans l'organe. Elle a pour but de préparer la pièce à l'inclusion dans la paraffine. La technique de déshydratation se fait en passant progressivement l'organe dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°,70° 80°,90°, 100°) (figure19) pendant 40 minutes chacun, ceci permet d'éviter la désorganisation des structures. L'éclaircissement se fait dans des bains de xylène pendant 40 minutes.

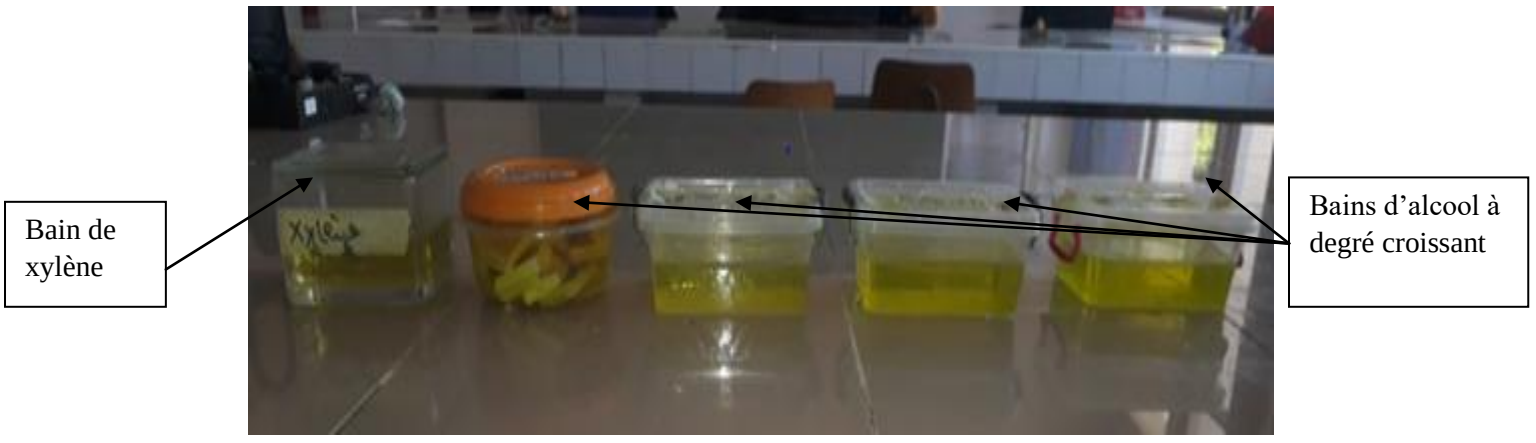

Figure 19 : Photographie de la série des bains de déshydratation des gonades (Originale, 2018).

3.3 Imprégnation

Imprégnation se fait à chaud, immédiatement après les bains de toluène. Cette étape permet l'élimination complète des traces d'alcool. Les pièces sont passée dans un bain formé d'un mélange de toluène et de paraffine pendant une durée de 40 minutes.

3.4 Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières, elle se pratique dans un bain qui contient de la paraffine fondue.

Une fois la circulation finie les cassettes sont retirées et les organes sont placés dans des moules spécifiques, et dont on a versé de la paraffine au préalable. Lorsque les bordures de la paraffine commencent à durcir, nous plaçons la partie marquée de sa cassette dans le moule après l'avoir coupé en deux, et on coule de la paraffine fondue jusqu'à ce que la cassette soit totalement immergée (figure 20).

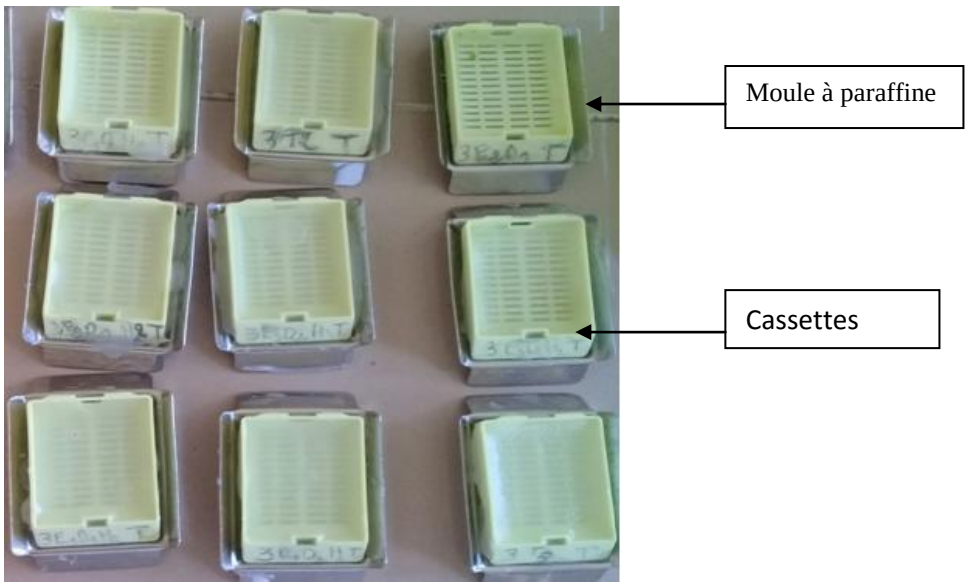

Figure 20 : photographie des organes placé dans des moules qui recevront la Paraffine (Originale, 2018).

Les moules sont ensuite posés dans un congélateur pour durcir ; Les blocs obtenus sont démoulés facilement et peuvent être conservés sans dommage (figure 21).

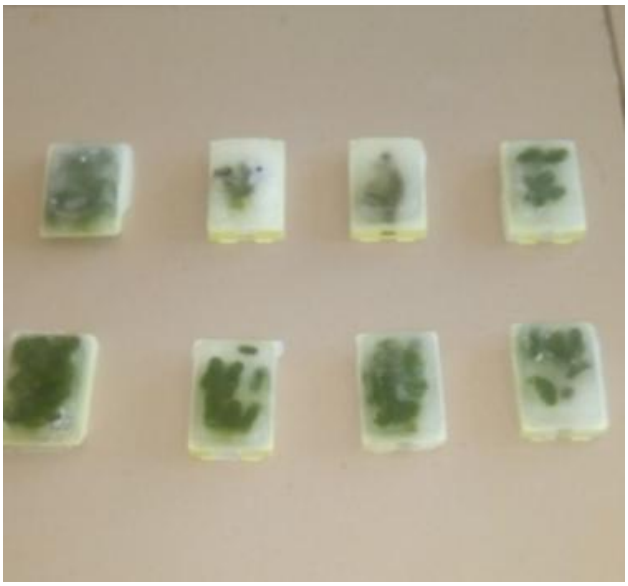

Figure 21: blocs de paraffine obtenue après l'inclusion (Originale, 2018).

3.5 Confection des coupes

La confection des coupes a été réalisée à l'aide d'un microtome de type Leica au niveau de laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Il comporte un porte rasoir spécial permettant d'utiliser des lames minces jetables, et un porte cassette permettant de placer les blocs d'organes coulés sur les cassettes. Des coupes de 5µm d'épaisseur sont ainsi réalisées et récoltées sous forme de ruban à l'aide d'un pinceau (figure 22).

Figure 22 : Dispositif de la coupe, microtome (Originale, 2018)

3.6 Déparaffinage

Le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer. Le réactif utilisé est le toluène. Les coupes sont passées dans deux bains de toluène pendant 5 à 10 min chacun.

3.7 Hydratation

Elle a pour objet de retirer le toluène du tissu et le remplacer par l'eau. Le schéma de la réhydratation est une séquence inverse de celle de la déshydratation par le passage dans des bains d'alcool éthylique de degrés décroissants (100°, 90°, 80°, 70°,50°).

3.8 Coloration topographique

La coloration topographique choisie est le Trichrome de Masson qui possède plusieurs avantages tels que la résistance au lavage, la rapidité d'exécution et les teintes obtenues de manière quasi-automatique.

Cette coloration permet de mettre en évidence grâce aux colorants utilisés, le noyau en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres de collagènes sont vertes.

3.9 Montage

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 permette l'adhérence entre la lame et la lamelle. Une légère pression sur la lamelle permet de chasser les bulles d'air (Figure27). Après montage, les lames sont séchées, nettoyées au toluène puis observées par un microscope optique.

3.10 Observation des lames

Les lames obtenues par la technique histologique et histochimique sont observées au microscope photonique équipé d'une caméra numérique permet de réalisés des photographies dans le but de rechercher toute modification histologique et histochimique des structures étudiées.

4.1 Etude statistique

Les variables (poids vif, poids et volumes des testicules) obtenus dans cette études ont soumis a 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, elle est suivie par la valeur de l'erreur standard à la moyenne «ESM ».

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

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

Chapitre IV

Résultats et Discussion

Notre travail porte sur l'évolution du poids corporel avant et après l'administration des huiles essentielles (Sauge officinale, Romarin à verbinone) ainsi le poids des testicules et épididymes gauches et droits et le poids relatifs, des lapins âgés de 3 mois, puis nous avons réalisé une étude histologique des structures gonadiques testiculaire et épididymaire.

1. Résultat de l'étude macroscopique

Les pesées ont été prises deux fois durant l'expérimentation (avant et après l'administration de l'huile essentielle) et ont permis de suivre l'évolution pondérale corporelle des lapins à deux âges différents.

1.1 Evolution du poids vif des animaux

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

Le graphe (Figure23) présente l'évolution du poids corporel des lapins de 3 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle « Sauge officinale » à deux doses différentes.

L'évolution du poids vif des lapins âgés de 3 mois montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle(J7). Les valeurs moyennes de poids corporel passe de 2.5 ± 0.187 Kg de lots témoin à 2.625 ±0.249 Kg de lot dose1 jusqu'à 2.925± 0.217 Kg de lots dose2. Tandis que avant le traitement la valeur moyenne du poids corporels de lots de D1 est faible d'à 2.333± 0.163Kg par rapport au lot témoins de 2.5± 0.187Kg.

Les valeurs moyennes de poids vif des lapins traités par l'huile essentielle « Sauge Officinale»(J7) sont élevés en fonction de la dosé administrée que celles avant le traitement(J0).

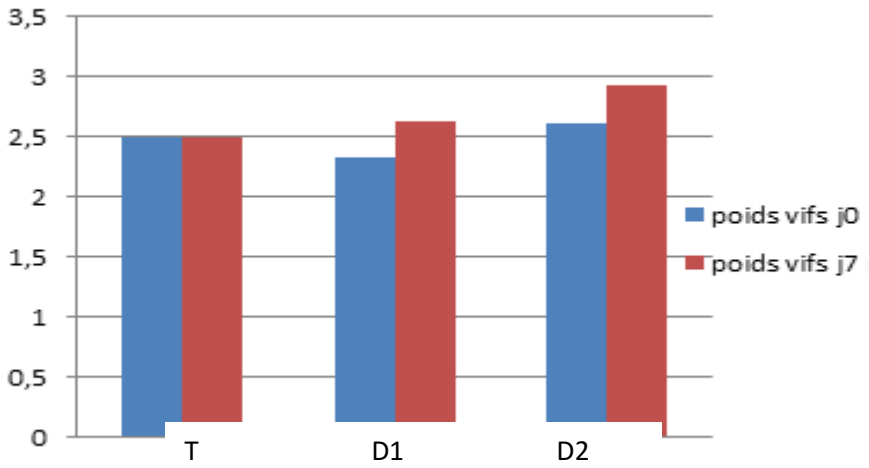

Figure 23 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3 mois traité par la Sauge officinale.

T : Témoin ; **D1** :100µl/kg ; **D2** : 200µl/kg ; **J0** : avant traitement ; **J7 :** après traitement

Le graphe (Figure24) présente l'évolution du poids corporel des lapins de 3 mois avant et après l'administration de l'huile essentielle « Romarin à verbinone» à deux doses différentes.

L'évolution du poids vif des lapins âgés de 3 mois montrent une augmentation pondérale progressive après l'administration de l'huile essentielle(J7). Les valeurs moyennes de poids corporel passe de 2.5± 0.187 Kg de lots témoin à 2.937 ± 0.088 Kg de lot dose1 jusqu'à 2.95± 0.61 Kg de lots dose2. Tandis que avant le traitement la valeur moyenne du poids corporels de lots de D1 est faible d'à 2.35 ± 0.212 Kg par rapport au lot témoins de 2.5 ± 0.187 Kg avec une différence significative (p= 0.0488) entre T et D1.

Les valeurs moyennes de poids vif des lapins traité par l'huile essentielle « Sauge Officinale»(J7) sont élevé en fonction de la dosé administré que celles avant le traitement (J0)

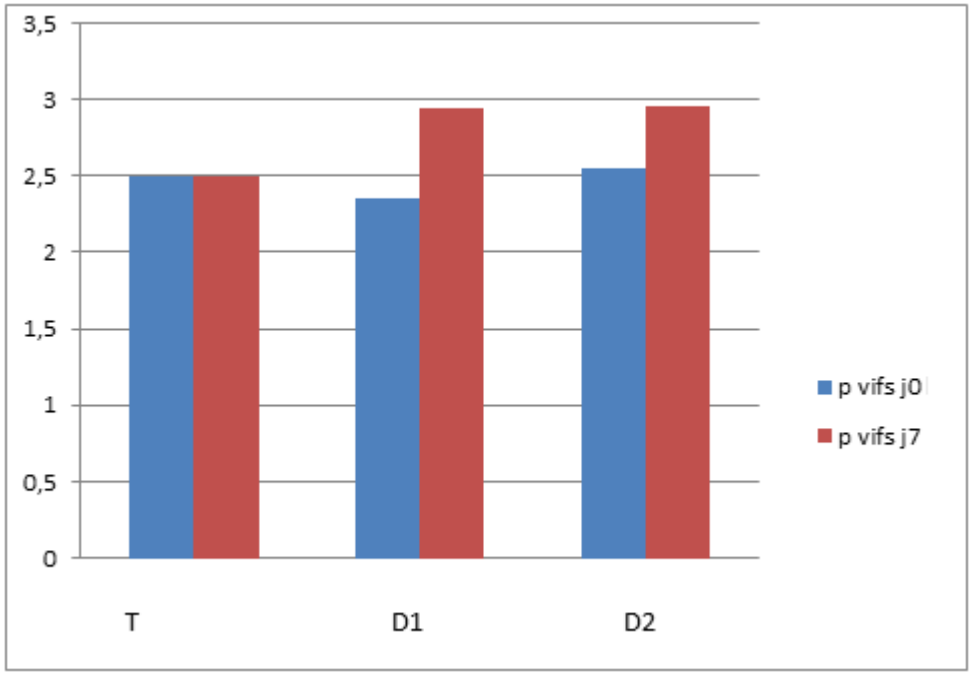

Figure 24 : Représentation graphique de l'évolution pondérale moyenne des lapins âgés de 3 mois traité par romarin à verbénone.

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µl/kg ; **J0** : avant traitement ; **J7 :** après traitement

1.2 Evolution du poids testiculaire

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

1.2.1 Poids des testicules droits et gauches

Le premier graphe (Figure 25) présente l'évolution des poids des testicules gauches et droits des lapins de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « sauge officinale » administrée.

Les valeurs moyenne des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administré, en effet les testicules des lapins témoins(T) présente un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux(D1) et (D2) et qui passe de 1.376 ±0.296 (TD) et 1.453 ±0.291(TG) pour le lot témoin(T) jusqu'à 1.53 ±0.294(TD) et 1.65± 0.297(TG) au lot de deuxième dose (D2), avec une différence significative (p=0.020) entre D1 et D2 de poids de TG. Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauche sont plus élevées que celle de testicule droit.

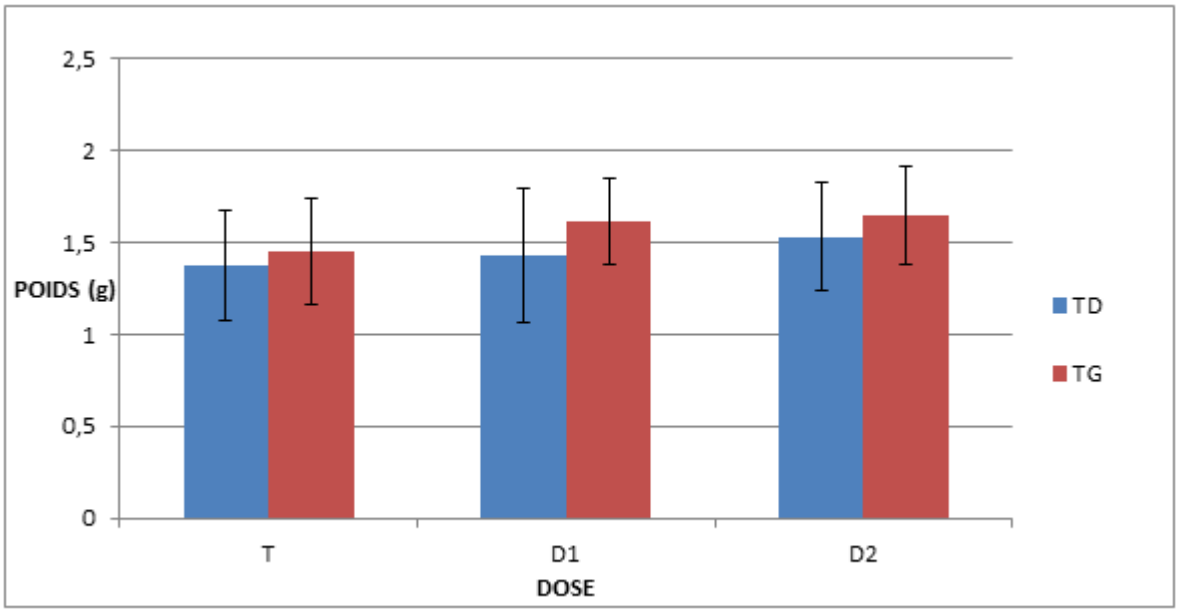

Figure 25 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 3mois traité par la sauge officinal

T : Témoin ; **D1** : 100µl/ kg; **D2** :200/kg ; **TG** : testicule gauche ; **TD** : testicule droit

Le deuxième graphe (Figure26) présente l'évolution des poids de testicules gauches et droits des lapins de 3 mois en fonction de la dose de l'huile essentielle « romarin à verbinone» administrée.

Les valeurs moyenne des poids des testicules gauches et droits montrent une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée, en effet les testicules des lapins témoins(T) présente un poids plus faible par rapport à ceux des expérimentaux(D1) et (D2) et qui passe de 1.53 ±0.294 (TD) et 1.62 ±0.267(TG) pour le lot témoin(T) jusqu'à 1.84 ±0.074(TD) et 1.933± 0.004(TG) au lot de deuxième dose (D2), avec une différence significative (p=0.025) entre D1 et D2 de poids de TG. Néanmoins les valeurs moyennes du poids des testicules gauche sont plus élevées que celle de testicule droit.

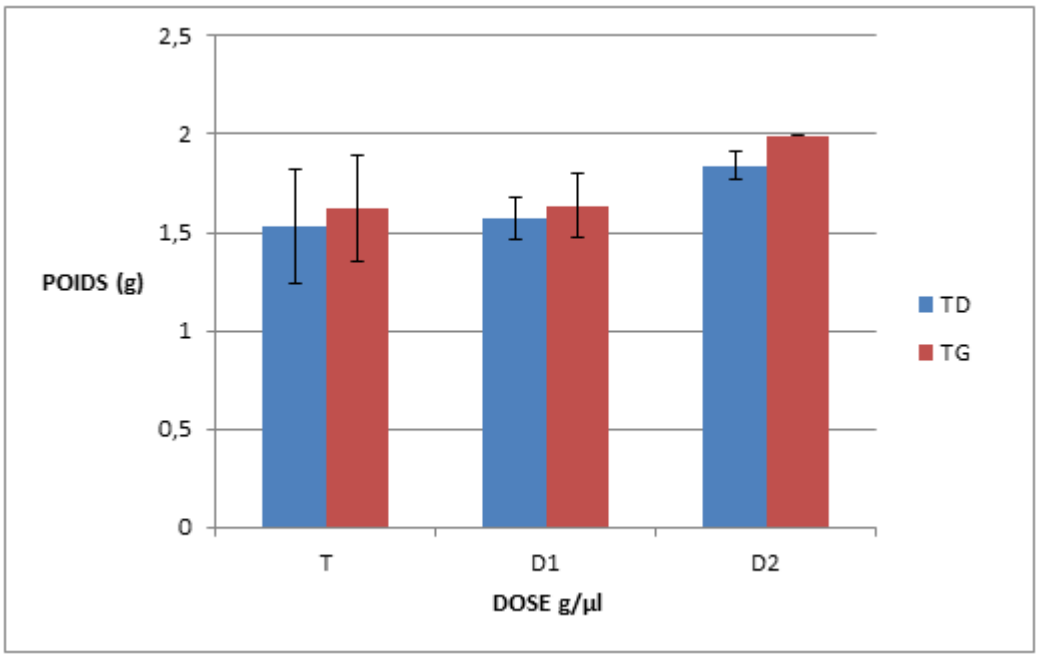

Figure 26 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids moyen des testicules gauches et droits des lapins de 3mois traité par romarin à verbinone.

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** : 200µl/kg ; **TG** : testicule gauche ; **TD** : testicule droit

1.2.2 Poids total des testicules

La figure 27 présente l'évolution du poids total de testicule pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle « sauge officinale » administré

Les valeurs moyennes du poids total des testicules présentant une augmentation progressive où les valeurs passent de 2.83 ±0.587 g au lot témoin(T) à 3.05±0.491g au lot dose 1(D1) jusqu'à 3.18± 0.398g du lot de deuxième dose(D2).

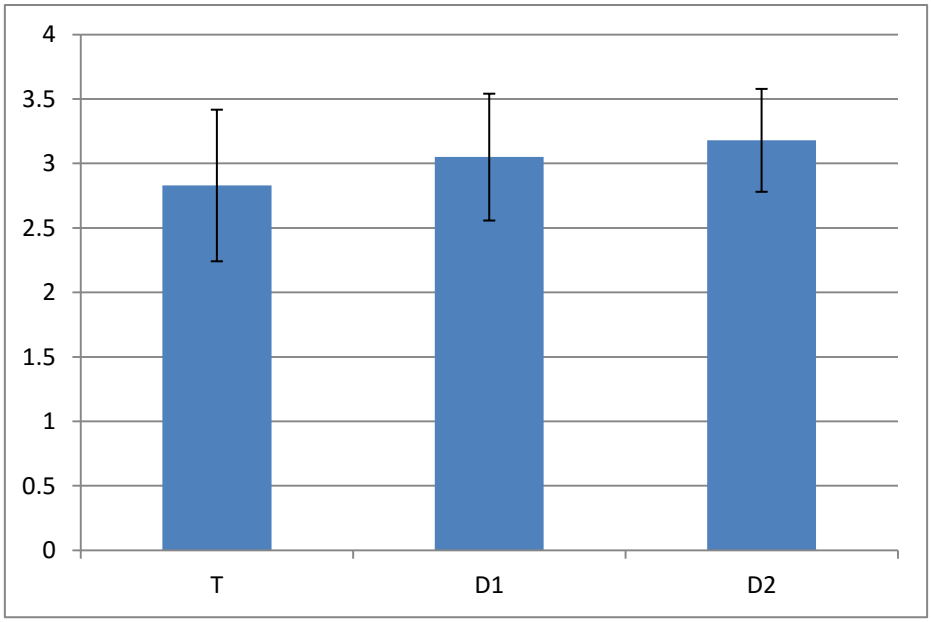

Figure 27: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 3 mois après l'administrations de huile essentielle (sauge officinale).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg; **D2** : 200µl/kg

La figure 28 présente l'évolution du poids total de testicule pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle « « romarin à verbénone » administrée.

Les valeurs moyennes du poids total des testicules présents une augmentation progressive où les valeurs passent de 2.83 ±0.587 g au lot témoin(T) à 3.05±0.491g au lot dose 1(D1) jusqu'à 3.18± 0.398g du lot de deuxième dose(D2)

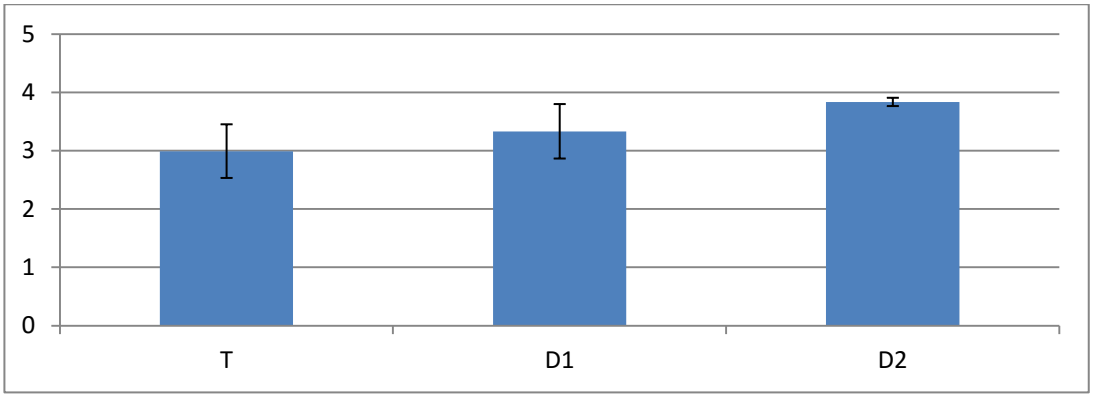

Figure 28: Représentation graphique montrant l'évolution du poids total des testicules des lapins de 3 mois après l'administrations de huile essentielle « romarin à verbinone »

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg; **D2** : 200µl/kg

1.3 Evolution du poids épididymaire

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

1.3.1 Evolution du poids de l'épididyme gauche et droit

Le poids de l'épididyme gauche et droit (Figure 29) des lapins de 3 mois d'âge montre une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle administré, en effets les valeurs moyenne du poids épididymaires gauche et droit passe de 0.626±0.112 (ED) et 0.65±0.092(EG) pour le lot témoin (T) jusqu'un 0.686±0.140(ED) et 0.69±0.067(EG) de première dose(D1) puis les valeurs atteint 0.843±0.146(ED) et 0.71±0.115(EG) au lots de deuxième dose(D2).alors que les valeurs moyenne du poids de l'épididyme gauche sont plus élevé par rapport au poids de l'épididyme droit.

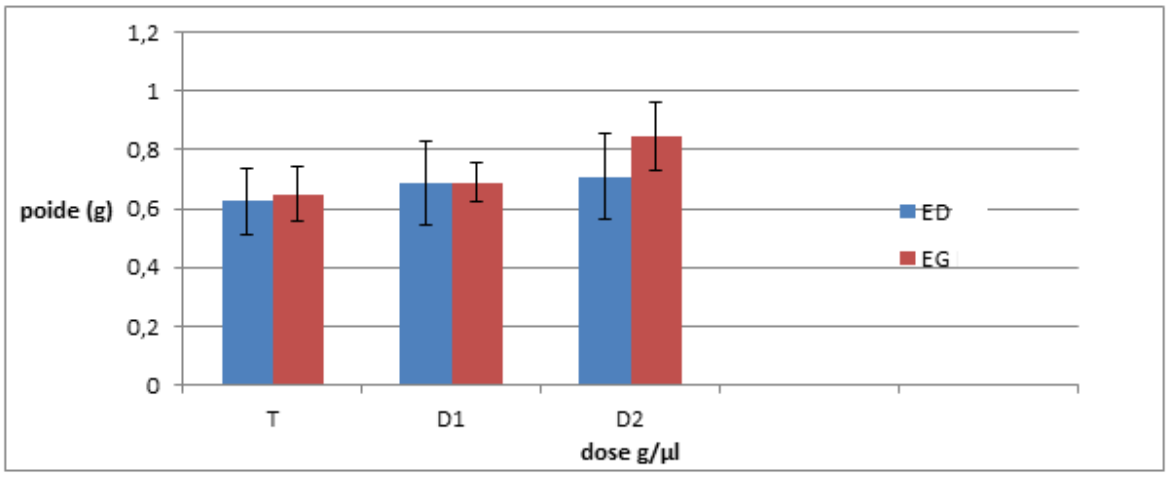

Figure 29: Représentation graphique de l'évolution du poids des épididymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle (sauge officinale) administré.

EG : Epididyme Gauche **; ED :** Epididyme Droit **; T** : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

Le poids de l'épididyme gauche et droit (Figure 30) des lapins de 3 mois d'âge montre une augmentation progressive en fonction de la dose de l'huile essentielle (sauge officinale) administré, en effets les valeurs moyenne du poids épididymaires gauche et droit passe de 0.66±0.03(ED) et 0.65±0.092(EG) pour le lot témoin (T) jusqu'un 0.8±0.174(ED) et 0.77±0.113(EG) de première dose(D1) puis les valeurs atteint 0.866±0.076(ED) et 0.833±0.074(EG) au lots de deuxième dose (D2).

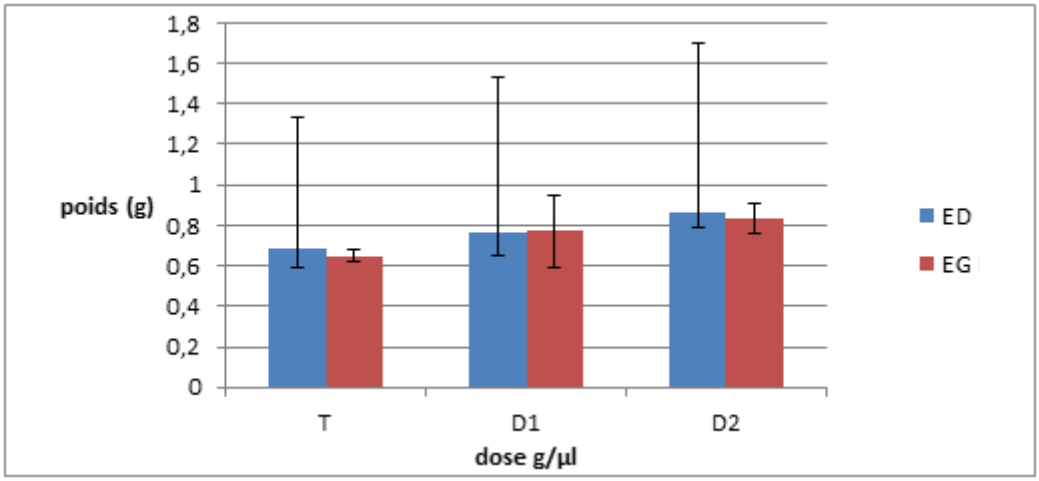

Figure 30: Représentation graphique de l'évolution du poids des épididymes gauche et droits en fonction de la dose de l'huile essentielle (romarin à verbinone) administré.

EG : Epididyme Gauche **; ED :** Epididyme Droit **; T** : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

1.3.2 Evolution du poids total de l'épididyme totale

L'évolution du poids total de l'épididyme pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «sauge officinale » administré est présenté dans la Figure 31

Les valeurs moyennes du poids total de l'épididyme présente une augmentation progressive où les valeurs passent de 1.27±0179 g au lot témoin(T) à 1.37±0.169g au lot dose 1(D1) jusqu'à 1.553± 0.262g du lot de deuxième dose(D2).

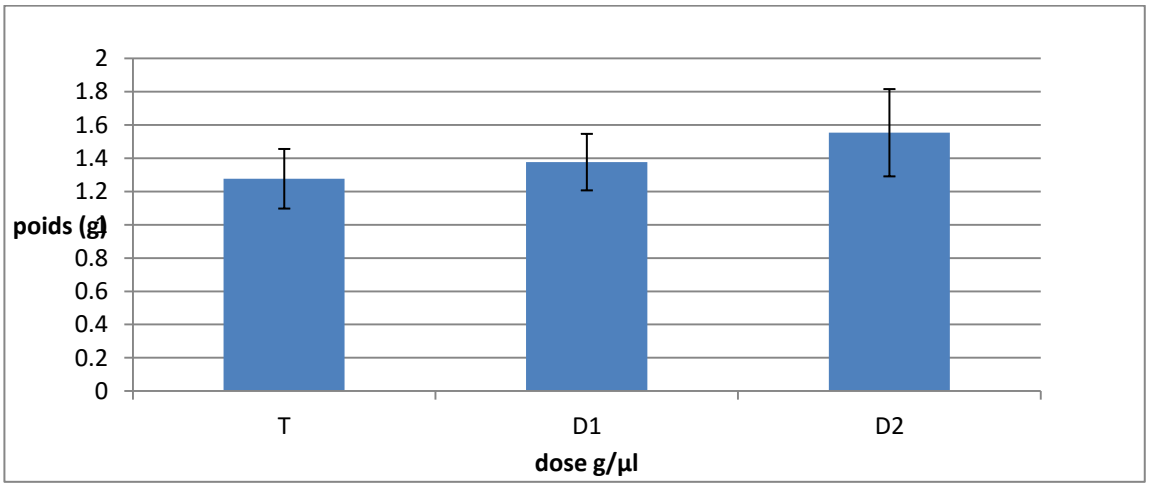

Figure 31 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (sauge officinale) administré.

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

L'évolution du poids total de l'épididyme pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle « romarin à verbinone » administrée est présenté dans la Figure32.

Les valeurs moyennes du poids total de l'épididyme présente une augmentation progressive où les valeurs passent de 1.31 ±0.111 g au lot témoin(T) à 1.57±0.07g au lot dose 1(D1) jusqu'à 1.7± 0.097g du lot de deuxième dose(D2) avec une différence significatif (p=0.031) entre le T et D2.

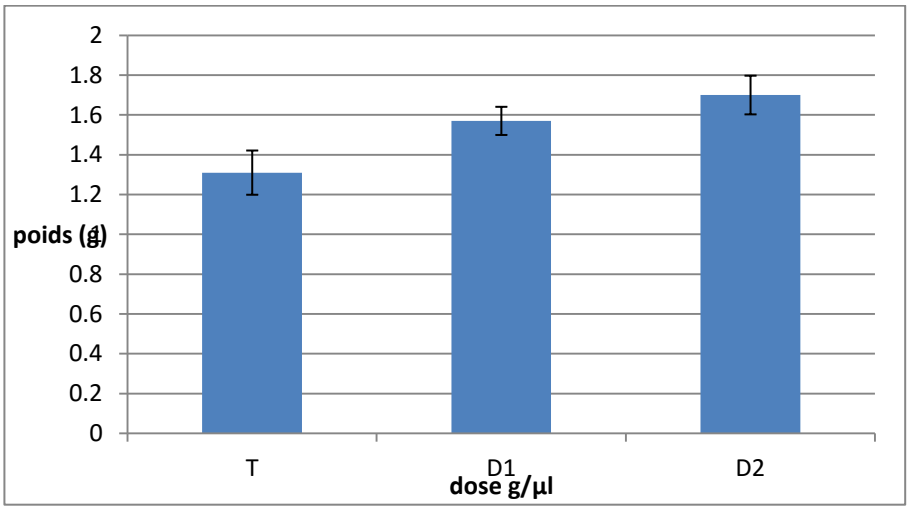

Figure 32 : Représentation graphique montrant l'évolution du poids total de l'épididyme en fonction de la dose de l'huile essentielle (Romarin à Verbinone) administrée.

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

1.4 Poids relatif des testicules

1.4.1 Évolution poids relatif des testicules

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapin de 3 mois d'âges administrée de huile essentielle « sauge officinale» est présentée dans la figure 33.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle «Sauge Officinale » administrée .En effets les valeurs passent de 0.12±0.026g au lot témoin (T) à 0.13±0.012g au lot de la première dose(D1) puis atteint 0.14±0.018g au lot de deuxième dose(D2).

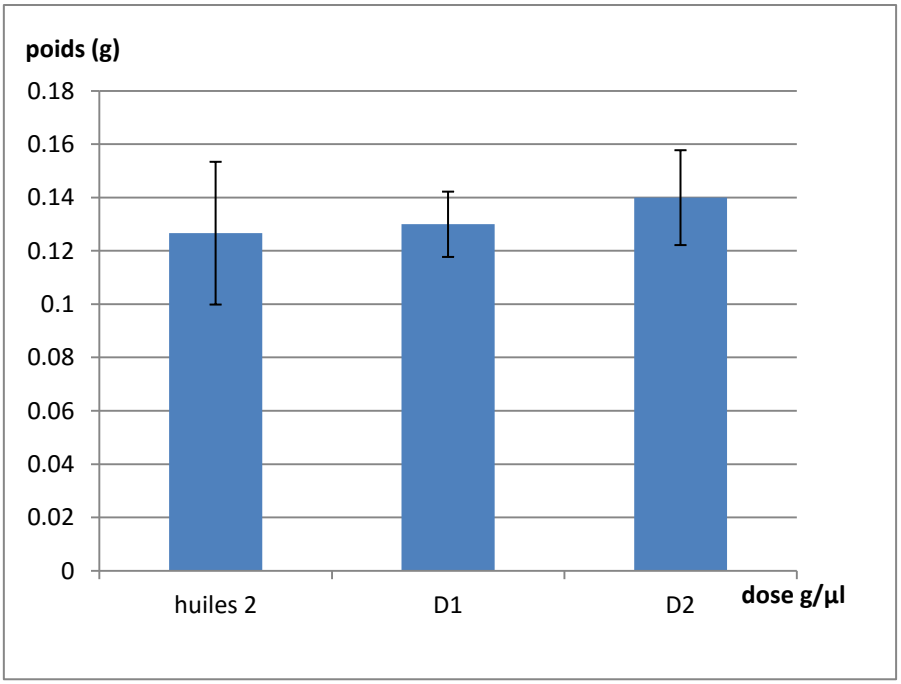

Figure 33: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (sauge officinale).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapin de 3 mois d'âges administré de huile essentielle « sauge officinale» est présentée dans la figure 34.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle administrée. «romarin à verbinone ».

En effets les valeurs passent de 0.11±0.021g au lot témoin (T) à 0.125±0.035g au lot de la première dose(D1) puis atteint 0.13±0g au lot de deuxième dose(D2).

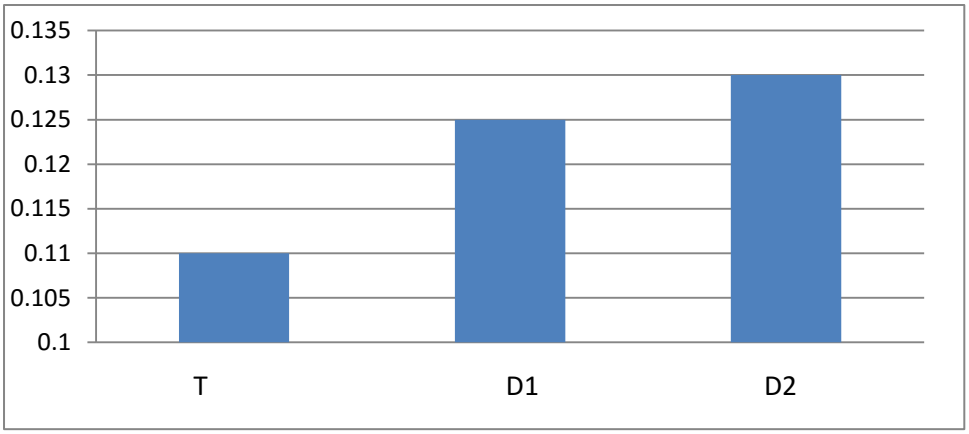

Figure 34: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges administré d'huile essentielle (romarin à verbinone).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

1.4.2 Evolution poids relative des epididymes

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épididyme des lapin de 3 mois d'âges administré de huile essentielle « sauge officinale» est présentée dans la figure 35.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épididymes augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle «Sauge Officinale » administré .En effets les valeurs passent de 0.046 ±0.01g au lot témoin (T) à 0.053±0.003g au lot de la première dose(D1) puis atteint 0.06±0.007g au lot de deuxième dose(D2).

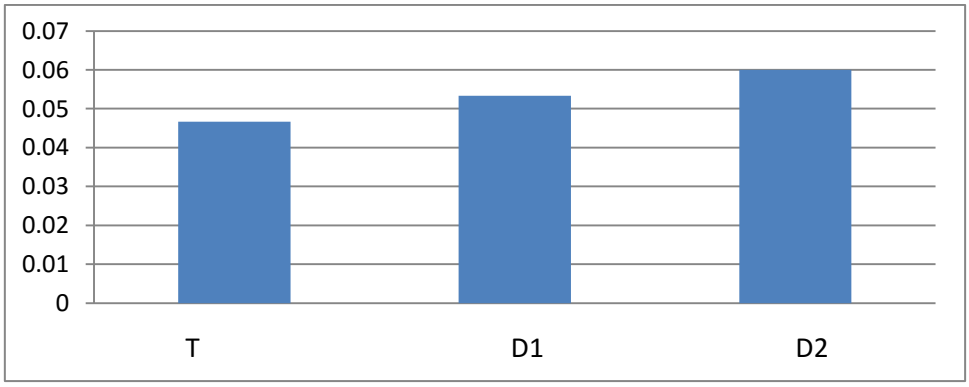

Figure 35: Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins de 3 mois d'âges administré d'huile essentielle (sauge officinale).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

L'évolution des valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épididymes des lapins de 3 mois d'âges administré d'huile essentielle «Romarin Officinale» est présentée dans la figure 36.

La valeur moyenne des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épididymes augmente progressivement en fonction de la dose de l'huile essentielle «Romarin Officinale» administré .En effets les valeurs passent de 0.05 ±0.012g au lot témoin (T) à 0.06±0.014g au lot de la première dose(D1) puis atteint 0.07±0.007g au lot de deuxième dose(D2).

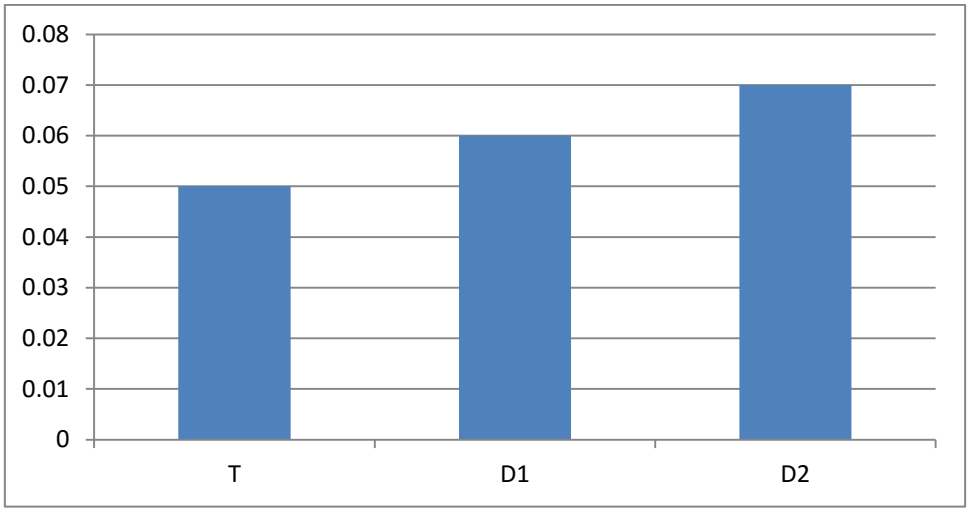

Figure36: Représentation graphique du poids relatif des épididymes des lapins de 3 mois d'âges administré d'huile essentielle (Romarin Officinale).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

1.5 Évolutions des volumes totaux :

1.5.1 Évolutions des volumes totaux testiculaires

L'évolution du volume total de testicule pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «sauge officinale» administrée est présenté dans la Figure 37.

Les valeurs moyennes du volume total de testicule présente une augmentation progressive où les valeurs passent de 3.066±0.980 g au lot témoin(T) à 3.200±0.420g au lot dose 1(D1) jusqu'à 3.633± 0.788g du lot de deuxième dose(D2).

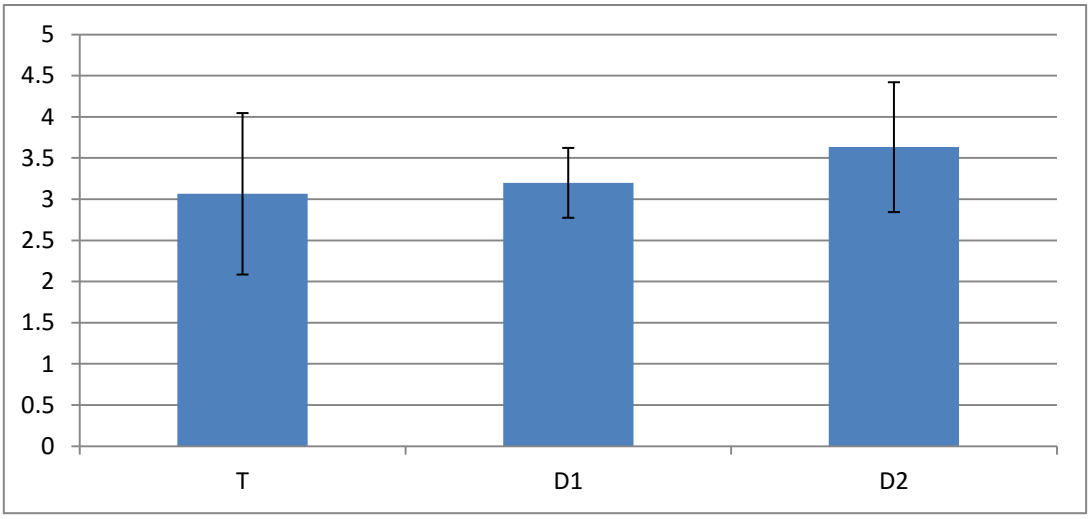

Figure 37: Représentation graphique du volume totale des testicules des lapins de 3 mois d'âges administré d'huile essentielle (sauge officinale).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

L'évolution du volume testiculaire total pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «Romarin à Verbénone» administrée est présenté dans la Figure 38

Les valeurs moyennes du volume testiculaire total présente une augmentation progressive où les valeurs passent de 2.4±0.308 g au lot témoin(T) à 3.4±0.282g au lot dose 1(D1) jusqu'à 3.5± 0.187g du lot de deuxième dose(D2).

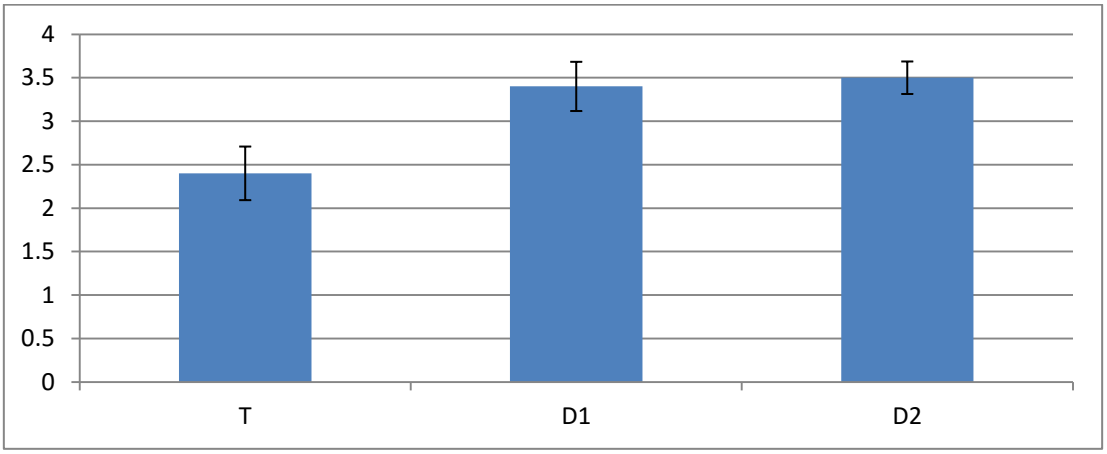

Figure 38 : Représentation graphique du volume testiculaire totale des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (Romarin à Verbinone).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

1.5.2 Évolutions des volumes totaux épididymaires

L'évolution du volume total epididymaire pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «sauge officinale» administré est présenté dans la Figure 39

Les valeurs moyennes du volume total de epididymaire présente une augmentation progressive où les valeurs passent de 1.233 ±0.216g au lot témoin(T) à 1.666±0.641g au lot dose 1(D1) jusqu'à 2± 0.561g du lot de deuxième dose(D2).

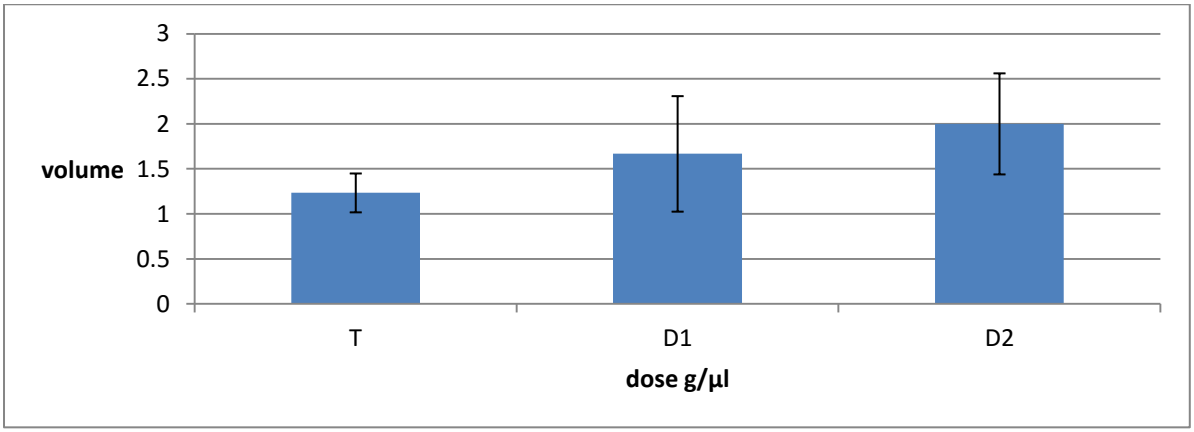

Figure 39: Représentation graphique du volume totale epididymaire des lapins de 3 mois d'âges administrée d'huile essentielle (sauge officinale).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

L'évolution du volume total epididymaire pour les lapins de 3 mois d'âge en fonction de la dose de l'huile essentielle «Romarin à Verbinone» administrée est présenté dans la Figure 40

Les valeurs moyennes du volume total epididymaire présente une augmentation progressive où les valeurs passent de 1.216 ±0.412g au lot témoin(T) à 2.15±0.494g au lot dose 1(D1) jusqu'à 2.26± 0.402g du lot de deuxième dose(D2).

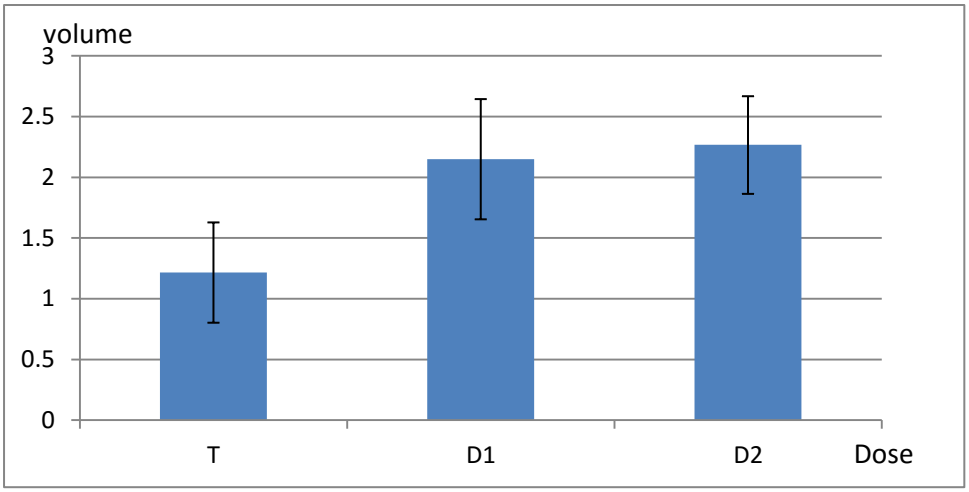

Figure 40 : Représentation graphique du volume totale epididymaire des lapins de 3 mois d'âges administré d'huile essentielle (Romarin à Verbénone).

T : Témoin ; **D1** : 100µl/kg ; **D2** :200µ/kg

1.6 Vascularisation des testicules

Au cours de notre expérimentation, nous avons constaté lors du prélèvement des testicules une hyper vascularisation chez les lapins traités par l'huile essentielle « Sauge Officinale » par rapport aux lapins non traités (témoins) (Figure 41).

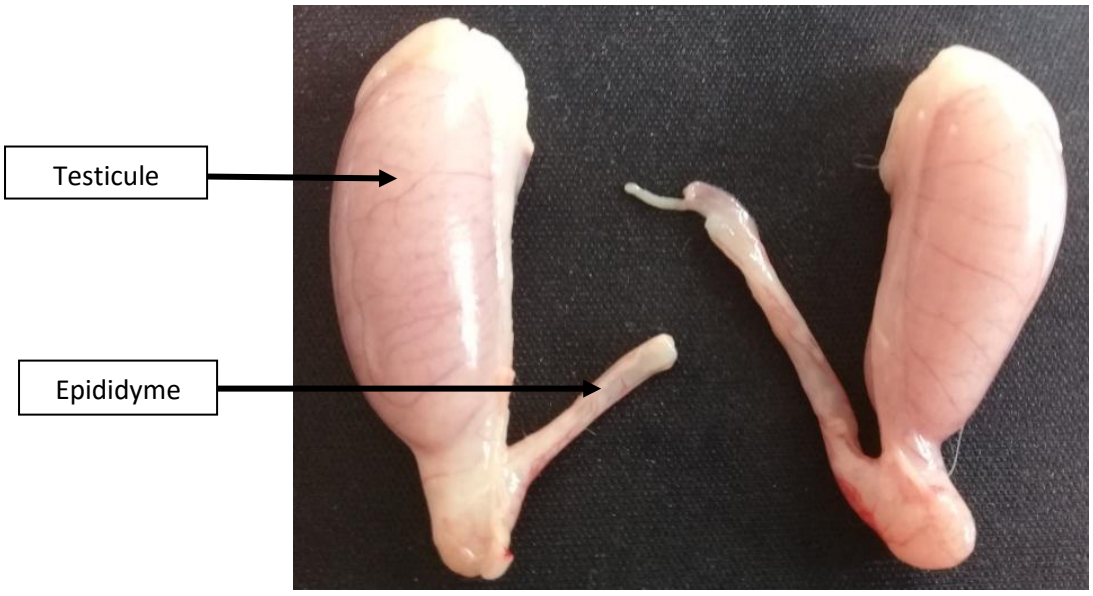

Figure 41 : Vascularisation des testicules des lapins âgés de 3 mois (Originale, 2018).

2. Résultats de l'étude microscopique

Au cours de notre travail, nous avons réalisé une étude histologique du testicule et d'epididyme chez les lapins 3mois d'âges appartenant à la population améliorée. Nous avons également effectué une étude sur le développement de ces structures histologiques.

L'observation microscopique a été enregistrée, pour tous nos échantillons, avec le fort grossissement (x400) pour une observation plus détaillée des structures notamment cellulaires.

2.1. Etude histologique testiculaire

2.1.1 Testiculaire des lapins traités par la sauge officinale

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

L'observation des coupes testiculaires des lapins âgés de 12 semaines de lot témoins révèle des tubes séminifères qui ont la paroi formée d'un épithélium comprenant des cellules de la lignée germinale : spermatogonies à noyaux ronds et condensés, spermatocytes I à noyaux volumineux et à chromatine décondensée grossiers, de nombreuses cellules de petite taille qui sont les spermatides rondes et des cellules de Sertoli à noyau triangulaire. Ces tubes sont entourés par un tissu conjonctif intertubulaire, riche en cellules péritubulaires à noyaux aplatis et de cellules de Leydig à noyaux arrondis (planche 1A).

Pour le lot traité par la dose 1 (100µl/kg) de la sauge officinale nous observons la même structure histologique que les lapins témoins avec l'apparition de spermatides rondes et très peu de spermatides allongés dans quelque tube, qui est la signature de tube séminifère actif. Les spermatozoïdes sont totalement absents dans la lumière de ce dernier (planche1 B). Cependant pour le lot traité par la dose 2(200µl/kg) de cette huile il y a apparition de spermatides allongés plus nombreux que D1 et touche plus de tubes ce qui signifier que la D2 est plus efficace que la D1 (planche1C).

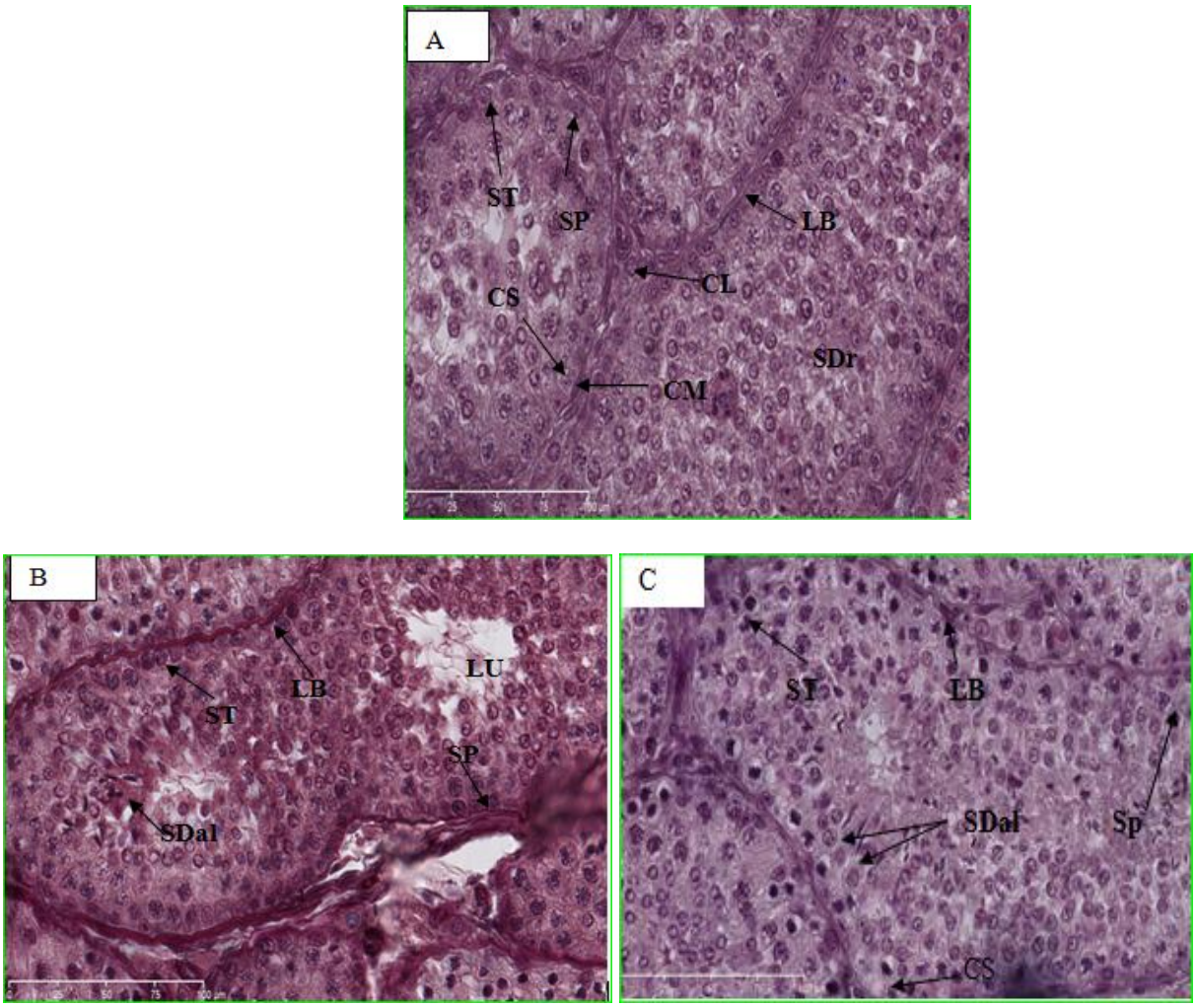

Planche 1: Microscopie de coupe histologique au niveau de testicule de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome Massson au grossissement (10*40).

ST : spermatocyte**, sp** : spermatogonie, **SDa**l : spermatide allongé, **LU** : lumière**, LB** : lame basale, **CS** : cellule de sertoli

2.1.2 Testicule des lapins traités par le Romarin à Verbénone

L'observation des coupes testiculaires des lapins âgés de 12 semaines traité par la dose 1 du romarin à verbénone montre que l'épithélium séminifère contient des spermatogonies organisées en couches de cellules, occupant la périphérie du tube, des spermatocytes I, des spermatides rondes et des cellules de Sertoli à noyau triangulaire, nous observons aussi des cellules de Leydig dans l'espace interstitiel avec l'apparition dans certaine tube quelque spermatides allongées a noyau petit, effilé et très dense (planche2 A).

Les testicules des lapins âgés de 12 semaines traité par la dose 2 (200µl/kg) de cette huile présentent la même structure histologique que celle de la D1 cependant une richesse en

spermatide allongés est constaté chez les animaux traités par la dose 2 (planche 2 B). La présence de ces cellules est une preuve d'accélération de l'étape de différenciation spermatique ou spermatogenèse sous l'effet de la dose 2.

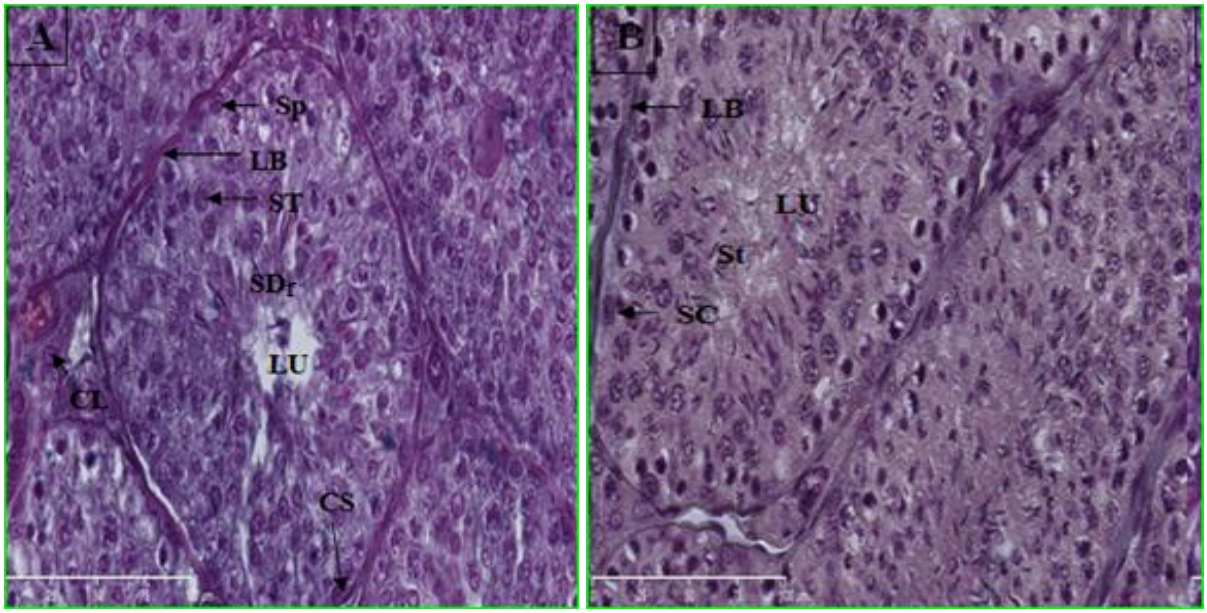

Planche 2 : Microscopie de coupe histologique au niveau de testicule de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome de Massson au grossissement (10*40).

ST : spermatocyte**, sp** : spermmatogonie , **SDa**l : spermatide allongé, **LU** :lumière**, LB** : lame basale, **CS** : cellule de sertolie **, CL :** cellule de leydig**, SDr** : spermatide ronds,

2.2 Etude histologique épididymaire

L'épididyme du lapin est un canal fortement pelotonné. Anatomiquement, il est subdivisé en trois grandes parties : une tête qui coiffe le testicule et constitue l'épididyme proximal, un corps effilé et une queue épaisse qui représente l'épididyme distal.

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

2.2.1 Epididymes des lapins traités par la sauge officinale

L'épithélium épididymaire des lapis témoins, est formé d'une rangée de cellules épithéliales cubiques. Ces cellules montrent un gros noyau arrondi et présentent vers la lumière une bordure avec des prolongements cytoplasmiques très fins. Nous avons également observé des cellules basales reposant sur une lame basale fine. Le tissu conjonctif

intertubulaire est formé de cellules musculaires, de fibroblastes et de vaisseaux sanguins (planche 3A).

Au niveau de l'épididyme des lapins traités par la dose1 de la sauge officinale, nous observons que le tube épididymaire est bordé par une paroi musculaire à laquelle adhère une couche d'épithélium épididymaire typique à savoir prismatique et simple, début de sécrétion des tubes épididymaire avec une lumière dépourvu de spermatozoïdes, et des stéréocyles localisé au niveau apical des cellules principales (planche 3 B).

Chez les lapins traités par la dose 2 nous observons que le tube épididymaire est bordé par une paroi musculaire à laquelle adhère une couche d'épithélium épididymaire typique à savoir prismatique et pseudostratifié. Nous avons observé des sécretions moyennes des tubes épididymaires avec une lumière dépourvu de spermatozoïdes et des stéréocyles plus nombreuses localisés au niveau apical des cellules principales , donc on constate que la D2 a un effet plus efficace sur les structures histologiques de l'épididyme (planche 3C).

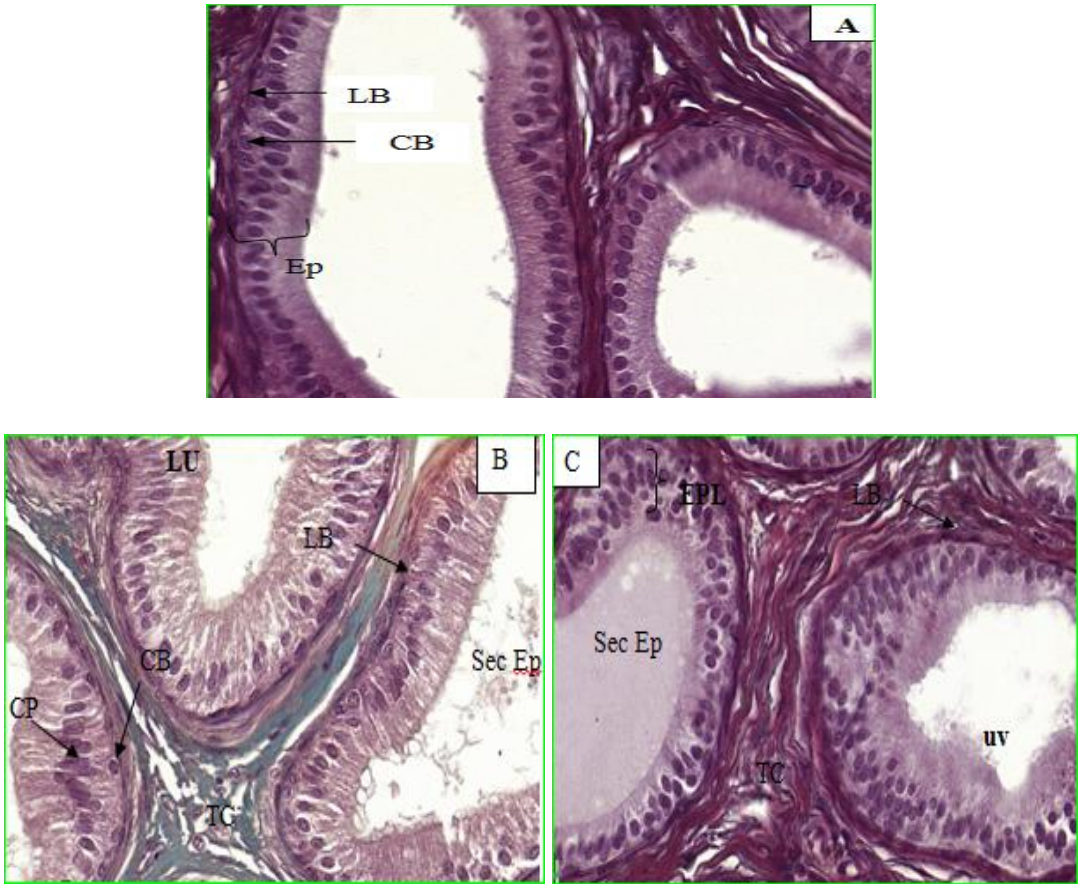

Planche 3 : Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome de Massson au grossissement (10*40).

LU : lumière**, LB** : lame basale , **CP** : cellule principale , **TC** : tissus conjonctif ; **Sec Ep** : sécrétion epididymaire **UV** : microvillosité **, EPL** : épithélium

2.2.2 L'épididyme traité par le romarin à verbénone

Nous avons également observé pour le lot traité par la dose 1de la romarin à verbinone que l'épithélium épididymaire est prismatique et pseudostratifié. Les cellules principales sont alignées avec des noyaux situés dans le tiers basal et légèrement décalés les uns par rapport aux autres donnant un aspect stratifié à l'épithélium et leurs microvillosités sont très développées, avec, à leur contact les produits de sécrétion et d'extrusion. La lumière est chargée en secrétions fluides et globulaires. L'ensemble de ces observations témoigne d'une activité sécrétoire importante de l'épithélium (planche 4B).

les lapins traité par la dose 2 présente la même structure histologique que ceux traité par la dose 1 avec apparition de quelque spermatozoïde au niveau de la lumière (planche 4c).

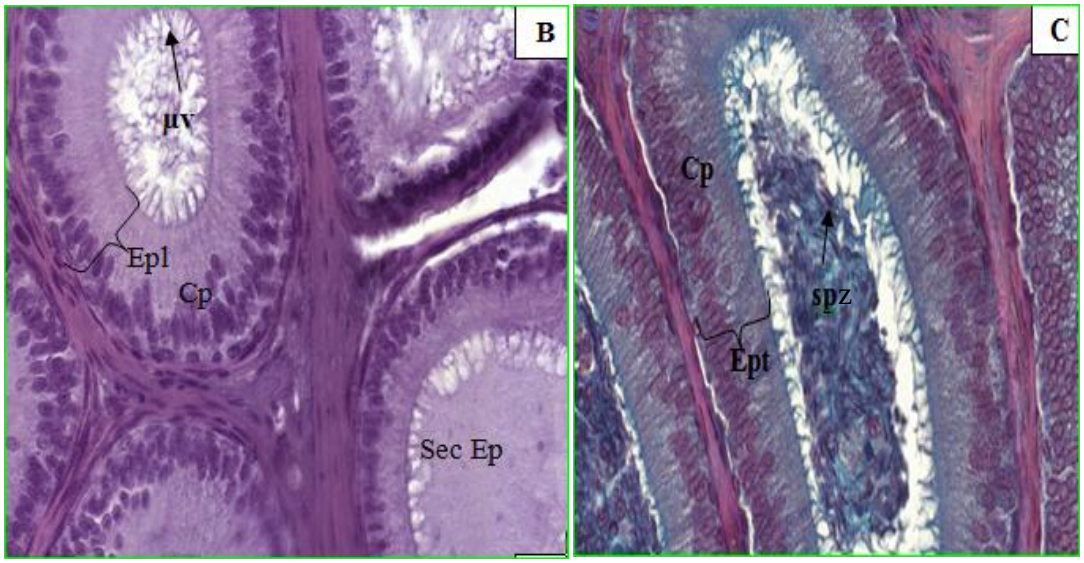

Planche 4: Microscopie de coupe histologique au niveau de l'épididyme de lapins de 3 mois d'âge après coloration de trichrome de Massson au grossissement (10*40).

LU : lumière**, LB** : lame basale , **CP** : cellule principale , **TC** : tissus conjonctif ; **Sec Ep** : sécrétion epididymaire **UV** : microvillosité **, EPL** : épithélium , **SPZ** : spermatozoide

3. Discussion des résultats

Dans la présente étude, nous montrons le développement des structures gonadiques parallèlement au poids gonadiques et au poids corporels ainsi que l'évolution de sa structure histologiques chez des lapins âgés de 3 mois après administration des huiles essentielles « Sauge officinale » et « Romarin a verbenone».

3.1 Paramètres macroscopiques

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

La présente étude sur les effets de deux huiles sur les paramètre macroscopique (poids vif, poids totale et volume) sont plus élevés respectivement chez les lapins traité par huile essentielles dose 2 puis dose1 par rapport aux témoins. Cependant l'huile essentielle romarin à verbénone présente des valeur plus élevé que l'huile de sauge officinale .

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par(Sulmaz Haeri et al. ;(2006) , qui ont montré que l'administration de SKEO à provoqué une augmentation significative du poids du testicule, de l'épididyme et des vésicules séminales qui sont dues à l'augmentation du nombre de cellules de Leydig et des cellules germinales et un taux plus élevé de spermatogenèse, confirmé par les résultats histologique. Les poids de l'épididyme et des organes sexuels accessoires nécessitent une production androgène continue de stimuler pour leur croissance normale et leurs fonctions. Par conséquent, le poids des organes sexuels s'augmente est le résultat de l'augmentation des taux sériques de FSH et de testostérone par SKEO (Satureja Khuzestanica Essential Oil).

Selon Garcia Tomas et *al.* (2007), l'augmentation du volume testiculaire est probablement liée à la prolifération cellulaire au niveau des tubes séminifères suite à une augmentation importante de testostérone plasmatique. En outre Castro et *al.* (2002), Samia et *al.* (2005) ont montré que la testostérone est nécessaire pour lancer la spermatogenèse à la puberté et pour l'entretien de ce processus chez l'adulte.

L'action combinée de la FSH et de la testostérone induite par la LH assure le bon déroulement de la spermatogenèse (Kerr et *al*., 1992). La LH stimule les cellules de Leydig afin de secréter les androgènes tandis que la FSH stimule les cellules de Sertoli pour secréter l'ABP. Les androgènes et l'ABP s'unissent pour stimuler le développement des cellules germinales (El-Gaafary, 1994).

3.2 Paramètre histologique

L'étude histologique de testicules des lapins mâles témoins de 3 mois d'âge révèle que les tubes séminifères sont serrés avec un espace interstitiel faible, et apparition des

spermatides ronds et absence totale des spermatozoïdes. Cependant chez les lapins traités avec les huiles essentielle (Sauge Officinale et Romarin à vérbénone) nous avons constaté des changement au niveau des structures histologiques, avec la mise en place au niveau de testicule d'un épithélium germinal stratifié et l'apparition de spermatides ronds et allongés, avec quelques spérmatozoides au niveau de la lumière.

Chez les témoins le tube épididymaire est bordé par une fine paroi fine musculaire à laquelle adhère une couche d'épithélium simple. Par contre chez les lapins traités par les huiles essentielles nous avons constaté que l'épithélium devient prismatique pseudostratifié avec l'apparition des microvillosités et des sécrétions épididymaires. Nous avons constaté que l' huile essentielle de Romarin à vérbénone est plus efficace e que la Sauge Officinale car les tubes épididymaires montrent des sections tubulaires pleines de spermatozoïdes .

Ces résultats sont également en accord avec ceux de S. Bashadyet al (.2007) qui a montré que l'administration d'un extrait aqueux de *Nigella sativa*, pendant 60 jours à raison de 300 mg/kg .
chez les rats, induit une augmentation du poids des organes reproducteurs ainsi que l'épaisseur et diamètre des tubes séminifères et stimulation du développement des spermatogonie, spermatocytes primaires et secondaires, spermatides, spermatozoïdes libres, densité du sperme, activité sécrétrice des vésicules séminales et de la prostate, temps d'excitation). Ces variation serait probabelement due à une augmentation des concentrationdes hormones responsable de la spermatogenèse, la LH, la FSH et la testostérone.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Mishra et al.(2014) ont rapportés que l'huile essentielle de clou de girofle administrée à raison de 15 mg / kg de poids corporel pendant 35 jours, provoque une augmentation de l'activité de certaine enzymatique Δ5, 3β-HSD et 17β-HSD et du taux de testostérone sanguine. Ceci explique le succès de la spermatogenèse et de la spermogenèse.

Cependant une autre étude suggère que l'administration d'une extrait de Menthe crispa dans une période de 60 jours, à 50 et / ou 100 mg / kg / rat, produira des effets suppressifs sur spermatogenèse (qualité et quantité du sperme) Mishra et al.(2014).

Egalement une autre étude fait par Boudou et *al* (2013) a montré que l'administration intrapéritonéale d'huile essentielle extraite des bourgeons floraux de Syzygium aromaticum pendant 3 semaines aux rats préalablement intoxiqués au Mn a provoqué une augmentation

significative de la concentration en spermatozoïdes (61,2 × 106 cellules / ml) et une réduction des anomalies morphologiques (10,8%). Ces changements étaient associés à une régénération significative des tubules séminifères et des cellules interstitielles. Cette étude a révélé un effet améliorateur de l'huile essentielle Syzygium aromaticum sur la structure du tissus testiculaire et sur la qualité du sperme.

Cependant ,Kumar (2008) n'a observé aucun changements ignificatif au système reproducteur après l'utilisation à court terme de menthe verte, mais l'utilisation à long terme a causé des dommages irréversibles à ce système, tels qu'une diminution significative du poids des vésicules séminales, épididymes, testicules et prostate avec changements histopathologiques significatifs dans ces tissus.

Une réduction dose-dépendante est observé pour le nombre de spermatozoïdes testiculaires, du nombre de spermatozoïdes épididymaires la motilité et la numération anormale des spermatozoïdes chez les rats traités avec L'extrait aqueux de feuilles *Andrographis paniculata*. L'étude a révélé que cette extrait aqueux de les feuilles d' *Andrographis paniculata* est un puissant agent spermicide et anti-fécondité (Sathiyzraj et al.(2011).

Des rats albinos mâles traité par l'extrait éthanolique de *Calendula officinalis* au dose de 150, 250 et 500 mg / rat / jour pendant 60 jours présente une significative du niveau de glycogène, protéine, acide sialique, fructose et testostérone. La motilité et la densité des spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme et le poids des organes reproducteurs ont diminué. Ainsi, l'étude a conclu que l'éthanol de l'extrait de *Calendula officinalis* altère la fertilité des rats (Agarwal et al.,2012).

Conclusion

Cette étude préliminaire sur l'influence des huiles essentielles Sauge Officinale et Romarin à Verbénone sur les structures des testicules et l'épididymes des lapins pré pubères de la souche synthétique de population locale a permis d'évaluer de façon expérimentale l'effet de ces huiles. La présente étude sur les effets de deux huiles essentielles sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids et volume des testicules et l'epididymes) sont plus élevés respectivement chez les lapins traité par l'huiles essentielles dose 2 puis dose1 par rapport aux témoins. Cependant l'huile essentielle Romarin a verbénone présente des valeurs plus élevé que l'huile Sauge officinale.

Sur le plan histologique la Sauge Officinale induit l'apparition de spermatides rondes chez les lapins âgés de 3 mois par la dose 1 (100 µl/kg) tandis que chez les lapins traités par la dose2 (200 µl/kg) il ya apparition de spermatides allongés par rapport aux témoins, qui sont plus fréquent chez ceux traités par la dose 2. Le Romarin à Verbénone induit l'apparition dans certaine tube quelque spermatide allongée chez les lapins âgés de 3 mois par la dose 1 (100 µl/kg) tandis que chez les lapins traités par la dose2 (200 µl/kg) nous avons constaté une richesse en spermatide allongés par rapport aux témoins, qui sont plus fréquent chez ceux traités par la dose 2. Ces deux huiles essentielles ont stimulé le développement de l'épithélium épididymaire.

De ce fait il semblerait que les deux huiles essentielles aux doses utilisées auront un effet positif sur le développement des testicules et l'epididymes, la spermatogenèse et la fertilité des lapins âgés de 3 mois prépubère.

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

Références Bibliographiques

- A.E. Bashandy ,2007.Effects of Nigella Sativa on Male Fertility in Normal and Hyperlipidemic Rats :3-7
- Abney, T.O. (1999) « The potential roles of estrogens in regulating Leyding celldevelopment and function: a review."Steroids 64(9): 610-7.
- Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Mahuran D., Gravel R.A., Trasler J.M., et Hermo L. (1999). I. Abnormalities in cells of the testis, efferent ducts, and epididymis in juvenile and adult mice with beta-hexosaminidase A and B deficiency. *J. Androl.* ***20:*** 779-802.
- Agrawal S., Kumar A., Gullaiya S., Dubey V., Nagar A., Tiwari P., Dhar P. et Singh V. (2012). Activité anti-fécondité d 'écorce méthanolique d' *Aegle marmelos* (L.) chez des rats Wistar mâles. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 20 (1): 94.
- Alvarino M.R., (1993). Control de la reproduccion en el conejo. 1er éd., Iryda, mundi-prensa, 137p.
- Aubineau M., Bermond A., Bongler J., Roger J-Estardj. ; 2002**.**Larousse agricole, Larousse VUEF. Canada ,379p.
- Bahathiq A.O., Stewart R.L., Baxter L., Wells M., Moore H.D. et Ledger W.L. (2005). Tissue immunoexpression and messenger ribonucleic acid localization of inhibin/activin subunit in human epididymis.*Fertil. Steril*. ***83***: 78-85.
- Barone R. (2001). Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4: splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241-516.
- Bedossa A. 2009. Exploration de la fonction de reproduction. Versant masculin. Cahier de formation, biologie médicale N°42, 12-15.
- Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckhein M., Veyssiere G., Blanc M.R., Poirier J.C. et Jean C. (1982). Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol.* ***99:*** 459-465
- Boiti C., Castellini M., Theau-Clement M., Besenfelder U., Liguori L., Renieri T., et Pizzi F. 2005. Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World rabbit Sci* ; 13, 71-91

- Bonnafous C. (2013). *Traité scientifique Aromathérapie - Aromatologie & aromachologie édition* Dangles.
- Bonnes G., Desclaude J., Desclaude J., Drogoul C., Gadoud R., Jussiau R., Le Loc'h A., Montémas L. et Robin G. (2005). Reproduction des animux d'élevage. *2éme Ed. Educagri* : 407
- Boussit D. (1989). Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion *Lavoisier* TEC & DOC : 240p.
- Castro A.C.S., Berndtson W.E., et Cardoso F.M. 2002. Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. *Braz.J. Med. Biol Res; 35, 493-498.*
- Clark BJ, Wells J, King SR, Stocco DM. (1996). The purification, cloning and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (STAR). The jpurnal of biological chemistry 269 (45) : page 224-283
- Cooper, T. G. (1998). Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J. Reprod. Fert. Suppl.* ***53****:* 119-136.
- Cornwall G.A., and HsiaN. (2003). A new subgroup of the family 2 cystatins. Mol Cell Endocrinol 200, 1-8.
- cornwall, g. a., et hsia, n. (2003). A new subgroup of the family 2 cystatins. *Mol Cell Endocrinol 200, 1-8.*
- Couic-Marinier F. & Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*.
- Dadoune J.P.(2000).Histologie. Paris : 23 -30.
- Dob T.,Berramdane T., Chelghoum C.,2005 Chemical composition of essential oil of Pinus halipensis Miller growing in Algeria.Comptes Rendus Chimie (11-12).
- El-Gaafary M.N. et Marai F.M. (1994). Artificialinsemination in rabbits. *Options Méditérranéennes. Série A.*
- Ewuola E.O. et Equnike G.N. (2010). Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reproduction.* ***139****:* 439–45.

- Fan X. et Robaire B. (1998). Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinol.**139***: 2128-2136.
- Filippi, S., Luconi, M., Granchi, S., Vignozzi, L., Bettuzzi, S., Tozzi, P., Ledda, F., Forti, G., et Maggi, M. (2002a). Estrogens, but not androgens, regulate expression and functional activity of oxytocin receptor in rabbit epididymis. *Endocrinology 143, 4271-4280.*
- Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000). Influence of chronique high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. *7th world Rabbit congress*.
- Finzi A., Daader A., Yamani K., Soliman A. et Askar A. (2000). Influence of chronique high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. *7th world Rabbit congress*.
- Gacem M, Zerrouki N, Lebas F, (2009). Comparaison des performances de production d'une Souche synthétique de lapin avec deux populations locales disponible en Algérie. 13ème journées de la recherché Cunicole, 17-18 novembre.France.
- Gacem M, Zerrouki N, Lebas F, (2009).Comparaison des performances de production d'une Souche synthétique de lapin avec deux populations locales disponible en Algérie. 13ème journées de la recherché Cunicole, 17-18 novembre.France.

- García-Tomas M., Sanchez J., Rafel O., Ramon J., Piles M, 2007. Développement sexuel post-natal chez le lapin : profils de croissance et de développement du testicule et l'épididyme dans deux lignées. *12èmes* Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans, France : 49-52.
- Girod C., Czyba J C. Biologie de la reproduction 2 ^{eme} édition (lyon) : 79-82.
- Girouard J. (2009). Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épididymaire des spermatozoïdes bovins. *Thése de Doctorat en physiologie-endocrinologie*. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.
- Haeri S.,Minaie B., Gholamreza A., Shekoufeh N., Khorasani R., Esmaily H., Salehnia A. et Abdollahi M., 2006. Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on male rat fertility. Elsevier, Fitoterapia, 77, 495-499.

- Hamon R., Thepot N. et Salaun G. (1999)**.** Biologie de la reproduction des mammifères d'élevage. *Editions Educagri*: 132p.
- Hazard J. et Perlemuter L. (2000). Endocrinologie, Abrégé. Edition Masson, Paris: 363-375.
- 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.
- Hochereau De Reviers M.T.H. et Royere D. (1996). Anatomie fonctionnelle du testicule adulte in Drosdowsky M.A., Belaisch J. et Vermeulen A. (1996). Endocrinologie masculine. Edition Doin, Paris : 35-46.
- Hoffer A.P., Hamilton D.W. et Fawcett D.W. (1973). The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis.*Anat. Rec.* ***175****: 169-201.*
- Hsueh,A.J.,K.D. Dahl, J.Vaughan,E.Tucker,J.Rivier,C.W.Bardin and W.Vale(1987). « Heterodimers and homodimers of ihibin subunits have dirrerent paracrine action in the modulation of luteinzing hormone-stimulated androgen biosynthesis".Proc Natl Acad Sci usa 84(14):5082-6.
- Jardin A. et De Fourmestraux N. (1984). In Mauvais-Jarvis P. médecine de la reproduction maasculine. Ed. *Flammarion Med. Sci.* : 15-23.
- Junqueira L.C. et Carneiro J. (2007). Basic histology.11th ed. *Copyright © The Mc Grow hill companies*.
- Kammerer M., Leclerc S., Poncet A. (2012). 100 Intoxications chez les animaux de companie. Edition Maloine. Paris. p 185-186.
- 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.
- Kerr J.B. (1991). Ultrastructure of the seminiferous epithelium and intertubular tissue of the human testis. *J. Electron. Microsc. Tech.* ***19***: 215-240.
- Kumar V, Kural MR, Pereira BMJ, Roy P. Spearmint induced hypothalamic oxidative stress and testicular anti-androgenicity in male rats – altered levels of gene expression, enzymes and hormones. Food Chem Toxicol. (2008);46:3563–3570.
- Kumar, D., Agrawal, CP, Mishra, DD et Singh, V. (2014). Effet anti-fertilité de l'extrait de benzène de fleurs de *Hibiscus rosa sinensis* L. sur le système reproducteur

chez des rats mâles albinos. *Indian Journal Applied & Pure Biology* ., 29 (2): 215-217.

- Lambard S. ,D. Silandre, C Delalande, L . Denis-Galeraud, S.Bourguiba et S.Carreau (2005). "Aromatase in testis: expresion and role in male reproduction."J Steroid Biochem Mol 95 (1-5): 63-9.
- Le Moigne A. et Foucrier J. (2009). Biologie du développement. *7ème Edition*. DUNOD Inc.
- Lebas F. (2002) Biologie du lapin. http://www.cuniculture.info/Docs/indexbiol.htm.
- Lebas F., Coudert P., Rouvier R. et Rochambeau H. (1984). Le lapin : élevage et pathologie édition FAO, Rome : 1984-298p.
- Lebas F., Marionnet D. et Hennaf P. (1991). La production du lapin, Technologie et documentation, LAVOISIER (3émes édition) : 260p.
- Lebas F.Coudert P. De Rochambeau H et Thebaut R.G (1996)**.**Le Lapin,Elvage et Phathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rom : 227 pp.
- Lejeune H., Jegou B., Carreau S. et Saez J.M. (1996). Régulation paracrine et autocrine des fonctions testiculaires in Drosdowsky M.A., Belaisch J., VErmeulen A. (1996). Endocrinologie masculine. Edition Doin, Paris : 75-101.
- Levallet J., Bilinska B., Mittre H., Genissel C., Fresnel J. et Carreau S. (1998). Expression and immunolocalization of functional cytochrome P450 aromatase in mature rat testicular cells.*Biol. Reprod.*, ***58***: 919-926.
- Li Y., Putnam-Lawson C.A., Knapp-Hoch H., Friel P.J., Mitchell D., Hively R. et Griswold M.D. (2005). Immunolocalization and regulation of Cystatin 12 in mouse testis and epididymis.*Biol. Reprod*. ***73***: 872-880.
- Lin T., J.K. Calkins,P.L.Morris, W.Vale et C.W.Bardin(1989)."Regulation of Leydig cell function in primary culture by inhibin and activin".Endcrinology 125(4): 2134-40.
- luminal content. *Biol. Reprod.****61***: 705-714.

Male Albino Rats. Res J Med Med Sci, 2009. **4**(2): p. 386-390.

- Marieb N.E. (2006). Anatomie et physiologie humaines. 6éme ed. renouveau pédagogique : 1096.
- Marsimovic M. ; Danijela V ; Mladen M. ;Marija E . Sabaheta A. ; et Sonja S.Y.(2007).Effet of the environnent condition on essentiel oïl profile in two dinaric

Salviaspecies : Salviabrachydonvandasand Salvia officinalis L. Biochemical systematicsand Ecologie.35 ,473-478

- Martin H, Johnson et Barry J, Everitt , 2002.Reproduction .De Boeck Université s.a.Paris.p298
- 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.
- Martoja R. et Martoja M. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. Eds Masson et cie, Paris : 343.
- Matzuk M. M., Kumar, T. R., et Bradley, A. (1995). Different phenotypes for mice deficient in either activins or activin receptor type II. Nature 374, 356-360.
- Micol D., Robelin J., Geay Y, 1993. Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscle chez les bovins en croissance et a l'engrais. INRA Production Animale. Vol 6 (1) :61-69.
- Mukhallad A., *Effects of Black Seeds (Nigella Saitva) on Spermatogenesis ans fertility of*
- Muller Y. et Clos J. (1997). La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris: 9-31.
- Nguyen S Y.,Bourouina. (2008). Manuel d'anatomie et de physiologie (paris) :410-458.
- Niemi M., et Kormano M. (1965). Contractility of the Seminiferous Tubule of the Postnatal Rat Testis and Its Response to Oxytocin.Ann Med ExpBiolFenn 43, 40-42.
- O'Shaughnessy .P.J. etL.Murphy (1991). Sterodogenic enzyme activicty in the rat testis following leyding cell destruction by ethylene 1 , 2 dimethanesulphnate and during subsequent leydig cell regeneration. J Endocrinol 131 (3) : 451-7
- Parlevliet J.M., Pearl C.A., Hess M.F., Famula T.R. et Roser J.F. (2006). Immunolocalization of estrogen and androgen receptors and steroid concentrations in the stallion epididymis.*Theriogenol.* ***66***:755-765.
- Payne A.H et O'shaughnessy P. J (1996).Structure and regulation of steroidogenec enzymes in the leyding cells.
- Pelletier,G, C. Labrie and F.Labrie and F.Lbrie (2000)."Localization of oestrogen receptor alpha, oestrogen receptor beta and androgen receptors beta and aondrogen in the rat reproductive organs."J endocrinol 165(2): 359-70.

- Pollanen P. et Cooper T.G. (1994). Immunology of the testicular excurrent ducts.*J. Reprod. Immunol.* ***26***: 167-216.
- Ramos A.S., JR., et Dym, M. (1977). Fine structure of the monkey epididymis. *Am. J. Anat*. ***149***: 501-531.
- Riar S.S., Setty B.S. et Kar A.B. (1973). Studies on the physiology and biochemistry of mammalian epididymis: biochemical composition of epididymis. A comparative study. *Fertil. Steril.* ***24***: 355-363.
- Robaire B. et Hermo L. (1988). Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In *The Physiology of Reproduction:* 999-1080 EdsKnobil E. et Neill J. *Rav. Pres*. New-York.
- Robaire B. et Viger RS. (1995). Regulation of epididymal epithelial cell functions. *Biol. Reprod*. ***52***: 226-236.
- Robaire B., Jervis K.M. et Ezer N. (2003). Cell Dynamics and Cell Death in the Epididymal Epithelium. In: *Third International Conference on the Epididymis*: 35-49, Hinton B.T. et Turner T.T. eds. 2003, *The Van Doren Company, Charlottesville, Virginia, USA.*
- Saez, J.M (1994). « Leydig cells :endocrine, paracrine,andautocrine regulation ».Endocr Rev 15 (5) :547-626.
- Samia Z. Meshreky, Arafa M.M., Abo-Warda M.A. ,2005. Evaluation of male capabilities in V-line, Baladi Red Rabbits and their cross under the Egyptian environmental conditions. *In* Proc.: 2nd Sci. Conf. Anim. Prod. Res. Inst., Egypt, Sep:681-693.
- Sathiyaraj, K., Sivaraj, A., Thirumalai, T., Baskaran, N., Vinothrasu, K., Inbasekar, P. et Senthil Kumar, B. (2011). Activité anti-fécondante de l'extrait aqueux de feuilles d'*Andrographis paniculata* chez des rats mâles albinos. *Journal international of Pharmaceutical & Biological Archives.*, 2 (4): 1179-1182.
- Schulz R W .Menting S. Bogerd J.França L.R et Vilela D.A.R.(2005) .Sertoli cell proliferation in adult testi-evidence from two fish species belonging to different orders.Biol.Reprod.,73: 891-898.
- Seiler P., Cooper T.G. et Nieschlag E. (2000). Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int. J. Androl.* ***23***: 65-76.

- Serre V. et Robaire B. (1999). Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol. Reprod.* ***61***: 705-714.
- Shayu D., Kesava C.C., Soundarajan R. et Rao A.J. (2005). Effects of ICI 182780 on estrogen receptor expression, fluid absorption and sperm motility in the epididymis of the bonnet monkey.*Reprod. Biol. Endocrinol*. ***3***: 10.
- Siffroi J.P. (2001). L'appareil génital masculin [en ligne]. *Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno*: 1-45.
- Suvanto O. et Kormano M. (1970). The relation between in vitro contractions of the rat seminiferous tubules and the cyclic stage of the seminiferous epithelium.J ReprodFertil: 21, 227-232.
- Thibault C. etLevasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle edition, éd. Ellipses (Paris): page 258-260-276.
- Tortora G J., Derrickson (2009). Manuel d'anatomie et de physiologie humaine (paris) : pages 311-322.
- Tortora G J., Grabowski S R et Parent J C. (1995). Biologie humaine : Cytogénétique-régulation-reproduction. Edition CEC, collégial et universitaire, pages 311-322.
- Vaissaire J.P. (1977). Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire. Edition Maloine S.A :101-200.
- Veri J. P., Hermo L. et Robaire B. (1993). Immunocytochemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J. Androl.* ***14***: 23-44.
- Wrobel K.H. (1990). Male reproduction system. In: Textbook of Veterinary Histology, 2éme Ed: 226-243.
- Yu L.C., Echen Y.H. (1993). The developmental profile of lactoferrin in mouse epididymis.*J. Biochem*. ***296***: 107-11.

Résumé

Le but de notre travail est d'évaluer l'influence de la consommation des huiles essentielles sur la fertilité masculine des lapins appartenant à souche synthétique utilisées comme modèle expérimental.

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques, riche en phyto –œstrogène dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée .Ces composés sont susceptible de modifier le processus physiologique normal de reproduction et de perturber cette fonction. Nous avons utilisé 15 lapins mâles âgés de 12 semaines, ces animaux sont répartis 3 lapins pour chaque cage .Ont les a introduit deux dose différentes (100µ/kg et 200µl/kg) des huiles essentielles Romarin à verbinone et Sauge officinale. Après une semaine les animaux sont sacrifiés par décapitation. Les organes de système génital sont prélevés à savoir les testicules et épididymes

La présente étude sur les effets de deux huiles essentielles sur les paramètres macroscopiques (poids vifs, poids totale et volume) sont plus élevés respectivement chez les lapins traité par l'huiles essentielles dose 2 puis dose1 par rapport aux témoins. Cependant l'huile essentielle Romarin a verbinone présente des valeurs plus élevé que l'huile Sauge officinale.

De ce fait il semblerait que les deux huiles essentielles aux doses utilisées auront un effet positif sur le développement des testicules et l'epididymes, la spermatogenèse et la fertilité des lapins âgés de 3 mois prépubère.

Mots clés

Lapins mâles –Huiles essentielles (Sauge Officinale et Romarin à Verbénone) –Testicule – Epididyme.

summary

The aim of our work is to evaluate the influence of the consumption of essential oils on the male fertility of synthetic-stock rabbits used as an experimental model.

Essential oils are aromatic products, rich in phyto-estrogen whose safety is not fully proven. These compounds are likely to modify the normal physiological process of reproduction and to disrupt this function. We used 15 male rabbits 12 weeks old, these animals are distributed 3 rabbits for each cage .Ont introduced them two different dose (100µ / kg and 200µl / kg) essential oils Rosemary to verbinone and Sage officinale. After a week the animals are sacrificed by decapitation. The organs of the genital system are removed, namely the testes and epididymides .

The present study on the effects of two essential oils on macroscopic parameters (live weight, total weight and volume) are higher respectively in rabbits treated with essential oils dose 2 and dose1 compared to controls. However, the essential oil Rosemary verbenone has higher values than Sage officinale oil.

As a result, it appears that the two essential oils at the doses used will have a positive effect on testicular development and epididymis, spermatogenesis and fertility of prepubertal 3-month-old rabbits.

Keywords

Male Rabbits - Essential Oils (Officinal Sage and Remarin to Verbena) - Testis – Epididyme.