



Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques  
Département biologie animale et végétale

## Mémoire de Fin d'Etudes

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

# ***Thème***

Effets de l'huile essentielle Menthe poivrée a deux doses  
(200 $\mu$ l/Kg et 400 $\mu$ l/Kg) sur la structure gonadiques des  
lapins mâle infantiles et pré pubères

Présenté par : M<sup>elle</sup> SMAH Hanane

M<sup>me</sup> OULD MOKHTAR Saâdia

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>me</sup> KHELFAANE K. Ep. GOUCEM

MCA

UMMTO

Promotrice : M<sup>me</sup> LAKABI L. Ep. AHMANACHE

MCB

UMMTO

Examinatrice : M<sup>me</sup> BOUAZIZ H. Ep. YAHIAATENE

MCB

UMMTO

# Remerciements

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

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

**Nous voudrions exprimer notre gratitude à Madame LAKABI L. Ep. AHMANACHE  
maitre de conférence B à UMMTO qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre  
promotrice, de nous diriger tout au long de notre travail et pour toute l'aide et le temps  
qu'elle nous a consacré, nous la remercions pour sa patience et ses encouragements.**

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

**On exprime nos reconnaissances à Madame BOUAZIZ H., Ep. YAHIA TENE maitre de  
conférence qui a bien voulu nous accorder une partie de son temps pour examiner et  
juger ce travail.**

**On tient à remercier vivement l'équipe du laboratoire de Mme MADJDOUB BENSAAAD  
et l'éleveur de la région de Djebba (TO) ainsi qu'aux membres de l'équipe du laboratoire  
Anatomie et pathologie de CHU Nedir Mohammed (TO), d'avoir contribué à  
l'accomplissement de cette étude, un grand merci.**

# Dédicaces

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

*Je dédie ce travail :*

- ✓ *A mes chers parents (mon cher **père**, ma **mère** et mon **grand père**) pour leur soutien inconditionnel dans toutes les étapes de ma vie, quelques lignes ne suffisent pas à faire une longue et belle phrase digne de vous, alors juste un grand merci pour vous les trois, pour tout, et que le bon dieu vous accorde une longue vie plein de prospérité.*
- ✓ *A mes très chers frères **Mohand Said** et **Mahdi** merci pour tout l'aide que vous m'avez offert et un grand merci pour mon fiancé **Smail** pour son soutien et de m'avoir accompagné de loin et de pris tout au long de mes études, je vous remercie vivement, « **que dieux vous protège** ».*
- ✓ *A mes grands-parents, a tous mes oncles et mes tantes.*
- ✓ *A mes amie : **Messad**, **Fazia** et **Célia** et mes amie de curssus **BPR***
- ✓ *Sans oublie mon amie, et ma binôme **M<sup>me</sup> Ould Mokhtar Saadia***
- ✓ *Et enfin à tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer*

*SMAH Hanane*

# *Dédicaces*

*Je tien tout d'abord à remercier Dieu de m'avoir aidé à réaliser ce mémoire. J'ai l'immense plaisir de dédier ce marquant événement de ma vie à la mémoire de ma maman et mon frère et je tiens à remercier, mon mari ma belle mère et mon beau père qui m'ont comblés de force et d'encouragement et ma sœur, mon père, mon frère et à toute ma famille et mes amies du cursus BPR*

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

***Saadia***





## **Liste des Abréviations**

# *Abréviations*

**ABP:** Androgen Binding Protein

**AMH:** Hormone antimüllérienne

**ATP:** Adénosine Triphosphate

**CHU:** Centre hospitalier universitaire

**DHT :** Dihydrotestostérone

**EM:** Eminence Médiane

**ESM :** Erreur standard à la moyenne

**FGF:** Fibroblast growth factor

**FSH:** Follicle Stimulating Hormone

**GnRH:** Gonadolibérine

**HAM:** Hormone antimüllérienne

**HCO<sub>3</sub>:** bicarbonates

**HE:** Huile Essentielle

**IGF-1:** Insulin growth factor-1

**INRA :** Centre d'activités scientifiques pluridisciplinaires

**LH:** Luteinizing Hormone

**LHRH:** Luteinizing Hormone Releasing Hormone

**MIS:** Müllerian inhibitory substance

**ONAB :** Office National de l'Aliment de Bétail

**P:** Probabilité

**SGF:** Seminiferous Growth Factor

**SKEO:** Satureja khuzestanica essential oil

**SP II:** Spermatoocyte II

**Sp:** Spermatogonie

**SpB:** Spermatogonie B

**SPI:** Spermatoocyte I

**TNF:** Le facteur de nécrose tumorale

**IL-I:** interne leukine 1

**EGF:**Epidermal Growth Factor

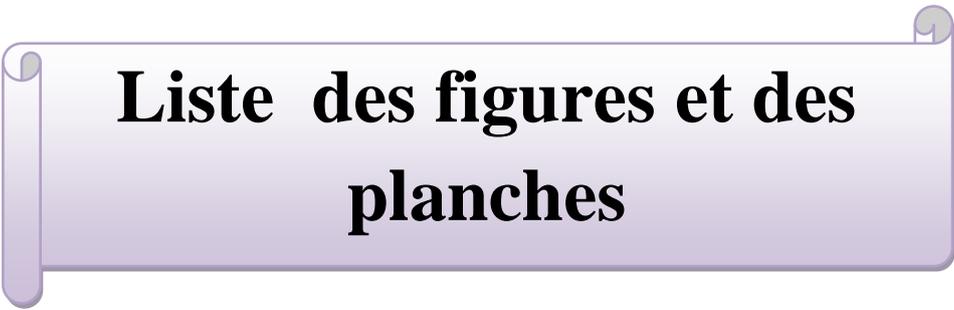
**TGF:**Transforming growth factor

**HCG:**L'hormone chorionique gonadotrope humaine

**GABA:** l'acide gamma-amino-butyrique

**CRH:**corticotrophine releasing factor

**T3 :**Tri iodothyronine



**Liste des figures et des  
planches**

## *Liste des figures et des planches*

<b>Figure 1</b> : Représentation anatomique de l'appareil génital du lapin mâle (Barone, 2001)...	03
<b>Figure 2</b> : Vascularisation du testicule (Bailleul et Mauroy., 1991).....	05
<b>Figure 3</b> : Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).....	06
<b>Figure 4</b> : Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié).....	08
<b>Figure 5</b> : Détail d'une portion de tubule séminifère de lapin (Junqueira et Carneiro, 2007).....	09
<b>Figure 6</b> : Schémas générale de la spermatogénèse (Marieb, 2006).....	12
<b>Figure 7</b> : Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009).....	14
<b>Figure 8</b> : Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).....	15
<b>Figure 9</b> : Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000).....	18
<b>Figure 10</b> : Différentes étapes de la spermatogénèse (Marieb, 2006).....	21
<b>Figure 11</b> : Régulation hormonale de la reproduction chez le mâle (Boussit ,1989).....	25
<b>Figure 12</b> : Lapins issus d'un élevage cunicole de Djebba (Originale, 2019).....	31
<b>Figure 13</b> : photographie du flacon de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » (Originale, 2019).....	32
<b>Figure14</b> : Pesée et Administration de l'huile essentielle « menthe poivrée » par voie orale (Originale, 2019).....	33
<b>Figure 15</b> : Présentation de l'appareil génital du lapin lors du sacrifice (Originale, 2019)...	34
<b>Figure 16</b> : Piluliers de fixateur contenant les organes (Originale, 2019).....	35
<b>Figure 17</b> : des organes placé dans des moules qui recevront la Paraffine (Originale, 2019).....	37
<b>Figure 18</b> : Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite (Originale, 2019).....	37
<b>Figure 19</b> : photographie des bains d'alcool et de xylène de la circulation (Originale, 2019).....	38
<b>Figure 20</b> : Photographie d'une série d'une coloration topographique (Originale, 2019).....	38
<b>Figure 21</b> : Effet de la Menthe poivrée sur le poids corporel des lapins infantiles.....	40

<b>Figure 22 :</b> Effet de la Menthe poivrée sur le poids corporel des lapins prépubères .....	41
<b>Figure 23 :</b> Poids total des testicules des lapins infantiles .....	42
<b>Figure 24 :</b> Poids moyen des testicules gauches et droits des lapins infantiles.....	43
<b>Figure 25:</b> Représentation graphique montrant le poids total des testicules des lapins prépubères.....	44
<b>Figure 26:</b> Représentation graphique du poids moyen des testicules droits et gauches des lapins prépubères.....	45
<b>Figure 27:</b> Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles....	45
<b>Figure 28:</b> Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins prépubères ..	46
<b>Figure 29 :</b> Représentation graphique sur le poids total de l'épididyme des lapins infantiles... ..	47
<b>Figure 30 :</b> Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles .....	48
<b>Figure 31 :</b> Représentation graphique sur le poids total de l'épididyme des lapins prépubères .....	49
<b>Figure 32 :</b> Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins prépubères .....	50
<b>Figure 33 :</b> Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins infantiles..	51
<b>Figure 34 :</b> Représentation graphique du poids relatif de l'épididyme des lapins prépubères .....	52
<b>Planche 1:</b> Coupes histologiques des testicules des lapins de infantiles pour lot T, D1 et D2.....	54
<b>Planche 2:</b> Coupes histologiques des testicules des lapins prépubères pour lot T, D1 et D2 (coloration : Trichrome de Masson).....	56
<b>Planche 3:</b> coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins infantiles des lots T, D1 et D2 .....	58
<b>Planche 4:</b> coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins prépubères de lot T, D1 et D2 .....	60





# **Sommaire**

Liste des abréviations  
Liste des figures et des planches

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Rappels Anatomo-histologie de l'appareil reproducteur mâle du lapin</b>	
1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle .....	3
1.1. Anatomie du testicule.....	4
1.1.1. Innervation et vascularisation.....	4
1.2. Anatomie de l'épididyme.....	5
1.3. Canal déférent .....	6
1.4. Urètre.....	7
1.5. Glandes annexes .....	7
1.5.1. Vésicule séminale.....	7
1.5.2. Glande vésiculaire (prostate ou prostate craniale) .....	7
1.5.3. Prostate, glandes paraprostatiques et glande de Cowper.....	7
2. Histologie fonctionnelle du testicule .....	8
2.1. Tubes séminifères.....	9
2.1.1. Cellule de Sertoli .....	10
2.1.2. Cellules de la lignée germinale.....	10
2.1.2.1. Spermatogonies et spermatocytes .....	11
2.1.2.2. Spermatide.....	11
2.1.2.3. Spermatozoïdes .....	11
2.2. Tissu interstitiel .....	13
2.2.1. Cellule de Leydig .....	13
3. Histologie fonctionnelle de l'épididyme.....	13
3.1. Cellules principales .....	14
3.2. Cellules basales .....	15
3.3. Cellules en halo .....	16
3.4. Cellules claires .....	16
3.5. Cellules apicales.....	16
3.6. Cellules étroites .....	16
3.7. Lumière du canal épидидymaire .....	17
<b>Chapitre II : Physiologie de la reproduction</b>	
1. Développement des gonades et puberté .....	18
1.1. Différentiation et développement des gonades.....	18
1.2. Développement pondéral.....	19

## SOMMAIRE

---

1.3. Maturation sexuelle .....	19
1.3.1. Phase infantile .....	19
1.3.2. Phase prépubertaire .....	19
1.3.3. Puberté.....	20
1.3.4. Maturité sexuelle .....	20
2. Fonctions physiologique du testicule .....	20
2. 1. Spermatogenèse.....	20
2.2. Stéroïdogenèse.....	22
3. Fonctions physiologique de l'épididyme .....	22
3.1. Maturation des spermatozoïdes .....	22
3.2.Acquisition de la motilité .....	22
3.3.Modification de la membrane des spermatozoïdes .....	23
3.4.Protection des spermatozoïdes .....	23
3.5. Stockage des spermatozoïdes .....	23
3.2. Fonctions au niveau de la lumière .....	23
4. Règulation hormonale de la fonction de la reproduction .....	24
4.1. Axe hypophysalamo-hypophyso-gonadique.....	24
4.2. Régulation intragonadique des fonctions testiculaires .....	25
4.3. Autres facteurs agissant sur la fonction testiculaire .....	26
4.4. Régulation des fonctions de l'épithélium épидидymaire.....	27
5. Influence des facteurs de l'environnement sur la reproduction des lapins.....	28
5.1. Effet de la température et humidité .....	28
5.2. Effet saison (éclairage et Photopériode).....	29
5.3. Effet de l'alimentation.....	29
5.4. Autres facteurs.....	29
<b>Chapitre III : Matériels et Méthode</b>	
1. Matériel biologique .....	30
1.1. Modèle animal.....	30
1.2. Huile essentielle utilisée (Menthe poivrée) .....	31
1.3. Autres Matériels .....	32
2. Expérimentation .....	32
2.1. Protocole expérimentale .....	33
2.2. Pesée et administration de la menthe poivrée.....	33
2.3. Sacrifices et prélèvement.....	34

## SOMMAIRE

---

3. Etude histologique .....	35
3.1. Fixation des échantillons .....	35
3.2. Déshydratation et éclaircissement .....	36
3.3. Imprégnation.....	36
3.4. Inclusion .....	36
3.5. Confection des coupes et collage .....	37
3.6. Déparaffinage et réhydratation .....	37
3.7. Coloration topographique .....	38
3.8. Observation des lames .....	39
4. Etudes statistique .....	39
<b>Chapitre VI : Résultats et Discussion</b>	
1. Résultats .....	40
1.1. Effet de la Menthe poivrée sur le poids corporel .....	40
1.1. 1. Lapins infantiles .....	40
1.1. 2. Lapins prépubères.....	41
1.2. Poids testiculaire.....	42
1.2.1. Poids des testicules des lapins infantiles .....	42
1.2.2. Poids des testicules des lapins prépubères .....	43
1.2.3. Poids relatifs des testicules des lapins infantiles et prépubères.....	45
1.3. Poids épидидymaires.....	47
1.3.1. Poids épидидymaires des lapins infantiles.....	47
1.3.2. Poids épидидymaires des lapins prépubères .....	49
1.3.3. Les poids relatifs épидидymaires des lapins infantiles et prépubères .....	50
1.4. Etude histologique des testicules des lapins .....	52
1.4.1. Histologie des testicules des lapins infantiles .....	53
1.4.2. Histologie des testicules des lapins prépubère .....	55
1.5. Etudes histologique de l'épididyme des lapins infantiles et prépubères .....	57
1.5.1. Histologie de l'épididyme des lapins infantiles.....	57
1.5.2. Histologie de l'épididyme des lapins prépubères .....	59
2. Discussion .....	61
<b>Conclusion .....</b>	<b>64</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>66</b>
<b>Annexe</b>	



# **Introduction**

## Introduction

---

Le lapin est l'espèce considérée à la fois comme animal domestique, animal de compagnie et animal modèle de recherche, possédant de nombreuses caractéristiques biologiques ; forte prolificité, rapidité de croissance, court intervalle entre générations et une bonne qualité de viande, ceci lui confère un statut particulier.

Le lapin est considéré comme un modèle essentiel en recherche scientifique car il offre beaucoup d'avantage dans le domaine de reproductivité permettant ainsi la mise en évidence de certains processus reproducteurs comme les changements morphologique du cycle épithélial séminifère (Ewuola et Equnike, 2010).

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

Le testicule est constitué principalement de tubes séminifères où se déroule la spermatogenèse et de tissu interstitiel riche en cellules de Leydig. Ces dernières synthétisent et libèrent les androgènes, principalement la testostérone qui joue un rôle dans le maintien de la spermatogenèse (Curtis et Amann, 1981 ; Eurell et Frappier, 2006).

L'épididyme, long tubule pelotonné reliant le testicule au canal déférent, joue un rôle très important dans la fertilité des mâles. A leur sortie du testicule, les spermatozoïdes sont fonctionnellement immatures et ce n'est qu'au cours de leur transit à travers l'épididyme qu'ils acquièrent progressivement la capacité à se mouvoir et à féconder un ovocyte.

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

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques riches en phyto-œstrogènes dont l'innocuité n'est pas totalement prouvée. Ces composés sont susceptibles de modifier le processus physiologique de la reproduction soit en l'améliorant ou en le perturbant (El Kalamouni, 2010).

## **Introduction**

---

Le but de notre travail est de mettre en évidence l'effets de l'huiles essentielle ; la Menthe poivrée sur les structures gonadiques (testicules et épидидymes) des lapins mâles infantiles, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids testiculaire et épидидymaire. De ce fait, notre travail s'organise en quatre chapitres : rappels bibliographiques, matériels et méthodes, résultats et discussions, finissant par une conclusion générale.

# **Chapitre I**

## Rappels bibliographiques

L'appareil génital du lapin mâle, situé postérieurement, s'extériorise par des bourses peu marquées par rapport aux autres mammifères (Boussit, 1989). Il a d'une manière générale deux fonctions primordiales, la production des spermatozoïdes et leur dépôt dans les voies génitales femelle d'une part, et la sécrétion des hormones sexuelles d'autre part (Alvarino, 1993).

### 1. Anatomie de l'appareil reproducteur mâle

Le terme « appareil génital mâle » désigne tous les organes et structures qui participent à la formation, la maturation, l'émission sous pression des différents constituants du sperme, qui comprend (Figure1) : les testicules, l'épididyme, le canal déférent, les vésicules séminales, les canaux éjaculateurs, la prostate et le pénis (Jardin et De Fourmestaux, 1984).

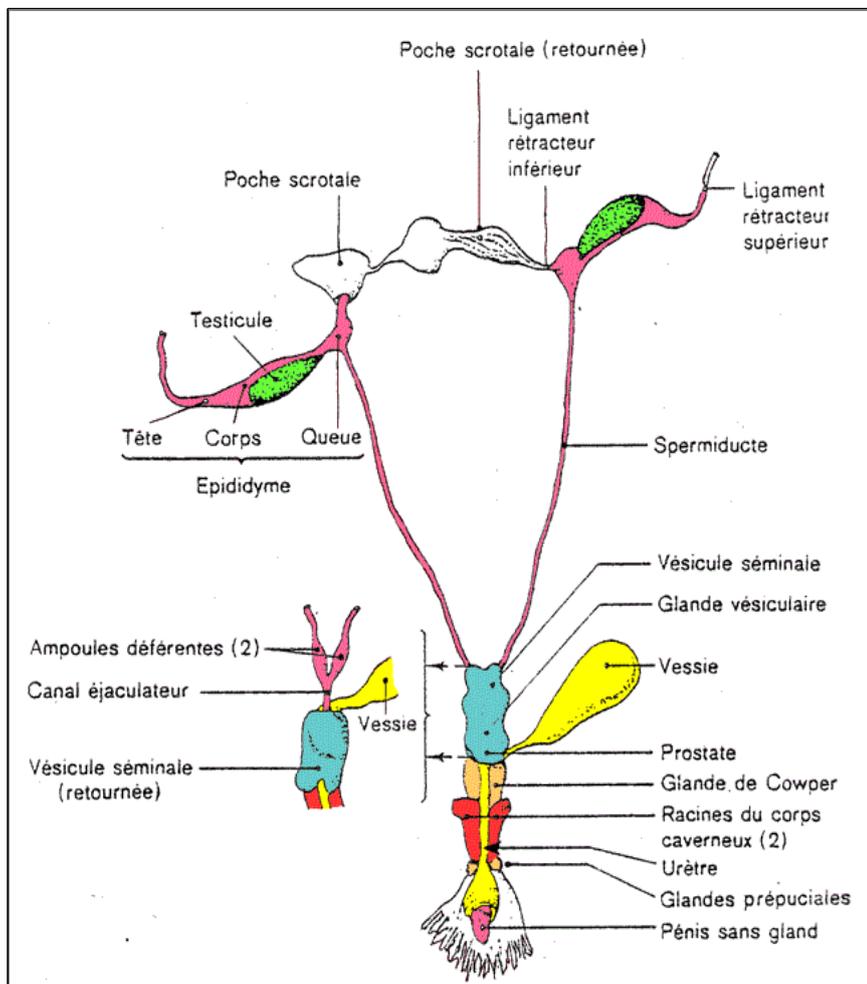


Figure 1: Représentation anatomique de l'appareil génital du lapin mâle (Barone, 2001)

### **1.1. Anatomie du testicule**

Les testicules du lapin sont des organes pairs bi-fonctionnels et leur taille varie suivant l'espèce. Chez le lapin, le testicule mesure en moyenne 3 à 3,5 cm de longueur, 1 à 1,5 cm de largeur et 1 à 1,3 cm d'épaisseur. Le rapport poids du testicule sur le poids du corps est de 1/700 (Barone, 2001 ; Dadoune et Demoulin, 2001).

Chaque testicule est logé dans un sac musculaire très développé qui est en continuité avec le muscle oblique interne autour de l'anneau inguinal, appelé le crémaster. Ce dernier contrôle la remontée et la descente du testicule, qui est presque horizontal quand sa descente est maximale. Le scrotum est la poche de peau enveloppant le testicule et qui est presque glabre et bien visible durant l'activité sexuelle (Bonnes *et al.*, 2005).

#### **1.1.1. Innervation et vascularisation**

L'artère est issue de l'aorte abdominale. Elle assure l'irrigation du testicule. à l'entrée du canal inguinal, elle se fléchit en d'amples boucles tout au long du cordon spermatique, s'entremêlant avec un plexus veineux. Cette disposition est dite cône vasculaire dont la base repose sur le testicule, à la surface testiculaire l'artère spermatique se divise en branches qui pénètrent en profondeur pour former un réseau capillaire très riche (Barone, 1978).

La veine du testicule est drainée par un ensemble de veinules sous l'albuginée qui reçoivent, à la surface du testicule, celles de la tête epididymaire et s'engage ainsi dans la cône vasculaire en se divisant en un réseau complexe: c'est le plexus pampiniforme. Ce réseau enserre étroitement les circonvolutions de l'artère spermatique et est à l'origine du refroidissement du sang arrivant aux testicules, à l'extrémité du cône vasculaire, la veine testiculaire draine l'ensemble des veines du cordon spermatique (Barone, 1978).

L'innervation Provient du plexus mésentérique caudal. Le scrotum, la tunique vaginale et le crémaster sont innervées indépendamment à partir du plexus lombo-sacré (Montane et Bordelle, 1978).

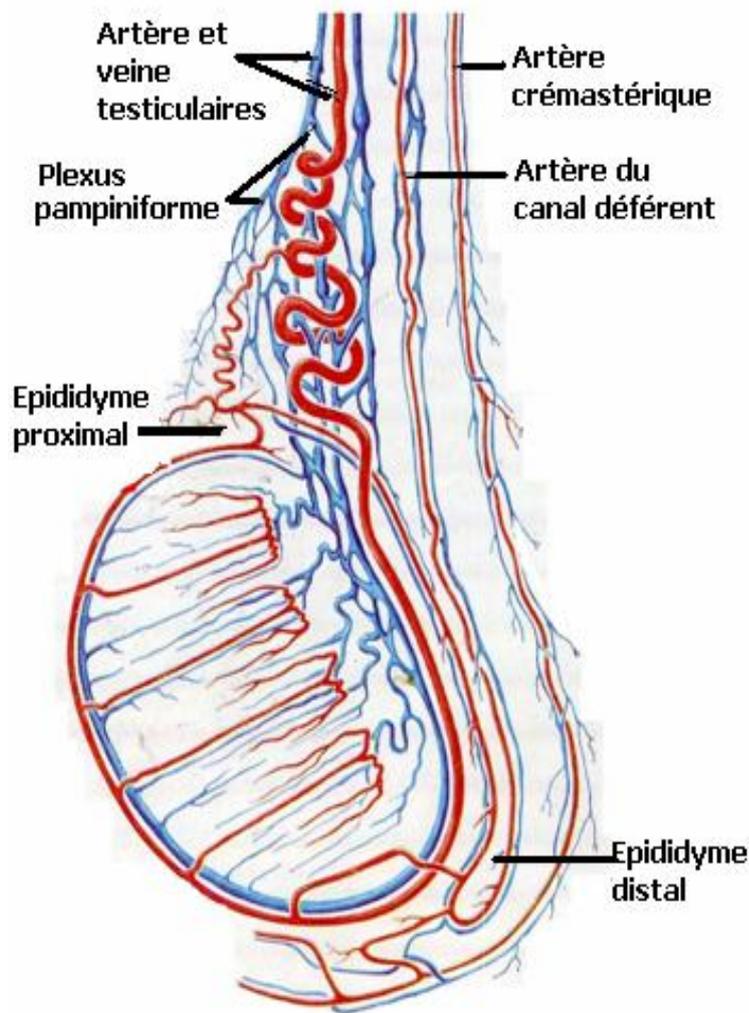


Figure 2 : Vascularisation du testicule (Bailleul et Mauroy, 1991).

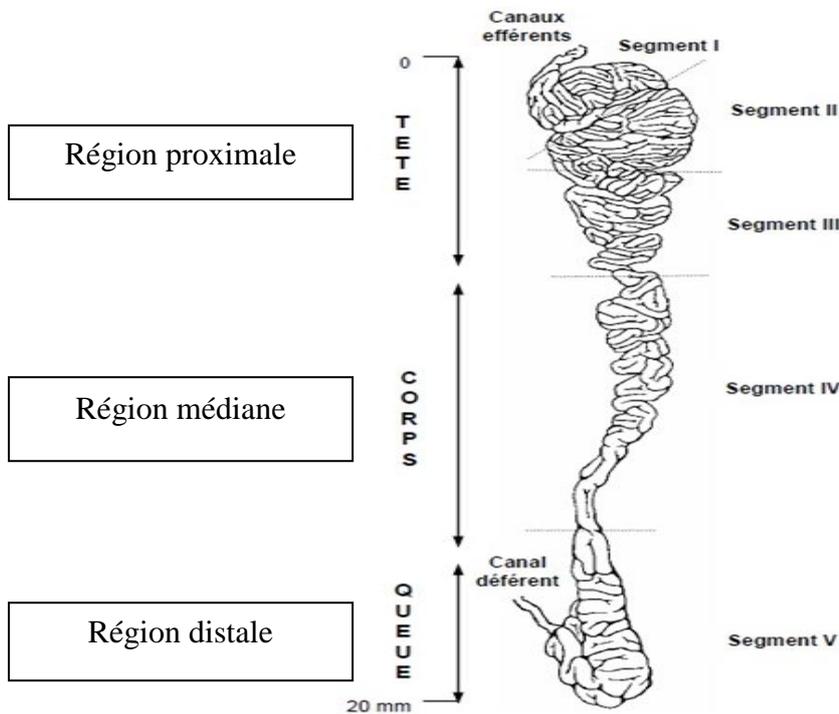
## 1.2. Anatomie de l'épididyme

Les spermatozoïdes quittent les canalicules efférents pour être dirigés dans l'épididyme (Hamilton, 1975 ; Robaire et Hermo, 1988). Ce dernier est un long canal unique en circonvolution, de longueur variable selon les espèces (1 à 60 m, respectivement chez la souris et le ver rat), situé sur la face postérieure du testicule.

Sur la base de sa morphologie et de son histologie, cet organe hautement différencié peut être divisé chez les mammifères en trois régions anatomiquement distinctes : la tête (région proximale), reliée au hile du testicule par les canaux efférents ; le corps (partie médiane) et la queue (région distale) qui est en continuité avec le canal déférent (Figure 3) (Glover et Nicander, 1971 ; Hamilton, 1990). Ces régions sont également subdivisées en plusieurs segments (Abe *et al.*, 1983 ; Abou Haila et Fain-Maurel, 1984 ; Johnston *et al.*,

2005), chacun d'entre eux étant délimité par des cloisons conjonctives ou septa (Takano, 1980).

D'après Hermo *et al* (1991; 1992) suggèrent que les différentes caractéristiques structurales et fonctionnelles des cellules formant l'épididyme divise de l'épididyme en plusieurs régions ou segments. Cependant, ces régions sont difficiles à distinguer et cela est dû à la forme tortueuse et entremêlée du tubule de l'épididyme.



**Figure 3:** Anatomie et régionalisation de l'épididyme (Hermo et Robaire, 2002).

### 1.3. Canal déférent

Le conduit déférent (spermiducte) est le prolongement de l'épididyme et s'élargit à son extrémité pour former une ampoule (Setchell et Brooks, 1988).

Ce conduit a un rôle dans la conduction des spermatozoïdes, qui migrent grâce à leur flagelle et aux contractions des fibres musculaires de la paroi épидидymaire. Les spermatozoïdes sont ensuite stockés dans des ampoules du conduit déférent, juste avant l'urètre. Ce stockage ne doit pas être trop long, car les spermatozoïdes perdent leur pouvoir fécondant en 72h. S'il n'y a pas d'éjaculation, ils dégèrent et sont résorbés ou passent dans l'urine. S'il y a éjaculation, le canal déférent libère le sperme final, à savoir les spermatozoïdes, le fluide testiculaire et les sécrétions des glandes annexes (Thibault et Levasseur, 2001).

### **1.4. Urètre**

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

### **1.5. Glandes annexes**

Plusieurs types de glandes sont associées au tractus génitale mâle; vésicule séminale, glande vésiculaire, prostate, glandes paraprostatiques et glande de Cowper.

L'ensemble de leurs sécrétions constitue le liquide spermatique qui, mélangé aux spermatozoïdes, constitue le sperme (Tortora *et al.*, 1995)

#### **1.5.1. Vésicule séminale**

La Vésicule séminale est un organe impaire et bilobé, placée entre le rectum et la vessie, dont la partie terminale fusionne avec les ampoules différentielles pour former le canal éjaculateur, qui s'ouvre dorsalement dans l'urètre (Boussit, 1989).

Les cellules épithéliales des vésicules séminales sécrètent des protéines (enzymes, inhibiteurs d'enzymes, protéines structurales) et un mucus gélatineux, épais et blanc, composé entre autre de fructose et de prostaglandines.

Les prostaglandines jouent un rôle dans les contractions des voies génitales femelles, et favorisent donc la migration des spermatozoïdes dans ces voies femelles (Baronne, 2001; Thibault, 2001).

#### **1.5.2. Glande vésiculaire (proprostate ou prostate craniale)**

La Glande vésiculaire est de forme ovale, relativement volumineuse, bilobée et sa couleur blanchâtre est liée à l'accumulation des sécrétions granulaires blanche. Sur la face dorsale, cette glande s'ouvre dans l'urètre par deux canaux excréteurs (Holtz et Foote, 1978).

#### **1.5.3. Prostate, glandes paraprostatiques et glande de Cowper**

La prostate est la seule glande accessoire qui est présente au niveau de toutes les espèces mammifères. Sa position est antérieure à la vessie et aux vésicules séminales.

La prostate est formée de plusieurs glandes tubulo-alvéolaires composées. Elle sécrète environ 1/3 du volume de sperme et cette sécrétion légèrement acide contenant divers ions exerce un rôle important dans l'activation des spermatozoïdes. Chez le rat, la glande est

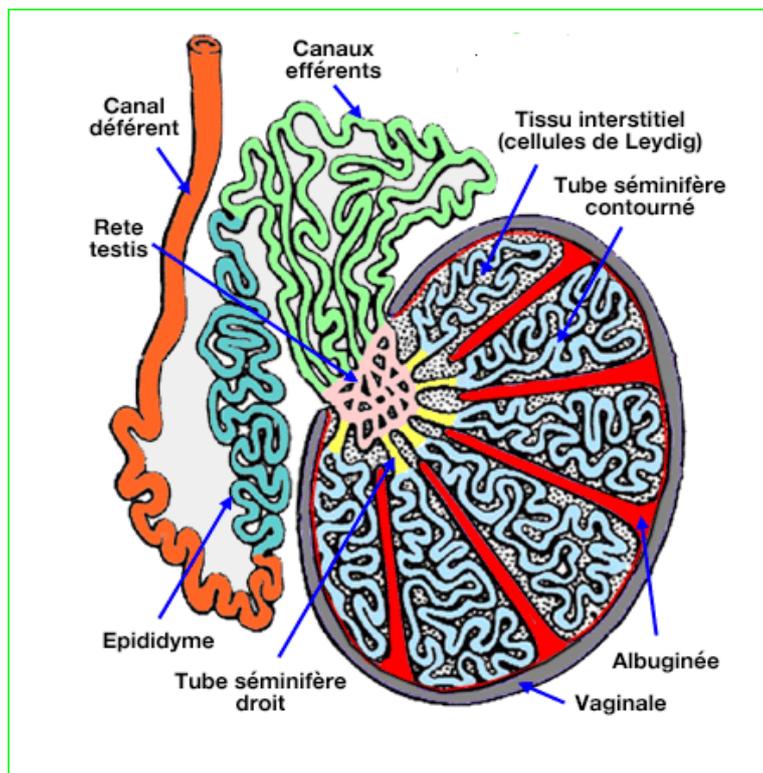
polylobée et son lobe ventral est sensible à l'activité des androgènes circulant (Setchell et Brouks, 1988 ; Marieb, 1993)

Les glandes paraprostatiques sont nettement plus petites, arrondies, situées de part et d'autre de l'urètre, ventralement à la prostate. Elles débouchent dans l'urètre par un nombre variable de petits conduits (Barone, 2001). Tous les lapins mâles ont au moins une paire de glandes paraprostatiques (Holtz et Foote, 1978).

La glande bulbo-urétrale ou glande de Cowper couvre toute la partie caudale de l'urètre pelvien et son extrémité craniale entre en contact avec la prostate (Barone, 2001). Sa fonction c'est la sécrétion d'un fluide lubrifiant précédant l'éjaculat, neutralisant les traces d'acide urique présents dans le tractus urogénital (Chughtai et *al.*, 2005).

### 2. Histologie fonctionnelle du testicule

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



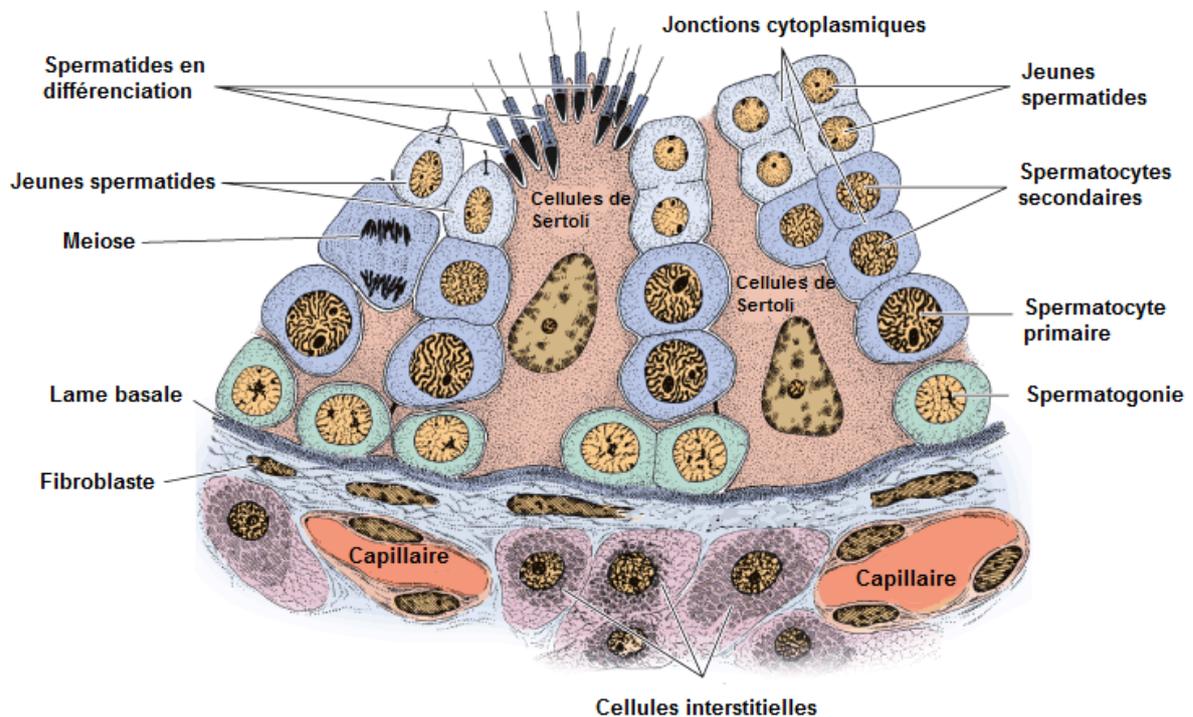
**Figure 4 :** Schéma des structures intra-testiculaires (Muller et Clos, 1997 Modifié).

L'albuginée s'épaissit encore au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore, parcouru par un

réseau de canalicules, le *rete testis*. Du corps d'Highmore partent des cloisons conjonctives, les *septa testis*, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires ; Chaque lobule testiculaire contient 2 à 4 tubes séminifères ou séminipares très longs qui débouchent par de courts segments rectilignes, les tubes droits, dans le *rete testis* (Figure 4) (Vacheret, 1999).

### 2.1. Tubes séminifères :

Les tubes séminifères, 2 à 3 tubes par lobule, sont pelotonnés et peuvent atteindre 70 mètres chez le lapin. Chaque tube est constitué d'abord d'une partie contournée, puis se termine par une partie rectiligne (tube droit). L'ensemble des tubes droits s'anastomosent au niveau du corps d' Highmore et crée un réseau de canalicules, appelé le « *rete testis* », qui est ensuite drainé par des canaux efférent en communication avec la tête de l'épididyme (Alvarino, 1993).



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

L'épithélium séminifère est constitué de cellules sustentaculaires ou cellules de Sertoli et des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse (des spermatogonies A aux spermatides) (Figure 5). Les cellules de Sertoli ont un rôle de protection et de contrôle de la maturation et la migration des cellules germinales (Wrobel, 1990).

Le liquide contenu dans les tubes séminifères assure le transport des spermatozoïdes relargués dans la lumière (Barone, 2001 ; Thibault, 2001).

### **2.1.1. Cellule de Sertoli**

Les cellules de Sertoli constituent le support des cellules de la lignée spermatogène, en formant un syncytium appelé « syncytium de Sertoli » dont le nombre se multiplie jusqu'au démarrage de la période de la spermatogenèse (Little et Holyoak, 1992 ; Amann, 1993).

Le cytoplasme de ces cellules renferme de nombreux organites : mitochondrie, gouttelettes lipidique, grains de sécrétion, ribosome, microfilaments et microtubules (Barone, 2001). Chaque cellule de Sertoli est reliée aux cellules adjacentes via des jonctions intercellulaires particulières (des jonctions serrées notamment), ce qui délimitent deux compartiments au sein du tubule séminifère: le compartiment basal, siège de la spermatocytogénèse, et le compartiment adluminal qui contient les spermatocytes secondaires, les spermatides et les spermatozoïdes (Little et Holyoak, 1992 ; Amann, 1993).

La barrière ainsi constituée, appelée barrière hémato-testiculaire, sépare les spermatides et les spermatozoïdes de la circulation générale sanguine et lymphatique en empêchant les cellules de système immunitaire de la traverser, car les spermatides et spermatozoïdes présentent des caractéristiques antigéniques reconnues comme étrangères par ce système (Little et Holyoak, 1992 ; Amann, 1993).

Outre son rôle protecteur contre les réactions immunitaires, la cellule de sertoli exerce ainsi une fonction mécanique et trophique, permettant la migration et la maturation des cellules germinales. Elle est responsable de la production du plasma séminal primitif et assure une activité sécrétoire importante pour le soutien et la maturation des cellules germinale (Holstein et *al.*, 2003 ; Mruk et cheng, 2004) .

### **2.1.2. Cellules de la lignée germinale**

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

### **2.1.2.1. Spermatogonies et spermatocytes**

Vacheret (1999) et Siffroi (2001).Rappellent que Les spermatogonies sont de petites cellules arrondies ou ovalaires, de 10 à 15  $\mu\text{m}$  de diamètre, adhérentes à une membrane basale. On distingue trois sortes de spermatogonies selon l'aspect de leur noyau Ad, Ap et B :

- Les spermatogonies Ad (dark), sont les cellules souches de réserve à noyau arrondi et dense, et constitué de chromatine fine et sombre ;
- Les spermatogonies Ap, sont des cellules de renouvellement à chromatine claire ;
- Les spermatogonies B sont des cellules filles constitué du noyau ovalaire clair à chromatine mottée et au nucléole bien visible (Sp B). (Vacheret ,1999 ; Siffroi, 2001).

Les spermatocytes I issues de la division mitotique des spermatogonies B, ils se situent dans le compartiment basal du tube séminifère et restent en interphase pendant deux à quatre jours, au cours desquels leur taille s'accroît. A leur entrée en phase de méiose, les spermatocytes I se situent dans le compartiment adluminal du tube séminifère. La première division de méiose (méiose I), dite réductionnelle est précédée d'une phase de réplication (stade préléptotène) qui a pour effet de doubler la quantité d'ADN dans les spermatocytes I diploïdes et la réplication des filaments chromosomiques (Baume ; 2009). Puis il se transforme en spermatocytes II, qui sont aussi des cellules rondes, plus petites et d'existence fugace (moins de 24 heures) (Vacheret ,1999 ; Siffroi, 2001).

### **2.1.2.2 Spermatides**

Les spermatides sont des cellules de petite taille, de 6 à 7  $\mu\text{m}$  de diamètre, très nombreux et situés en position interne, ovoïde à noyau rond et clair, avec un appareil de Golgi juxta nucléaire. Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde, ce processus est appelé la spermiogénèse (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

### **2.1.2.3. Spermatozoïdes**

Les spermatozoïdes (spz), résultat final de la spermatogenèse, sont disposés en bouquet à l'apex des cellules de Sertoli, sont des cellules très petites dotés d'une motilité flagellaire et d'une forme filiforme constitués de trois parties distinctes, la tête, la queue et le flagelle.

Le spermatozoïde mûr est une cellule allongé, de 55 à 57  $\mu\text{m}$  de diamètre chez le lapin (Barone, 2001) il comporte une tête et une queue unies par un col très bref (Figure 6).

La tête est composé de l'acrosome et le noyau renfermant les chromosomes. L'acrosome, aplati, qui couvre les deux tiers antérieurs de la tête est constitué de glycoprotéines et d'enzymes qui interviennent probablement dans la pénétration de la membrane de l'ovocyte lors de la fécondation.

La pièce intermédiaire renferme la majorité des mitochondries de la cellules. Ces constituants sont le siège de la production énergétique nécessaire au mouvement. Tandis que le flagelle est l'organe moteur responsable au déplacement du spermatozoïde.

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

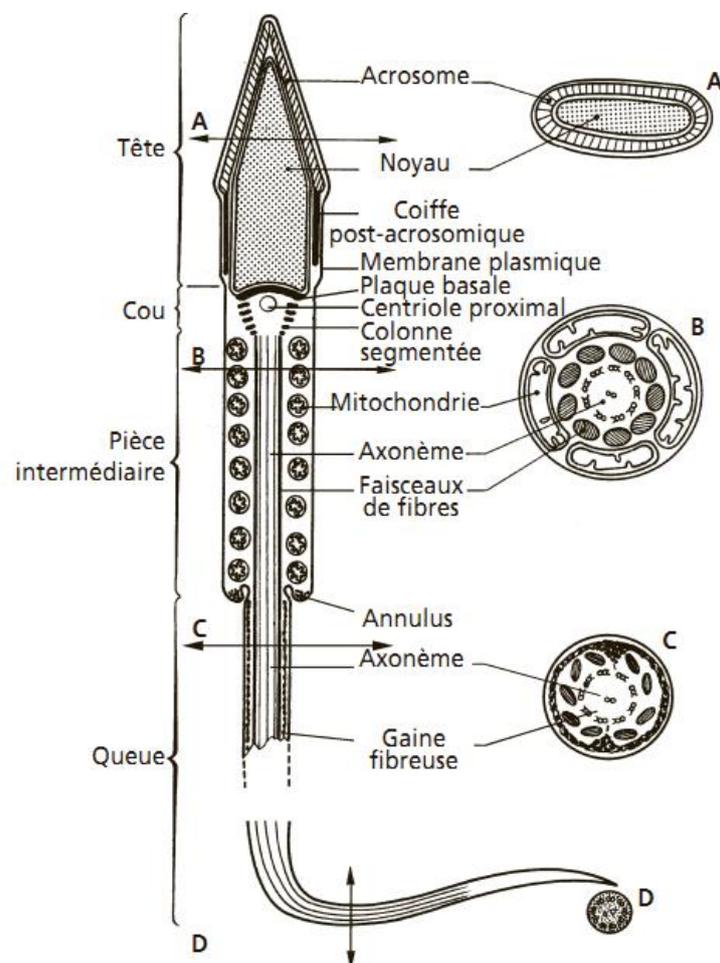


Figure 6 : Schémas générale de la spermatogénèse (Marieb, 2006)

### 2.2 Tissu interstitiel

Le tissu interstitiel est un tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en nerfs, dans lequel sont réparties des cellules interstitielles en amas, appelées cellules de Leydig, ainsi que diverses cellules libres (fibroblastes, macrophages, lymphocytes...) (Wrobel, 1990).

#### 2.2.1. Cellule de Leydig

Les cellules 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 plasmique de type gap, desmosomes rudimentaires et plus rarement des jonctions septées (Thibault et Levasseur, 2001).

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

### 3. Histologie fonctionnelle de l'épididyme

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : le premier compartiment est constitué d'un épithélium pseudo-stratifié reposant sur un chorion de tissu conjonctif richement innervé et vascularisé, lui-même entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses ; tandis que le deuxième compartiment est constitué d'une lumière bordée par cet épithélium (Robaire *et al.*, 2006) .

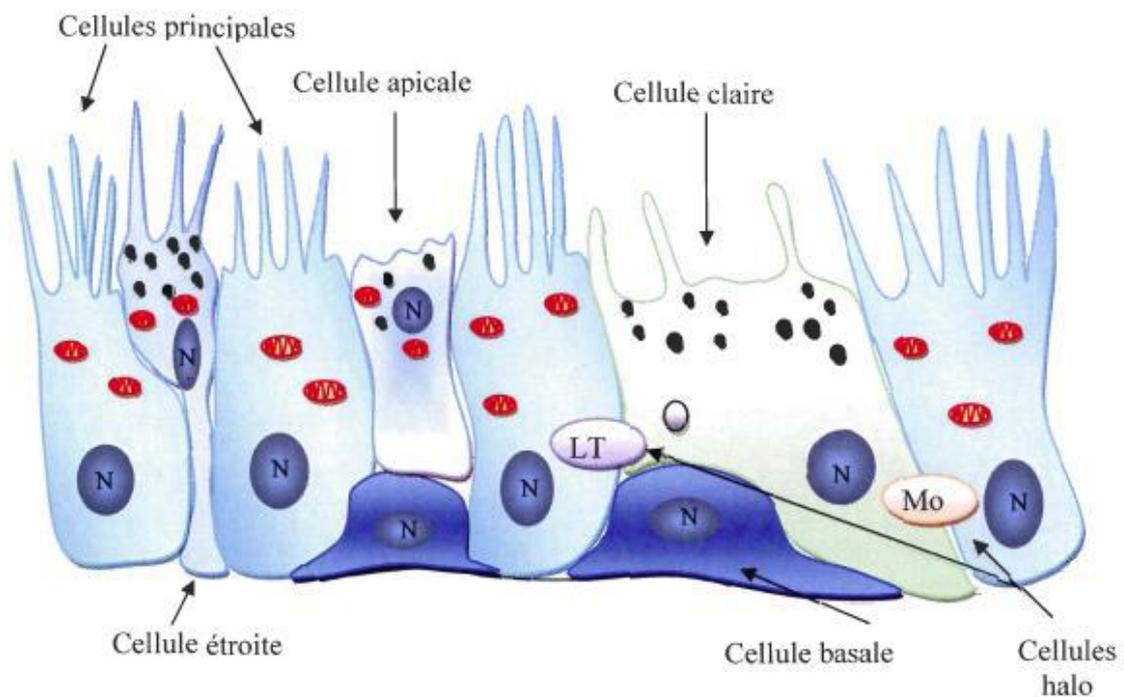
Six types cellulaires entrent dans la composition de l'épithélium épидидymaire: les cellules principales, basales, en halos, claires, cellules apicales et étroites (Figure 6), qui présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles très variées de la région proximale à la région distale du tubule (Figure 7) (Robaire *et al.*, 2006 ; Cornwall, 2009 ; Shum *et al.*, 2011).

### 3.1. Cellules principales

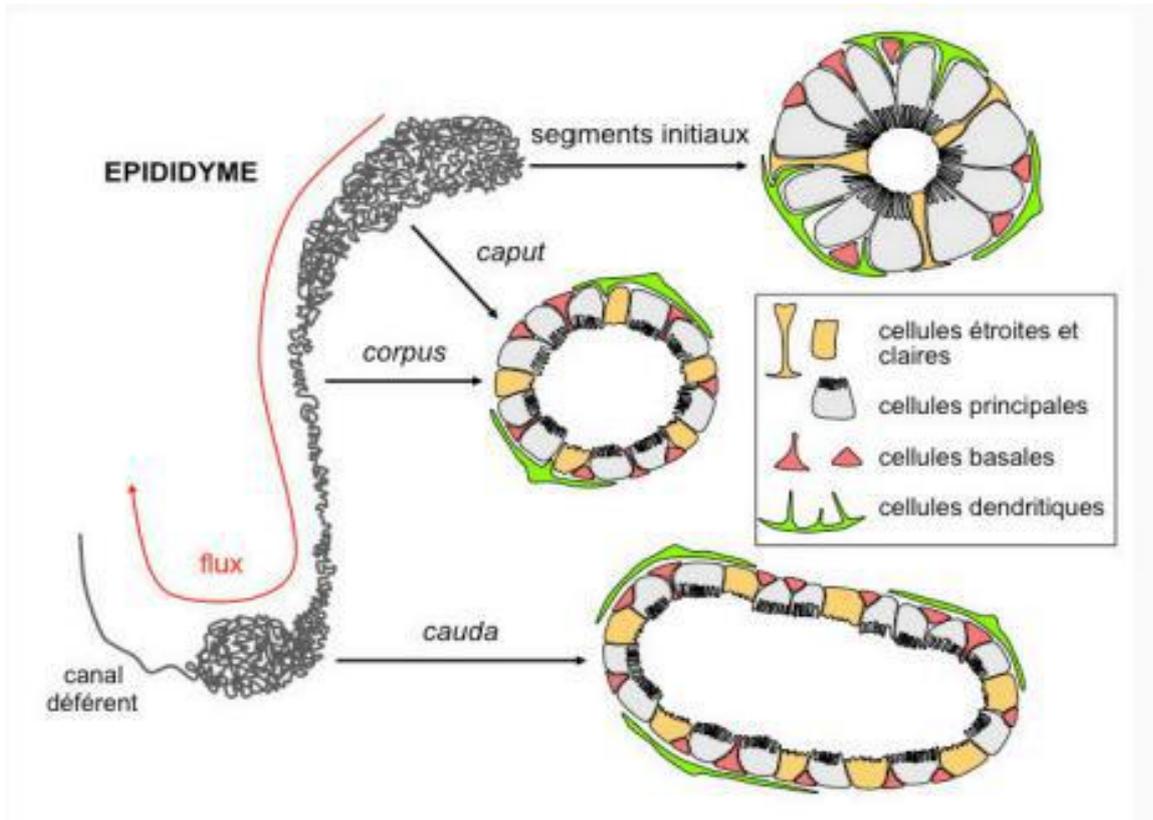
Comme leur nom l'indique, les cellules principales (cellules stéréociliées) sont les cellules les plus abondantes de l'épithélium épидидymaire. En effet, elles représentent 80% de la population cellulaire de cet organe (Belleannée et *al.*, 2012).

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 ; Flickinger et *al.*, 1978 ; Jones et *al.*, 1979).

Ces cellules, reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes, sont très actives à différents niveaux : transport et sécrétion de petites molécules organiques ; synthèse et sécrétion de protéines et enfin, réabsorption du fluide épидидymaire (Figure 7,8) (Robaire et Herno, 1988 ; Robaire et Viger, 1995 ; Cooper, 1998).



**Figure 7:** Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouard, 2009). N : noyau ; LT : lymphocyte T ; Mo : monocyte.



**Figure 8 :** Schéma représentatif de l'épididyme de la souris et du rat, montrant les différents segments et illustrant les différents types de cellules épithéliales et les cellules dendritiques (Breton et Da Silva, 2012).

### 3.2. Cellules basales

De forme pyramidale, les cellules basales sont retrouvées sur le pourtour de l'épithélium épididymaire. L'une des extrémités de celle-ci a la particularité d'être capable de s'allonger pour devenir une projection cytoplasmique. Celle-ci peut même se rendre jusqu'au niveau de la lumière épididymaire, afin de jouer le rôle de senseur dans le milieu extracellulaire de l'organe. Le fait de capter de l'information du fluide épididymaire permettrait aux cellules basales d'engendrer une communication intercellulaire avec les cellules claires afin de moduler le niveau de proton dans le lumen (Shum et *al.*, 2008).

### 3.3. Cellules en halo

Identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes qui migrent dans l'épithélium durant le développement post-natal, les cellules en halo sont disséminées tout le long du canal épидидymaire (Figure 6). Les cellules en halo contribuent à former une barrière immunologique au niveau de l'épididyme (Hoffer *et al.*, 1973 ; Serre et Robaire, 1999).

### 3.4. Cellules claires

En termes de proportion, les cellules claires augmentent en nombre de manière croissante le long de l'épididyme. Le rôle de ces cellules est d'acidifier le milieu extracellulaire afin de garder les spermatozoïdes matures immobiles durant leur transit épидидymaire (Brown et Breton, 2000; Maxson et Grinstein, 2014).

De plus, les cellules claires ont la capacité d'endocyter certaines particules du fluide épидидymaire à l'aide de leur microvillosité, par exemple la gouttelette cytoplasmique qui se détache lors de la maturation spermatique (Hermo *et al.*, 1988).

### 3.5. Cellules apicales

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<sup>+</sup> et la réabsorption des bicarbonates (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

Elles seraient ainsi responsables de l'acidification du fluide épидидymaire (Martinez-Garcia *et al.*, 1995). Il a été également montré qu'elles sont capables d'endocyter des substances contenues dans la lumière de l'épididyme (Adamali *et al.*, 1999; Hermo et Robaire, 2002).

### 3.6. Cellules étroites

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

### **3.7 Lumière du canal épидидymaire**

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

# **Chapitre II**

Physiologie de la reproduction

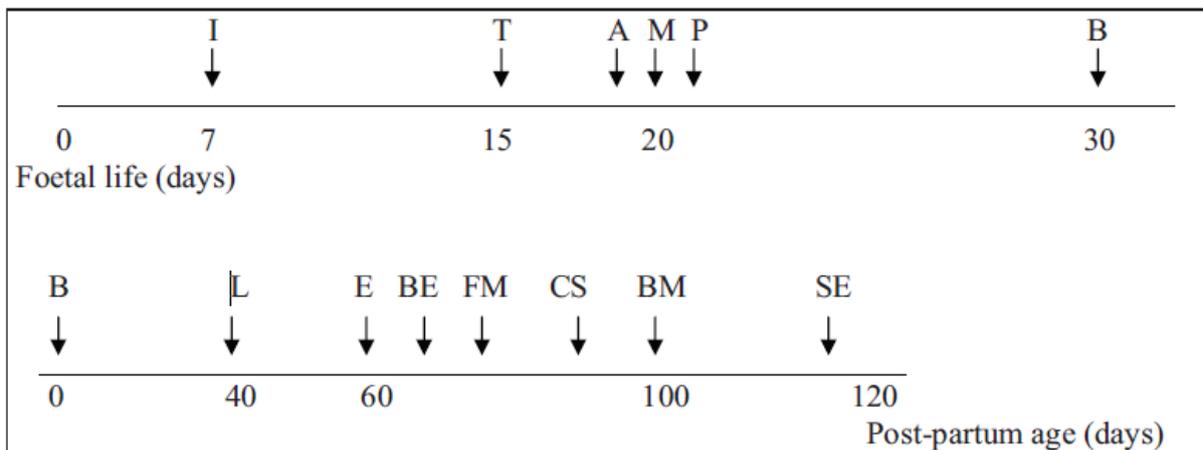
La physiologie de reproduction du lapin suit la même organisation que celle des autres mammifères. En effet, la production des gamètes, ou spermatogenèse, s’effectue dans le testicule, tandis que la maturation des spermatozoïdes s’accomplira au niveau de l’épididyme.

**1. Développement des gonades et puberté**

**1.1. Différentiation et développement des gonades**

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

D’après Alvarino (2000), la différenciation des organes reproducteurs mâles du lapin a lieu pendant la vie fœtale (Figure 9). Cependant la formation de l’albuginée se produit entre le 14<sup>ème</sup> et le 15<sup>ème</sup> jour de gestation, quelques jours plus tard les tubes séminifères apparaissent entourés de cellules germinales, au 19<sup>ème</sup> jour de gestation il y a la production des androgènes.



**Figure 9:** Développement chronologique de la différenciation chez le lapin mâle (Alvarino, 2000)

**I :** Implantation; **L :** Maturation des cellules de Leydig; **T :** Différenciation des testicules; **A :** Sécrétion d’androgènes; **M :** Dégénérescence des canaux de Müller; **P :** Croissance de la prostate; **N :** Naissance; **S :** Apparition du premier spermatozoïde; **DS :** Début de la spermatogénèse; **CS :** Premier comportement sexuel; **CDS :** Développement complet de la spermatogénèse ; **RS :** Premiers rapports sexuels; **SE :** Apparition des premiers spermatozoïdes dans l’épididyme.

Les canaux de Müller régressent à partir de 20<sup>ème</sup> jour, et la formation de la prostate commence le 21<sup>ème</sup> jour et au 24<sup>ème</sup> jour, le développement des canaux de Wolf et la régression des canaux de Müller sont bien établis. Entre le 21<sup>ème</sup> et le 30<sup>ème</sup> jours de gestation, la testostérone est présente au niveau des testicules de fœtus mâle (Skinner, 1967).

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

### 1.2. Développement pondéral

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

La croissance testiculaire a une allure sigmoïdale ; d'abord plus lente que celle du corps puis elle subit une accélération vers 45 jours d'âge (Martinet, 1973). Selon Alvarino (2000), la taille des testicules augmente jusqu'à l'âge de huit mois, et durant cette période les vésicules séminales croissent rapidement.

Le rapport entre le poids testiculaire et le poids corporel augmente pour atteindre 2,86 après la 5<sup>ème</sup> semaine d'âge. La spermatogenèse est établie vers l'âge de 70 jours, et au 84<sup>ème</sup> jour tous les tubes séminifères sont actifs.

### 1.3. Maturation sexuelle

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

#### 1.3.1. Phase infantile

La phase infantile s'étale de la naissance à l'âge de 40 jours. Elle se caractérise par une croissance lente des testicules et des vésicules séminales et de faibles concentrations plasmatiques en FSH et testostérone (Boussit, 1989). Durant ce stade, les tubes séminifères ne présentent aucune activité spermatogénétique et les cellules interstitielles sont indifférenciées (Berger *et al.*, 1982).

#### 1.3.2. Phase prépubertaire

La phase prépubertaire débute vers l'âge de 40 jours et marque l'accélération de la croissance testiculaire et de l'élévation des androgènes et des gonadostimulines dans le plasma, avec des concentrations maximales entre 60 et 70 jours d'âge. Les premières cellules

de Leydig matures apparaissent à 40 jours, leur nombre augmente très rapidement, et, entre 70 et 80 jours, le tissu interstitiel a acquis un aspect adulte (Berger *et al.*, 1982 ; Boussit, 1989).

La spermatogenèse commence entre 40 et 50 jours d'âge et tous les tubes testiculaires sont actifs vers 84 jours d'âge (Lebas, 2009). La multiplication et la différenciation des cellules de Sertoli sont dépendantes des gonadotrophines (Alvarino, 2000).

### 1.3.3. Puberté

La puberté est définie d'après Boussit (1989), par le moment où les organes reproducteurs du mâle sont capables de produire, de façon constante, des spermatozoïdes aptes à féconder un ovule (vers 4 à 5 mois d'âge).

Cependant, Macari et Machado (1978 in Lebas, 2009) signalent que la puberté est atteinte uniquement lorsque le lapin devient capable de se reproduire par l'apparition des premiers spermatozoïdes dans l'éjaculat, vers l'âge de 110 jours. Dans ces premiers éjaculats la viabilité des spermatozoïdes est faible, il faut donc attendre 135 à 140 jours pour aboutir aux premiers accouplements féconds. Toutefois l'âge de puberté varie à cause des différences génétiques entre les races, les conditions d'élevage, l'alimentation et le climat (Lebas *et al.*, 1996).

### 1.3.4. Maturité sexuelle

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

## 2. Fonctions physiologique du testicule

Les testicules sont des organes dotés d'un double fonction, la fonction exocrine constituée par la spermatogenèse assurée par les tubes séminifères et la fonction endocrine constituée par la production des hormones stéroïdes par les cellules de Leydig (Dadoune et Démoulin, 2001).

### 2. 1. Spermatogenèse

La spermatogenèse est le processus de division et de différenciation cellulaire par laquelle les spermatozoïdes sont produits à partir des spermatogonies situées dans les tubes séminifères des testicules (Soltner, 1989) (figure 10). Chez le lapin, elle débute entre 40 et 50 jours d'âge, avec apparition des premiers spermatozoïdes peu viables dans les éjaculats à 110

jours d'âge (Lebas, 2009). La durée de la spermatogenèse ou le temps nécessaire pour qu'une spermatogonie évolue vers un spermatozoïde est de 38 à 41 jours (Martinet, 1973).

Amman (1993) rappelle que la spermatogenèse se déroule au sein des tubules séminifères des testicules. Trois grandes étapes sont nécessaires pour passer d'une spermatogonie à un spermatozoïde : la spermatocytogenèse, la méiose et la spermiogénèse.

La spermatocytogenèse est caractérisée par une phase de multiplication (par mitoses) et de différenciation des spermatogonies, ce qui aboutit à la formation des spermatocytes primaire, observée vers 60 jours d'âge chez le lapin (Martinet, 1973), qui possède encore le nombre diploïde de chromosomes caractéristique de l'espèce (lapin : 44 chromosomes). La phase de multiplication cellulaire assure également le renouvellement des spermatogonies, nécessaire au maintien d'un nombre suffisant de cellules souches (Little et Holyoak, 1992 ; Barone, 2001).

La deuxième étape, fait intervenir le phénomène de méiose caractérisée par l'échange de matériel génétique entre les chromosomes homologues des spermatocytes primaires, induisant à la production des spermatocytes secondaires, ensuite deux divisions successives de la méiose produisent des spermatides haploïdes à  $n$  chromosome (Amann, 1993).

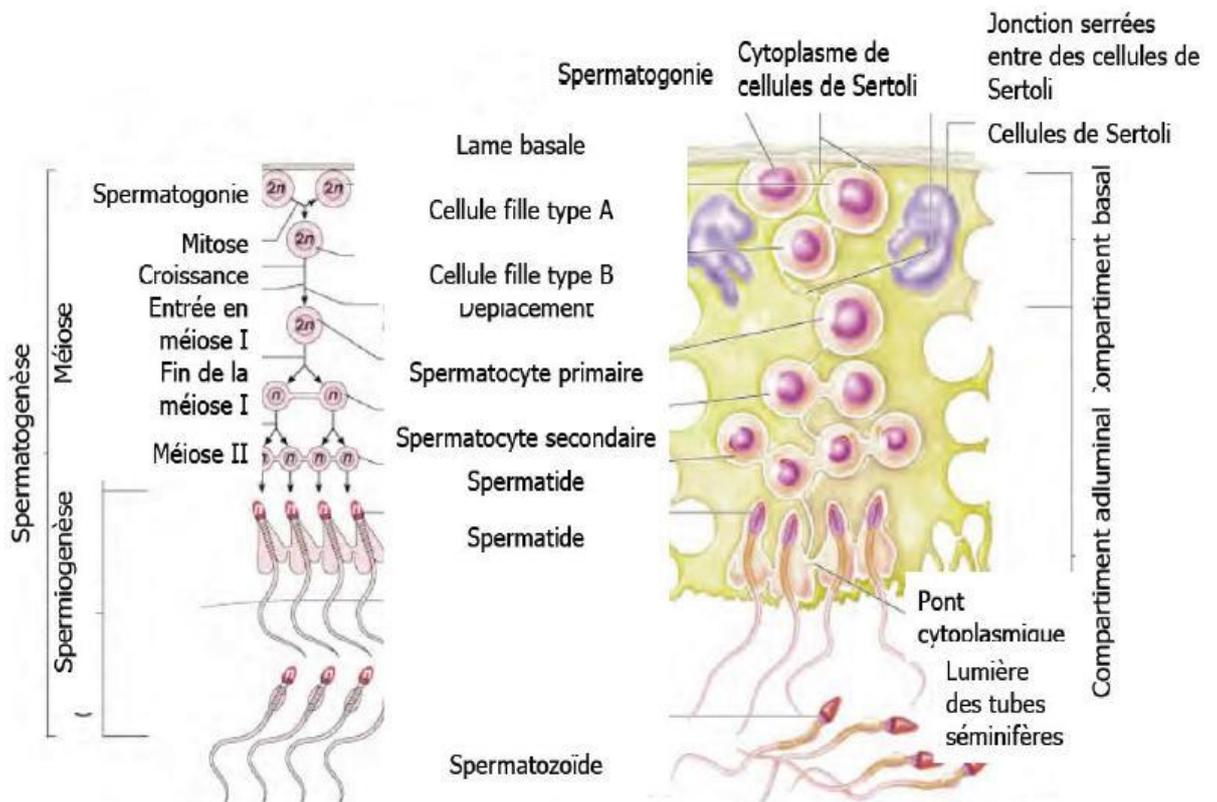


Figure 10 : Différentes étapes de la spermatogenèse (Marieb, 2006).

Durant la spermiogenèse, les spermatides subissent une série remarquable de modifications qui aboutissent (sans autre division) à la libération des spermatozoïdes mûrs (Barone, 2001).

## **2.2. Stéroïdogenèse**

La fonction endocrine du testicule est assurée par des cellules de Leydig qui est équipée par des enzymes nécessaires pour synthétiser la testostérone à partir de cholestérol, (principale source d'androgènes). Toutefois, les cellules de Sertoli possèdent les enzymes nécessaires à la transformation de précurseurs leydigiens, tels que la progestérone ou l'androstènedione, pour produire de la testostérone. La capacité des cellules de Sertoli à produire des androgènes est plus marquée avant la puberté, et stimulée par la FSH (follicule stimulating hormone) plutôt que par la LH (luteinizing hormone), ce qui la distingue de la stéroïdogenèse des cellules de Leydig (Welsh et Wiebe 1976).

En particulier la testostérone, nécessaire à la spermatogenèse ainsi qu'au développement et au maintien morphologique et fonctionnel des glandes accessoires de l'appareil génitale mâle. Cette sécrétion contrôle en outre les caractères sexuels secondaires et l'activité sexuelle (Barone, 2001).

## **3. Fonctions physiologique de l'épididyme**

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

### **3.1. Maturation des spermatozoïdes**

Les spermatozoïdes devient matures et mobiles en traversant les différents segments de l'épididyme et en s'exposant aux changements de la composition fluide qui varie tout au long du tubule ce processus acquiert leur motilité et leur pouvoir de féconder (Bedford, 1979 ; Saez *et al.*, 2011).

### **3.2. Acquisition de la motilité**

Le contrôle de la motilité des gamètes mâle dépend des facteurs exogènes et endogènes, L'activation de la motilité du flagelle se fait grâce aux changements de concentration de différents ions et énergie produite par les mitochondries, l'ATP produit permet la mise en place de la phosphorylation de la tyrosine sur la totalité de flagelle (Ho et

Suarez, 2001 ; Mukai et Okuno, 2004), qui se produit d'une façon graduelle au cours de sa progression dans la lumière de l'épididyme pour atteindre son maximum dans la queue (cauda) où le spermatozoïde est pleinement mature et acquière la capacité de se mouvoir (Aitken *et al.*, 2007).

### **3.3. Modification de la membrane des spermatozoïdes**

La membrane cytoplasmique des gamètes va subir un profond remodelage lipidique et protéique, ce processus confère aux gamètes une mobilité vigoureuse et l'addition ou la modification de protéines essentielles à la reconnaissance de l'ovocyte et de la fertiliser (Saez *et al.*, 2011 ; Cooper, 1998).

### **3.4. Protection des spermatozoïdes**

Les spermatozoïdes matures, sont les cibles de multiples agressions. La barrière hémato-épididymaire les protège contre les attaques du système immunitaire (Pollanen et Cooper, 1994) et certaines protéines sécrétées par l'épithélium épididymaire ont, quant à elles, une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatifs.

### **3.5. Stockage des spermatozoïdes**

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

### **3.2. Fonctions au niveau de la lumière**

Le transport des spermatozoïdes le long de la lumière épididymaire est assuré par : la pression hydrostatique, les contractions musculaires et l'activité ciliaire des parois du tubule (Beford, 1975 ; Robaire et Hermo, 1988).

La maturation des spermatozoïdes est un processus complexe qui dépend d'un certain nombre de modifications morphologiques et physiologiques, durant ce processus les spermatozoïdes acquièrent leur motilité et leur pouvoir de féconder un ovule. Ce processus commence véritablement dans les testicules et se poursuit lors de leur passage dans les cônes efférent et l'épididyme. (Yeung *et al.*, 1998).

La queue épididymaire est un réservoir pour les spermatozoïdes matures qui seront conservés dans un liquide pour une période pouvant aller de quelques jours à plus d'un mois (Hinton et Palladino, 1995).

#### 4. Régulation hormonale de la fonction de la 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 (Bonnes *et al.*, 2005).

##### 4.1. Axe hypophysaire-gonadotrope

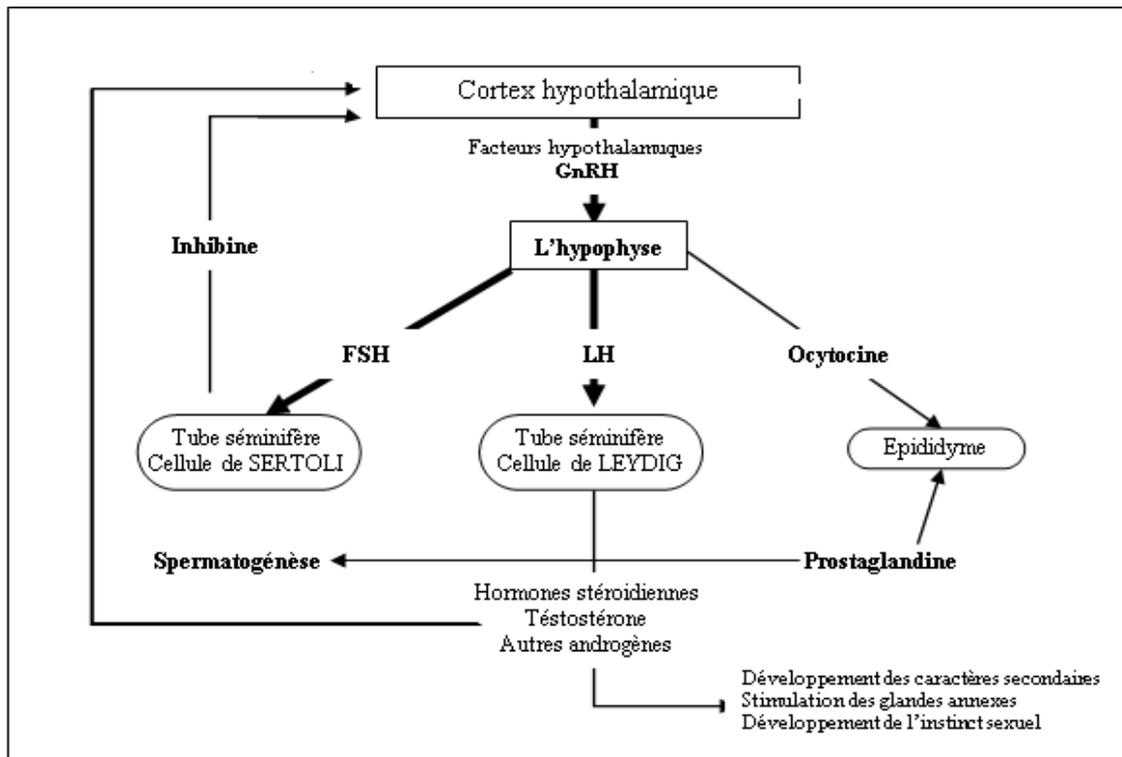
Au niveau hypothalamique, le fonctionnement gonadotrope est sous la dépendance d'une gonadolibérine la GnRH (gonadotropin releasing hormone), qui est un décapeptide sécrété par le noyau arqué et noyau pré et supra optiques de l'hypothalamus (Figure 11). La sécrétion du GnRH est pulsatile et se fait dans le système veineux porte hypothalamo-hypophysaire. L'expression des effets du GnRH nécessite sa liaison aux récepteurs membranaires spécifiques des cellules gonadotropes (Thibault et Levasseur, 2001).

La GnRH se fixe sur des récepteurs localisés sur les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse. Cette fixation active le système de phosphokinase C et stimule la synthèse et la sécrétion des deux gonadotrophines : FSH et LH (Thibault et Levasseur, 2001 ; Bonnes *et al.*, 2005).

Les gonadotrophines hypophysaires agissent sur des récepteurs membranaires spécifiques du testicule, topographiquement séparés :

- La LH exerce son action en se fixant sur des récepteurs situés sur la cellule de Leydig, où elle stimule, par l'intermédiaire de l'adénylcyclase, la biosynthèse de la testostérone, essentiellement en favorisant le transport du cholestérol vers la membrane interne de la mitochondrie (Thibault et Levasseur, 2001).
- La FSH n'a de récepteurs que sur la cellule de Sertoli, dont elle stimule l'ensemble des sécrétions et elle agit directement sur les cellules germinales, dont elle active la multiplication (Thibault et Levasseur, 2001 ; Bonnes *et al.*, 2005).

Cependant, la régulation de la fonction gonadotrope est caractérisée par un rétrocontrôle négatif exercé à la fois au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse, par la sécrétion testiculaire. La testostérone a une action inhibitrice sur la sécrétion de la LH et à moindre degré de la FSH par l'hypophyse et sur celle de la GnRH par l'hypothalamus. L'inhibine exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse des sous-unités  $\beta$  de la FSH, par les cellules gonadotropes (Lakabi, 2017).



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

#### 4.2. 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 œstrogènes. Il a été montré que le testicule est capable de synthétiser des œstrogènes et que leurs récepteurs (ER) seraient présents dans les cellules de Leydig (Lambard et *al.*, 2005).

Il est supposé que les œstrogènes ont une influence inhibitrice sur la stéroïdogénèse 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 œstrogènes sont à l'heure actuelle encore mal connus (Abney, 1999).

L'inhibine et l'activine semblent être impliquées dans la régulation de la stéroïdogénèse. 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 clés de la stéroïdogenèse et l'expression du récepteur de la LH.

#### 4.3. Autres facteurs agissant sur la fonction testiculaire

A côté de la régulation endocrine par l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique, la fonction testiculaire est soumise à un contrôle par divers autres facteurs et hormones

- La prolactine a tendance à déprimer la sécrétion de la GnRH ; elle pourrait également intervenir directement sur la production de la testostérone par la cellule de Leydig.
- L'hormone de croissance, la GH, stimule dans le testicule la formation d'IGF-1 qui peut être le médiateur de ces fonctions. La déficience ou la résistance à GH sont associés avec une puberté retardée, ou une faible réponse de la cellule de Leydig à LH/hCG.
- Les glucocorticoïdes d'origine cortico-surrénalienne contribuent à la régulation endocrine du testicule. Ce dernier possède des récepteurs aux glucocorticoïdes et ces hormones diminuent la conversion du cholestérol en hormones stéroïdes (Huhtaniemi et Toppari, 1996).
- Les peptides opioïdiques et plus spécifiquement l'endorphine exercent un effet inhibiteur sur l'hypothalamus gonadotrope générateur de pulse de GnRH. Un effet additionnel au niveau hypophysaire ne peut cependant être exclu.
- La dopamine exerce un effet stimulateur sur la sécrétion de GnRH.
- Les AA neuro-excitateurs (AAE) (glutamate, N-Méthyl-D-Aspartate) stimulent la synthèse de GnRH et il est probable qu'ils participent à la régulation physiologique de la sécrétion de LH (Vermeulen, 1996). D'autre part, l'acide gamma-amino-butyrique (GABA) freine la synthèse des AAE et indirectement celle de GnRH.
- Le corticotrophin releasing factor (CRF), ou hormone CRH possède un effet inhibiteur sur le GnRH hypothalamique
- La mélatonine, hormone épiphysaire, injectée dans l'hypothalamus inhibe la sécrétion des gonadotrophines, mais elle semble avoir aussi un effet direct sur l'hypophyse.
- Les hormones thyroïdiennes sont aussi impliquées dans la régulation de la fonction testiculaire. Cooke (1996) démontre que la T3 est un important régulateur du développement du testicule néonatal. Cependant, les hormones thyroïdiennes n'ont pas un effet métabolique sur le testicule adulte, ainsi l'hypothyroïdisme a des effets minimes sur

la morphologie testiculaire ou sur la production de la testostérone. D'autre part, Maran *et al.* (2000) ont montré que la T3 stimule *in vitro* la production basale de la testostérone et de l'oestradiol par les cellules de Leydig de rat adulte en présence de la LH, en stimulant l'expression de STAR (Manna *et al.*, 2006).

- Des récepteurs à l'insuline sont rencontrés dans les cellules de Leydig. Julie *et al.* (2003) ont rapporté qu'*in vitro*, la LH augmente le nombre des récepteurs insuliniques à la surface des cellules de Leydig d'une manière dose-dépendante. L'insuline accroît la stéroïdogénèse basale (Huhtaniemi et Toppari, 1996 ; Dadoune et Demoulin, 2001). D'autre part, il est possible que le manque d'insuline soit responsable d'altérations testiculaires fonctionnelles, observées chez certains hommes diabétiques (Don *et al.*, 1985 ; Fushimi *et al.*, 1989 ; Baccetti *et al.*, 2002).

#### 4.4. 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 spermatozoïdes, 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  $\beta$  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 épидидymaire 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 épидидymaire. 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 épидидymaire (Niemi et Kormano, 1965; Suvanto et Kormano, 1970).

## 5. Influence des facteurs de l'environnement sur la reproduction des lapins

Chez les mammifères la reproduction est très influencée par les paramètres de l'environnement, tels que la température, l'humidité, la saison et l'alimentation. Ce sont essentiellement la durée de jour et la disponibilité alimentaire qui déterminent la période de reproduction (Thibault et Levasseur, 2001).

### 5.1. Effet de la température et humidité

Chou *et al.* (1974) ont constaté que les lapins exposés à un stress thermique présentent d'une part une diminution du poids des organes génitaux et d'autre part une diminution de sécrétion des hormones sexuelles.

La température favorable pour la reproduction se situe entre 15 et 18 °C, avec une humidité relative maintenue entre 55 et 80 % (Lebas, 2009).

Dans les contrées chaudes tropicales ou subtropicales la température et l'humidité ambiante élevées sont des facteurs bien connus, comme altérant la capacité reproductrices des lapins pendant les mois chauds (Xu *et al.*, 1992 ; Finzi *et al.*, 1994).

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

### 5.2. Effet saison (éclairage et Photopériode)

D'après Boulbina (2011), la saison de naissance influence sur l'âge d'entrée en puberté. En effet, les lapins qui sont nés en Hiver entrent plus précocement en puberté que ceux nés en Eté.

Ces perturbations pourraient être expliquées par l'effet de la saison sur la sécrétion de la testostérone (Frolich, 1948; Brambell, 1944).

Selon Lebas *et al.*(1990), des mâles exposés à un éclairage artificiel pendant 16 heures sur 24 heures, ont significativement plus de spermatozoïdes dans les gonades que chez ceux exposés à la lumière pendant 8 heures .

### 5.3. Effet de l'alimentation

L'alimentation des lapins mâles est un facteur important à maîtriser car les caractéristiques de la semence et la libido sont affectés lorsque le niveau des apports nutritionnels est insuffisant. En effet, un régime alimentaire ne contenant que 13% de protéines brutes entraîne une diminution du volume de l'éjaculat et de la concentration en spermatozoïdes (Joly et Theau-Clément, 2000).

Des carences en vitamine A peuvent provoquer des lésions de l'appareil génital et bloquer la spermatogenèse, tandis que l'absence de vitamine E dans la ration entraînant l'atrophie des testicules et la formation d'œdème interstitiel (Chevrel et Cormier,1948).

### 5.4. Autres facteurs

D'autres facteurs peuvent influencer positivement ou négativement sur la fertilité des lapins mâles comme : facteurs génétiques , facteurs environnemental et les huiles essentielles, en effet kammerer *et al.*, 2012 ont mis en évidence que les huiles essentielles ( selon la plante utilisée) peuvent avoir un effet toxique ou bénéfique chez les lapins.

Une étude réalisée par Haeri *et al.*, 2006 sur le rat a montré que l'huile essentielle de sarriette (*Satureja khuzestanica*) à doses différentes a induit une augmentation significative de la concentration en FSH et en testostérone, de même l'augmentation de poids de la vésicule séminale et de la prostate.

# **Chapitre III**

## Matériels et méthodes

Cette étude fait partie des activités de recherche de Dr. Lakabi et s'inscrit dans le cadre de l'étude histo-fonctionnelle du développement gonadique (testicule et épидидyme) et de la maturité sexuelle des lapins de la population blanche. L'objectif de ce présent travail est l'étude de l'effet de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâles à différents âges, à travers une étude histologique de leurs structures et la relation des poids vifs avec le poids et le volume testiculaire et épидидymaire.

De ce fait, ce travail s'articule autour de deux parties ; l'étude de l'effet des deux huiles essentielles (Menthe poivrée et Romarin à verbénone) sur la structure gonadique, et effet dose d'autre part.

### **1. Matériel biologique**

La réalisation de cette étude nécessite l'utilisation du matériel biologique (lapins de population blanche) et matériel végétal (Huile essentielle Menthe Poivrée).

#### **1.1. Modèle animal**

La présente étude est portée sur 35 lapins mâles de la population blanche âgés de d'un mois (20 lapins) et 3 mois (15 lapins) (Figure 12), provenant d'un élevage cunicole privé situé dans la région de Djebba, wilaya de Tizi ouzou.

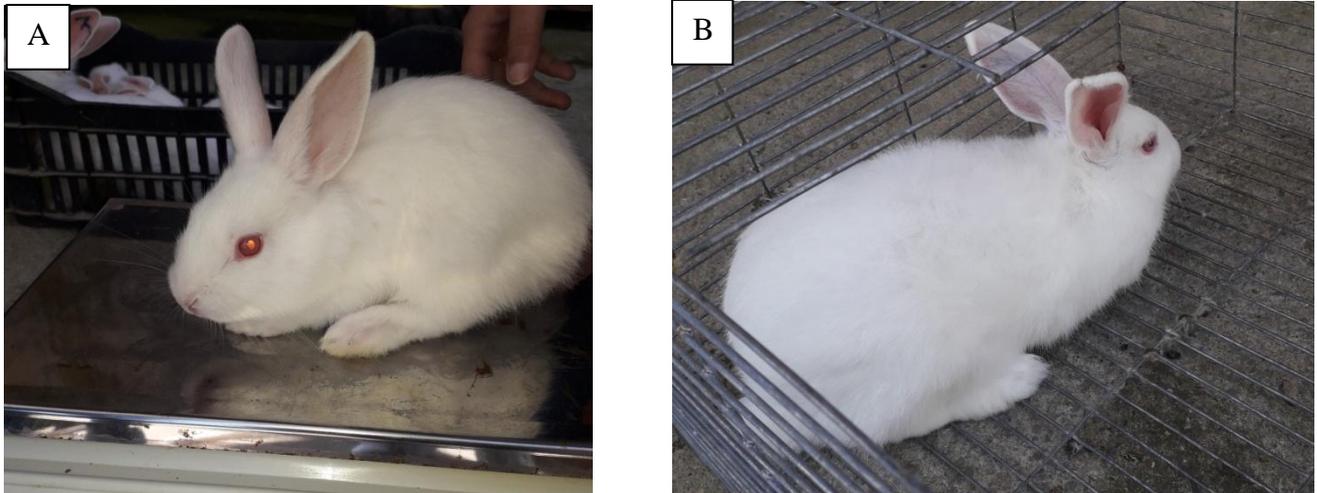
La population utilisée est une population locale qualifiée de « population blanche » par Zerrouki *et al.* (2007) à cause de la prédominance totale du phénotype blanc néozélandais et californien, par rapport aux croisés (noir, gris, fauve et croisé).

De nombreux travaux ont permis de définir certaines performances de cette population blanche, principalement celle des reproductrices, qui se caractérisent par une variabilité phénotypique, un moyen format, une prolificité faible, une bonne fertilité, un poids adulte moyen de 3,6 Kg (poids d'abattage proche du poids adulte), et une bonne aptitude à produire toute l'année, y compris en été sous les conditions climatiques du Nord de l'Algérie.

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

- Règne : Animal
- Embranchement : Vertébrés
- Classe : mammifères
- Super Ordre : Glires

- Ordre : Lagomorphes
- Famille : Léporides (lièvre et lapin)
- Sous-famille : Leporinae
- Genre : *Oryctolagus*
- Espèce : *Oryctolagus cuniculus*



**Figure 12:** Lapins issus d'un élevage cunicole de Djebba

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

### 1.2. Huile essentielle utilisée (Menthe poivrée)

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

La menthe poivrée (Figure13), est achetée dans un magasin, constituée principalement de menthol (monoterpénol), entre 35 et 70%, et menthone (Cétone), entre 20 et 30 %, ainsi que de composés minoritaires tels que la menthofuranne : les monoterpènes les sesquiterpènes, les esters (Acétate de menthyle), les oxydes (cinéole), entre autres (Abadlia et Chebbour, 2014).



**Figure 13:** photographie du flacon de l'huile essentielle « Menthe Poivrée »

Les huiles essentielles sont des liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles végétales. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que l'alcool, entraînables à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau avec un indice de réfraction élevé. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation et ont un fort pouvoir de pénétration (El Kalamouni, 2010).

### 1.3. Autres Matériels

Notre expérimentation a nécessité d'autres matériels tels que, papier filtre, portoirs, micropipettes (10-100 $\mu$ l ; 100-1000 $\mu$ l), ciseaux, bavettes, gants, pince, spatule, poire, pissettes, eppendorfs, cassette d'inclusion, cryotubes, et moules à paraffine, lames et lamelles, microtome, microscope optique...

## 2. Expérimentation

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

## 2.1. Protocole expérimental

Des lapins mâles âgés de 1 et 3 mois sont pris au hasard, placés dans des cages spéciales aménagées pour l'élevage cunicole et répartis en plusieurs lots. Pour chaque âge 3 lots sont constitués, un lot témoin, un lot traité par la menthe poivrée à la dose de 200  $\mu$ l/Kg de poids corporelle (dose 1) et un lot traité par cette l'huile à la dose de 400  $\mu$ l/Kg de poids corporelle (dose 2).

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

## 2.2. Pesée et administration de la Menthe Poivrée

Les lapins des différents lots ont été pesés afin de déterminer la quantité de l'huile essentielle à administrer pour chaque animal et chaque dose (figure 14). Le volume de la menthe poivrée pipetée est mélangé avec 0.5 ml d'eau et administré par voie orale aux lapins le matin.



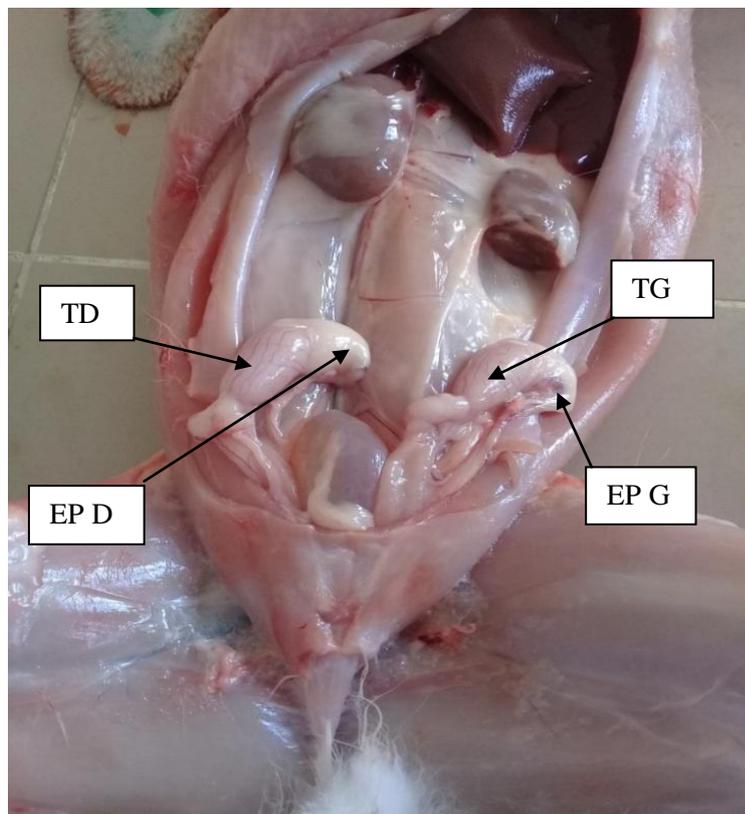
**Figure14:** Pesée et administration de l'huile essentielle « menthe poivrée » par voie orale

### 2.3. Sacrifice et prélèvement

Une semaine après administration de l'huile essentielle de la Menthe poivrée, les lapins ont été pesés puis sacrifiés par saignement le matin entre 9 H : 00 et 12H : 00 au niveau de l'élevage cunicol et le laboratoire de recherche d'écologie des invertébrés terrestre à l'université Mouloud Mammeri-Tizi ouzou. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes secs pour des dosages hormonaux ultérieurs et congelé à 4°C.

Pesée des animaux avant le traitement pour déterminer l'effet de l'huile essentielle administrée pour nos animaux, puis après le traitement pour déterminer l'évolution corporelle.

Ensuite les animaux sont disséqués, leurs appareils génitaux (épididyme et testicule) (Figure 15) sont prélevés puis dégraissés et pesés grâce à une balance de précision de 0,01g. Les testicules et épididymes droites sont fixés au Bouin Hollande dans des piluliers soigneusement fermés et étiquetés pour une étude histologique, alors que les testicules et épididymes gauches sont placés dans des eppendorfs et congelés à -20°C, jusqu'à leur utilisation ultérieure.



**Figure 15:** Présentation de l'appareil génital du lapin lors du sacrifice

**TD :** Testicule Droit ; **EPD :** Epididyme Droit ; **TG :** Testicule Gauche ; **EP G :** Epididyme Gauche

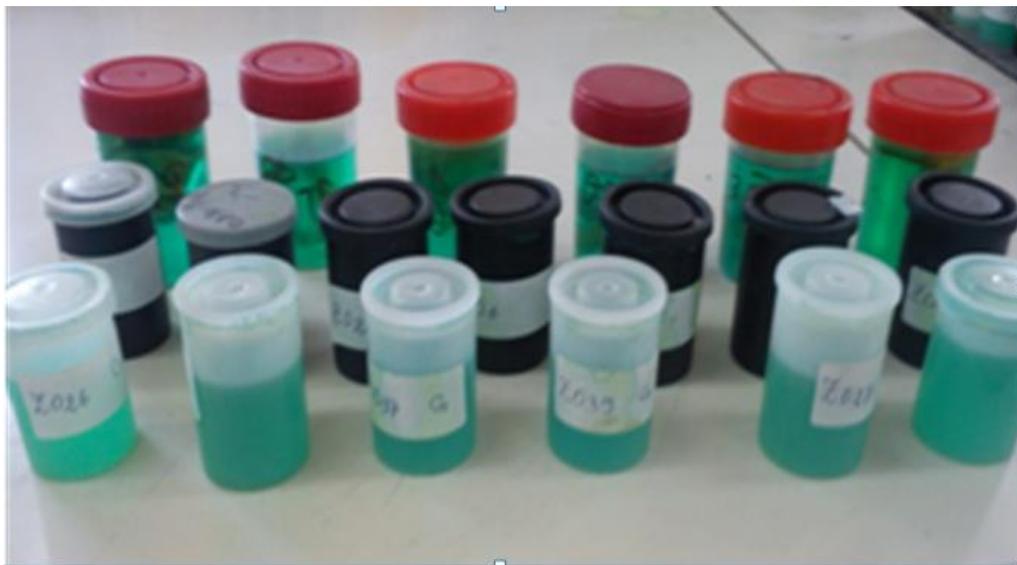
### 3. Etude histologique

L'étude histologique se déroule en une série d'étapes successives obligatoires qui vont aboutir à l'obtention de coupes fines prêtes à recevoir la coloration histologique d'intérêt. Le protocole expérimental est résumé selon les étapes suivantes ; fixation des échantillons, déshydratation et éclaircissement, imprégnation, inclusion, confection des coupes et collage, déparaffinage et réhydratation, coloration topographique, observation des lames.

#### 3.1. Fixation des échantillons

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

Nous avons utilisé le fixateur Bouin Hollande sublimé (mélange de formol et d'acide picrique) qui appartient à la famille des fixateurs coagulants à base de métaux lourds. Les organes sont placés dans des cassettes d'inclusion puis déposés dans des piluliers contenant un volume de « Bouin Hollande » trois fois supérieur à celui de l'organe, afin de l'immerger totalement (Figure 16). Les organes sont maintenus ainsi pendant 7 jours dans le fixateur, à température ambiante.



**Figure 16:** Piluliers de fixateur contenant les organes

### 3.2. Déshydratation et éclaircissement

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

Pour réaliser la déshydratation de l'organe, nous avons utilisé une série de bains d'alcool éthylique de degrés croissant (50°, 70°, 80°, 90°, 100°), pendant 2 heures pour chaque bain afin d'éviter la désorganisation des structures. Le dernier bain est un bain de xylène pour compléter la déshydratation et préparer l'imprégnation de l'organe à la paraffine, car l'éthanol n'est pas miscible à la paraffine.

### 3.3. Imprégnation

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

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

### 3.4. Inclusion

L'inclusion a pour but de réaliser des coupes fines et régulières. Cette opération consiste à enrober l'organe déshydraté dans de la paraffine fondue à 60°C dans un appareil d'enrobage de type Leica. Les organes sont placés dans des moules spécifiques dont les formes sont adaptées aux dimensions de l'organe. Ces moules sont remplis de paraffine. Lorsque les bordures de la paraffine commencent à durcir, nous plaçons la partie marquée de sa cassette dans le moule, nous coulons de la paraffine fondue jusqu'à ce que celle-ci soit totalement immergée. Les moules sont ensuite posés sur une plaque refroidissante pour durcir. Les blocs obtenus sont démoulés facilement et peuvent être conservés sans dommage (Figure 17).



**Figure 17 :** Des organes placé dans des moules qui recevront la Paraffine.

### 3.5. Confection des coupes et collage

Nous avons réalisé des coupes fines de 2 à 5 $\mu$ m d'épaisseur sur les blocs d'organes, en utilisant un microtome à paraffine de type Leica au niveau de laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou. Les coupes sont récupérées sur des lames porte-objet propres qui seront incubées pendant toutes une nuit à 38°C dans une étuve (Figure 18).

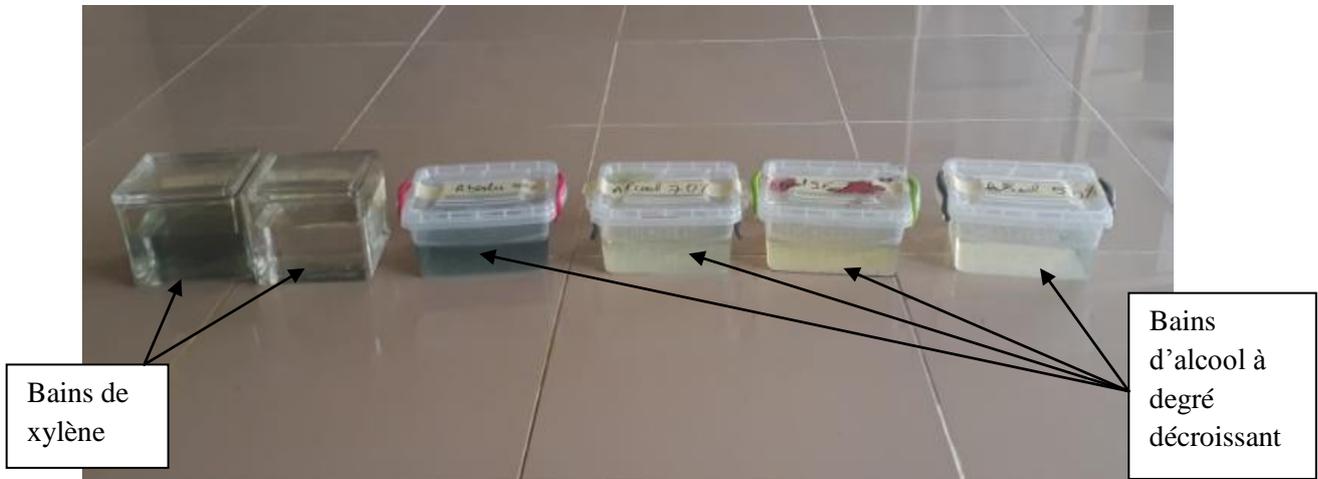


**Figure 18:** Dispositif permettant de faire des coupes : microtome à gauche et bain Marie à droite.

### 3.6. Déparaffinage et réhydratation

Avant de procéder à la coloration des lames nous devons les déparaffiner et les placer dans un milieu aqueux, car les colorants les plus utilisés en histologie sont aqueux.

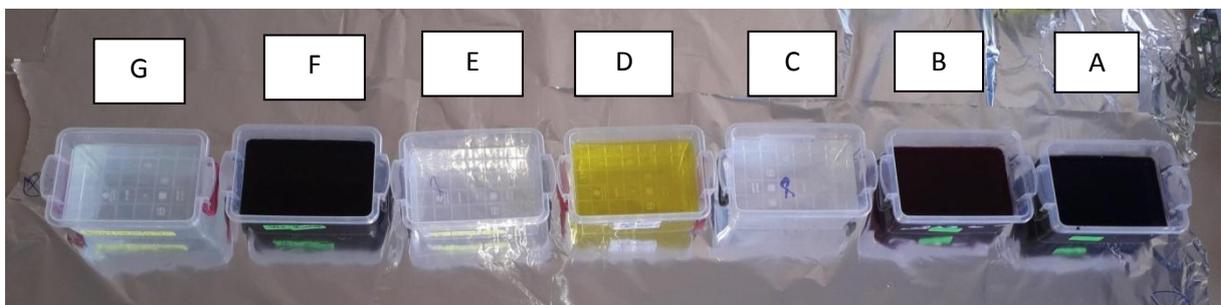
Le déparaffinage est une opération qui permet de retirer la paraffine qui imprègne la coupe. Il est suivi d'une réhydratation, qui est une séquence inverse de celle de la déshydratation (Figure 19). Il consiste en deux bains de xylène, puis en bains d'alcool éthylique à degrés décroissants (100°, 90°, 70°, 50°).



**Figure 19:** photographie des bains d'alcool et de xylène de la circulation.

### 3.7. Coloration topographique et Déshydratation

Pour la coloration de nos échantillons nous avons choisi la coloration topographique de Trichrome de Masson (Figure 20), (annexe 1). Cette coloration permet de mettre en évidence (grâce aux colorants utilisés) le noyau en noir, le cytoplasme acidophile et le nucléole en rose, les sécrétions sont soit rouges soit vertes en fonction de leur nature, les muscles sont rouges et les fibres de collagènes sont vertes. Cette coloration est suivie d'une déshydratation dans des bains d'alcool éthylique à degrés croissants (50°, 70°, 90°, 100°) (Figure 21).



**Figure 20 :** Photographie d'une série d'une coloration topographique.

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

### 3.8. Observation des lames

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

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

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

### 4. Etudes statistique

Les variables (poids vifs, poids des testicules et épидидymes) obtenus durant cette étude ont été soumis à une analyse de variance « ANOVA ». Le traitement statistique des données et les présentations graphiques des résultats ont été réalisés sous Microsoft Office Excel 2007.

La moyenne arithmétique des valeurs individuelles est calculée pour chaque paramètre, suivie par la valeur de l'erreur standard 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

# **Chapitre IV**

## Résultats

Les résultats rapportés dans ce travail concernent l'effet de l'huile essentielle de la Menthe poivrée sur le poids corporel, le poids des testicules et épидидymes, des lapins infantiles et prépubère, ainsi qu'une étude histologique des structures gonadiques (testicule et épидидyme).

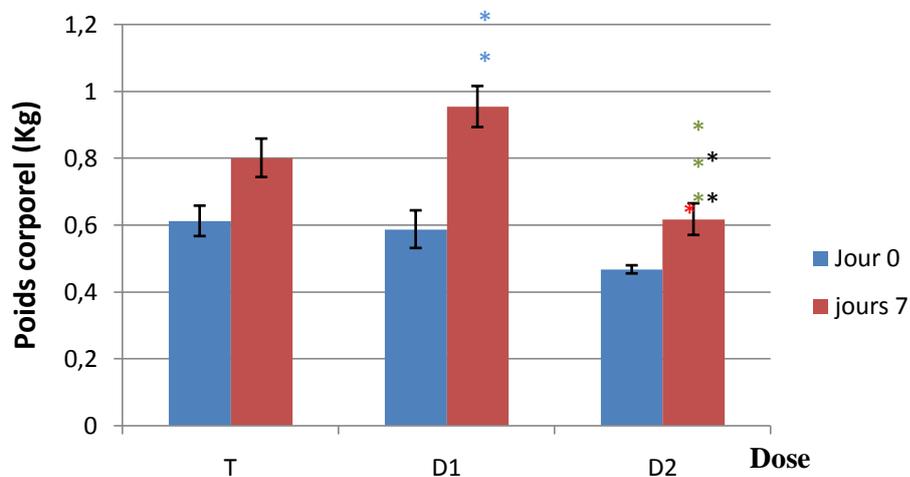
## 1. Résultats

### 1.1. Effet de la Menthe poivrée sur le poids corporel

Le poids corporel des lapins infantiles et prépubères avant et après traitement par la Menthe poivrée aux doses de 200 et 400 $\mu$ l/Kg sont exprimé en kilogramme (kg) par la valeur moyenne  $\pm$  l'erreur standard à la moyenne (ESM).

#### 1.1. 1. lapins infantiles

Les effets de l'huile essentielle la Menthe poivrée sur le poids corporel des lapins infantiles aux doses T, D1, D2 respectivement sont représentés dans la figure 22.



**Figure 21:** Effet de la Menthe poivrée sur le poids corporel des lapins infantiles

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; Jour 0 : avant traitement ; Jours 7 : après traitement

\* : comparaison entre les lapins témoins et traités à la dose 2 au J0 et J7 ; \* : entre les témoins et les traités à la dose 1 au J0 et J7 ; \* : entre les témoins et ceux traités à dose 2 au J7 ; \* : entre les traités par la dose 1 et la dose 2

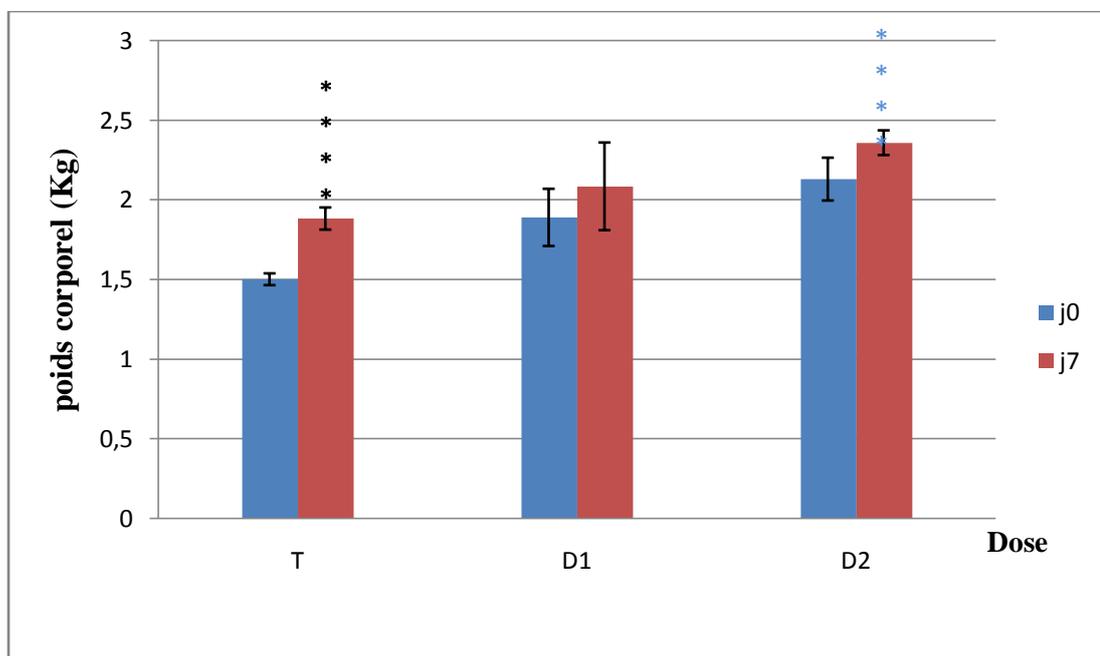
Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle de la Menthe poivrée a induit une élévation de la valeur moyenne du poids corporel des lapins infantiles par rapport aux témoins,

en effet le poids corporel a augmenté de 189 g chez les témoins, tandis que cet écart est de 367g chez les lapins traités par la D1 et de 150g chez les lapins traités par la D2.

Les variations entre J0 et le J7 sont significatives ( $p < 0.02$ ) chez les lapins témoins et traités à la dose 2 alors qu'elle est très significative ( $p < 0.01$ ) chez les lapins traités par la dose 1. Les variations du poids corporel entre les différents lots après le traitement (J7) sont peu significative chez les lapins témoins et ceux traités à la dose 2 alors qu'elle est très significative chez ceux traités par la dose 1.

### 1.1.2. Lapins prépubères

Les effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée sur le poids corporel des lapins prépubères aux doses T, D1, D2 respectivement sont représentés dans la figure 23.



**Figure22** :Effet de la Menthe poivrée sur le poids corporel des lapins prépubères

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; J0 : avant traitement ; J7 : après traitement

\* : comparaison entre les Témoins entre J0 et J7; \* : comparaison entre les témoins et les lapins traité a la dose 2 au J7

Les résultats obtenues ont montré que la Menthe poivrée a induit une élévation de la valeur moyen du poids corporel des lapins prépubères par rapport aux témoins, en effet le

poids corporel augmente de 381g chez les témoins, tandis que cet écart est de 195g chez les lapins traités par la D1 et de 229g chez les lapins traités par la D2.

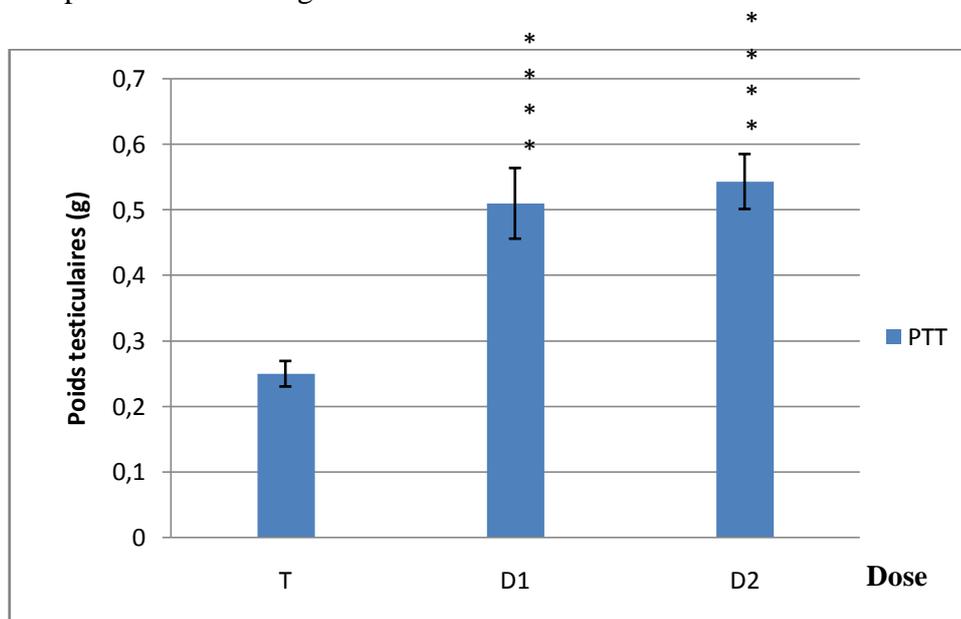
Ces variations sont hautement significatives ( $p < 0.001$ ) chez les lapins témoins à J0 et J7, hautement significative entre les lapins témoins et ceux traités par la dose 2 au jour 7 ( $p < 0.001$ ).

## 1.2. Poids testiculaire

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

### 1.2.1. Poids des testicules des lapins infantiles

Les poids total des testicules des lapins infantiles traités aux doses 200 $\mu$ l/Kg et 400 $\mu$ l/Kg sont représentés dans la figure 24.



**Figure 23:** Poids total des testicules des lapins infantiles

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; PTT : poids testiculaires totale

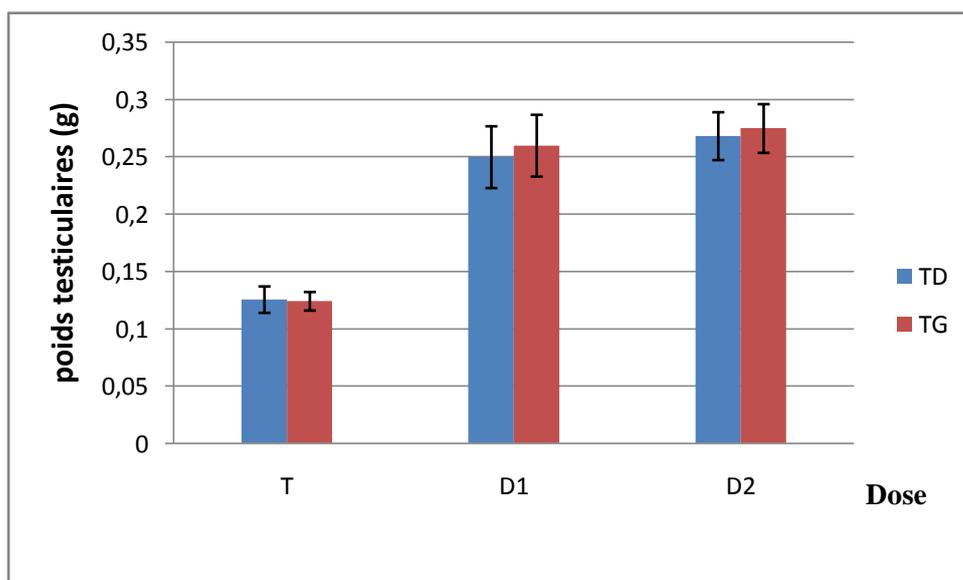
\* : comparaison entre les lapins témoins et chez ceux traités à la dose D1 et D2

la valeur moyenne du poids total des testicules des lapins infantiles est plus élevée chez les lapins traités par D1 et D2 par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les groupes traités, D1 et D2 et les témoins est respectivement de 0.26g et 0.29g. D'autre part la MP à

la dose D2 à induit un effet plus marqué sur le poids des testicules que la dose D1 avec l'écart de 0.033g.

Ces variations sont hautement significatives entre le poids totale des testicules chez les lapins infantile témoins et chez ceux traité à la dose D1 et D2.

Les poids des testicules gauches et droits des lapins infantiles traitent aux doses 200µl/Kg et 400µl/Kg sont représenté dans la figure 25.



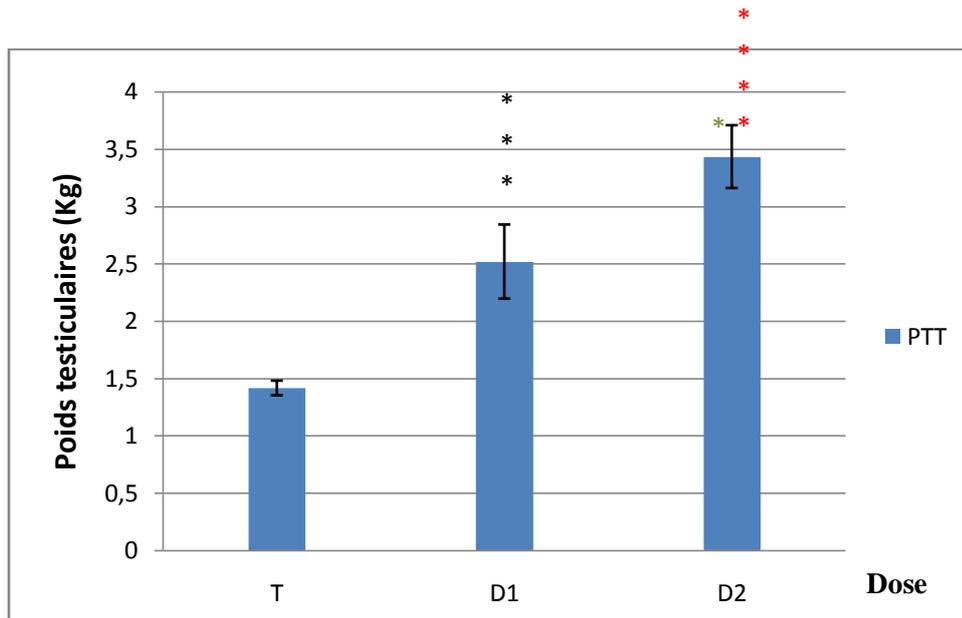
**Figure 24 :** poids moyen des testicules gauches et droits des lapins infantiles

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; TG : testicule gauche ; TD : testicule droit

le poids moyenne des testicules droits sont similaires a ceux des gauches chez les lapins infantiles dans les différents lots.

### 1.2.2. Poids des testicules des lapins prépubères

La figure 26représente le poids total des testicules pour les lapins prépubères en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée 200µl/k et 400µl/kg.



**Figure 25:** Représentation graphique montrant le poids total des testicules des lapins prépubères

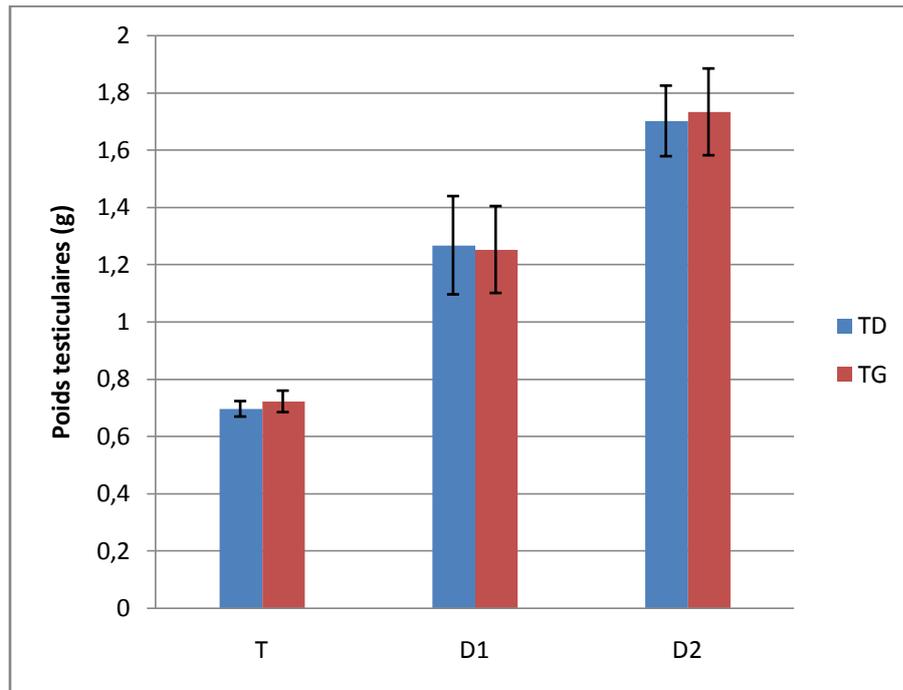
T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose2 ; PTT : poids testiculaires totale.

\*: comparaison entre les témoins et ceux traité à la dose D1, \*:entre les témoins et ceux traité a la dose D2,\*entre les traite (D1 et D2).

La valeur moyenne du poids total des testicules des lapins prépubères sont plus élevé chez les lapins traitent par D1 et D2 par la MP par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les ceux traite, D1 et D2 et les témoins est respectivement de 1.102g et 2.017g. D'autre part la MP à la dose D2 à induit un effet plus marque sur le poids des testicules que la dose D1 avec l'écart de 0.915g.

Ces variations sont très significatives entre le poids totale des testicules chez les lapins témoins prépubères et chez ceux traité à la dose D1, hautement significative entre les témoins et ceux traité a la dose D2 et peu significative entre les traite (D1 et D2).

La figure 27 représente l'évolution du poids des testicules gauches et droits des lapins prépubères en fonction de la dose de l'huile essentielle « menthe poivrée » administrée (200µl/kg et 400µl/kg).



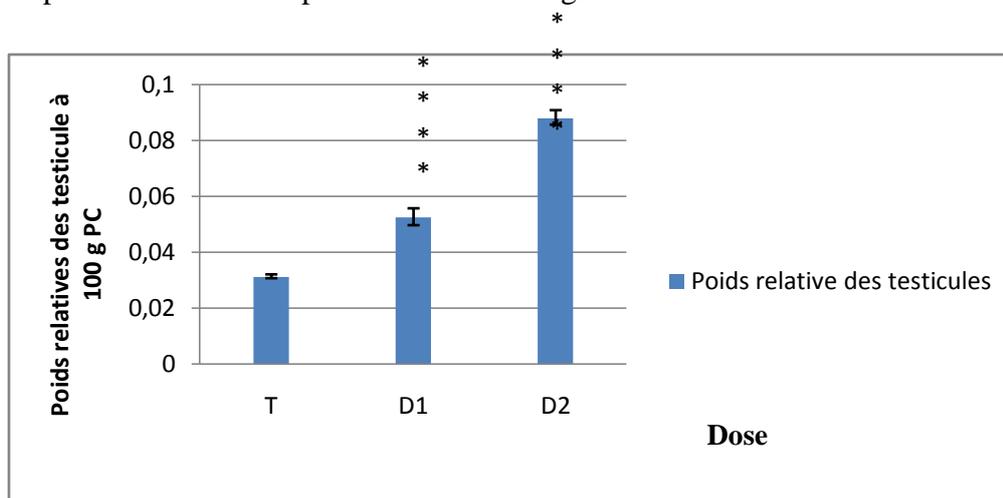
**Figure 26 :** Représentation graphique du poids moyen des testicules droits et gauches des lapins prépubères.

**T :** Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose 2 ; **TG :** testicule gauche ; **TD :** testicule droit

le poids moyenne des testicules droits sont similaires a ceux de gauches chez les lapins prépubères dans les différents lots.

### 1.2.3. Poids relatifs des testicules des lapins infantiles et prépubères

Les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des testicules des lapins infantiles sont présentées dans la figure 28.



**Figure 27:** Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins infantiles

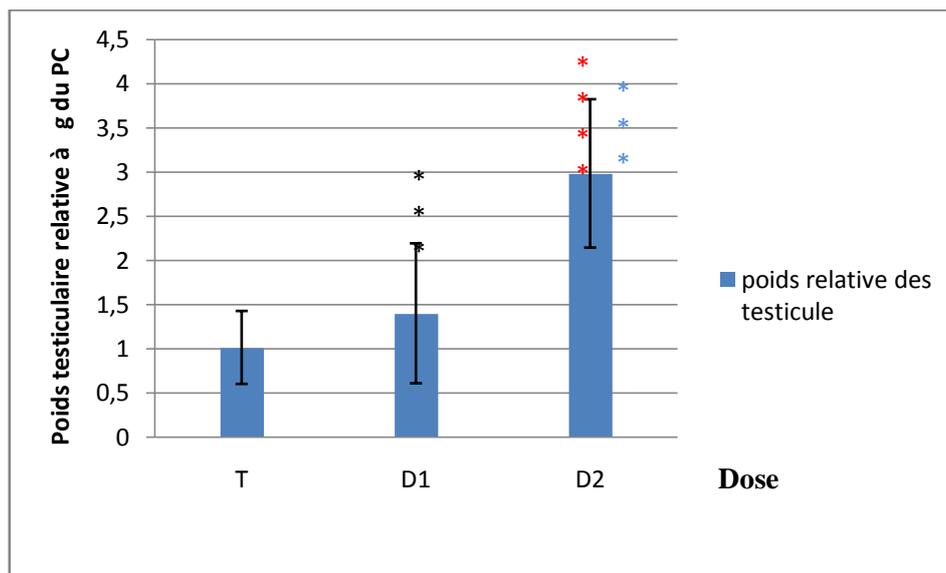
T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose2 ; PC : Poids corporel.

\*: Comparaison entre les témoins et ceux traité a la dose D1 et D1.

la valeur moyenne du poids relatifs des testicules des lapins infantiles sont plus élevé chez les lapins traitent par D1 et D2 par la MP par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les ceux traite, D1 et D2 et les témoins est respectivement de 0.021g et 0.057g. D'autre part la MP à la dose D2 à induit un effet plus marque sur le poids des testicules que la dose D1 avec l'écart de 0.035g.

Ces variations sont hautement significative entre les témoins et ceux traité a la dose D1 et D1 ( $P < 0.001$ ).

La figure 29 représente les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g du poids corporel des testicules des lapins prépubères.



**Figure 28:** Représentation graphique du poids relatif des testicules des lapins prépubères

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose2 ; PC : Poids corporel

\*: Comparaison entre les témoins et ceux traité a la dose D1 ; \*: entre les témoins et D2 ; \*: entre les traités (D1 et D2).

La valeur moyenne du poids relatifs des testicules des lapins infantiles sont plus élevé chez les lapins traitent par D1 et D2 par la MP par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les ceux traite, D1 et D2 et les témoins est respectivement de 0.047g et 0.069g. D'autre part la MP à la dose D2 à induit un effet plus marque sur le poids des testicules que la dose D1avec l'écart de 0.022g.

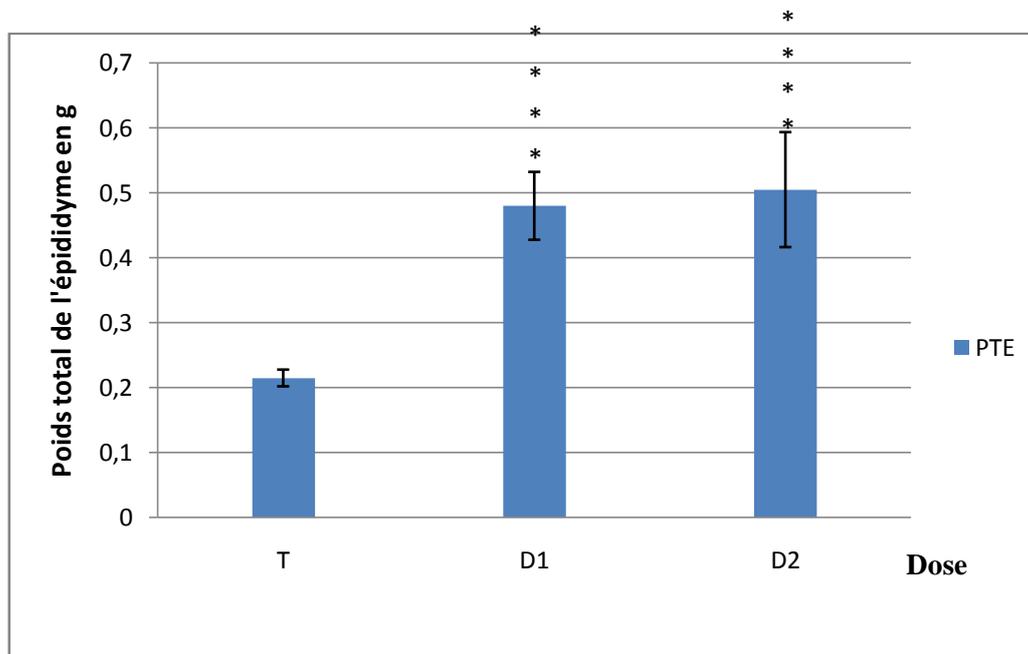
Ces variations sont très significative entre les témoins et ceux traité a la dose D1, hautement significative entre les témoins etD2et très significative entre les traités (D1 et D2).

### 1.3. Poids épидидymaires

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

#### 1.3.1. Poids épидидymaires des lapins infantiles

Les poids total épидидymaire des lapins infantiles traitent aux doses 200 $\mu$ l/Kg et 400 $\mu$ l/Kg sont représenté dans la figure 30.



**Figure 29** : Représentation graphique sur le poids total de l'épididyme des lapins infantiles

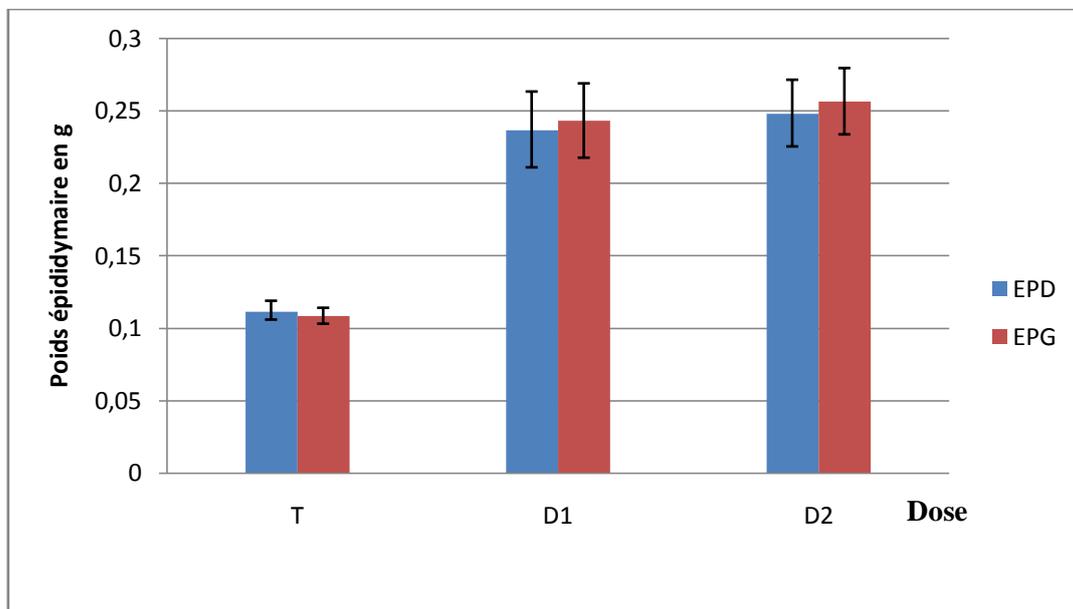
T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; PTE : poids total épидидymaire.

\*: comparaison entre le poids totale des épидидymes entre les lapins infantile témoins et ceux traité à la dose D1 et D2.

la valeur moyenne du poids total des épидидymes des lapins infantiles sont plus élevé chez les lapins traitent par D1 et D2 par la MP par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les ceux traite, D1 et D2et les témoins est respectivement de 0.265g et 0.29g. D'autre part la MP à la dose D2 à induit un effet plus marque sur le poids des testicules que la dose D1avec l'écart de 0.025g.

Ces variations sont hautement significatives entre le poids totale des épидидymes entre les lapins infantile témoins et ceux traité à la dose D1 et D2.

Le graphe suivant (Figure 31) représente le poids moyen de l'épididyme gauches et droits, en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée 200µl/Kg et 400µl/Kg pour les lapins infantiles.



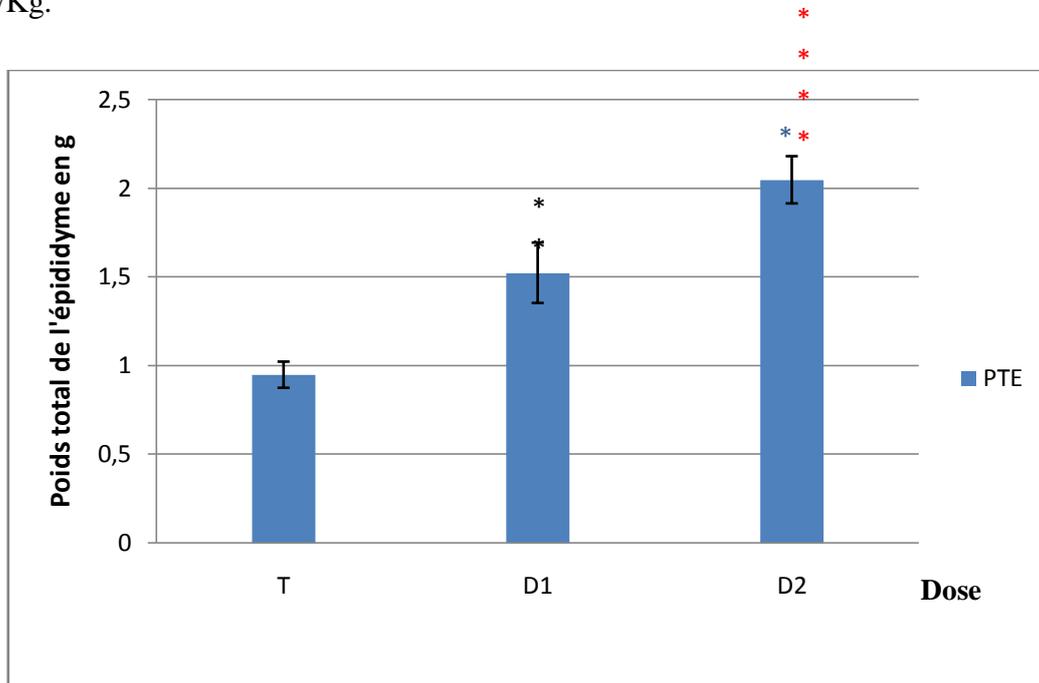
**Figure 30** : Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins infantiles

**EPG** : Epididyme Gauche ; **EPD** : Epididyme Droit ; **T** : Témoin ; **D1** : Dose 1 ; **D2** : Dose 2

Nous n'avons observé aucune différence entre le poids moyenne des épидидymes droits et gauches des lapins des différents lots.

### 1.3.2. Poids épидидymaires des lapins prépubères

La figure 32 représente le poids total de l'épididyme pour les lapins prépubères en fonction de la dose de l'huile essentielle « Menthe poivrée » administrée doses 200µl/Kg et 400µl/Kg.



**Figure 31** : Représentation graphique sur le poids total de l'épididyme des lapins prépubères

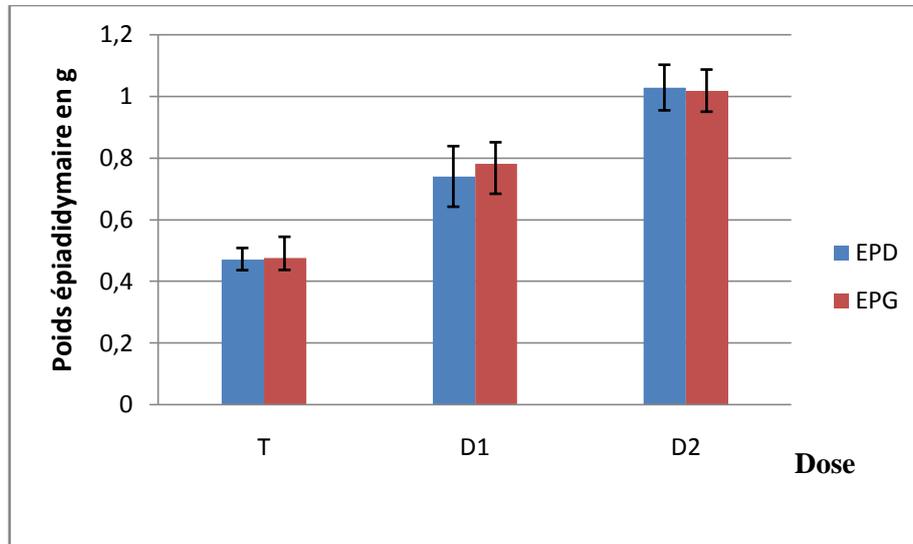
T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 : Dose 2 ; PTE : Poids total épидidymaire

\*: comparaison entre le poids totale des épидidymes entre les lapins pépubères témoins et D1, \*:entre les témoins et ceux traité a la dose D2 et \* : entre les traite (D1 et D2).

La valeur moyenne du poids total des épидidymes des lapins prépubères sont plus élevé chez les lapins traitent par D1 et D2 par la MP par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les ceux traite, D1 et D2 et les témoins est respectivement de 0.575g et 1.099g. D'autre part la MP à la dose D2 à induit un effet plus marque sur le poids des testicules que la dose D1 avec l'écart de 0.524g.

Ces variations sont significatives entre le poids totale des épидidymes entre les lapins pépubères témoins et ceux traité à la dose D1, hautement significative entre les témoins et ceux traité a la dose D2 et peu significative entre les traite (D1 et D2).

Poids moyen de l'épididyme gauche et droit des lapins prépubères en fonction de l'huile essentielle « Menthe Poivrée » administrée représenté dans la figure 33



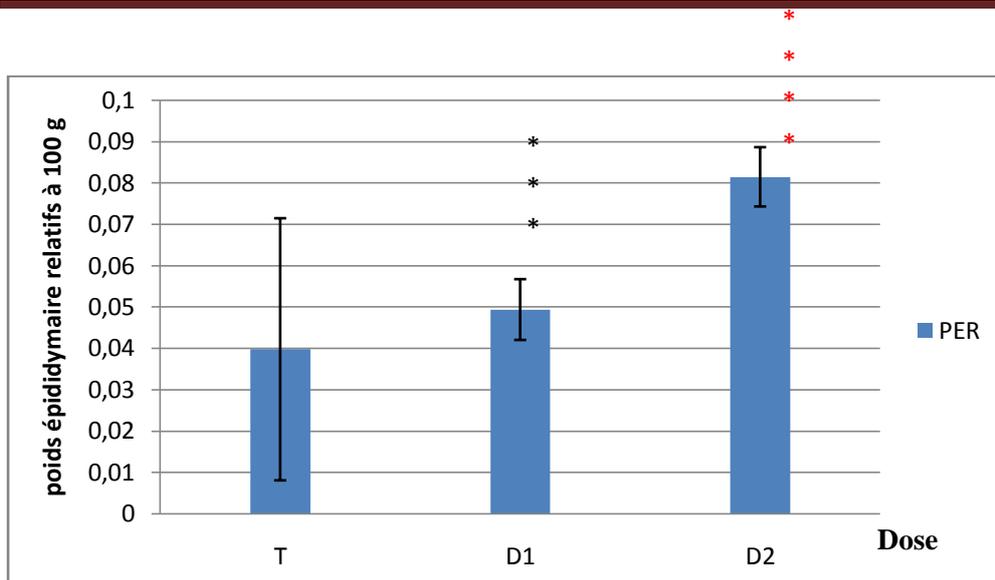
**Figure 32 :** Représentation graphique du poids des épидидymes gauches et droits des lapins prépubères

**EPG :** Epididyme Gauche ; **EPD :** Epididyme Droit ; **T :** Témoin ; **D1 :** Dose 1 ; **D2 :** Dose 2

Nous n'avons observé aucune différence entre le poids moyen des épидидymes droits et gauches chez les lapins prépubères des différents lots.

### 1.3.3. Les poids relatifs épидидymaires des lapins infantiles et prépubères

La figure 34 représente les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g du poids corporel des épидидymes des lapins infantiles en fonction de la dose de l'huile essentielle de la Menthe poivrée administrée dose 200µl/Kg et 400µl/Kg.



**Figure 33 :** Représentation graphique du poids relatif des épидидymes des lapins infantiles

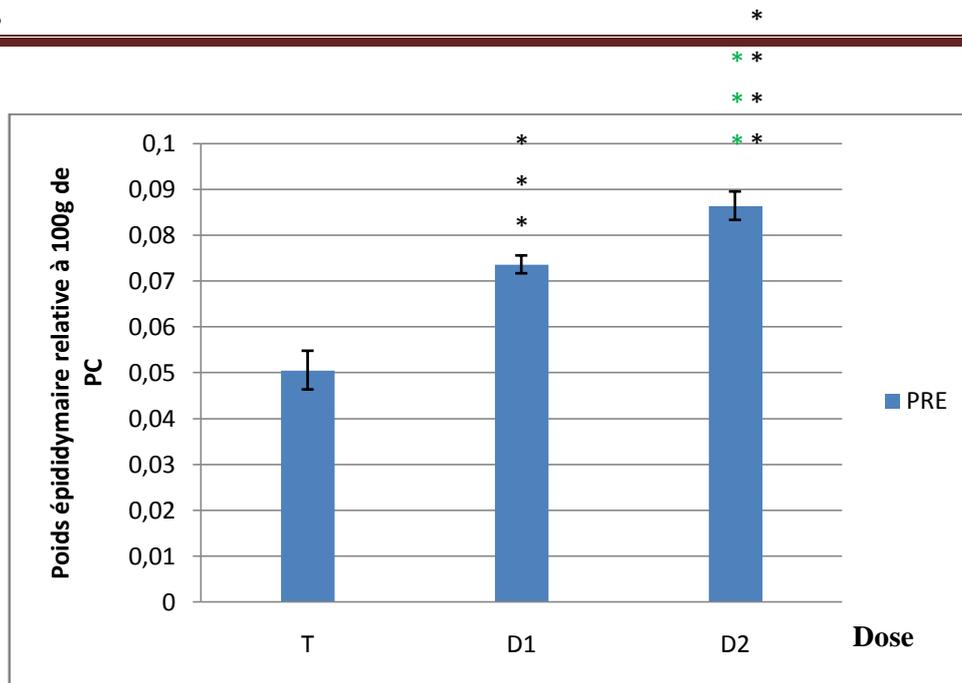
T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; PER : Poids épидидymaire relative.

\* : comparaison entre les témoins et ceux traité a la dose D1 ; \*:entre les témoins et D2

La valeur moyenne du poids relatifs épидидymaires des lapins infantiles sont plus élevé chez les lapins traitent par D1 et D2 par la MP par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les ceux traite, D1 et D2 et les témoins est respectivement de 0.0096g et 0.042g. D'autre part la MP à la dose D2 à induit un effet plus marque sur le poids des testicules que la dose D1avec l'écart de 0.032g.

Ces variations sont très significative entre les témoins et ceux traité a la dose D1, hautement significative entre les témoins et D2.

La figure 35 représente les valeurs moyennes des poids relatifs à 100 g de poids corporel des épидидymes des lapins prépubères en fonction de la dose de l'huile essentielle de la Menthe poivrée administrée.



**Figure 34 :** Représentation graphique du poids relatif de l'épididyme des lapins prépubères

T : Témoin ; D1 : Dose 1 ; D2 :Dose2 ; PRE : poids relatifs épидидymaires

\* : comparaison entre les témoins et ceux traité a la dose D1, \* : entre les témoins et D2 ; \* : entre les traités (D1 et D2).

La valeur moyenne du poids relatifs épидидymaires des lapins infantiles sont plus élevé chez les lapins traitent par D1 et D2 par la MP par rapport aux témoins. En effet l'écart entre les ceux traite, D1 et D2 et les témoins est respectivement de 0.023g et 0.036g. D'autre part la MP à la dose D2 à induit un effet plus marque sur le poids des testicules que la dose D1avec l'écart de 0.013g.

Ces variations sont très significative entre les témoins et ceux traité a la dose D1, hautement significative entre les témoins et D2 et très significative entre les traités (D1 et D2).

#### 1.4. Etude histologique des testicules des lapins

À la naissance, l'animal dispose d'un faible stock de cellules souches appelées spermatogonies, qui vont subir la spermatogenèse à partir de la puberté et assurer ainsi la formation des gamètes mâles ou spermatozoïdes tout au long de la vie du mâle. Le cycle spermatogénique représente l'ensemble des divisions et des différenciations cellulaires aboutissant à la formation des spermatozoïdes (Boussit, 1989).

La structure histologique des testicules révèle une grande variabilité entre les lapins de lot témoin et les lapins des lots traités par l'HE de la menthe poivrée à la dose 1 (200 µl/kg) et à la dose 2 (400µl /kg).

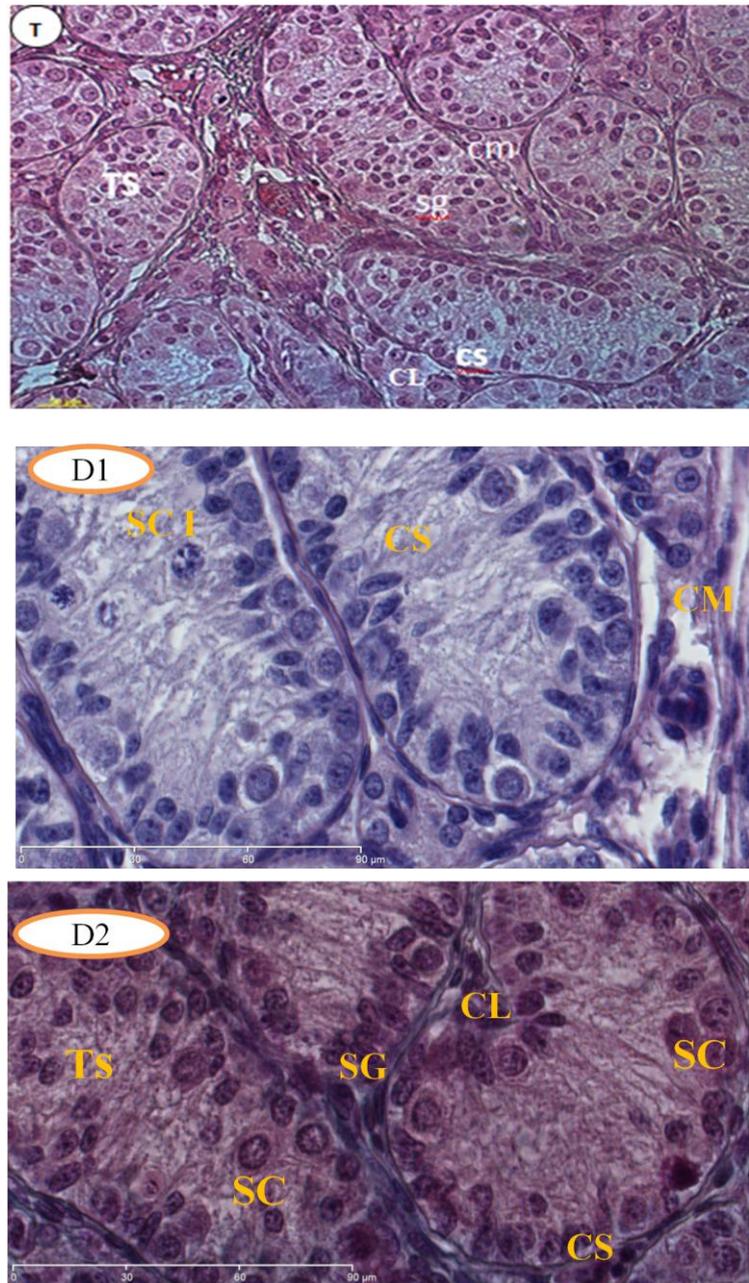
#### **1.4.1. Histologie des testicules des lapins infantiles**

Les structures histologiques des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observé au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 1 mois est représentées dans la planche 1.

La structure histologique des testicules des lapins témoins infantiles, âgés en moyenne de 1 mois, révèle une grande variabilité de la forme de tubes séminifères qui sont dépourvus de lumière.

En effet l'observation au fort grossissement, révèle un épithélium séminifère constitué par les deux types cellulaires classiques du tube séminifère, les cellules de la lignée germinale ou spermatogonie et les cellules somatiques épithéliales de Sertoli. Les spermatogonies sont des cellules peu volumineuses, a noyau arrondie et une chromatine condensé et très colorée qui sont distribuée sur toute la section du tube, au centre et /ou à la périphérie.

Les cellules de Sertoli sont des cellules de grande taille qui reposent sur la lame basale du tube séminifère et qui s'étendent jusqu'à sa lumière. Elles sont reconnaissables à leurs noyaux à encoches, de forme irrégulière, conique, pyramidale, ou triangulaire. Elles émettent des expansions cytoplasmiques qui se prolongent jusqu'au centre du tube séminifère.



**Planche 1:** Coupes histologiques des testicules des lapins infantiles pour lot T, D1 et D2

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

Entre les tubes séminifères, est visible un espace interstitiel important et richement vascularisé contenant les cellules de Leydig. Au fort grossissement, les cellules de Leydig apparaissent organisées en amas ou dispersées dans la trame conjonctive de cet espace. Des

cellules fusiformes appelées cellules péricubulaires ou cellules myoïdes entourent les tubes séminifères (planche 1 T).

La structure des testicules des lapins traités par la Menthe poivrée aux doses respectives de 200µl/Kg (D1) et 400 µl/Kg (D2), révèle la mise en place de la lumière au niveau de tous les tubes séminifères avec un épithélium constitué de cellules de Sertoli à noyau triangulaire et de spermatogonies à noyaux ronds condensés.

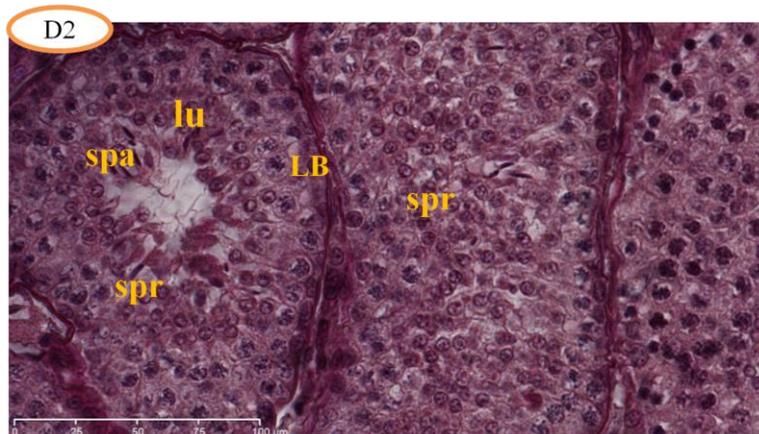
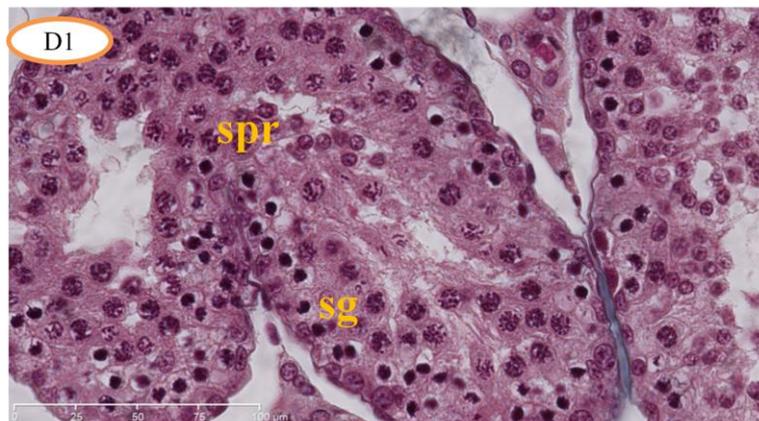
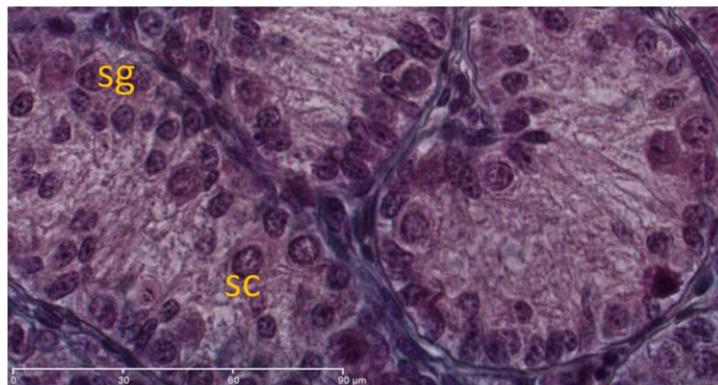
Néanmoins, nous avons observé l'apparition des premiers spermatozytes I à noyaux volumineux, décondensés et grossiers dans quelques tubes séminifères chez les animaux traités par la dose 1, tandis que chez ceux traités par la dose 2 présente beaucoup de spermatozytes I dans tous les tubes séminifères (planche 1 D1).

L'espace interstitiel des lapins traités par menthe poivrée se resserre sous l'effet du développement des tubes séminifères et prend progressivement la forme triangulaire. Il est constitué des cellules de Leydig qui sont organisées en amas ou bien dispersées dans cet espace et des cellules péricubulaires qui entourent les tubes séminifères.

#### **1.4.2. Histologie des testicules des lapins prépubère**

Les structures histologiques des testicules des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observées au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins prépubères, âgés en moyenne de 3 mois, sont représentées dans la planche 2.

Les structures testiculaires des lapins témoins prépubères, au fort grossissement, montrent des tubes séminifères de diamètre variable, avec une paroi formée d'un épithélium comprenant des cellules de la lignée germinale: spermatogonies à noyaux ronds et condensés, spermatozytes I à noyaux volumineux et à chromatine décondensée très colorée sous forme d'amas grossiers et des cellules de Sertoli à noyau triangulaire déposée sur une lame basale. Ces tubes sont entourés par un tissu conjonctif vascularisé, riche en cellules péricubulaires à noyaux aplatis et de cellules de Leydig à noyaux arrondis (Planche 2 T).



**Planche 2:** Coupes histologiques des testicules des lapins prépubères pour lot T, D1 et D2  
(coloration : Trichrome de Masson)

**Sg** : spermatogonie ; **cs** : cellule de Sertoli ; **sc** : spermatocytes ; **C**: cellule de Leydig ; **lu** : lumière séminale ; **spr** :spermatide rond ; **spa** : spermatide allongé ;lame basale ; **T** :Témoin ;**D1** :Dose 1 ;**D2** :Dose 2

Les tubes séminifères des lapins traités à la dose 1 (200µl/kg) sont plus développés que ceux des témoins avec l'apparition de quelques spermatides ronds dans certains tubes

séminifères, entourés par un tissu interstitiel où se baignent les cellules de Leydig ainsi que des cellules périvitubulaires (Planche 2 D1).

Tandis que les structures testiculaires des lapins traités à la dose 2(400µl/kg) révèlent des tubes séminifères riches en spermatides ronds dans tous les tubes avec apparition de premières spermatides allongées (Planche 2 D2).

### **1.5. Etudes histologique de l'épididyme des lapins infantiles et prépubères**

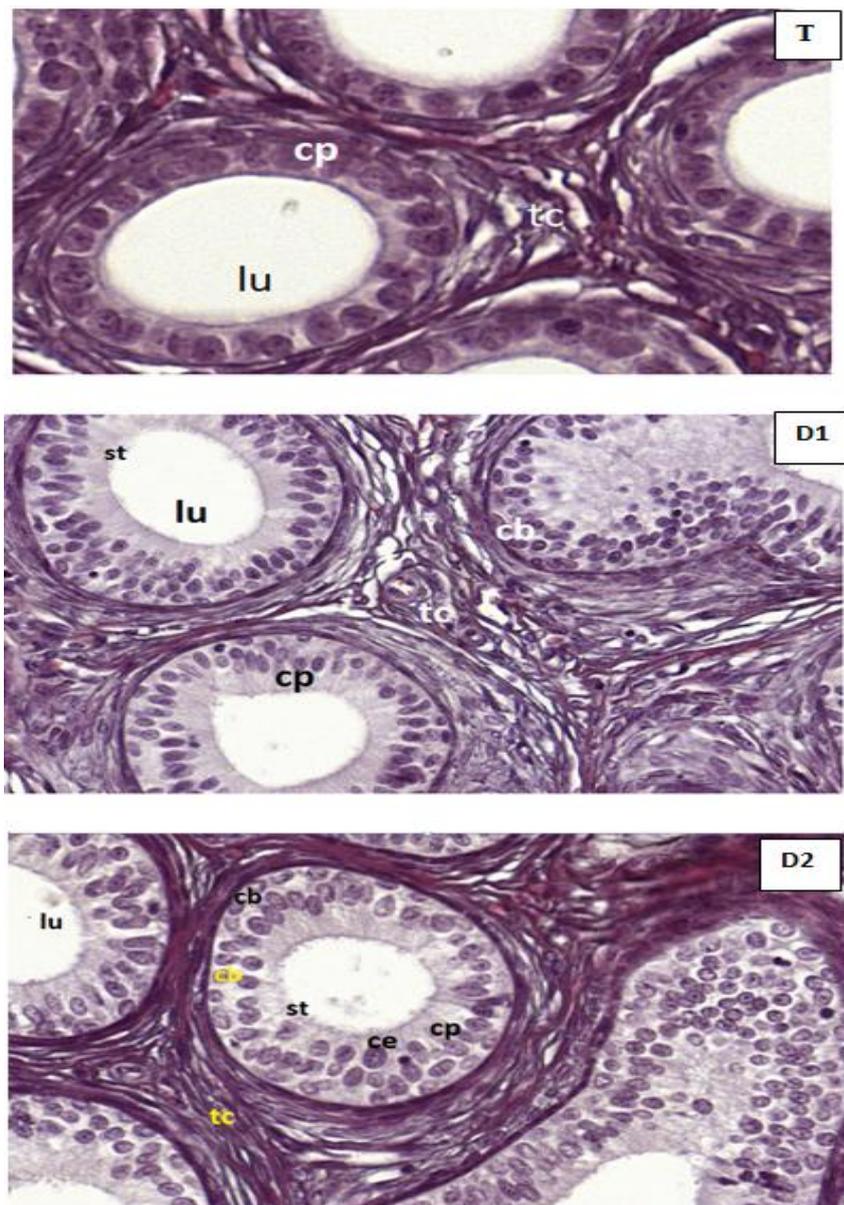
L'épididyme du lapin est un canal fortement pelotonné. Anatomiquement, il est subdivisé en trois grandes parties : une tête qui coiffe le testicule et constitue l'épididyme proximal, un corps effilé et une queue épaisse qui représente l'épididyme distal.

La structure histologique des épидидymes révèle une grande variabilité entre les lapins du groupe témoin, et les lapins traités à la dose1 (200 µl/kg) et la dose 2 (400µl /kg) par l'HE de la menthe poivrée.

#### **1.5.1. Histologie de l'épididyme des lapins infantiles**

Les structures histologiques de l'épididyme des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observé au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 1 mois sont représentées dans la planche 3.

Pour les lapins du groupe témoin, la structure de l'épididyme présente des tubes maintenus entre elles par du tissu conjonctif intertubulaire formé de fibres conjonctives éparpillées, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins. Au niveau de l'épithélium, dans la plupart des tubes nous avons un épithélium cubique simple constitué exclusivement de cellules principales (Planche 3 T).



**Planche 3:** coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins infantiles des lots T, D1 et D2

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

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 1 (200 µl/kg) montre, au fort grossissement, un tissu conjonctif intertubulaire qui contient des fibres conjonctives qui

apparaissent mieux organisés, des cellules musculaires, des fibroblastes et des vaisseaux sanguins.

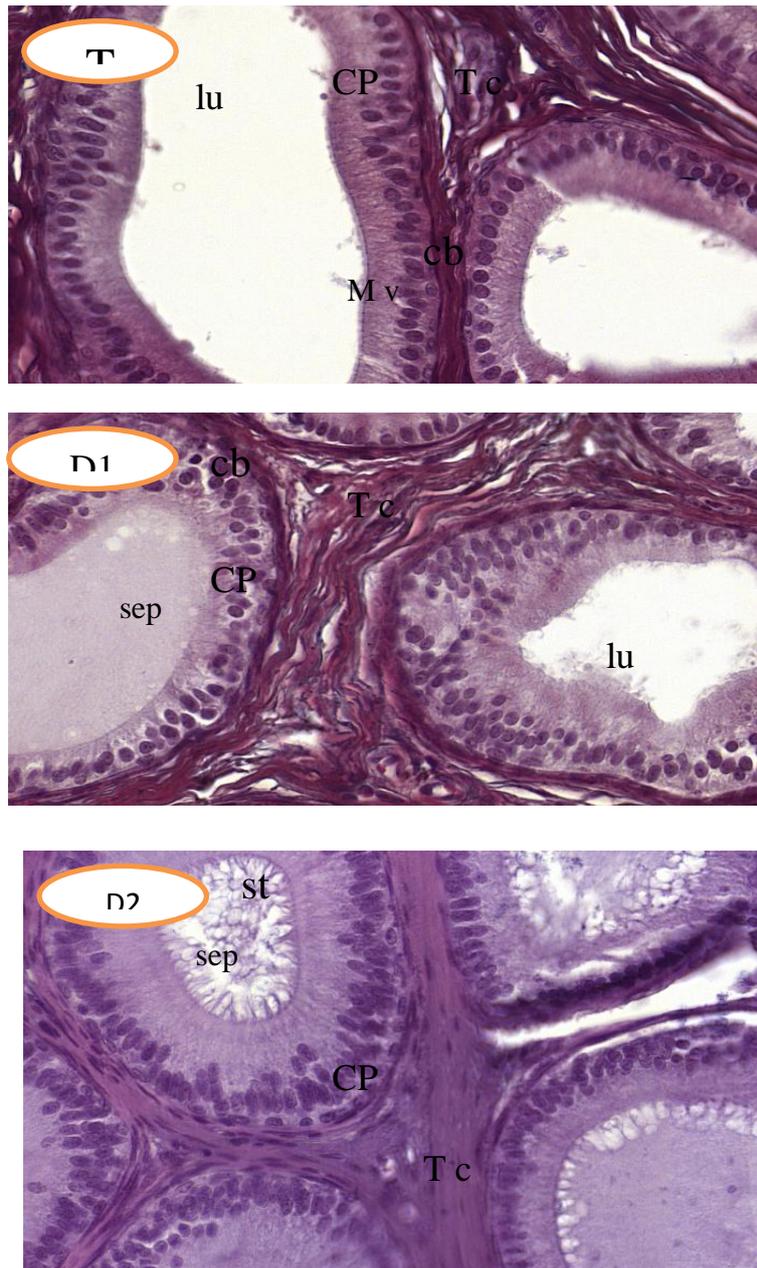
Tandis que l'épithélium, est prismatique, alors qu'il a été cubique pour les lapins du groupe témoins. Il est constitué de cellules principales occupant presque la totalité de l'épithélium. À la base de ces cellules, se trouvent des cellules basales réparties de façon discontinue le long de la lame basale pour certains tubes. La lumière du tube apparaît vide et dépourvu des spermatozoïdes dans la quel des stéréocils courtes localisé au niveau apical des cellules principales, sont observé (Planche 3 D1).

Pour les lapins traités par la dose 2 (400µl/kg) la structure histologique de l'épididyme présente des variations par rapport aux lapins de lot témoin et lot dose1 (Planche 3 D2). Cependant au niveau de la structure épithéliale, L'épithélium est prismatique alors qu'il été cubique pour les lapins du lot témoins. Il est constitué de cellules principales occupant presque la totalité de l'épithélium et des cellules basales qui apparaissent en abondance par rapport à ceux du lot D1 ainsi la présence des cellules étroites et beaucoup des stéréocils et l'épithélium présente une hauteur plus grande, ce qui fait que la lumière des tubes est plus réduit par rapport à ceux du lot témoin.

### **1.5.2. Histologie de l'épididyme des lapins prépubères**

Les structures histologiques de l'épididyme des groupes expérimentaux (D1, D2) et de groupe témoin (T) observées au microscope photonique au fort grossissement pour les lapins âgés de 3 mois sont représentées dans la planche 4.

Chez les lapins prépubères, le tube épидидymaire est bordé par une fine paroi musculaire à laquelle adhère une couche d'épithélium prismatique et pseudostratifié constitué de deux catégories cellulaires cellules principales et basales, reposant sur une lame basale fine. Les cellules principales présentent des expansions cytoplasmiques constituant des microvillosités de longueur de densité réduites, ce qui laisse penser que les cellules de l'épithélium épидидymaire n'ont pas encore atteint le stade final de la croissance. Le tube épидидymaire présente également une lumière large. Le tissu conjonctif réduit et bien organisés.



**Planche 4:** coupes histologiques de l'épididyme réalisées pour les lapins prépubères de lot T, D1 et D2

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

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 1 (200 µl/kg) montre, un épithélium Prismatique pseudostratifié, et l'épithélium contient des cellules principales et basales, des stéréocils plus développé visible avec des sécrétions qui se concentrent à la lumière des tubes sans aucune présence des spermatozoïdes. Le tissu conjonctif intertubulaire

formé de fibres conjonctives mieux organisées, de cellules musculaires, de fibroblastes, faisceaux de collagène et de vaisseaux sanguins (Planche 4 D1).

La structure de l'épididyme des lapins traités à la dose 2 (400 µl/kg) montre au fort grossissement la même structure que celle des lapins du lot dose 1, néanmoins avec apparition de quelques spermatozoïdes qui se concentre au niveau de la lumière épидидymaire (Planche 4 D2).

## **2. Discussion**

Les lapins traités par l'huile essentielle la Menthe poivrée ont un poids corporel, poids testiculaire et poids épидидymaire plus élevés que les lapins Témoins d'une part, d'autre part les animaux traités par la dose 2 ont des valeurs plus importantes que ceux traités par la dose 1.

Chez les lapins infantiles sur le plan histologique la spermatogenèse est au stade spermatogonie chez les lapins témoins, tandis que chez les lapins traités on voit l'apparition des spermatocytes I, en effet ces derniers sont plus importants chez les animaux traités par la dose 2 par rapport à ceux traités par la dose 1.

La spermatogenèse des lapins prépubères est au stade spermatogonie et spermatocyte I chez les témoins tandis que chez les lapins traités on voit l'apparition de nombreuses spermatides rondes et quelques spermatides allongées.

L'épithélium des tubes épидидymaires chez les lapins témoins est cubique tandis que chez les traités, ils deviennent prismatique pseudo stratifié. Néanmoins les animaux traités par la dose 2 ont une hauteur plus importante que ceux traités par la dose 1, avec des stéréocils plus développés et plus de sécrétions.

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

Nos résultats corroborent avec ceux obtenu par Fellag et Fethoun (2018) qui ont constaté également l'augmentation des poids corporels, testiculaires et épидидymaires qui sont dose dépendante.

Selon l'études faite par Dyhia et Hani (2018) qui ont constaté l'apparition de spermatocyte I chez les lapins traités âgés de 1mois

Les travaux de soy *et al.* (2016) et Nantia *et al.* (2007) qui ont utilisé respectivement l'extrait éthanlique de feuilles de *Mentha Piperita* pendant 60 jours et l'extrait au methanol de *Bsella alba L.* pendant 30 jours chez le rat mâle, révèle que le poids corporel des animaux croit avec le temps.

L'évolution du poids et volume gonadique testiculaire et épидидymaire présente des variations non significatives en fonction de la dose d'huile essentielle *Mentha Piperta* administrée. Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par Morakinyo *et al.*, (2008), qui a démontré une augmentation significative du poids testiculaire après 28 jours de traitement par du *Zingiber* en fonction de la dose et de la durée par rapport au témoins.

L'augmentation du poids absolue du testicule et épидидyme pourrait être due à une biosynthèse accrue des androgènes (testostérone) chez des rats expérimentaux traités par du *Zingiber*. Il a été démontré que les androgènes sont nécessaire au développement, croissance et bon fonctionnement du testicule (Prins *et al.*, 1991 et Kamtchouing *et al.*, 2002)

Al-Saaidi *et al.* (2009) observent lors de leurs études sur l'effet des extraits alcoolique de

*Nigella Sativa* sur la fertilité du rat une augmentation significative du poids du testicule, du diamètre et de l'épaisseur des tubes séminifères contenant des spermatogonies et spermatocytes. Ainsi qu'une augmentation de la hauteur des cellules épithéliales entourant l'épididyme chez les groupes expérimentaux.

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

Contrairement à nos études Akdogan *et al.* (2004) rapportent lors de leur étude sur l'effet de la *Mentha Piperita* sur la reproduction du rat mâle que la *Mentha Piperita* augmente le diamètre tubulaire séminifère et que son seul effet sur le tissu testiculaire était l'arrêt de la maturation dans les tubes séminifères.



# **CONCLUSION**

Au terme de notre étude sur les effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée à deux doses différentes (200µl/kg et 400 µl/kg), il en ressort que le poids corporel, le poids testiculaire ainsi que celui de l'épididyme chez les lapins infantiles et pré pubère sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par la dose 2 (400 µl/kg) puis chez ceux traités par la dose 1 (200 µl/kg) par rapport au lot témoin.

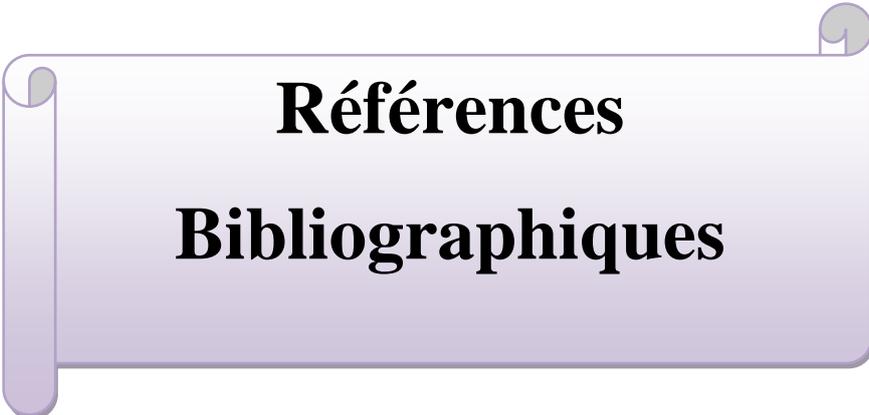
Sur le plan histologique, l'huile essentielle de la menthe poivrée a induit aux niveaux testiculaires l'apparition des spermatoocytes I dans les tubes séminifères pour les lapins infantiles, ainsi que l'apparition de premières spermatides allongées chez les lapins prèpubères par rapport aux structures testiculaires des lapins du lot témoin.

Au niveau épидидymaire, l'épithélium est devenu prismatique pseudo stratifié sous l'action de la Menthe poivrée alors qu'il est cubique chez les témoins, avec des stéréocils et des sécrétions épидидymaires plus développé et plus marqué

De ce fait il semblerait que l'huile essentielle de la menthe poivrée aux doses utilisées aurait un effet positif sur le développement des gonades, la spermatogenèse et la fertilité des lapins mâles infantiles et prépubère.

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

- Etudier les variations hormonales pour appuyer les résultats obtenus ;
- Etudier l'effet de l'huile essentielle sur l'axe hypothalamo –hypophysaire ;
- Etudier l'impacte de l'huile essentielle sur la qualité du sperme ;
- D'aprofondie cette étude en utilisant d'autres doses sur des lapins de différentes stades de développements (infantiles, prépubères, pubères et adultes) ;
- Voir effet de ces huiles essentielles après traitement plus long (après 1 mois, 2 mois, 3 mois,...) ;
- Voir les effets des autres huiles ;
- Etudier l'impact de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la fertilité féminine.



**Références  
Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

---

- Abadlia M. et Chebbour A. H. (2014). Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire Master : Métabolisme secondaire. Département de biologie et écologie végétale : Université Constantine 1, 90p
- Abe K., Takano H., et Ito T. (1983). Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. *Arch. Histol. Jpn.* 46:51-68.
- Abney, T.O. (1999). The potential roles of estrogens in regulating Leyding cell development and function: a review. *Steroids* 64(9): 610-7.
- Abou-Haila, A., et Fain-Maurel, M. A. (1984). Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: morphological and histochemical characterization. *Anat Rec* 209 : 197-208.
- Adamali H.I., Somani I.H., Huang J.Q., Gravel R.A., Trasler J.M., et Hermo L. (1999a). II. Characterization and development of the regional- and cellular-specific abnormalities in the epididymis of mice with beta-hexosaminidase A deficiency. *J. Androl.* 20: 803-824.
- AKdogan M., Ozguner M.,Kocak., Oncu M., et çice K E., (2004). Effects of peppermiut teas ou plasma testosterone,follicle\_stimulating hormone,and luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. Vol.P:394-398.
- AL-Saaidi JA., AL-Khuzai ALD.et AL-Zobaydi NFH., (2009). Effect of alcoholic extract of *Nigella Sativa* on fertility in male rats. *Supplement II*: 123-128.
- Alvarino J.M.R. (2000). Reproductive performance of male rabbits. In: Proc. 7th World Rabbit Congr., Valencia Jul., vol. A, 13-35.
- Alvarino M.R., (1993). Control de la reproduccion en el conejo. 1er éd., IRYDA, mundi-prensa : 137p.
- Amann R.P. (1993). Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, VOSS JL (eds), Equine Reproduction, 1ed., Lea et Febiger eds, Philadelphia: 1137-1154 5.
- Baccetti B., La Marca A., Piomboni P., Capitani S., Bruni E., Petraglia F et De Leo V. (2002). Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Hum. Repro.*17(10): 2673–2677

## Références Bibliographiques

---

- 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.
- Bailleul J.P., et Mauroy B. (1991). Anatomie des testicules et voies spermatiques et des bourses, éditions techniques EMC (Paris-France), *Néphrologie-Urologie*, 18600 A10, 14p.
- **Badran. H. H. et Hermo L. (2002).** Expression and regulation of aquaporins 1, 8 and 9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development. *Journal of andrology*, vol.23, pp: 358-373.
- **Barone R. (1978).** Anatomie comparée des Mammifères domestiques : Tome 3 : Splanchnologie 2: Appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale. Paris : Vigot.-896p.
- Barone R. (2001). Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot Frères: 241-516.
- Baronne R. (2000). Chapitre II: Appareil génital mâle. In: Anatomie compare des mammifères domestiques. Tome 4. Splanchnographie II. Vigot, 83-250.
- Baume F. (2009). Apoptose du spermatozoïde et fertilité masculine. Thèse Doctorat. Université d'Auvergne : 175p.
- Bedford, J.M., (1975) .Passage of spermatozoa through the epididymis. In:Handbook of Physiology. Hamilton, D.W., Greep, R.O. Edit. Sect.7 Vol.5 : 303-305.
- **Bedford JM. (1979).** Evolution of the sperme maturation and sperm storage functions of the epididymis. In:fawcett dw, Bedford JM(éd). The spermatozoa. Baltimore: Urban ET schwarzenberg, pp: 7-21.
- Belleannee, C., Thimon, V., et Sullivan, R. (2012). Region-specific gene expression in the epididymis. *Cell Tissue Res*, 349(3) : 717-731.
- Berger M., Jean-Faucher C.H., De-Turckheim M., Veysièrè 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.

## Références Bibliographiques

---

- Bonnes G., Desclaude J., Desclaude J., Drogoul C., Gadoud R., Jussiau R., Le Loc'h A., Montémas L. et Robin G. (2005). Reproduction des animaux d'élevage. 2<sup>ème</sup> Ed. Educagri : 407.
- Boulbina I. (2011). Caractéristique de la semence du lapin de population locale (*Oryctolagus cuniculus*). Thèse de magistère. Ecole nationale supérieure D'Alger.
- Boussit D. (1989). Reproduction et insémination artificielle en cuniculture chez le lapin. Edité par l'association française de cuniculture ; Diffusion Lavoisier TEC et DOC : 240p.
- Brambell F.W.R. (1944). The reproduction of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *proc. zool. Soc. lond.* 114, 1-114.
- Brennan J., Tilmann C., Capel B. (2003): Pdgfr-alpha mediates testis cord organization and fetal Leydig cell development in the XY gonad. *Genes Dev*, 17(6) :800-810.
- Breton S. et Da Silva N. (2012). Rôle de l'épididyme dans le contrôle de la fertilité mâle. *Med. Sci. Amer.* 1 : 1-20.
- Brown, D., & Breton, S. (2000). H (+)V-ATPase-dependent luminal acidification in the kidney collecting duct and the epididymis/vas deferens: vesicle recycling and transcytotic pathways. *J Exp Biol*, 203(Pt 1) : 137-145.
- Castellon E.A. et Huidobro C.C. (1999). Androgen regulation of glycosidase secretion in epithelial cell cultures from epididymis. *Hum. Reprod.* 14: 1522-1527.
- Cheverel Ml. et Cormier M. (1948). effets de la carence en vitamine A sur le système génitale male du lapin. *CR acad.sci* : 226-1854.
- Chou I.P., Chuanl Y I., Chen-Chao. (1974). Effect of heating on rabbit spermatogenesis Chinese medical journal-vol. 6: 365-375.
- Chughtai B, Sawas A, O'Malley RL, Naik RR, Ali Khan S, Pentyala S. (2005). A neglected gland: a review of cowper's gland. *Int J Androl*, 28(2) : 74-77.
- Cooke P.S. (1996). Thyroid hormone and the regulation of testicular development. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 333-341.
- Cooper, T. G. (1998). Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J Reprod Fertil Suppl* 53 : 119-136.

## Références Bibliographiques

---

- Cornwall G.A. (2009). New insights into epididymal biology and function. *Hum. Reprod.* Upd. 15: 213-227.
- Curtis S.K. et Amann R.P. (1981). Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* 53: 1645-1657.
- Dadoune J.P et Demoulin A. (2001). Structure et fonction du testicule in Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et chez l'homme. Edition INRA, Paris : 256-289.
- Don F., Cameron D.F., Murray F.T. et Drylie D. (1985). Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *The Anatom. Rec.* 213 (1): 53-62.
- Eurell J.N. et Frappier B.L. (2006). Dellmann's textbook of veterinary histology. Blackwell Pub, Ames, Iowa.
- Fan X. et Robaire B. (1998). Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinol.* 139: 2128-2136.
- Fellag M. et Fethoun M. (2018). Étude préliminaire sur les effets de l'huile essentielle de la menthe poivrée sur la structure des testicules et épидидymes des lapins mâle de la souche synthétique, au sevrage et pré pubère, université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou : 73.
- Filippi S., Luconi M., Granchi S., Vignozzi L., Bettuzzi S., Tozzi P., Ledda F., Forti G. et Maggi M. (2002). Estrogens, but not androgens, regulate expression and functional activity of oxytocin receptor in rabbit epididymis. *Endocrinol.* 143: 4271-4280.
- Finzi A., Morera P. et Macchioni P. (1994). Modification of some rabbit spermatoc parameters in relationship to high ambient rabbit spermatoc parameters in relationship to high ambient temperatures. *Cath. option Méditeur.* 8, 333-336.
- Flickinger, C. J., Howards, S. S., and English, H. F. (1978). Ultrastructural differences in efferent ducts and several regions of the epididymis of the hamster. *Am J Anat* 152 : 557-585.
- Frolich A. (1948). Some factors affecting semen production in rabbits. primo. congo intern. fisiopat. h.iprod. animal fecond. artif. , milano.

## Références Bibliographiques

---

- Fushimi H., Hiroaki H., Toru I., Masakuni K., Keisuke K., Shizumori I., Takashi T., Haruo N., Takeshi M., Yuko O. et Yoshihiro T. (1989). Low testosterone levels in diabetic men and animals: a possible role in testicular impotence. *Diabet. Rese. Clin.Pract.* 6: 297-230.
- Girouard J. (2009). Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes bovins. Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie faculté de médecine université laval QUÉBEC.
- Glover, T. D., and Nicander, L. (1971). Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis.
- **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.
- Hamilton D.W. (1975). Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferentes, ductus epididymis, and ductus deferens in the rat. In R. O. Greep et E.B. Astwood (éd.). *Handbook of Physiology, Section 7, Volume 5.* Washington, DC : Americain Physiology Society : 259-301.
- Hamilton D.W. (1990). Anatomy of mammalian male accessory reproductive organs. In Marshall's *Physiology of Reproduction, reproductive in the Male.* Ed. GE Lamming. Churchill Livingstone, *Edinburgh.* 2: 691-746.
- Hermo L. et Robaire B. (2002). Epididymal cell types and their functions. In: Robaire B., Hinton B.T. *The epididymis: From Molecules to Clinical Practice.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, *New York:* 81-102.
- Hermo L., Adamali H. I. et Andonian S. (2000). Immunolocalization of CA II and H<sup>+</sup> V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl* 21: 376-391.
- Hermo L., Oko R. et Robaire B. (1992). Epithelial cells of the epididymis show regional variations with respect to the secretion or endocytosis of immobilin as revealed by light and electron microscope immune cytochemistry. *The Anatomical record*, vol.232: 202-220.

## Références Bibliographiques

---

- Hermo L., Wright J., Oko R. et Morales C.R. (1991). Rôle of epithelial cells of the male excurrent duct system of the rat in the endocytosis or secretion of sulfated glycoprotein-2(clusterin). *Biology of reproduction*, vol.44: 1113-1131.
- Hermo, L., Dworkin, J., et Oko, R. (1988). Role of epithelial clear cells of the rat epididymis in the disposal of the contents of cytoplasmic droplets detached from spermatozoa. *Am J Anat*, 183(2) : 107-124.
- Hinton B.T. et Palladino M.A., (1995). Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc. Res. Tech.* 30 : 67–81.
- **Ho H. C. et Suarez S. S. (2001).** Hyperactivation of mammalian spermatozoa: function and régulation. *Reproduction* 722, pp: 519-526.
- 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.
- Holstein A.F., Schulze W. et Davidoff M. (2003). Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod Biol Endocrinol*, 1: p. 107.
- Holtz W. et Foote R.H. (1978). The Anatomy of the reproductive system in male Dutch Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with special emphasis on the accessory sex glands. *J. Morph.* 58: 1-20.
- Huhtaniemi I. et Toppari J. (1996). Régulation hormonale de la spermatogénèse in Drosowsky M.A., Belaisch J. et Vermeulen A. *Endocrinologie masculine*. Edition Doin, Paris : 63-74.
- Jardin A. et De Fourmestreaux N. (1984). In Mauvais-Jarvis P. *médecine de la reproduction masculine*. Ed. Flammarion Med. Sci. : 15-23.
- Johnston, D. S., Jelinsky, S. A., Bang, H. J., DiCandeloro, P., Wilson, E., Kopf, G. S., and Turner, T. T. (2005). The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. *Biol Reprod* 73: 404-413.
- Joly T. et Theau-clément M. (2000). Reproduction et physiologie de la reproduction. 7<sup>ème</sup> Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C. 5 Décembre 2000 - Valencia "Ombres et Lumières" : 19-24.

## Références Bibliographiques

---

- Joly T. et Theau-clément M. (2000). Reproduction et physiologie de la reproduction. 7ème Congrès mondial de cuniculture. A.S.F.C. - Valencia "Ombres et Lumières" : 19-24.
- Jones, R., Hamilton, D. W., and Fawcett, D. W. (1979). Morphology of the epithelium of the extratesticular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. *Am J Anat* 156 : 373-400.
- José M. Saez, Hervé Lejeune, Odile Avallet, René Habert, Philippe Durand (1995): Le contrôle des fonctions différenciées des cellules de Leydig. *medecine/sciences* ;li : 54 7-53.
- Julie P.M., Arunakaran J., Malini T. et Balasubramanian K. (2003). The role of luteinizing hormone and prolactin in the regulation of insulin receptors in Leydig cells of the adult rat. *Endoc. Res.* 29 (3): 327-341.
- Junqueira L.C. et Carneiro J. (2007). Basic histology. 11th ed. Copyright © The Mc Grow hill companies.
- Kammerer M., Leclerc S. et Poncet A. (2012). 100 intoxications chez les animaux de compagnie. *Maloine*, Paris : 185-186.
- Kamtchouing P, Fandio GYM, Dimo T, Jatsa HB. (2002). Evaluation of androgenic activity of *Zingiber officinale* and *pentadiplandra brazzeana* in male rats. *Asian J Androl.* 4:299-301.
- Kasa I.W. et Thwaites C.J. (1992). Semen quality in bucks exposed to 34°C for 8h on either 1 or 5 days. *J. App. Rabbit Res.* 15:500-568.
- Kirchhoff C. (1999). Gene expression in the epididymis. *Int Rev Cytol* 188: 133-202.
- Lakabi L. (2017). Etude du développement postnatal des structures testiculaire et épидидymaire du lapin mâle de la population blanche et qualité de la semence. université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou : 161.
- 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.
- Lebas F., Coudert P. et De Rochambeau H. (1990). le lapin: élevage et pathologie. Collection F.A.O : *producton et santé animal* : 1-210.

## Références Bibliographiques

---

- Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H. et Thébault R.G. (1996). Le lapin, élevage et pathologie (nouvelle édition révisée). FAO éditeur, Rome : 227.
- Lebas F., (2009). Biologie du lapin. Sous chapitre 7.2. Reproduction du mâle. <http://www.cuniculture.info/docs/indexbiol.htm>. (accès 03/2009).
- 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.
- 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. *Endocrinology* 125(4): 2134-40.
- Little T.V. et Holyoak Gr. (1992). Reproductive anatomy and physiology of the stallion. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 8 (1): 1-29.
- Macari M. et Machado C.R. (1978). Sexual maturity in rabbits defined by the physical and chemical characteristics of semen. *Labo. Anim.* 12: 37-39.
- Manna P.R., Chandrala S.P., King S.R., Jo Y., Counis R., Huhtaniemi I.T. et Stocco D.M. (2006) - Molecular Mechanisms of Insulin-like Growth Factor-I Mediated Regulation of the Steroidogenic Acute Regulatory Protein in Mouse Leydig Cells. *Mol. Endocrinol.* 20 (2): 362-378.
- Maran R.R., Arunakaran J. et Aruldas M.M. (2000). T3 directly stimulates basal and modulates LH induced testosterone and oestradiol production by rat Leydig cells in vitro. *End. Journal.* 47(4): 417-428.
- Marieb E.N. (1993). Anatomie et physiologie humaines. Traduit de l'anglais par J.P. Artiau, et al. Québec: Les éditions du nouveau pédagogique, 1014
- Marieb N.E. (2006). Anatomie et physiologie humaines. 6ème éd. nouveau pédagogique : 1096.
- Martinet L. (1973). Quelques aspects de la physiologie de la reproduction du lapin. Conférence, *Session ITAVI Toulouse, sept* : 1973.

## Références Bibliographiques

---

- 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.
- Matzuk, M. M., Kumar, T. R., and Bradley, A. (1995). Different phenotypes for mice deficient in either activins or activin receptor type II. *Nature* 374 : 356-360.
- Maxson, M. E., & Grinstein, S. (2014). The vacuolar-type H (+)-ATPase at a glance – more than a proton pump. *J Cell Sci*, 127(Pt 23) : 4987-4993.
- **Mitchell B. et Sharma R. (2005).** Embryologie. Editions elsevier. pp85.
- Morakinyo A O., Adeniyi OS. Et AriKawe AP., (2008). Effects of Zingiber Officinale on reproductive functions in the male rat. *Journal biomedical research*, Vol II: 329-334.
- **Aitken RJ., Nixon B., Lin M., Koppers A.J., Lee YH. et Baker MA. (2007)** Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation. *Asian J Androl* 9 pp: 554-564.
- Mruk D.D. et Cheng C.Y. (2004). Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocr Rev*, 25(5): 747-806.
- **Mukai C. et Okuno M. (2004).** Glycolysis plays a major rôle for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biol Reprod* 71, 540-547.
- Muller Y. et Clos J. (1997). La reproduction (Gonades, gamètes et fécondation). Edition Nathan, Paris: 9-31.
- Nantia EA., Moundipa P.F., Beboy NS., Mousees TK. et Carreau S., 2007. Etude de l'effet androgénique de l'extrait au méthanol de *Basella alba* L. (Basellaceae) sur la fonction de reproduction du rat mâle. *Journal of andrologie*, N02 :129-133.
- Nassem MZ., Patil SR. et Patil SB., (1998). Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albinos rats. *Journal of ethnopharmacology*. Vol 61: 9-16.
- Niemi M., et Kormanen M. (1965). Contractility of the Seminiferous Tubule of the Postnatal Rat Testis and Its Response to Oxytocin. *Ann Med Exp Biol Fenn* 43: 40-42.

## Références Bibliographiques

---

- 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., Kelch R.P., Musich S.S. et Halpern M.E. (1976).** Intratesticular site of aromatization in the human. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42:1081-1087.
- **Pollanen P. et Cooper T.G. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *J Reprod Immunol.* 26, 167-216
- Prins SG., Birch L. et Greene GL. (1991). Androgen receptor localization in different cell types of the adult rat prostate. *Endocrinology.* 129: 3187-3199.
- Ramos, A. S., Jr., and Dym, M. (1977). Fine structure of the monkey epididymis. *Am J Anat* 149 : 501-531.
- Robaire B. et L. Hermo. (1988). Efferent ducts, epididymis, and vas deferens : structure, functions, and their regulation. In E. Knobil et J. Neill (éd.). *The physiology of Reproduction.* New York : Raven Press Ltd : 999-1080.
- Robaire, B., and Viger, R. S. (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, The Van Doren Company, Charlottesville, Virginia, USA.
- Robaire B., Hinton B.T. et Orgebin-Crist M.C. (2006). The epididymis. In: Neill J.D. (ed.) *Physiol. of Reprod.* Third. Edition. New York: Elsevier: 1071-1148.
- Schinckel A., Johnson R.K., Pumfrey R.A. et Zimmerman D.R. (1983). Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive-performance. *J. Anim. Sci.* 56 (5):1065-1076.
- **Saez F., Ouvrier A. et Drevet J.R. (2011).** Epididymis cholesterol homeostasis and sperm fertilizing ability. *Asian J Androl* 13, 11-17.

## Références Bibliographiques

---

- 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.
- Setchell B.P. et D.E. Brooks. (1988). anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract . In E. Knobil et J. Neil (éd). The physiology of Reproduction. New York : Raven Press Ltd : 753-836.
- **Skinner J.D. (1967).** Puberty in the male rabbit (Brief communication). *J. Reprod. Fert.* **14**: 151-154.
- 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.
- Shum, W. W., Da Silva, N., McKee, M., Smith, P. J., Brown, D., et Breton, S. (2008). Transepithelial projections from basal cells are luminal sensors in pseudostratified epithelia. *Cell*, 135(6) : 1108-1117.
- Shum W.W., Ruan Y.C., Da Silva N., et al. (2011). Establishment of cell-cell cross talk in the epididymis: control of luminal acidification. *J. Androl.* 32: 576-586.
- Siffroi JP. (2001). L'appareil génital masculin [en ligne]. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno : 1-45.
- Soltner D. (1989).la reproduction des animaux d'élevage : 281.
- SOY A., SAHU R. et Rath S., 2016. A Histomorphological study of the effect of Mint on the testes of albios RATs.*Journal of dental and medical sciences*: 32-35.
- Suvanto O. et Korman 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.
- Takano H. (1980). Quanlitative and quantitative histology and histogenesis of the mouse epididymis, with special emphasis on the regional difference (auther's transl). *Kaibog. Zass.*55 : 573-587.
- Tegegne A., Entwistle K.W. et Mukasamugerwa E. (1991). A quantitative histological study of testicular and epididymal development in boran and boran-x Friesian bulls in Ethiopia. *Theriogenology*; 35 (5): 991-1000.

## Références Bibliographiques

---

- Thibault C. (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ellipses.
- Thibault C. et Levasseur M.C. (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme. Nouvelle édition, éd. Ellipses (Paris): 928.
- Vacheret N. (1999). Histologie fonctionnelle des organes [en ligne]. Faculté de Médecine. Laennec. -Université Claude Bernard - *Lyon 1 France* : 1-4.
- Vermeulen A. (1996). Physiology de l'axe hypothalmo-hypophyso-testiculaire chez l'homme in Drosowsky M.A., Belaisch J. et Vermeulen A. (1996). Endocrinologie masculine. Edition Doin, Paris: 47-61.
- Viguera-Villasenor R.M., Montelongo-Solís P., Chávez-Saldana M.D., Gutiérrez-Pérez O., Arteaga-Silva M. et Rojas-Castaneda J.C. (2013). Postnatal testicular development in the Chinchilla rabbit. *Acta Histochemica* : 9.
- Welsh MJ, Wiebe JP (1976). Sertoli cells from immature rats: in vitro stimulation of steroid metabolism by FSH. *Biochem Biophys Res Commun.* (69) : 93.
- Wrobel K.H. (1990). Male reproduction system. In: Textbook of Veterinary Histology, 2ème Ed: 226-243.
- Xu L., Yang G., Chen Z., Hung S., Chen J., Jin S. et Ye Y. (1992). Studies on integrative measures of raising the reproductive ability of the domestic rabbit during hot seasons. *J. Appl. Rabbit Res.* (15) 569-574.
- Yeung CH., Sonnenberg-Riethmacher E. et Cooper TG., (1998). Receptor tyrosine kinase crosknock out mice as a model for the study of epididymal regulation of sperm function. *JReprod Fertil Suppl* 53:137-147.
- Yu L.C., Chen Y.H. (1993). The developmental profile of lactoferrin in mouse epididymis. *J. Biochem.* 296: 107-11.



# **ANNEXES**

## Annexe 1 : Fiche technique d'histologie

### Fiche technique N° 1 :

**Bouin holland** : fixateur (GABE, 1968)

Broyer à froid dans un mortier :

Acétate de cuivre ..... 2,5 g

Eau distillée..... 100 ml

Agiter puis ajouter peu à peu :

Acide picrique..... 4 g

Le liquide se conserve indéfiniment.

Filtrer après complète dissolution et ajouter :

Formaldéhyde 36- 40% (en solution saturée)..... 10ml

Acide acétique cristallisable..... 1ml

### Fiche technique N° 2 :

**Eau gélatinée de Masson** (MARTOJA et MARTOJA, 1967).

Gélatine en poudre .....0,1 à 0,5g

Eau distillée..... 100 ml

Verser la poudre dans l'eau distillée et laisser gonfler pendant un moment puis tiédir sur une platine chauffante.

Conservation limitée.

### Fiche technique N° 3 :

**Trichrome de Masson** (MARTOJA et MARTOJA, 1967)

Mode opératoire :

Les coupes déparaffinées hydratées passent successivement dans :

L'hématoxyline de Groat.. ..... 3 minutes.

Lavage à l'eau courante ..... 5 minutes.

Mélange fuchsineponceau ..... 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% ..... Rinçage.

Orange G ..... 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% ..... Rinçage.

Vert lumière ..... 5 minutes.

Eau acétifiée à 1% ..... Rinçage.

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

**Résultats :**

Les noyaux sont colorés en brun noir.

Les cytoplasmes en rouge vif ou bleu.

**Hématoxyline de Groat (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :**

**Préparation à froid :**

Première solution : Acide sulfurique concentré.....0,8 ml  
 Alun de fer.....1g Eau  
 distillée.....50 ml

Deuxième solution :

Hématoxyline.....0,5g  
 Alcool à 95°.....50 ml

Après dissolution, mélanger les deux solutions, laisser reposer pendant une heure et filtrer.  
 Se conserve pendant trois mois environ.

**Mélange fuchsine acide ponceau (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :**

**Préparation à froid :**

Fuchsine acide.....0,1g  
 Ponceau.....0,2g Eau  
 distillée.....300 ml

Après dissolution ajouter :

Acide acétique.....0,6 m

Conservation illimitée

**Orange G (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :**

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

Conservation illimitée

**Vert lumière** (MARTOJA et MARTOJA, 1967) :

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

Conservation illimitée

## Résumé

L'objectif de cette étude est de déterminer les effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée sur le poids corporel et le poids des organes reproducteurs (testicules et épидидymes) du lapin (*Oryctolagus cuniculus* n=35), ainsi que sur la structure histologique des gonades. Notre étude est portée sur 35 lapins mâles infantiles et prépubères (1 et 3 mois) appartenant à la population blanche, qui sont répartis en 3 lots et dans chaque lot 5 à 7 lapins; le premier lot est destiné aux lapins témoins, le deuxième lot est destiné aux lapins qui recevront la première dose D1=200 µl/kg et le troisième lot est destiné à ceux qui recevront la deuxième dose D2=400µl/kg. Les animaux ont été pesés puis traités une seule fois par la Menthe poivrée par voie orale. Après une semaine de traitement, les lapins sont sacrifiés par saignement, les testicules et épидидymes sont prélevés, dégraissés et pesés, puis fixés au Bouin Hollande pour effectuer une étude histologique. Les résultats obtenus montrent que les paramètres macroscopiques (poids corporel et poids des testicules et épидидymes) sont plus élevés respectivement chez les lapins traités par l'huile essentielle à la dose 2 puis à la dose 1 par rapport aux témoins. Sur le plan histologique la menthe poivrée induit une variabilité microscopique importante chez les lapins traités par la dose 2 et la dose 1, tels que l'apparition dans les tubes séminifères des spermatozoaires 1 chez les lapins infantiles, et premières spermatides allongées chez les lapins prépubère par rapport aux témoins. Ainsi au niveau épидидymaire, la structure révèle l'apparition d'un épithélium prismatique pseudo stratifié et la présence des sécrétions dans la lumière de tube épидидymaires, chez les lapins prépubert par rapport aux témoins.

Mot clés : Lapin, gonades, Reproduction, Huile essentielle.

## Abstract

The objective of this study is to determine the effects of Peppermint essential oil on body weight and weight of reproductive organs (testes and epididymides) of the rabbit (*Oryctolagus cuniculus* n = 35), as well as on the structure histological gonads. Our study is carried out on 35 infant and prepubertal male rabbits (1 and 3 months) belonging to the white population, which are divided into 3 lots and in each batch 5 to 7 rabbits; the first batch is intended for control rabbits, the second batch is intended for rabbits who will receive the first dose D1 = 200 µl / kg and the third batch is intended for those who will receive the second dose D2 = 400µl / kg. The animals were weighed and then treated once with Oral Peppermint. After one week of treatment, the rabbits are sacrificed by bleeding, the testicles and epididymides are removed, defatted and weighed, then fix to Bouin Holland to perform a histological study. The results obtained show that macroscopic parameters (body weight and testes and epididymis weight) are higher respectively in rabbits treated with the essential oil at dose 2 and then at dose 1 compared with controls. Histologically, peppermint induces significant microscopic variability in dose-2 and dose-1 treated rabbits, such as spermatocyte-1 emergence in seminiferous tubules in infant rabbits and elongated first spermatids in prepubescent rabbits. compared to the witnesses. Thus at the epididymal level, the structure reveals the appearance of a pseudo-stratified prismatic epithelium and the presence of secretions in the epididymal tube lumen, in rabbits prepubert compared to controls.

Key words: Rabbit, gonads, Reproduction, essential oil