

REPUBLIQUE ALGERINNE DEMO



675THV-2

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

Université Saad DAHLEB, BLIDA

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires

Département des Sciences Vétérinaires

Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention de :

Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au
niveau de l'épididyme des agneau de la race D'Man**

Présenté par :

TOUNSI Loubna et AMRI El-Alia

Membre du jury:

Président : BERBER.A

Examinateur : ADEL.D

Promoteur : BOUKENAGUI N.

Promotion 2010/2011

REMERCIEMENT

Nous remercions d'abord et avant tous ALLAH, le tous puissant de nous donne la force, la santé et le courage à fin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nos remerciements NOS PARENTS qui nous donne de courage et pour ces encouragements pendant tous nos années d'étude.

Nous tenons à remercier notre promotrice BOUKENAOUI N. pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses orientations, ses encouragements, sa compétence et surtout sa patience, merci pour les conseils utiles.

Nos vifs remerciements et notre reconnaissance vont au président de jury

Dr BERBER

Et nous remercions également Dr. ADEL D. qui nous a donné l'honneur d'examiner notre mémoire.

Nous remercions tous les membres d'administration du département des sciences vétérinaires et tous nos enseignants de première année jusqu'à cinquième année.

Nos remerciements la directrice du laboratoire LRZA.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail MERCI.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

*A ma très **CHERE MERE** qui m'a porté dans son ventre et m'a donné tous les sentiments du monde et m'a orienté toujours vers le bon*

*A mon très **CHER PERE** qui m'a toujours encouragé et m'a donné les conseils pour être assez forte contre tous les obstacles de la vie*

*A la mémoire de ma chère sœur **KARIMA** qui a été une très belle sœur que **DIEU** lui accorde une place dans son vaste paradis.*

*A mon cher frères : **AHMED** qui a été avec moi durant tous les 5 ans de mes études.*

*A mes autres chers frères: **MOHAMED, YOUSSEF.***

*A ma chère sœur **DJAMILA** et son mari **ABDELKADER** et notre petit*

*ange adorable **IADE.***

*A mes chères sœurs **CHARIFA** et **CHAIMA.***

*A mon cher oncle **AZEDINE** et sa famille.*

*A mon frère **DJENADI MOHAMED.***

*A toute la famille **AMRI** et **GUETAA.***

*A mon binôme **LOUBNA** pour sa patience pendant les 5ans et sa jolie famille.*

*A mes chères amies : **OULIA, KOUKOU, MERYOUMA, ZINA, LOUBNA, NASSIMA** pour tous les beaux moments qu'on a passé ensemble et pour leur présence avec moi dans les bons et les mauvais moments.*

*Sans oublier **SAMIR** et **RABEH.***

A tous ceux qui m'aiment et toutes les personnes que j'aime.

AMRI El-Atia

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très **CHERS PARENTS** en signe de reconnaissance pour tous les sacrifices consentis à mon égard, pour leur soutien morale et leurs encouragements tout au long de mes études.*

*A notre fleures qui parfument notre maison, à mes très chères sœurs : **NAZIHA, IMANE, FATIMA ZOHRA, DHAOIA.***

*A la lumière de notre maison : **ABD EL-GHANI et MOHAMEDE** que **DIEU** vous garde.*

*A mes frères : **SAHAFE** qui a été avec moi durant tous les 5 ans de mes études.*

*A toute la famille **TOUNSI et MECHATE.***

*A mon très chère binôme **EL-ALIA** merci de m'avoir supporté toute cette durée avec patience et à toute sa famille.*

A mes très chères amies qui remontaient le morale :

***OULIA, KOUKOU, ZINA, MERYOUMA, ALIA, NASSOUMA** merci pour tous les bons moments qu'on a passé ensembles.*

*A mes confrères : **SAMIR et RABEH.***

A tous qui me connaissent et toutes les personnes que j'aime mais je n'ai pas nommés je m'excuse.

TOUNSI Loubna

SOMMAIRE

RESUMES

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Anatomie de l'épididyme 2

II. Histologie de l'épididyme 3

 II.1. Différents types cellulaires 3

 II.1.1. Cellules principales..... 3

 II.1.2. Cellules claires 4

 II.1.3. Cellules apicales 4

 II.1.4. Cellules basales 4

 II.1.5. Cellules en halos 5

 II.2. Communications cellulaires 6

 II.2.1. Jonctions cellulaires 6

 II.2.2.1. Zonula occludens 6

 II.2.2.2. Zonula adhérens 6

 II.2.2.3. Mocola occludens 7

 II.2.2. Molécules de signalisation 7

III. Fonctions de l'épididyme 8

IV. Régulations de la fonction de l'épididyme	10
IV.1. Régulation endocrine	11
IV.1.1. FSH.....	11
IV.1.2. LH	11
IV.1.3. Androgènes.....	12
IV.1.4. Œstrogènes	13
IV.1.5. Progestérone	14
IV.1.6. Prolactine.....	14
IV.1.7. Ocytocine	14
IV.1.8. Mélatonine.....	14
IV.1.9. Hormones thyroïdiennes	15
IV.1.10. Hormones corticosurréaliennes	15
IV.1.11. Vitamine D	15
IV.1.12. Activine et inhibine	16
IV.1.13. Hormones neuroendocriniens	16
▪ Sérotonine	16
▪ Angiotensine II	16
▪ Sécrétine	16
IV.2. Régulation paracrine et/ou autocrine	17
IV.2.1. Ligand de c-ros.....	17
IV.2.2. Monoxyde d'azote(NO)	17
IV.2.3. Espèces oxygénées réactives	17

IV.2.4. Endothéline-1	17
IV.2.5. Ions et l'eau	18
IV.3. Régulation lumicrine	18
IV.3.1. Androgènes	18
IV.3.2. Facteurs de croissances	18
IV.3.3. Spermatozoïdes	19

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODE

1. Matériel animal	20
- Description de la race D'Man	20
2. Protocole expérimental	20
- Immunohistochimie : Mise en évidence des récepteurs aux androgènes .	21

Résultats et discussion.....	28
-------------------------------------	-----------

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	32
---	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RESUMES

RESUME

Notre travail à pour objectif la détermination de la localisation des récepteurs aux androgènes au niveau de l'épididyme des agneaux de race D'Man âgés de 2 à 5 mois, élevés à la station El-Meniaa par la méthode d'immunohistochimie. Les résultats observés montrent la présence des récepteurs aux androgènes dans le noyau des cellules de toutes les régions de l'épididyme à savoir (la tête, le corps et la queue) et au niveau de toutes les cellules de l'épithélium épididymaire (cellule principale, apicale, claire et basale) avec une intensité de marquage variable d'une région à l'autre.

Mots clés : Immunohistochimie, récepteurs aux androgènes, épididyme, agneau D'Man.

ABSTRACT

Our work aims at determining the localization of androgen receptors in the epididymis of lambs Man From ages 2 to 5 months, raised to the station El-Meniaa by the method of immunohistochemistry. The observed results show the presence of androgen receptors in the nucleus of cells from all regions of the epididymis that is (head, body and tail) and in all cells of the epididymal epithelium (principal cell , apical, clear, and basal) with an intensity of labeling varies from one region to another.

Key words: Immunohistochemistry, androgen receptor, epididymis, lamb D'Man.

ملخص

عملنا قائم على إظهار مواقع مستقبلات الأندروجينات على مستوى بربخ أحمال من فصيلة البادمان تتراوح أعمارهم ما بين 2 إلى 5 أشهر و ذلك بتطبيق تقنية إيمينوهيستوشيمي و النتائج المحصلة أوضحت تواجد مستقبلات الأندروجينات على مستوى نواة خلايا كل أجزاء البربخ (الرأس،الوسط،المؤخرة) و كذلك على مستوى كل أنواع الخلايا وذلك بشدة تختلف من جزء إلى آخر.

الكلمات الرئيسية : إيمينوهيستوشيمي، مستقبلات الأندروجينات، البربخ ، حمل، البادمان.

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Liste des figures

N°	Figure	Page
1	: Anatomie des différentes subdivisions de L'épididyme	2
2	: Représentation schématique de l'organisation cellulaire De l'épithélium épидидymaire en coupe transversale et des voies de Régulation des fonctions épидидymaire	10
3	: Mécanisme d'action de l'hormone stéroïdienne	12
4	: Agneau de race D'Man	20
5	: Etape de prélèvement de l'épididyme	21
6	: Prélèvement dans une cassette portant les références de l'animal	22
7	: Cassette immergées dans le fixateur	22
8	: Immobilisation du prélèvement au font du moule métallique	23
9	: Coupe au microtome type Leica	23
10	: Coupe flottante dans le bain-Marie	24
11	: Chambre humide sur un agitateur va et vient	25
12	: Microscope photonique	26
13	: Histologie de l'épididyme	29
14	: Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau de l'épididyme	30

Liste des tableaux

N°	: Tableau	Page
I	: Caractéristiques structurales et fonctionnelles des différents types cellulaires constituant l'épithélium épидидymaire chez les mammifères	5

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviations

ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AMPc	: Adénosine Monophosphate Cyclique
ATP	: Adénosine Triphosphate
DAB	: Diaminobenzadine
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
LH	: Luteinizing Hormone
PBS	: Phosphate Buffered Saline
pH	: Potentiel Hydrogène
min	: Minute
m	: Mètre
h	: Heure
l	: Litre

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La connaissance des mécanismes d'actions des androgènes sur les organes génitaux que se soit pour leur stimulation ou pour leur inhibition à occupée une grande place dans la recherche de la fonction de reproduction a fin de déterminer les mécanismes qui influence la fertilité et l'infertilité chez le mâle.

Le but de notre travail est de mettre en évidence l'immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau de l'épididyme des agneaux de race D'Man.

Après un bref rappel anatomo-physiologique de l'épididyme, nous avons présenté le matériel animal utilisé ainsi que la méthode d'immunohistochimie appliquée dans ce travail préliminaire. Enfin les résultats sont discutés en fonction de quelque donnée de la bibliographie existante.

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Recherche sur la Zone Arides (LRZA), écophysiologie et endocrinologie animale (USTHB, Alger).

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Anatomie de l'épididyme

L'épididyme est un long canal unique en circonvolution, de longueur variable selon les espèces : 2 à 80 m chez les mammifères [1], il est situé sur la face postérieure de testicule. La durée de transit épididymaire des spermatozoïdes est de 12-15 jours chez le bélier [2]. Sur la base de sa morphologie et son histologie, cet organe hautement différencié est divisé, chez les mammifères, en trois régions anatomiques distinctes : la tête (région proximale), le corps (partie médiane) et la queue (région distale), en continuité avec le canal déférent [3, 4].

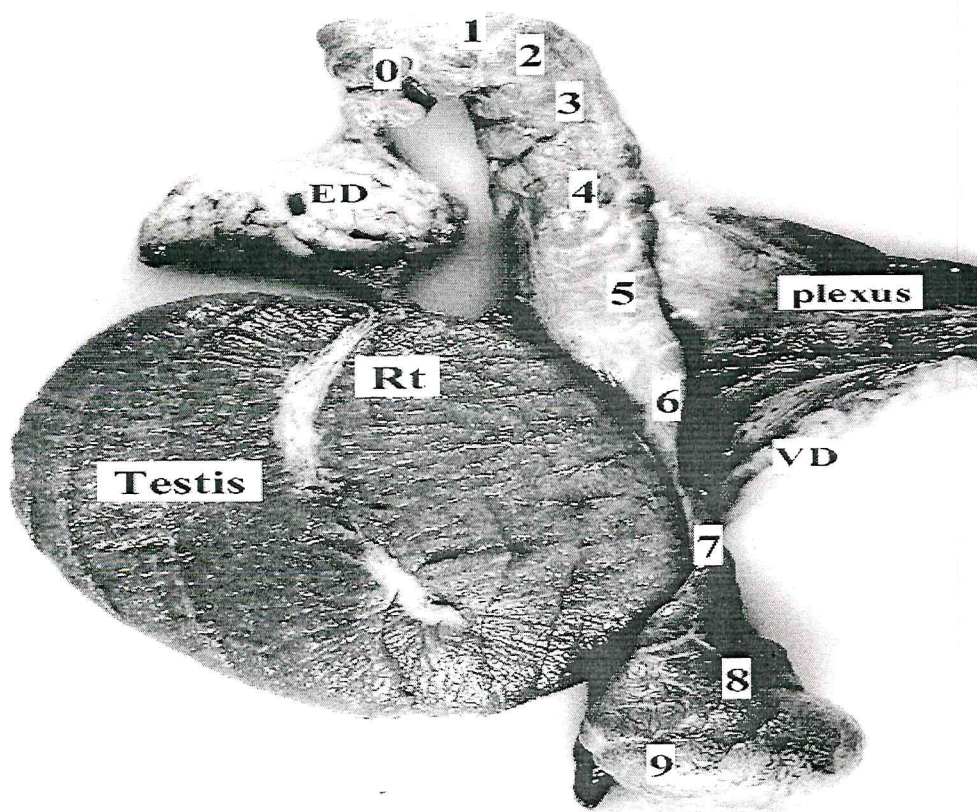


Figure 1 : Anatomie des différentes subdivisions de l'épididyme [5]

ED : canal efférent ; 0-1 : tête proximale; 2-3 : tête médiane ; 4 : tête distale; 5-7 : corps ; 8-9 : queue et canal déférent Rt : rete testis.

Les différentes régions de l'épididyme sont également subdivisées en plusieurs segments [6,7, 8] et dont chacun d'entre eux étant délimité par des cloisons conjonctives ou septa (Figure 1) [5]. Cette subdivision repose sur des analyses ultrastructurales ainsi que sur l'étude des activités enzymatiques et transrationnelles de l'organe.

II. Histologie de l'épididyme

L'épididyme est formé par un cylindre de muscle lisse qui allant d'une seule couche circulaire située à l'extrémité proximale à 3 couches disposées de la même façon que dans le canal déférent à l'extrémité distale. Ce cylindre est entouré par un épithélium pseudo-stratifié qui subit une transition graduelle passant de la forme cylindrique haute, pseudo-stratifié localisé au niveau de la région proximale, à la forme plus basse, pseudo-stratifié située au niveau de la région distale [9, 10].

L'épithélium de l'épididyme a une composition cellulaire hétérogène : cellules basales, apicales, claires, halos et cellules principales. Dans l'épididyme, ces cellules ne sont pas présentées de la même façon ni dans la même région, en effet, certains types cellulaires sont compartimentés dans des régions précises. Par exemple, les cellules ciliées se trouvent seulement dans le segment initial et dans la zone intermédiaire, qui sont des zones avant la tête de l'épididyme. Tandis que les cellules claires apparaissent dans toute la longueur sauf dans le segment initial. Les cellules basales et en halos se retrouvent pour leur part dans toutes les différentes parties de l'épididyme. Enfin, les cellules principales sont présentes dans tout l'épididyme. et sont responsables de la majorité des sécrétions protéiques retrouvées dans le milieu environnant les spermatozoïdes. Les composantes sécrétées dans ce liquide leur permettent d'acquérir leur pouvoir fécondant et leur motilité [11].

L'ultrastructure de l'épithélium du segment initiale de la tête montre des cellules principale qui se rendent jusqu'à la membrane basale et qui contiennent de nombreuses vésicules, des puits recouverts et parfois des endosomes. Celles-ci possèdent de nombreux appareils de Golgi et des réticulums endoplasmiques. Ces cellules ont aussi des excroissances et des *Small vesicular tubular aggregates*. Contrairement aux cellules apicales, les cellules principales ne s'étirent pas jusqu'à la membrane basale. Ces cellules possèdent aussi des puits recouverts dans la lumière du tubule. Enfin, les cellules basales se retrouvent près de la membrane basale et ne se rendent pas jusqu'à la lumière du tubule [9].

I.1. Différents types cellulaires

II.1.1. Cellules principales

Sont le plus nombreux car elles constituent 65 à 80% des cellules présentes dans l'épithélium de l'épididyme [11]. Elles peuvent être facilement reconnaissables par leur hauteur et la localisation de leur noyaux [12]. La hauteur de ces cellules et la longueur des microvillosités qui tapissent leur pôle apical sont plus élevées dans la tête que dans la queue de l'épididyme [13].

Histologie de l'épididyme

Ces cellules sont reliées entre elles par des jonctions serrées et des desmosomes [1]. Leur structure interne comme le réticulum endoplasmique et le système de Golgi sont très bien développés ; ce qui lui donne une forte activité sécrétoire de petites molécules organiques et de protéines [14]. Elles ont aussi une forte capacité d'absorption de fluide et des diverses particules [12, 15]. En effet, elles sont classées comme des cellules sécrétrices de constitution [16].

II.1.2. Cellules claires

Elles sont moins nombreuses que les cellules principales ; elles sont situées dans la tête, le corps et la queue de l'épididyme. Elles contiennent de nombreuses vésicules dans leur région apicale et des vésicules contenant des gouttelettes lipidiques et des lysosomes dans la partie médiane [1]. Elles ont une capacité d'endocytose plus grande que celle des cellules principales, elles ingèrent un grand nombre de protéines et participent à la capture de composantes provenant du fluide et des gouttelettes cytoplasmique détachées du flagelle des spermatozoïdes [12].

II.1.3. Cellules apicales

Sont situées dans le segment initial et la zone intermédiaire mais elles peuvent se trouver aussi dans d'autres région de l'épididyme [17], leur dénomination apical est par rapport à la localisation du noyau dans le tiers « apicale » de la cellule. Le cytoplasme de ces cellules est très riche en mitochondrie, contenant des lysosomes et de l'anhydrase carbonique impliquée dans la sécrétion des ions H^+ et la résorption de bicarbonate (HCO_3) permettant ainsi l'acidification de fluide épидидymaire [18]. Leur seule fonction connue réside dans leur capacité d'endocytose et la production des enzymes protéolytiques [17].

II.1.4. Cellules basales

Elles sont appelées cellules basale par rapport à leur proximité avec la membrane basale et qu'elles n'ont pas un accès direct avec la lumière de tubule [12], elles sont de petites tailles avec des projections vers les cellules basales adjacentes [19]. Leur noyau est irrégulier, leur cytoplasme pauvre en organites [20]. Elles possèdent des puits recouverts du coté qui reposent sur la membrane basale, ce qui laissent apparaître des récepteurs servent de médiateurs entre les facteurs provenant des cellules principales et ceux venant du sang [12]. Les cellules basales jouent un rôle dans l'élimination des radicaux libres ainsi que dans la protection immunitaire des spermatozoïdes en participant à ce qu'on appelle la barrière hémato-épididymaire [21].

Histologie de l'épididyme

II.1.5. Cellules en halos

Elles sont présentes tout au long de l'épididyme dans des zones variées de l'épithélium, mais sans l'occuper dans toute sa hauteur [12]. Elles renferment un grand nombre de mitochondries et de réticulums endoplasmiques avec des petites vésicules apicales [17]. Le nombre de ces cellules augmente avec l'âge ; elles sont identifiées comme des lymphocytes intra-épithéliaux ou des monocytes. Il s'agirait donc d'un système immunitaire primaire pour cet organe [22].

Tableau I : Caractéristiques structurales et fonctionnelles des différents types cellulaires de l'épithélium épидидymaire chez les mammifères

Types cellulaires	Aspects	Localisation	Fonctions	Références
Principale	Large cellules prismatiques. Aspect variable des stéréociles d'un segment à l'autre.	- Tête - Corps - Queue	*Transport et sécrétion des petites molécules organiques. *Synthèse et sécrétion de protéine. *Réabsorption de fluide épидидymaire.	[23, 24, 13]
Basale	Cellules petites, allongées. Forme triangulaire Reposent sur la membrane basale. Noyau irrégulier. Cytoplasme pauvre en organites.	- Tête - Corps - Queue	*Élimination des radicaux libres. *Protection immunitaire des spermatozoïdes.	[20, 25, 26]
En halo	Lymphocytes intra épithéliaux. Monocytes.	- Tête - Corps - Queue	*Défense immunitaire	[27, 26, 1]
Claire	Cellule large à aspect prismatique. <u>Zone apicale :</u> vésicule claire <u>Région médiane :</u> lysosomes. <u>Région basale :</u> inclusion lipidique.	- Corps - Queue essentiellement	*Absorption de composante du fluide épидидymaire. *Endocytose des gouttelettes cytoplasmiques éliminées par les spermatozoïdes.	[20, 28]
Apicale	Aspect caliciforme. Noyau situé dans le tiers apical. Lysosome.	- Tête (majoritairement segment initial)	*Sécrétion d'ion H ⁺ *Réabsorption de bicarbonate *Acidification du fluide épидидymaire	[20]

II.2. Communications cellulaires

La communication entre les cellules est un phénomène incontrôlable à la vie d'un organisme pluricellulaire puisqu'elle intervient dans de nombreux phénomènes physiologique, embryologique ou encore pathologiques. Les relations intercellulaires reposent sur deux processus clés :

- Des contacts directs entre cellule via des molécules d'adhérence et des systèmes de jonctions cellulaires.
- L'action de molécules de signalisation via une liaison à un récepteur spécifique d'origine membranaire, cytoplasmique ou encore nucléaire localisé au niveau de cellule cible.

II.2.1. Jonctions cellulaires

Au niveau de l'épithélium épидидymaire, on distingue 3 catégories de jonction cellulaire, se sont des petites structures localisées entre les cellules adjacentes d'un épithélium ou encore entre les cellules épithéliales et la matrice extra-cellulaire.

II.2.1.1. Zonula occludens

Elles sont appelées aussi jonctions serrées ou jonctions imperméables, elles sont situées dans la région apicale de la cellule principale adjacente [29], elles forment une barrière de perméabilité sélectif entre les cellules épithéliales adjacentes en assurant la cohésion cellulaire et la régulation de flux de molécules [30]. Elles relient entre les bicouches membranaires des cellules adjacentes en délimitant ainsi un domaine apicale et un domaine baso-latérale avec des propriétés biochimiques et fonctionnelles différentes.[31].

Les jonctions serrées ont une structure dynamique complexe à cause des nombreuses protéines qui entrent dans leur formation parmi lesquelles on distingue : protéines membranaires périphériques telle que les Zonula occludens-1, -2, et -3 (ZO-1, -2, -3), le sympléctine, la cinguline, et des éléments du cytosquelette (actine, fodrine) [32, 33, 34], ainsi que les protéines transmembranaires intégrales comme l'occludine et les claudines, sous forme de polymère [35,36, 37,32].

II.2.1.2. Zonula adhérens

L'établissement des jonctions serrées entre les cellules épithéliales adjacentes nécessite dans un premier temps l'adhérence des cellules l'une à l'autre, puis la formation de jonction

d'adhérence ou d'ancrage [34, 38,39], ces dernières, en collaboration étroite avec les jonctions serrées, ont le même rôle dans le maintien de l'intégrité de l'épithélium épидидymaire et dans la formation de la barrière hémato-épididymaire. Elles sont composées des cadhérines et des protéines cytoplasmiques telles que les caténines qui relient les cadhérines au cytosquelette [40]. Elles ont un rôle dans la signalisation intracellulaire et le positionnement et l'assemblage des jonctions serrées [41, 42].

II.2.1.3. Macula occludens

Elles sont appelées aussi jonction intercellulaires ou jonctions gap. Ce sont des structures très spécialisées correspondant à des canaux intercellulaires, groupés en plaques membranaires et mettent en relation directe les cytoplasmes des cellules voisines, ce qui permet de coordonner les fonctions de l'organisme [43].

II.2.2. Molécules de signalisation

Ces molécules impliquées dans le mécanisme de communication cellulaire. Il existe des molécules de signalisation extracellulaires qui agissent en se liant à un récepteur membranaire spécifique situé à la surface de cellule cible pour activer des cascades de signalisation intracellulaires et conduisent ainsi au déclenchement d'une réponse cellulaire, leur action diffère par rapport à leur proximité de cellule cible, on parlera donc de l'action endocrine, paracrine et autocrine ou lumicrine. Au niveau de l'épididyme, ces molécules ont une action sur la régulation des fonctions de cet organe comme la maturation des spermatozoïdes et les activités de réabsorption de l'épididyme.

III. Fonctions de l'épididyme

Les spermatozoïdes quittant les testicules sont non fécondant et immobiles, ils sont également inactifs du point de vue synthèse protéique car leur ADN est très fortement condensé depuis la dernière étape de la spermatogénèse. Cette condensation est due à la formation des ponts de sulfures au niveau des protamines. C'est au cours de leur transit au niveau de l'épididyme qu'ils acquièrent progressivement leur mobilité et leur pouvoir fécondant [44].

Lors de leur transit le long de l'épididyme, les spermatozoïdes ont une motilité réduite [45]; cette faible motilité est due à une faible concentration en AMPc à l'intérieur des spermatozoïdes [46], mais l'AMPc n'est pas le seul facteur qui peut régler cette motilité. Il existe des facteurs tels que l'immobiline, pH et le niveau de l'ATP qui sont responsables de l'immobilité des spermatozoïdes au niveau de l'épididyme chez la plupart des espèces. Les spermatozoïdes sont potentiellement mobiles mais en réalité immobiles dans la queue [47].

En effet, le transport des spermatozoïdes au niveau de l'épididyme est assuré par la pression intra-luminale qui décroît de la tête à la queue et par les mouvements des stériociles des cellules épithéliales et aussi par les contractions des cellules musculaires lisses de la tunique musculo-conjonctif qui délimitent l'épithélium épididymaire [47]. La motilité des spermatozoïdes et son acquisition est réalisée grâce aux protéines qui sont sécrétées par les cellules épithéliales de l'épididyme et aussi par les protéines qui se trouvent déjà dans le fluide quittant les testicules [48].

La maturation des spermatozoïdes s'effectue, en dehors des gonades, dans l'épididyme. Elle résulte de l'interaction des spermatozoïdes avec l'environnement de la lumière de l'épididyme [49], en raison de la spécificité tissulaire, territoriale et cellulaire d'expression des gènes codant pour les protéines ubiquitaires ou spécifiques de l'épididyme [50, 51, 52]. La composition du fluide épididymaire est propre à chaque région, à chaque segment qui constitue l'épididyme; en effet, les spermatozoïdes doivent être exposés à différents niveaux de l'épididyme pour acquérir leur maturation [53, 54]. Cette maturation est un ensemble de modifications morphologiques et biochimiques qui se traduit, essentiellement, par la modification des protéines membranaires du spermatozoïde suite à l'action des enzymes présentes dans le fluide épididymaire (glycosidases, glycosyltransférases, protéases) [55, 56, 57, 58] ou par la fixation des nouvelles protéines, comme l'immobiline par exemple [59, 60] certaines protéines et ions, inositol, L-comitine et acide sialique contenus dans le fluide épididymaire. Ces derniers participent aussi à la survie et au maintien de l'intégrité des spermatozoïdes [61].

Fonctions de l'épididyme

Les spermatozoïdes sont une cible de multiples agressions et les attaques du système immunitaire, c'est pour cette raison que l'épididyme intervient dans leurs protections par la barrière hémato-épididymaire [62] ou par des protéines secrétées par l'épithélium épididymaire. Ces protéines ont une action protectrice contre les dommages protéolytiques et oxydatives parmi lesquelles on a : La cystatin-Related Epidymal Spermatogénique qui inhibe l'activité sérine-protéase de la prohormone convertase 2 [63] ; ils protègent aussi les spermatozoïdes contre les dommages protéolytiques qui peuvent avoir lieu au cours de la libération prématurée des enzymes acrosomiales durant leurs transit au niveau de l'épididymaire [53, 1, 54].

La glutathion peroxydase 5 qui se trouve fixée au niveau de la membrane plasmique de la région acrosomiale est supposée protéger les spermatozoïdes contre les dommages oxydatifs comme elle peut aussi participer au processus de détoxification en éliminant la peroxydase d'hydrogène ou d'autres composés peroxydés.

IV. Régulation de la fonction de l'épididyme

Elle est sous l'action des différentes molécules biochimiques très variées et d'origines diverses. Ces molécules ont un effet sur la régulation de l'expression des gènes cibles situés au niveau de cellule de l'épithélium épididymaire et par conséquent elles ont un effet sur les fonctions physiologiques de cet organe. Par rapport à leur proximité aux cellules cibles, les facteurs régulant la fonction de l'épididyme peuvent être : endocrine venant du sang, lumicrine apporté par la lumière du canal épididymaire, et enfin, paracrine et/ou autocrine par les cellules adjacentes ou par la cellule elle-même [64].

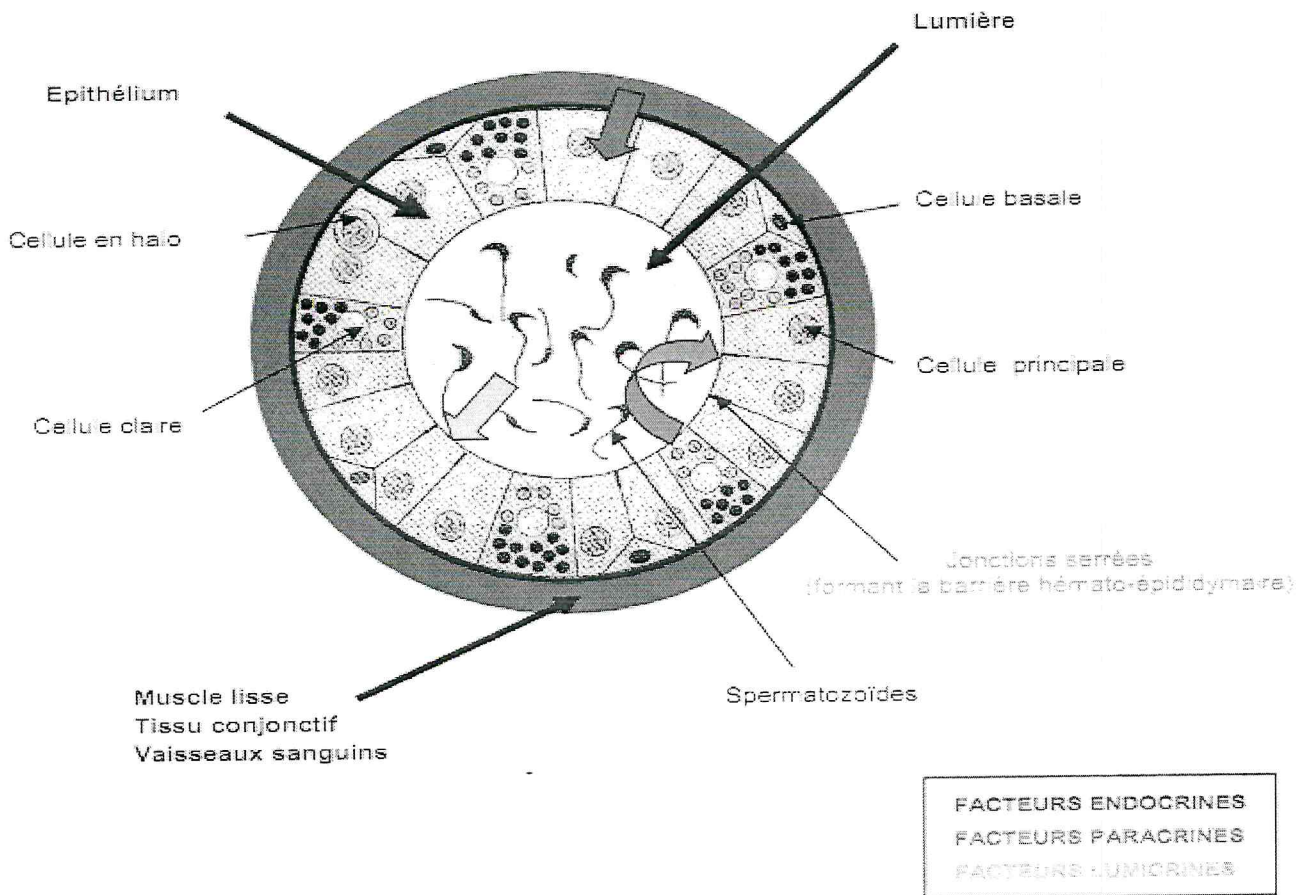


Figure 3 : Représentation schématique de l'organisation cellulaire de l'épithélium épididymaire en coupe transversale et des différentes voies de régulation des fonctions épididymaire [64]

Régulation de la fonction de l'épididyme

IV.1. Régulation endocrine

Elle est essentielle dans la régulation de l'épididyme, cependant, il existe d'autres éléments régulateurs qui ajoutent un degré de complexité à la compréhension de ces mécanismes.

IV.1.1. FSH

Est une hormone glycoprotéine hypophysaire. Elle joue un rôle important dans la fertilité chez le mâle en raison de la localisation de son récepteur à 7 domaines transmembranaires, situés très précisément à la surface de cellule de Sertoli [65].

Elle a un rôle dans la prolifération des cellules de Sertoli immature [66], et chez l'adulte, elle stimule leur fonction de synthèse et de sécrétion des protéines entrant dans la spermatogénèse [65].

Parmi les protéines sécrétées par les cellules de Sertoli sous l'action de FSH, l'ABP est une protéine qui permet le transport de la testostérone du testicule vers l'épididyme [67].

Toute diminution de taux sérique en FSH provoque une diminution de sécrétion d'ABP [67], alors elle induit une diminution du taux de testostérone au niveau épидидymaire [68], et comme la testostérone est essentielle au maintien de la structure et de la fonction de l'épididyme [69, 51,70], il en déduit une altération de la taille de l'épithélium épидидymaire de la tête et de corps [71].

La diminution de taux FSH provoque ainsi une modification structurale de la tête et du flagelle des spermatozoïdes, suite aux problèmes fonctionnelles rencontrés au niveau des cellules de Sertoli ou suite à une maturation épидидymaire incomplète [71]. En résumé, la FSH a un rôle très important dans les fonctions des cellules épithéliales épидидymaire et notamment dans la maturation des spermatozoïdes.

IV.1.2. LH

Est une hormone glycoprotéique qui agit au niveau des cellules de Leydig par stimulation de leur prolifération chez des animaux immatures et par la production de testostérone à l'âge adulte [72]. Elle joue un rôle important dans la spermatogénèse au niveau testiculaire, et dans la maturation des spermatozoïdes au niveau épидидymaire [73, 74, 75, 76], son action se fait par la

Régulation de la fonction de l'épididyme

liaison à un récepteur commun avec l'HCG (Hormone Chorionic Gonadotropine), qui se trouve à la surface des cellules de Leydig et au niveau des cellules épithéliales épididymaires [77, 76].

La régulation des fonctions épididymaire par la LH est indépendante de la plupart des androgènes [78, 79, 80], mais dépendante essentiellement de la testostérone [81].

IV.1.3. Androgènes

Sont des hormones stéroïdiens représentés principalement par la testostérone, leurs action est liée à la SBP (Sexe steroide Binding Proteine) qui arrivent par la voie sanguine [82] et à l'ABP (Androgen Binding Proteine) par la fluide testiculaire [83, 84]. Au niveau épididymaire et principalement au niveau de segment initial se fait la conversion de la testostérone en 5 α -dihydrotestostérone (DHT) par intermédiaire de la 5 α -réductase de type I et II [1, 85, 86]. La DHT agit au niveau des récepteurs aux androgènes, le complexe formé se fixe sur une région spécifique du récepteurs aux androgènes appelée élément de réponse aux androgènes (ARE) qui est située au niveau du promoteur du gène cible pour régler positivement leur expression ou les réprimer (Figure 4).

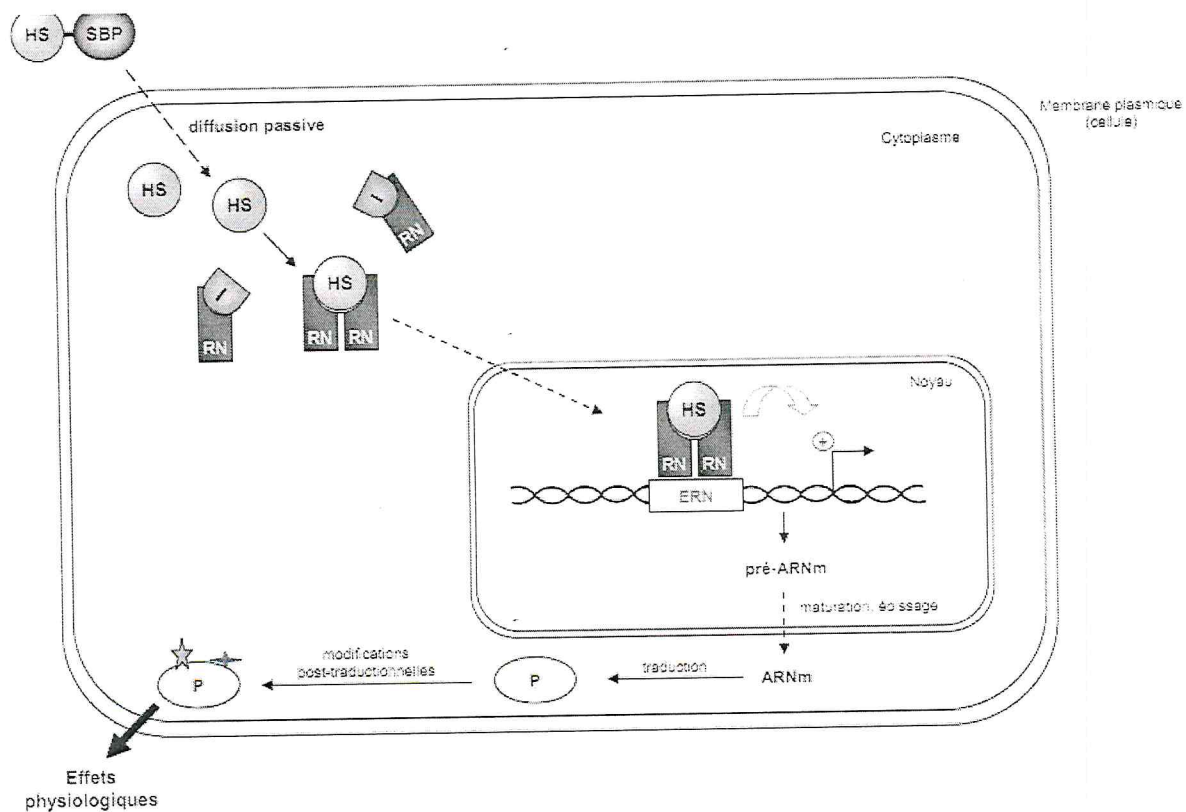


Figure 4 : Mécanisme d'action des hormones stéroïdes [87]

Régulation de la fonction de l'épididyme

HS : hormone stéroïde ; SBP : protéine de transport des hormones stéroïdes (sex stéroïde binding protéine) ; I : inhibine ; RN : récepteur nucléaire ; ERN : élément de réponse au récepteur nucléaire ; P : protéine.

Le récepteur aux androgènes (RA) est fortement exprimé au niveau des épithéliums de la tête et du corps épидидymaire, mais de façon différente, sur une même région les cellules apicales du segment initial de la tête qui s'expriment plus faiblement par rapport aux cellules principales et aux cellules claires. Ces RA sont faiblement présent au niveau des cellules de stroma de la queue de l'épididyme, mais le niveau de l'expression de RA au niveau de stroma reste le même sur l'ensemble de l'épididyme [87], cette expression est sous le contrôle des androgènes.

Au niveau de l'épididyme, l'expression d'RA est sensible aux taux des androgènes au niveau des cellules du stroma et dans les cellules épithéliales [88]. Les stéroïdes jouent un rôle important dans le maintien des fonctions de l'épididyme :

- Elles assurent la différenciation structurale des cellules épithéliales [7, 89].
- Elles stimulent l'expression des gènes spécifiques et par conséquent des protéines spécifiques, qui après leur sécrétion dans la lumière de canal épидидymaire, conditionnent le devenir des gamètes et leur maturation épидидymaire [86].

IV.1.4. Œstrogènes

La majorité de ces hormones sont synthétisés sous forme de 17β -œstradiol au début par les cellules de Sertoli à l'état immature puis par les cellules de Leydig à l'âge adulte [90]. Ces hormones sont le produit de catabolisme de la testostérone ou de l'androsténone par un complexe enzymatique microsomal appelé l'aromatase qui comprend d'une part, la NADPH cytochrome P450 réductase et la P450 aromatase, ce dernier est exprimé au niveau de la tête et de la queue de l'épididyme [91, 92] ; cette expression est sous le contrôle positif de la LH et des androgènes [93].

L'action des œstrogènes se fait par une liaison à un récepteur nucléaire spécifique (RE), qui se présente sous 2 isoformes ($RE\alpha$, $RE\beta$), ces derniers sont exprimés au niveau des cellules de l'épithélium épидидymaire de façon différente selon les espèces [94, 87].

Les estrogènes ont des fonctions multiples au niveau de l'épididyme : ils contrôlent le transport ionique au niveau de fluide épидидymaire et il maintient la structure de l'épithélium [95, 96]. En effet le manque des récepteurs $RE\alpha$ cause des défauts de réabsorption de fluide dans les canaux efférents et une dilatation des tubules de segment initial de l'épididyme [97]. Ces hormones

Régulation de la fonction de l'épididyme

interviennent aussi de manière indirecte dans la régulation de l'expression et de l'activité fonctionnelle des récepteurs à l'ocytocine [98].

IV.1.5. Progestérone

A une action non génomique, passe par une liaison à un récepteur spécifique exprimé à la surface des spermatozoïdes matures et capacités. La disponibilité du récepteur à la progestérone pour son ligand augmente durant le transit des spermatozoïdes le long de l'épididyme. Cependant, la progestérone ne semble pas avoir d'effet au niveau de l'épithélium épididymaire qui n'exprime pas son récepteur [99].

IV.1.6. Prolactine

Longtemps connue pour sa participation au développement de la glande mammaire et à la lactation, cette hormone joue un rôle important au niveau de tractus génital mâle. En effet, son lieu d'action au niveau de l'épididyme révèle la présence de site de liaison de très grande affinité localisé principalement au niveau des cellules principales [100]. Elle a un rôle dans le contrôle hormonale de l'épithélium épididymaire [101]. En effet, la prolactine augmente l'utilisation de la testostérone par les cellules de la tête épididymaire ; elle a encore une action stimulatrice sur l'activité de certaines glucosidase épididymaire (β -galactosidase et α -monosidase) et sur la production d'acide sialique [102, 103].

IV.1.7. Ocytocine

Outre son rôle dans la parturition et la lactation, elle intervient aussi dans les fonctions de reproduction chez le mâle en assurant la contraction des tubules épididymaires [104, 105, 106] ; elle est aussi synthétisée localement par l'épididyme et exerce un contrôle paracrine et/ou autocrine [107, 108, 109, 98]. Sa concentration au niveau de l'épididyme décroît de la tête jusqu'à la queue [107]. L'ocytocine augmente la fréquence de contraction des cellules des muscles lisses entourant la tête [110] et la queue de l'épididyme. [105], en assurant ainsi le transport des spermatozoïdes durant leur transit épididymaire et au moment de l'éjaculation [111, 112].

IV.1.8. Mélatonine

La mélatonine a une action sur l'innervation sympathique de l'épididyme pour sa contraction, elle agit sur des récepteurs spécifiques localisés au niveau des cellules épithéliales de l'épididyme [113] ; Par sa liaison à son récepteur spécifique, la mélatonine stimule la prolifération

Régulation de la fonction de l'épididyme

des cellules épithéliales épididymaires, cet effet est dépendant de la concentration et du temps d'exposition à l'hormone [114, 115].

IV.1.9. Hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes (tri-iodothyronine (T3), et la tétra-iodothyronine (T4) ou thyroxine) jouent un rôle important dans la fonction épididymaire. Les animaux présentant une hypothyroïdie souffrent d'une diminution du nombre et de motilité des spermatozoïdes ainsi que d'une atteinte sévère de la morphologie et de l'histologie de leur épididyme [116, 117]. De même l'hyperthyroïdie cause des modifications de la composition de liquide épididymaire et une diminution du nombre et de la motilité des gamètes [118]. Les hormones thyroïdiennes contrôlent également de façon directe et spécifique l'activité des enzymes épididymaires de type glycosidases [119].

IV.1.10. Hormones corticosurréaliennes

Au niveau des cellules claires de l'épithélium épididymaire les récepteurs des minéralocorticoïdes (surtout à 95% l'aldostérone), glucocorticoïdes (cortisol) et gonadocorticoïdes (déhydroépiandrostérone) sont exprimés [120, 121, 122]. L'ablation chirurgicale de la surrénal conduit irrémédiablement à une dégénérescence des cellules épithéliales de la tête et de la queue de l'épididyme, en raison d'une privation en testostérone [123].

IV.1.11. Vitamine D

Plus précisément la 1,25-dihydroxyvitamine D3 (calcitriol) intervient dans des nombreuses fonctions telles que le maintien de l'hémostase du calcium, la prolifération et la différenciation cellulaire et la fonction de la reproduction [124].

La vitamine D transportée par le sang se fixe à des protéines sériques appelées DBP (vitamine D binding protein) pour atteindre ses cellules cibles ; où elle traverse seule la membrane plasmique pour se fixer à son récepteur VDR [125, 126, 127], ces récepteurs sont exprimés dans de nombreux organes reproducteurs chez le mâle [128] ; au niveau épididymaire se trouve au niveau des cellules principales et apicales de la partie proximale de la tête. La présence de ces récepteurs explique le rôle de vitamine D dans la fonction épididymaire.

IV.1.12. Activine et inhibine

L'épididyme est le principal site de synthèse de l'activine et l'inhibine et leur expression ; ces hormones jouent un rôle important dans le processus de maturation des spermatozoïdes durant leur transit épидидymaire [129, 130].

IV.1.13. Hormones neuroendocriniennes

Plusieurs études ont montrés que la sécrétion du fluide luminal par les cellules épithéliales épидидymaire est sous le contrôle des hormones neuroendocriniennes : la sérotonine [131], la bradykinine [132], l'angiotensine [133, 134, 135], la vasopressine [136] ainsi que l'endothéline [137].

‡ Sérotonine

Encore appelé sous le nom de la 5-hydroxytryptamine (5-HT). Elle est très abondante dans l'épididyme [138]. C'est un médiateur important de l'activité de l'épithélium épидидymaire [139].

‡ Angiotensine II

L'épididyme possède tous les éléments nécessaires à la synthèse locale d'angiotensine II qui est localisé au niveau des cellules basales de l'épithélium épидидymaire [75]. L'angiotensine II agit via deux types de récepteurs (AT1 et AT2) qui sont localisé au niveau de la membrane basale des cellules principales [140, 141] pour réguler la sécrétion d'anions et de fluides au niveau de l'épithélium épидидymaire [141].

‡ Sécrétine

Localisée et exprimée dans la région apicale des cellules principales du segment initial et des autres parties de la tête épидидymaire. La sécrétine est impliquée dans la composition du fluide épидидymaire dans laquelle baignent les spermatozoïdes au cours de leur transit à travers l'épididyme. En effet, le maintien d'un pH faible au niveau de l'épididyme est essentiel à l'acquisition de leur motilité et à leur quiescence lors du stockage au niveau de la queue épидидymaire [142, 143].

IV.2. Régulation paracrine/autocrine

IV.2.1. Ligand de c-ros

C'est un récepteur tyrosine kinase membranaire dit orphelin. Pendant la vie fœtale, ce récepteur est exprimé au niveau du rein, de l'intestin et du canal du Wolff [144, 145]. Après la naissance cette expression diminue au niveau du rein et des intestins et atteint un taux élevé au niveau de la tête proximale épидидymaire durant le développement pré-pubertaire ; cet événement est corrélé avec la période de différenciation épithéliale du segment initial [146]. Une telle diminution en nombre de ces cellules provoque une absence de développement du segment initial épидидymaire et des spermatozoïdes au flagelle anguleux ; une telle anomalie empêche leur progression dans les voies génitales femelles [147].

IV.2.2. Monoxyde d'azote

C'est un radical libre, composé instable et très réactif, qui agit comme un messager intracellulaire, il est synthétisé à partir de L-arginine par une enzyme NADPH-dépendante, appelée nitric oxide synthétase (NOS) qui catalyse sa conversion en L-citrulline et la monoxyde d'azote [148], il intervient comme médiateur dans la protection de la L-arginine [149, 150, 151].

IV.2.3. Espèces oxygénées réactives

Elles sont nombreuses telle que : le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde ou encore le radical hydroxyl (OH). Elles ont un effet sur les acides gras polyinsaturés de la membrane plasmique des gamètes mâles.

Ces dérivés du métabolisme de l'oxygène sont nécessaires à différentes fonctions spermatiques à savoir l'activation de la motilité, la capacité et la réaction acrosomique [152]. L'augmentation de la quantité de a des effets néfastes comme la peroxydation lipidique de la membrane plasmique des gamètes mâles et des problèmes lors de la capacitation. En effet, un contrôle strict de la quantité de dérivés oxygénés réactifs au niveau de l'épididyme est donc nécessaire [153].

IV.2.4. Endothéline-1

C'est un vasoconstricteur puissant, qui agit sur deux types récepteurs (ET-A et ET-B) [154], les récepteurs fonctionnels ET-A et ET-B sont tous les deux exprimés au niveau des cellules musculaires lisses peritubulaires. L'endothéline-1 a un rôle dans la contraction des cellules

Régulation de la fonction de l'épididyme

musculaires lisses de l'épididyme et par conséquent elle facilite la progression des spermatozoïdes lors de leur transit épидидymaire [155]. Les récepteurs ET-A et ET-B se trouvent aussi au niveau des vaisseaux sanguins, il semble que l'ET-1 contrôlerait dans ce cas précis, le flux sanguin au niveau de l'épididyme par une action paracrine [156, 157].

IV.2.5. Ions et l'eau

Les ions contrôlent la sécrétion du fluide épидидymaire par l'intermédiaire des canaux ioniques qui sont exprimés à la surface des cellules épithéliales épидидymaires [158, 159, 160]. Ces canaux sont important pour la physiologie épидидymaire, notamment dans la fonction sécrétrice de cet organe responsable de la sécrétion du fluide épидидymaire, et donc de manière indirecte, dans la maturation des gamètes.

L'eau participe à la création d'un environnement essentiel au maintien de la spermatogénèse ainsi qu'au transport des gamètes mâles hors du testicule, notamment lors de leur transit épидидymaire [161].

IV.3. Régulation lumicrine

Ils sont les facteurs qui sont produits par les cellules du testicule puis transportés via le fluide luminale jusqu'à l'épididyme pour contrôler l'expression génique [162, 163].

IV.3.1. Androgènes

Ils sont acheminés par le fluide testiculaire et complexés à l'ABP (Androgen Binding Pprotein) [83, 84] pour contrôler les fonctions physiologiques de l'épididyme.

IV.3.2. Facteurs de croissance

Ils ont un rôle important dans le maintien de l'épithélium épидидymaire [164] et sont impliqué dans la division et la différenciation cellulaire. Les principaux facteurs de croissance ayant une action au niveau de l'épididyme sont au nombre de neuf et dans les plus importants sont:

- ⊕ EGF (Epidermal Growth Factor) : stimule la prolifération cellulaire de l'épithélium épидидymaire [165, 166].
- ⊕ FGFs (Fibroblast Growth Factors) : impliqué dans de nombre processus physiologique comme la croissance, la motilité, la différenciation et l'apoptose [167, 168, 169, 170].
- ⊕ TGF β (Transforming Growth Factor β) : impliqué dans la croissance, la différenciation cellulaire, la cicatrisation et l'apoptose [171].

Régulation de la fonction de l'épididyme

- ± HGF (Hepatocyte Growth Factor) : élément important pour l'acquisition de la motilité des spermatozoïdes lors de transit épидидymaire [172].
- ± VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) : se trouve dans les cellules de Sertoli et Leydig, leur expression se fait au niveau de segment proximal de l'épididyme. Il a une action mitotique sur les capillaires sanguins épидидymaires [173, 174, 175].

IV.3.3. Spermatozoïdes

Durant la maturité sexuelle, les spermatozoïdes pénètrent dans l'épididyme qui peuvent réguler l'expression des gènes épидидymaire et donc, interviennent dans les différentes fonctions de cet organe [163].

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1- Matériel animal

- Description de la race D'Man

C'est une race qui a pris de l'importance ces dernières années en raison de sa précocité sexuelle, sa prolificité élevée donnant naissance à plusieurs agneaux par agnellage. La brebis peut avoir jusqu'à cinq agneaux en une seule portée. Cette race très rustique, adaptée aux conditions sahariennes et répondue dans le Sahara du Sud Oust Algérien. On la trouve à Béchar, Saoura, Gourara, Touat et El-Meniaa [176].

Elle est caractérisée par :

- ‡ **Une laine** : grossière couvrant le haut du corps et la queue, et ne couvrant ni la poitrine, ni le ventre, ni les pattes.
- ‡ **Une couleur** : Noire ou brun foncé
- ‡ **Des cornes** : Petites, fines, ou n'existe pas
- ‡ **Des oreilles** : Grandes et pendantes
- ‡ **Un profil** : Convexe
- ‡ **Une queue** : fine, longue à extrémité blanche
- ‡ **Une Taille** : Petite, conformation défectueuse (Figure 4) [176].

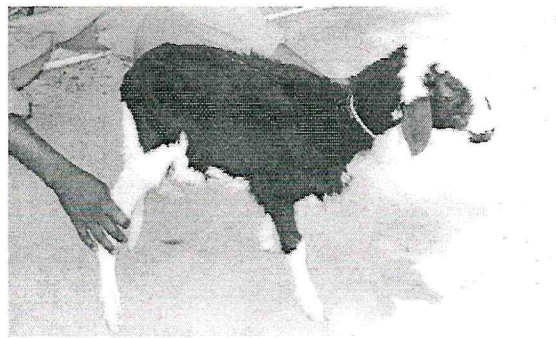
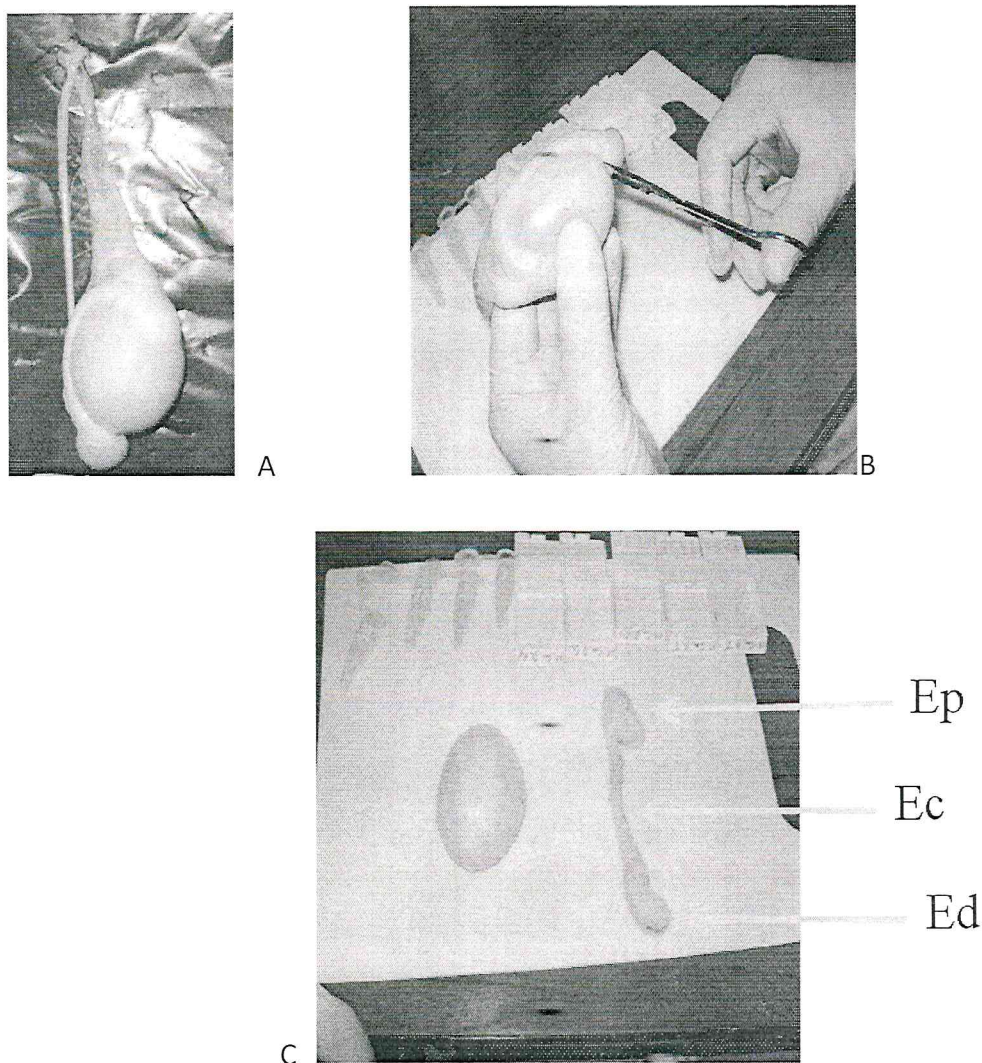


Figure 4 : Agneau de race D'Man (photo personnelle)

2-Protocole expérimentale

Notre travail a porté sur des agneaux de race D'Man élevés à la station expérimentale d'El Meniaa (30°34' N, 02° 52' E), âgés de 2 à 5 mois, 3 agneaux ont été utilisés pour chaque âge.

Les testicules ont été prélevés après l'abattage des agneaux (Figure 6). L'épididyme est prélevé comme le figure 5 pour être utilisé dans notre étude immunohistochimique pour la localisation des récepteurs aux androgènes au cours de la croissance.



A : Testicule avec l'épididyme entier ; B : Méthode de séparation du testicule de l'épididyme ;
C : Différentes parties de l'épididyme (Ep : épididyme proximal; Ec corps de l'épididyme ; Ed :
épididyme distal)

Figure 5 : Etapes du prélèvement de l'épididyme

- Immunohistochimie : mise en évidence des récepteurs aux androgènes

Le protocole d'immunohistochimie comprend deux étapes :

⊕ Première étape : Préparation des prélèvements par la technique d'histologie

- On place les tissus prélevés dans des cassettes en plastique portant les références de l'animale (Figure 6).

- Les cassettes sont immergées dans le **fixateur** (Formol du commerce dilué à 10%) pendant plus de 24h (Figure 7).

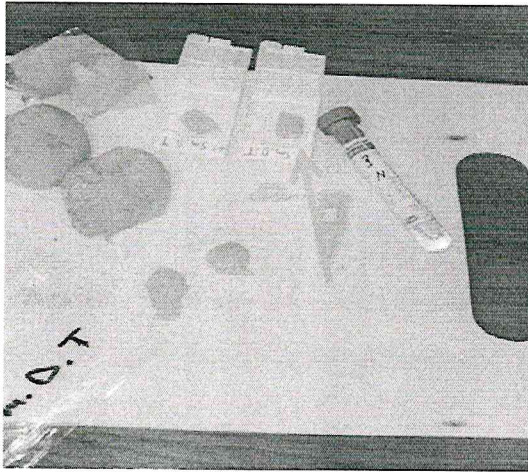


Figure 6 : Prélèvement dans une cassette portant les références de l'animal

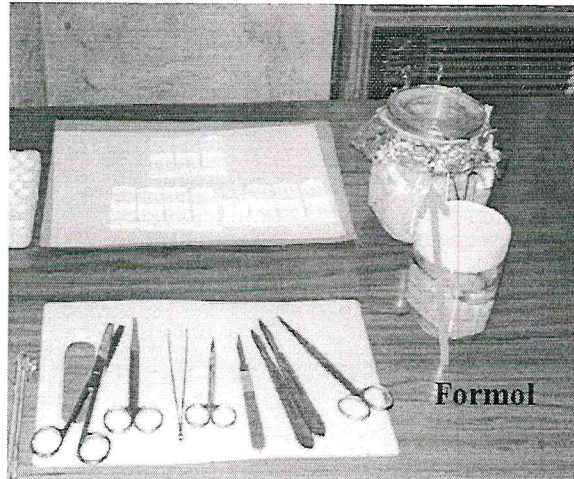


Figure 7 : Cassettes immergées dans le fixateur

- Ensuite, les prélèvement fixés sont **déshydratés** comme suit :

Alcool 70° : 30 min

Alcool 96° : 45 min

Alcool 96° : 1h

Alcool 100° : 1h

Alcool 100° : 1h 30 min

Toluène : 30 min

Toluène : 45 min

- Les prélèvements déshydratés sont **imprégnés** dans les différents bains de paraffine :

Paraffine : 15 min.

Paraffine : 30min.

Paraffine : 1h

Paraffine : 1h 30 min.

- Par la suite, les prélèvements épидидymaires sont **inclus en paraffine** pour **confectionner des blocs** de paraffine, dont les différentes étapes sont les suivantes :
 - Mettre le prélèvement au fond du moule métallique (choisir le moule selon la taille du prélèvement).
 - Couler la paraffine liquide à chaud (59°C).
 - Immobiliser le prélèvement au milieu du moule (figure 8).
 - Laisser refroidir jusqu'à durcissement et obtention d'un bloc de paraffine.



Figure 8 : Immobilisation du prélèvement au fond du moule métallique (Photo personnel)

Après la confection des blocs, les prélèvements sont **coupés** au microtome avec une épaisseur de coupe de 5 μm (Figure 9).

- Le ruban obtenu est déposé sur un plateau ; puis à l'aide d'un scalpel, on sélectionne les meilleures coupes.

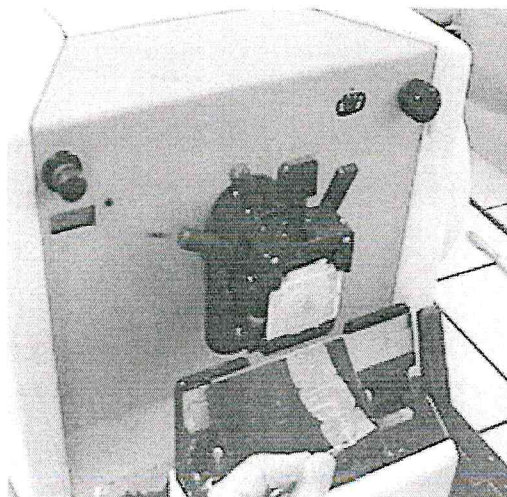


Figure 9 : Coupe au microtome de Type Leica

Afin de ne pas laisser de plis, les coupes sélectionnées sont déposées dans un bain-marie (42°C) (Figure 10).

- Ensuite, les coupes sont récupérées sur une lame silanée de type « Superfrost plus »
- Enfin, les lames sont séchées à l'étuve (50°C) pendant 1 h.



Figure 10 : Coupe flottante dans le bain-marie

Remarque : On utilise des lames spéciales pour l'immunohistochimie. Ces lames permettent une adhésion sur le verre, grâce à laquelle les coupes de tissus sont d'abord attirées, puis fermement attachées à la surface de la lame par des liaisons chimiques.

± **Deuxième étape :** Avant de commencer l'immunoréaction indirecte, on a fait :

- Un déparaffinage et une hydratation des prélèvements comme suit :
 - Cyclohexane I : 10 min.
 - Cyclohexane II : 10 min.
 - Ethanol à 95° : 5 min.
 - Ethanol à 70° : 1 min.
 - Eau courante : passage jusqu'à disparition du trouble.
- Les différentes étapes de l'immunomarquage indirecte sont les suivantes :
 - Les coupes déparaffinées et hydratées sont rincées au PBS
 - L'excès de PBS est enlevé par égouttage des lames sur du papier absorbant
 - Les étapes du démasquage des sites antigéniques sont les suivantes :

- Agiter la solution de démasquage (tampon citrate, pH= 6) et prélever 15 ml et les diluer dans 1,6 l d'eau distillée.

Matériel et Méthode

- Mettre le mélange dans la cocotte-minute et mettre à bouillir sur plaque chauffante.
- Mettre les lames dans un portoir métallique. Immerger les lames dans la solution de démasquage bouillante et fermer la cocotte-minute.
- Une fois la cocotte-minute sous pression, laissé les lames 1 min. (ne surtout pas ouvrir la cocotte-minute tout de suite) puis passer la cocotte-minute sous l'eau froide jusqu'à ce que la pression descende.
- Ouvrir la cocotte-minute et laisser refroidir pendant 30 min.
- Récupérer le portoir avec une pince en bois.
- Rincer les lames au PBS pendant 5 min.
 - Après le démasquage, incuber les lames dans le mélange PBS+H₂O₂ à 3 % pendant 5 min.
 - Rincer au PBS
 - Entourer les coupes avec une résine hydrophobe (Dako-pen) et les met dans une chambre humide sur un agitateur va et vient (Figure 11).

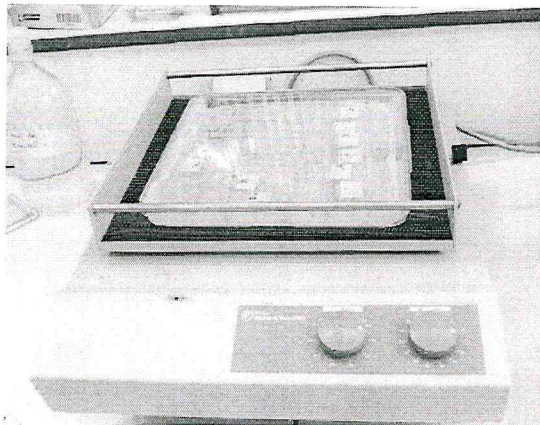


Figure 11 : Chambre humide sur un agitateur va et vient

- Incuber les lames dans du sérum de cheval (Réactif jaune du kit VECTASTAIN) à température ambiante, pendant 10min.
- Les biotines endogènes sont bloquées par le kit de blocage (Avidin/Biotin Blocking KIT) : incuber les coupes avec la solution Avidin D pendant 15min. Rincer brièvement avec le PBS ; incuber pendant 15min. avec une solution Biotine.
- Rincer au PBS.

- L'anticorps primaire anti-récepteurs aux androgènes de type polyclonale, produit chez le lapin, est dilué au 1/200 (ARN-20 : Santa Cruz) ; puis appliqué pendant une nuit à 4°C.
- Rincer au PBS : 2x5 min.
- Appliquer le complexe Streptavidine-Peroxydase pendant 30 min. à température ambiante (Réactifs gris du kit VECTASTATIN) .
- Rincer au PBS : 2x5 min.
- Le substrat-chromogène utilisé est la DAB. Il est déposé sur les différentes coupes et l'apparition du marquage est contrôlée sous le microscope photonique.
- Rincer à l'eau distillée.
- Contre colorer à l'hématoxyline pendant 10 secondes.
- Rincer à l'eau du robinet (c'est le pH alcalin de l'eau du robinet qui fait bleuir hématoxyline).
- Déshydrater les lames comme suite :
 - Ethanol à 70° : 2 min
 - Ethanol à 95° : 5 min
 - Ethanol à 100° : 5 à 10 min
 - Butanol : 5 min
 - Cyclohexane : 10 min
- Déposer une goutte de liquide de montage « Eukitt » sur la lamelle. Puis, appliquer la lamelle sur la lame en évitant la formation des bulles d'air. Enfin, la lame montée est prête à être observée.
- Les lames montées sont séchées à l'air libre, puis observer au microscope photonique (Figure 12).

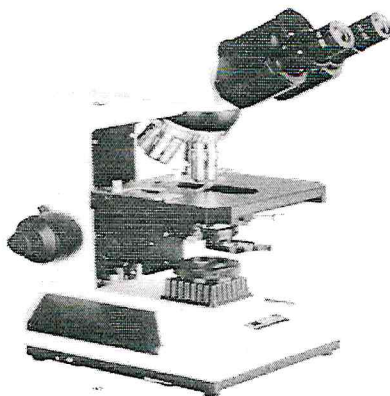


Figure 12 : Microscope photonique

Validité de la technique d'immunohistochimie

Au cours de notre technique, des contrôles négatifs sont insérés pour confirmer l'immunomarquage observés. Les coupes qui servent de contrôles négatifs ont subi les mêmes étapes que notre prélèvement sauf que l'anticorps primaire anti-récepteurs aux androgènes est remplacé par le PBS

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

1- Structure histologique de l'épididyme

L'observation histologique (Figure 13) montre que l'épithélium épидидymaire est un épithélium pseudo-stratifié composé par des différentes cellules qui sont disposées de façons irrégulières dans les différents segments de l'épididyme à savoir :

Cellules principales sont présentes dans toutes les régions de l'épididyme. Elles occupent toute la hauteur de l'épithélium, le même résultat a été rapporté par Tasler et *al.* [11].

Cellules claires moins nombreuses, situées dans les différentes régions de l'épididyme. Elles contiennent des nombreux vésicules. Robaire et Hermol [1] ont décrit la même observation.

Cellules apicales : Elles ont un noyau en position apicale. Ces cellules sont situées dans les différents segments de l'épididyme. Ce résultat est identique à celle trouvé par Hermo et *al.* [17].

Cellules basales reposent sur la membrane basale. Elles sont de petite taille avec un noyau irrégulier. Le même résultat a été observé par Soranzo et *al.* [20].

Cellules en halo : Présentes le long de l'épididyme sans l'occuper dans toute sa hauteur. Le même résultat a été rapporté par Hermo et *al.* [17].

RESULTATS ET DISCUSSION

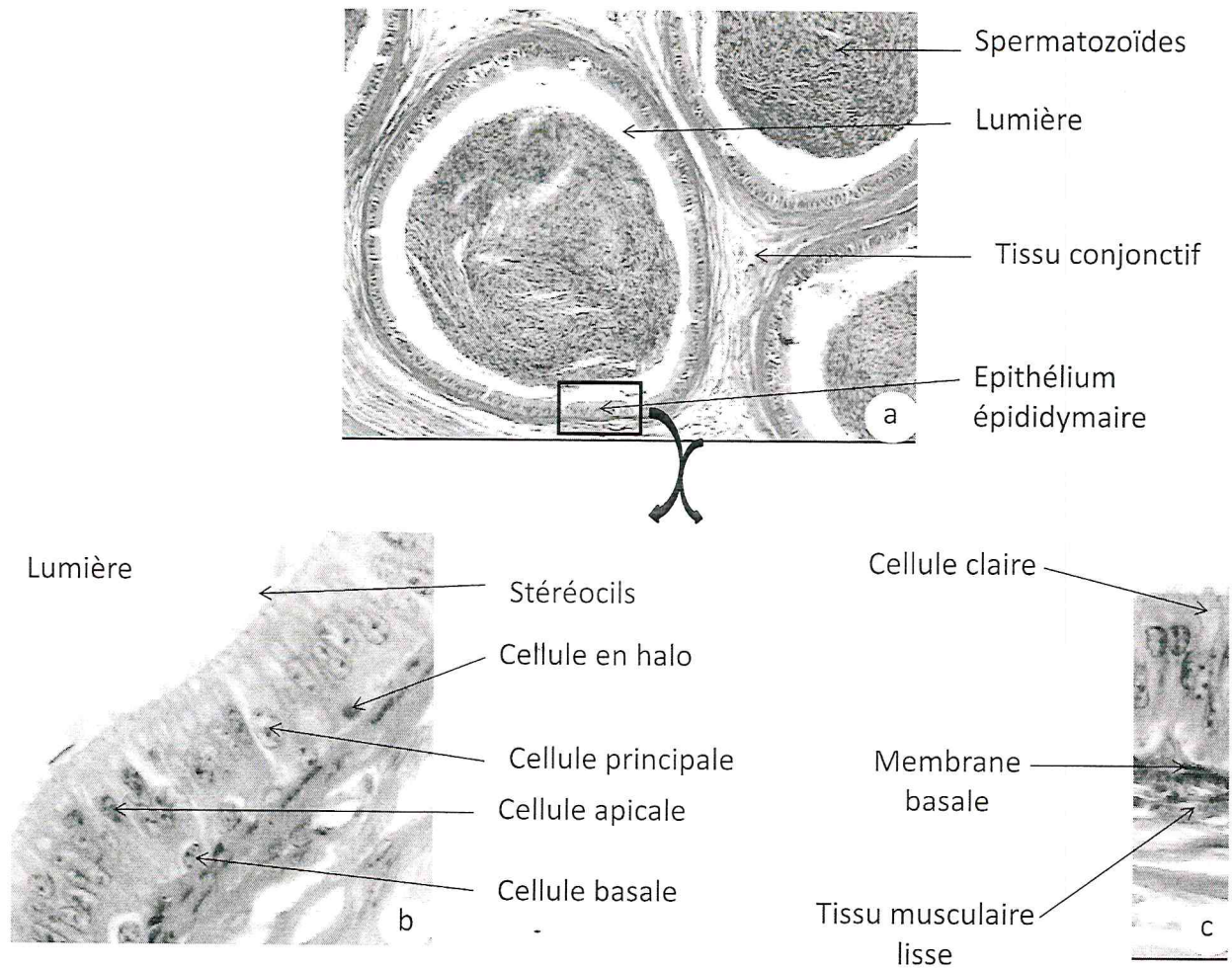


Figure 13 : Histologie de l'épididyme. Coloration HES : a) x50, b) et c) x400

2- Analyse de l'immunomarquage des récepteurs aux androgènes au niveau de l'épididyme

L'immunohistochimie des prélèvements des différentes régions de l'épididyme (tête, corps, queue) d'agneaux de race D'Man âgés de 2 à 5 mois (Figure 14) montrent les résultats suivants :

- Une réaction positive d'immunomarquage au niveau des différentes régions de l'épididyme avec intensité variable d'une région à l'autre. Ce résultat est identique à ce rapporté chez le caprin par Hari *et al.* [177].

En effet, un résultat similaire a été rapporté chez le bélier [178] mais avec intensité plus forte au niveau du corps de l'épididyme ; Joyce *et al.* [179] n'ont pas trouvés d'immunomarquage au niveau de la queue de l'épididyme du cheval mais juste dans la tête et le corps ; par contre Zhou *et al.* [94] au cours de leur travail sur le rat ont observés l'immunomarquage juste au niveau de la tête de l'épididyme.

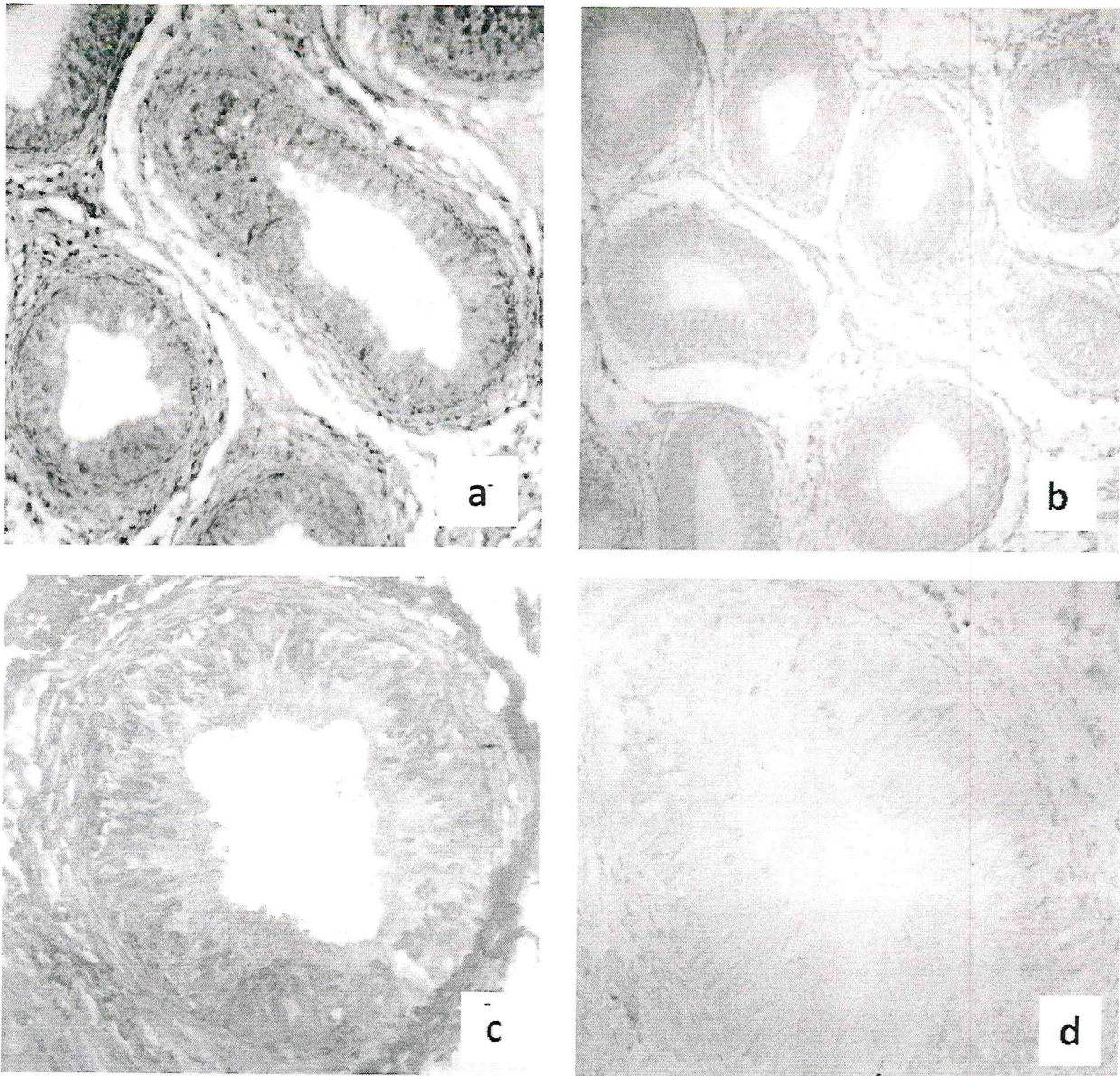


Figure 14 : Immunolocalisation des récepteurs aux androgènes au niveau de l'épididyme.

a) x50 ; b) x50 contrôle négatif ; c) x400 ; d) x400 contrôle négatif

- L'observation de l'immunomarquage au microscope photonique montre une réaction positive au niveau de toutes les cellules de l'épithélium épididymaire et dans les cellules les plus importantes sont :

Les cellules principales : Elles ont une dépendance aux androgènes pour la maintenance de leurs structures et leurs fonctions.

Les cellules apicales : qui dépendent aux androgènes pour la production des enzymes protéolytiques.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les mêmes résultats ont été rapportés chez le bélier [178] et chez le rat [94], par contre chez le cheval [179] et chez le bouc [177], il y a un immunomarquage qu'au niveau des cellules principales de l'épididyme.

Chez l'homme, Hendrik et *al.* [180] ont observés le marquage des récepteurs aux androgènes uniquement au niveau des cellules principales et basales de l'épididyme.

Les études récentes montrent que les noyaux des cellules du stroma épидидymaire sont plus sensibles aux androgènes circulants que les cellules épithéliales de l'épididyme. En effet, comparativement avec les autres tissus et organes du système reproducteur mâle, les cellules épithéliales de l'épididyme ont une forte capacité de la maintenance d'une concentration élevée des androgènes en cas de déficience [181].

L'ABP sécrété par les cellules de sertoli transporte la testostérone du testicule à l'épididyme, il maintient une forte concentration des androgènes [182, 183]. La sécrétion de l'ABP est contrôlée par l'FSH et les androgènes [183].

Nos résultats sont validés par la présence de contrôle négatif ; car d'après Suarez et *al.* [185], la validité des résultats d'une étude immunohistochimique repose essentiellement sur la qualité des contrôles effectués comprenant à la fois des contrôles positifs et négatifs.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats obtenus dans notre travail, chez les agneaux de race D'Man âgés de 2 à 5 mois, révèlent un marquage des récepteurs aux androgènes par immunohistochemie au niveau de :

- Toutes les régions de l'épididyme (tête, corps et queue) avec une intensité variable d'une région à l'autre.
- Tous les types des cellules (principale, apicale, claire, en halo et basale) de l'épithélium épididymaire.

Ce travail préliminaire doit être complété par :

- Une étude biométrique (poids corporel, poids de l'épididyme).
- Une étude morphométrique pour la détermination du diamètre de l'épididyme au cours de l'âge.
- Une étude quantitative pour la détermination du nombre de cellules marquées de l'épididyme.
- Une validation de l'anticorps utilisé dans l'immunomarquage des récepteurs aux androgènes par la technique du Western Blot.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- [1]. **Robaire B., Hermo L. (1988)**. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, function, and their regulation. In the Physiology of Reproduction. New York p: 999-1080.
- [2]. **Hanzen Ch. (2009)**. Rappels anatomo-physiologique relatif à la reproduction du taureau. Anatomo-histologie du tractus génital du taureau, p : 8.
- [3]. **Glover T., Nicander L. (1971)**. Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis. J. Reprod. Fertil 13, p : 39-50.
- [4]. **Hamilton D. (1990)**. Anatomy of mammalian male accessory reproductive organs. In Marshall's Physiology of Reproduction, Volume 2, reproductive in the Male, p: 691-746.
- [5]. **Takano H. (1980)**. Qualitative and quantitative histology and histogenesis of the mouse epididymis, with special emphasis on the regional difference (author's transl), p: 573-587.
- [6]. **Abe K., Takano H., Ito T. (1983)**. Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. Arch Histol Jpn 46, p: 51-68.
- [7]. **Abou-Haila A., Fain-Maurel M. (1984)**. Regional differences of the proximal part of mouse epididymis: morphological and histochemical characterization. Anat Rec 209, p: 197-208.
- [8]. **Johnston D., Jelinsky S., Bang H., Dicandeloro P., Wilson E., Kopf G., Turner T. (2005)**. The mouse epididymal transcriptome: transcriptional profiling of segmental gene expression in the epididymis. Biol Reprod 73, p : 404-413.
- [9]. **Hermo L., Robaire B. (2002)**. Epididymal cell types and their functions. The Epididymis : From Molecules to Clinical Practice. New York: Kluwer Academic-plenum; p: 81-102.
- [10]. **Sun E., Flickinger C. (1980)**. Morphological characteristics of cells with apical nuclei in the initial segment of the adult rat epididymis. Anat Rec; 196, p: 285-293.
- [11]. **Trasler J., Hermo L., Robaire B. (1988)**. Morphological changes in the testis and epididymis of rats treated with cyclophosphamide: a quantitative approach. Biol Reprod 38, p: 463-479.
- [12]. **Robaire B., Viger R. (1995)**. Regulation of epididymal epithelial cell functions-Biol Reprod 52, p: 226-236.
- [13]. **Jones R., Hamilton D., Fawcett D. (1979)**. Morphology of the epithelium of the extratesticular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. Am J Anat 156, p: 373-400.
- [14]. **Faure J., Ghyselinck N., Jimenez C., Dufaure J. (1991)**. Specific distribution of messenger ribonucleic acids for 24-Kilodalton proteins in the mouse epididymis as revealed.

Références Bibliographiques

- [15]. **Serre V., Robaire B. (1999)**. Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment specific and related of the luminal content. *Biol Reprod* 61, p: 705-714.
- [16]. **Moore H., Kelly R. (1985)**. Secretory protein targeting in a pituitary cell line: differential transport of foreign secretory proteins to distinct secretory pathways. *J Cell Biol* 101, p: 1773-1781.
- [17]. **Hermo L., Adamali H., Andonian S. (2000)**. Immunolocalisation of CA II and H⁺ V-ATP ase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J Androl* 21, p: 376-391.
- [18]. **Martinez-Garcia F., Regadera J., Cobo P., Palacios J., Paniagua R., Nistal M. (1995)**. The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis. *Andrologia* 27, p: 195-206.
- [19]. **Hinton B., Palladino M. (1995)**. Epididymal epithelium: its contribution to the formation of luminal fluid microenvirenment. *Microsc Restech*, p : 67-81.
- [20]. **Soranzo L., Dadoune J., Fain-Maurel M. (1982)**. Segmentation of the epididymal duct in mouse: an ultrastructural study. *Reprod Nutr Dev* 22, p: 999-1012.
- [21]. **Seiler P., Cooper T., Nieschlag E. (2000)**. Sperm number and condition affect the number of basal cells and their expression of macrophage antigen in the murine epididymis. *Int J Androl* 23, p: 65-76.
- [22]. **Serre V., 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,p: 705-714.
- [23]. **Ramos A., Dym M. (1977)**. Fine structure of the monkey epididymis. *Am J Anat* 149, p: 501-531.
- [24]. **Flickinger C., Howards S., English H. (1978)**. Ultrastructural differences in efferent ducts and several regions of the epididymis of the hamster. *Am J Anat* 152, p: 557-585.
- [25]. **Veri J., Hermo L., Robaire B. (1993)**. Immunocytochemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. *J Androl* 14, p: 23-44.
- [26]. **Cooper G. (1998)**. Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J Reprod Fertil Suppl* 53, p: 119-136.
- [27]. **Hoffer A., Hamilton D., Fawcett D. (1973)**. The ultrastructure of the principal cells and intraepithelial leucocytes in the initial segment of the rat epididymis. *Anat Rec* 175, p: 169-201.

Références Bibliographiques

- [28]. **Olson G., Hinton B. (1985)**. Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *J Androl* 6, p: 20-34.
- [29]. **Hoffer A., Hinton B. (1984)**. Morphological evidence for a blood-epididymis barrier and the effects of gossypol on its integrity. *Biol Reprod* 30, p: 991-1004.
- [30]. **Gumbiner B. (1993)**. Breaking through the tight junction barrier. *J Cell Biol* 123, p: 1631 1633.
- [31]. **Gumbiner B. (1987)**. Structure, biochemistry, and assembly of epithelial tight junctions. *Physiol* 253, p: 749-758.
- [32]. **Zahraoui A., Louvard D., Galli T. (2000)**. Tight junction, a platform for trafficking and signaling protein complexes. *Cell Biol* 151, p: 31-36.
- [33]. **Gregory M., Dufresne J., Hermo L., Cyr D. (2001)**. Claudin-1 is not restricted to tight junctions in the rat epididymis. *Endocrinology* 142, p: 854-863.
- [34]. **Denker B., Nigam S. (1998)**. Molecular structure and assembly of the tight junction. *Physiol* 274, p: 1-9.
- [35]. **Cyr D., Hermo L., Egenberger N., Mertineit C., Trasler J., Laird D. (1999)**. Cellular immunolocalization of occludin during embryonic and postnatal development of the mouse testis and epididymis. *Endocrinology* 140, p: 3815-3825.
- [36]. **Levy S., Robaire B. (1999)**. Segment-specific changes with age in the expression of junctional proteins and the permeability of the blood-epididymis barrier in rats. *Biol Reprod* 60, p: 1392-1401.
- [37]. **Furuse M., Fujita K., Hiiragi T., Fujimoto K., Tsukita S. (1998)**. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol* 141, p: 1539-1550.
- [38]. **Steinberg M., McNutt P. (1999)**. Cadherins and their connections: adhesion junctions have broader functions. *Curr Opin Cell Biol* 11, p: 554-560.
- [39]. **West M., Ferguson D., Hart V., Sanjar S., Man Y. (2002)**. Maintenance of the epithelial barrier in a bronchial epithelial cell line is dependent on functional Ecadherin local to the tight junctions. *Cell Commun Adhes* 9, p: 29-44.
- [40]. **Gumbiner B. (2000)**. Reculation of cadherin adhesive activity. *J Cell Biol* 148, p: 399-404.
- [41]. **Stevenson B., Keon B. (1998)**. The tight junction: morphology to molecules. *Annu Rev Cell Dev Biol* 14, p: 89-109.

Références Bibliographiques

- [42]. **Yap A., Stevenson B., Keast J., Manley S. (1995).** Cadherin-mediated adhesion and apical membrane assembly define distinct steps during thyroid epithelial polarization and lumen formation. *Endocrinology* 136, p: 4672-4680.
- [43]. **Goodenough D., Goliger J., Paul D. (1996).** Connexins, connexons, and intercellular communication. *Annu Rev Biochem* 65, p: 475-502.
- [44]. **Bedford J. (1966).** Development of the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the rabbit. *Journal of Experimental Zoology* 163, p: 319-329.
- [45]. **Gatti J., Chevrier C., Paquignon M., Dacheux J. (1993).** External ionic conditions, internal pH and motility of ram and boar spermatozoa. *J Reprod Fertil* 98, p: 439-449.
- [46]. **Gatti J., Castella S., Dacheux F., Ecroyd M., Metayer S., Thimon V., Dacheux J. (2004).** Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod sci* p: 82-83, 321-339.
- [47]. **Hinton B., Bott H., Setchell B. (1979).** Measurement of the motility of rat spermatozoa collected by micropuncture from the testis and different regions along the epididymis. *Journal of Reproduction and fertility* 55, p: 167-172.
- [48]. **Shabanowitz R., Killian G. (1979).** Two-dimensional electrophoresis of proteins in principal cells, spermatozoa, and fluid associated with the rat epididymis: *Biol Reprod* 36, p: 753-768.
- [49]. **Jones R., Murdoch R. (1996).** Regulation of the motility and metabolism of spermatozoa for storage in the epididymis of eutherian and marsupial mammals. *Reprod Fertil Dev*; p: 553-568.
- [50]. **Cornwall G., Hann S. (1995).** Specialized gene expression in the epididymis. *Androl* 16, p: 379-383.
- [51]. **Orgebin-Crist M. (1996).** Androgens and epididymal function. In: *Pharmacology, Biology and Clinical Applications of Androgen*, p: 27-38
- [52]. **Kirchhoff C. (1999).** Gene expression in the epididymis. *Int Rev Cytol* 188, p: 133-202.
- [53]. **Olson G., Nagdas S., Winfrey V. (2002).** Structural differentiation of spermatozoa during post-testicular maturation. In *The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice* p: 371-388.
- [54]. **Turner T. (1991).** Spermatozoa are exposed to a complex microenvironment as they traverse the epididymis. *Ann N Y Acad Sci* 637, p: 364-383.
- [55]. **Hall J., Killian G. (1987).** Changes in rat sperm membrane glycosidase activities and carbohydrate and protein contents associated with epididymal transit. *Biol Reprod* 36, p: 709-718.

Références Bibliographiques

- [56]. **Vernon R., Muller C., Eddy E. (1987).** Further characterization of a secreted epididymal glycoprotein in mice that binds to sperm tails. *J Androl* 8, p: 123-128.
- [57]. **Young L., Gould K., Hinton B. (1987).** Changes in binding of a 27-kilodalton chimpanzee cauda epididymal protein glycoprotein component to chimpanzee sperm. *Gamete Res* 18, p: 163-178.
- [58]. **Tulsiani D. (2006).** Glycan-modifying enzymes in luminal fluid of the mammalian epididymis: An overview of their potential role in sperm maturation. *Mol Cell Endocrinol*.
- [59]. **Usselman M., Cone R. (1983).** Rat sperm are mechanically immobilized in the caudal epididymis by "immobilin," a high molecular weight glycoprotein. *Biol Reprod* 29, p: 1241-1253.
- [60]. **Zeheb R., Orr G. (1984).** Characterization of a maturation-associated glycoprotein on the plasma membrane of rat caudal epididymal sperm. *J Biol Chem* 259, p: 839-848.
- [61]. **Riar S., Setty B., Kar A. (1973).** Studies on the physiology and biochemistry of mammalian epididymis: biochemical composition of epididymis. A comparative study. *Fertil Steril* 24, p: 355-363.
- [62]. **Pollanen P., Cooper T. (1994).** Immunology of the testicular excurrent ducts. *J Reprod Immunol* 26, p: 167-216.
- [63]. **Cornwall G., Cameron A., Lindberg I., Hardy D., Cormier N., Hsia N. (2003).** The cystatin-related epididymal spermatogenic protein inhibits the serine protease prohormone convertase 2. *Endocrinology* 144, p: 901-908.
- [64]. **Robaire B., Jervis K., Ezer N. (2003).** Cell Dynamics and Cell Death in the Epididymal Epithelium. In: *Third International Conference on the Epididymis*, p: 35-49.
- [65]. **Simoni M., Gromoll J., Nieschlag E. (1997).** The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. *Endocr Rev* 18, p: 739-773.
- [66]. **Orth J. (1984).** The role of follicle-stimulating hormone in controlling Sertoli cell proliferation in testes of fetal rats. *Endocrinology* 115, p: 1248-1255.
- [67]. **Grover A., Sairam M., Smith C., Hermo L. (2004).** Structural and functional modifications of sertoli cells in the testis of adult follicle-stimulating hormone receptor knockout mice. *Biol Reprod* 71, p: 117-129.
- [68]. **Krishnamurthy H., Kats R., Danilovich N., Javeshghani D., Sairam M. (2001).** Intercellular communication between Sertoli cells and Leydig cells in the absence of follicle-stimulating hormone-receptor signaling. *Biol Reprod* 65, p: 1201-1207.

Références Bibliographiques

- [69]. **Danzo B., Orgebin-Crist M., Eller B. (1975).** Changes in 5alpha dihydrotestosterone binding to epididymal cytosol during sexual maturation in rabbits: correlation with morphological changes in the testis and epididymis. *Mol Cell Endocrinol* 3, p: 203-220.
- [70]. **Turner T. (2002).** Necessity's potion: Inorganic ions and small organic molecules in the epididymal lumen. In: Robaire B, Hinton BT, editors. *The epididymis: From molecules to clinical practice*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, p 131-150.
- [71]. **Grover A., Smith C., Gregory M., Cyr D., Sairam M., Hermo L. (2005).** Effects of FSH receptor deletion on epididymal tubules and sperm morphology, numbers, and motility. *Mol Reprod Dev* 72, p: 135-144.
- [72]. **Sriraman V., Sairam M., Rao A. (2003).** Evaluation of relative roles of LH and FSH in regulation of differentiation of Leydig cells using an ethane 1,2-dimethylsulfonatetreated adult rat model. *J Endocrinol* 176, p: 151-161.
- [73]. **Tao Y., Lei Z., Rao Ch. (1995).** Novel expression of luteinizing hormone (LH)/human chorionic gonadotropin (hCG) receptor gene in rat epididymis. *Biol Reprod* 52 (Suppl 1), p:149
- [74]. **Tao Y., Lei Z., Rao Ch. (1996).** Human epididymis contains luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptors. IN: Program of the 10 th International Congress of Endocrinology; San Francisco, CA. Abstract OR21-2.
- [75]. **Zhao W., Leung P., Chew S., Chan H., Wong P. (1996).** Localization and distribution of angiotensin II in the rat epididymis. *J Endocrinol* 149, p: 217-222.
- [76]. **Zhang T., Guo C., Hu Z., Liu Y. (1997).** Localization of plasminogen activator and inhibitor, LH and androgen receptors and inhibin subunits in monkey epididymis. *Mol Hum Reprod* 3, p: 945-952.
- [77]. **Panesar N., Huang N. (1993).** Effect of hCG on intracellular chloride concentration in rat epididymal cells. *Clin Biochem Rev*; 14: (abstract PS255).
- [78]. **Lei Z., Mishra S., Zou W., Xu B., Foltz M., Li X., Rao C. (2001).** Targeted disruption of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptor gene. *Mol Endocrinol* 15, p: 184-200.
- [79]. **Zhang F., Poutanen M., Wilbertz J., Huhtaniemi I. (2001).** Normal prenatal but arrested postnatal sexual development of luteinizing hormone receptor knockout (LuRKO) mice. *Mol Endocrinol* 15, p: 172-183.

Références Bibliographiques

- [80]. **Zhang F., Pakarainen T., Zhu F., Poutanen M., Huhtaniemi I. (2004).** Molecular characterization of postnatal development of testicular steroidogenesis in luteinizing hormone receptor knockout mice. *Endocrinology* 145, p: 1453-1463.
- [81]. **Pakarainen T., Zhang F., Makela S., Poutanen M., Huhtaniemi I. (2005).** Testosterone replacement therapy induces spermatogenesis and partially restores fertility in luteinizing hormone receptor knockout mice. *Endocrinology* 146, p: 596-606.
- [82]. **Mercier-Bodard C., Alfsen A., Baulieu E. (1970).** Sex steroid binding plasma protein (SBP). *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)* 147, p: 204-224.
- [83]. **Brooks D. (1981).** Metabolic activity in the epididymis and its regulation by androgens. *Physiol Rev* 61, p: 515-555.
- [84]. **Holland M., Orgebin-Crist M. (1988).** Characterization and hormonal regulation of protein synthesis by the murine epididymis. *Biol Reprod* 38, p: 487-496.
- [85]. **Robaire B., Syntin P., Jervis K. (2000).** The coming of age of the epididymis. In *Testis, Epididymis and Technologies* p 229-262.
- [86]. **Ezer N., Robaire B. (2003).** Gene expression is differentially regulated in the epididymis after orchidectomy. *Endocrinology* 144, p: 975-988.
- [87]. **Yamashita S. (2004).** Localization of estrogen and androgen receptors in male reproductive tissues of mice and rats. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 279, p: 768-778.
- [88]. **Zhu L., Hardy M., Inigo I., Huhtaniemi I., Bardin C., Moo-Young A. (2000).** Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study. *Biol Reprod* 63, p: 368-376.
- [89]. **Goyal H. (1985).** Morphology of the bovine epididymis. *Am J Anat* 172, p: 155-172.
- [90]. **Carreau S., Genissel C., Bilinska B., Levallet J. (1999).** Sources of oestrogen in the testis and reproductive tract of the male. *Int J Androl* 22, p: 211-223.
- [91]. **Carpino A., Romeo F., Rago V. (2004).** Aromatase immunolocalization in human ductuli efferentes and proximal ductus epididymis. *J Anat* 204, p: 217-220.
- [92]. **Pereyra-Martinez A., Roselli C., Stadelman H., Resko J. (2001).** Cytochrome P450 aromatase in testis and epididymis of male rhesus monkeys. *Endocrine* 16, p: 15-19.
- [93]. **Shayu D., Rao A. (2006).** Expression of functional aromatase in the epididymis: Role of androgens and LH in modulation of expression and activity. *Mol Cell Endocrinol* 249, p: 40-50.

Références Bibliographiques

- [94]. Zhou Q., Nie R., Prins G., Saunders P., Katzenellenbogen B., Hess R. (2002). Localization of androgen and estrogen receptors in adult male mouse reproductive tract. *J Androl* 23, p: 870-881.
- [95]. Eddy E., Washburn T., Bunch D., Goulding E., Gladen B., Lubahn D., Korach K. (1996). Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology* 137, p: 4796-4805.
- [96]. Hess R., Bunick D., Lee K., Bahr J., Taylor J., Korach K., Lubahn D. (1997). A role for oestrogens in the male reproductive system. *Nature* 390, p: 509-512.
- [97]. Oliveira C., Zhou Q., Carnes K., Nie R., Kuehl D., Jackson G., Franca L., Nakai M., Hess R. (2002). ER function in the adult male rat: short- and longterm effects of the antiestrogen ICI 182,780 on the testis and efferent ductules, without changes in testosterone. *Endocrinology* 143, p : 2399-2409.
- [98]. Filippi S., Vannelli G., Granchi S., Luconi M., Crescioli C., Mancina R., Natali A., Brocchi S., Vignozzi L., Bencini E. (2002). Identification, localization and functional activity of oxytocin receptors in epididymis. *Mol Cell Endocrinol* 193, p: 89-100.
- [99]. Misao R., Niwa K., Morishita S., Fujimoto J., Nakanishi Y., Tamaya T. (1997). Immunohistochemical detection of estrogen and progesterone receptors in spermatozoa of infertile men. *Int J Fertil Womens Med* 42, p: 421-425.
- [100]. Brumlow W., Adams C. (1990). Immunocytochemical detection of prolactin or prolactin-like immunoreactivity in epididymis of mature male mouse. *Histochemistry* 93, p: 299-304.
- [101]. Baker H., Worgul T., Santen R., Jefferson L., Bardin C. (1977). Effect of prolactin on nuclear androgens in perfused male sex accessory organs. In: *The Testis in Normal and Infertile Men*. P. Troen and H.R. Nankin, eds. Raven Press, New York p: 379-385.
- [102]. Gautam R., Pereira B. (1992). The effect of ovine prolactin on the epididymal sialic acid concentration in male rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 19, p: 495-501.
- [103]. Gautam R., Pereira B. (1993). Modulation in activity of some epididymal glycosidases by prolactin. *Indian J Exp Biol* 31, p: 410-413.
- [104]. Melin P. (1970). Effects in vivo of neurohypophysial hormones on the contractile activity of accessory sex organs in male rabbits. *J Reprod Fertil* 22, p: 283-292.
- [105]. Hib J. (1974). The in vitro effects of oxytocin and vasopressin on spontaneous contractility of the mouse cauda epididymidis. *Biol Reprod* 11, p: 436-439.

Références Bibliographiques

- [106]. **Hib J. (1977)**. The 'in vivo' effects of oxytocin and vasopressin on spontaneous contractility of the rat epididymis. *Int J Fertil* 22, p: 63-64.
- [107]. **Harris G., Frayne J., Nicholson H. (1996)**. Epididymal oxytocin in the rat: its origin and regulation. *Int J Androl* 19, p: 278-286.
- [108]. **Einspanier A., Ivell R. (1997)**. Oxytocin and oxytocin receptor expression in reproductive tissues of the male marmoset monkey. *Biol Reprod* 56, p: 416-422.
- [109]. **Assinder S., Carey M., Parkinson T., Nicholson H. (2000)**. Oxytocin and vasopressin expression in the ovine testis and epididymis: changes with the onset of spermatogenesis. *Biol Reprod* 63, p: 448-456.
- [110]. **Studdard P., Stein J., Cosentino M. (2002)**. The effects of oxytocin and arginine vasopressin in vitro on epididymal contractility in the rat. *Int J Androl* 25, p: 65-71.
- [111]. **Nicholson H., Guldenaar S., Boer G., Pickering B. (1991)**. Testicular oxytocin: effects of intratesticular oxytocin in the rat. *J Endocrinol* 130, p: 231-238.
- [112]. **Nicholson H., Jenkin L. (1994)**. 5 alpha-réductase activity is increased by oxytocin in the rat testis. In Barke A (ed.) *Function of Somatic cells in the Testis*. Springer Verlag, New York, p: 278-285.
- [113]. **Li L., Xu J., Wong Y., Wong J., Pang S., Shiu S. (1998)**. Molecular and cellular analyses of melatonin receptor-mediated cAMP signaling in rat corpus epididymis. *J Pineal Res* 25, p: 219-228.
- [114]. **Li L., Wong J., Pang S., Shiu S. (1999)**. Melatonin-induced stimulat of rat corpus epididymal epithelial cell proliferation. *Life Sci* 65, p: 1067-1076.
- [115]. **Shiu S., Li L., Siu S., Xi S., Fong S., Pang S. (2000)**. Biological basis and possible physiological implications of melatonin receptor-mediated signaling in the rat epididymis. *Biol Signals Recept* 9, p: 172-187.
- [116]. **Delrio A., Valdez Toledo C., Quiros M. (1979)**. Thyroid gland and epididymal function in rats--histological study. *Arch Androl* 3, p: 19-22.
- [117]. **Delrio A., Blanco A., Pignataro O., Niepomnische H., Juvenal G., Pisarev M. (2000)**. High-affinity binding of T3 to epididymis nuclei. *Arch Androl* 44, p: 187-191.
- [118]. **Kumar P., Arulldhas M., Juneja S. (1996)**. Influence of hyperthyroidism induced at prepuberty on the epididymal lipids, number and motility of spermatozoa in rats. *Reprod Fertil Dev* 8, p: 373-378.

Références Bibliographiques

- [119]. **Maran R., Priyadarsini D., Udhayakumar R., Arunakaran J., Aruldas M. (2001).** Differential effect of hyperthyroidism on rat epididymal glycosidases. *Int J Androl* 24, p: 206-215.
- [120]. **Pearce P., Lipkevicius O., Funder J. (1986).** High affinity (type 1) aldosterone-binding sites in rat epididymis. *Endocrinology* 118, p: 2072-2075.
- [121]. **Hinton B., Keefer D. (1985).** Binding of [3H] aldosterone to a single population of cells within the rat epididymis. *J Steroid Biochem* 23, p: 231-233.
- [122]. **Schultz R., Isola J., Parvinen M., Honkaniemi J., Wikstrom A., Gustafsson J., Pelto-Huikko M. (1993).** Localization of the glucocorticoid receptor in testis and accessory sexual organs of male rat. *Mol Cell Endocrinol* 95, p: 115-120.
- [123]. **Nair N., Bedwal R., Mathur R. (2002).** Effect of adrenalectomy on rat epididymis. *Asian J Androl* 4, p: 273-279.
- [124]. **Schleicher G., Privette T., Stumpf W. (1989).** Distribution of soltritol 1,25(OH)₂-vitamin D₃ binding sites in male sex organs of the mouse: an autoradiographic study. *J Histochem Cytochem* 37, p: 1083-1086.
- [125]. **Norman A., Roth J., Orci L. (1982).** The vitamin D endocrine system: steroid metabolism, hormone receptors, and biological response (calcium binding proteins). *Endocr Rev* 3, p: 331-366.
- [126]. **Haussler M. (1986).** Vitamin D receptors: nature and function. *Annu Rev Nutr* 6, p: 527-562.
- [127]. **Henry H., Norman A. (1984).** Vitamin D: metabolism and biological actions. *Annu Rev Nutr* 4, p: 493-520.
- [128]. **Johnson J., Grande J., Roche P., Kumar R. (1996).** Immunohistochemical detection and distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in rat reproductive tissues. *Histochem Cell Biol* 105, p: 7-15.
- [129]. **Matzuk M., Kumar T., Bradley A. (1995).** Different phenotypes for mice deficient in either activins or activin receptor type II. *Nature* 374, p: 356-360.
- [130]. **Kumar T., Varani S., Wreford N., Telfer N., Kretser D., Matzuk M. (2001).** Male reproductive phenotypes in double mutant mice lacking both FSHbeta and activin receptor IIA. *Endocrinology* 142, p: 3512-3518.
- [131]. **Leung P., Wong T., Sernia C. (1999).** Angiotensinogen expression by rat epididymis: evidence for an intrinsic, angiotensin-generating system. *Mol Cell Endocrinol* 155, p: 115-122.

Références Bibliographiques

- [132]. **Cuthbert A., Wong P. (1986).** Electrogenic anion secretion in cultured rat epididymal epithelium. *J Physiol* 378, p: 335-345.
- [133]. **Wong P., Fu W., Huang S., Law W. (1990).** Effect of angiotensins on electrogenic anion transport in monolayer cultures of rat epididymis. *J Endocrinol* 125, p: 449-456.
- [134]. **Wong P., Uchendu C. (1990).** The role of angiotensin-converting enzyme in the rat epididymis. *J Endocrinol* 125, p: 457-465.
- [135]. **Leung P., Chan H., Chung Y., Wong T., Wong P. (1998).** The role of local angiotensins and prostaglandins in the control of anion secretion by the rat epididymis. *J Reprod Fertil Suppl* 53, p: 15-22.
- [136]. **Lai K., Fu W., Ko W., Chan H., Wong P. (1994).** The effect of [Arg8] vasopressin on electrogenic chloride secretion in cultured rat epididymal epithelia. *Am J Physiol* 267, p: 607-616.
- [137]. **Wong P., Fu W., Huang S. (1989).** Endothelin stimulates short circuit current in a cultured epithelium. *Br J Pharmacol* 98, p: 1191-1196.
- [138]. **Anderson M., Paparo A., Martan J. (1979).** Paraformaldehyde-induced fluorescence as a histochemical test for 5-hydroxytryptamine in the epididymis of the opossum. *J Anat* 129, p: 141-149.
- [139]. **Hinton B. (1990).** The testicular and epididymal luminal amino acid microenvironment in the rat. *J Androl* 11, p: 498-505.
- [140]. **Grove K., Speth R. (1989).** Rat epididymis contains functional angiotensin II receptors. *Endocrinology* 125, p: 223-230.
- [141]. **Leung P., Chan H., Fu L., Leung P., Chew S., Wong P. (1997).** Angiotensin II receptors: localization of type I and type II in rat epididymides of different developmental stages. *J Membr Biol* 157, p: 97-103.
- [142]. **Carr D., Usselman M., Acott T. (1985).** Effects of pH, lactate, and viscoelastic drag on sperm motility: a species comparison. *Biol Reprod* 33, p: 588-595.
- [143]. **Okamura N., Tajima Y., Soejima A., Masuda H., Sugita Y. (1985).** Sodium bicarbonate in seminal plasma stimulates the motility of mammalian spermatozoa through direct activation of adenylate cyclase. *J Biol Chem* 260, p: 9699-9705.
- [144]. **Sonnenberg E., Godecke A., Walter B., Bladt F., Birchmeier C. (1991).** Transient and locally restricted expression of the *ros1* protooncogene during mouse development. *Embo J* 10, p: 3693-3702.

Références Bibliographiques

- [145]. Tessarollo L., Nagarajan L., Parada L. (1992). c-ros: the vertebrate homolog of the sevenless tyrosine kinase receptor is tightly regulated during organogenesis in mouse embryonic development. *Development* 115, p: 11-20.
- [146]. Sonnenberg-Riethmacher E., Walter B., Riethmacher D., Godecke S., Birchmeier C. (1996). The c-ros tyrosine kinase receptor controls regionalization and differentiation of epithelial cells in the epididymis. *Genes Dev* 10, p: 1184-1193.
- [147]. Yeung C., Wagenfeld A., Nieschlag E., Cooper T. (2000). The cause of infertility of male c-ros tyrosine kinase receptor knockout mice. *Biol Reprod* 63, p: 612-618.
- [148]. Moncada S., Palmer R., Higgs E. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43, p: 109-142.
- [149]. Palmer R., Ashton D., Moncada S. (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333, p: 664-666.
- [150]. Srivastava S., Desai P., Coutinho E., Govil G. (2000). Protective effect of L-arginine against lipid peroxidation in goat epididymal spermatozoa. *Physiol Chem Phys Med NMR* 32, p: 127-135.
- [151]. Srivastava S., Desai P., Coutinho E., Govil G. (2006). Mechanism of Action of L-Arginine on the Vitality of Spermatozoa Is Primarily Through Increased Biosynthesis of Nitric Oxide. *Biol Reprod* 74, p: 5954-5958
- [152]. Baker M., Aitken R. (2004). The importance of redox regulated pathways in sperm cell biology. *Mol Cell Endocrinol* 216, p: 47-54.
- [153]. Tramer F., Rocco F., Micali F., Sandri G., Panfili E. (1998). Antioxidant systems in rat epididymal spermatozoa. *Biol Reprod* 59, p: 753-758.
- [154]. Harneit S., Ergun S., Paust H., Mukhopadhyay A., Holstein A. (1997). Endothelin-1 and its receptors in the human epididymis. *Adv Exp Med Biol* 424, p : 191-192.
- [155]. Filippi S., Morelli A., Vignozzi L., Vannelli G., Marini M., Ferruzzi P., Mancina R., Crescioli C., Mondaini N., Forti G. (2005). Oxytocin mediates the estrogen-dependent contractile activity of endothelin-1 in human and rabbit epididymis. *Endocrinology* 146, p: 3506-3517.
- [156]. Peri A., Fantoni G., Granchi S., Vannelli G., Barni T., Amerini S., Pupilli C., Barbagli G., Forti G., Serio M., Maggi M. (1997). Gene expression of endothelin-1, endothelin-converting enzyme-1, and endothelin receptors in human epididymis. *J Clin Endocrinol Metab* 82, 3797-3806.
- [157]. Peri A., Fantoni G., Granchi S., Vannelli G., Barni T., Amerini S., Pupilli C., Barbagli G., Serio M., Maggi M., Forti G. (1998). Endothelin-1 is synthesized and

Références Bibliographiques

biologically active in human epididymis via a paracrine mode of action. *Steroids* 63, p: 294-298.

[158]. **Huang S., Leung A., Fu W., Chung Y., Zhou T., Chan P., Wong P. (1992).** Electrophysiological studies of anion secretion in cultured human epididymal cells. *J Physiol* 455, p: 455-469.

[159]. **Huang S., Fu W., Chung Y., Zhou T., Wong P. (1993).** Properties of cAMP-dependent and Ca(2+)-dependent whole cell Cl⁻ conductances in rat epididymal cells. *Am J Physiol* 264, p: 794-802.

[160]. **Leung A., Wong P. (1994).** The epididymis as a chloride secreting organ. *News Physiol Sci*. 9: p: 31-35.

[161]. **Setchell B., Scott T., Voglmayr J., Waites G. (1969).** Characteristics of testicular spermatozoa and the fluid which transports them into the epididymis. *Biol Reprod* 1, Suppl 1, p: 40-66.

[162]. **Turner T., Miller D. (1997).** On the synthesis and secretion of rat seminiferous tubule proteins in vivo after ischemia and germ cell loss. *Biol Reprod* 57, p: 1275-1284.

[163]. **Hinton B., Lan Z., Rudolph D., Labus J., Lye R. (1998).** Testicular regulation of epididymal gene expression. *J Reprod Fertil Suppl* 53, p: 47-57.

[164]. **Abe K., Takano H., Ito T. (1984).** Interruption of the luminal flow in the epididymal duct of the corpus epididymidis in the mouse, with special reference to differentiation of the epididymal epithelium. *Arch Histol Jpn* 47, p: 137-147.

[165]. **Radhakrishnan B., Suarez-Quian C. (1992).** Characterization of epidermal growth factor receptor in testis, epididymis and vas deferens of non-human primates. *J Reprod Fertil* 96, p: 13-23.

[166]. **Suarez-Quian C., Oke B., Radhakrishnan B. (1994).** Relationship between submandibular gland epidermal growth factor and spermatogenesis in C3H mice. *Tissue Cell* 26, p: 285-298.

[167]. **Nicander L., Osman D., Ploen L., Bugge H., Kvisgaard K. (1983).** Early effects of efferent ductule ligation on the proximal segment of the rat epididymis. *Int J Androl* 6, p: 91-102.

[168]. **Turner T., Riley T. (1999).** Independent, region-specific epithelial apoptosis is induced in the rat epididymis by deprivation of luminal factors. *Mol Reprod Dev* 53, p: 188-197.

Références Bibliographiques

- [169]. **Chikhi N., Holic N., Guellaen G., Laperche Y. (1999).** Gamma-glutamyl transpeptidase gene organization and expression: a comparative analysis in rat, mouse, pig and human species. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 122, p: 367-380.
- [170]. **Bottcher R., Niehrs C. (2005).** Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development. *Endocr Rev* 26, p: 63-77.
- [171]. **Shi Y., Massague J. (2003).** Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 113, p: 685-700.
- [172]. **Catizone A., Ricci G., Galdieri M. (2002).** Functional role of hepatocyte growth factor receptor during sperm maturation. *J Androl* 23, p: 911-918.
- [173]. **Leung D., Cachianes G., Kuang W., Goeddel D., Ferrara N. (1989).** Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 246, p: 1306-1309.
- [174]. **Keck P., Hauser S., Krivi G., Sanzo K., Warren T., Feder J., Connolly D. (1989).** Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 246, p: 1309-1312.
- [175]. **Korpelainen E., Karkkainen M., Tenhunen A., Lakso M., Rauvala H., Vierula M., Parvinen M., Alitalo K. (1998)** Overexpression of VEGF in testis and epididymis causes infertility in transgenic mice: evidence for nonendothelial targets for VEGF. *J Cell Biol* 143, p : 1705-1712.
- [176]. **Chellig R. (1992).** Les races ovines algérienne. Edition OPU, p: 76.
- [177]. **Hari O., Goyal F., Bartol A., Christopher W. (1997).** Immunolocalization of Receptors for Androgen and Estrogen in Male Caprine Reproductive Tissues : Unique Distribution of Estrogen Receptors in Efferent Ductule Epithelium. *Biology of Reproduction* 56, p: 90-101.
- [178]. **Tekpetey F., Veeramachaneni R., Amann R. (1989).** *Journals of Reproduction and Fertility Ltd* 87, p: 311-319.
- [179]. **Joyce M., Parlevliet., Christopher A., Pearl., Monna F., Hess., Thomas R., Famula., Janet F., Roser. (2006).** *Theriogenology* 66, p: 755-765.
- [180]. **Hendrik U., Richard I., Süleymen E. (1997).** Region-specific expression of the androgen receptor in the human epididymis. *Molecular Human Reproduction* vol. 3 no. 11 p: 933-940.
- [181]. **Paris F., Weinbauer G., Blum V., Nieschlag E., (1994).** The effect of androgen on the immunohistochemical localization of the androgen receptor in accessory reproductive organs of male rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 48:p: 129–137.

Références Bibliographiques

- [182]. **Hansson V., Trygstad O., French F., McLean W., Smith A., Tindall D., Weddington S., Petrusz P., Nayfeh S., Ritzen E. (1974).** Androgen transport and receptor mechanisms in testis and epididymis. *Nature*; 250, p: 387–391.
- [183]. **Bardin C., Cheng C., Musto N., Gunsalus G. (1988).** *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, p: 933–974.